

Nigella sativa L. ETANOL EKSTRESİNİN RATLARDA
PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT BÖBREK
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Doğukan CANAYAKIN

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

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

Yüksek Lisans Tezi-2014

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nigella sativa L. ETANOL EKSTRESİNİN RATLARDA
PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT BÖBREK
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Doğukan CANAYAKIN

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Yasin BAYIR

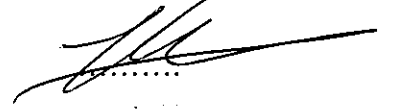
ERZURUM
2014

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

Nigella sativa L. ETANOL EKSTRESİNİN RATLARDA
PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Doğukan CANAYAKIN

Tez Savunma Tarihi : 25 Şubat 2014
Jüri Başkanı : Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU
(Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zekai HALICI
(Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Yasin BAYIR
(Atatürk Üniversitesi)



Onay

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


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLOLAR DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Böbrek Anatomisi ve Fizyolojisi	4
2.2. Akut Böbrek Yetmezliği.....	5
2.3. Zehirlenmeler	6
2. 4. Parasetamol (Asetaminofen).....	7
2.4.1. Parasetamolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	7
2.4.2. Parasetamolün Emilimi ve Dağılımı.....	8
2.4.3. Parasetamolün Metabolizması	8
2.4.4. Parasetamol Toksisitesi.....	10
2.4.4.1. Karaciğer Toksisitesi	10
2.4.4.2. Böbrek toksisitesi.....	12
2.5. Parasetamol Toksisitesinde Teşhis	13
2.6. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi.....	14
2.6.1. Gastrointestinal Sistem Dekontaminasyonu	14
2.6.2. N-Asetil Sistein (NAC).....	14
2.6.3. Aktif Kömür Uygulaması	15
2.7. Serbest Radikaller	16
2.7.1. Serbest radikal çeşitleri.....	17

2.7.1.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$).....	17
2.7.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	19
2.7.1.3. Hidroksil radikali (OH^{\cdot})	20
2.7.1.4. Singlet Oksijen (1O_2)	20
2.7.1.5. Nitrik oksit (NO^{\cdot})	21
2.7.2. Serbest radikal kaynakları.....	21
2.7.2.1. Eksojen radikal kaynakları.....	21
2.7.2.2. Endojen radikal kaynakları	22
2.7.3. Serbest radikallerin etkileri	23
2.7.3.1. Membran lipitleri üzerine etkileri	23
2.7.3.2. Karbohidratlara Etkileri	24
2.7.3.3. DNA üzerine etkileri.....	24
2.7.3.4. Proteinler üzerine etkileri.....	25
2.8. Antioksidan savunma sistemleri	26
2.8.1. Endojen (Doğal) antioksidanlar	28
2.8.2. Eksojen (Sekonder) Antioksidanlar	30
2.9. Oksidatif Stres Hipotezi.....	30
2.10. <i>Nigella sativa</i> L. (Çörek otu)	31
2.10.1. <i>Nigella sativa</i> L.'nin Kimyasal Özellikleri.....	32
2.10.1.1. Flavonoidler	33
2.10.2. <i>Nigella sativa</i> L.'nin Hepatotoksik ve Nefrotoksik Etki	38
2.10.3. <i>Nigella sativa</i> L.'nin Antioksidan Özelliği.....	39
3. MATERYAL VE METOT.....	40
3.1. Materyal	40
3.1.1. Deney Hayvanları	40
3.1.2. Kullanılan İlaçlar	40
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	41

3.2. Metot.....	42
3.2.1. Deney Planı.....	42
3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar	43
3.2.2.1. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler	43
3.3. Serumda yapılan analizler.....	48
3.4. İstatistiksel Analiz.....	48
4. BULGULAR.....	50
4.1. Biyokimyasal Analizler	50
4.1.1. Üre ve Kreatinin Analizleri.....	50
4.1.2. SOD, GSH ve MDA analizleri	52
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR	69
EKLER	100
EK-1. Özgeçmiş.....	100
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	101

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca ve tez çalışmam sürecinde hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve bilgileriyle yolumuza ışık tutan tez danışmanım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Yasin BAYIR'a, eğitimin sürecinde bilgileriyle ve tecrübesiyle bizlere yol gösteren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Zekai HALICI'ya, yüksek lisans eğitimin ve tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarım da destek olan saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU, Doç.Dr. Abdulmecit ALBAYRAK, Doç. Dr. Elif ÇADIRCI, Yrd. Doç. Dr. Emre KARAKUŐ'a, Uzm. Ecz. Nuh YAYLA'ya ve Arş. Gör. Zerrin KUTLU KOTAN'a Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli asistan arkadaşlarım Lale GÖZCÜ'ye, Galip Mesut DEMİR'e, Muhammet YAYLA'ya, Atilla TOPÇU'ya ve Seda ÖZALTIN'a birlikte paylaştığımız çalışma ortamı ve dostlukları için en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bugünlere gelmemde emekleri çok büyük olan aileme sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Doğukan CANAYAKIN

ÖZET

***Nigella sativa* L. Etanol Ekstresinin Ratlarda Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Amaç: Parasetamol tüm dünyada yaygın olarak kullanılan, tedavi dozlarında oldukça güvenilir bir ilaç olup kolay ve hızlı ulaşılabilir olması dolayısıyla bilinçsiz kullanımı sonucu karaciğer ve böbrek üzerinde ciddi hasara neden olan analjezik ve antipiretik bir ajandır. Çalışmamızda ratlarda parasetamol ile oluşturulan akut böbrek toksisitesinde güçlü bir antioksidan olan *Nigella sativa* L.'nin (NS) etanol ekstresinin etkileri biyokimyasal olarak araştırılmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 8 gruptan oluşan 48 adet dişi rat kullanıldı. Gruplar; I: Sağlıklı, II: Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, III: Sağlıklı + NAC 140 mg/kg, IV: Parasetamol 2 g/kg, V: NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg VI: NS 250 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, VII: NS 500 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, VIII: NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg'dir. NS ve NAC uygulamalarının 1 saat sonrasında Parasetamol uygulaması yapıp 24 saat sonra çalışma sonlandırıldı.

Bulgular: Çalışma sonucunda, parasetamol verilen gruplarda kontrol grubuna göre üre ve kreatinin seviyelerinde belirgin bir artış olduğu görülmüştür. Parasetamol ile beraber NS etanol ekstresi verilen tüm gruplarda üre ve kreatinin anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Böbrekte parasetamol verilen gruplarda kontrol grubuna göre MDA seviyesinde artış, GSH seviyesinde ve SOD aktivitesinde düşüş tespit edilirken, parasetamol ile beraber NS etanol ekstresi verilen gruplarda MDA seviyesi anlamlı olarak azalmış, GSH seviyesi ve SOD aktivitesi doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0.05$).

Sonuç: NS etanol ekstresi uygulaması sonucu böbreklerde oksidatif stresin azaldığı ve buna bağlı olarak nefrotoksisitenin göstergelerinden BUN ve kreatinin seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. Bu etkinin NS etanol ekstresi içerisinde majör olarak bulunan ve flavonoid ailesinin önemli üyeleri olan kuersetin, kaempferol ve rutin gibi antioksidan maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek toksisite, *Nigella sativa* L., oksidatif stres, parasetamol, rat.

ABSTRACT

Investigation of the Effects *Nigella sativa* L. Ethanol Extracts induced by paracetamol on acute kidney toxicity in rats

Aim: Paracetamol, an analgesic and antipyretic drug which is widely used all over the world, is a quite safe drug at therapeutic doses and because of being easily and quickly accessible, it can cause serious damage on the liver and kidneys. In our study, the effects of *Nigella sativa* L. (NS) ethanol extract, which is a strong antioxidant, have been biochemically investigated on paracetamol induced acute kidney toxicity in rats.

Material and Method: Totally 48 female rats in 8 groups have been used in our study. Groups; I: Healthy, II: Healthy + NS 1000 mg/kg, III: Healthy + NAC 140 mg/kg, IV: Paracetamol 2 g/kg, V: NAC 140 mg/kg + Paracetamol 2 g/kg VI: NS 250 mg/kg + Paracetamol 2 g/kg, VII: NS 500 mg/kg + Paracetamol 2 g/kg, VIII: NS 1000 mg/kg + Paracetamol 2 g/kg. Paracetamol administration has been carried out 1 hour after NS and NAC, and then the study has been ended 24 hours later.

Results: As a result of this study, a significant increase in urea and creatinine levels was observed in paracetamol given group when compared to the control group. In all groups where NS ethanol extract has been administered with paracetamol, the levels of urea and creatinine has been found to be significantly decreased ($p < 0.05$). In kidney tissue, While MDA level increased and GSH level and SOD activity were increased in paracetamol-given groups when compared to control group, MDA level has significantly decreased and the GSH level and SOD activity have dose-dependently increased in paracetamol+NS ethanol extract given groups ($p < 0.05$).

Conclusion: As a result of NS ethanol extract administration oxidative stress was decreased in kidneys and in relation to this urea and creatinine levels, the indicators of nephrotoxicity, have also been decreased. This effect is thought to result from antioxidant substances such as quercetin, kaempferol, and rutin, that are majorly found in the NS ethanol extract and important members of flavonoids family.

Key Words: Kidney toxicity, *Nigella sativa* L., oxidative stress, paracetamol, rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin di fosfat
Arg	: L-arginin
ATP	: Adenozin tri fosfat
CAT	: Katalaz
CCl₄	: Karbon tetraklorür
CMC	: Karboksi metil selüloz
Cu	: Bakır
CYP1A2	: Sitokrom p450 1A2
CYP2E1	: Sitokrom p450 2E1
CYP-450	: Sitokrom p450
DNA	: Deoksiribo nükleikasit
ETS	: Elektron taşıma sistemi
Fe⁺²	: Ferro demir
Fe⁺³	: Ferri demir
GİS	: Gastrointestinal sistem
GPx	: Glutatyon peroksidaz
g	: Gram
GSH	: Glutatyon
GSSG	: Okside glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IV	: İntravenöz
Kg	: Kilo gram
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit

Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
NAC	: N-asetilsistein
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NAPQI	: N-asetil-p-benzokinonimin
Nmol	: Nanomol
NO[•]	: Nitrikoksit radikali
NOS	: Nitrikoksitsentaz
NS	: <i>Nigella sativa</i> L.
¹O₂	: Singlet oksijen
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH[•]	: Hidroksil radikali
ONOO-	: Peroksinitrit
PBS	: Fosfat tamponlu salin (Phosphate buffered saline)
PGES	: Prostoglandin endoperoksit sentaz
RNA	: Ribonükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türleri (Reactive nitrogen species)
ROS	: Reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species)
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik asit
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	Parasetamolün kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2.2.	Parasetamol metabolizması.....	10
Şekil 2.3	Parasetamolün Böbreklere Geçişi.....	13
Şekil 2.4.	Antioksidanların serbest radikallere karşı etkileri.....	27
Şekil 2.5.	Antioksidanların sınıflandırılması.....	27
Şekil 2.6.	<i>Nigella sativa</i> L.	32
Şekil 2.7.	Flavonoid molekül yapısı.....	34
Şekil 2.8.	Kuersetin molekül yapısı.....	35
Şekil 2.9.	Kaempferol molekül yapısı.....	37
Şekil 4.1.	Rat serumunda kreatinin seviyelerinin karşılaştırılması.....	51
Şekil 4.2.	Rat serumunda üre seviyelerinin karşılaştırılması.....	52
Şekil 4.3.	Böbrek dokusundaki SOD aktivitelerinin karşılaştırılması.....	54
Şekil 4.4.	Böbrek dokusundaki GSH seviyelerinin karşılaştırılması.....	55
Şekil 4.5.	Böbrek dokusundaki MDA seviyelerinin karşılaştırılması.....	56

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1	Antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması...	38
Tablo 3.1.	Deney Planı.....	43
Tablo 4.1.	Rat serumunda ölçülen Kreatinin ve Üre Sonuçları	50
Tablo 4.2.	Rat böbrek dokusunda ölçülen SOD, GSH ve MDA Sonuçları	52

1. GİRİŞ

Akut böbrek yetmezliği böbreğin hasar görmesi sonucu meydana gelen böbrek fonksiyonlarının ani azalma olayıdır. Bu durumda normalde böbreklerin çıkardığı azotlu ve azotsuz atıkları olan üre ve kreatinin gibi bileşenler vücutta birikir. Akut böbrek yetmezliğinde özellikle bu azotlu atıkların birikintisi metabolik asidoz ve hiperkalemi gibi metabolik bozukluklara ve bununla birlikte vücudun sıvı dengesinin değişimine ve diğer organ fonksiyonlarının da bozulmasına yol açar.¹⁻³ İlaçlara bağlı oluşan böbrek fonksiyon bozukluğu oldukça geniş bir konudur ve ağrı kesici ilaçların sık kullanılması da bu konuya olan ilgiyi artırmaktadır.

Asetaminofen ya da N-asetil-p-aminofenol olarak da bilinen parasetamol, antipiretik (ateş düşürücü) ve analjezik (ağrı kesici) bir ilaç olup tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır.⁴ Parasetamol, özellikle son 50 yıldır tüm dünyada yaygın olarak kullanılan, terapötik dozlarda güvenli olması ve yan etkilerinin de az olması dolayısıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Kolay ulaşılabilir olması ve sık kullanılması nedeniyle parasetamole bağlı toksisite riskini de arttırmaktadır.^{5, 6} Parasetamol dünya çapında toksisitesinin başlıca nedenlerinden biridir⁷ ve aşırı dozda alındığında yaygın olarak karaciğer⁸ ve böbrek hasarına neden olmaktadır.⁹

Parasetamolün tek seferde çocuklarda 150 mg/kg, yetişkinlerde ise 7.5 gr'ın üzerinde alınması⁵ veya 24 saat içerisinde çocuklarda 250 mg/kg, yetişkinlerde 12 gr'dan fazla alınması^{10, 11} toksisiteye neden olmaktadır. Parasetamol büyük oranda karaciğerde sülfat ya da glukronik asit ile konjuge edilerek metabolize edilir. Parasetamol terapötik dozlarda alındığında küçük bir kısmı sitokrom p450 enzimi (CYP-450) ile oldukça reaktif ürünü olan N-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) dönüşür. NAPQI metaboliti oldukça reaktif bir elektrofilik molekül olup karaciğerde glutatyonla detoksifiye edilerek idrarla atılır.^{12, 13} Parasetamol aşırı dozda alındığında,

NAPQI miktarı artar ve glutatyonun bağlama kapasitesini aşarak karaciğer ve böbrek hasarına sebep olur.¹² Analjezik nefropatisi, uzun süre ve aşırı miktarda analjezik kombinasyonu kullanımı sonrasında ortaya çıkan ve kronik interstisyel nefrit ve renal papiller nekroz ile karakterize olan bir tablodur. Parasetamol analjezik nefropatisine en sık yol açan ilaçlar arasında yer alır. Zararlı etkilerin temel mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, bu ilacın böbrekte sentezlenen vazodilatör prostaglandinleri azaltarak yan etki yaptıkları düşünülmektedir. Renal vazodilatör prostaglandin sentezi normal fizyolojik koşullarda çok fazla değildir. Ancak hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, siroz, glomerüler hastalıklar, böbrek yetmezliği gibi durumlarda renal vazodilatör prostaglandin sentezi önem kazanmaktadır. Bu ilacın olumsuz etkileri de bu tür durumlarda daha çok görülmektedir. Bu etkileri kan basıncı üzerindeki etkiler, akut böbrek hasarı ve kronik böbrek hastalığı olarak gruplamak mümkündür.^{14, 15} Akut böbrek yetmezliğinde sebep olarak gösterilen bu mekanizmaların yanı sıra oksidatif hasarın da önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Biyolojik yapılarda oluşan bu oksitleyici hasarların sebebi serbest radikallerdir. Oksidan bileşikler ve aşırı oksitleyici stresin sebep olduğu serbest radikal üretiminin artması veya vücuttaki süpürücü etkinin azalması ile birlikte, oksidatif hasar meydana gelmektedir.¹⁶ Canlı dokulardaki hücreler reaktif oksijen türlerinin (ROS) hasarlarını önleyebilecek veya tamir edebilecek pek çok savunma mekanizmasına sahiptir. ROS'un tahribatları, primer ve sekonder olarak birçok makro ve mikro moleküller tarafından azaltılır.¹⁷⁻²⁰

Parasetamol toksisitesinin tedavisinde aktif kömür uygulaması, gastrointestinal dekontaminasyon, uygun zamanda N-Asetilsistein (NAC) kullanımı gibi çeşitli destekleyici tedavi yöntemleri bulunmaktadır.²¹ Bu tedavi yöntemlerinin yanı sıra alternatif tedavi yöntemleri özellikle de bitkisel tedaviler son zamanlarda oldukça yaygınlaşmıştır. Tedavi yaptığı ileri sürülen, ancak bu etkileri bilimsel metotlarla

kanıtlanamayan geleneksel veya güncel tıbbi uygulamalar olarak bilinen alternatif tedavi yönteminin başlıcası bitkisel tedavilerdir ve bitkisel tedavi amacıyla kullanılan şifalı bitkilerden biri de *Nigella sativa* L.'dir.

Nigella sativa L. halk arasında çörek otu olarak da bilinen ve hem gıda olarak hem de tedavi amaçlı sıkça tüketilen bir bitkidir. Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller) familyasından *Nigella* türüdür. Bitki ismini siyah tohumlarından almıştır ve halk arasında hem besin olarak hem de tedavi edici olarak tohumlarından faydalanılmaktadır. Bitkinin tohumlarında önemli miktarda uçucu ve sabit yağ bulunmaktadır. İçeriğindeki uçucu ve sabit yağlarda güçlü antioksidan aktiviteye sahip bileşenler bulunmaktadır. Bu bileşenlerden en önemlileri arasında flavonoid ailesinin üyesi olan kuersetin, kaempferol ve rutin göze çarpmaktadır. Son zamanlarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalar da bu bitkinin birçok terapötik etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur.

Nigella sativa L.'nin antioksidan aktiviteye sahip olması, lipid peroksidasyonunu önlemesi ve serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynayacağı düşüncesiyle nefrotoksisitede faydalı olacağı kanısıyla bu çalışmayı planladık. Bu çalışmadaki amacımız; ratlarda parasetamolle indüklenen böbrek toksisitesinde antioksidan özellik gösteren NS'nin etanol ekstresinin etkilerinin biyokimyasal olarak incelenmesidir. Bu amaçla parasetamol toksisitesi oluşturulmuş ratlarda NS etanol ekstresi uygulaması sonucu elde edilen serumlarda böbrek fonksiyon testleri olan üre ve kreatinin seviyeleri ölçülecek, böbrek dokularında ise oksidatif stresin oluşturduğu hasarın önemli göstergeleri olan süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ile malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerinde ne gibi farklılıklar olduğunu kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi ve Fizyolojisi

Her biri yaklaşık bir yumruk büyüklüğünde ve 150 gr olan böbrekler retroperitoneal boşlukta yer alan organlar olup, karaciğerin pozisyonundan dolayı sağ böbrek sola nazaran biraz aşağıdadır. Böbreğin yetişkin bir insandaki boyutları kişinin vücut yüzey alanıyla değişmekle birlikte yaklaşık olarak: uzunluğu 12–13 cm, eni 6–7 cm ve derinliği 3 cm'dir.²²

Böbrek cortex renalis ve medulla renalis olmak üzere iki kısma ayrılır. Bu iki bölümün fonksiyonları birbirinden farklıdır. Cortex renalis idrar yapan oluşumları içerirken, Medulla renalis ise toplayıcı kanallardan oluşur.

Böbreğin en küçük anatomik ve fonksiyonel ünitesi nefrondur. Her bir böbrekte yaklaşık 1.000.000 - 1.200.000 nefron bulunur. Nefron glomerulus, proksimal kıvrımlı tübül, henle kulpu, jukstaglomeruler aparat ve distal kıvrımlı tübülden oluşur. Kan glomerulusa afferent arteriol ile gelir ve efferent arteriol ile glomerulustan ayrılır. Glomerulusta Bowman kapsülü ile çevrelenmiş bir kapiller ağı yer alır. Kanın filtrasyon işlemi glomerulusta gerçekleşir. Sağlıklı bir glomerulusta oluşan filtratta su, suda çözünen maddeler plazmada bulunan diğer küçük moleküller bulunur. Glomeruler kapiller duvarı plazma proteinlerinin geçişini önleyen bir bariyer oluşturduğundan, plazma proteinleri filtrata geçemez. Hastalık durumunda glomeruler membran yapısı bozulduğundan filtrata ve idrara protein ve hücreler geçer.

Böbrekler kanda bulunan metabolik atıkların ve yabancı maddelerin eliminasyonunu sağlar. Ayrıca böbrekler vücudun su-elektrolit dengesinin sürdürülmesi, kan asit-baz dengesinin sağlanması, glutamik asitten glutamin üreterek hidrojen iyon homeostazının sağlanması, kan basıncını düzenlemek amacı ile renin, alyuvar

üretiminde görev alan eritropoetin ve vitamin D'nin en aktif formu olan 1.25-dihidroksi vitamin D3 hormonlarının salgılanması gibi birçok metabolik proseste rol alırlar.²³⁻²⁵

2.2. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği, renal fonksiyonların kaybı ve buna bağlı olarak üre ve kreatinin gibi azot içeren artık ürünlerin birikmesi ve sıvı elektrolit dengesindeki anormalliklerle ortaya çıkan bir durumdur.²⁶

Akut böbrek yetmezliğinin temel fizyolojik etkisi kanda ve ekstraselüler sıvıda su, metabolik ürünler ve elektrolitlerin birikiminden kaynaklanmaktadır. Bu durum su ve tuz yüklenmesine dolayısıyla ödeme ve hipertansiyona yol açabilir. Glomerüler filtrasyon hızının (GFH) akut azalması oluşan yıkım ürünlerinin (üre, kreatinin), sodyum (Na), hidrojen (H), potasyum (K), fosfor (P) gibi iyonların ve suyun atılımının bozulmasına sonuçta solüt ve suyun retansiyonuna sebep olur. Böbrek fonksiyon bozukluğunun süresine ve ağırlığına bağlı olarak bu ürünlerin birikimi ile metabolik asidoz, hiperkalemi, vücut sıvı denge bozukluğu ve çeşitli organ sistemlerine etkisi (çoklu organ yetmezliği) ile ortaya çıkmaktadır.^{27, 28}

Akut böbrek yetmezliğinin nedenleri üç başlık altında incelenebilir;

- 1) Prerenal akut böbrek yetmezliği: Serum kreatinin ve kan üre düzeyinde geri dönüşümlü bir artıştan dolayı olmakta glomerüler filtrasyon hızında azalmaya yol açan, böbreğe yetersiz kan akımı sonucu oluşan böbrek yetmezliğidir.
- 2) İntrarenal akut böbrek yetmezliği: Böbreğin bizzat içindeki kan damarlarını, glomerülleri veya tübülleri etkileyen anormallikler nedeniyle oluşur.
- 3) Postrenal akut böbrek yetmezliği: Ya iç ya da dış kütle tarafından üriner toplayıcı sistemin tıkanmasından kaynaklanmaktadır. Böbreğin dışında üriner sistemin tıkanmasına yol açan en önemli olaylar kalsiyum, urat veya sistin çökmesi sonucu böbrekte oluşan taşlardır.

Akut böbrek yetmezliği sıklıkla akut tübüler nekroz ile aynı anlamda kullanılmaktadır, ancak bu tanım prerenal ve postrenal akut böbrek yetmezliği nedenlerini içermemektedir. En yaygın sebebi iskemik veya toksik hasardan kaynaklanan akut tübüler nekrozdur. Akut tübüler nekroz, tübüllerdeki epitel hücrelerin tahribatı ile oluşmaktadır.^{26, 29-31}

2.3. Zehirlenmeler

Zehirlenmeler eski çağlardan beri toplumları ilgilendiren önemli sorunlardan biri olmuştur.³² Zehirlenme, vücut için zararlı olan maddelerin vücuda değişik yollarla girmesi sonucu organizmada doğal işleyişin bozulması olarak tanımlanmaktadır.³³ Zehirler; düşük dozda kullanıldığında tedavi edici madde olsalar da, yüksek dozda kullanıldıkları zaman öldürücü etki yaparlar. Paraselsus "Tüm maddeler zehirdir, ilacı zehirden ayıran dozudur" diyerek zehire doz kavramını getirmiştir.³⁴

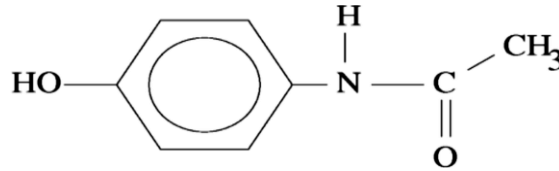
İnsanoğlu günlük yaşamında pek çok kimyasal maddeye veya biyolojik etkene, başta diyet yoluyla olmak üzere tıbbi, çevresel, mesleki nedenlerle bilinçli veya bilinçsiz akut veya kronik zehirlenmeye neden olan ajanlara maruz kalır. Toksikite oluşumunda dozun miktarı, temas süresi ve temas yolu oldukça önemlidir.^{35, 36} Zehirlenmelerde ölümler genellikle akut olarak ortaya çıkmaktadır.³³ İlaçlar (analjezik, antidepresan, antihistaminik, antihipertansif, antiepileptik vb.), tarım ilaçları ve böcek öldürücüler (organofosfatlı, karbamatlı, piretrin grubu vb.), ev içi kimyasallar (çamaşır suyu, lavabo açıcı, kireç çözücüler, deterjanlar, naftalin vb.), zehirli gazlar (karbonmonoksit, boğucu gazlar), diğer kimyasallar, bitki ve besinler (mantarlar, salon bitkileri, balık, delibal, kayısı çekirdeği, vb.) ve zehirli hayvan ısırma ve sokmaları (akrep, yılan, örümcek, arı vb.) en sık görülen akut zehirlenme etkenleridir.³⁷ Zehirlenmelere bağlı olarak gözlenen bazı belirti ve bulgulardan organlarda fonksiyon

bozukluklarına sıklıkla rastlanmakta ve hatta ölümlerle sonuçlanan vakalarda bulunmaktadır.³³

Zehirlenmeye yol açan etkenin belirlenip toksisitesinin tam olarak saptanması zehirlenmenin başarı ile tedavi edilebilmesi için gereklidir. Ancak zehirlenme etkenlerinin oldukça az bir kısmına karşı spesifik antidot bulunduğundan, zehirlenme olaylarının bir çoğunda semptomatik tedavi ve genel tedavi yöntemleri uygulanmaktadır.³⁸

2. 4. Parasetamol (Asetaminofen)

Parasetamol (Asetaminofen), dünyada en çok tüketilen analjezik-antipiretik ajanlardan biri olup, terapötik dozlarda kullanıldığında güvenli, yüksek dozda kullanıldığında ise karaciğer nekrozu, böbrek toksisitesi ve hatta ölüme neden olduğu deney hayvanları ve insanlarda yapılan çalışmalarda belirtilmiştir.³⁹



Şekil 2.1. Parasetamol'ün kimyasal yapısı

2.4.1. Parasetamolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Parasetamol, diğer bir adıyla asetaminofen $C_8H_9NO_2$ formülüne sahip, molekül ağırlığı 151,2 g/mol olan, sudaki çözünürlüğü az, sentetik yapıda olan bir bileşiktir. Fizyolojik pH'da zayıf bir asit olması nedeniyle aniyonize şekilde bulunur.⁴⁰ Parasetamol, para-aminofenol türevi olan fenasetin metabolitlerinden biridir. Erime noktası 170 °C, yoğunluğu 21 °C'de 1.293 g/cm³'dür.⁴¹ 4-hidroksiasetanilit veya N-asetil-p-aminofenol olarak da bilinen parasetamol kokusuz, beyaz, acımsı bir tadı olan kristal toz bir yapıya sahiptir.⁴²

2.4.2. Parasetamolün Emilimi ve Dağılımı

Parasetamol oral yolla alındığında gastrointestinal yoldan hızlı bir şekilde tamamen emilir ve etkisi erken başlar.⁴³ Yaklaşık 1 saat içerisinde doruk plazma konsantrasyonuna ulaşır. Yarılanma ömrü iki saat olup analjezik etkisi 3-4 saat kadar devam eder. Normal dozda eliminasyon ile yarılanma ömrü 2.4 saat iken aşırı dozda ise eliminasyonu 7.3 saate kadar çıkabilir. Gastrointestinal toksisitesinin düşüklüğü nedeniyle tam dozda, antiinflamatuvar analjeziklerin düşük dozları ile de kombine edilmektedir.⁴⁴

Yapılan çalışmalarda en yüksek ilaç konsantrasyonu karaciğer, böbrek ve gastrointestinal kanalda olduğu belirtilmiştir. Beyine geçişi ise diğer dokuların aksine çok daha yavaş olmaktadır. Parasetamolün çok küçük bir kısmı ise eritrositlere bağlanmaktadır. Aynı zamanda parasetamolün rektal yoldan da emilimi olup hızı yavaştır.⁴⁵⁻⁴⁷

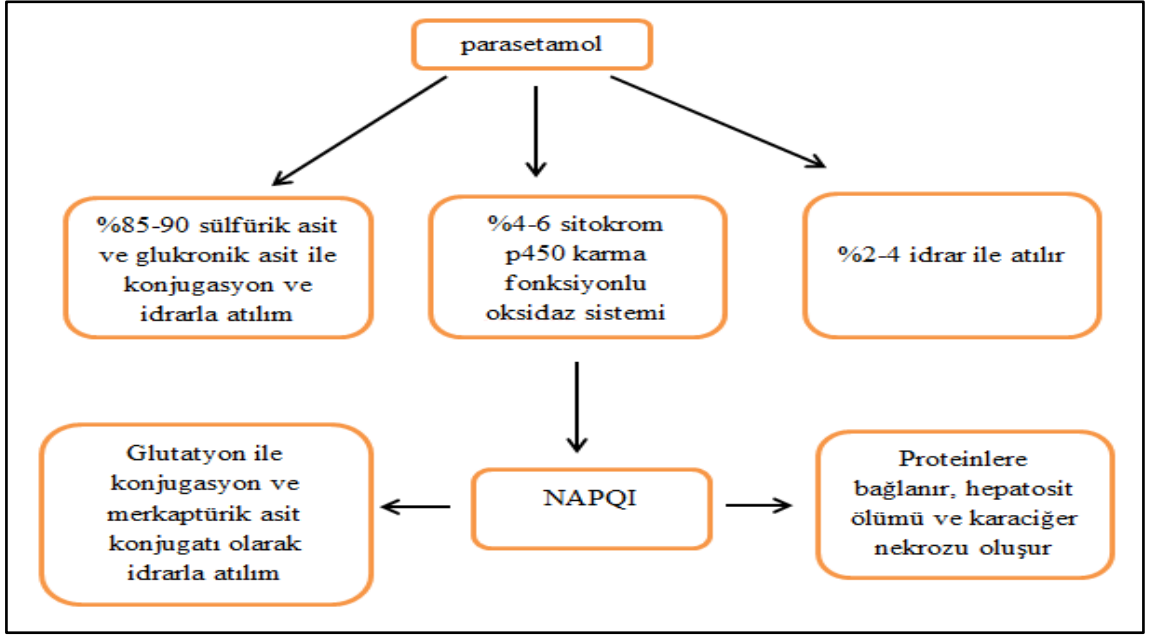
2.4.3. Parasetamolün Metabolizması

Metabolizması esas olarak karaciğerde gerçekleşen parasetamolün bir kısmında barsak ve böbreklerde de metabolize edilir. Parasetamol terapötik dozlarda alındığında yaklaşık % 80-85'i glukuronid-sülfat konjugasyonu şeklinde, % 10-15' sitokrom P450 (CYP450) enzim sistemi ile metabolize edilirken, %2-5' ise hiçbir değişime uğramadan idrarla atılmaktadır.⁴⁸

Parasetamolün büyük bir kısmı glukuronidasyon ve sülfasyon yolları ile sülfat ve glukuronid konjugatlarına dönüşerek yaklaşık % 30-55'lik kısmı glukuronid ve sülfat konjugatı olarak idrarla atılırken, glukuronid konjugatının az miktarı safrayada verilir. Parasetamolün glukuronidasyon kapasitesi daha yüksek iken sülfasyona olan ilgisi daha fazladır.^{12, 49, 50}

İnsanlarda parasetamol metabolizmasında işlev gösteren en önemli CYP450 enzimi, parasetamolün terapötik doz alımında CYP3A4, intoksikasyon ve daha yüksek doz parasetamol alınımında ise CYP2E1 ve CYP1A2 enzimleridir.^{12, 45} Parasetamol küçük bir oranda sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izozimleri) ile N-hidroksilasyona uğrar ve reaktif ara ürünü olan N-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI)'i oluşturur.^{51, 52} Bu metabolit proteinlere kovalent olarak bağlanarak zarar verir ve fizyolojik koşullarda glutatyondaki sülfidril grupları ile reaksiyona girerek zarar vermeden merkaptürik asit ve sistein konjugatları şeklinde idrarla atılmaktadır.^{12, 13, 51, 53} NPAQI'nın karaciğerde hasar oluşturabilmesi için parasetamol'ün yüksek dozlarda alınması gerekir. Bu reaktif ürünün GSH depolarını tamamen tüketmesinden dolayı karaciğer hasarına neden olur.⁵⁴

Mugford ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, NAPQI ve p-aminofenol'ün sıçanlarda parasetamolle uyarılan böbrek toksisitesiyle ilişkili olduğuna dair kanıtlar gösterilmiştir.⁵⁵ Parasetamol böbreklerde deasetillenerek bir nefrotoksin olan ve renal kortikal nekroz oluşturan p-aminofenol metabolitine dönüşür. Parasetamolün Terapötik dozlarda alınımında oluşan p-aminofenol karaciğerde NAPQI metabolitine benzer şekilde glutatyonla konjuge edilerek inaktif glutatyon konjugatları şeklinde atılır. Bunun yanında parasetamolün böbrek korteksinde de sitokrom P450 enzim sistemi ile oksidasyonu sonucu ortaya çıkan reaktif ara ürünler böbrek korteksinde hasar oluşturabilmektedir.⁵⁶



Şekil 2.2. Parasetamolün metabolizması⁵⁷

2.4.4. Parasetamol Toksisitesi

Parasetamol yüksek doz alınımından sonra konjugasyon yolu ile hızlı saturasyona uğrar ve CYP450 enzim sistemi ile okside edilerek NAPQI miktarında artışa neden olur. Hepatik GSH hızlı bir şekilde tüketilmeye başlar ve NAPQI artışı uzun süre tolere edemez. Sonuçta derişimi hızla artan NAPQI, nekroza ve hatta hücre ölümüne neden olmaktadır.^{12, 48}

Yapılan çalışmalarda yüksek doz parasetamol uygulaması sonrası karaciğer yetmezliği olmaksızın akut böbrek yetmezliğinde gelişebildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte parasetamolün uzun dönem terapötik doz uygulaması ile kronik böbrek hastalığı riskinde artışa neden olduğu gösterilmiştir.^{12, 45}

2.4.4.1. Karaciğer Toksisitesi

Parasetamolün CYP450 enzim sistemi ile oksidasyonu sırasında oluşan NAPQI karaciğerde toksisiteye neden olmaktadır. Parasetamolün GSH ile oluşturduğu konjugat hız sınırlayıcı basamak olarak rol oynamaktadır.¹² Yüksek dozda parasetamolün alınımı sonrasında bu metabolit oluşmaya devam ederek GSH depolarını tüketir ve toksik

etkilerin oluşumuna neden olur.⁴ Parasetamolün yüksek dozlarda alınması ile NAPQI'nın oluşumunda artış olur ve detoksifikasyon kapasitesini aşmış olur. GSH açığa çıkan fazla miktardaki NAPQI'ni bağlayamaz ve serbest halde fazla bulunan NAPQI karaciğerde büyük moleküllere kovalent olarak bağlanıp karaciğerde hasara yol açar ve bu hasar sonucu hepatik nekroz oluşur.⁵⁸ Yüksek dozda parasetamol alımına bağlı olarak karaciğer toksisitesinde hücre içi dengenin bozulmasında etkisi olduğu düşünülmektedir.⁵⁹ Hücre içi dengenin bozulması ile Ca^{+2} birikerek hücre ölümüne neden olan katabolik enzimlerin miktarlarında artış meydana gelir. Nitrik oksit (NO), reaktif oksijen türleri (ROS), lipid peroksidasyonu ve apoptozisinde karaciğerde toksisiteye yol açtığı bilinmektedir.⁶⁰

Oksidatif stresin parasetamol toksisitesinde önemli rol oynadığı kabul edilip, parasetamol'ün NAPQI'ya oksidasyonundaki artışı, süperoksit radikali ($O_2\cdot^-$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumlarında artışa sebep olmaktadır. NAPQI'nın oksidatif kapasitesi yüksek olması nedeniyle oluşan tiyol oksidasyonunun karaciğer toksisitesinin ana nedeni olduğu düşünülmektedir. NAPQI'nın GSH'ı okside etmesi ile hücrede GSH/Okside glutatyon (GSSG) ve Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)/NADP⁺ oranı azalmaktadır. GSH derişimindeki bu azalma, glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır. NAPQI proteinlerin sülfidril gruplarının oksidasyonu ile protein-protein ve protein-GSH arasında disülfid köprüleri oluşmaktadır. NAPQI ve proteinler arasındaki kovalan bağlanma hücre fonksiyonlarında azalmaya ve hücre ölümüne neden olmaktadır.

Parasetamol toksisitesi ile oluşan oksidatif stresle lipit peroksidasyonu eş zamanlı gelişebilmektedir. Parasetamol'ün CYP450 enzim sistemi ile metabolizasyonu sonucu NAPQI ve $O_2\cdot^-$ oluşmaktadır. $O_2\cdot^-$ derişimindeki artış hidrojen peroksit (H_2O_2) ve

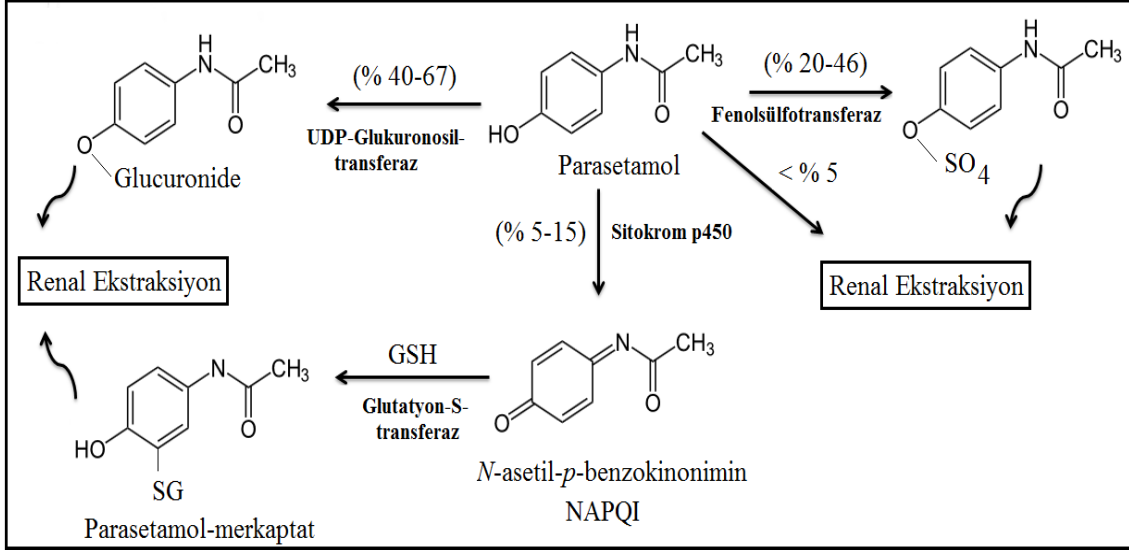
buna bağlı olarak hidroksil radikali (OH·) oluşumundaki artış takip eder. Bu oluşan OH· lipitlerle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunu başlatmaktadır.¹²

2.4.4.2. Böbrek toksisitesi

Yapılan çalışmalarda yüksek doz parasetamol alımından sonra prostoglandin endoperoksit sentaz (PGES), N-deasetilaz ve CYP450 enzimlerini içeren yollar oluşan böbrek toksisitesi mekanizmasında rol oynamaktadır.⁶¹ Toksik hasar böbrek proksimal tübüllerinde gelişmekte olup glomerüler filtrasyon hızı azalmaktadır.¹² Karaciğerde olduğu gibi böbrekte de renal mikrozomlarda P450 enzim sistemi ile parasetamol okside edilir. Karaciğer ve böbrekteki CYP450 enzimleri arasında farklılıklar olmasına rağmen, parasetamolün NAPQI oksidasyonunu katalizleyen CYP450 enzim aktivitesi benzer yapıdadır.⁶² Bu parasetamole bağlı akut böbrek hasarında biyokimyasal mekanizmalarla gerçekleştiğini gösterir. Parasetamol böbreklerde 4-aminofenol'e deasetillenerak toksik etki gösterir.⁶¹ CYP450 enzimleri ile oksidasyonu ve GSH kaynaklı konjugatları parasetamol kaynaklı nefrotoksisitede önemli role sahiptirler. Böbrek toksisitesi oluşumunda CYP2E1 enziminin önemli olduğu düşünülmektedir. Hu ve ark., yaptıkları çalışmada farelerde testosteron uygulamasının parasetamol'le oluşan böbrek toksisitesini azalttığını göstermişlerdir.⁶² Böbreklerde bulunan PGES parasetamolün toksik metabolitlere dönüşümünü aktive eder. Bu metabolizma böbreğin medullasında gerçekleşir. Toksik metabolitler hücresel proteinlere kovalant bağlanarak hücre ölümü ve dokuda nekroza sebep olur.

Böbrek korteksinde N-asetilasyon ile oluşan NAPQI ve 4-aminofenol GSH depolarının tükenmesi sonucu birikir. NAPQI membranlara ve sülfidril proteinlere bağlanıp böbrekte toksik etki gösterirken, p-aminofenol de renal makromoleküllere kovalan bağlarla bağlanarak böbrekte hasara neden olur.⁵⁵ Parasetamol ile indüklenmiş renal yetmezlik akut tübüler nekroz ile ilişkilidir. İdrar analizleri renal yetmezliğin diğer

nedenlerini bu durumdan ayırt etmek için kullanılabilir. Akut tübüler nekroz sırasında idrar sedimentasyonu hematüri ve piyüri ile birlikte artmıştır. Bunun yanında böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için serum üre ve kreatinin düzeyleri de parasetamol toksisitesi nedeni ile böbrekte oluşacak hasarı değerlendirmede kullanılabilir.^{61, 63}



Şekil 2.3. Parasetamolün böbreklere geçişi⁶⁴

2.5. Parasetamol Toksisitesinde Teşhis

Parasetamol ağrı, ateş, soğuk algınlığı ve nezle gibi durumlarda çok sık kullanılan, reçetesiz alınabilen, terapötik dozda kullanıldığında tolere edilebilen analjezik ve antipiretik bir maddedir.⁶⁵

Klinik bulgular dört evrede gerçekleşir:

1. Evre (0-24 saat): Karın ağrısı, diare, iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, letarji, genel kırıklık ve terleme görülmektedir. karaciğer fonksiyon testleri normal veya değerler minimum düzeyde bozulmuştur.⁶⁶

2. Evre (24-72 saat): Karaciğer hasarı belirgin hale gelmiştir. Semptomlar geçici olarak kaybolmakta ve biyokimyasal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu biyokimyasal değişiklikler karaciğer transaminazlarında yükselme, bilirubin seviyesi artış ve protrombin zamanında uzama olarak gözlenir. Faz 2'nin sonlarına doğru ise

hepatomegali görülebilir. Sağ üst kadranda yerleşmiş ağrı dikkati çeker ve bu evrenin sonlarına doğru sarılık görülmektedir.

3. Evre (72-96 saat veya daha uzun): Hepatotoksisite pik yapar ve karaciğer enzim anomalileri bu safhada en üst seviyeye çıkmış olup oligoüri ve akut tübüler nekroz da görülebilmektedir. Gastrointestinal semptomlar yeniden başlar, kusma yeniden ortaya çıkar veya daha da kötüleşir. Bu belirtilere halsizlik, fiziki muayenede rahatlıkla tespit edilir hale gelen sarılık ve konfüzyon, uyku hali veya koma gibi santral sinir sistemi bulguları ortaya çıkar ki bu bulgular faz 3'ün önemli bulgularıdır ve çok hızlı hareket edilmesi gerektiğini gösterir. Hepatoselüler hasar ve parasetamole bağlı ölüm en sık bu safhada görülmektedir.^{67, 68}

4. Evre (96 saatten 14 güne kadar): Karaciğer hasarının düzeldiği ve enzimlerin eski haline geldiği iyileşme evresidir. Semptomların ve karaciğer fonksiyon enzimlerinin yavaş yavaş düzeldiği gözlenir ancak tam düzelme 3 ay kadar sürebilir.⁶⁷⁻⁶⁹

2.6. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi

2.6.1. Gastrointestinal Sistem Dekontaminasyonu

Parasetamol yüksek doz alınmında ilk olarak barsak dekontaminasyonu düşünülse de rutin kullanımı önerilmez. İpeka şurubu intoksikasyondan 1 saat sonra uygulandığında etkinliğin oldukça azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır.⁷⁰ Ayrıca oluşturacağı kusma nedeniyle oral NAC verilecek hastalarda kullanımı kontrendikedir. İntoksikasyonlu vakalarda gastrointestinal sistem (GİS) dekontaminasyonunun faydalı olduğunu gösteren çalışma bulunmamaktadır ve kullanılması da tavsiye edilmez.⁷¹

2.6.2. N-Asetil Sistein (NAC)

1974 yılın Prescott ve Matthew ilk olarak NAC'nin parasetamol toksisitesinde kullanılabilirliğini göstermiş olup 1977 yılında 15 hasta üzerinde etkinliğini

ispatlamışlardır.^{72, 73} NAC uygun zamanda ve yeterince uygulanırsa parasetamole bağlı hasarları büyük oranda önleyebilir.⁷¹ NAC hücreye girdikten sonra sisteme metabolize olur ve GSH miktarını artırarak NAPQI ile direkt olarak bağlanmasını veya NAPQI oluşumunu önlemektedir.⁷⁴ Bu konudaki tartışmalar NAC'nin, verilme yolu ve verilme zamanı ile alakalıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 72 saatlik 1330 mg/kg oral rejim uygulanmaktadır. Kanada ve İngiltere'de ise 300 mg/kg'lık 20 saatlik intravenöz (IV) rejim uygulanmaktadır. Diğer bir rejim ise 980 mg/kg 48 saat IV uygulamasıdır.⁷⁵ Hayvan deneyleri, doz arttıkça NAC'ninde etkisinin arttığını göstermiştir. Parasetamol alımından hemen sonra parasetamole eşit dozda verilen NAC, büyük oranda toksisiteyi önlemektedir.⁷⁴ Parasetamol alımı ve NAC başlanması arasındaki sürenin azalması ölüm ve toksisite riskini önlemede etkilidir.⁷⁶ Onbirbin yüz doksan beş vaka ile yapılan bir çalışmada hepatotoksisite oranı; parasetamol alınımından sonraki ilk 10 saatte verilen NAC tedavisinde % 6.1, 10-24 saatleri arasındaki tedavide ise % 26.4 bulunmuştur.⁷¹ NAC'ın uygulama yolları ile etkisi arasında bir fark bulunmamaktadır.⁷⁶

2.6.3. Aktif Kömür Uygulaması

Oral aktif kömür uygulaması parasetamol zehirlenmesinin ilk 4 saatinde uygulanır ise etkin bir tedavi yöntemi olabilir. Gastrik gavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulaması arasında 20 hasta üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada aktif kömür uygulamasının kan parasetamol düzeyini önemli bir şekilde azalttığını göstermiş olup diğer yöntemlerden üstün olduğu gösterilmiştir.⁷⁷ Parasetamol zehirlenmesi ile başvuru yapan hastalarda yapılan çalışmalarda mide gavajı sonrası aktif kömür vermekle, tek başına aktif kömür verme arasında bir fark olmadığı gösterilmiştir.⁷⁸ Oral aktif kömür uygulaması tek doz olarak 1 gr/kg olarak verilmektedir.⁷⁷

2.7. Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerde dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron içeren veya elektron kabul eden moleküller radikal (veya serbest radikal) diye adlandırılmaktadır.⁷⁹⁻

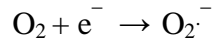
⁸¹ Herhangi bir atom veya molekülün dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektronun bulunması, kimyasal türün reaktifliğini artırır. Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine oksidan denir. Bu türevler hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri sebebiyle, hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, ribonükleik asit (RNA) gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyip hücre hasarına neden olur.⁸² Hücre intrasellüler normal metabolizma sonucu oluşan ve ekstrasellüler olarak ise UV radyasyon, iyonize radyasyon veya kısaca ksenobiyotik etkiler sonucu sürekli olarak serbest radikal türlerinin maruziyeti altındadır. Oksijenden oluşan bu serbest radikallere Reaktif Oksijen Species (ROS) denir. Bunlar hidroksil radikali (OH[•]), süper oksit radikali (O₂^{•-}), hidrojen peroksidi (H₂O₂)'dir. Nitrojenden oluşan serbest radikallere ise Reaktif Nitrojen Species (RNS) denir.⁸³ Başlıca RNS türleri arasında nitrik oksit (NO[•]), nitrit (NO₂^{•-}) ve nitratı (NO₃^{•-}) gösterebiliriz. ROS ve RNS'nin hücre içi oksidatif modifikasyon yapacağı hedefler arasında DNA, lipit ve proteinleri sayabiliriz.⁸⁴ Bunun yanı sıra bu modifikasyonların sırası ise; ROS'nin üretim yeri, oksitlenecek molekülün bağıl yeteneğine ve metal iyonlarının varlığı gibi birkaç faktöre de bağlıdır. ROS ve diğer serbest radikallerin saldırılarına karşı önlem için hücrelerde birçok savunma sistemi vardır. Bu savunma sistemlerinden en basiti vitamin C ve vitamin E gibi düşük molekül ağırlıklı antioksidan moleküllerdir. Bu moleküller kendi kendine reaktif hale gelmiş az reaktif radikaller olsalar da hücresel biyomoleküllere karşı zararı önlerler. Öte yandan daha kompleks yaklaşımları içeren SOD, Katalaz (CAT), Glutatyon Peroksidaz (GPx) gibi enzimler ise ROS'un miktarını yavaş bir şekilde sınırlandırır.^{83, 84} Biyolojik

sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir. Çünkü oksijen atomu orbitallerinde iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlarken, radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girmesini sağlamaktadır. Oksijen atomu orbitallerindeki elektronların farklı dizilimi ile süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna da neden olmaktadır. Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleride yer alır. Oksijenli (Aerobik) solunum yapan canlılar dışarıdan aldıkları besin maddelerini oksijen kullanarak enerjiye çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla oluştuğu canlı grubudur ve aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalmaktadırlar.^{85, 86}

2.7.1. Serbest radikal çeşitleri

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

Oksijen molekülünün içerdiği iki serbest elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit radikali oluşmaktadır.



Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunur. Süperoksit radikalının eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşumunu artırır.⁸⁵

Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olur. Çünkü SOD enzimi ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit (H_2O_2) çevrilmektedir. Süperoksit radikallerinin asıl zararları ise hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarındandır.⁸⁷ İki süperoksit radikalının bir araya gelmesi sonucu hidrojen peroksit meydana gelir.



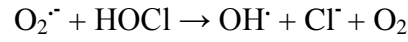
Süperoksit radikali ve peroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu da hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



Süperoksit radikalının nitrik oksit radikali ile birer eşleşmemiş elektronlarını kovalent bağlanmaları sonucunda peroksinitrit oluşur.⁸⁸

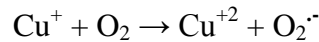
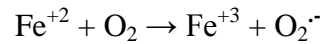


Hipoklorik asit (HOCl) oksijen metabolitleri ile reaksiyona girme özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi uyandırmıştır. Hipoklorik asitin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda oldukça güçlü oksidan olan OH[·] radikalının oluştuğu görülmüştür.^{79, 89}



Süperoksit anyonu hem indirgeyici hem yükseltgeyici özelliğe sahiptir. Adrenalin, dopamin, askorbat ve hidroksilamini oksitler nitrobluetetrazolium ve sitokrom c'yi indirger. Redüktan olarak görev yaptığında ferrisitokrom c'nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında ise epinefrinin oksidayonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksite indirgenir.^{79, 90}

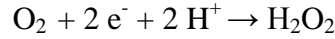
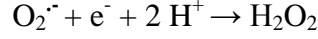
Diğer taraftan geçiş metallерinin otooksidasyonu sonucunda da süperoksit radikali oluşabilmektedir.⁹¹



Bu reaksiyonlar geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olup serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasında çok büyük öneme sahiptir.^{86, 90, 92}

2.7.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

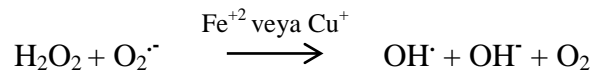
Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdaki iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir.^{93,94}



Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalının dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca urat oksidaz, glukoz oksidaz, ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler iki elektronunu oksijene vererek H₂O₂ oluştururlar.⁹⁴

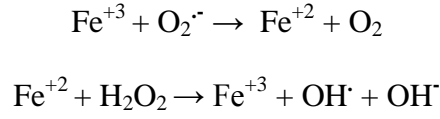


Hidrojen peroksit kendi başına çok zayıf oksidan özelliği gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. Hidrojen peroksit gerektiğinde hücreler tarafından selenyum içeren glutatyon peroksidaz, katalaz ve belirli peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılabilir. H₂O₂ serbest bir radikal olmadığı halde, ROS içine girer ve serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Çünkü Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.^{87,94}



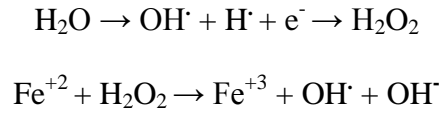
Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilir. Ancak katalizör olmadığı zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe⁺³) süperoksit tarafından ferro demir'e (Fe⁺²) indirgenir. Daha sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile

hidrojen peroksitten OH[·] ve OH⁻ üretilir.^{95, 96} reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekildedir.^{86, 91}

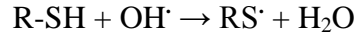


2.7.1.3. Hidroksil radikali (OH[·])

Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında yani Fenton reaksiyonu sonucu ve suyun yüksek enerji ile iyonlarına ayrılması ile oluşan son derece reaktif oksidan radikaldir. Hidroksil radikali özellikle biyolojik moleküller üzerine saldıran ve olduğu yerde büyük hasarlara neden olan oldukça hareketli bir oksidandır.⁹⁷



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



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

Belki de OH[·] radikalının en iyi tanımlanmış biyolojik hasarı lipid peroksidasyonunu stimüle etmesidir. Bu durum hidroksil radikallerinin membrana yakın bir yerde üretilmesi ve membran fosfolipit zincirinin yağ asidi tabakasına atak yapması ile meydana gelir.

2.7.1.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen eşleşmemiş elektron ya da elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen

enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur. Ancak orbitalinde içerdiği elektronların aynı yönlü olması singlet oksijenin diğer ROS ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijen özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için oldukça önemlidir.^{79, 98, 99}

2.7.1.5. Nitrik oksit (NO[•])

NO renksiz bir gaz olup, serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür. NO[•], L-arginin (Arg) amino asitinden in vivo olarak üretilmektedir. NO[•]'nun Arg'den sentezi Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından iki basamakla gerçekleşir. NO çok yönlü bir biyolojik haberci molekül olup, farklı biyolojik etkilere sahip olabilen bir kimyasal türdür. Başlangıçta çeşitli biyolojik fonksiyonların regülasyonunda görev alan, hücre içi ve hücreler arası bir haberci molekül olarak tanımlanmıştır.⁸³ Bu görevlere tipik örnek olarak sinir sistemindeki nörotransmitter fonksiyonu ve damar düz kaslarının gevşemesine olan etkileri sayılabilir.

2.7.2. Serbest radikal kaynakları

Serbest radikaller organizmanın normal yaşamını sürdürmesi için gerekli olan metabolik faaliyetlerini devam ettirmesi için gerekli olan reaksiyonların sonunda oluşabildiği gibi stres ve radyasyon gibi çevresel faktörlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen radikal kaynakları olmak üzere ikiye ayrılır.⁸⁶

2.7.2.1. Eksojen radikal kaynakları

İlaç oksidasyonları, radyasyon, güneş ışığı, UV-ışınları sigara dumanı, egzoz gazları, kükürdioksit, çevresel ajanlar ve strestir.^{79, 100, 101}

2.7.2.2. Endojen radikal kaynakları

a. Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Normal ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturur.^{91, 102}

b. Enzimler ve proteinler: Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna neden olurlar.⁹⁰

c. Mitokondriyal elektron taşınması: Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynaklarından biri elektron taşıma sisteminden (ETS) sızan elektronlardır. Mitokondriyal ETS'den elektron iki yerde sızmaktadır. Birincisi, NADPH-dehidrogenaz basamağında, ikinci olarak koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızması görülmektedir. ETS'nin son basamağında elektronların O₂'ye taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin % 97-99'unu harcayarak suya indirger. Ancak O₂'nin % 1-3'ü, elektron transport zincirinden sızan elektronlarla bir araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini artırır.¹⁰³

d. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri: Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Membrana bağlı sitokrom p450 ve b₅, doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler.¹⁰⁴

e. Peroksizomlar: Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar O₂⁻ üretmeden, bol miktarda H₂O₂ üretimine sebep olurlar. Ancak CAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H₂O₂ geçtiği bilinmemektedir.^{79, 104}

f. Plazma membranı: Plazma membranı serbest radikal üretimi için kritik bir yer oluşturmaktadır. Ekstraselüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre komponentlerine ulaşmadan önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonların oluşmasına da neden olabilirler. Membranda yer alan fosfolipitler, glikolipitler, gliseridler ve membran proteinleri serbest radikallerden etkilenirler. Lipit peroksidasyonu veya yapısal proteinlerin oksidasyonu sonucu membran permabilitesinde bozukluklar meydana gelmektedir.^{105, 106}

2.7.3. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller etkilerini özellikle canlı hücreler için yaşamsal öneme sahip olan DNA, yağlar ve proteinlere saldırarak gösterirler. Mitokondride oksijenli solunum sonucunda meydana gelen serbest radikallerin alveolar epitel tabakada ve DNA ya zarar vererek yapısal ve metabolik çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir.^{107, 108}

2.7.3.1. Membran lipitleri üzerine etkileri

Membranlar üzerindeki birçok bileşik ve molekülün serbest radikallerden etkilenmesine rağmen, radikallerin en belirgin etkileri yağ asitleri üzerine etki ederek LPO'yu başlatmaları olarak bilinir. LPO, polidoymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden birçok biyolojik yapıda hasarlara neden olan reaksiyon sürecidir. LPO membranlarda oluşturduğu yıkıcı etkisi genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan OH[•] radikalinin membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.^{79, 109, 110}

Lipit hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonlarında bozukluklar meydana gelir. Ayrıca Lipit hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizörlüğünde yıkılması sonucu çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. LPO

sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri MDA ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup hasarlı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir.^{111, 112}

2.7.3.2. Karbohidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbohidratlar üzerinde de önemli etkileri bulunmaktadır. Monosakkaritlerin oto oksidasyonu sonucu peroksitler ve okzalaldehitler oluşur. Bu oluşan ürünler diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklardada önemli rol oynamaktadırlar. Okzalaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanıp çapraz bağlar yapabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylelikle kanser, inflamatuvar eklem hastalıkları, katarakt oluşumu ve yaşlanma olaylarında önemli rol oynamaktadırlar.^{48, 79, 113}

2.7.3.3. DNA üzerine etkileri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler "DNA hasarı" olarak adlandırılır.¹¹⁴ İnsan genomik DNA'sının bütünlüğü farklı DNA hasarlarına neden olan ultraviyole, X-ışınları, kimyasal bileşikler gibi çevresel faktörlerin etkisiyle ve aynı zamanda hücrel metabolizmanın yan ürünü olarak üretilen serbest radikaller gibi endojen ajanlar da DNA'da farklı mekanizmalar ile; baz ve şekerde lezyonlara, tek ve çift zincir kırıklarına, abazik bölgelere, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım modifikasyonlara neden olur.¹¹⁵⁻¹¹⁹ DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. $Fe^{+2/+3}$ ve $Cu^{+1/+2}$ iyonları negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı bulunabildikleri gibi oksidatif stres

altında hücre içinde bulunan demirli ve bakırlı proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedirler. OH[•] radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve baz modifikasyonlarına yol açar. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katılma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer ve DNA hasarına neden olurlar.¹²⁰ Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse mutasyonlara da neden olabilir. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer.^{121, 122} Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir.^{122,}¹²³ ROS'ye bağlı olarak DNA'nın oksidatif hasarı sonucu yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları, dejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıklar görülebilir.^{84, 124}

Aynı zamanda RNS'de (NO₂, ONOOH, N₂O₃, HNO₂) DNA bazlarının nitrolanmasına veya deaminasyonuna neden olmaktadır. RNS etkisi ile sitozinden urasil, guaninden ksantin ve adeninden hipoksantin oluşmaktadır. ONOO⁻ guaninden 8-nitroguanin ve hipoksantin oluşturabilir. 8-nitroguanin DNA yapısı içinde dayanıksız olduğundan spontan olarak depürinasyona uğrar ve abazik alanların oluşmasına neden olur.^{125, 126}

2.7.3.4. Proteinler üzerine etkileri

Proteinler, lipitlere göre serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Proteinlerin radikaller ile reaksiyona girmesi sonucu karbon merkezli radikaller ve

sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde parçalanmalar, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelebilir. Birçok biyokimyasal yapının ve özellikle enzimlerin yapısında bulunan proteinlerin hasar görmesi sonucu hücrenin normal fonksiyonlarında bozukluklar ve enzim aktivitelerinde aksaklıklar meydana gelir.^{79, 127}

2.8. Antioksidan savunma sistemleri

Canlılar serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için hem hücre içerisinde hem de hücre membranının da etki gösteren birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar gerek radikal üretimini engelleyerek gerekse oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır. İşte canlı organizmaların oluşturduğu bu sisteme antioksidan savunma sistemi veya kısaca antioksidanlar denilmektedir. Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir.^{104, 128}

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:¹²⁹

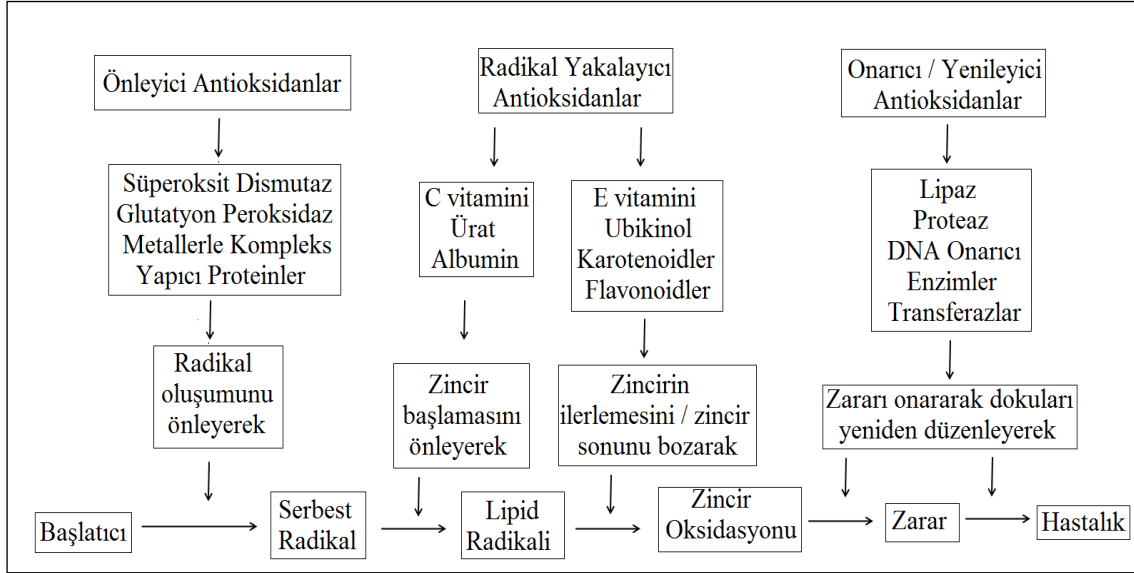
1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

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

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

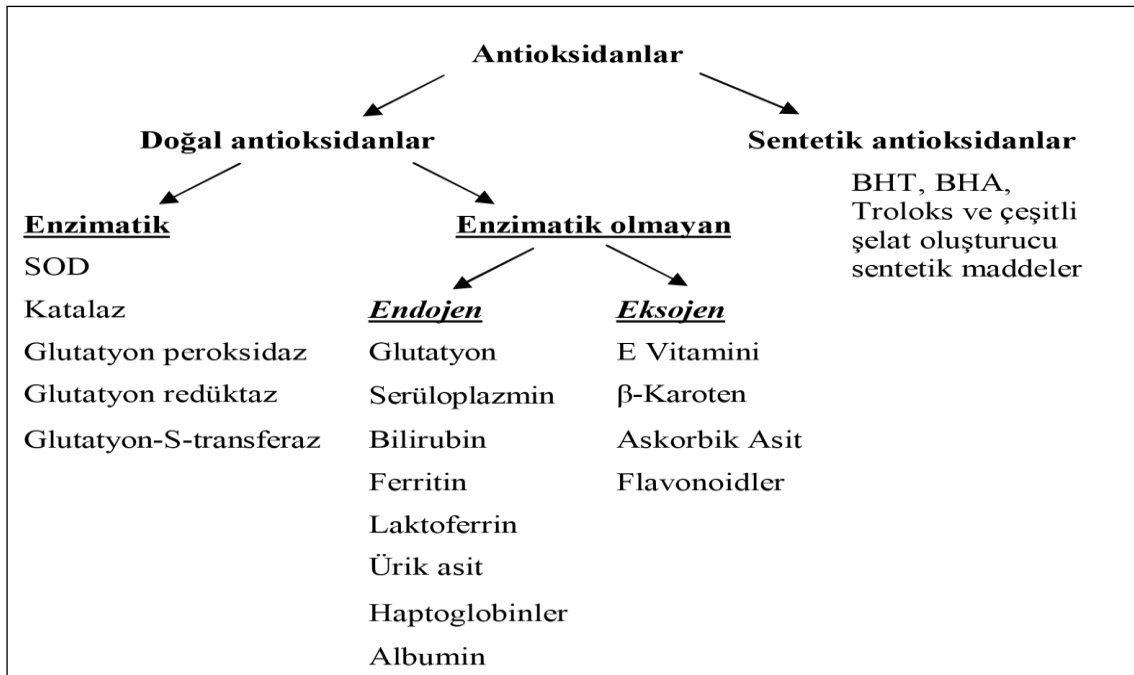
4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı etkidir**.

Serbest radikallere karşı işlev yapan antioksidan gruplar ve özellikleri Şekil 2.3.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Antioksidanların serbest radikallere karşı etkileri¹³⁰

Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmakla beraber serbest radikal oluşumunu engelleyen ve mevcut radikalleri etkisiz hale getirenler veya enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilir. ¹⁰⁴

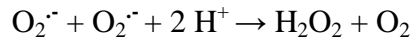


Şekil 2.5. Antioksidanların sınıflandırılması¹³¹

2.8.1. Endojen (Doğal) antioksidanlar

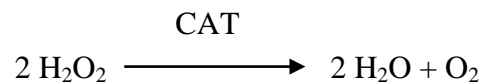
Primer antioksidanlar (Enzimler)

SOD Enzimi: Bu enzim süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD'nin aktivitesi yaş artışıyla beraber artar. SOD yaklaşık olarak bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tipi vardır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik bakır (Cu) ve çinko (Zn) ihtiva eden Cu-Zn-SOD, extraselular etki gösteren Cu-Zn-SOD ve mitokondri de bulunan tetramerik mangan (Mn) ihtiva eden Mn-SOD izomerlerdir. SOD'nin Fe ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. SOD'nin tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilirler.^{132, 133}



Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği ve hatta iki enzimin bir kompleks haline getirilip fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin giderilmesinde daha etkili olacağı düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksit oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir.¹³⁴

Katalaz Enzimi (CAT): Katalaz, tüm canlı hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, dört tane alt grup içeren ve her bir alt grubu 60,000 dalton ağırlığında olan enzimdir. Bu enzimin en önemli görevi hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizlemektir.¹³⁵

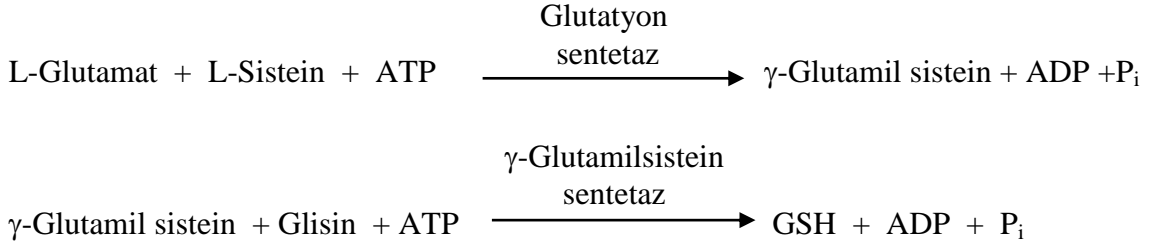


CAT enzimi daha çok peroksizomlarda lokalizedir. CAT'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük

moleküllü Lipit hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır.⁷⁹

Sekonder antioksidanlar

Glutatyon (GSH): GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir. GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir.



GSH, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak sülfhidril tamponu görevini görür. İndirgenmiş glutatyon yani GSH, aktif bölgesinde selenyum iz elementini içeren bir enzim olan GPx enzimi katalizörlüğünde H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler ve H₂O₂'yi alyuvarlardan uzaklaştırır. H₂O₂ birikmesi hemoglobinin methemoglobine oksidasyon hızını artırarak alyuvarların yaşama süresini azaltabildiğinden bu tepkime çok önemlidir. Ayrıca alyuvarlarda hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu ile süperoksit oluşurken diğer dokularda ise bu CYP-450 redüktaz ve XO gibi enzimlerle oluşur.^{136, 137}

GSH, H₂O₂'yi veya organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye edebilir. GSH peptid bağından dolayı düşük enerjili bileşikler arasında kabul edebiliriz. GSH, hücre proteinlerini indirgenmiş şekilde tutan disülfid-sülfidril değişimi tepkimelerinde etki gösterir. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan hidrojen peroksidi uzaklaştıran enzim GPx'e substratlık yaparak proteinlerin sülfidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda

H₂O₂ birikir. GSSG, glutatyon redüktaz tarafından sürekli GSH'ye indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.¹³⁸

2.8.2. Eksojen (Sekonder) Antioksidanlar

C vitamini Sulu ortamlarda geniş antioksidan kapasiteye sahip, lipit ortamların güçlü antioksidanı olan vitamin E'nin antioksidan etkisini andıran rol üstlenerek kan ve vücuttaki diğer sıvıların primer antioksidan savunmasını gerçekleştirir. Vitamin C organizmada çeşitli hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgen olarak rol oynamaktadır. Safra asitlerinin sentezinde ve demirin emiliminde önemli fonksiyonlara sahiptir.⁸¹ Askorbik asit antioksidan mekanizması singlet oksijenin süpürülmesi ve moleküler oksijenin ortadan kaldırılması esasına dayanmaktadır.

E Vitamini, ilk olarak 1922 yılında izole edilmiş tokoferol yapısında olup alfa, beta, gama ve delta olarak adlandırılan dört tokoferol karışımıdır. Doğal dağılımı en geniş ve biyoaktivitesi en fazla olanı α -tokoferoldur. α -tokoferol dokularda değişik dritişimlerde bulunmaktadır. E vitamini mitokondri ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre kısımlarında yüksek konsantrasyonlarda bulunur. E vitamini yağda çözünen bir vitamin olup temel görevi lipitleri oksidatif hasardan korumaktır. İnce barsaklardan kolayca emilir ve vücudun tüm dokularına taşınarak hücre membranları etrafında depolanır. Böylece hücre membranında koruyucu bir tabaka oluşturmuş olur.^{79, 81}

2.9. Oksidatif Stres Hipotezi

Oksidatif stresin genel bir tanımı, prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan yönüne kayması sonucu potansiyel hücresel hasarlara yol açması durumudur.⁸² Organizmada serbest radikallerin oluşumu ile bunların ortadan kaldırılması sürekli bir denge halindedir. Oksidatif denge dediğimiz bu durum sürdürülebildiği sürece serbest radikaller organizmada herhangi bir patolojik sonuç doğurmamaktadır. Ancak serbest

radikallerin oluşum hızında artış ya da ortadan kaldırılma hızında bir azalma olduğunda ‘oksidatif stres’ olarak adlandırılan süreç gözlenmekte ve bu durum doku hasarı ile sonuçlanmaktadır.¹³⁹ Bununla birlikte, oksidatif stres durumunun ölçümü, düzeltme ve onarımı yapan kompleks endojen savunma sistemlerin olmasından dolayı zor olabilir. Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu olabilir. Bu nedenle, oksidatif stres biyobelirteci olarak antioksidan tüketiminin araştırılması antioksidan miktarlarındaki azalış veya onların metabolitlerindeki artışın değerlendirilmesi ile olabilir.¹⁴⁰

2.10. *Nigella sativa* L. (Çörek otu)

Nigella sativa L. (NS) Ranunculaceae (dügün çiçeğigiller) familyasından olup günümüzde başta Doğu Akdeniz ülkeleri olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak tarımı yapılan yıllık otsu bir bitki türüdür. Türkiye’de 12 *Nigella* türü yetişmektedir. Çoğunun kimyasal ve farmakolojik özellikleri henüz incelenmemiştir. Bunlardan *Nigella sativa*, *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis*’in tohumları halk hekimliğinde ve baharat olarak daha yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Ülkemizde tarımı yapılan ve ticarete konu olan tek tür yalnızca black cumin (*Nigella sativa* L.)’dir.¹⁴¹ Türkiye’de yaygın olarak Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde tarımı yapılmaktadır. Çörekotu tohumu ve tohumundan elde edilen preparatlar eskiden olduğu gibi günümüzde de hala Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde halk hekimliğinde, soğuk algınlığı, baş ağrısı, astım, gaz giderme, idrar söktürücü, sarılık, çeşitli romatizma ve iltihap hastalıkları vb. birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.¹⁴² Çörekotu tohumu ve bileşenlerinin, anti-tümör aktivite,¹⁴³ anti-bakteriyel aktivite,¹⁴⁴ anti-inflamatuar aktivite,¹⁴⁵ antioksidan aktivite,¹⁴⁶ ve bağışıklık sistemini kuvvetlendirici aktivite¹⁴⁷ gibi daha birçok faydalı farmakolojik etkiye sahip oldukları

belirlenmiştir. Besin olarak kullanılan kısmı tohumlarıdır^{148, 149} ve yüksekliği yaklaşık 20-30 cm'dir.¹⁵⁰



Şekil 2.6. *Nigella sativa* L.¹⁵¹

2.10.1. *Nigella sativa* L.'nin Kimyasal Özellikleri

Nigella sativa L. tohumunun kimyasal yapısı, bitkinin toplandığı mevsime, türüne ve yetiştirildiği yerdeki iklime göre değişiklik göstermektedir.¹⁵² *Nigella sativa* L. tohumundan çoğu aktif bileşikler, izole edilmiş ve tanımlanmıştır. En önemli aktif bileşikler olarak timokinon, ditimokinon (% 30 -48), p- simen (%7 -15) , karvakrol (% 6-12), 4- terpineol (% 2 -7), t- anetol (%1- 4), longifolen (%1-8), α - pinen ve timol gibi bileşiklerdir. *Nigella sativa* L. tohumları, izokinolin (nigellisimin ve nigellisimin - N - oksit) ve indazol halkası taşıyan pirazol (nigellidin ve nigellisin) gibi iki farklı alkaloid türlerini, bunların yanında alfa- hederin, suda çözünür bir pentasiklik olan triterpen ve saponin, potansiyel anti-kanser maddesi içerir. Aynı zamanda karvon, limonen, sitronelol gibi bazı bileşiklerde eser miktarlarda bulunmaktadır. *Nigella sativa* L. tohumları % 26.7 protein, % 28.5 yağ, % 24.9 karbonhidrat, % 8.4 ham selüloz ve % 4.8 toplam kül içermektedir. Cu, P, Zn ve Fe gibi çeşitli mineralleri, karaciğer tarafından vitamin A'ya dönüştürülen karoten ve bir miktarda vanilik asit ihtiva

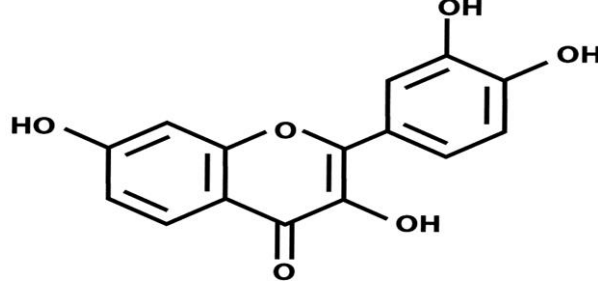
etmektedir.^{153, 154} *Nigella sativa* L. tohumu doymamış yağ asitlerince çok zengin olup, esas kısmı linoleik asit (% 50-60), oleik asit (% 20), eikodadienoik asit (% 3) ve dihomolinoleik asit'ten (% 10) oluşmaktadır. Yaklaşık % 30 ve daha az kısmı ise doymuş yağ asitleri olan palmitik ve stearik asittir.¹⁵⁵

Nigella sativa L. tohumları % 70'lik etanol ile ekstrakte edilmiş ve bu ekstraktan üç yeni flavonoit glikoziti bulunmuştur. Bulunan bileşikler; kuersetin-3-O-β-glukopiranozil(1→2)-O-β-galaktopiranozil(1→2)-O-β-glukopiranozil, kaempferol-3-O-β-glukopiranozil(1→2)-O-β-galaktopiranozil(1→2)-O-β-glukopiranozit ve kuersetin-3-O-(6-feruloil-β-glukopiranozil)(1→2)-O-β-galaktopiranozil (1→2)-O-β-glukopiranozit'tir. Bu yeni bileşiklerle birlikte kuersetin-3-glukozit, kaempferol-3-glukozit ve rutin de etanol ekstresinden izole edilmiştir.¹⁵⁶

2.10.1.1. Flavonoidler

Sarı renkli olmaları nedeniyle Latince'de sarı anlamına gelen 'flavus' sözcüğünden türetilerek flavonoid adını almışlardır. 15 C atomlu 2-fenil benzopiron (difenil propan) yapısı (C₆-C₃-C₆) gösterirler. Bu yapıları nedeniyle polifenolik bileşik olarak kabul edilirler. Flavonoidleri P vitamini olarak kabul eden görüşler de vardır.¹⁵⁷ Flavonoidler fenolik yapı gösteren doğal fitokimyasallardır. Bitki çiçeklerine renk veren, bitkiyi UV-B ışınlarının zararlı etkilerinden ve mikrobiyal saldırıdan koruyan flavonoidler hayvan hücrelerinde sentez edilemediğinden, insanlar tarafından bitkisel besinlerin tüketimi yoluyla alınmaktadır.¹⁵⁸ Flavonoidler vücuda girdikten sonra çeşitli reaksiyonlarla aglikon, glikozit ve metilenmiş formlara döndürülerek metabolize edilir.¹⁵⁹ Günümüzde bilinen çok fazla sayıda farklı flavonoid vardır. Birçok alt grupları olmakla birlikte, heterosiklik oksijen halkalarının yapısal farklılığına göre 6 temel flavonoid grubu vardır: Flavonlar, flavonoller, flavononlar, flavanoller, dihidroflavonoller ve biflavonoidler.^{157, 160} Flavonoidlerin gösterdikleri aktivitelerin

çeşitliliği çoğunlukla bu yapısal farklılıklardan kaynaklanmaktadır.¹⁶⁰ Kuersetinin de aralarında bulunduğu flavonoidler doğada yaygın olarak bulunan polifenoller içinde yer alan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir.¹⁶¹



Şekil 2.7. Flavonoid molekül yapısı

Flavonoidler antitoksidan özelliklerini serbest radikallerle reaksiyona girip onları etkisiz hale getirerek gösterirler. Flavonoidlerin etki mekanizmalarını;

1. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederek,^{162, 163}
2. Süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikalini (OH^{\cdot}) ve singlet oksijeni (1O_2) temizleyerek,^{164, 165}
3. Peroksil radikalini (ROO^{\cdot}) ve alkoksil radikalini (RO^{\cdot}) yakalayarak, lipid peroksil zincirini kırarak,¹⁶⁵⁻¹⁶⁸
4. Protein kinaz enzimini inhibe ederek,¹⁵⁷
5. Demir ve bakır gibi geçiş metallerini şelatlayarak,¹⁶⁹
6. Laktat transportunu engelleyerek,¹⁵⁷
7. Enzim fonksiyonlarına bağımlı kalsiyum modülasyonu ile hücrel regülasyonda önemli rol oynayan küçük bir asidik protein olan kalmodülünü inhibe ederek,¹⁵⁷ gösterdiklerini söyleyebiliriz.

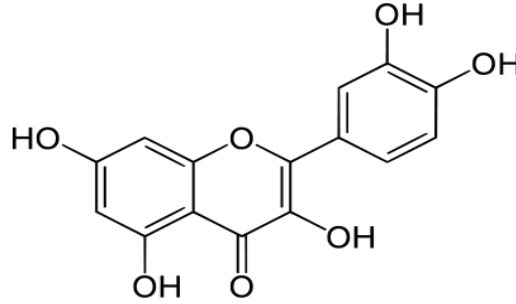
Flavonoidlerin serbest radikal yakalama ve antioksidan özelliklerinin yapılarında bulunan;

1. Radikal hedef yeri olan B halkasındaki o-dihidroksi grubu,
2. Elektron delokalizasyon için C halkasındaki 4-okso grubu ile 2-3 çift bağı

3. Maksimum radikal yakalama ve metal şelatlama için gerekli 3 ve 5 hidroksil grubu olarak sayılabilecek üç gruptan ileri geldiği öne sürülmektedir.¹⁷⁰

Kuersetin üzerinde bu üç grubu görebiliriz. Bu üç gruba sahip olan kuersetin vb. flavonoidler maksimum aktivite gösterirken eksik gruba sahip olanların aktiviteleri daha düşüktür. Yani aynı konsantrasyonda kuersetinin MDA oluşumu üzerindeki inhibisyonu rutine göre daha fazladır. Yine aynı konsantrasyondaki diosminin inhibisyon oranı kuersetin ve rutine göre çok düşüktür.¹⁷¹ Rutin bileşiği ise bir flavonol olan kuersetinin 3. C atomuna bağlı OH grubuna rutinozun konjugasyonu ile oluşan bir flavonoiddir.¹⁷²

Kuersetin



Şekil 2.8. Kuersetin

[2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-kromen-4-on; C₁₅H₁₀O₇]

Kuersetin bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan fenolik bir flavonoiddir.^{131, 173} Merfort ve arkadaşları¹⁵⁶ tarafından 1997 yılında yaptıkları bir araştırmada *Nigella sativa* L. Tohumlarının % 70'lik etanolla ekstraksiyonundan elde ettikleri flavonoid glikozitleri arasında kuersetinin de varlığını bildirilmiştir. Kuersetin enzimatik olmayan antioksidanlardan biridir. Doğal bir flavonol olan kuersetin güçlü bir antioksidandır. Oksidatif stresin neden olduğu hasarlara karşı hücreyi korumada reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi ve metal katyonlarının şelatlanması üzerinden etkilidir.¹⁵⁶ Chengelis ve ark.¹⁷⁴ yaptıkları bir çalışmada pestisitlerin neden olduğu oksidatif stresi azaltmak ya da tamamen ortadan kaldırmak için kullanılan antioksidan maddelerden en önemlileri arasında kuersetinin de yer aldığını bildirmişlerdir. Ayrıca antibakteriyal,

antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinojenik etkileri vardır.¹⁷⁵ Bu bileşikler serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırarak bilayer özellik gösteren hücre zarında bulunan fosfolipitleri lipid peroksidasyonuna karşı korurlar.^{161, 176} Fenolik asit bakımından zengin besinler antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiallerjik, antiviral özellik gösterirler. Fenolik bileşenlerden zengin besinlerin karaciğer üzerinde de koruyucu etkileri vardır.¹⁷⁷

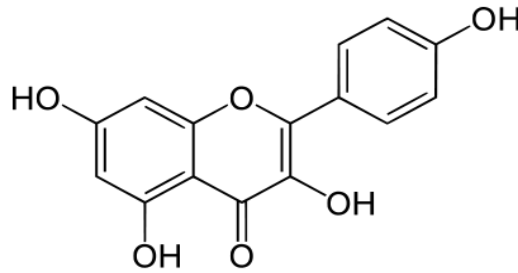
Pawlikowska-Pawlega ve arkadaşları¹⁷⁸ yaptıkları bir çalışmada kuersetinin farelerde eritrosit membranlarını oksidatif hasara karşı koruduğunu bildirmişler ve kuersetinin apoptozu indükleyip tümör gelişimini engellediğini, fosfolipaz A2 ve protein kinazları inhibe ettiğini, membran akışkanlığını arttırdığını belirtmişlerdir. Ek olarak, kuersetinin de arasında bulunduğu flavonoidler düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu engellerler ve NOS aktivitesini takiben vazodilatasyona neden olan NO seviyesini arttırlar.¹⁷⁹

İnal ve arkadaşları¹⁸⁰ yaptıkları bir çalışmada UV A ile deride irritasyon meydana getirmişler ve bunun sonucunda MDA seviyesinde artış, CAT, SOD seviyelerinde azalma meydana geldiğini gözlemişlerdir. UV A ile birlikte kuersetin verilen grup ile sadece UV A'ya maruz kalan grup karşılaştırıldığında MDA düzeyinde azalma, CAT ve SOD enzim aktivitelerinde ise artış gözlemlenmiştir.¹⁸⁰ Ratlara cisplatin ile beraber kuersetin uygulandığında sadece cisplatin verilen gruba göre vücut ağırlığında ve membran bağımlı ATPaz'ların aktivitesinde artış ve lipid peroksidasyonunda ise azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir.¹⁸¹ Başka bir çalışmada; haftada 5 gün olacak şekilde 22 hafta boyunca Wistar cinsi ratlara subkutanöz yolla nikotin uygulanmış grup kontrolle karşılaştırılmış ve nikotin uygulanan gruptaki ratların vücut ağırlığında azalma ve karaciğer dokularındaki SOD, CAT aktivitelerinde azalma olduğunu gözlemlenmiştir. Nikotinle beraber kuersetin

uygulandığında nikotin grubuna göre vücut ağırlığında kazanım ve SOD, CAT enzim aktivitelerinde anlamlı bir artış meydana geldiği gözlemlenmiştir.¹⁸²

Kuersetinin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu rolü de vardır. Yapılan bir araştırmada kuersetin uygulanan gruplarda reperfüzyon periyodunun her fazında biyokimyasal parametrelerin kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak daha iyi miyokardiyal iyileşmeyi sağladığı belirtilmiştir. Sonuç olarak kuersetinin antioksidan etkinliği ile oksidatif strese bağlı doku hasarını azaltarak iskemi sonrası iyileşmeyi arttırdığını belirtmişlerdir.¹⁸³

Kaempferol



Şekil 2.9. : Kaempferol (3,3',5,7,tetrahidroksiflavon; C₁₅H₁₀O₆)

Doğal bir antioksidan bileşik olan kaempferol flavonol sınıfında yer alır.¹⁸⁴ Pannala ve arkadaşları¹⁸⁵ yaptıkları bir çalışmada flavonoidlerin kimyasal ve antioksidan özelliklerini incelemişler ve kaempferolün 4'-OH ve 3-OH gruplarına bağlı olarak yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirtmişlerdir.

Kaempferol, kuersetin ve rutin ile benzer şekilde radikal tutucu aktivitesiyle lipid peroksidasyonunu engelleyici özellik göstermektedir.¹⁸⁶

Nigella sativa L. etanol ekstresi içerisinde de bulunan kuersetin, kaempferol ve rutin flavonoidlerinin antioksidan aktiviteleri bazı sentetik kaynaklı antioksidanlarla karşılaştırıldığında antioksidan özelliklerinin daha yüksek olduğu gözlemlenmektedir.

Yapılan bir çalışmada bu antioksidan aktiviteler karşılaştırılmış ve Tablo 2.4.' de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması¹³¹

	Antioksidan	Antioksidan aktivite ± SD (%)
Sentetik	Bütil hidroksi tolüen	99.51 ± 0.81
	Bütil hidroksi anisol	98.61 ± 0.04
	Etoksikuin	86.14 ± 0.99
	Propil Gallat	85.01 ± 0.89
Doğal	Luteolin	98.65 ± 0.04
	<i>Kuersetin</i>	92.91 ± 0.40
	Karnosol	92.36 ± 0.17
	Vitamin E	91.61 ± 0.60
	Fisetin	86.32 ± 0.66
	<i>Kaempferol</i>	85.88 ± 0.62
	Mirisetin	80.54 ± 0.54
	<i>Rutin</i>	70.46 ± 2.95
	Vitamin C	68.79 ± 0.99
	Siyanidin klorür	60.52 ± 1.98
	Epikatekin	48.58 ± 1.89
	Flavon	42.33 ± 3.78
	Gallik asit	33.42 ± 3.11
	Kafeik asit	32.55 ± 1.36
	Taksifolin	30.51 ± 1.22
	Naringenin	28.54 ± 6.46
	Klorojenik asit	24.91 ± 2.32
Vitamin A	18.95 ± 1.49	
Sinamik asit	10.48 ± 1.69	

2.10.2. *Nigella sativa* L.'nin Hepatotoksik ve Nefrotoksik Etki

Hayvan deneylerinde *Nigella sativa* L.'nin hepatotoksositeye karşı koruyucu rolü araştırılmış olup yaşlanma prosesi üzerindeki olası etkilerini belirlemek için *Nigella sativa* L. 0.27 g/100 g vücut ağırlığı/ gün verilerek ratların karaciğer ve böbreklerdeki değişimler ile yaşlanmayla alakalı olabilecek değerler ölçülmüştür. Sonuçlar *Nigella sativa* L.'nin ratlardaki yaşlanmayı geciktirdiğini göstermiştir.¹⁸⁷

Yapılan bir çalışmada CCl₄ ile oluşturulan hepatotoksisitede NS aktif bileşenleri antioksidan mekanizmalarla farelerde karaciğeri koruduğu belirtilmiştir.¹⁸⁸ Yine tavşanlarda CCl₄ ile deneysel olarak oluşturulan karaciğer sirozu ve fibrozunu NS'in önce verilmesiyle önlediğini ve karaciğerdeki oksidatif ve histolojik durumu düzelttiği gösterilmiştir.¹⁸⁹

Nefrotoksik bir ilaç olan sisplatinin uygulanmasından 30 dk. önce *Nigella sativa* L. ekstresi (50 mg/kg) verilmesinin nefrotoksisitede biyokimyasal ve fizyolojik şartları düzeltmede etkili olduğunu göstermiştir.¹⁹⁰

2.10.3. *Nigella sativa* L.'nin Antioksidan Özelliği

Nigella Sativa L.'nin etki mekanizması birçok hastalığı tedavi edebilmesi ve yapısında birden fazla etken madde bulunmasından dolayı tam olarak bilinmemektedir. NS'nin farmakolojik özelliklerinin belirlenmesi için 1960 yıllardan beri çalışmalar yapılmakta ve yapılan bu çalışmalarda *Nigella Sativa* L.'nin birçok faydalı özellikleri bulunmuştur. Yapısındaki yararlı birçok madde bulunmasından dolayı antitoksik ve antioksidan özellik göstermektedir. Yapılan in vitro çalışmalarda NS tohumlarının hücreyi osmotik basınç ve lipopolisakkaritlere karşı koruyduğu belirlenmiştir. İn vivo çalışmalarda ise: Karaciğer ve böbrekte toksisiteye neden olan tert-butil hidroperoksit, cisplatin, karbon tetraklorür (CCl₄), gentamisin, metionin, potasyum bromat (KBrO₃) gibi maddelere karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir.^{16, 189, 191, 192}

Nigella sativa L.'nin tavşanlarda oluşan karaciğer fibrozisini¹⁸⁹ ve gentamisin kaynaklı nefrotoksisiteyi azalttığını, ayrıca metiyonine karşı koruyucu etkisi olduğunda göstermişlerdir.¹⁹³

3. MATERYAL VE METOT

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

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 48 adet ve ağırlıkları 200-220 gram arasında değişen Albino Wistar cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu, Standart Sıçan Yemi) verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22 °C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmalarımızın tüm aşamaları Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulunu tarafından 31.05.2013 tarih ve 361 sayılı yazısı ve Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu tarafından 31.05.2013 tarih ve 2013.1.33 numaralı kararı ile etik kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar

Parasetamol: Çalışmada, parasetamolün rat başına 2 g/kg dozu 2 ml'ye tekabül edecek şekilde Phosphate buffer saline'nin (PBS) % 1 lik Karboksi Metil Selüloz (CMC) çözeltisinde süspansiyon edilerek hazırlandı. Hazırlanan süspansiyon gastrik sonda yardımıyla oral yoldan uygulandı. (Parasetamol, Doğa İlaç Hammadde Ltd. şirketi, İstanbul)

***Nigella sativa* L. Etanol Ekstraktı:** Bitki aktardan temin edilip Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda görevli Yrd. Doç. Dr. Yalçın KARAGÖZ tarafından teşhis edildikten sonra 200 gr tartılıp 50 °C'de

500 ml % 70'lik etanolde üç kere 24 saat boyunca geri soğutucu altında ekstrakte edildi. Ardından etanol kısmı ve bir miktar su evaporatör ile uzaklaştırıldı. Koyu kahverengi renge yaklaşıp % 25 verimle 200 ml NS Etanol ekstresi elde edildi. Elde edilen ekstrakt 250, 500 ve 1000 mg/kg'lık dozlarda ratlara verilmek üzere + 4 °C buzdolabında muhafaza edildi. Doz hesabı 1 ml Etanol ekstresi 50 °C'de etüvde tutularak tüm su içeriği uzaklaştırıldı. 1 ml etanol ekstresinin kuru ağırlığı 195 mg olarak belirlendi. Buna göre her bir ml'de 195 mg madde olduğu kabul edilerek ratlara verilecek dozlar ayarlandı.

N-asetil Sistein (NAC): Çalışmada, % 0.9 luk NaCl çözeltisinde hazırlanan, 600 mg tek tablet NAC (Mentopin, Hermesarzneimittel GmbH, Münih-Almanya) gavaj yardımıyla oral yoldan kullanıldı.

Tiyopental sodyum: Çalışmada i.p. olarak ötenazi için 50 mg/kg Tiyopental sodyum (İE ULAGAY) verildi.

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Cihazlar	Modeli ve Firması
Eliza Okuyucu	Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, USA
Mikroplate Yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Germany
Doku Homojenizatörü	Ika-Werke
Hassas Terazî	Shimadzu ATX224, USA
Etüv	Memmert WNB 7-45, Germany
Karıştırıcı	IKA- MS 3 basic, USA
Buzdolabı (-80 °C)	Nuaire NU-9483E, USA

Derin Dondurucu	Vestel BZP-XL3402W, Türkiye
Otomatik Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300µ)
Pipet Seti	Eppendorf Research Plus

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışmada, 8 deney grubu ve bir kontrol grubu oluşturuldu. Her bir grupta 6 adet olmak üzere toplam 48 adet sıçan kullanıldı. Deney planı, Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Deney öncesi tüm gruplar 16 saat aç bırakıldı.

Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı:

Grup I: Sağlıklı grubu. 2 ml PBS (% 1'lik CMC içeren), oral gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup II: Sağlıklı + *Nigella sativa* L. etanol ekstresi (1000 mg/kg) grubu. 1000 mg/ kg dozunda *Nigella Sativa* etanol ekstresi, gavaj yardımıyla oral yoldan verildi.

Grup III: Sağlıklı + NAC (140 mg/kg) grubu. 140 mg/kg NAC oral yoldan verildi.

Grup IV: Parasetamol Kontrol grubu. 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj yardımıyla oral yoldan verildi.

Grup V: Parasetamol 2 g/kg + NAC (140 mg/kg) grubu. 140 mg/kg N-AsetilSistein oral yoldan verildikten 1 saat sonrası 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, oral gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup VI: Parasetamol 2 g/kg + *Nigella sativa* L. etanol ekstresi 250 mg/kg(oral)

Grup VII: Parasetamol 2 g/kg + *Nigella sativa* L. etanol ekstresi 500 mg/kg(oral)

Grup VIII: Parasetamol 2 g/kg + *Nigella sativa* L. etanol ekstresi 1000 mg/kg(oral)

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlenmiştir.^{194, 195} Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki ratlara

deney sonuna kadar, yeteri kadar su ve yem verildi. 2 g/kg dozunda oral gavaj ile 2 ml uygulanan parasetamol 24 saat beklemeden sonra böbrek toksisitesi oluşturuldu.

Tablo 3.1. Deney Planı

Gruplar	Hayvan Sayısı	Tedavi	Doz
I	6	Sağlıklı	2 ml PBS
II	6	Sağlıklı + <i>Nigella sativa</i> L. etanol ekstresi	1000 mg/kg
III	6	Sağlıklı + NAC	140 mg/kg
IV	6	Parasetamol	2 g/kg
V	6	Parasetamol + NAC	2 g/kg + 140 mg/kg
VI	6	Parasetamol + <i>Nigella sativa</i> L. etanol ekstresi	2 g/kg + 250 mg/kg
VII	6	Parasetamol + <i>Nigella sativa</i> L. etanol ekstresi	2 g/kg + 500 mg/kg
VIII	6	Parasetamol + <i>Nigella sativa</i> L. etanol ekstresi	2 g/kg+1000 mg/kg

Tüm gruplara parasetamol uygulamasından 24 saat sonra yüksek doz tiyopental (50 mg/kg) ile ötanazi uygulanarak deney sonlandırıldı. Tüm gruplardaki hayvanların böbrek dokuları ve kan örnekleri alındı. Alınan böbrek dokularının biyokimyasal analizlerinin yapılması için -80 °C dondurucuda muhafaza edildi. Toplanan kanlar 4.000 g'de santrifüj edilerek serumları elde edildi ve serumlar -80 °C dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar

3.2.2.1. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler

Makroskopik analizlerden sonra, rat dokuları -80 °C 'de saklandı. Her ratın böbreği teker teker sıvı azot eşliğinde havanda homojenize edildi. Daha sonra her bir böbrek dokusu ölçümü için yaklaşık 100 mg doku spesifik homojenat tamponunda ultra-turraks doku homojenizatörü ile homojenize edildi. Daha sonra yöntemdeki direktiflere göre santrifüj edildi. Böbrekteki biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan SOD enzim aktivitesi yüksek hassasiyetdeki Cayman Chemical

Superoxide Dismutase Assay Kit Item Number 706002 ELİSA kitiyle, MDA seviyeleri yüksek hassasiyetteki Cell Biolabs OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA Quantitation) STA-330 ELİSA kitiyle, GSH seviyesi ise Sedlak ve arkadaşlarının geliştirmiş olduğu yöntemin ELİSA'ya modifiye edilerek 96'lık well plate'te her bir rat böbreği ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü.¹⁹⁶

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayini

Kullanılan Reaktifler: Assay buffer (50 mM Tris-HCl, pH:0.8, 0.1 mM diethylene triamine penta acetic acid (DTPA)), Sample Buffer (50 mM Tris-HCl, pH: 0.8), Radical Detector (Tetrazolium tuzu), Sod Standart (Bovine eritrosit SOD (Cu/Zn)), Xanthine Oxidase.

Deneyin prensibi: CAYMAN'ın Süperoksit Dismutaz Assay kiti kullanıldı. Bu metotta, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalleri Tetrazolium'u indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda meydana gelen indirgenme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise Tetrazolium indirgenmesi tam olmayıp enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmakta, buradan aktivite hesabı yapılabilmektedir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı
2. Sıvı azot altında dokular homejenize edildi
3. 70 mM sükroz, 210 mM mannitol ve 1 mM EDTA içeren pH'ı 7.2 olan doku başına 1 ml soğuk HEPES buffer ile ultra-turrax homojenizatörde buz üstünde 1 dakika boyunca homojenize edildi.
4. Tüm numuneler işlem bitene kadar + 4 °C'de muhafaza edildi.

5. +4 °C'de 1.500x g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.

Süpernatant kısmında ölçüm yapıldı

Çalışma 96 kuyucuklu plate'lerde gerçekleştirildi.

1. Örnek Kuyularına 20 µl örnek ve standartlardan eklendi.
2. 200µl Seyreltilmiş Radikal Detektör tüm kuyulara eklendi ve 10 dk. çalkalayıcıya (karıştırıcıya) konuldu.
3. Reaksiyonu başlatmak için 20 µl seyreltilmiş Xantin Oksidaz eklendi.
4. Birkaç saniye plate'in üstü kapalı şekilde çalkalayıcıda bekletildi.

Oda sıcaklığında 20 dk boyunca inkübe edildikten sonra 460 nm'de Elisa reader da okutuldu.

SOD aktivitesinin hesaplanması: Oluşan mavi-mor rengindeki formazon boyasındaki azalmanın absorbans miktarları 460 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan SOD stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

Total Glutatyon (GSH) tayini

GSH miktarının ölçülmesi ve prensibi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.¹⁹⁶ Ölçüm ortamındaki 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

GSH miktarının ölçülmesi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak ELİSA'ya uyarlanarak gerçekleştirildi. 0.1 g doku üzerine 4.5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 12000 g 4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. 96'lık elisa plate

içerisine 150 µl ölçüm tamponu (0.2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH = 8.2), 25 µl süpernatant ve 10 µl DTNB pipetlenerek karıştırıldı. Karışım 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve sonra 412 nm'de ölçümleri alındı.

GSH miktarının hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten (Şekil 3.1.) yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) miktarının tayini

Kullanılan reaktifler: MDA standart (malondialdehide bis), Thiobarbituric acid (TBA), SDS lysis solution, TBA acid diluent, Sodyum hidrokside solüsyonu, BHT solüsyonu (İçerisinde % 5 lik butylated hydroxytoluene)

Deneyin Prensipleri: Cellbiolabs'ın oxiselect MDA quantitation kitine göre çalışıldı. En çok kullanılan lipid peroksidasyon tayin yöntemidir. Asidik ortamdaki tiyobarbitürik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona giren malondialdehit (MDA) ve diğer TBARS, pembe renkli kromojen meydana getirir. 15 dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu.

Deneyin Yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanıp,
2. Sıvı azot altında dokularımızı homejenize edildi.
3. Homojenize dokulardan 100'er mg tartılarak tüplere konuldu. Her tüpe hazırladığımız 1X BHT in PBS solüsyonundan 1 ml eklendi.
4. Tüpler buz içine konularak homojenizatörde 30 sn homojenize edildi.
5. Homojenize dokular 10.000 g de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatantları toplandı.

Çalışma 96 kuyucuklu plateelerde yapıldı.

1. Santrifüj sonrasında elde ettiğimiz süpernatantları yeniden numaralandırdığımız başka tüplere 100 µl hacminde eklendi. Bunun yanında standartlarımız da ayrı tüplere 100 er µl olacak şekilde koyuldu.
2. Kristalize durumdaki SDS lysis solutionunu çözdürdükten sonra her bir numunemize (standartlar da dahil) 100 er µl eklendi.
3. Oda sıcaklığında 5 dk. İnkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapacağımız her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.
4. Oda sıcaklığında 5 dk. İnkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapacağımız her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.
5. Tüplerin ağzını kapatıp 95 °C'de 45 ila 60 dk inkübasyona bırakıldı.
6. İnkübasyon sonrasında tüpler 5 dk buz üzerinde bekletildi.
7. Daha sonra tüm tüpler 3000 rpm de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatantı alındı.
8. 96 well plate'e numuneler 200 µl yüklendi ve 532 nm Abs'de okutuldu.

Hesaplama: 20 mM/L stok standart çözeltisinden değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışıldı ve oluşan pembe renk miktarları 532 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten elde edilen eğim sabiti numunelere uygulanarak TBARS miktarı yaş gram doku başına nanomol olarak hesaplandı. Daha sonra numunelerin TBARS miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

Protein Tayini

Protein konsantrasyonları ticari protein standartları kullanılarak Lowry metodu ile tespit edildi. (Sigma Aldrich, total protein seti - TP0300 - 1KT - (ABD))

3.3. Serumda yapılan analizler

3.3.1. Serum Üre Seviyesinin Ölçülmesi

Üre, protein ve amino asitlerin yıkımının son ürünüdür. Prerenal (kalp yetmezliği, su azalması, protein katabolizması artışı, yüksek proteinli diyet), renal sebepler (akut glomerulo nefrit, kronik nefrit, polikistik böbrek hastalıkları, nefroskleroz, tubüler nekrozis) ve postrenal nedenler (tümörler) üre artışına sebep olur. Üreaz amonyak ve karbondioksitten üre hidrolizini, glutamat dehidrogenaz varlığında NAD vermek üzere NADH ve sodyum ketoglutarat reaksiyonlarını katalizler. Absorbansın azalması örnekteki üre konsantrasyonu ile orantılıdır. Bu doğrultuda üre ölçümü ratlardan elde edilen kan serum örneklerinde BK151 referans numaralı BEN (Biochemical Enterprise) kiti ile 340 nm'de ChemWell biyokimya analizörü ile ölçüldü.

3.3.2. Serum Kreatinin Seviyesinin Ölçülmesi

Kreatinin kasda ki kreatinin fosfatın yıkım ürünüdür ve genellikle kas ağırlığına bağlı olarak vücut tarafından sabit bir oranda üretilir. Kreatinin böbrekler tarafından kandan süzülür. Eğer böbreklerde yeterince süzülmez ise kandaki seviyesi artar. Alkalın ortamda kreatinin pikrik asit ile kırmızı-turuncu renkte kompleks verir. Renkli kompleksin kinetik artışı numunede ki kreatinin konsantrasyonu ile orantılıdır. Bu doğrultuda kreatinin ölçümü ratlardan elde edilen kan serum örneklerinde CR280 referans numaralı BEN (Biochemical Enterprise) kiti ile 510 nm'de ChemWell biyokimya analizörü ile ölçüldü.

3.4. İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Her

bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler anlamsız olduğunu göstermektedir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Analizler

4.1.1. Üre ve Kreatinin Analizleri

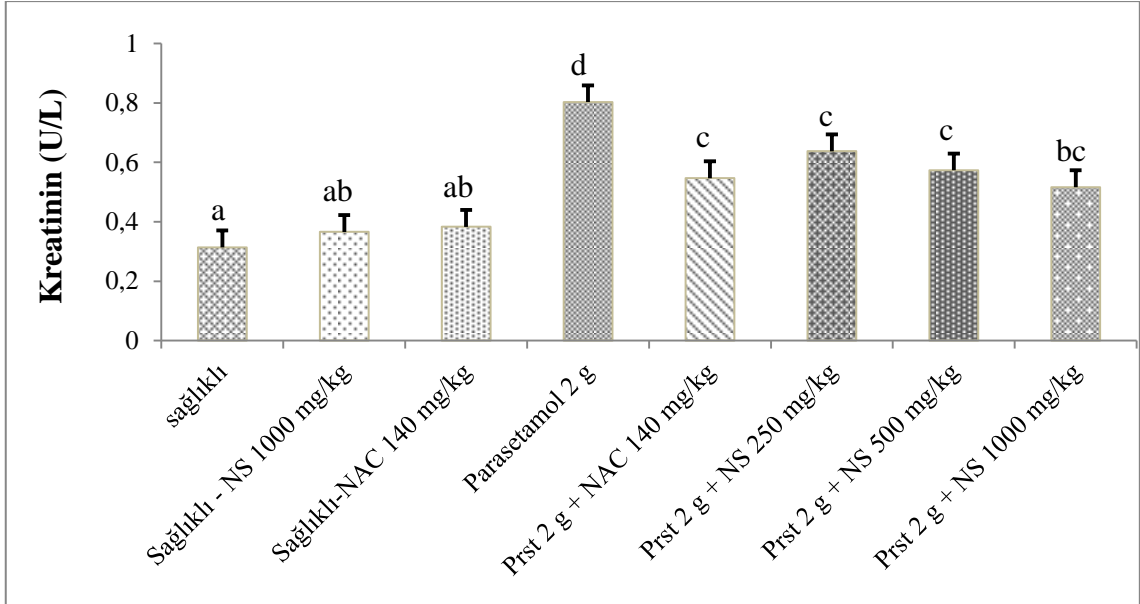
Tablo 4.1. Ortalama Kreatinin ve Üre Seviyeleri

GRUPLAR	Kreatinin (U/L)	ÜRE (U/L)
Sağlıklı	0.31 ± 0.08 ^a	49.80 ± 11.91 ^a
Sağlıklı + NS 1000 mg/kg	0.37 ± 0.11 ^{ab}	48.64 ± 5.57 ^a
Sağlıklı + NAC 140 mg/kg	0.38 ± 0.09 ^{ab}	46.30 ± 12.72 ^a
Parasetamol 2 g/kg	0.80 ± 0.21 ^d	88.05 ± 25.69 ^c
NAC 140 mg/kg + Prst 2 g/kg	0.55 ± 0.25 ^c	59.86 ± 12.67 ^{ab}
NS 250 mg/kg + Prst 2 g/kg	0.64 ± 0.16 ^c	65.60 ± 11.57 ^b
NS 500 mg/kg + Prst 2 g/kg	0.57 ± 0.07 ^c	56.00 ± 14.52 ^{ab}
NS 1000 mg/kg + Prst 2 g/kg	0.52 ± 0.11 ^{bc}	54.18 ± 8.50 ^{ab}

NS: *Nigella Sativa* L., Prst: Parasetamol NAC: N-Asetilsistein. Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: Ortalama ± Standart Sapma)

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi sağlıklı grubundaki sıçanların serumlarındaki kreatinin ve üre düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 0.31 ± 0.08 U/L ve 49.80 ± 11.91 U/L iken 2 g/kg parasetamol verilmiş kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla 0.80 ± 0.21 U/L ve 88.05 ± 25.69 U/L olarak tespit edildi. Sadece NAC verilen grupta ise kreatinin ve üre düzeyleri sırasıyla 0.38 ± 0.09 U/L ve 46.30 ± 12.72 U/L olarak belirlendi. Parasetamol + NAC verilen sıçanlardaki kreatinin ve üre düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 0.55 ± 0.25 U/L ve 59.86 ± 12.67 U/L olarak ölçüldü. Sadece NS 1000 mg/kg verilen grupta ise kreatinin ve üre düzeyleri sırasıyla 0.37 ± 0.11 U/L ve 48.64 ± 5.57 olarak ölçüldü. Parasetamol + NS 250 mg/kg verilen grupta ise kreatinin ve üre düzeyleri sırasıyla 0.64 ± 0.16 U/L ve 65.60 ± 11.57 U/L; parasetamol + NS 500 mg/kg verilen grupta sırasıyla 0.57 ± 0.07 U/L ve 56.00 ± 14.52 U/L, parasetamol + NS 1000 mg/kg verilen grupta sırasıyla 0.52 ± 0.11 U/L ve 54.18 ± 8.50 U/L olarak ölçüldü.

Sağlıklı grubuna göre Parasetamol grubunda kreatinin seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Sağlıklı NAC ve NS gruplarının Kreatinin seviyeleri sağlıklı gruba karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olduğu görüldü ($p<0.05$). Parasetamol 2 g verilen gruba göre Prst 2 g + NAC 140 mg/kg, Prst+NS 250 mg/kg, Prst+NS 500 mg/kg ve Prst 2 g + NS 1000 mg/kg gruplarının Kreatinin seviyesini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Prst + NS 1000 mg/kg grubunun Kreatinin seviyesini azaltmada daha etkili olduğu görüldü.



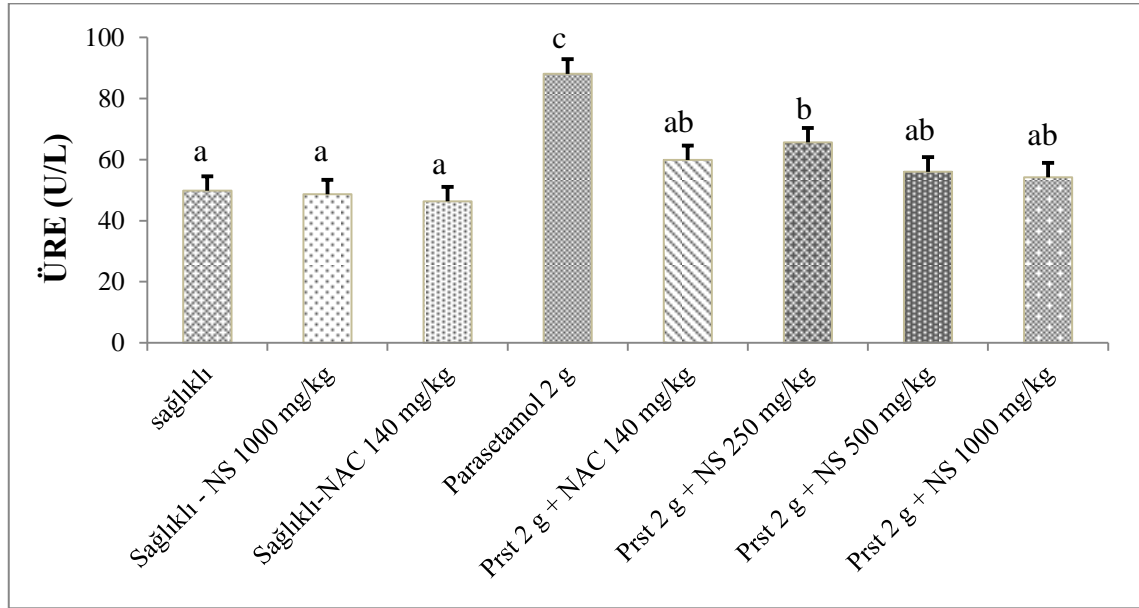
Şekil 4.1. Rat serumlarında kreatinin seviyelerinin karşılaştırılması

NS: *Nigella sativa* L., NAC: N-Asetilsistein, Prst: Parasetamol. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ($p<0.05$)

Sağlıklı grubuna göre parasetamol 2 g grubunda Üre seviyesinin parasetamol 2 g grubunda oldukça yükselmiş olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Sağlıklı NAC ve NS gruplarındaki Üre seviyeleri sağlıklı gruba karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p>0.05$). Parasetamol 2 g grubuna göre Prst + NAC 140 mg/kg, Prst + NS 500 mg/kg ve Prst + NS 1000 mg/kg gruplarının

istatistiksel olarak üre seviyesini anlamlı bir şekilde düşürdüğü gözlemlendi ($p < 0.05$).

İstatistiksel olarak en iyi düzelme Prst + NS 1000 mg/kg grubunda olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.2. Rat serumlarında üre seviyelerinin karşılaştırılması

NS: *Nigella sativa* L., NAC: N-Asetilsistein, Prst: Parasetamol. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ($p < 0.05$)

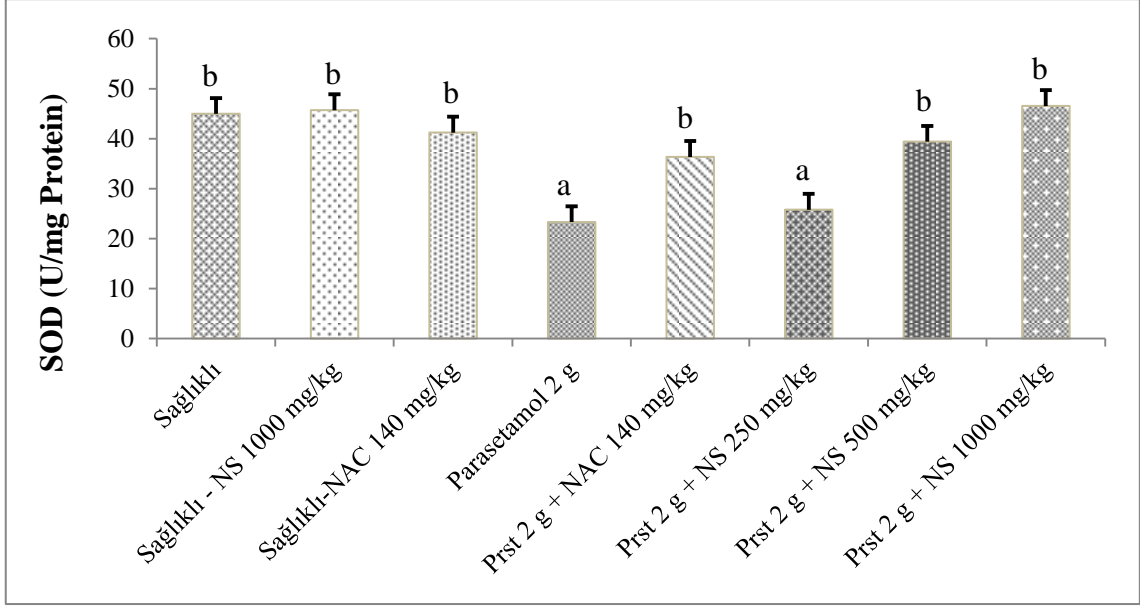
4.1.2. SOD, GSH ve MDA analizleri

Tablo 4.2. Ortalama SOD, GSH ve MDA Seviyeleri

GRUPLAR	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
Sağlıklı	44.97 ± 8.98 ^b	2.39 ± 0.43 ^{bc}	1.80 ± 0.68 ^a
Sağlıklı + NS 1000 mg/kg	45.69 ± 10.62 ^b	2.61 ± 0.54 ^c	1.76 ± 0.40 ^a
Sağlıklı + NAC 140 mg/kg	41.22 ± 10.95 ^b	2.46 ± 0.65 ^c	2.08 ± 0.76 ^{ab}
Parasetamol 2 g/kg	23.31 ± 6.62 ^a	1.32 ± 0.42 ^a	4.06 ± 0.29 ^d
Prst 2 g/kg + NAC 140 mg/kg	36.31 ± 13.25 ^b	2.08 ± 0.47 ^{bc}	2.81 ± 0.74 ^{bc}
Prst 2 g/kg + NS 250 mg/kg	25.79 ± 8.79 ^a	1.85 ± 0.40 ^b	3.16 ± 1.59 ^c
Prst 2 g/kg + NS 500 mg/kg	39.40 ± 8.91 ^b	2.08 ± 0.59 ^{bc}	3.23 ± 0.58 ^c
Prst 2 g/kg + NS 1000 mg/kg	46.54 ± 9.11 ^b	2.26 ± 0.51 ^{bc}	2.26 ± 0.53 ^{ab}

NS: *Nigella sativa* L., Prst: Parasetamol, NAC: N-Asetilsistein. Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: Ortalama ± Standart Sapma)

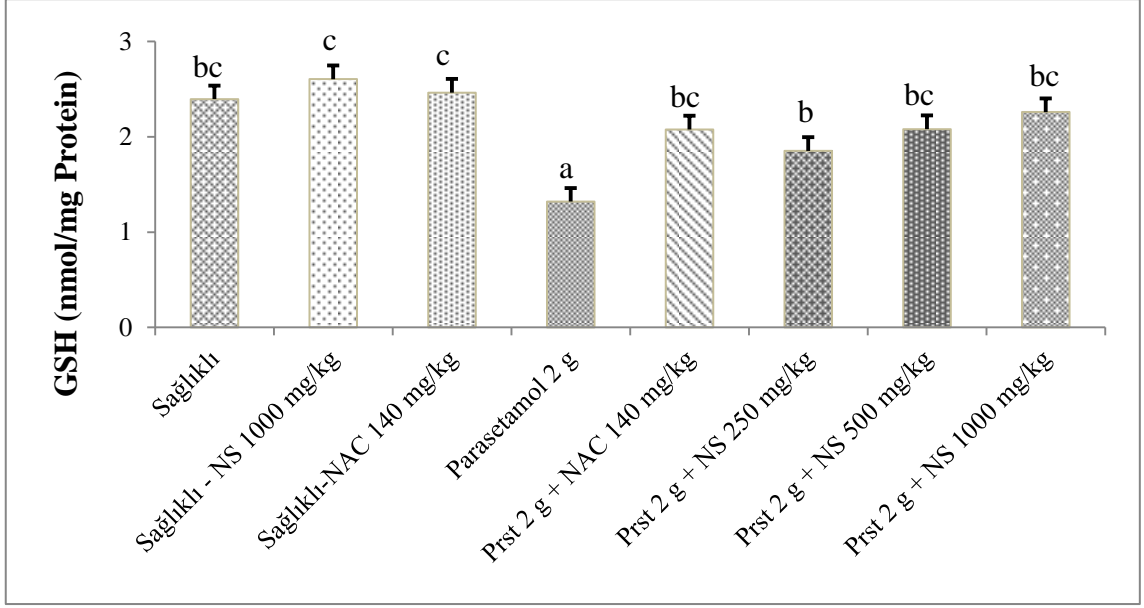
Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi sağlıklı grubundaki sıçanların böbrek dokusunda SOD aktivitesi, GSH ve MDA seviyelerinin ortalamaları sırasıyla 44.97 ± 8.98 U/mg protein, 2.39 ± 0.43 nmol/mg protein ve 1.80 ± 0.68 nmol/mg protein iken, 2 g/kg parasetamol verilmiş grupta bu düzeyler sırasıyla 23.31 ± 6.62 U/mg protein, 1.32 ± 0.42 nmol/mg protein ve 4.06 ± 0.29 nmol/mg protein olarak tespit edildi. Sağlıklı NAC grubunda bu değerler sırasıyla 41.22 ± 10.95 U/mg protein, 2.46 ± 0.65 nmol/mg protein ve 20.8 ± 0.7 nmol/mg protein olarak, Prst + NAC 140 mg/kg sırasıyla 36.31 ± 13.25 U/mg protein, 2.08 ± 0.47 nmol/mg protein ve 2.81 ± 0.47 nmol/mg protein olarak ölçüldü. Sağlıklı NS grubunda sırasıyla 45.69 ± 10.62 U/mg protein, 2.61 ± 0.54 nmol/mg protein, 1.76 ± 0.40 nmol/mg protein olarak ölçüldü. Prst + NS 250 mg/kg grubunda SOD aktivitesi, GSH ve MDA seviyeleri sırasıyla 25.79 ± 8.79 U/mg protein 1.85 ± 0.40 nmol/mg protein ve 3.16 ± 1.59 nmol/mg protein olarak tespit edildi. Prst + NS 500 mg/kg grubunda SOD aktivitesi, GSH ve MDA seviyeleri sırasıyla 39.40 ± 8.91 U/mg protein, 2.08 ± 0.59 nmol/mg protein ve 3.23 ± 0.58 nmol/mg protein ve Prst + NS 1000 mg/kg grubunda SOD aktivitesi, GSH ve MDA seviyeleri sırasıyla 46.54 ± 9.11 U/mg protein, 2.26 ± 0.51 nmol/mg protein ve 2.26 ± 0.53 nmol/mg protein olarak tespit edildi.



Şekil 4.3. Rat böbrek dokusundaki SOD aktivitelerinin karşılaştırılması.

NAC: N-Asetilsistein, NS: *Nigella sativa* L., Prst: Parasetamol. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ($p < 0.05$)

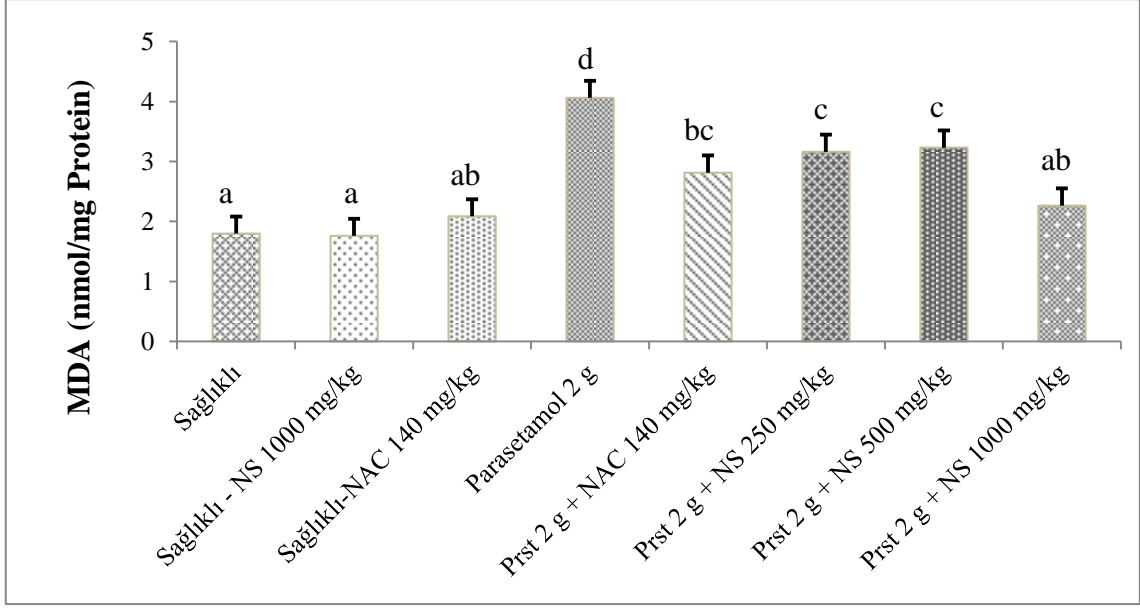
Sağlıklı grubuna göre Parasetamol grubunun SOD aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü ($p < 0.05$). Sağlıklı NAC ve NS gruplarının GSH seviyeleri Sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız olduğu gözlemlendi ($p > 0.05$). Parasetamol 2 g grubuna göre Prst 2 g + NAC, Prst 2 g + NS 500 mg/kg ve Prst 2 g + NS 1000 mg/kg grupları istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit gözlemlendi ($p < 0.05$). Prst 2 g + NS 1000 mg/kg grubunun SOD aktivitesini arttırmada daha etkili olduğu görüldü.



Şekil 4.4. Rat böbrek dokusundaki GSH seviyelerinin karşılaştırılması.

NAC: N-Asetilsistein, NS: *Nigella sativa* L., Prst: Parasetamol. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ($p < 0.05$)

Sağlıklı grubuna göre Parasetamol grubunda ölçülen GSH seviyesinin istatistiksel olarak azalmış olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı NAC ve NS gruplarının GSH seviyeleri Sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). Parasetamol 2 g grubundaki azalmış GSH seviyesinin Prst 2 g + NAC 140 mg/kg, Prst 2 g + NS 500 mg/kg ve Prst 2 g + NS 1000 mg/kg gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak Prst 2 g + NS 1000 mg/kg grubunun GSH seviyesini anlamlı bir şekilde arttırdığı görüldü.



Şekil 4.5. Rat böbrek dokusundaki MDA seviyelerinin karşılaştırılması.

NAC: N-Asetilsistein, NS: *Nigella sativa* L., Prst: Parasetamol. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ($p < 0.05$)

Sağlıklı grubuna göre parasetamol grubunda MDA seviyesinin anlamlı bir şekilde artmış olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı grubunun Sağlıklı NAC grubuna göre MDA seviyesinin anlamlı olduğu ($p < 0.05$), sağlıklı NS grubuna göre ise istatistiksel olarak anlamsız olduğu görüldü ($p > 0,05$). Parasetamol 2 g/kg grubuna göre Prst 2 g + NAC 140 mg/kg, Prst 2 g + NS 250 mg/kg, Prst 2 g + NS 500 mg/kg ve Prst 2 g + NS 1000 mg/kg grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak Prst 2 g + NS 1000 mg/kg grubunun MDA seviyesini belirgin bir şekilde azalttığı görüldü.

5. TARTIŞMA

Böbrekler vücut homeostazisinin düzenlenmesinde önemli fonksiyonlara sahip olup, vücudun su ve elektrolit dengesini sağlayarak kanın asit-baz dengesini sabit tutmak, kan basıncını kontrol etmek, kan yapımına yardımcı olmak, D vitaminini aktif hale getirerek kan kalsiyum düzeyini ayarlamak, ihtiyaç fazlası inorganik elementlerin ve metabolizma yıkımlanması sonucu oluşan zararlı maddelerin idrar yoluyla vücuttan dışarı atılmasını sağlamak gibi görevleri vardır.^{24, 197} Böbrekler ksenobiyotik metabolizmasında da görev alırlar ve metabolizasyon sonucunda oluşan elektrofilik reaktif ara ürünler hedef hücrelerdeki makromoleküllerle kovalent bağlanarak ya da peroksidatif reaksiyonlarla böbrek hasarına neden olabilir.²³

Parasetamol yaygın olarak kullanılan analjezik ve antipretik bir ilaçtır.¹⁹⁸⁻²⁰¹ Parasetamol, dünya çapında zehirlenmelere neden olan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır⁷ ve aşırı dozda alındığında yaygın bir şekilde karaciğer ve böbrek hasarına neden olmaktadır.⁸ Ayrıca santral etkili bir ilaç olup, merkezi sinir sistemi üzerinde santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ve olası etkisini seratoninerjik sistemlerin aktivasyonu ile dolaylı olarak olduğuna inanılan non-opioid bir ajandır.²⁰² Parasetamol oral yol ile alındığında biyoyararlanımının çok iyi olması ve gastrointestinal yan etkilerinin de düşük olması nedeniyle analjezik olarak en çok kullanılan ilaçlardan biridir. İngiltere’de yapılan bir çalışmada 7000 anneden % 84’ünün ilk 6 ayda yeni doğan çocuklarına parasetamol verdiğini rapor edilmiştir.²⁰³ 2006 yılında Amerikan zehir kontrol merkezi verilerine göre parasetamole bağlı 14000 zehirlenme vakası bildirilmiştir ve bu zehirlenme vakalarından 100’ü ölümlle sonuçlanmıştır.⁵⁹ Terapötik dozlarda alınımında güvenli olan parasetamol aşırı dozda alındığında hepatotoksisiteye ve nefrotoksisiteye neden olmaktadır. Terapötik dozlarda parasetamol glukronil transferaz enzimi ile glukuronik aside, sülfonil transferaz enzimi tarafından ise sülfirik

aside çevrilir ya da sisteine dönüştürülerek idrarla atılır.⁶⁸ Alınan parasetamolün % 2'si ise idrarla değişmeden atılırken, küçük bir miktarı ise sitokrom p450 ile reaktif metaboliti olan NAPQI'ya çevrilir. Bu metabolit oldukça elektrofilik bir molekül olup intraselüler proteinlerin sistein kısımlarına kovalent olarak bağlanıp 3-(cysteine-S-yl) şelatını oluşturarak doku hasarına neden olur.¹³ Terapötik dozlarda NAPQI glutatyon ile detoksifiye edilir ve safra yoluyla atılır.^{12, 13} Aşırı dozlarda ise NAPQI karaciğerdeki glutatyon depolarını tüketir ve serbest kalan NAPQI intraselüler proteinlere bağlanarak hepatotoksisiteye neden olur. Parasetamol ile indüklenen karaciğer toksisitesinde bu mekanizma ana yolak olarak kabul edilmektedir.¹² Parasetamol karaciğerde metabolize edildikten sonra böbrekler tarafından atılır. Böbrek korteksinde N-asetilasyon sonucu oluşan NAPQI ve p-aminofenol glutatyon depolarının tükenmesi ile birikerek membranlara ve proteinlerdeki sülfidriyle bağlanarak böbreklerde hasara neden olur. Ayrıca p-aminofenol de renal makromoleküllere kovalent bağlanıp böbrekte hasar oluşturur.⁵⁵

Serbest radikallerin oluşumu parasetamol toksisitesinde artarak doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açar ve hücrede hasara neden olur.^{85, 91} Lipit peroksidasyonu, yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile zincirleme bir kimyasal reaksiyondur. Organizma açısından LPO'un önemi ise, reaksiyon sonucunda oluşan aldehitlerdir. Bu ürünler, protein sentezini inhibe ederek, proteinlerde çapraz bağlanmalara neden olarak, DNA replikasyonunu bloke ederek ve hücre membranının akışkanlığını azaltarak hücre fonksiyonları bozmaktadırlar.^{204, 205} Serbest radikaller birçok dejeneratif hastalık yanında ksenobiyotik toksisitesinde de önemli rol oynayarak LPO'yu stimüle edebilirler.²⁰⁶ Bu doku hasarının bir göstergesi olan lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA seviyesindeki artıştır.^{205, 207}

N-asetilsistein (NAC) parasetamol toksisitesiyle hastaneye başvuran hastaların tedavisinde kullanılan bir antidottur ve aynı etkiyi deney hayvanlarında da göstermektedir.²⁰⁸ Deney hayvanlarında benzer etkiler gösterdiği için bizde çalışmamızda NAC'yi pozitif kontrol olarak kullandık. Parasetamol ile oluşturulan toksisitede hasarların önlenmesinde NAC dışında farklı antioksidan ajanlarda kullanılmakta olup, bunlar melatonin, vitamin E ve *Bauhinia racemosa*, *Vernonia amygdalina*, *Wedelia paludosa*, *Rauwolfia serpentina*, *Tamarindus indica*, *Kohautia grandiflora* gibi çok çeşitli bitkiler de gösterilebilir. Böbrek dokusunda parasetamole bağlı toksisiteyi önlemede ise vitamin C, Zencefil gibi farklı ajanlar da kullanılmaktadır.²⁰⁹⁻²¹⁷

Günümüzde üretilen modern ilaçların yaklaşık % 25'i bitkisel kaynaklıdır. 250.000 bitkiden yalnızca % 10'u kimyasal olarak araştırılmıştır. Bundan dolayı bitkisel ajanların önemi oldukça artmıştır. Bilindiği gibi tıbbi bitkilerin canlı sistemler üzerinde sedatif, analjezik, antipiretik, kardiyoprotektif, antibakteriyel ve antiviral gibi birçok etkisi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.²¹⁸ Hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkilerinin çok olması bitkilere olan ilgiyi artırmıştır. Bu tür bitkilerin ilaç olarak kullanılması ilaçlara göre daha az toksik etkiye sahip olmasından dolayı tercih edilmektedir. Bu kapsamda *Nigella sativa* L. adlı bitki türü son yıllarda geniş çapta birçok araştırmaya konu olmuştur.^{191, 219, 220}

Nigella sativa L. şifalı bir bitki olarak çoğu Ortadoğu ve Uzak Doğu ülkelerinde 2000 yılı aşkın süredir birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Genel olarak siyah tohumlarıyla bilinen *Nigella sativa* L. Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller) familyasından olup günümüzde başta Doğu Akdeniz ülkeleri olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak yetişen yıllık bir bitkidir.²¹⁹ *Nigella sativa* L. bitkisinin tohumları halk hekimliğinde gaz giderici, süt arttırıcı, iştah açıcı olarak kullanılmaktadır. Lezzet ve

koku verici özelliğinden dolayı tohumları birçok hamur ürünlerinde ve bazı peynir çeşitlerinde kullanılmaktadır.¹⁹¹ *Nigella sativa* L. tohumu ayrıca sedef hastalığı ve egzema gibi deri rahatsızlıklarının tedavisinde, yanıklar, deri enfeksiyonları, eklem ağrılarını azaltmada, diüretik, diyaforetik, stomasik, karaciğer kuvvetlendirici, diyare, hazımsızlık, hepatik ve dijestif rahatsızlıklarda, kronik baş ağrısı ve migrende, civa zehirlenmesi, deri ülserleri, lökodermi, alopesi, egzema gibi hastalıklarda kullanılmaktadır.^{190, 221, 222}

NS'nin birçok hastalığı tedavi edebilmesi ve yapısında birden fazla etken madde bulundurması sebebiyle etki mekanizması tam olarak belirlenememiştir. Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada faydalı özelliğinin olduğu ortaya konulmuştur. Yapısında bulunan yararlı birçok maddeden dolayı antioksidan veya anti-toksik özellik göstermektedir.^{144, 223, 224}

Farmakolojik etkilerinden sabit ve uçucu yağlar sorumlu tutulduğu için bu iki etken madde grubu üzerinde çalışmalar artmıştır. Tohumlarda bulunan sabit yağların özellikle çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin oluşu antioksidan,^{16, 146, 188, 189, 225} antiallerjik,^{190, 223, 226} antienflamatuar,^{16, 145, 190, 224, 226-228} immünmodulator,^{229, 230} antibakteriyel,^{144, 231} antifungal,²²⁴ antiviral,^{16, 232} antisestod,^{187, 233} antitümör,^{147, 228, 234, 235} antidiyabetik,²³⁶ antihepatonefrotoksik,^{188-190, 237, 238} kardiyovasküler sistem ve kan üzerine,²³⁹⁻²⁴¹ gastrointestinal sistem üzerine,²⁴²⁻²⁴⁴ aflatoksine karşı,¹⁸⁷ östrojen,²⁴⁵ antinosiseptif,²⁴⁶ nöroprotektif²⁴⁷⁻²⁴⁹ ve antikonvülzan²⁵⁰ gibi etkiler göstermektedir.

Parasetamol zehirlenmelerine bağlı oluşan nefrotoksisitede üre, kreatinin ve proteinüri gibi parametreler değerlendirilmektedir.²⁵¹ Kreatinin, kaslarda enerji deposu olarak rol alan kreatinin fosfatın yıkımı ile oluşan bir üründür. Kişinin vücut ve kas kitlesine bağlı olup sabit hızda üretilir. Bu nedenle erkeklerde kandaki seviyesi kadın ve çocuklarınkine oranla daha yüksektir. Kreatinin testi genellikle böbrek fonksiyonlarını

ve hastalıklarını değerlendirmek amacıyla rutin olarak kullanılan testlerden biridir. Dehidratasyon, nefrotoksisite, transplantasyon rejeksiyonu, akut tübüler nekroz gibi durumlarda kreatinin seviyesi yükselmektedir. Kan üre azotu testi, böbrek fonksiyonlarının ölçülmesinde kullanılan diğer bir testtir. Memelilerin vücudunda proteinlerin yıkılması sonucu meydana gelen amonyak, karaciğerde karbondioksitle üreye dönüştürülür. Kana geçen üre, idrarla dışarıya atılmaktadır. Üre değeri, dehidrasyon, böbrek hastalıkları (glomerulonefrit, piyelonefrit, diyabetik nefropati), idrar yolu tıkanmaları (prostat hipertrofi), ilaçlar (aminoglikozidler ve diğer antibiyotikler, diüretikler, lityum, kortikosteroidler), gastrointestinal kanamalar ve azalmış böbrek kan akımı gibi durumlarda yükselirken, karaciğer hastalıkları, kötü beslenme, gebeliğin 3. trimesteri gibi durumlarda üre değeri düşmektedir.^{251, 252}

Parasetamol'un yüksek dozda uygulanmasıyla karaciğerin yanı sıra böbreklerde de hasar oluşturduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Çekmen ve arkadaşlarının 1000 mg/kg parasetamol vererek böbrekte hasar oluşturdukları ve 200 mg/kg zerdeçalın etkilerini inceledikleri çalışmada üre ve kreatinin değerlerinin parasetamol grubunda kontrole göre yükselirken, parasetamol+zerdeçal verdikleri grupta ise bu değerlerin kontrol grubundaki değerlere yaklaştığını gözlemlemişlerdir. Parasetamol uygulanan grubun ışık mikroskopik incelemesinde tübül epitelinde dejenerasyon, vakuolizasyon, hücre dökülmeleri ve özellikle proksimal tübül hasarı izlenmiştir. kortikal intersitisyel damar konjesyonu yalnızca parasetamol grubunda görülmüştür. Parasetamol + zerdeçal grubunda ise hafif derecede tübüler dejenerasyon ve proksimal tübülde epitel vakuolizasyonu gözlenmiş de, hücre dökülmeleri minimum seviyede olup glomerüllerin yapısının kontrol grubuna benzer özellikte olduğunu belirtmişlerdir.²⁰⁹

Lucas ve arkadaşlarının Riboz sistein'in (RibCys) böbrekte olan hasarın koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmada, parasetamol verilen grupta koagulatif

proksimal tübüler nekroz, karyoreksis ve piknotik çekirdek gibi oluşumlar gözlenirken, belirteç olarak üre değerinin kullanıldığı kontrol grubuna kıyasla parasetamol grubunda üre seviyesinin arttığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda hücre içi GSH seviyesi ve kovalent bağlanma ile toksisite oluşumu arasında bir bağ olduğu ileri sürülmüştür. RibCys'nin GSH sentezini tetiklemesi ve parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'nın GSH'a kovalent bağ ile bağlanarak böbreklerde bulunan hücrel proteinlere NAPQI'nın bağlanmasını engellediğinden toksisiteyi önlediği belirtilmektedir.²⁵³ Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu (oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyon) böbrek proksimal tübüllerinde gerçekleştirilmekte olup, proksimal tübül hücrelerinde oluşan bir hasarın, kreatinin ve üre seviyelerinde değişikliğe neden olduğu bilinmektedir. Literatüre baktığımızda bu güne kadar Parasetamol toksitesinde oluşan böbrek hasarında *Nigella sativa*'nin koruyucu etkilerini araştıran çalışılmaya rastlanılmamıştır. Mevcut çalışmalar ışığında bizim çalışmamızda da, parasetamol uyguladığımız grupta gelişen böbrek hasarı literatürlere uyumlu olarak üre ve kreatinin seviyesini yükselttiğini, bunun yanı sıra *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin ve NAC uygulanan gruplarda ise yükselen bu değerlerin kontrol grubu seviyesine kadar düşürüldüğü görülmektedir. Hatta NS' nin uygulanan 1000 mg/kg'lık dozunda en iyi etkiyi göstermiş olduğu ve bu etkinin NAC'den istatistiksel olarak daha güçlü olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Bu sonuçlar *Nigella sativa* L.'nin etanol ekstresi ile yapılan uygulamanın parasetamole bağlı renal hasarı böbrek fonksiyon testleri olan üre ve kreatinin bakımından istatistiksel olarak anlamlı şekilde düzelttiği gösterilmiştir.

Organizmalar ROS'ların toksisitesine karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan savunma mekanizmalarına sahiptirler.^{254, 255} ROS'lara karşı (özellikle de [O₂⁻] süperoksit anyonuna karşı) savunmada önemli süpürücü enzimlerden biri de SOD'dur. SOD'lar (sitoplazmik Cu/Zn SOD, Mitokondrial Mn-SOD), O₂⁻ anyonunun H₂O₂'ye

dönüşümünü katalizlerken, CAT ve GPx ise H₂O₂'nin H₂O'ya dönüşümünü katalizler.²⁵⁶ Bu nedenle oksijene maruz kalan tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır. O₂⁻ hücrelerde ana reaktif oksijen ürünlerinden biridir ve bu nedenle SOD anahtar bir antioksidan enzimdir. CAT ve SOD gibi antioksidan enzimler lipid peroksidazlar ya da reaktif oksijen ürünleri tarafından kolayca inaktive olurlar. Bu nedenle parasetamol toksisitesinde bu enzim aktivitelerinde azalmalar meydana gelir.²⁵⁷

Xin ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada Cu, Zn-süperoksid dismutaz yetersizliği bulunan farelerde, parasetamol toksisitesine karşı olan dirençleri araştırılmış ve farelerden alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda yaptıkları çalışmada SOD parasetamol ile toksisite oluşturulan farelerde azaldığı belirlenmiştir.²⁵⁸ Yousef ve arkadaşlarının sıçanlarda parasetamol kaynaklı oksidatif strese kuersetin ve kurkumin'in koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada, parasetamol uygulanan grubun kontrol grubuna göre böbrek dokusunda SOD aktivitesinde önemli bir azalış gösterdiğini gözlemlemişlerdir.²⁵⁹ Mevcut çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da, parasetamol uygulanan grupta gelişen böbrek hasarı literatürlere uyumlu olarak SOD aktivitesini azalttığını, bunun yanı sıra *Nigella sativa* L. ve NAC uygulanan gruplarda ise SOD aktivitesinin belirgin artış gösterdiği ve bu değerlerin sağlıklı gruba benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Artan dozla birlikte NS uygulanan gruplarda SOD aktivitesinde artışlar görülmüş ve en iyi etkinin ise 1000 mg/kg NS grubunda olduğu ve bu etkinin de NAC'a göre istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu gözlemlenmiştir (p<0.05).

Enzimatik olmayan önemli antioksidanlardan biri olan GSH ise; kimyasal olarak reaktif toksik bileşikler ya da oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli moleküllerdendir. Glutasyon redükte ve okside şekillerde bulunabilir. Redükte formunda, sistenin tiyol grubu reaktif oksijen ürünleri gibi stabil olmayan moleküllere,

indirgeyici ekuvalanları verebilme yeteneğine sahiptir. Koruyucu etkisi bu mekanizma ile ortaya çıkar. GSH enzimatik olmayan antioksidan sisteminin önemli parçalarından biridir. Azalmış hücrel GSH seviyeleri ve GSH sentez kapasitesi gibi durumlarda hücreler radyasyona ve bazı ilaçlara duyarlı hale gelmektedir. Parasetamol'ün yeterli derecede yüksek dozlarında oksidatif stresin bir mediatörü olarak NAPQI'nın, GSH seviyesinde azalmaya ve bu azalmaya bağlı olarak lipit peroksidasyonunda artışa yol açtığı bilinmektedir. Bu toksik metabolit hücrel proteinlere bağlanarak hücrelerde nekroza sebep olmaktadır.²⁶⁰

Şener ve arkadaşlarının farelerde melatonin, vitamin E ve N-asetil sistein'in parasetamol'le indüklenen toksisitedeki koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmada, parasetamol uygulanan grubun kontrol grubuna göre böbrek dokusundaki GSH seviyesinin azaldığını göstermişlerdir.²¹⁷ Abdel-Zaher ve arkadaşlarının 7 gün boyunca 750 mg/kg uyguladıkları parasetamol kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarına karşı aminoguanidin, gadolinyum klorür ve oleanolik asit'in etkilerini inceledikleri çalışmada parasetamol grubunun kontrol grubuna göre böbrek dokularında ölçülen GSH seviyesinin önemli bir şekilde azaldığını gözlemişlerdir.²⁶¹ Bu çalışmalar paralelinde bizim çalışmamızda da parasetamol uyguladığımız grupta gelişen böbrek hasarı bu literatürlere uyumlu olarak kontrol grubuna göre GSH seviyesini azalttığını, bunun yanı sıra *Nigella sativa* L. ve NAC uygulanan gruplarda ise GSH seviyesinde belirgin artış gösterdiği ve bu değerlerin sağlıklı gruba benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Artan dozla birlikte NS uygulanan gruplarda GSH seviyesinde artış görülmüş olup en iyi etkinin ise 1000 mg/kg NS grubunda olduğu ve bu etkinin de NAC'ye göre istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

Lipit peroksidasyonu parasetamole bağlı doku hasarına neden olan en önemli mekanizmalardan biridir ve serbest oksijen radikallerine bağlı olarak ortaya

çıkmaktadır. Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitlerine etkisi sonucu başlar. Lipit peroksidasyonunun oksidatif stres altında bulunan dokulardaki hücre fonksiyon kaybında majör bir rolü olduğu rapor edilmiştir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipit peroksidasyonunun en yaygın kullanılan belirleyicilerinden biridir. Oksidatif strese maruz kalan dokularda, MDA düzeyinde artış görülür. Yani MDA seviyesi oksidatif stres için biyomarker olarak kullanılabilir.²⁶²

Abdül Hamid ve arkadaşlarının 7 gün boyunca oral yolla 750 mg/kg parasetamol vererek böbrek hasarı oluşturdukları *Zingiber zerumbet*' in koruyucu etkisini inceledikleri çalışmada parasetamol verilen grupta kontrol grubuna göre plazma ve böbrek dokusunda MDA seviyesinde önemli bir şekilde artış görüldüğünü, 200 ve 400 mg/kg'lık *Zingiber zerumbet* gruplarında ise bu değerlerin kontrol grubuna yaklaştığını belirlemişlerdir. Parasetamol uygulanan grupta böbrek ve vücut ağırlıklarında azalma, ışık mikroskopik incelemesinde tübüler ve glomerilik hasar olduğunu tesbit etmişlerdir. 200 ve 400 mg/kg *Zingiber zerumbet* verilen gruplarda tübüler ve glomerilik hasarın azaldığını, böbrek ve vücut ağırlıklarının kontrol grubuna yaklaştırdığını en iyi düzelmelerin ise 400 mg/kg dozunda olduğunu göstermişlerdir.²⁶³ Ghosh ve arkadaşlarının *Cajanus indicus* L.'nin Parasetamol ile oluşturdukları karaciğer ve böbrek hasarındaki rolünü inceledikleri çalışmalarında parasetamol verilen grubun kontrol grubuna göre MDA seviyesinin önemli bir şekilde arttığı görülmüştür.²⁶⁴ Mevcut çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da aynı şekilde parasetamol uygulanan grupta MDA seviyesinin önemli bir şekilde artış olduğu görülmektedir. Ayrıca *Nigella sativa* L. ve NAC uygulanan gruplarda ise MDA seviyesinin belirgin bir şekilde azaldığı ve bu değerlerin sağlıklı gruba benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Artan doza bağlı olarak NS uygulanan gruplarda MDA seviyesinde azalmalar görülmüş ve en

anlamli etkinin 1000 mg/kg NS grubunda olduğu ve bu etkinin de NAC'ye göre istatistiksel olarak daha iyi olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, parasetamolle indüklenen akut böbrek hasarında sıçan böbrek dokularının *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin koruyucu etkisinin olup olmadığını pozitif kontrol olarak kullandığımız NAC'a karşı deneysel hayvan modeliyle karşılaştırmalı olarak çalışmayı amaçladık. Bu amaçla, üre ve kreatinin seviyeleri ile SOD enzim aktivitesi GSH ve MDA seviyesindeki değişiklikler incelenmiştir.

Deneysel çalışmalar sonucunda; böbrek hasarının önemli göstergesi olan serum üre ve kreatinin seviyeleri ile SOD, GSH ve MDA seviyeleri üzerinde artan dozla birlikte özellikle *Nigella sativa* L. 1000 mg/kg dozunun istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Çalışmamızın sonuçlarına göre parasetamol ile indüklenen nefrotoksisitede böbrekteki hasarın şiddetini azaltmada güçlü bir antioksidan olan *Nigella sativa* L.'nin rol alabileceği söylenebilir. Parasetamol toksisitesine karşı *Nigella sativa* L. uygulanması serbest radikallerin temizlenmesi ve antioksidan aktivite artışıyla böbreklerde hasarı engeleyerek antioksidan aktiviteye katkı sağladığı görülmüştür. Parasetamol indüklenmesiyle oluşan hasara karşı antidot olarak kullanılan NAC'a göre daha başarılı olması *Nigella sativa* L.'nin tedavide kullanılabilmesini göstermiştir. *Nigella sativa* L.'nin ratlarda NAC tedavisinde olduğu gibi antioksidan bir etki gösterdiği, parasetamolün oluşturduğu hasarı azalttığı ve koruyucu etkide bulunduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ile parasetamol ile indüklenen böbrek hasarında *Nigella sativa* L.'nin koruyucu etkiye sahip olabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak; parasetamolle indüklenen nefrotoksisitede etkinliğiyle *Nigella sativa* L. belirgin bir etki yapmıştır. *Nigella sativa* L. parasetamol ile birlikte alındığında, hem serbest radikal oluşumunun inhibe edilmesi hem de antioksidan düzeylerinin iyileştirilmesinde rol alabileceğini ortaya koymuştur. Literatürdeki

çalışmalarda dikkate alındığında bizimde çalışmamızda ortaya çıkan toksisiteyi azaltan etken olarak ekstre içinde olduğu muhtemel olan kuersetin, kaempferol ve rutin gibi flavonoidlerden kaynaklandığını dűřünüyoruz. Literatürde *Nigella sativa* L.'dan elde edilen etken maddeler ile ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bundan sonraki deneysel çalışmalarımız bitkiden gerek fenolik gerek fenolik olmayan içeriğin izole edilecek karakterize edilmesi etken maddelerin mekanizmanın tam olarak aydınlatılabilmesi için devam edecektir. *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin bűbreėi oksidatif strese korumada etkin bir rol oynaması sebebiyle klinik olarak yararlı olabilir. En önemli avantajı ise bu bitki herkes tarafında kolayca temin edilebilmesi, tadının ve lezzetinin insanların damak tadına hitap etmesi nedeniyle sadece parasetamol toksisitesi ile ilgili olaylarda değil vücudumuzun an be an her dakika kaldığı oksidatif stress ile ilişkili tüm olaylara olumlu yönde katkısı göz önünde bulundurarak sofralarımızdan eksik etmemeliyiz. Deneysel hayvan modelleri doğrudan klinik uygulamalara uyarlanmasa da yaptığımız çalışmanın sonuçlarının bu konuya ışık tutmasını ümit ediyoruz. Bu çalışmamız sonucunda literatürde ilk kez *Nigella sativa* L.'nin parasetamol ile indüklenen bűbrek hasarında koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Bywaters EG, Beall D. Crush Injuries with Impairment of Renal Function. *British medical journal*, 1941, 1: 427-432.
2. Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *The Journal of clinical investigation*, 2004, 114: 5-14.
3. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *The New England journal of medicine*, 2004, 351: 159-169.
4. Burke A, Smyth EM, Fitzgerald GA. Analgesic-antipyretic agents: pharmacotherapy of gout., in *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, L.L. Brunton, J.S. Lazo, and K. Parker, Editors. McGraw-Hill: New York, 2006, 671-716.
5. Lewis RK, Paloucek FP. Assessment and treatment of acetaminophen overdose. *Clinical pharmacy*, 1991, 10: 765-774.
6. Spooner JB, Harvey JG. The history and usage of paracetamol. *The Journal of international medical research*, 1976, 4: 1-6.
7. Gunnell D, Murray V, Hawton K. Use of paracetamol (acetaminophen) for suicide and nonfatal poisoning: worldwide patterns of use and misuse. *Suicide & life-threatening behavior*, 2000, 30: 313-326.
8. Nelson SD. Mechanisms of the formation and disposition of reactive metabolites that can cause acute liver injury. *Drug metabolism reviews*, 1995, 27(1-2): 147-177.
9. Placke ME, Wyand DS, Cohen SD. Extrahepatic lesions induced by acetaminophen in the mouse. *Toxicologic pathology*, 1987, 15: 381-387.

10. Makin AJ, Wendon J, Williams R. A 7-year experience of severe acetaminophen-induced hepatotoxicity (1987-1993). *Gastroenterology*, 1995, 109: 1907-1916.
11. Prescott LF. Paracetamol overdose. Pharmacological considerations and clinical management. *Drugs*, 1983, 25: 290-314.
12. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical reviews in toxicology*, 2001, 31: 55-138.
13. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Molecular pharmacology*, 1980, 18: 536-542.
14. Vadivel N, Trikudanathan S, Singh AK. Analgesic nephropathy. *Kidney international*, 2007, 72: 517-520.
15. Curhan GC, Knight EL, Rosner B, Hankinson SE, Stampfer MJ. Lifetime nonnarcotic analgesic use and decline in renal function in women. *Archives of internal medicine*, 2004, 164: 1519-1524.
16. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International immunopharmacology*, 2005, 5: 1749-1770.
17. Anderson D. Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *mutation research*, 1996, 350: 103-108.
18. Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *The American journal of medicine*, 1991, 91: 2-13.
19. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*, 1996, 12: 274-277.

20. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI. The characterization of antioxidants. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 1995, 33: 601-617.
21. Oliver L. Acetaminophen İçinde: Judith E, Tintinalli JE, Gabor D, Kelen J, Stapczynski S (editörler). *Emergency Medicine : a comprehensive study guide.* , 6. Baskı. McGraw-Hill, 2004: 1088-1094
22. Tisher CC. Structure and functions of the kidneys. In: Goldman L, Ausiello DA, Arend W eds. *Cecil textbook of medicine*, 23rd ed. Philadelphia, Saunders, 2007, 813-820.
23. <http://ue.anadolu.edu.tr/eKitap/ECH207U.pdf> .23 Ocak 2014.
24. Öner G. Böbrekler ve vücut sıvıları. İçinde: *Tıbbi Fizyoloji*, Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Aydın Z, Alican İ, (Çeviri editörleri). Textbook of Medical Physiology, Guyton AC, Hall JE. 10. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 2001: 280-281.
25. Sancak B, Cumhuri M. *Fonksiyonel Anatomi*, 2. Baskı, Ankara, Metu press, 2002: 261-263.
26. Lameire N. The pathophysiology of acute renal failure. *Critical care clinics*, 2005, 21: 197-210.
27. Needham E. Management of acute renal failure. *American family physician*, 2005, 72: 1739-1746.
28. Singri N, Ahya SN, Levin ML. Acute renal failure. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 2003, 289: 747-751.
29. Russell TA. Acute renal failure related to rhabdomyolysis: pathophysiology, diagnosis, and collaborative management. *Nephrology nursing journal : journal of the American Nephrology Nurses' Association*, 2000, 27: 567-575; quiz 576-577.

30. Vanholder R, Sever MS, Erek E, Lameire N. Rhabdomyolysis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2000, 11: 1553-1561.
31. Ergene N. Böbrekler ve vücut sıvıları. İçinde: *Tıbbi Fizyoloji*, Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Aydın Z, Alican İ, (Çeviri editörleri). Textbook of Medical Physiology, Guyton AC, Hall JE. 10. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 2001: 369-371.
32. Chirasirisap K, Ussanawarong S, Tassaneeyakul W, Reungsritrakool W, Prasitwatanaseree W, Sripanyawit U, Premkamol A, Prasartthong W, Patitas N. A study of major causes and types of poisoning in Khonkaen, Thailand. *Veterinary and human toxicology*, 1992, 34: 489-492.
33. Hocaoglu N, Kalkan S, Akgun A, Capar S, Tuncok Y. A retrospective evaluation of analgesic exposures from Izmir, Turkey. *Human & experimental toxicology*, 2007, 26: 629-636.
34. Rendell M, McGrane D, Cuesta M. Fatal compulsive water drinking. *The Journal of the American Medical Association*, 1978, 240: 2557-2559.
35. Riordan M, Rylance G, Berry K. Poisoning in children 1: general management. *Archives of disease Childhood*, 2002, 87: 392-396.
36. Timbrell J. *Introduction to toxicology*. 3rd ed. New York, Informa Healthcare, 2009.
37. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th ed. New York, McGraw Hill Companies, 2007: 591-592.
38. M. L, Rumley W. *Medical Emergencies*. In Dunagan WC, Rinder ML. In: Manuel of Medical Therapeutics, Little, Brown and Company, Boston, 1989: 483-514.

39. Ajith TA, Hema U, Aswathy MS. Zingiber officinale Roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2007, 45: 2267-2272.
40. Slattery JT, Levy G. Pharmacokinetic model of acetaminophen elimination. *American journal of hospital pharmacy*, 1979, 36: 440.
41. Lide DR. *Handbook of Chemistry and Physics*. 78th ed. Boca, Raton: CRC Press. 1997.
42. Verschueren K. *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. 3rd ed. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1996: 1444.
43. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
44. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 12. Baskı. Ankara, Pelikan Tıp ve Teknik Yayıncılık, 2009:849-850.
45. Prescott LF. Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *British journal of clinical pharmacology*, 1980, 10 Suppl 2: 291-298.
46. Forrest JA, Adriaenssens P, Finlayson ND, Prescott LF. Paracetamol metabolism in chronic liver disease. *European journal of clinical pharmacology*, 1979, 15: 427-431.
47. Graham G, Hicks M. *Pharmacokinetics and metabolism of paracetamol, Aspirin and related drugs* ; (Rainsford K.D. ed), London, Taylor & Francis, 2004 181-215
48. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Cital M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in

- mice. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*, 2007, 59: 121-128.
49. Fayz S, Cherry WF, Dawson JR, Mulder GJ, Pang KS. Inhibition of acetaminophen sulfation by 2,6-dichloro-4-nitrophenol in the perfused rat liver preparation. Lack of a compensatory increase of glucuronidation. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 1984, 12: 323-329.
50. Mitchell MC, Hamilton R, Wacker L, Branch RA. Zonal distribution of paracetamol glucuronidation in the isolated perfused rat liver. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, 1989, 19: 389-400.
51. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 211-217.
52. Dahlin DC, Miwa GT, Lu AY, Nelson SD. N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81: 1327-1331.
53. Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding in vivo. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 195-202.
54. Hinson JA, Reid AB, McCullough SS, James LP. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug Metabolism Reviews*, 2004, 36: 805-822.

55. Mugford CA, Tarloff JB. The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats. *Toxicology letters*, 1997, 93: 15-22.
56. Barile F. *Clinical Toxicology : principles and mechanisms*, 3rd ed. Boca Raton, FL : CRC Press, 2004: 183-188.
57. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in pharmacological sciences*, 2003, 24: 154-157.
58. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 2003, 31: 1499-1506.
59. Boobis AR, Seddon CE, Nasser-Sina P, Davies DS. Evidence for a direct role of intracellular calcium in paracetamol toxicity. *Biochemical pharmacology*, 1990, 39: 1277-1281.
60. Donnelly PJ, Walker RM, Racz WJ. Inhibition of mitochondrial respiration in vivo is an early event in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Archives of toxicology*, 1994, 68: 110-118.
61. Blantz RC. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 1996, 28: 3-6.
62. Hu JJ, Lee MJ, Vapiwala M, Reuhl K, Thomas PE, Yang CS. Sex-related differences in mouse renal metabolism and toxicity of acetaminophen. *Toxicology and applied pharmacology*, 1993, 122: 16-26.
63. Cobden I, Record CO, Ward MK, Kerr DN. Paracetamol-induced acute renal failure in the absence of fulminant liver damage. *British medical journal (Clinical research ed.)*, 1982, 284: 21-22.

64. Tintinalli JE. *Tintinalli's Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide*, 7th ed. New York, McGrawHil, 2011: 1246-1252.
65. Draganov P, Durrence H, Cox C, Reuben A. Alcohol-acetaminophen syndrome. Even moderate social drinkers are at risk. *Postgraduate medicine*, 2000, 107: 189-195.
66. Schilling A, Corey R, Leonard M, Eghtesad B. Acetaminophen: old drug, new warnings. *Cleveland Clinic journal of medicine*, 2010, 77: 19-27.
67. Chun LJ, Tong MJ, Busuttil RW, Hiatt JR. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of clinical gastroenterology*, 2009, 43: 342-349.
68. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2007, 11: 525-548, vi.
69. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. *The New England journal of medicine*, 2008, 359: 285-292.
70. Bond GR, Requa RK, Krenzelo EP, Normann SA, Tandler JD, Morris CL, McCoy DJ, Thompson MW, McCarthy T, Roblez J, et al. Influence of time until emesis on the efficacy of decontamination using acetaminophen as a marker in a pediatric population. *Annals of emergency medicine*, 1993, 22: 1403-1407.
71. Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience*, 2001, 24: 503-512.
72. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*, 1977, 2: 432-434.
73. Prescott LF, Matthew H. Cysteamine for paracetamol overdosage. *Lancet*, 1974, 1: 998.

74. Rayle AD, Kulis S, Okamoto SK, Tann SS, Lecroy CW, Dustman P, Burke AM. Who is Offering and How Often?: Gender Differences in Drug Offers Among American Indian Adolescents of the Southwest. *The Journal of early adolescence*, 2006, 26: 296-317.
75. Yip L, Dart RC, Hurlbut KM. Intravenous administration of oral N-acetylcysteine. *Critical care medicine*, 1998, 26: 40-43.
76. Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *Journal of clinical gastroenterology*, 1991, 13: 79-82.
77. Underhill TJ, Greene MK, Dove AF. A comparison of the efficacy of gastric lavage, ipecacuanha and activated charcoal in the emergency management of paracetamol overdose. *Archives of emergency medicine*, 1990, 7: 148-154.
78. Ladich E, Burke A, Virmani R. Should the autopsy be allowed to become obsolete? *Nature clinical practice. Cardiovascular medicine*, 2006, 3: 289.
79. Akkuş T. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Konya, Mimoza Yayınları, 1995: 1-80.
80. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Yayın No: 29. Afyon, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları*, 2000: 1-35.
81. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 2006, 160: 1-40.
82. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007, 39: 44-84.
83. Kılınç A, Kılınç K. *Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri*, 1. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2000.

84. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutation Research*, 2004, 567: 1-61.
85. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *The Biochemical journal*, 1984, 219: 1-14.
86. Bayır Y. Usnea Longissima Ach. Liken Türünden İzole Edilen Difraktaik Asit'in İndometazin Ülseri Üzerine Koruyucu Etkisi ve İn-Vivo Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2004.
87. Weiss SJ, LoBuglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47: 5-18.
88. Buonocore G, Groenendaal F. Anti-oxidant strategies. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, 2007, 12: 287-295.
89. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoot K, Xin W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 1987, 46: 1-12.
90. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *Journal of free radicals in biology & medicine*, 1985, 1: 3-25.
91. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47: 412-426.
92. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in enzymology*, 1990, 186: 1-85.

93. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England journal of medicine*, 1985, 312: 159-163.
94. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.
95. Szabo S. Mechanisms of mucosal injury in the stomach and duodenum: time-sequence analysis of morphologic, functional, biochemical and histochemical studies. *Scandinavian journal of gastroenterology. Supplement*, 1987, 127: 21-28.
96. Afanas'ev IB. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological & pathological conditions. *Molecular biotechnology*, 2007, 37: 2-4.
97. Auroma O. Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1999, 8.
98. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 1989, 82: 747-752.
99. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90: 7915-7922.
100. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical chemistry*, 1991, 37: 1932-1937.
101. Georgieva NV. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems – A Review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 2005, 8: 1-11.

102. Baccanari DP. Coupled oxidation of NADPH with thiols at neutral pH. *Archives of biochemistry and biophysics*, 1978, 191: 351-357.
103. Ku HH, Brunk UT, Sohal RS. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free radical biology & medicine*, 1993, 15: 621-627.
104. Bayır Y. Sıçanlarda İsoptrenol İle Oluşturulan Miyokard İnfarktüsü Modelinde Dna Hasarı ve Oksidatif Stres Üzerine Lasidipin, Ramipril ve Valsartan'ın Etkilerinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Erzurum, Atatürk Üniversitesi, 2008.
105. Ersoy A, Dilek K. Hemodiyaliz Hastalarında Eritrosit Membran Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidatif Homeostazis Değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1999, 1: 1-4.
106. Jana AK, Agarwal S, Chatterjee SN. The induction of lipid peroxidation in liposomal membrane by ultrasound and the role of hydroxyl radicals. *Radiation research*, 1990, 124: 7-14.
107. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS letters*, 1991, 281: 9-19.
108. Panduri V, Weitzman SA, Chandel NS, Kamp DW. Mitochondrial-derived free radicals mediate asbestos-induced alveolar epithelial cell apoptosis. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 2004, 286: L1220-1227.
109. Davies KJ, Goldberg AL. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *The Journal of biological chemistry*, 1987, 262: 8220-8226.

110. Thomas CE, Aust SD. Free radicals and environmental toxins. *Annals of emergency medicine*, 1986, 15: 1075-1083.
111. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*, 1999, 424: 83-95.
112. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American journal of clinical nutrition*, 1993, 57: 715-724; discussion 724-725.
113. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2006, 44: 393-397.
114. Friedberg EC. *DNA Repair and Mutagenesis*, 2th ed. New York, Freeman WH and Company, 1984: 1-2.
115. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, Nicotera T. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet*, 1996, 347: 444-445.
116. Teoule R. Radiation-induced DNA damage and its repair. *International journal of radiation biology and related studies in physics, chemistry, and medicine*, 1987, 51: 573-589.
117. Dizdaroglu M. Chemical determination of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Methods in enzymology*, 1994, 234: 3-16.
118. Senturker S, Dizdaroglu M. The effect of experimental conditions on the levels of oxidatively modified bases in DNA as measured by gas chromatography-mass spectrometry: how many modified bases are involved? Prepurification or not? *Free radical biology & medicine*, 1999, 27: 370-380.

119. Dizdaroglu M. Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free radical research*, 1998, 29: 551-563.
120. Milligan JR, Ward JF. Yield of single-strand breaks due to attack on DNA by scavenger-derived radicals. *Radiation research*, 1994, 137: 295-299.
121. Jornot L, Petersen H, Junod AF. Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *The Biochemical journal*, 1998, 335 (Pt 1): 85-94.
122. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2003, 17: 1195-1214.
123. Knaapen AM, Gungor N, Schins RP, Borm PJ, Van Schooten FJ. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis*, 2006, 21: 225-236.
124. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 2000, 21: 361-370.
125. Aust AE, Eveleigh JF. Mechanisms of DNA oxidation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1999, 222: 246-252.
126. Andican G, Gelisgen R, Civelek S, Seven A, Seymen O, Altug T, Yigit G, Burcak G. Oxidative damage to nuclear DNA in hyperthyroid rat liver: inability of vitamin C to prevent the damage. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 2004, 67: 413-420.
127. Çakatay U, Kayalı R. Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2004, 35: 140-149.

128. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2004, 15: 91-96.
129. Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. *Reproductive Toxicology*, 1999, 13: 347-352.
130. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2004, 44: 275-295.
131. Yavaşer R. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan kapasitelerinin Karşılaştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2011.
132. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual review of biochemistry*, 1995, 64: 97-112.
133. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VG, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free radical biology & medicine*, 2006, 41: 1338-1350.
134. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *The Journal of biological chemistry*, 1993, 268: 416-420.
135. Amorim AM, Gasques MD, Andreus J, Scharf M. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 2002, 74: 433-436.
136. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*, 25th ed. New York, McGraw-Hill Companies Inc, 2000: 254-258.
137. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ. *Biyokimya*, 6. Baskı. Ankara, Aktif Yayınevi, 2009: 348-470.

138. Atlan N. Biyokimya olgu sunumlu yaklaşım. İçinde: *Biyokimya*, Atlan N, (Çeviri editörleri). *Biochemistry*, Montgomery R, Conway TW, Specter AA. Ankara, Palme Yayıncılık, 2000: 84-450.
139. Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *Journal of food science*, 2009, 74: H259-265.
140. Blumberg J. Use of biomarkers of oxidative stress in research studies. *The Journal of nutrition*, 2004, 134: 3188-3189.
141. Baytop T. *Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3255, İstanbul, 1984: 211.
142. Randhawa MA, Al-Ghamdi MS. A Review Of The Pharmaco-Therapeutic Effects Of Nigella Sativa. *Pakistan Journal Of Medical Reserach*, 2002, 41: 77-83.
143. Worthen DR, Ghosheh OA, Crooks PA. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, Nigella sativa L. *Anticancer research*, 1998, 18: 1527-1532.
144. Morsi NM. Antimicrobial effect of crude extracts of Nigella sativa on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta microbiologica Polonica*, 2000, 49: 63-74.
145. Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR. Fixed oil of Nigella sativa and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta medica*, 1995, 61: 33-36.
146. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy research : PTR*, 2000, 14: 323-328.

147. Salem ML, Hossain MS. In vivo acute depletion of CD8(+) T cells before murine cytomegalovirus infection upregulated innate antiviral activity of natural killer cells. *International journal of immunopharmacology*, 2000, 22: 707-718.
148. Kaya MS, Kara M, Özbek H. Çörek otu (*Nigella Sativa*) tohumunun insan hücrel bağışıklık sisteminin CD+3,CD+4,CD+8 hücreleri ve toplam lökosit sayısı üzerine etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 2003, 13.
149. Sharma NK, Ahirwar D, Jhade D, Gupta S. Medicinal and Phamacological Potential of *Nigella sativa*: A Review. *Ethnobotanical Review*, 2009, 13: 946-955.
150. Turkdoğan MK, Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, Uygan I, Ceylan E. The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* the prevention of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research*, 2003, 17: 942-946.
151. <http://botanical-herbs.com>. 5 Ocak 2014.
152. Kanter M, Coskun O, Budancamanak M. Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L and *Urtica dioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World journal of gastroenterology : WJG*, 2005, 11: 6684-6688.
153. Al-Jassir M. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 1992, 45: 239-242.
154. Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, Amoli MA. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 2003, 58: 629-631.
155. Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, Marzouk B. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes rendus biologiques*, 2008, 331: 48-55.

156. Merfort I, Wray V, Barakat HH, Hussein SAM, Nawwar MAM, Willuhn G. Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry*, 1997, 46: 359-363.
157. Formica JV, Regelson W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology* 1995, 33: 1061-1080.
158. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 2001, 74: 418-425.
159. Piskula MK, Terao J. Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues. *The Journal of nutrition*, 1998, 128: 1172-1178.
160. Peterson J, Dwyer J. Taxonomic classification helps identify flavonoid-containing foods on a semiquantitative food frequency questionnaire. *Journal of the American Dietetic Association*, 1998, 98: 677-82, 685; quiz 683-684.
161. Chander V, Singh D, Chopra K. Catechin, a natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*, 2003, 48: 503-509.
162. Friedman LS, Brautbar N, Barach P, Wolfe AH, Richter ED. Creatine phosphate kinase elevations signaling muscle damage following exposures to anticholinesterases: 2 sentinel patients. *Archives of environmental health*, 2003, 58: 167-171.
163. Friedman LS. Our new president--Daniel K. Podolsky, M.D. *Gastroenterology*, 2003, 124: 1524-1531.

164. Bors W, Michel C, Saran M. Flavonoid antioxidants: rate constants for reactions with oxygen radicals. *Methods in enzymology*, 1994, 234: 420-429.
165. Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Padeloup N, Brissot P, Cillard P, Cillard J. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochemical pharmacology*, 1993, 45: 13-19.
166. Elangovan V, Sekar N, Govindasamy S. Chemopreventive potential of dietary bioflavonoids against 20-methylcholanthrene-induced tumorigenesis. *Cancer letters*, 1994, 87: 107-113.
167. Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, 1993, 341: 454-457.
168. Skaper SD, Fabris M, Ferrari V, Dalle Carbonare M, Leon A. Quercetin protects cutaneous tissue-associated cell types including sensory neurons from oxidative stress induced by glutathione depletion: cooperative effects of ascorbic acid. *Free radical biology & medicine*, 1997, 22: 669-678.
169. Giachino D, van Duist MM, Regazzoni S, Gregori D, Bardessono M, Salacone P, Scaglione N, Sostegni R, Sapone N, Bresso F, Sambataro A, Gaia E, Pera A, Astegiano M, De Marchi M. Analysis of the CARD15 variants R702W, G908R and L1007fs in Italian IBD patients. *European journal of human genetics : EJHG*, 2004, 12: 206-212.
170. Leroux C, Le Provost F, Petit E, Bernard L, Chilliard Y, Martin P. Real-time RT-PCR and cDNA macroarray to study the impact of the genetic polymorphism at the alphas1-casein locus on the expression of genes in the goat

- mammary gland during lactation. *Reproduction, nutrition, development*, 2003, 43: 459-469.
171. Way K, Bark SJ, Longshaw CB, Denham KL, Dixon PF, Feist SW, Gardiner R, Gubbins MJ, Le Deuff RM, Martin PD, Stone DM, Taylor GR. Isolation of a rhabdovirus during outbreaks of disease in cyprinid fish species at fishery sites in England. *Diseases of aquatic organisms*, 2003, 57: 43-50.
172. Sorata Y, Takahama U, Kimura M. Protective effect of quercetin and rutin on photosensitized lysis of human erythrocytes in the presence of hematoporphyrin. *Biochimica et biophysica acta*, 1984, 799: 313-317.
173. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*, 2005, 51: 117-123.
174. Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Regan KS, Radovsky AE, Beck MJ, Morita O, Tamaki Y, Suzuki H. 28-Day oral (gavage) toxicity studies of green tea catechins prepared for beverages in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46: 978-989.
175. Crespy V, Morand C, Manach C, Besson C, Demigne C, Remesy C. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. *The American journal of physiology*, 1999, 277: 120-126.
176. Frank JA, Miller BR, Arbab AS, Zywicke HA, Jordan EK, Lewis BK, Bryant LH, Jr., Bulte JW. Clinically applicable labeling of mammalian and stem cells by combining superparamagnetic iron oxides and transfection agents. *Radiology*, 2003, 228: 480-487.

177. Fujii H, Nishioka H, Wakame K, Magnuson BA, Roberts A. Acute, subchronic and genotoxicity studies conducted with Oligonol, an oligomerized polyphenol formulated from lychee and green tea extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46: 3553-3562.
178. Pawlikowska-Pawlega B, Gruszecki WI, Misiak LE, Gawron A. The study of the quercetin action on human erythrocyte membranes. *Biochemical pharmacology*, 2003, 66: 605-612.
179. Benito S, Lopez D, Saiz MP, Buxaderas S, Sanchez J, Puig-Parellada P, Mitjavila MT. A flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta. *British journal of pharmacology*, 2002, 135: 910-916.
180. Erden Inal M, Kahraman A, Koken T. Beneficial effects of quercetin on oxidative stress induced by ultraviolet A. *Clinical and experimental dermatology*, 2001, 26: 536-539.
181. Priya SD, Devi CSS. Protective effect of quercetin in cisplatin-induced cell injury in the rat kidney. *Indian Journal of Pharmacology*, 1999, 31: 422-426.
182. Muthukumaran S, Sudheer AR, Nalini N, Menon VP. Effect of quercetin on nicotine-induced biochemical changes and DNA damage in rat peripheral blood lymphocytes. *Redox report : communications in free radical research*, 2008, 13: 217-224.
183. Ikizler M, Erkasap N, Dernek S, Kural T, Kaygisiz Z. Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment. *Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = the Anatolian journal of cardiology*, 2007, 7: 404-410.
184. Yin R, Han K, Heller W, Albert A, Dobrev PI, Zazimalova E, Schaffner AR. Kaempferol 3-O-rhamnoside-7-O-rhamnoside is an endogenous flavonol

- inhibitor of polar auxin transport in Arabidopsis shoots. *The New phytologist*, 2013.
185. Pannala AS, Rice-Evans C. Rapid screening method for relative antioxidant activities of flavonoids and phenolics. *Methods in enzymology*, 2001, 335: 266-272.
186. Peterson J, Dwyer J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 1998, 18: 1995-2018.
187. Khan MA. Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 1999, 7: 15-35.
188. Nagi MN, Alam K, Badary OA, al-Shabanah OA, al-Sawaf HA, al-Bekairi AM. Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. *Biochemistry and molecular biology international*, 1999, 47: 153-159.
189. Turkdogan MK, Agaoglu Z, Yener Z, Sekeroglu R, Akkan HA, Avci ME. The role of antioxidant vitamins (C and E), selenium and *Nigella sativa* in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: new hopes. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 2001, 108: 71-73.
190. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy research : PTR*, 2003, 17: 299-305.
191. Dattner AM. From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to the future. *Dermatologic therapy*, 2003, 16: 106-113.
192. Kanter M, Meral I, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, Uygan I. Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 2003, 50: 264-268.

193. Ali BH. The effect of *Nigella sativa* oil on gentamicin nephrotoxicity in rats. *The American journal of Chinese medicine*, 2004, 32: 49-55.
194. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *Journal of ethnopharmacology*, 2003, 89: 217-219.
195. Kuralay F, Akarca US, Ozutemiz AO, Kutay F, Batur Y. Possible role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity enhanced by fish oil in male Wistar rats. *Journal of toxicology and environmental health.*, 1998, 53: 223-229.
196. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
197. Öner G. Böbrek Fizyolojisi. içinde: *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi*, Gökbel, H. (Çeviri Editörü). *Ganong's of Medical Physiology*, Barrett, KE, Barman SM, Boitano S, Brooks, HL. 23. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2011: 639.
198. Rumack BH, Peterson RC, Koch GG, Amara IA. Acetaminophen overdose. 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment. *Archives of internal medicine*, 1981, 141: 380-385.
199. Emeigh Hart SG, Wyand DS, Khairallah EA, Cohen SD. Acetaminophen nephrotoxicity in the CD-1 mouse. II. Protection by probenecid and AT-125 without diminution of renal covalent binding. *Toxicology and applied pharmacology*, 1996, 136: 161-169.
200. Eguia L, Materson BJ. Acetaminophen-related acute renal failure without fulminant liver failure. *Pharmacotherapy*, 1997, 17: 363-370.

201. Blakely P, McDonald BR. Acute renal failure due to acetaminophen ingestion: a case report and review of the literature. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 1995, 6: 48-53.
202. Page J, Henry D. Consumption of NSAIDs and the development of congestive heart failure in elderly patients: an underrecognized public health problem. *Archives of internal medicine*, 2000, 160: 777-784.
203. Hawkins N, Golding J. A survey of the administration of drugs to young infants. The Alspac Survey Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *British journal of clinical pharmacology*, 1995, 40: 79-82.
204. Cengiz G, Aksoy N, Aktay G, Söylemezoğlu T. Parasetamol ve aspirinin plazma ve karaciğerde lipid peroksidasyona etkisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1999, 28: 47-60.
205. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 1990, 186: 421-431.
206. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology*, 1993, 23: 21-48.
207. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *The New England journal of medicine*, 1993, 329: 2002-2012.
208. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *The American journal of medicine*, 1991, 91: 131-139.
209. Cekmen M, Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Somay A, Ersoz C. Curcumin prevents oxidative renal damage induced by acetaminophen in rats. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2009, 47: 1480-1484.

210. El-Ridi MR, Rahmy TR. Action of vitamin C against acetaminophen-induced hepatorenal toxicity in rats. *Journal of Toxicology - Toxin Reviews*, 2000, 19: 275-304.
211. Gaedeke J, Fels LM, Bokemeyer C, Mengs U, Stolte H, Lentzen H. Cisplatin nephrotoxicity and protection by silibinin. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 1996, 11: 55-62.
212. Gupta AK, Chitme H, Dass SK, Misra N. Hepatoprotective activity of Rauwolfia serpentina rhizome in paracetamol intoxicated rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2010, 5: 431-437.
213. Gupta M, Mazumder UK, Kumar TS, Gomathi P, Kumar RS. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Bauhinia racemosa against Paracetamol and Carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics*, 2004, 3: 12-20.
214. Iwalokun BA, Efedede BU, Alabi-Sofunde JA, Oduala T, Magbagbeola OA, Akinwande AI. Hepatoprotective and antioxidant activities of Vernonia amygdalina on acetaminophen-induced hepatic damage in mice. *Journal of medicinal food*, 2006, 9: 524-530.
215. Meotti FC, Rosa JM, Brocardo PS, Balz D, Waltrick AP, Bagio A, Goulart EC, Dafre AL, Rodrigues AL, Santos AR. Protective effect of crude extract from Wedelia paludosa (Asteraceae) on the hepatotoxicity induced by paracetamol in mice. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 2006, 58: 137-142.
216. Pimple BP, Kadam PV, Badgujar NS, Bafna AR, Patil MJ. Protective effect of Tamarindus indica linn against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical sciences*, 2007, 69: 827-831.

217. Sener G, Sehirli AO, Ayanoglu-Dulger G. Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: a comparative study. *Journal of pineal research*, 2003, 35: 61-68.
218. Olaleye MT, Adegboye OO, Akindahunsi AA. Alchornea cordifolia extract protects wistar albino rats against acetaminophen-induced liver damage. *African Journal of Biotechnology*,, 2006, 5: 2439-2445.
219. Azza MM, Nadia MM, Sohair SM. Sativa seeds against Schistosoma mansoni different stages. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2005, 100: 205-211.
220. Assayed ME. Radioprotective effects of black seed (Nigella sativa) oil against hemopoietic damage and immunosuppression in gamma-irradiated rats. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 2010, 32: 284-296.
221. El-Dakhakhny M, Barakat M, El-Halim MA, Aly SM. Effects of Nigella sativa oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2000, 72: 299-304.
222. Ramadan MF. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (Nigella sativa L.): an overview. *International Journal of Food Science and Technology*, 2007, 42: 1208-1218.
223. Chakravarty N. Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Annals of allergy*, 1993, 70: 237-242.
224. Khan MA, Ashfaq MK, Zuberi HS, Mahmood MS, Gilani AH. The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from Nigella sativa seeds. *Phytotherapy research : PTR*, 2003, 17: 183-186.
225. Atta MB, Imaizumi K. Antioxidant Activity of Nigella (Nigella sativa L.) Seeds Extracts. *journal of japan oil chemical society*, 1998, 47: 475-480.

226. Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ, Kieseletter H. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytotherapy research : PTR*, 2003, 17: 1209-1214.
227. el-Dakhakhny M. Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L. IV. Some pharmacological properties of the seeds' active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. *Arzneimittel-Forschung*, 1965, 15: 1227-1229.
228. El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lembert N, Ammon HP. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2002, 81: 161-164.
229. Swamy SM, Tan BK. Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *Journal of ethnopharmacology*, 2000, 70: 1-7.
230. Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *International journal of immunopharmacology*, 1999, 21: 283-295.
231. Ferdous AJ, Islam SN, Ahsan M, Hasan CM, Ahmed ZU. In vitro antibacterial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds against multiple drug-resistant isolates of *Shigella* spp and isolates of *Vibrio-cholerae* and *Escherichia-coli*. *Phytotherapy Research*, 1992, 6: 137-140.
232. Su HC, Nguyen KB, Salazar-Mather TP, Ruzek MC, Dalod MY, Biron CA. NK cell functions restrain T cell responses during viral infections. *European journal of immunology*, 2001, 31: 3048-3055.
233. Akhtar MS, Aslam M. Anticestodal principles of *Nigella sativa* Linn. (Kolanji) seeds. *pakistan journal of pharmacology*, 1997, 14: 7-14.

234. Haq A, Abdullatif M, Lobo PI, Khabar KS, Sheth KV, al-Sedairy ST. Nigella sativa: effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocyte phagocytic activity. *Immunopharmacology*, 1995, 30: 147-155.
235. Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan M. Immunosuppressive and cytotoxic properties of Nigella sativa. *Phytotherapy research : PTR*, 2004, 18: 395-398.
236. Farah KM, Atoji Y, Shimizu Y, Takewaki T. Insulinotropic properties of Nigella sativa oil in Streptozotocin plus Nicotinamide diabetic hamster. *Research in veterinary science*, 2002, 73: 279-282.
237. el-Dakhkhny M, Mady NI, Halim MA. Nigella sativa L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittel-Forschung*, 2000, 50: 832-836.
238. Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S. The effect of Nigella sativa oil against the liver damage induced by Schistosoma mansoni infection in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 2002, 79: 1-11.
239. Boskabady MH, Khatami A, Nazari A. Possible mechanism(s) for relaxant effects of Foeniculum vulgare on guinea pig tracheal chains. *Die Pharmazie*, 2004, 59: 561-564.
240. el Tahir KE, Ashour MM, al-Harbi MM. The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (Nigella sativa) in rats: elucidation of the mechanism of action. *General pharmacology*, 1993, 24: 1123-1131.
241. Zaoui A, Cherrah Y, Alaoui K, Mahassine N, Amarouch H, Hassar M. Effects of Nigella sativa fixed oil on blood homeostasis in rat. *Journal of ethnopharmacology*, 2002, 79: 23-26.

242. el Tahir KE, Ashour MM, al-Harbi MM. The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in guinea-pigs: elucidation of the mechanism(s) of action. *General pharmacology*, 1993, 24: 1115-1122.
243. Akhtar AH, Ahmad KD, Gilani SN, Nazir A. Antiulcer effects of aqueous extracts of *Nigella sativa* and *Pongamia pinnata* in rats. *Fitoterapia*, 1996, 38: 195-199.
244. Mahgoub AA. Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicology letters*, 2003, 143: 133-143.
245. Agradi E, Fico G, Cillo F, Francisci C, Tome F. Estrogenic activity of *Nigella damascena* extracts, evaluated using a recombinant yeast screen. *Phytotherapy research : PTR*, 2002, 16: 414-416.
246. Abdel-Fattah AM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *European journal of pharmacology*, 2000, 400: 89-97.
247. Al-Naggar TB, Gomez-Serranillos MP, Carretero ME, Villar AM. Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 2003, 88: 63-68.
248. Kanter M, Coskun O, Kalayci M, Buyukbas S, Cagavi F. Neuroprotective effects of *Nigella sativa* on experimental spinal cord injury in rats. *Human & experimental toxicology*, 2006, 25: 127-133.
249. Kanter M. *Nigella sativa* and derived thymoquinone prevents hippocampal neurodegeneration after chronic toluene exposure in rats. *Neurochemical research*, 2008, 33: 579-588.

250. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 2004, 11: 56-64.
251. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiological reviews*, 2000, 80: 1107-1213.
252. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clinical chemistry*, 1990, 36: 1440-1443.
253. Lucas AM, Hennig G, Dominick PK, Whiteley HE, Roberts JC, Cohen SD. Ribose cysteine protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity. *Toxicologic pathology*, 2000, 28: 697-704.
254. Verspaget HW, Mulder TP, van der Sluys Veer A, Pena AS, Lamers CB. Reactive oxygen metabolites and colitis: a disturbed balance between damage and protection. A selective review. *Scandinavian journal of gastroenterology. Supplement*, 1991, 188: 44-51.
255. Smith SM, Kviety PR. Gastric ulcers: role of oxygen radicals. *Critical care medicine*, 1988, 16: 892-898.
256. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 1993, 49: 481-493.
257. Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK, Herunsalee A, Charuchongkolwongse S, Niumsakul S, Srichairat S. Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 2005, 28: 1165-1171.

258. Lei XG, Zhu JH, McClung JP, Aregullin M, Roneker CA. Mice deficient in Cu,Zn-superoxide dismutase are resistant to acetaminophen toxicity. *The Biochemical journal*, 2006, 399: 455-461.
259. Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2010, 48: 3246-3261.
260. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current opinion in pharmacology*, 2007, 7: 355-359.
261. Abdel-Zaher AO, Abdel-Rahman MM, Hafez MM, Omran FM. Role of nitric oxide and reduced glutathione in the protective effects of aminoguanidine, gadolinium chloride and oleanolic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. *Toxicology*, 2007, 234: 124-134.
262. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical chemistry*, 1997, 43: 1209-1214.
263. Abdul Hamid Z, Budin SB, Wen Jie N, Hamid A, Husain K, Mohamed J. Nephroprotective effects of Zingiber zerumbet Smith ethyl acetate extract against paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 2012, 13: 176-185.
264. Ghosh A, Sil PC. Anti-oxidative effect of a protein from *Cajanus indicus* L against acetaminophen-induced hepato-nephro toxicity. *Journal of biochemistry and molecular biology*, 2007, 40: 1039-1049.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı: Doğukan CANAYAKIN Doğum tarihi: 25.05.1987 Doğum yeri: Erzincan Medeni hali: Bekar Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240, Erzurum Tel: (0537) 831 03 28 E-mail: dogu_24.24@hotmail.com</p>
Eğitim
<p>Lise: Kazım Karabekir Lisesi (2004) Lisans: Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi (2006-2010)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>Yok</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>Bilgisayar ve teknoloji Kitap okuma Spor</p>

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



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

Sayı : 36643897-40

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

04.06.2013
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 22.05.2013 tarih ve 93722986.03/361 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya Anabilim Dalı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Nigella Sativa Etanol Ekstresinin Ratlarda Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 31.05.2013 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 33 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan Vekili

Toplantı Tarihi : 31.05.2013

Toplantı Sayısı : 1

KARAR NO : 33- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya Anabilim Dalı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Nigella Sativa Etanol Ekstresinin Ratlarda Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 22.05.2013 tarih ve 93722986.03/361 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM

Telefon : 0-442-236 08 80

Fax : 0-442-236 08 81

e-mail: hadyek@atauni.edu.tr