

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

Nuh YAYLA

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

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

Yüksek Lisans Tezi – 2014

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

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

Nuh YAYLA

**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

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

Nuh YAYLA

Tez Savunma Tarihi : 15.01.2014

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU
(Atatürk Üniversitesi)



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



Jüri Üyesi : Doç. Dr. Zekai HALICI
(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	X
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Zehirlenmeler.....	5
2.2. İnsan Karaciğer Anatomisi ve Fizyolojisi	6
2.3. Rat Karaciğerinin Anatomisi	7
2.4. Akut Karaciğer Toksisitesi	8
2.5. Parasetamol (Asetaminofen).....	11
2.5.1. Parasetamol'ün Tarihçesi.....	11
2.5.2. Farmakokinetik ve Metabolizma	12
2.5.3. Farmakolojik Etkileri	14
2.5.4. Parasetamolün NSAI ve Opioid Analjeziklerle Karşılaştırılması.....	16
2.5.5. Parasetamolün Yan Etkileri	17
2.6. Parasetamol Toksisitesi	17
2.6.1. Klinik Bulgular	22
2.6.2. Teşhis	22
2.6.2.1. Akut Zehirlenme	22
2.6.2.2. Kronik Zehirlenme.....	24
2.6.3. Tedavi	27
2.6.3.1. Gastrointestinal Sistem Dekontaminasyonu	27
2.6.3.2. N-Asetil Sistein (NAC).....	28
2.6.3.3. Aktif Kömür Uygulaması	28
2.6.3.4. Aktif kömür ve Oral N-asetil sistein Kombine Kullanımı.....	29
2.6.3.5. Simetidin.....	29
2.6.3.6. Metiyonin.....	30
2.6.3.7. Pentoksifilin (PTF)	30
2.6.3.8. Diyaliz.....	30

2.6.3.9. Karaciğer Transplantasyonu	31
2.6.4. Prognoz	31
2.7. <i>Nigella sativa</i> L. (Çörek Otu)	32
2.7.1. <i>Nigella sativa</i> L.'nin İçinde Bulunan Değerli Bileşenler	33
2.7.1.1. Flavonoidler	35
2.7.2. <i>Nigella sativa</i> L.'nin Hepatoprotektif Etkisi	41
2.7.3. <i>Nigella sativa</i> L.'nin Antioksidan Etkisi	42
2.7.4. <i>Nigella sativa</i> L.'nin Toksik Özelliği	42
2.8. Serbest Radikaller	43
2.8.1. Serbest radikal çeşitleri	44
2.8.1.1. Süperoksit radikali (O_2^-)	44
2.8.1.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	46
2.8.1.3. Hidroksil radikali (OH)	47
2.8.1.4. Singlet Oksijen (1O_2)	47
2.8.1.5. Nitrik oksit (NO)	48
2.8.1.6. Diğer Serbest Radikaller	49
2.8.2. Serbest radikal kaynakları	50
2.8.2.1. Eksojen radikal kaynakları	50
2.8.2.2. Endojen radikal kaynakları	50
2.8.3. Serbest radikallerin etkileri	53
2.8.3.1. Membran lipitleri üzerine etkileri	53
2.8.3.2. Proteinler üzerine etkileri	55
2.8.3.3. DNA üzerine etkileri	55
2.8.3.4. Karbohidratlara Etkileri	57
2.8.4. Antioksidan savunma sistemleri	57
2.8.4.1. Endojen (Doğal) antioksidanlar	59
2.9. Oksidatif Stres Hipotezi	61
2.10. Biyokimyasal Parametreler	62
2.10.1. Aminotransferazlar (Transaminazlar)	62
2.10.1.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT)	63
2.10.1.2. Alanin Aminotransferaz (ALT, SGPT)	64
3. MATERYAL VE METOT	65
3.1. Materyal	65

3.1.1. Deney Hayvanları	65
3.1.2. Kullanılan İlaçlar	65
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	66
3.2. Metot.....	67
3.2.1. Deney Planı.....	67
3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar	68
3.2.2.1. Karaciğer Dokusunda Yapılan Analizler	68
3.2.2.2. Serumda Yapılan Analizler.....	73
3.2.3. İstatistiksel Analiz.....	77
4. BULGULAR.....	78
4.1. Biyokimyasal Bulgular	78
4.1.1. ALT, AST ve TNF- α Analizleri	78
4.1.2. SOD, GSH ve MDA Analizleri	78
5. TARTIŞMA.....	85
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR	103
EKLER	138
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	138
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	139

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince hem mesleğine hem de hayata yaklaşımı açısından bizlere örnek olan, bilgisini ve deneyimlerini her zaman çok cömertçe bizlerle paylaşan tez danışmanım, saygıdeğer hocam Doç. Dr. Yasin Bayır'a, engin tecrübelerini her an bir espriyle bağlantı kurarak sunan ve öğretimdeki ustalığıyla ömrüm boyunca unutmayacağım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Zekai Halıcı'ya, yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince, yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarımda yolumu aydınlatan saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU, Doç. Dr. Abdülmecit ALBAYRAK, Doç. Dr. Elif ÇADIRCI, Yrd. Doç. Dr. Beyzagül POLAT, Yrd. Doç. Dr. Emre KARAKUŞ'a ve Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalındaki sevgili asistan arkadaşlarıma; birlikte paylaştığımız sıcak çalışma ortamı ve dostlukları için en içten teşekkürlerimi sunarken, bu çalışmayı **2012/077 BAP** proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, ayrıca bugünlere gelmemde emekleri çok büyük olan canım anneme ve kardeşlerime, cesaretimi artıran ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşime ve ailesine, tez çalışmam sürecinde dünyaya adım atan ilham kaynağım biricik oğluma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nuh YAYLA

ÖZET

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

Amaç: Günümüzde parasetamol kolay ulaşılabilen ve sıklıkla kullanılan analjezik ve antipiretik ajanlardan biridir. Artan ilaç kullanımı, her geçen gün ilaca bağlı karaciğer toksisitesinde önemli artışa neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı ratlarda parasetamol ile oluşturulan akut karaciğer toksisite modelinde güçlü bir antioksidan olan *Nigella sativa* L. (NS) etanol ekstresinin etkisinin biyokimyasal olarak araştırılmasıdır.

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 karaciğer fonksiyon testleri ALT, AST seviyelerinde ve TNF- α aktivitesinde belirgin artış tespit edilmiştir. Parasetamol ile beraber NS etanol ekstresi verilen tüm gruplarda ise ALT, AST seviyeleri ve TNF- α aktivitesi anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Karaciğerde 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 ise 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 hepatotoksisitenin ve oksidatif stresin azaldığı belirlenmiştir. NS etanol ekstresi içerisinde majör olarak bulunan ve flavonoid ailesinin önemli üyeleri olan kuersetin, kaempferol ve rutin gibi antioksidan maddelerin etki ettiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer toksisite, *Nigella sativa* L., oksidatif stres, parasetamol, Rat.

ABSTRACT

Investigation Effects of *Nigella sativa* L. Ethanol Extract on Paracetamol induced Liver Toxicity in Rats

Aim: Nowadays, paracetamol is one of the easy-to-find and widely used analgesic and antipyretic agents. The increase in medication usage leads to significant increase in drug related liver toxicity day by day. The aim of this study is to biochemically examine the effects of NS ethanol extract, which is a strong antioxidant, on paracetamol induced acute liver 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, significant increases in ALT and AST levels and TNF- α activity were observed in paracetamol-given group when compared to healthy control group. In all groups where NS ethanol extract has been administered with paracetamol, the levels of ALT and AST and TNF- α activity have been found to be significantly decreased ($p < 0.05$). 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: It has been found that hepatotoxicity and oxidative stress have decreased as a result of NS ethanol extract administration. It is thought that antioxidant compounds existing in NS ethanol extract majorly and being important members of flavonoid family such as quercetin, caempferol and rutin have showed these effects.

Key Words: Liver toxicity, *Nigella sativa* L., oxidative stress, paracetamol, Rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADP	: Adenozin di fosfat
AKY	: Akut karaciğer yetmezliği
ALT (SGPT)	: Alanin aminotransferaz (Serum glutamik pirüvik transaminaz)
APAP	: N-Asetil-P-aminofenol (asetaminofen) (parasetamol)
Arg	: L-arginin
ASA	: Asetil salisilik asit
AST (SGOT)	: Aspartat amino transferaz (Serum glutamik okzaloasetik transaminaz)
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CCl₄	: Karbon tetra klorür
CMC	: Karboksi metil selüloz
COX	: Siklooksijenaz (Cyclooxygenase)
Cu	: Bakır
CYP2E1	: Sitokrom p450 2E1 (Cytochrome p450 2E1)
CYP-450	: Sitokrom p450
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DTPA	: Dietilen triamin penta asetik asit (Diethylenetriaminepentaacetic acid)
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit (Ethylenediaminetetraacetic acid)
ETS	: Elektron taşıma sistemi
Fe	: Demir
Fe⁺²	: Ferro demir
Fe⁺³	: Ferri demir
GİS	: Gastrointestinal sistem
GPx	: Glutatyon peroksidaz
g	: Gram
GSH	: Glutatyon
GSSG	: Okside glutatyon
H·	: Hidrojen radikali
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HO₂⁻	: Peroksil
HOCl	: Hipoklorik asit

IL	: İnterlökin
IV	: İntravenöz
kg	: Kilogram
KCH	: King College Hospital
L	: Litre
LD₅₀	: Ölümcül doz (Lethal dose)
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MFO	: Karma fonksiyonlu oksidaz sistemi (mixed-functionoksidaz)
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NAC	: N-asetilsistein
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NAPQI	: N-asetil-p-benzokinonimin
NMDA	: N-metil-D aspartat
nmol	: Nanomol
NO	: Nitrik oksit
NO[•]	: Nitrik oksit radikali
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NS	: <i>Nigella sativa</i> L.
NSAİ	: Non-steroid antiinflamatuvar
Nw	: Guanido azotu
Nw-OH-Arg	: Nw-Hidroksi arjinin
¹O₂	: Singlet oksijen
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH[•]	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
PBS	: Fosfat tamponlu salin (Phosphate buffered saline)
pg	: Pikogram
PTF	: Pentoksifilin
R[•]	: Karboksil merkezli radikaller

RNA	: Ribonükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türleri (Reaktive nitrogen species)
RO[·]	: Alkoksil radikalleri
ROO[·]	: Peroksil radikalleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri (Reaktive oxygen species)
RS[·]	: Tiyol radikalleri
RSO[·]	: Sülfenil radikali
RSO₂[·]	: Tiyol peroksil radikali
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TNF	: Tümör nekrotizan faktör
UV	: Ultraviyole
Zn	: Çinko
XD	: Ksantin dehidrogenaz
XO	: Ksantin oksidaz
µl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	Parasetamolün moleküler yapısı	11
Şekil 2.2.	Parasetamolün metabolizması	22
Şekil 2.3.	Rumack-Matthew Nomogramı	25
Şekil 2.4.	Flavonoid molekül yapısı	36
Şekil 2.5.	Kuersetin molekül yapısı.....	37
Şekil 2.6.	Kaempferol molekül yapısı	39
Şekil 2.7.	NOS tarafından katalizlenen argininden nitrik oksit oluşumu	48
Şekil 2.8.	Antioksidanların serbest radikallere karşı etkileri	58
Şekil 2.9.	Antioksidanların sınıflandırılması	59
Şekil 4.1.	Rat serumunda ölçülen ALT miktarının grafikte gösterilmesi	79
Şekil 4.2.	Rat serumunda ölçülen AST miktarının grafikte gösterilmesi	80
Şekil 4.3.	Rat serumunda ölçülen TNF- α miktarının grafikte gösterilmesi	81
Şekil 4.4.	Rat serumunda ölçülen SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi	82
Şekil 4.5.	Rat serumunda ölçülen GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi	83
Şekil 4.6.	Rat serumunda ölçülen MDA seviyesinin grafikte gösterilmesi	84

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1.	Akut karaciğer yetmezliği etiyolojik faktörler.....	10
Tablo 2.2.	Parasetamol hepatotoksitesinin risk faktörleri	26
Tablo 2.3.	Farklı iskelet yapılarına göre çeşitli flavonoidler	36
Tablo 2.4.	Antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması .	41
Tablo 3.1.	Deney planı	68
Tablo 4.1.	Rat serumunda ölçülen ALT, AST ve TNF- α sonuçları	78
Tablo 4.2.	Rat karaciğer dokusunda ölçülen SOD, GSH ve MDA sonuçları	78

1. GİRİŞ

İlaç zehirlenmelerinde akut karaciğer yetmezliği (AKY) sıklıkla görülen bir semptom olarak karşımıza çıkmaktadır.¹ AKY; bilinen herhangi bir karaciğer hastalığı olmayan bireylerde ani başlangıçlı hiperbilirubinemi, hepatik ensefalopati ve koagülopati ile karakterize yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden klinik bir sendromdur.²

AKY vakalarının % 50'sinden fazlasında ilaçlar sorumludur. Örneğin; Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde AKY'nin % 20'sinden, İngiltere'de ise % 70'inden parasetamol toksisitesi sorumlu tutulmuştur.^{3, 4} Parasetamol bilhassa son 50 yıldır sıklıkla kullanılan antipiretik (ateş düşürücü) ve analjezik (ağrı kesici) bir ilaç olup antiinflamatuvar etkisi yok denecek kadar azdır.⁵ Yan etki bakımından da oldukça güvenli olması ise bu ilacın kullanılabilirliğini artırmaktadır.⁶ Parasetamol; etkinliği, göreceli güvenilirliği, kolay temin edilebilir ve ucuz olması dolayısıyla bütün dünyada en yaygın kullanılan antipiretik ve analjezik ilaçlardan biridir. Bu ilacın kolay temin edilebilirliği, bilinçsiz kullanılmasına sebep olmakta ve bunun sonucunda da pek çok istenmeyen yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bu ilacın kolay temin edilebilir olmasının diğer bir dezavantajı da intihar amaçlı girişimlerde kullanılabilirliğinin oldukça yaygın olmasıdır.

Bu kadar sık kullanılması ve kolay erişilebilir bir ilaç olması toksisite riskini de doğal olarak artırmaktadır. Çocuklarda tek seferde 150 mg/kg, erişkinlerde ise 7.5 gr'ın üzerinde alınması⁵ veya 24 saat içinde çocuklarda 250 mg/kg, yetişkinlerde ise 12 gr'ın üzerinde alınması^{7, 8} parasetamol toksisitesine neden olmaktadır. Parasetamolün karaciğerde hasarlanma yaptığına dair çok sayıda çalışma vardır.^{5, 9, 10} Bu nedenle aşırı dozda parasetamol uygulanmasıyla hayvanlarda deneysel olarak karaciğer toksisitesi modeli oluşturulmaktadır.¹¹

Oral alımdan sonra parasetamol gastrointestinal yoldan hızlı bir şekilde ve neredeyse tamamen absorbe edilir.¹² Önerilen terapötik dozlarda parasetamol alımı genellikle iyi tolere edilirken aşırı dozda alınması toksisiteye neden olmaktadır. Terapötik dozlarda alınan parasetamolün yalnız küçük bir bölümü sitokrom p450 enzimi (CYP-450) ile oldukça reaktif bir ürün olan N-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) dönüşür. Bu metabolit oldukça reaktif elektrofilik bir molekül olup diğer intrasellüler proteinlere kovalent bağlanarak toksisite oluşturur. NAPQI fizyolojik koşullarda glutatyon (GSH) ile reaksiyona girerek zarar vermeden safra yoluyla atılmaktadır.^{13, 14} Parasetamol toksisitesinin mekanizması henüz tam olarak anlaşılmasına rağmen yüksek dozlarda alınması ile bu reaktif ürünün GSH depolarını bitirerek karaciğer hasarı oluşturduğu ve hepatotoksisitedeki asıl mekanizmasının bu yolla olduğu düşünülmektedir.¹³

Günümüzde çoğu hastalığın etyopatogenezinde oksidatif stresin rol oynadığı gösterilmiştir. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ile organizmada hasar oluşmaya başlar. Biyolojik yapılarda oluşan oksitleyici hasarların sebebi serbest radikallerdir. Oksidan bileşikler ve aşırı oksitleyici stresin sebep olduğu serbest radikal üretiminin artması veya vücuttaki süpürme kabiliyetinin azalması nedeniyle oksidatif hasar oluşur. Serbest radikaller olan; süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (OH^\cdot) ve nitrik oksit radikali (NO^\cdot) elektriksel olarak yüklü olup, hücre membranı içinden geçerek hücrelere saldırır böylece vücuttaki nükleik asitler, proteinler ve enzimler ile reaksiyona girerek membranda hasara neden olur.¹⁵ Parasetamol toksisitesi sonucunda oksidatif hasarın arttığı ve buna bağlı membran hasarı sonucu alanin amino transferaz (ALT) ve aspartat amino transferaz (AST) gibi enzimlerin seviyesinde artış olduğu, GSH depolarının tükendiği ve NAPQI gibi reaktif elektrofilik moleküllerin seviyesinin arttığı belirtilmiştir.

Parasetamol toksisitesinin tedavisinde kullanılan yöntemler arasında; nazogastrik tüp, oral yolla uygulanan aktif kömür, gastrointestinal dekontaminasyon, uygun zamanda NAC kullanımı bulunmaktadır.¹⁶ Parasetamolün indüklediği toksisiteye karşı NAC'nin hepatotoksitedeki koruyucu etkisinin yüksek olduğu bilinmektedir. NAC, sisteinin öncü bir bileşimidir ve tedavi için klinikte en yaygın kullanılan ajandır. İn vitro ve in vivo çalışmalar NAC'nin bir glutatyon prekürsörü olarak rol oynadığını göstermiştir. NAC hastalara intravenöz ya da oral yolla verilerek GSH şarjı sağlamaya çalışılmaktadır.^{17, 18}

Günümüzde bu tedavi yöntemlerinin yanı sıra çeşitli alternatif tedavi yöntemleri ile ilgili çalışmalar da devam etmektedir. Alternatif tedavi günümüzde tüm dünyanın kabul ettiği bir yaklaşımdır. Alternatif tedavilerin en eskilerinden başlıcası bitkisel tavadir. Bu kapsamda günümüzde antioksidan özellik gösteren bitki ekstraktlarına olan ilgi her geçen gün artarak devam etmektedir.

Tıbbî maksatla kullanılan bitkilerden biride *Nigella sativa* L. (NS)'dir. Halk arasında çörek otu olarak bilinen, Ranunculaceae (Düğün çiçeğigiller) familyasından Nigella türüdür. Bitkinin kapsül içerisindeki tohumu, besin olarak kullanılır. Bitki, ismini tohumlarının siyah renginden almıştır. İçeriğindeki sabit ve uçucu yağlarda güçlü antioksidan aktiviteye sahip flavonoidler bulunur.^{15, 19-22}

İn-vitro araştırmalar, NS tohum ekstresinin yılan ve akrep zehirlerinin hemolitik etkisini önlediğini, eritrositleri lipit peroksidasyonuna, protein denaturasyonuna, hidrojen peroksit (H₂O₂)'in sebep olduğu artan ozmotik kırılabilirliğe karşı koruduğunu ve laringeal karsinoma hücrelerini, lipopolisakkarit veya kortisol tarafından indüklenen apoptozisten koruduğunu göstermiştir.¹⁵ NS'deki uçucu ve sabit yağın hepatoprotektif etkisi CCl₄ ile indüklenen modelde test edilmiştir. Karaciğerin histopatolojik incelenmesi sonucunda belirgin bir hepatoprotektif etki saptanmıştır.²³

NS'nin hepatoprotektif etki göstermesi, antioksidan aktivite göstermesi, lipid peroksidasyonunu baskılaması ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe etmesi nedeniyle, parasetamole bağılı oluşan oksidatif hepatotoksik hasarın NS ile geri döndürülebileceği düşüncesiyle bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışmadaki amacımız; ratlarda parasetamolle oluşturulmuş karaciğer toksisitesinde antioksidan özelliği olan NS etanol ekstresinin etkilerinin biyokimyasal olarak incelenmesidir. Bu amaçla parasetamol toksisitesi oluşturulmuş ratlarda NS etanol ekstresi uygulaması sonucu elde edilen serumlarda karaciğer fonksiyon testleri olan ALT, AST ve enflamasyonun önemli bir göstergesi olan tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α) düzeyleri ölçülecektir. Karaciğer dokusunda ise oksidatif stres hasarının önemli belirteçleri olan süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin yanı sıra malondialdehit (MDA) ve GSH seviyelerinin de nasıl etkilendiği deney kontrol grupları (Sağlıklı, Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, Parasetamol 2 gr/kg ve Sağlıklı + NAC 140 mg/kg kontrol grupları) ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Zehirlenmeler

Zehirlenmeler çok eski çağlardan beri toplumları yakından ilgilendiren önemli sorunlardan biri olmuştur.²⁴ Herhangi bir kimyasal, fiziksel veya organik madde sindirildiğinde, solunduğunda, emildiğinde (absorbsiyonunda) veya enjekte edildiğinde; küçük miktarlarda bile kimyasal etkileri ile yapılara zarar verebilir ve fonksiyonları bozabilir. Bu etkiye sahip maddeye zehir, olaya ise zehirlenme denilmektedir.²⁵

Zehir terimi ilk kez İngiliz literatüründe milattan sonra 1230 yıllarında içeriği ölümcül olabilen ilaçları ve ilaç dozlarını tanımlamak için kullanılmıştır.²⁶ Paracelsus'un ilk kez tanımsal olarak dile getirdiği "her madde zehir özelliği gösterebilir ancak ilaç ile zehri birbirinden ayıran dozudur" tanımı ile aslında birçok maddenin zehirsel özellik taşıyabileceği anlaşılmaktadır.²⁷ Zehirlenmeler acil servislere yapılan başvuruların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır.²⁸ Zehirlenme vakalarına bakılacak olursa en sık neden olarak intihar, keyif sağlama ve başka bir kişiye zarar verme amaçlı şehven veya kaza sonucu ve kronik ilaç kullanımı sırasında şekillendiği bildirilmektedir. Yapılan bir araştırmada acil servislere başvuran hastaların % 59.6'sının ilaç zehirlenmeleri olduğu, bunların % 43'ünün ise ağrı kesici ilaç kullanımı ile gerçekleştiği belirlenmiştir.²⁹ Bunların haricinde temizlik maddeleri (% 26.2), hidrokarbonlar (% 7.3), besinler (% 7), insektisitler (% 6.7), karbonmonoksit (% 1.7) ve diğer maddeler (% 5.9) de sık zehirlenme nedenleri arasında sayılabilir. Zehirlenmenin başarı ile tedavi edilebilmesi için zehirlenmeye yol açan etkenin belirlenip toksisitesinin tam olarak belirlenmesi gerekir. Zehirlenme yapan etkenlerin oldukça az kısmına karşı spesifik antidot bulunmaktadır. Zehirlenme olgularının çoğunda aktif kömür uygulaması gibi genel tedavi yöntemlerinin yanı sıra semptomatik tedaviye yönelik uygulamalar da yapılmaktadır.³⁰

2.2. İnsan Karaciğer Anatomisi ve Fizyolojisi

İnsan karaciğeri yaklaşık 1.5 kg ağırlığındadır ve metabolizmanın önemli bir organıdır.³¹ Karaciğer vücut ağırlığının yaklaşık 1/50'ini kapsamaktadır.³² Karında sağ üst kadranı doldurur ve karaciğerin büyük bir bölümü göğüs kafesi ile korunmaktadır. Karaciğer peritonla kaplı bir organ olmakla beraber safra kesesi yatağı, porta hepatis ve arka yüzeyde vena cava inferior'un sağ komşuluğundaki diyafram ile temas halinde olan bölge (çıplak alan) peritonsuzdur. Bu periton elastik ve kollajen liflerden oluşan güçlü bir bağ dokusu halindedir ve bu şekilde Glisson kapsülü olarak adlandırılan kapsülü oluşturur.³³

Karaciğer, sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer kısımları tarafından kullanılmak üzere depolandığı bir organdır. İnce bağırsaklarda emilen maddelerden lenf damarlarıyla taşınan kompleks lipitler (şilomikronlar) dışında hepsi vena porta yoluyla karaciğere ulaşır.^{33, 34} Karaciğer, kardiyak atımın yaklaşık % 25'ini alır, böylece dakikada yaklaşık 1500 ml kanla sulanır. Bu kan, karaciğerin beden fonksiyonlarını sağlamada ciddi rol oynayan venöz akım kaynağı portal ven ve biliyer sistemi besleyen ve karaciğer oksijenizasyonunda temel rol alan hepatik arter olmak üzere iki ana sistem tarafından sağlanır. Organa kanın % 70-80'i portal venden, geri kalan bölümü hepatik arterden gelir.³¹ Karaciğer içinde portal venüllere ve oradan da sinüzoidlere boşalır. Bundan sonra santral vene ulaşan kan akımı, hepatik ven dallarına nihayetinde inferiyor vena cava'ya ulaşarak karaciğeri terk eder.³⁵ Portal kan akımı tüm ince bağırsakların venöz drenajını sağlar. Böylece ince bağırsakta besin değeri zengin maddeleri ve beraberinde ilaçları ve zehirli maddeleri karaciğere taşır. Pankreatik drenajıda karaciğere girmeden önce sağlar. Karaciğer zengin sempatik ve parasempatik innervasyona sahiptir. Sinir lifleri torasik gangliyo, çölyak pleksus, vagus, safra yolu, portal ven ve hepatik arter pleksusunu oluşturan sağ frenik sinirden meydana

gelir. Arterler daha çok sempatik lifler, safra yolları hem sempatik hem de parasempatik liflerle innerve olur. Miyelinize olmayan sempatik lifler hepatositlere dalcıklar gönderir.³⁵

Karaciğerin temel yapı elemanı, karaciğer epitel hücreleri olan hepatositlerdir. Bu epitel hücreleri, birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde gruplandırılmışlardır. Işık mikroskobu kesitlerinde, “karaciğer lobülü” olarak isimlendirilen yapısal birimler görülebilir. Parankimde hepatositlerin dışında Kupffer hücreleride (sinüzoidal makrofajlar) bulunmaktadır.³¹ Karaciğer parankimi yapısal olarak kanlanma ve metabolik aktiviteye göre “karaciğer asinüsü” olarak adlandırılan alanlara ayrılır. Karaciğer asinüsündeki hepatositler buldukları yere göre 3 eliptik zonal bölgeye ayrılır:³⁶

Zon 1: Portal ven ve hepatik arterin dallarının olduğu bölgedir.

Zon 2: Zon 1 ve 3 arasında sınırları tam belli olmayan bir bölgedir.

Zon 3: Terminal hepatik ven (santral ven) çevresindeki bölgeyi kapsar.

2.3. Rat Karaciğerinin Anatomisi

Ratların karaciğerleri; sol lateral - sol medial, sağ lateral - sağ medial ve kaudal loblardan oluşmaktadır. Karaciğer kapsülü, her lobu ayrı ayrı sarmakta olup loblar sadece porta hepatis düzeyinde birleşmektedirler. Kaudal lob, sol lateral lobun inferior yüzeyine bir periton yaprağı ile yapışmaktadır. Portal ven, hepatik arter ve safra kanalları, her lob için porta hepatis düzeyinde ve karaciğer parankiminin hemen dışında dallanmaktadır. Ratlarda, safra kesesi yoktur ve uzun bir safra kanalı, pankreas üzerinden duodenuma dökülür. Sol lob ve orta lob, tek lob şeklindedir ve orta lob round ligamanının yapıştığı derin bir çentiğe sahiptir. Sağ lob, iki küçük alt loba ayrılır. Kaudal lob ise, parakaval ve spiegel loblarına ayrılır. Sağ - sol ve kaudal lob, bir portal

dala sahipken; orta lob iki portal dala sahiptir. Sol lob ile sağ lobun bir kısmı, kaudal lob, bir büyük hepatik vene drene olurken, orta lob üç hepatik vene drene olmaktadır.³⁷

Rat karaciğeri ve insan karaciğerinin temel yapıları, benzerlik gösterir. Rat karaciğerinin lobları, insan karaciğerindeki şu segmentlere benzetilebilir.³⁷

Sol lob: Segment 2

Orta lob: Segment 3, 4, 5, 8

Sağ lob: Segment 6, 7

2.4. Akut Karaciğer Toksisitesi

AKY; önceden herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden, tam veya tamamına yakın bir şekilde kaybıyla karakterize, hepatik ensefalopatinin de eşlik ettiği bir durumdur.¹ İlaçlara bağlı gelişen toksisite akut karaciğer hasarının en sık rastlanan sebeplerinden biri olarak tanımlanabilir. Bunun nedeni karaciğerin birçok ilaç veya kimyasal ajanın metabolizması için temel organ olmasıdır. Hepatotoksisite çok çeşitli klinik durumlarda karşımıza çıkabilir ki bunlar akut, kronik ve fulminan hepatit olabileceği gibi siroz ve tümör şeklinde de olabilir. Toksik hepatitler klinik olarak farklı tablolarda karşımıza çıkabilir. Akut hepatitlerin % 10'unu, fulminan hepatitlerin % 10-20'sini oluşturuken kronik hepatit ve sirozun ancak % 1'inden sorumludur.^{38, 39} AKY mortalitesi karaciğer transplantasyonunun keşfinden önceki dönemde % 80'nin üzerinde iken,⁴⁰ günümüzde posttransplant dönemde yaşam oranı % 65'in üzerinde olduğu bilinmektedir.⁴¹ 1946 yılında Luke ve Mallory, ABD ordusunda ortaya çıkan sarılık salgınlarında görülen fulminan seyirli olguları incelemiş ve hızla ölümlle sonuçlanan akut tip ve daha yavaş seyirli ancak oldukça kötü prognoza sahip olan subakut tip olmak üzere hastalığın iki klinik tipini tarif etmişlerdir.⁴² Fulminan karaciğer yetersizliği deyimini ilk kez 1970 yılında Trey ve Davidson tarafından kullanılmış ve öncesinde herhangi bir karaciğer hastalığı

olmaksızın, ağır karaciğer hasarı sonucu, semptomların başlamasından itibaren 8 hafta içinde hepatik ensefalopatinin gelişmesiyle karakterize tablo fulminan karaciğer yetersizliği olarak tanımlanmıştır.⁴³ Bernuau ve arkadaşları sarılığın ortaya çıkışından itibaren hepatik ensefalopati gelişene dek geçen süre 2 hafta ise fulminan karaciğer yetersizliği, 2-12 hafta arasında ise subfulminan karaciğer yetersizliği olarak tanımlamışlardır.⁴⁴ Gimson ise, 8-24 hafta arasında ensefalopati gelişen olguları geç başlangıçlı karaciğer yetersizliği şeklinde tanımlamıştır.⁴⁵ 1993'te King's Collage grubu konuyu 3 kategoride ele alarak yeni bir sınıflama önermiştir: hiperakut, akut ve subakut karaciğer yetersizliği. Süper infeksiyonlar ve taşıyıcılık zemininde spontan veya değişik nedenlere bağlı reaktivasyonlar (kortikosteroid kullanımı, antiviral kesilmesi veya direnci vb.) sonucu AKY gelişebilmektedir. Mortalite ise % 3.7-60 arasında değişmektedir.⁴⁶

AKY'nin etiyolojisi bölgelere göre değişiklikler göstermektedir. Etiyolojik faktörler ülkelerin coğrafik yerleşim ve sosyoekonomik durumlarına göre değişmektedir. Virüsler ve ilaçlar etiyolojik faktörlerin büyük bir kısmını oluştururken, % 19 oranında da hastalarda herhangi bir neden saptanamamaktadır. Hepatit virüsleri genellikle gelişmekte olan ülkelerde AKY'ye neden olurken, ABD ve Avrupa'da ise çoğunlukla ilaçlar AKY'ye neden olmaktadır.⁴⁷ Parasetamolün ABD ve Avrupa'da kullanımı çok yaygındır ve aşırı dozda alımı AKY'ye yol açar.²⁶ ABD'de AKY'nin % 20'sinden, İngiltere'de ise % 70'inden parasetamol toksisitesi sorumludur.^{3, 4} Ülkemizde ise ilk sırada hepatit virüsleri, ikinci sırada ise toksinler ve ilaçlar yer almaktadır. AKY'ye neden olan faktörler Tablo 2.1.'de görülmektedir.⁴⁷

Tablo 2.1. Akut karaciğer yetmezliği etiyolojik faktörler⁴⁷

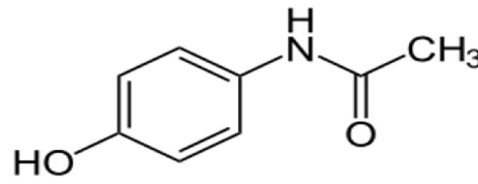
Etiyoloji grubu	Spesifik nedenler
Viral nedenler	HAV, HBV +/- HDV, HEV, HSV 1-2, HPV 6, CMV, EBV, VZV, Parvovirüs B19
İlaç/toksin nedenli hepatotoksisite	Parasetamol, amanita zehirlenmesi, tetrasiklin, Basillius cereus, CCl ₄
İdiosenkrazik ilaç reaksiyonları	Halotan, anti-tüberküloz ilaçlar, sülfonamidler, amoksisilin klavunat, makrolidler, valproat, NSAİİ, disülfiram, thalidomid, β-interferon, ekstazi, kokain, herbal ilaçlar, anti-retroviral ilaçlar
Vasküler nedenler	İskemik hepatit, Budd-Chiari, kalp yetmezliği, venookluziv hastalıklar
Metabolik nedenler	Wilson hastalığı, gebeliğin akut yağlı karaciğeri, HELLP sendromu
Diğer nedenler	Otoimmün hepatit, malign infiltrasyon, sepsis, sıcak çarpması, kriptojenik

HAV, hepatitis A virus; HBV, hepatitis B virus; HDV, hepatitis delta virus; HEV, hepatitis E virus; HSV, herpes simplex virus; HPV, Human Papillomavirus; CMV, cyto megalovirus; EBV, Epstein-Barr virus; VZV, Varicella zoster virus; HELLP (hemolyse elevated liver enzymes low platelets) (hemoliz karaciğer enzim yüksekliği platelet düşüklüğü); NSAİİ, Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç

Parasetamol toksisitesinde erken dönemde antidot olarak NAC kullanılır ise, efektif bir şekilde azalmış olan GSH depolarını doldurarak parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'nın yaptığı hepatotoksisiteyi ve AKY'yi önler.⁴⁸ NAC bir GSH prekürsörüdür, GSH depolarını ve sülfat konjugasyonunu artırır ve GSH gibi etki ederek toksik metabolit olan NAPQI'ya bağlanır. Parasetamol toksisitesini takiben 8-10 saat içerisinde uygulanırsa ciddi hepatotoksisite bu şekilde önlenir. Eğer hastalarda AKY gelişmişse, komplikasyon ve ölüm riski % 30'lara kadar ulaşmaktadır.¹⁰ Böylece bu hastalara erken dönemde NAC tedavisi uygulanarak mortalite oranı büyük oranda önlenir.⁴⁹

2.5. Parasetamol (Asetaminofen)

Para-aminofenol türevi olan parasetamol aynı zamanda asetaminofen ve N-asetil-P-aminofenol (APAP) olarak da bilinmektedir (Şekil 2.1.). Yaygın bir şekilde ağrı kesici ve ateş düşürücü ajan olarak kullanılmaktadır.⁵⁰ Parasetamol bu grubun diğer bir üyesi olan fenasetinin aktif metabolitidir. Fenasetinden farklı olarak parasetamolün herhangi bir şekilde karsinojenik olduğu gösterilememiştir.⁵⁰



P-Hidroksiasetanilid (Parasetamol)

Şekil 2.1. Parasetamolün moleküler yapısı

2.5.1. Parasetamol'ün Tarihçesi

Harmon Northrop Morse 1877 yılında p-nitrofenol'ü asetik asitle indirgeyerek parasetamolü ilk sentezleyen kişidir, fakat parasetamolün klinik kullanıma girmesi 1887'de Von Mering tarafından gerçekleştirilmiştir.⁵⁰ 1870'li yıllarda bulunmasına rağmen 1960'lı yıllara kadar yaygın bir kullanım alanına sahip değildir. Parasetamolün analogu olan fenasetin o dönemde daha yoğun kullanılmıştır fakat bu analog nefrotoksisiteye neden olduğundan yerini parasetamol içerikli analjeziklere bırakmıştır.⁵¹ Brodie ve Axelrod 1948 yılında yapmış oldukları çalışmalarda parasetamolün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirmişlerdir.⁵² İlk kez 1955 de 'Tylenol' adı altında ABD'de, 1956 yılında ise 'Panadol' ve çocukların kullanımı için 'Panadolelixir' ticari isimleriyle İngiltere'de piyasaya sürülen parasetamol ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılmıştır.⁶ Parasetamol, etkinliği ve

göreceli güvenilirliği dolayısıyla bütün dünya çapında en yaygın şekilde kullanılan antipiretik ve analjezik ilaçlardan biridir.⁹ Geniş terapötik indeksi ve yan etki bakımından da oldukça güvenli olması bu ilacın kullanılabilirliğini artırmaktadır.

Günümüzde parasetamol kullanımı o kadar artmıştır ki artık marketlerin raflarında bile görmek şaşırtıcı olmaktan çıkmıştır. İngiltere’de 7000 anne üzerinde yapılan bir çalışma % 84’ünün yeni doğan çocuklarına ilk 6 ayda parasetamol verdiğini göstermiştir.⁶ Parasetamolün ABD’de ve Avrupa’da kullanımı oldukça yaygındır.²⁶ ABD’de 100 milyon insan senede en az bir kez parasetamol almakta, 50 milyon insan ise haftada bir kez parasetamol içeren ürün kullanmaktadır ve bu ürünlerin % 70’i tezgâh üstü yani OTC (Over-The-Counter) olarak satılmaktadır. Yukarıda da bahsettiğimiz gibi etkinliği, göreceli güvenilirliği ve kolay ulaşılabilir olmasının yanı sıra yan etki bakımından da oldukça güvenli olması sebebiyle yaygın olarak kullanılması aklımızda zehirlenmeler ve toksisite gibi bazı soru işaretleri bırakmaktadır.

2.5.2. Farmakokinetik ve Metabolizma

Parasetamol toksisitesini anlayabilmek için bu ilacın farmakokinetik ve metabolizasyonunda bilinmesi gerekmektedir. Parasetamol oral alındığı zaman gastrointestinal yoldan hızlı ve neredeyse tamamen emilir ve biyoyararlanımı % 79-89 arasında değişmektedir.⁵³ Yarılanma ömrü 2 saat olan parasetamol, kan pik düzeyini 2. saatte elde eder.⁵⁴ Plazmada oldukça geniş bir dağılım hacmine sahip olup total metabolik klirensi 440 ml/dk’dır. Plazma proteinlerine bağlanması zayıftır. Plazma yarı ömrü 1-4 saattir. Parasetamolün plazma konsantrasyonu ile analjezik etki gücü arasında direk bir korelasyon mevcuttur. 10 µg/ml plazma konsantrasyonu analjezik etkisinin oluşması için yeterlidir. Minimum efektif doz için alınması gereken oral doz 1 gr iken maksimum etki 1.5-2 gr ile sağlanabilir. 6-8 saatte bir alınan ortalama doza rağmen istenilen analjezik düzeye ulaşamayabilir. Günlük doz ise 60-90 mg/kg ile

sınırlandırılmalıdır. Kronik alkoliklerde ve izoniazid tedavisi alanlarda doz % 30 ila % 50 arasında azaltılmalıdır.⁵¹

Parasetamol başlıca karaciğerde metabolize edilir. Burada sülfat ve glukronid ile konjuge olarak inaktif bileşiklere çevrilir ve sonra böbreklerden atılır. İdrarla parasetamolün % 2-4'ü değişmemiş olarak, % 85-90'ı ise glukronid veya sülfat bileşikleri olarak idrarla atılır. Terapotik dozun yaklaşık % 4-6'sı kadar küçük bir kısmı hepatic CYP-450 enzim sistemi yoluyla metabolize edilir. Parasetamolün toksik etkileri alkileyici bir metaboliti olan NAPQI'ya bağlıdır. Toksikitede parasetamolden daha çok NAPQI sorumludur. Klinik dozlarda bu toksik metabolit hızla GSH sülfidril grupları ile birleşerek toksik olmayan bir konjugata dönüşür ve böbrekler yoluyla vücuttan atılır.⁵⁵ Yüksek derecede polar olan glukronid ve sülfat konjugatları aktif şekilde tübüllerden sekrete edilir. Ortalama eliminasyon yarı ömrü prematüre infantlarda artış gösterir, yeni doğanlarda 4-5 saat arasında değişir.⁵⁰

Parasetamolün solunum, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Midede irritasyon ve kanama yapmaz. Protrombin sentezini fazla etkilemez. Parasetamol, aspirinden farklı olarak ürik asit itrahını etkilemez ve ürikozürük ilaçların etkinliğini azaltmaz.⁵⁶

Parasetamol kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarının iki farklı mekanizma ile oluştuğu ileri sürülmektedir:

a) Oksidatif stres teorisi: Yüksek doz parasetamol alımında oluşan NAPQI, hücrelerde reaktif oksijen ürünleri oluşumuna, bu da lipit peroksidasyonuna neden olduğundan, GSH eksikliğine, dolayısıyla hepatositte protein sentezi ve hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) dengesi bozukluğunun ortaya çıkmasına neden olur.⁵⁶⁻⁵⁹

b) Kovalent bağlanma teorisi: Parasetamol yüksek dozlarda alındığında, karaciğerin detoksifikasyon sistemleri doymuş hale geçeceğinden, bağlayıcı GSH

bitecek, aşırı NAPQI ortaya çıkacak, bu da deoksiribonükleik asit (DNA) ve protein tiyol gruplarına kovalent bağlanmak suretiyle, hepatositlerde hasar oluşturacaktır.^{60, 61}

2.5.3. Farmakolojik Etkileri

Parasetamol, enflamasyonun söz konusu olmadığı hafif ve orta şiddetli baş ağrısı, diş ağrısı, miyalji, dismenore, nevralji, kemik eklem ağrıları ve postoperatif ağrıların hafifletilmesinde kullanılır.⁶² Parasetamol güçlü analjezik ve antipiretik etkileri olan ancak çok düşük antiinflamatuvar etkiye sahip bir ilaçtır.^{62, 64, 65} Terapotik etkisi çabuk başlar ve kısa sürer. Trombosit fonksiyonunu etkilemez ve kanama zamanını uzatmaz. Kardiyovasküler ve solunum sistemine ilişkin toksik etkiler göstermez ve asit-baz dengesini bozmaz. Oral antikoagülan kullanan hastalarda daha iyi bir alternatif olabilir. Antiinflamatuvar etkinliğin gerekmediği endikasyonlarda kullanılabilir. Parasetamol analjezik ve antipiretik etki için günde 3-4 kez 0.5-1 gr dozda kullanılır. Parasetamol ayrıca kafein, efedrin, kodein ve antihistaminiklerle kombine edilerek antigribal olarak da kullanılmaktadır.⁶²

Endikasyonlarından da anlaşılacağı üzere parasetamol yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden etki mekanizmasının da iyi bilinmesi gerekmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda parasetamolün merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinden santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ve serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla etki ettiğine inanılmaktadır.⁶³ Primer olarak MSS üzerinde santral COX inhibisyonu ve serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla etki ettiğine inanılmakla beraber,⁶³ parasetamolün MSS üzerine etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılammıştır. Lim ve arkadaşları⁶⁴ yaptıkları bir çalışmada, köpeğin dalağına enjekte ettikleri bradikininin etkisini parasetamolün engellediğini tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada parasetamolün ağrı kesici etkisinin santralde değil de periferde prostaglandin sentezini inhibe ederek ortaya koyduğu gösterilmiştir. Parasetamolün analjezik ve

antipiretik etkisi MSS'de prostaglandin sentezini baskılamasıyla açıklanabilir. Parasetamolün MSS'deki ağrı yolları üzerinde farklı nosiseptif mekanizmalarla da etkili olduğu ileri sürülmektedir. MSS'de prostaglandin oluşumunu engellemenin yanı sıra ağrı mediatörleri tarafından duyarlılaştırılan sinir uçlarında impuls oluşumunu önler. P maddesi veya glutamat reseptör agonisti N-metil-D aspartat (NMDA) yoluyla uyarılan spinal hiperaljeziyi, nitrik oksit sentetaz (NOS) blokajının ve spinal serotoninerjik mekanizmaların da aracılık ettiği mekanizmalarla engelliyor olabileceği de ileri sürülmüştür.⁶² Ayrıca parasetamol idrardaki prostaglandin metabolit seviyelerini düşürmektedir fakat plateletlerde ve mide mukozasında prostaglandin sentezinde herhangi bir azalmaya yol açmamaktadır.⁶⁴

Periferik dokularda ise zayıf bir COX inhibitörüdür. Bu nedenle enflamasyonun gelişiminde rolü olan prostaglandin sentezini etkilemez. Periferik enflamasyon üzerine nonsteroid antiinflatuarlara (NSAI) göre zayıf etkilidir. Etki mekanizmasının henüz açıklanamamış olması, yapısı ve endikasyonları farklılık gösterdiği için NSAI sınıfına dahil edilemez. Parasetamol hem COX-1'in hem de COX-2'nin in vitro olarak zayıf bir inhibitörü olduğundan, henüz tanımlanmamış bir COX formunu inhibe ederek etki gösterdiğine dair düşünceler vardır.⁶⁵⁻⁶⁷ Bilinen COX-1 ve COX-2'den farklı bir COX enzim varyantının parasetamol tarafından selektif olarak bloke edildiği 2002 yılında rapor edilmiştir. Bu enzim sadece beyin ve spinal kordda tespit edilmiş ve COX-3 olarak adlandırılmıştır.⁶⁸ Ancak COX-3 izoformunun var olup olmadığı hakkında yapılan araştırmalar hala devam etmektedir ve bu konuda henüz kesin bir bulgu elde edilememiştir. Araştırmacıların birleştiği ortak nokta COX-3 olarak adlandırılan ve yeni bir COX formu olduğu düşünülen bu enzimin parasetamolün etki mekanizması ile ilişkili olabileceğidir.^{65, 69} Hayvan çalışmalarında farklı doku homojenatlarındaki COX enzimleri, parasetamolün inhibitör aktivitesinde farklı sonuçlar vermektedir. Bazı

arařtırmacılar bu durumun COX enziminin ikiden fazla izoformu olduđuna dair bir kanıt teřkil ettiđini dűřünmektedirler. Yüksek doz NSAİ ile indűklenen bir COX-2 varyantının parasetamol tarafından yüksek derecede inhibe edildiđi bazı çalıřmalarda gűsterilmiřtir. Bu nedenle Botting ve arkadařları⁶⁵ COX-3'űn COX-2'yi kodlayan aynı genin bir őrűnű olduđunu ancak farklı molekűler űzelliklere sahip olabileceđini belirtmiřtir. Bazı arařtırmacılar ise COX-3'űn COX-1 varyantı olduđu dűřűncesine sahiptir ve bu nedenle COX-3 yerine COX-1 olarak adlandırılmasının COX varyantları arasındaki iliřki açısından daha dođru bir terminoloji olacađını belirtmektedirler.^{49, 65, 67} Ancak gűnűműzde literatűrde kayıtlı, insanda var olan bađımsız bir űçűncű COX geni ile ilgili kesin bir bilgi bulunmamaktadır.^{49, 67}

Pini ve arkadařlarının⁷⁰ yayınladığı bir çalışmada ratlara parasetamol verilmesinin serotonin biyoyararlanımını artırdığı gűsterilmiřtir. Fakat bu mekanizma tam olarak bilinmiyor ve insanlarda henűz test edilmemiştir.

2.5.4. Parasetamolűn NSAİ ve Opioid Analjeziklerle Karşılaştırılması

Parasetamolűn asetil salisilik asit (ASA) (Aspirin) ve ibuprofen gibi antiinflamatuvar űzellikleri yoktur ve yukarıda da belirtildiği gibi NSAİ sınıfının űyesi değildir. Klinik dozlarda mideye irritan değildir, kan pıhtılaşmasını ve bűbrek fonksiyonlarını etkilemez. ASA kanın pıhtılaşmasını azaltırken, parasetamol etkilemez. Parasetamol gebelikte klinik dozlarda kullanılabilir. NSAİ ilaçlar gibi fetal duktus arteriosusun kapanmasını etkilemez. Suçiçeđi gibi viral enfeksiyon geçiren ocuklarda ASA őrneđinde olduğu gibi REYE sendromuna yol açmaz. Opioid analjeziklerden farklı olarak űfori yapmaz ve duygu durumunda değişikliğe yol açmaz. Ayrıca bağımlılık, tolerans ve çekilme bulguları izlenmez.⁷¹

2.5.5. Parasetamolün Yan Etkileri

Parasetamol tedavi dozlarında kullanıldığında genellikle iyi tolere edilebilmektedir. Nadir de olsa alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, döküntü), alerjik ilaç ateşi, hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve böbrek yetmezliği gibi yan etkiler görülmektedir.⁷²

Hepatotoksik etkisi beslenme bozukluğu, karaciğer hastalığı ve kronik alkol kullanımıyla artabilir. Erişkinlerde günlük doz 4 gr'ı aşmamalıdır.⁶² Parasetamolün terapötik dozlarda kullanımıyla bile hepatotoksik etkiler görülebilmektedir. Özellikle çocuklarda ve alkoliklerde kullanırken daha dikkatli olunmalıdır. Epidemiyolojik çalışmalar parasetamol kullanımıyla renal hastalıklar, gastrointestinal problemler ve astım arasında ilişki olduğunu göstermektedir.⁷³ Parasetamol, fenasetinin bir metaboliti olmasına rağmen methemoglobinemi ve hemolitik anemi nadiren oluşur. Uzun süre kullanıldığında analjezik nefropatisi riskini artırır.⁶³ Daha yüksek dozlarda kullanıldığı zaman baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğuna yol açsa da parasetamolün toksik dozunda en ciddi yan etkisi ölümcül olabilen hepatik nekrozdur. Bu durumda bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu etki az da olsa normal kullanım sonrasında da çıkabilmektedir. ASA'nın yapmış olduğu hepatik hasara göre daha tehlikeli olup tedavisi daha da zordur.⁷⁴

2.6. Parasetamol Toksisitesi

Karaciğere zararı olan ve toksik olarak kabul edilen binden fazla madde sayılabilir. Bu maddeler terapötik amaçlı kullanılabilceği gibi intihar girişimlerinde de kullanılabilir. İntihar amaçlı en çok kullanılan ilaçlardan biri de parasetamoldür.^{38, 39, 73, 75} Fenasetinin bir metaboliti olan parasetamol tüm dünyada 1950'li yıllardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır.^{6, 76} Toksik etkileri fenasetinden daha az görüldüğü için tedavide daha çok kullanılmaktadır.⁶² Parasetamol kullanım sıklığının artması ve aşırı doz

alımları karaciğer toksisitesi ve ölüm oranlarında artış göstermiştir.⁷⁶ ABD Zehir Kontrol Merkezi'nin raporuna göre her yıl bilinçli veya bilinçsiz kullanım sonucu 100.000'in üzerinde parasetamol zehirlenmesi meydana gelmektedir.^{76, 77} Tüm dünyada ilaca bağlı ölümcül akut karaciğer nekrozunun en başta gelen nedeni de parasetamoldür.

İlaca bağlı hepatotoksisite intrinsik ve idiyosenkrazik olarak 2'ye ayrılmaktadır. Karaciğerde toksik etkiye yol açabilen başlıca mekanizmalardan ilki intrinsik mekanizmadır.^{38, 39} İntrinsik hepatotoksisitenin mekanizması direkt veya indirekt yolla olabilir. Direkt intrinsik hepatotoksisite; ilacın direkt kendisi veya metabolitinin doza bağlı olarak oluşturduğu hepatotoksisitedir. Bu mekanizma önceden tahmin edilebilir, doza bağımlıdır, aşırı dozda bazı ilaçların alımı ile ortaya çıkması karakteristiktir ve deneysel çalışmalarla gösterilebilir. Kimyasal maddeler veya metabolitleri direkt etki ile hücrelerde ve organellerde yapısal bozukluklar yapabilir. İndirekt intrinsik etkiyle ise bazı metabolik yollarla ilişki kurarak veya immun mekanizmalarla zarar verebilir. Bu yolla etkili ilaçlar arasında parasetamol de bulunmaktadır. İkinci mekanizma ise idiyosenkrazik tip olarak tanımlanıp, hepatotoksisitenin en sık görülen formu olup, kişiye göre önceden tahmin edilemeyecek reaksiyonlarla karakterizedir. Bu tip reaksiyon doza bağlı değildir ve deneysel çalışmalarla gösterilemez. İlaç alımı ile karaciğer hasarının çıkması arasında çok uzun zaman geçebilir ve diğer karaciğer hastalıklarına çok benzer klinik ve histolojik özelliklere sahip olabilir. Bu yolla etkili ilaçlara örnek olarak diklofenak ve ASA gösterilebilir.^{38, 39, 76}

Parasetamol, bazı kimyasal reaksiyonların aracılık ettiği ve karaciğer epitel hücreleri arasında meydana gelen etkileşimler sonucunda, karaciğer dokusunda nekroza yol açmaktadır. Bu ajana, "doğrudan hepatotoksin" de denmiştir.⁷⁷ Prostaglandin sentezi üzerinde bazı etkileri olmasına rağmen etki mekanizması açıklık kazanmamıştır.⁶² Parasetamol glukoronik asit ve sülfat konjugasyon reaksiyonlarıyla

hepatik metabolizmalarla karaciğerde detoksifiye edilir. Bununla birlikte parasetamol sitokrom p450 sistemiyle NAPQI olarak bilinen toksik bir metabolite dönüştürülmektedir.^{78, 79} Normal dozlarda alınan parasetamolün metabolize edilmesi sonucu oluşan NAPQI'yı vücut detoksifiye edebilir. Ancak yüksek dozlarda alındığı zaman NAPQI'nın detoksifiye edilme kapasitesi düşmektedir. Yüksek doz parasetamol alındığında; detoksifikasyon kapasitesinin dışında kalan NAPQI, karaciğer hücresi proteinlerine kovalent bağla bağlanıp hepatik nekroz ile sonuçlanan hasara yol açar (Şekil 2.2.).⁷⁶ Parasetamol metabolizması sonucu üretilen NAPQI'nın detoksifikasyonunda GSH rol oynamaktadır.⁸⁰ Parasetamolün yüksek dozda alınması sonrasında metabolitlerin miktarında artış olur. Bu durumda, GSH açığa çıkan fazla miktardaki NAPQI molekülünü bağlayamaz ve bunun sonucunda artan NAPQI toksik cevabı başlatarak GSH depolarında azalmaya neden olur.^{80, 81} Parasetamol toksisitesinin nasıl olduğu konusunda yapılan araştırmalarda birçok araştırmacı, oluşan NAPQI tarafından mevcut GSH depoları kullanıldığında, geri kalan reaktif NAPQI'nın hücresel hedef proteinlerin sülfhidril gruplarına bağlanarak toksik etki meydana getirdiği yönünde görüş bildirmişlerdir.^{82, 83} Karaciğerde parasetamol metabolizmasıyla oluşan NAPQI hücresel proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak da bu proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilir. Bu hücresel bozukluklar, kalsiyum ATPaz aktivitesinde azalmaya yol açar ve sitozolik kalsiyum düzeylerinde artışa yol açar, bu anormal hücresel kalsiyum homeostazisi, hücrenin geçirgenliğini değiştirebilir ve membran bütünlüğünün kaybına yol açabilir.⁸⁴ Bağışıklık mekanizmaları, bu süreçte yer almaz. Toksik etkiye yol açan mekanizmalar arasında protein arilasyonu, oksidatif stres, kalsiyum dengesizliği, transkripsiyon yollarında meydana gelen değişiklikler, iltihabi değişikliklere öncülük eden sinyaller ve hücre ölüm yollarının harekete geçirilmesi sayılmaktadır.⁸¹

Parasetamol aracılıklı karaciğer hasarlanması, sadece NAPQI'nın doğrudan açığa çıkan etkilerine bağlanamaz. Yakın geçmişte yapılan çalışmalarda, bazı sitokinlerin ve nitrik oksidin (NO) de bu süreçte rol oynayabileceğine ilişkin bulgular elde edilmiştir.⁸⁵ NO, karaciğerdeki parankim hücrelerinde ve parankimal olmayan diğer hücrelerde L–arjinin aminoasidinden indüklenebilir nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla üretilen ve yüksek reaktif oksidan kapasiteye sahip bir bileşendir.⁸⁶ NO'nun karaciğerde fazla miktarda üretilmesinin, endotoksin şokunda ve karaciğerdeki iltihabi reaksiyona ve hasarlanmaya ilişkin diğer modellerde rol oynayan önemli bir unsur olduğu düşünülmüştür.⁸⁷ NO'nun karaciğerdeki etkilerinin altında yatan mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen, bu bileşenin CYP-450'de azalmaya yol açtığı,⁸⁸ karaciğerdeki proteinlerin DNA sentezini baskıladığı⁸⁹ ve apoptozun yanı sıra nekrozu da uyardığı⁹⁰ bildirilmiştir. Diğer yandan, NO'nun antioksidan etkilerinin olduğuna dair yayınlar da mevcuttur.^{91, 92} Dolayısıyla, NO'nun karaciğer üzerindeki etkileri tek yönlü değildir ve organizmanın içinde bulunduğu duruma göre değişebilmektedir.

Ayrıca başta HO[•] olmak üzere diğer radikaller de çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve bunun sonucunda hücrel hasar meydana gelebilir. Bu doku hasarı göstergelerinden biri de lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA seviyesindeki artıştır. Oksidatif hasar hücrel düzeyde hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu ile sonuçlanır. Bu peroksidasyon sonucunda, hücre membran geçirgenliği, akışkanlığı, elastikiyeti ve yapısal özellikleri bozulur.^{86, 93}

Histolojik incelemelerin sonucunda hepatik nekrozun oluşma sıklığının daha çok CYP-450-MFO (mixed-function oksidaz = karma fonksiyonlu oksidaz sistemi) aktivitesinin görüldüğü sentrolobüler bölgede olduğu görülmüştür.⁹⁴ Oral alımı takiben toksisite oluşturan minimal doz çocuklarda 150 mg/kg ve yetişkinlerde total 7.5 gr'dır.⁵ Önemli toksisitenin olduğu aşırı miktarda alım, 350 mg/kg'dır. Bununla birlikte

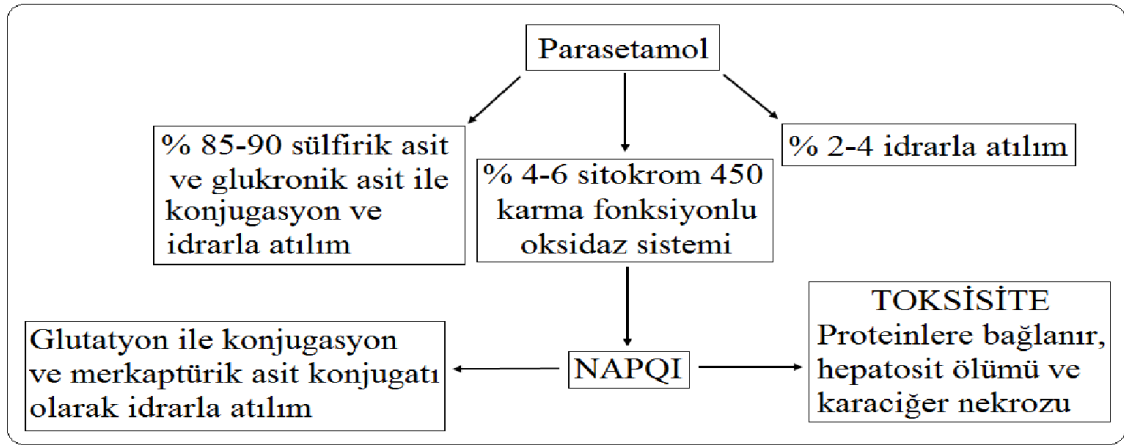
hepatik GSH kaynaklarında kişisel farklılıklar, GSH'ın yeniden yapıma kapasitesi, CYP-450-MFO aktivitesi ve spontan kusmalar toksisiteyi etkiler. Kronik uygulamada antihistaminikler, fenitoin, barbitürat ve diğer sedatifler CYP-450-MFO sistemini uyararak toksisiteyi artırabilir.^{67, 96} Bunların aksine simetidin kullanımı bu sistemi inhibe eder ve toksisiteden korur.⁹⁷ Çocuklarda karaciğer hasarı yetişkinlerden daha az görülür. Bunun nedeni parasetamolün metabolizmasının farklılığıdır.^{67, 98}

Parasetamole bağlı gelişen hepatotoksistede kronik kullanılan diğer ilaçlarında aditif etkilerinin olduğu yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Bu ilaçlar arasında antikolülsan ilaçlar,⁹⁹ antitüberküloz ilaçlar özellikle de izoniazid ilk sıralarda yer almaktadır. Ayrıca proton pompası inhibitörü ilaçlarından lansoprazol da toksistede az oranda bir aditif etkileşme yapabilmektedir.¹⁰⁰

Uzun süreli açlıkta GSH depolarını boşaltarak ve sitokrom p450 2E1 (CYP2E1) aktivitesini artırarak parasetamole bağlı gelişebilecek hepatotoksistenin şiddetlenmesine veya erkenden oluşabilmesine neden olabilmektedir.¹⁰¹ Aynı şekilde kronik alkol alımı da GSH depolarını bitirerek CYP2E1 aktivitesini artırarak kişilerin parasetamol hepatotoksitesine duyarlılığını artırabilmektedir.¹⁰²

Çok nadir olarak akut alınan yüksek dozu takiben hepatotoksisteye ile böbrek yetmezliği görülebilir.⁹⁶ Çok yüksek doz alan hastalarda nadiren koma ve metabolik asidoz bildirilmiştir. Pankreatit ve diffüz myokardial nekroz bildirilen vakalar da vardır. Nefrotoksisteye reaktif parasetamol molekülüne bağlıdır. Diğer atipik hasarların etiyojisi bilinmemektedir.¹⁰² Hipofosfatemi, hipokalemi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği olan hastalarda hemoliz ve agranülositoz nadiren görülebilir.⁹⁶

Serum parasetamol konsantrasyonunun artması hepatotoksisteye neden olmaktadır. Bununla birlikte kronik doz aşımında toksisteye oluşması için gerekli doz miktarı, sıklığı ve süresi bilinmemektedir.¹⁰²



Şekil 2.2. Parasetamolün metabolizması⁷⁶

2.6.1. Klinik Bulgular

Parasetamol zehirlenmesinin semptom ve bulguları nonspesifiktir. Kolaylıkla gözden kaçabilir veya çoklu ilaç zehirlenmelerinde diğer ajanların dramatik etkileriyle maskelenebilir. Karaciğer hasarının biyokimyasal delilleri 24-36 saate kadar görülmeyebilir. Yüksek doz parasetamol alan tüm hastalarda, hepatotoksisitenin semptom ve bulguları beklenmeden antidotal tedaviye başlanmalıdır. Parasetamol zehirlenmesi ölümcül karaciğer hasarı ile sonuçlanabilir. NAC ile antidotal tedavi eğer 24 saat içinde başlatılırsa karaciğer nekrozu azaltılabilir veya önlenir.⁸⁶

2.6.2. Teşhis

2.6.2.1. Akut Zehirlenme

Parasetamol ağrı, ateş, soğuk algınlığı ve nezle gibi durumlarda çok sık kullanılan, reçetesiz alınabilen, güvenli, tedavi dozlarında kullanıldığında iyi tolere edilebilen etkin bir analjezik ve antipiretik madde olarak bilinmektedir.⁹⁷

Klinik bulgular dört safhada gerçekleşir:

1. Safha ilk 24 saatle sınırlıdır. Bulantı ve kusmaya sık rastlanır. Özellikle çocuklarda ve çok yüksek doz alanlarda görülür. Bununla birlikte gastrointestinal semptomlar hafif olabilir ve bazı hastalar asemptomatiktir. Parasetamol direkt kardiyak

ve respiratuvar bulgu ve semptomlara yol açmaz. Çok yüksek doz alındığında MSS depresyonuna neden olabilir. Hastada semptom ve bulgular varsa, parasetamol dışındaki ilaçların alımı da göz önünde tutulmalıdır. Çok yüksek dozları takiben yüksek serum laktat seviyesiyle birlikte, artmış anyon açıklığı ve metabolik asidoz bildirilmiştir. Fakat bu bulgu varsa diğer sebepler araştırılmalıdır.

2. Safha alımın 24-72 saatleri arasında gerçekleşir. Karaciğer toksisitesinin semptom, bulgu ve laboratuvar delilleri görülür. Birinci safhadaki semptomlar kaybolur. Geçici klinik düzelme görülebilir. Hastada karaciğer büyümesi ile sağ üst kadranda ağrı ve hassasiyet görülebilir. Bazı hastalarda pankreatit bulguları olabilir. Dehidratasyon veya parasetamolün nefrotoksitesine bağlı akut tübüler nekroz görülebilir. Hastaların % 25'inde böbrek fonksiyon bozukluğu ve karaciğer hasarı birlikte olabilir. Transaminaz seviyelerinde artış, bilüribin seviyesinde yükselme ve protrombin zamanında uzama oluşur. Nefrotoksitelili hastalar halk diliyle böğür ağrısı tarifleyebilir.

3. Safha alımın 72-96. saatleri arasında geçer. Karaciğer fonksiyon bozukluğunun en fazla olduğu safhadır. Hasta semptomatik olmayan bir durumdan, ensefalopati ve komanın eşlik ettiği fulminan hepatik yetmezlik tablosuna kadar bir değişkenlik gösterebilir. ALT ve AST düzeyleri genellikle 10.000.000 IU/ml'den yüksektir. Serum alkalin fosfataz ve glutatyon-s transferaz düzeylerindeki yükselme fazla değildir. Serum bilüribin seviyesi özellikle de indirekt bilüribin seviyesi artabilir. Protrombin zamanı uzayabilir. Böbrek toksisitesi oluşan hastalarda; proteinüri, glikozüri, hematüri, piyüri ve granülosit silindirleri ile serum kan üre nitrojeni (blood urine nitrogene) (BUN) ve kreatinin seviyelerinde artma görülür. Gebelerde akut alımı takiben fetal ölüm ve spontan abortus bildirilmiştir. Ölüm olursa genellikle parasetamol alımının üçüncü ve beşinci günleri arasında olur. Ölüm genellikle çoklu organ yetmezliğinden veya karaciğer yetmezliğinin ciddi komplikasyonları neticesinde olur.

4. Safha iyileşme veya progresyon ve ölümlle sonuçlanabilen fulminan hepatit ile karakterizedir. İki haftaya kadar uzayabilir. İyileşen hastalarda karaciğer fonksiyonu normale döner. Altta başka hastalığı yoksa karaciğer biyopsisinde normal histoloji görülür. Progresyon gösteren hastalarda ensefalopati (konfüzyondan komaya kadar), kalıcı sarılık, serum amonyak yüksekliği, koagülopati, hipoglisemi, böbrek yetmezliği oluşabilir ve myokardial hasarı düşündüren elektrokardiyogram (EKG) değişiklikleri ortaya çıkabilir.¹⁰²

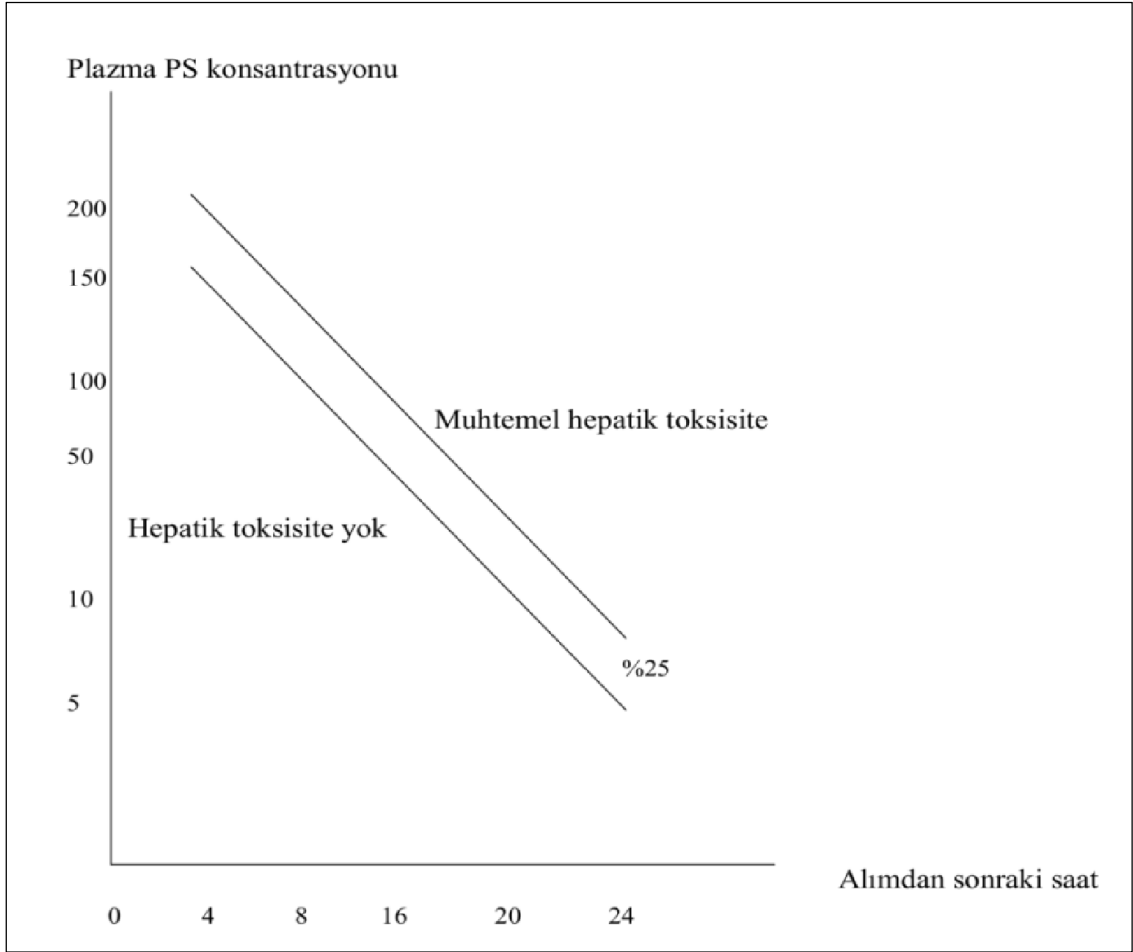
2.6.2.2. Kronik Zehirlenme

Kronik zehirlenme ciddi bir sendromdur. Karaciğer toksisitesi ile böbrek toksisitesinin birlikte olması yüksek doz alımlara bağlı olabileceği gibi terapötik dozlardaki alımlardan sonra da görülebilir. Hastalarda dehidratasyon, sarılık, özellikle transaminaz yüksekliği, koagülopati ve hipoglisemi görülür. Hastaların % 50'sinde akut tübüler nekroz ortaya çıkar.¹⁰² Alkolik olmayan hastalarda (özellikle çocuklarda ve akut açlıkta) veya kronik malnutrisyonda birkaç gün sık aralıklarla alınan hafif yüksek dozlarda bile toksisite görülebilir. Bu durumda hastanın klinik gidişatı akut zehirlenmedeki gibidir.¹⁰³

Parasetamol alımından sonra toksisite riskini en gerçekçi değerlendirme metodu plazma parasetamol konsantrasyonunu ölçmektir. Alımdan sonraki ilk 24 saat içinde; zamana göre plazma parasetamol konsantrasyonu ile toksisite riski bir nomogram ile değerlendirilir. Bu değerlendirme; eğer potansiyel bir toksik doz alımı veya bilinmeyen bir miktarda alım varsa mutlaka yapılmalıdır. Parasetamol alımından en az dört saat sonra yapılan plazma parasetamol seviyesinin ölçülmesi ile toksisite riski belirlenmelidir.¹⁰²

Parasetamol toksisitesi riskinin orijinal nomogramı Edinburg'taki hasta sonuçları ile oluşturulmuştur. Bu nomogramda, tedaviye başlamayı gerektirecek plazma

parasetamol konsantrasyonu, alımın 4. saatinde 200 mg/L, 15. saatinde ise 30 mg/L olarak belirlenmiştir. Rumack ve Matthew 24. saate kadar toksik plazma parasetamol seviyesini belirlemişlerdir. Orijinal tedavi sınırının belirlenmesinde karaciğer enzim yüksekliği önemli kriterlerden birisidir. Bu orijinal tedavi sınırları ABD ve Kanada'da % 25 oranında düşürülmüştür. Bu düşürülmüş tedavi sınırı şu anda 4. saatte 150 mg/L, 12. saatte 37.5 mg/L olarak tanımlanmıştır.⁹⁶



Şekil 2.3. Rumack-Matthew Nomogramı⁹⁶

Rumack-Matthew Nomogramı ALT ve AST değerlerinin 1000 IU/L'nin üzerinde olma olasılığını işaret eder. Fakat yaşam veya ölüm hakkında bilgi vermez. Bu nomogram alkolik olmayanlarda ve ek karaciğer hastalığı olmayan hastalarda yapılmıştır.¹⁰⁴

Modifiye Rumack-Matthew Nomogramı, parasetamol bağı hepatotoksisite riskini plazma parasetamol konsantrasyonuna ve ne kadar zaman önce alındığına göre değerlendirmek üzere kullanılmıştır. Modifiye nomogram düşürülmüş tedavi sınırları ile olgularda hepatotoksisiteyi daha da azaltmıştır. Nomogramın 24 saatten sonra kullanılması tavsiye edilmemektedir.⁹⁶

Parasetamol zehirlenmesinde karaciğer transplantasyonu gerekebilir. Parasetamol zehirlenmesinde karaciğer transplantasyonu için kullanılan kriterler şunlardır:¹⁰⁵

- 1- Asidoz (pH < 7.3) (koma derecesine bakılmaksızın)
- 2- Koagulopati (INR > 6.5) (komaya ek olarak)
- 3- Böbrek yetmezliği (kreatinin > 3.4 mg/dl) (komaya ek olarak).

Akut yüksek doz parasetamol alımında kötü prognostik faktörler:¹⁰⁶ (Karaciğer transplantasyonu için kullanılan kriterlere ilave olarak)

- 1- Geç başvuru (alımdan 24 saat sonra)
- 2- İlerlemiş koma
- 3- İnotropik desteğe ihtiyaç olması
- 4- 45 yaş üstünde olma

Tablo 2.2. Parasetamol hepatotoksisitesinin risk faktörleri¹⁰⁷

Faktör	Durum
Yaş	Çocuklar yetişkinlere göre daha dirençlidir.
Doz	Minimal hepatotoksik doz 150 mg/kg üzerinde. Ciddi toksisite 350 mg/kg.
Kan seviyesi	Alınan miktar, gastrik boşalma hızı ve geçen zaman ile ilişkilidir. Hepatotoksisite riskinin en iyi göstergesidir
Kronik olarak fazla miktarda alkol alımı	Toksik doz eşik değeri düşer, prognozu kötüleştirir.
Açlık	Nefrotoksisite sık gelişir.
Birlikte kullanılan ilaçlar	Toksik doz eşik değeri düşer.
Başvuru zamanı	İzoniazid, fenitoin, zidovudin vb. ilaçlarla toksik doz eşiği düşer: prognoz kötüleşir.
	Geç başvuru veya geç tedavi kötü sonuca yol açar (>16 saat).

2.6.3. Tedavi

Parasetamolün aşırı dozda alınımından sonra yapılması gerekenlere bakarsak ilk işlemler standart zehirlenmelerde yapılacak işlemlerden bir farklılık göstermemektedir. Prensip olarak öncelikle parasetamolün emilimini azaltmak, kanda miktarını en kısa sürede optimum düzeye indirmek, toksik metabolitinin miktarını azaltmak ve/veya toksik metabolitini detoksifiye etmektir. Yukarıdaki tedavi yöntemlerinin hangisinden başlayacağımız özellikle parasetamol alınımından sonraki geçen zamana bağlı olarak değişiklik gösterecektir. Kısa zaman önce alınan parasetamol toksisitesinde emilim azaltımından başlamak en uygun yaklaşım olmakla beraber eğer alımdan sonra uzun zaman geçmişse toksik metabolitin atılım ve detoksifiye etmekle başlamak daha akılcı bir çözüm olacaktır.^{108, 109}

Tüm intoksikasyonların tedavisinde olduğu gibi parasetamol intoksikasyonunda da öncelikle hastanın havayolu açıklığının sağlanması, solunum ve dolaşım fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve desteklenmesi gerekir. Daha sonra gastrik dekontaminasyon, aktif kömür, barsak irrigasyonu, antidot ve eliminasyon gibi tedavi uygulamaları değerlendirilir.¹⁰²

2.6.3.1. Gastrointestinal Sistem Dekontaminasyonu

Parasetamol yüksek dozunda ilk olarak barsak dekontaminasyonu düşünülse de rutin kullanımı tavsiye edilmemektedir. İpeka şurubunun intoksikasyondan 1 saat sonra uygulanması durumunda etkinliğin oldukça azaldığını gösteren yayınlar vardır.¹¹⁰ Ayrıca oluşturacağı kusma nedeniyle oral NAC verilecek hastalarda kullanımı kontrendikedir. İntoksikasyonlu olgularda gastrointestinal sistem (GİS) dekontaminasyonunun faydalı olduğunu gösterir çalışma yoktur. Kullanılması tavsiye edilmemektedir.⁹⁶

2.6.3.2. N-Asetil Sistein (NAC)

Prescott ve Matthew ilk olarak 1974 yılında NAC'nin parasetamol toksisitesinde kullanılabileceğini göstermiş olup 1977 yılında ise 15 hastada etkinliğini ispatlamışlardır.^{107, 111} NAC eğer yeterince ve en kısa zamanda uygulanırsa parasetamole bağlı gelişebilecek karaciğer hasarını büyük oranda önleyebilmektedir.⁹⁶ Halen tercih edilen bir tedavi seçeneği olarak görünmektedir. NAC hücreye girdikten sonra sisteine metabolize olur. Sistein bir GSH prekürsörüdür. GSH miktarını artırarak NAPQI ile direkt olarak bağlanmasını sağlıyor veya NAPQI oluşumunu önleyebilir. NAC sülfat prekürsörü olarak da rol oynar ve sülfat konjugasyon yolunun doymasını önler.¹⁰² Bu konudaki tartışmalar NAC'nin dozu, verilme yolu ve verilme zamanı ile ilişkilidir. ABD'de 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 uygulamadır.¹¹² Hayvan deneyleri, doz arttıkça NAC'nin etkisinin arttığını göstermiştir. Parasetamol alımından hemen sonra parasetamole eşit dozda verilen NAC, büyük oranda hepatotoksisiteyi önler.¹⁰² Parasetamol alımı ve NAC başlanması arasında geçen sürenin azalması ölümün ve hepatotoksitenin önlenmesinde etkilidir.¹¹³ On bir bin yüz doksan beş vaka ile yapılan bir çalışmada hepatotoksisite oranı; alımdan sonra ilk 10 saatte verilen NAC tedavisinde % 6.1, 10-24 saat arasındaki tedavide ise % 26.4 bulunmuştur.⁹⁶ NAC'nin uygulama yolları ile etkisi arasında fark yoktur.¹¹³

2.6.3.3. Aktif Kömür Uygulaması

Oral aktif kömür uygulaması parasetamol zehirlenmesinin ilk 4 saatinde uygulanır ise etkin bir tedavi yöntemi olabilmektedir. Gastrik lavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulaması arasında 20 hasta üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada aktif kömür uygulamasının kan parasetamol düzeyini dramatik bir şekilde azalttığı

göstermiş olup diğer yöntemlerden üstün bulunmuştur.¹⁰⁹ Parasetamol zehirlenmesi ile gelen hastalarda yapılan çalışmalarda mide lavajı sonrası aktif kömür vermekle, tek başına aktif kömür verme arasında fark bulunamamıştır. Sadece bir çalışmada mide lavajı sonrası aktif kömür vermenin faydalı olacağı söylenmektedir.¹¹⁴ Oral aktif kömür uygulaması tek doz olarak 1 gr/kg olarak verilir.¹⁰⁹

2.6.3.4. Aktif kömür ve Oral N-asetil sistein Kombine Kullanımı

Aktif kömürün, parasetamol intoksikasyonunda kullanılması faydalı bulunmaktadır.¹¹⁴ Ancak aktif kömürün NAC absorpsiyonunu azaltarak onun etkinliğini azalttığını ileri süren görüşler vardır. Retrospektif klinik çalışmalar ve hayvan deneyleri göstermiştir ki; aktif kömür ve NAC kombine tedavisi, tek başına NAC tedavisine göre eşit veya daha fazla etkilidir. Aktif kömür ancak ilk 4 saatte verilirse parasetamol absorpsiyonunu engeller. Son çalışmalar aktif kömürün parasetamolün yüksek doz alımından sonraki ilk bir saatte uygulanmasını desteklemektedir.^{76, 114} Aktif kömür uygulaması NAC emilimini azalttığı için; eğer aktif kömür verilecekse NAC uygulaması ile aralarında 1 veya 2 saat süre olması önerilmektedir.¹⁰²

2.6.3.5. Simetidin

Simetidin CYP2E1 enzimi tarafından metabolize olmaktadır. Parasetamolde aynı enzim üzerinden metabolize olduğu için ikisinin beraber alınması CYP2E1 enzimini kompetatif olarak inhibe ederek parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI üretimini azaltacaktır. Fakat Slattery ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada parasetamol alımından 8 saat sonra 300 mg simetidin kullanımının NAPQI üretimini azaltmadığını göstermiş olup bu da bize simetidin uygulamasının erken saatlerde başlanmasını göstermektedir.^{114, 115}

2.6.3.6. Metiyonin

Metiyonin de parasetamol zehirlenmesinde etkilidir. Oral (4 x 2.5 gr 12 saat) olarak yaygın bir şekilde kullanılır. Eğer hastaya oral aktif kömür verilirse veya hastanın kusmaları varsa etkinliği azalır. Metiyonin de hücre içi GSH'ın yenilenmesi ile etkili olur. NAC gibi diğer hücre koruyucu mekanizmalarda rol oynar. Metiyonin tedavisinin de, NAC tedavisinde olduğu gibi parasetamol alımından sonra on saati geçmişse etkinliği azalır.¹¹⁶

2.6.3.7. Pentoksifilin (PTF)

Çalışmalar fosfodiesteraz inhibitörlerinin karaciğer hasar modellerinde koruyucu olduğunu göstermiştir. PTF'nin karaciğerde kan akımını düzenleyerek, TNF- α üretimini inhibe ederek ve lipopolisakkaride bağlı sitokrom p450 enzim down regülasyonunu önleyerek karaciğer üzerinde koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PTF'nin karaciğer fibrozisini önleyici etkisi deneysel karaciğer fibrozis modellerinde tanımlanmıştır. PTF adezyon, degranülasyon, süperoksit üretimi gibi nötrofil fonksiyonlarını baskılar. İnterlökin-1 (IL-1)'in proinflamatuvar etkisini azaltır. IL-6 üretimini başlatır. Makrofajlar üzerine inhibe edici etkisi mevcuttur.¹¹⁷ PTF oral uygulamadan sonra mide-barsak kanalından hızlıca absorbe edilir. İlk geçiş klirensi yüksek olduğundan oral preparatların biyoyararlılığı % 20-30'dur. Oral uygulamadan sonra çeşitli PTF plazma seviyeleri bildirilmiştir.¹¹⁷ Karaciğerde metabolize edilmek suretiyle inaktive edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü yaklaşık 2 saat kadardır.¹¹⁸

2.6.3.8. Diyaliz

Parasetamolün ekstrakorporal eliminasyonu parasetamol toksisitesi tedavisinde tartışmalıdır ve var olan datalar karışıktır.¹¹⁹ Hemodiyaliz; şiddetli parasetamol toksisitesinde kullanılmış olup hemodiyalizin hepatotoksisiteyi önlediğini veya azalttığını gösteren güvenilir bir data elde edilememiştir.¹¹⁹ Hemodiyalizin parasetamol

toksisitesinde yararlı olamamasının en önemli nedeninin ise yüksek doz alınan parasetamolün karaciğere hemen uğrayıp hasara başlaması olabilir.¹²⁰

2.6.3.9. Karaciğer Transplantasyonu

Karaciğer tranplantasyonu parasetamol toksisitesine bağlı olarak gelişmiş yaygın karaciğer hasarındaki altın standart tedavi yöntemidir.¹²¹ Çok az parasetamol toksisitesi gelişmiş hastada karaciğer transplantasyonu gerekmemektedir. Transplantasyon sonrası geriye dönüşümü olmayan ömür boyu süren bir immünosüpresif tedavi gerekmektedir.¹²² King College Hospital (KCH) kriterlerine göre karaciğer transplantasyonu gereken hastaların transplantasyonsuz mortalite oranı % 90'lara yaklaşmaktadır.¹²² Toksik dozda parasetamol alan hastaların % 4'ünde ciddi hepatik yetmezlik ve bu hastaların da yarısından daha azında, ölüm veya karaciğer transplantasyonu gerekmektedir.⁶⁷

2.6.4. Prognoz

Zamanında ve uygun müdahale yapılırsa, ciddi sonuçlar ortaya çıkmaz.⁶⁷ Parasetamolün aşırı dozunu almış, hepatotoksisite gelişmiş veya gelişmemiş hastaların % 90'ı tam anlamıyla sağlığına ulaşır.¹²³ NAC alanlarda, almayanlara oranla koma gelişme olasılığı 3/4 oranında daha az bulunmuştur.¹¹⁶ Hepatotoksisite gelişmiş hastaların % 80'i ilk 12 saatte NAC uygulaması ile iyileşmiş olup eğer NAC verilmezse bu iyileşme % 48'lerde kalmaktadır.⁷ KCH kriterlerini tam karşılamayan hastaların % 90-93'ü sağ kalmakta olup parasetamol harici gelişen akut hepatik hasarların oranından çok daha iyidir. Parasetamolle indüklenen karaciğer hasarında karaciğer transplantasyonsuz sağ kalım oranı % 65-73 arasında değişmektedir.⁴¹ Parasetamol alımından sonraki ilk 24 saatte hastane yoğun bakımlarında tedaviye alınanların sağ kalım oranı sonraki zaman periyodunda gelenlerden oldukça yüksektir. Hepatik ensefalopati derecesi arttıkça sağ kalım oranı azalmaktadır.⁷

AİDS'lilerde, kronik alkol kullananlarda, malnutrisyonlu veya anoreksia nevroza'lı hastalarda morbidite riski yüksektir. Çünkü bu hastalarda GSH depoları yetersizdir.^{67, 98} Karbamazepin, fenitoin, izoniazid, fenobarbital, rifampin gibi ilaçları kullanan hastalarda p450 enzim aktivitesi azaldığı için morbidite artar.^{67, 116} Beş yaşından küçük çocuklarda GSH deposu parasetamol ve konjugasyon kapasitesi daha fazla olduğu için parasetamol zehirlenmesi daha iyi seyredir.^{96, 98, 116}

Parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında karaciğer transplantasyon ihtiyacı diğer nedenlerle oluşan karaciğer hasarındaki karaciğer transplantasyon ihtiyacından oldukça düşüktür.¹²⁴

2.7. *Nigella sativa* L. (Çörek Otu)

Nigella sativa L., Ranunculaceae (düğün 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* L., *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis*'in tohumları halk hekimliğinde ve baharat olarak daha yaygın bir biçimde kullanılmaktadır.²⁰ Ülkemizde de tarımı yapılan ve ticarete konu olan tek tür yalnızca *Nigella sativa* L.'dir. Türkiye'de yaygın olarak Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde tarımı yapılmaktadır.^{125, 126} *Nigella sativa* L., çörek otu ülkemizde 'ölümden başka her derde deva' olarak bilinen bir bitkidir. Diğer ülkelerde de birçok isim almıştır. Örneğin, eski Latince de 'Her derde deva' anlamında, Arapça da 'bereket tohumları' anlamında 'Habbah Sevde' veya 'Habbat El Baraka' olarak, Çin'de 'hepsi tedavi' anlamında 'Hak Jung Chou' olarak anılır. Bunlar arasında, *Nigella sativa* L. üzerinde tedavi amaçlı incelemeler günümüzde çokça yapılmıştır ve yapılmaktadır.¹²⁷ Düğün çiçeğigiller familyasının bir üyesi olan *Nigella sativa* L.'nin tohumları tüm dünyada geleneksel tıpta kullanılır. *Nigella sativa* L.

(“black cumin” ya da “black caraway”) tıbbi alanda ve yiyecek formülasyonlarında *Nigella damascena* ile karşılaştırıldığında çok daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden *Nigella sativa* L. daha kapsamlı olarak araştırılmaktadır.¹⁹

Bitkinin geleneksel olarak kullanımı yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla bilimsel temele dayandırılmaktadır. Şu ana kadar bu konuyla ilgili birçok literatür mevcuttur. Yapılan çalışmalar *Nigella sativa* L. tohumu ve bileşenlerinin antioksidan,^{15, 20, 128-132} antialerjik,^{133, 134} antiinflamatuvar,^{15, 125, 133-135} analjezik,¹³⁶ immünmodülatör (immünojenik durumları ve immünopatolojik reaksiyonları istenilen etkinlik düzeyine getiren ilaç),¹³⁷⁻¹³⁹ antibakteriyel,^{140, 141} antifungal,¹⁴² antiviral,¹⁵ antiseptik (anti-helmintik),¹⁴³ antitümör,^{131, 144, 145} antidiyabetik,¹³⁰ antihepatonefrotoksik,^{129, 134, 146} kardiyovasküler sistem ve kan üzerine etki,^{147, 148} GIS üzerine etki,¹⁴⁹ antiülserojenik,¹⁵⁰ anti aflatoksin,¹⁴³ antinosiseptif (ağrılı uyarıyı azaltma veya durdurma etkisine sahip olma),¹³⁶ nöroprotektif (nöron koruyucu)¹⁵¹ ve antikonvülzan (spazm veya kasılma nöbetlerine karşı)¹⁵² etkiler gibi birçok faydalı farmakolojik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

2.7.1. *Nigella sativa* L.’nin İçinde Bulunan Değerli Bileşenler

Nigella sativa L. tohumunun kimyasal içeriği bitkinin hasat mevsimine, çeşidine ve yetiştirildiği iklime göre değişmektedir. *Nigella sativa* L. tohumları bölgenin iklimine bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte *Nigella sativa* L. tohumlarının yapısında; uçucu yağlar (% 0.4-0.45), sabit yağlar (% 32-40) proteinler (% 16-19.9), aminoasitler, alkoloidler, tanenler, saponinler, lifler (% 5.5), karbonhidratlar (% 33.9), mineraller (% 1.79-3.44), askorbik asit, tiamin, niasin, pridoksin ve folik asit bulunmaktadır. Kahire yakınlarında yetiştirilen *Nigella sativa* L. tohumlarından elde edilen uçucu yağda, p-simen, timokinon, α -pinen ve β -pinen gibi bileşikler ihtiva ettiği ve bunların miktarca en önemli bileşenler olduğu belirlenmiştir.¹⁴⁰ Diğer bir çalışmada

ise uçucu yağın yapısında nigellon, karvakrol, p-simen, d-limonen, α ve β -pinen'in yanı sıra farmakolojik olarak aktif temel bileşenlerden başlıca timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol yer almaktadır.^{125, 153} Sabit yağın yapısında doymamış yağ asitlerinden oleik asit, linoleik asit, eikozadienoik, araşidonik asit ve linolenik asit bulunurken, doymuş yağ asitlerinden ise miristik asit, palmitik asit ve stearik asit bulunmaktadır. Ülkemizde yapılan bir araştırmada; *Nigella sativa* L. tohumlarında % 6.4 su, % 4 kül, % 32 yağ, % 20.2 ham protein, % 6.6 ham lif ve % 3.4 karbonhidrat bulunduğu belirlenmiştir. Sabit yağın; % 1.2 miristik, % 8.4 palmatik, % 2.9 stearik, % 17.9 oleik, % 60.8 linoleik, az miktarda araşidik ve % 1.7 eikozadienoik asitlerden oluştuğu bildirilmiştir.¹⁴¹ *Nigella sativa* L. tohumunda ayrıca az miktarda B₁, B₂ ve B₆ vitamini, proteinlerin yapı taşı olan aminoasitler ve iz elementler olarak bilinen ve organizmada pek çok önemli metabolik faaliyetlerde rol alan, besin ve su ile dışarıdan alınması gereken demir, kalsiyum, magnezyum, çinko ve selenyum gibi mineraller de vardır. *Nigella sativa* L. tohumlarındaki etkin madde nigellon ancak 1959'da kristal halinde izole edilebilmiştir.¹⁴⁰ Son yıllarda modern tıpta yaygın olarak, *Nigella sativa* L. tohumlarındaki sabit yağın ve uçucu yağın çeşitli etkilerden dolayı araştırıldığı bildirilmektedir.¹⁵⁴

Merfort ve arkadaşları²¹ tarafından 1997 yılında yapılan bir araştırmada *Nigella sativa* L. Tohumları % 70'lik etanolle ekstrakte edilmiş ve bu ekstraktan üç yeni flavonoit glikoziti izole edilmiştir. Bu 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 izole edilmiştir. *Nigella sativa* L. tohumlarının etanol

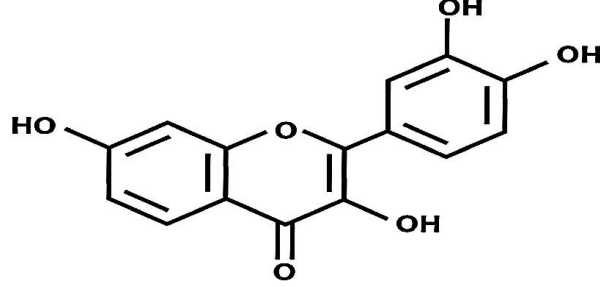
ekstresinin kuersetin açısından zengin olduğu göze çarpmaktadır. Diğer bir çalışmada da *Nigella sativa* L. tohumlarında izolasyon ile çeşitli fenolik glikozitler izole edilmiştir ve bu glikozitlerin aglikonlarını oluşturan fenoliklerinin özellikle kuersetin ve kaempferol olduğu ayrıca rutin de olduğu göze çarpmaktadır.²²

Bu kadar zengin bileşene sahip *Nigella sativa* L. tohumlarının birçok çözücü ile ekstraksiyonları yapılarak çeşitli polar ve non-polar bileşikler elde edilmeye çalışılmış ve bunun da ötesine gidilerek etken maddeler izole edilerek karakterize edilmiştir. Fenolik içeriği sunması anlamında etanol en çok tercih edilen ekstraksiyon çeşidi olmuştur. *Nigella sativa* L. tohumlarının etanol ekstresi alınması suretiyle bitkinin fenolik içeriği büyük oranda ekstrakte edilmiştir. Bu ekstraksiyondan elde edilen baskın fenolik bileşenler kuersetin ve kaempferoldür.²¹

2.7.1.1. 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.¹⁵⁵ 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.¹⁵⁶ Flavonoidler vücuda girdikten sonra çeşitli reaksiyonlarla aglikon, glikozit ve metillenmiş formlara döndürülerek metabolize edilir.¹⁵⁷ 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.^{155, 158} Flavonoidlerin gösterdikleri aktivitelerin

çeşitliliği çoğunlukla bu yapısal farklılıklardan kaynaklanmaktadır.¹⁵⁸ Kuersetinin de aralarında bulunduğu flavonoidler doğada yaygın olarak bulunan polifenoller içinde yer alan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir.¹⁵⁹



Şekil 2.4. Flavonoid molekül yapısı

Tablo 2.3. Farklı iskelet yapılarına göre çeşitli flavonoidler¹⁶⁰

Flavonoid Türü	Flavonoidler
Flavonlar	Chrysin, Apigenin, Luteolin
Flavonoller	<i>Kuersetin</i> , <i>Kaempferol</i> , <i>Rutin</i> , <i>Rhamnetin</i>
Flavononlar	Naringenin, Eriodiktol, Hesperidin
Flavanoller	Kateşin, Epikateşin
Dihidroflavonoller	Taksifolin, Slibin
Biflavonoidler	Amentoflavon

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

1. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederek,^{161, 162}
2. Süperoksit radikalini (O_2^-), hidroksil radikalini (OH^\cdot) ve singlet oksijeni (1O_2) temizleyerek,^{163, 164}
3. Peroksil radikalini (ROO^\cdot) ve alkoksil radikalini (RO^\cdot) yakalayarak, lipid peroksil zincirini kırarak,¹⁶⁴⁻¹⁶⁷
4. Protein kinaz enzimini inhibe ederek,¹⁵⁵
5. Demir ve bakır gibi geçiş metallerini şelatlayarak,¹⁶⁸
6. Laktat transportunu engelleyerek,¹⁵⁵

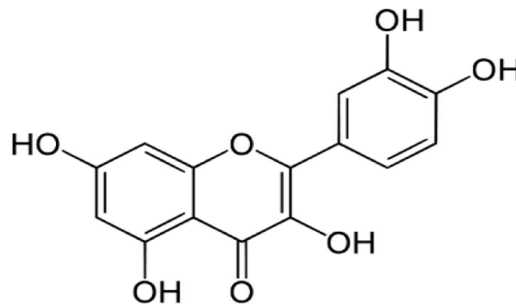
7. Enzim fonksiyonlarına bağımlı kalsiyum modülasyonu ile hücrel regülasyonda önemli rol oynayan küçük bir asidik protein olan kalmodülini inhibe ederek¹⁵⁵ gösterdiklerini söyleyebiliriz.

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.¹⁵³

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.¹⁶⁹ Rutin bileşiği ise bir flavonol olan kuersetinin 3. C atomuna bağlı OH grubuna rutinozun konjugasyonu ile oluşan bir flavonoiddir.¹⁶⁰

Kuersetin



Şekil 2.5. Kuersetin

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

Kuersetin bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan fenolik bir flavonoiddir.^{170, 171} Merfort ve arkadaşları²¹ tarafından 1997 yılında yaptıkları bir araştırmada *Nigella sativa* L. Tohumlarının % 70'lik etanolle ekstraksiyonundan elde ettikleri flavonoid

glikozitleri arasında kuersetinin de varlığı 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.¹⁷² Chengelis ve ark.¹⁷³ 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 antibakteriyel, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinojenik etkileri vardır.¹⁷⁴ Bu bileşikler serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırarak bilayer özellik gösteren hücre zarında bulunan fosfolipitleri lipid peroksidasyonuna karşı korurlar.^{159, 175} Fenolik asit bakımından zengin besinler antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antialerjik, antiviral özellik gösterirler. Fenolik bileşenlerden zengin besinlerin karaciğer üzerinde de koruyucu etkileri vardır.¹⁷⁶

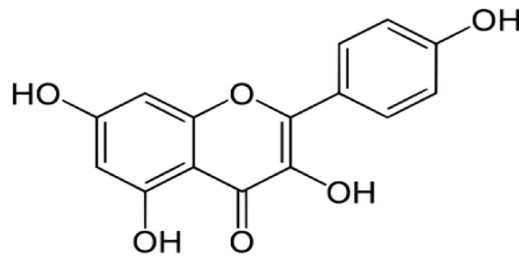
Pawlikowska-Pawlega ve arkadaşları¹⁷⁷ yaptıkları bir çalışmada kuersetinin farelerde eritrosit membranlarını oksidatif hasara karşı koruduğunu bildirmişler ve kuersetinin apoptozu indükleyip tümör gelişimini engellediğini, fosfolipaz A2 ve protein kinazları inhibe ettiğini, membran akışkanlığını arttırdığını belirtmişlerdir. Ek olarak, kuersetinin de arasında bulunduğu flavonoidler düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu engellerler ve NOS aktivitesini takiben vazodilatasyona neden olan NO seviyesini arttırmırlar.¹⁷⁸

İnal ve arkadaşları¹⁷⁹ yaptıkları bir çalışmada UV A ile deride iritasyon 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.¹⁷⁹ Ratlara

cisplatin ile beraber kuersetin uygulandığında sadece cisplatin verilen gruba göre vücut ağırlığında ve membran bağımlı ATPaz'ların aktivitesinde artış ve lipit peroksidasyonunda ise azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir.¹⁸⁰ 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.¹⁸¹

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.¹⁸²

Kaempferol



Şekil 2.6. : Kaempferol (3,3',5,7,tetrahidroksiflavon; C₁₅H₁₀O₆)

Doğal bir antioksidan bileşik olan kaempferol flavonol sınıfında yer alır.¹⁸³ Pannala ve arkadaşları¹⁸⁴ 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.¹⁸⁵

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 2.4. Antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması¹⁷¹

	Antioksidan	Antioksidan aktivite ± SD (%)
Sentetik	Bütil hidroksi toluen	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
	Kuersetin	92,91 ± 0,40
	Karnosol	92,36 ± 0,17
	Vitamin E	91,61 ± 0,60
	Fisetin	86,32 ± 0,66
	Kaempferol	85,88 ± 0,62
	Mirisetin	80,54 ± 0,54
	Rutin	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	

2.7.2. *Nigella sativa* L.' nin Hepatoprotektif Etkisi

Nigella sativa L.'deki uçucu ve sabit yağın hepatoprotektif etkisi karbon tetraklorür (CCl₄) ile indüklenen modelde test edilmiştir. Karaciğerin histopatolojik incelenmesi sonucunda belirgin bir hepatoprotektif etki saptanmıştır.²³ *Nigella sativa* L. içeriğinde bulunan timokinon'un izole edilmiş farelerin hepatositlerinde tersiyer butil hidroperoksit toksisitesine karşı hepatoprotektif etkisi incelenmiştir. Tersiyer butil hidroperoksit ile hepatositlerde oksidatif hasar oluşmuş, hücre içindeki GSH'nin boşalmasına neden olmuş ve ALT, AST azalması ile hücre canlılığında kayıplar olmuştur. NS verilmesi ile azalan ALT ve AST değerlerinde düzelme olmuştur.¹⁸⁶

2.7.3. *Nigella sativa* L.'nin Antioksidan Etkisi

Biyolojik yapılarda oluşan oksitleyici hasarlar, özellikle kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi birçok hastalığın nedenidir. Bu hasarın sebebi serbest radikallerdir. Oksidan bileşikler ve aşırı oksitleyici stresin sebep olduğu serbest radikal üretiminin artması veya vücuttaki süpürme kabiliyetinin azalması nedeniyle, oksidatif hasar oluşur. Serbest radikaller olan; O_2^- , OH^\cdot ve NO^\cdot elektriksel olarak yüklü olup, hücre membranı içinden geçerek hücrelere saldırır ve vücuttaki nükleik asitler, proteinler ve enzimler ile reaksiyona girerek yıkım oluşturur. İn-vitro araştırmalar, *Nigella sativa* L. tohum ekstresinin yılan ve akrep zehirlerinin hemolitik etkisini önlediğini, eritrositleri lipid peroksidasyonuna, protein denaturasyonuna, H_2O_2 'nin sebep olduğu artan ozmotik kırılabilirliğe karşı koruduğunu ve laringeal karsinoma hücrelerini lipopolisakkarit veya kortisol tarafından indüklenen apoptozisten koruduğunu göstermiştir.¹⁵

2.7.4. *Nigella sativa* L.'nin Toksik Özelliği

Literatürde *Nigella sativa* L. tohumları ve bileşenlerinin olası toksik etkileri üzerine yapılmış pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Zaoui ve arkadaşları¹⁴⁷ yaptıkları çalışmada *Nigella sativa* L. için farelerde akut toksiside lethal doz (LD_{50}) değerlerini tek doz, oral uygulamada 28.8 ml/kg vücut ağırlığı, yine tek doz, i.p uygulamada ise 2.06 ml/kg vücut ağırlığı olarak saptamıştır. Kronik toksisitede ratlar (12 hafta/gün, oral) *Nigella sativa* L. ekstreğine tabi tutulmuş olup LD_{50} değerlerinin 2 ml/kg vücut ağırlığı olduğu tespit edilmiştir. Deneme sonunda karaciğer enzim düzeylerinde değişim ve herhangi histopatolojik modifikasyon gözlenmediği bildirilirken, serum kolesterol, trigliserid ve glikoz düzeyleri ile lökosit ve trombosit sayısında kontrole göre belirgin bir düşüş, hematokrit ve hemoglobin düzeylerinde ise belirgin bir artış olduğu görülmüştür.¹⁴⁷

2.8. Serbest Radikaller

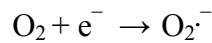
Biyolojik sistemlerde dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron içeren veya elektron kabul eden moleküller radikal (veya serbest radikal) diye adlandırılır.¹⁸⁷⁻¹⁸⁹ Herhangi bir atom veya molekülün dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektronun bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini artırır. Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine de oksidan denir. Oksidanlar hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle, bu hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, ribonükleik asit (RNA) gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarlarına yol açtığı bilinmektedir.¹⁹⁰ 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 serbest radikallere Reaktif Oksijen Species (ROS) denir. Başlıca hidroksil radikali (OH[•]), süper oksit radikali (O₂^{•-}), hidrojen peroksidi (H₂O₂)'yi içerir. Nitrojenden oluşan serbest radikallere ise Reaktif Nitrojen Species (RNS) denir.¹⁹¹ Başlıca RNS türleri arasında nitrik oksit (NO[•]), nitrit (NO₂^{•-}) ve nitratı (NO₃^{•-}) sayabiliriz. ROS ve RNS'nin hücre içi oksidatif modifikasyon yapacağı hedefler arasında DNA, lipit ve proteinleri sayabiliriz.¹⁹² Bunun yanı sıra bu modifikasyonların sırası ise; ROS'nin üretim yeri, oksitlenecek molekülün bağlı 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, CAT, Glutasyon Peroksidaz (GPx) gibi enzimler ise ROS'nin miktarını yavaş bir şekilde sınırlandırır.^{191, 192} 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 de süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna da neden olur. Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleride yer almaktadır. Oksijenli (Aerobik) solunum yapan canlılar dışardan aldıkları besin maddelerini oksijeni kullanarak enerjiye çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu yüzden aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar.^{193, 194}

2.8.1. Serbest radikal çeşitleri

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

Oksijen molekülünün içerdiği iki serbest elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron olarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur.



Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Süperoksit radikalının eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşunu artırdığı bilinmektedir.¹⁹³

Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olurlar. Çünkü SOD enzimi ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit (H_2O_2) çevrilir. Buna ilaveten asidik durumlarda H_2O_2 ve peroksil (HO_2^{\cdot}) radikallerini üreten spontan reaksiyona uğrar. Süperoksit radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır.¹⁹⁵

İki süperoksit radikalinin bir araya gelmesi sonucu hidrojen peroksit oluşur.



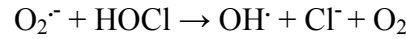
Süperoksit radikali ve peroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu da hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



Süperoksit radikalinin nitrik oksit radikali ile birer eşleşmemiş elektronlarını kovalent bağ ile bağlamaları sonucu peroksinitrit meydana gelir.¹⁹⁶

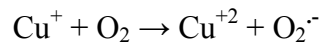
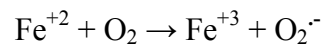


Hipoklorik asit (HOCl) oksijen metabolitleri ile reaksiyona girme özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi uyandırmıştır. Hipoklorik asitin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda oldukça güçlü oksidan olan OH[·] radikalinin oluştuğu görülmüştür.^{187, 197}



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 oksidasyonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksite indirgenir.^{187, 198}

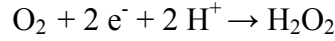
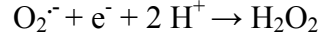
Diğer taraftan geçiş metallere otoksidasyonu sonucunda da süperoksit radikali oluşabilmektedir.¹⁹⁹



Bu reaksiyonlar geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olup serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasında çok büyük öneme sahiptir.^{194, 198, 200}

2.8.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

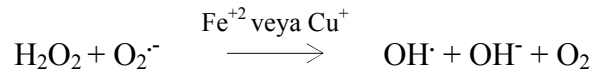
Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdan iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir.^{201, 202}



Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca urat oksidaz, glukoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler iki elektronunu oksijene vererek H₂O₂ oluştururlar.^{199, 202}

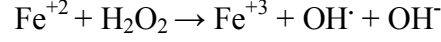
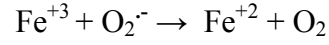


Hidrojen peroksit kendi başına çok zayıf oksidan özelliği gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. H₂O₂ gerektiğinde hücreler tarafından selenyum içeren glutatyon peroksidaz, katalaz ve belirli peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılabılır. H₂O₂ serbest bir radikal olmadığı halde, 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.^{195, 202}



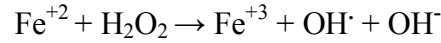
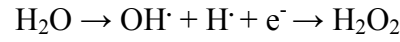
Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilir. Ancak katalizör olmadığı zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe⁺³) süperoksit tarafından ferro demir'e (Fe⁺²) indirgenir. Daha sonra bu ferro demir kullanılarak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

hidrojen peroksitten OH[·] ve OH⁻ üretilir^{203, 204} reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekildedir.^{194, 199}

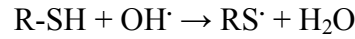


2.8.1.3. Hidroksil radikali (OH[·])

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 oluştuğu yerde büyük hasarlara neden olan oldukça hareketli bir oksidandır.²⁰⁵



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

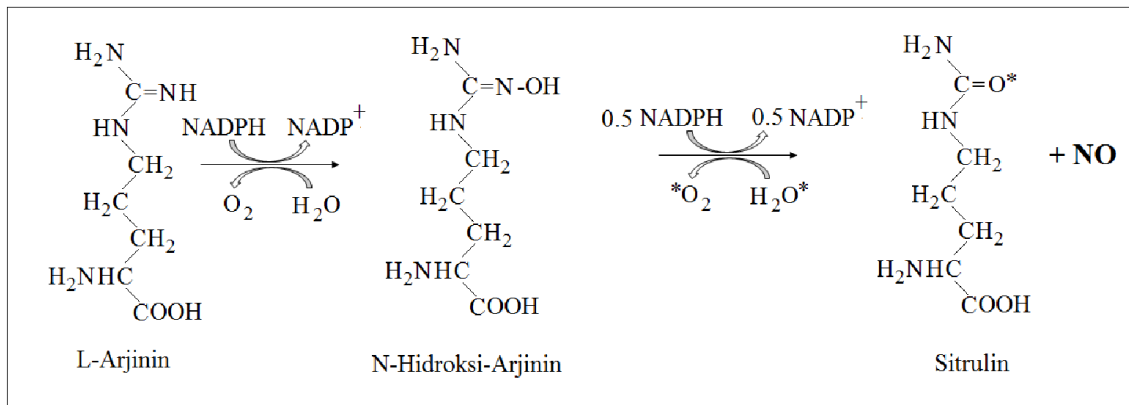
2.8.1.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

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.^{187, 206, 207}

2.8.1.5. 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. Tepkimenin ilk basamağında Arg'in guanido azotu (Nw) hidrosillenerek Nw-Hidroksi arjinin (Nw-OH-Arg) oluşur. Bu ara ürün oldukça kararlıdır. Enzime sıkı bağlı olan bu ara ürün ikinci aşamada sitrullin ve NO'ya çevrilir. Enzimatik NO sentezinin her iki aşaması da enzimin birer monooksijenaz aktivitesi sayesinde gerçekleşir. NOS tarafından 1 mol Arg'den 1 mol NO sentezi için 2 mol O₂ ve 1.5 mol Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) kullanılır. Kullanılan oksijenlerin iki atomu suya indirgenirken diğer iki oksijen atomu, NO ve sitrullin oluşumunda kullanılır¹⁹¹ (Şekil 2.7.). NO yapısındaki oksijen atomunun kaynağı, ilk monooksijenaz aktivitesi ile Arg'ye katılan atomdur. Sitrullindeki oksijen atomunun kaynağı ise ikinci monooksijenaz tepkimesi sırasında kullanılan oksijendir.^{191, 208-210}



Şekil 2.7. Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından katalizlenen argininden nitrik oksit oluşumu

Son yıllarda, radikal olan nitrik oksit üzerinde oldukça fazla durulmaya başlanmıştır. Nitrik oksit eşleşmemiş elektronları sayesinde süperoksit, tiyol grupları ve nitrojen dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir. Diğer radikallerle birlikte diabetes mellitus, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir.^{202, 211, 212}

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.¹⁹¹ Bu görevlere tipik örnek olarak sinir sistemindeki nörotransmitter fonksiyonu ve damar düz kaslarının gevşemesine olan etkileri sayılabilir. Daha sonraki çalışmalarda, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmaları ve enflamasyonda olduğu dokuya göç etmesinde, trombosit agregasyonunun inhibisyonunda, damar permeabilitesinin kontrolünde, penil ereksiyonda, immün sistemin fonksiyonlarında, barsak ve böbreklerde tuz ve su emiliminde de NO'un regülatör fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiştir.¹⁹¹ NO'nun ayrıca hücreleri sitotoksik etkilere karşı koruyucu etkileri de tanımlanmıştır.¹⁹¹

2.8.1.6. Diğer Serbest Radikaller

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R[•]), peroksil radikalleri (ROO[•]), alkoksil radikalleri (RO[•]), tiyol radikalleri (RS[•]) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir. Bunlardan özellikle polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO[•]) veya tiyol peroksil (RSO₂[•]) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler.^{191, 194}

2.8.2. Serbest radikal kaynakları

Serbest radikaller organizmanın normal yaşamanı 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.¹⁹⁴

2.8.2.1. Eksojen radikal kaynakları

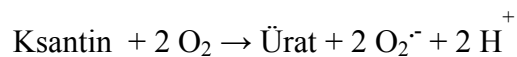
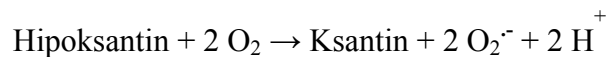
İlaç oksidasyonları, radyasyon, güneş ışığı, UV-ışınları sigara dumanı, egzoz gazları, kükürtdioksit, çevresel ajanlar ve stresdir.^{187, 213, 214}

2.8.2.2. Endojen radikal kaynakları

a. Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Normal ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiyopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturur.^{199, 215}

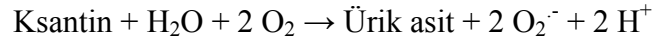
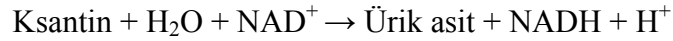
b. Enzimler ve proteinler: Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna neden olurlar.^{198, 216}

Ksantin oksidaz normalde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz. Fakat in vivo olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürat'a oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir.^{217, 218}



Hipoksantin-ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksitin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir. Fakat yapılan araştırmalar ksantin oksidazın akciğer, karaciğer, böbrek gibi dokularda da hasara neden olduğu gözlenmiştir.^{219, 220}

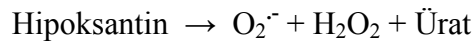
Normalde NAD, bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal oluşumuna neden olmaz. Ancak ilk iskemi atağından sonra hücre membranı sahte sodyum-kalsiyum pompası oluşturma eğilimine girer. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması proteazların miktarı artsa bile devam eder. Bu sırada hücre ksantin dehidrogenazın (XD) ksantin oksidaz (XO)'a dönüşümüne izin verir. Bu oluşan hücre içi olayların sonunda XD enzimi dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşür ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikalinin üretimine neden olur. Oluşan süperoksit radikalleri hızlı bir şekilde hidrojen peroksit'e dönüşür. H_2O_2 güçlü bir radikal olmasa da, Fe^{+2} varlığında fenton reaksiyonu oluşturarak güçlü bir radikal olan hidroksil radikalinin oluşmasına neden olur.^{188, 201}



XD

$Ca^{++} \downarrow$

XO



\uparrow

O_2

Aldehit oksidaz da yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğunu da aynı şekilde kullanarak süperoksit radikali üretirler.²²¹

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 O_2 'ye taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin % 97-99'unu harcayarak suya indirger. Ancak O_2 'nin % 1-3'ü, elektron transport zincirinden sızan elektronlarla bir araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini artırır. Böylece NAD^+ bağlı substratlar, süksinat, adenzin di fosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretimine etki eder.²²²

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.²²³

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 O_2^- üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar. Ancak CAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir.^{187, 223}

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.^{224, 225}

H₂O₂ membranları neredeyse su kadar kolay geçebilen güçlü oksidandır. Bu nedenle proteinlerin ve lipitlerin hidrofobik kısımlarını daha iyi parçalayabileceği ve toksik etkisinin daha fazla olacağı tahmin edilmektedir. Serbest radikallerin nonfagositik hücre membranlarında NADPH-oksidad aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli bir kaynağı olarak görülmektedir.²²⁶

Lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi plazma membranıyla bağlantılı enzimler ile mikrozoimler tarafından serbest radikal üretimi, bu enzimlerin predominant substratı olan araşidonik asit metabolizması ile ilişkili pek çok yeni buluş ve biyolojik açıdan önemli ürünlerin meydana gelmesinden dolayı ilginçtir. Bu ürünler prostaglandinleri, tromboksanları, lökotrienleri ve anafleksinin slow-reakting substratını içerir. Son zamanlarda araşidonat metabolizmasında yer alan bu enzimatik işlemlerin otokatalitik lipit peroksidasyonu (LPO)'nun öncülük etmesi bu konuya olan ilgiyi artırmıştır.

2.8.3. 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.^{227, 228}

2.8.3.1. 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[•] radikalının membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.^{187, 229, 230}

Lipit peroksidasyonu başlatan ilk hareket membran ya da polidoymamış yağ asitlerinin içerdiği metilen grubundan (-CH₂-) bir hidrojen (H) atomunun çıkartılması ile başlar. Böylece tek elektron içeren H[•] 'nin uzaklaştırması sonucu karbon merkezli -CH[•]- lipit radikali meydana gelir. Oluşan lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir. Bir dizi değişikliğe uğrayarak molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipit radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali meydana gelir. Lipit peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer polidoymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H[•] parçacığı ile birleşerek lipit hidroperoksitlerine dönüşür ve böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam ederek zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur.^{202, 214}

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. Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak membranlarda,

reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler.^{231, 232}

2.8.3.2. 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.^{187, 233}

Doymamış halde bulunan ve sülfür içeren triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asit içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Bu etkilenmenin sonucunda da sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur. Bu istenmeyen reaksiyonlar sonucu immünoglobulin G ve albümin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.²³⁴⁻²³⁶

2.8.3.3. DNA üzerine etkileri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır.²³⁷ 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.²³⁸⁻²⁴² Örneğin pürin kaybı ile apürinik alanların oluşması insan genomunda gün içinde 10^4 kez meydana gelebilmektedir. Deaminasyon ile sitozinden urasil veya 5-metil sitozinden timin oluşabilir. İnsan vücudundaki her hücre DNA'sının günde 10^3 kez oksidatif hasara maruz kaldığını öne süren araştırmalar da vardır.²⁴³

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. Redoks aktif transisyon metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü H_2O_2 'in hedefi haline getirmektedir.²⁴⁴ DNA'ya bağlı metal iyonları ile H_2O_2 'in DNA üzerinde reaksiyonlaşmasından oluşan $OH\cdot$ radikalleri, $OH\cdot$ radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmamaktadır. Ayrıca, $OH\cdot$ radikal temizleyicilerinin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir.²⁴⁵

$OH\cdot$ 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.²⁴⁵ 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.^{246, 247} Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine

ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir.^{247,}
²⁴⁸ ROS'ye bağlı olarak DNA'nın oksidatif hasarı sonucu yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları, dejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıklar görülebilir.^{192, 249}

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.^{250, 251}

2.8.3.4. Karbohidratlara Etkileri

Serbest radikaller, monosakkaritlerin oto oksidasyona uğramasına neden olarak hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehyitler oluşumuna yol açarlar. Bunlar özellikle diabetin patogeneğinde rol alırlar. Gözün vitröz hümöründe bol miktarda bulunan hiyalüronik asitin oksidatif hasarı sonucu katarakt oluşması da radikallerin karbonhidratlar üzerindeki etkisine bir örnektir. Okzalaldehyitler; DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etkiye sahiptirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında da önemli rol oynarlar.^{235, 236}

2.8.4. 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.^{223, 252}

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:²⁵³

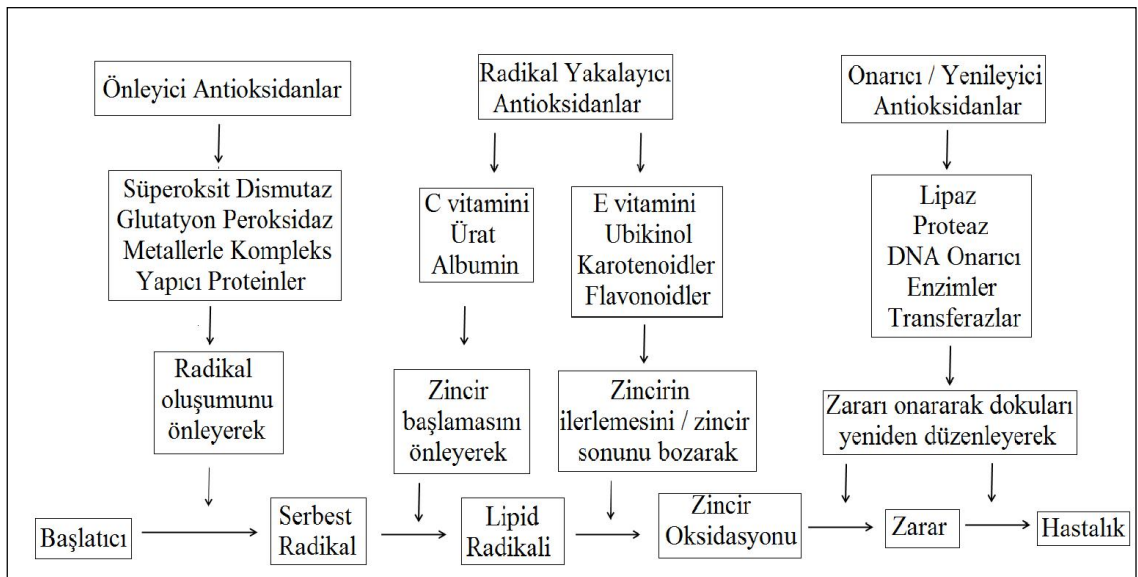
1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

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.

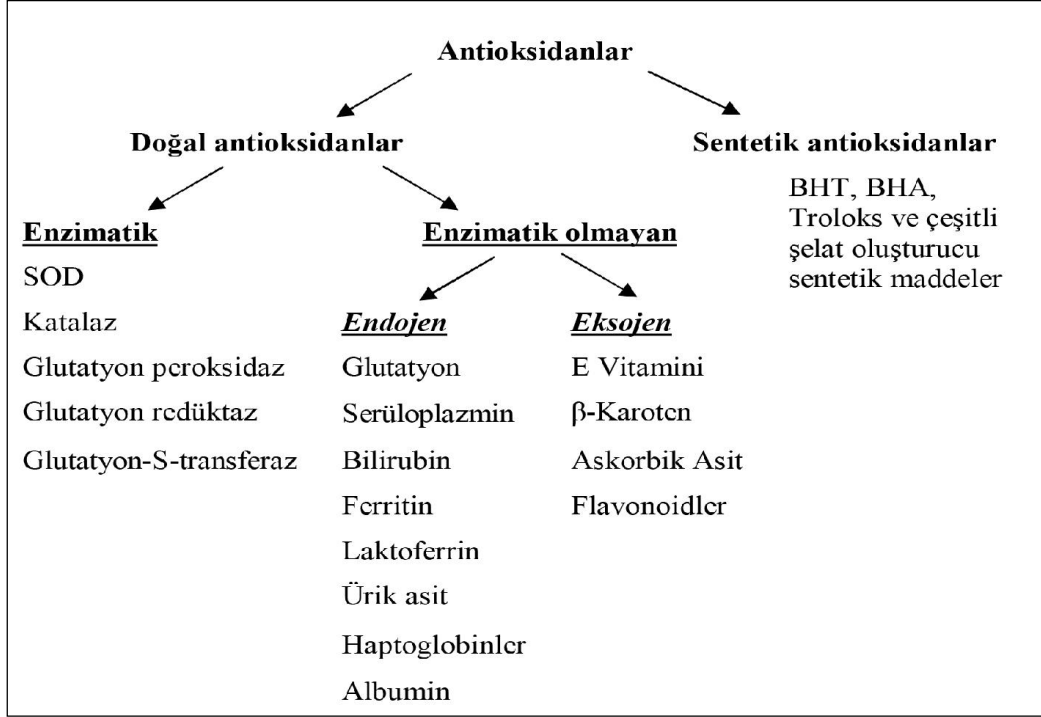
4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı etkidir**.

Serbest radikallere karşı işlev yapan antioksidan grupları ve özellikleri Şekil 2.8.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.8. Antioksidanların serbest radikallere karşı etkileri²⁵⁴

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 sınıflandırılabilirler.²²³

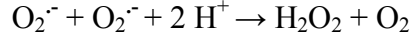


Şekil 2.9. Antioksidanların sınıflandırılması¹⁷¹

2.8.4.1. 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.^{255, 256}



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.²⁵⁷

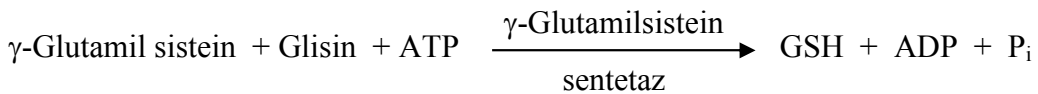
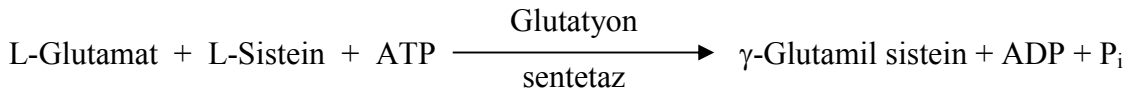
Katalaz Enzimi (CAT): Katalaz, tüm canlı hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, dört tane alt grup içeren ve her bir alt grubu 60,000 dalton ağırlığında olan enzimdir. Bu enzimin en önemli görevi hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizlemektir.²⁵⁸



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.¹⁸⁷

Sekonder antioksidanlar

Glutasyon (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 H_2O_2 ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler ve H_2O_2 'yi alyuvarlardan uzaklaştırır. H_2O_2 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.^{209, 259}

GSH, H_2O_2 '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 H_2O_2 birikir. GSSG, glutatyon redüktaz tarafından sürekli GSH'ye indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.²⁶⁰

2.9. Oksidatif Stres Hipotezi

Oksidatif stresin genel bir tanımı, prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan yönüne kayması sonucu potansiyel hücrel hasarlara yol açması durumudur.¹⁹⁰ 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.²⁶¹ 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.²⁶²

2.10. Biyokimyasal Parametreler

2.10.1. Aminotransferazlar (Transaminazlar)

Klinik biyokimyada 1950 yıllarında kullanılmaya başlanmış ve enzim testleri bundan sonra büyük bir hızla gelişmiştir.²⁶³

ALT enziminin etkisi ile alaninin alfa amino grubu alfa-ketoglutarata aktararak glutamik asit ve pirüvik asit oluşmakta; AST ise aspartik asitin alfa amino grubunu alfa ketoglutarata aktararak glutamik asit ve oksalasetik asit meydana gelmektedir. Bu iki reaksiyon çift yönlü olup her iki enzim de kofaktör olarak piridoksal-5-fosfata (B₆ vitamini) gereksinim göstermektedirler.²⁶³ Bu vitaminin alımındaki yetersizlik enzim aktivitesinde azalmaya sebep olur.²⁶⁴ Hepatositlerde, AST'nin % 80'i mitokondri ve % 20'si sitozolde bulunurken, ALT sadece sitozolde bulunmaktadır. AST, miktarlarındaki azalma sırasına göre karaciğer, miyokard, iskelet kası, böbrek, beyin, pankreas, akciğer, lökosit ve eritrositlerde mevcuttur. ALT ise en yüksek miktarlarda karaciğerde bulunmaktadır; bu nedenle karaciğer hasarının daha spesifik bir göstergesidir.^{265, 266} Orta dereceli bir doku hasarında sitozoldeki enzimler, ağır doku hasarında ise hem sitozol hem de mitokondrideki enzimler seruma geçer. Bunun için AST ve ALT testlerini birlikte kullanmak daima daha değerlidir. AST ve ALT tayin edilerek De Ritis oranı AST/ALT hesaplanır. Ayrıca tanı için bu oran önemlidir. ALT'nin yarı ömrü AST den daha uzun olduğu için serum düzeyinin yüksekliği uzun süre devam eder.²⁶³

Pek spesifik olmayan karaciğer hastalıklarında transaminaz değerlerinde 300 U/L'ye kadar yükselmesi görülebilir. Eğer transaminazlar 1000 U/L'yi aşarsa ciddi karaciğer hasarı anlamına gelmektedir. Genellikle akut viral hepatitler, iskemik karaciğer hastalıkları, toksik ve ilaca bağlı karaciğer hastalıklarında böylesine yüksek transaminaz değerlerine rastlanabilir. AST ve ALT yükselme şekilleri farklı karaciğer hastalıklarında değişik özellikler gösterebilir. Örneğin çoğu karaciğer hastalıklarında ALT, AST'den daha yüksektir. Bir kronik karaciğer hastalığında AST/ALT oranı 1'i geçiyorsa olayın siroza ilerlediği düşünülebilir. Alkolik hepatitlerde AST/ALT oranı 2, hatta 3'ü geçer. AST nadiren 300 U/L'den yüksektir. ALT normale yakın bulunur. Tıkanma sarılıklarında genellikle transaminazlar çok yüksek değerlere çıkmaz.²⁶³

2.10.1.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT)

AST; eski adıyla serum glutamik oksaloasetik transaminaz (SGOT) organa spesifik olmayan bir enzimdir. Daha çok hepatositlerde olmak üzere, kalp kasında, iskelet kaslarında, böbrek dokusunda ve plasentada bulunur.²⁶⁷ Bu dokularda nekroz geliştiğinde serum AST konsantrasyonunda artış görülür. Hepatositlerin içinde bulunan AST'nin % 60-80'i mitokondri içinde bulunurken diğer bölümü çözünür formda sitoplazma içinde bulunur. AST'nin mitokondriyel formunun salınımı için membran permeabilitesinde değişime neden olan harabiyetten daha şiddetli bir bozukluğun olması gereklidir. Bunun sonucu olarak AST aktivitesindeki artış, ALT'nin artışından daha geç gerçekleşir. AST'nin konsantrasyonundaki artış en yaygın olarak hepatoselüler hastalıklarda görülür.²⁶⁸ AST'nin sitozolik (AST1) ve mitokondriyal (AST2) iki izoenziminin çok sayıda formları vardır.²⁶⁹ AST pek çok yumuşak dokuda bulunduğu için (iskelet kasları, kalp kası ve karaciğerde yüksek konsantrasyonda; eritrositler ve böbreklerde daha az) serum aktivitesinde yükselme yumuşak doku

hasarının bir göstergesidir.²⁷⁰ Tüm hayvanlarda yumuşak doku nekrozunun spesifik olmayan indikatörüdür.

2.10.1.2. Alanin Aminotransferaz (ALT, SGPT)

ALT; eski adıyla serum glutamik pirüvik transaminaz (SGPT) sitoplazmik bir enzimdir. Hepatoselüler membran permeabilitesinin artışında hücre dışına salınımı artar. Yüksek serum alanin aminotransferaz seviyesi hepatoselüler hasarın şiddetli olduğunu gösterir. ALT transferazlar grubunda yer alır ve albumin metabolizmasında aspartat aminotransferaz ile birlikte görev alır. ALT, hücre sitoplazmasında L-alanin ve ketoglutarat'ın piruvat ve glutamata geri dönüşümlü transaminasyonunu katalize eder. Serum ve spinal sıvıda ALT aktivitesi olmasına rağmen, çok düşük renal spesifik aktivitesi nedeniyle idrarda AST aktivitesi yoktur. AST ve ALT'nin serumdaki yükselmiş aktiviteleri genellikle klinik pratikte ve sağlık taramalarında karaciğer hastalıklarının belirteci olarak kullanılır.²⁶⁵ Bu bozukluklar yüksek alkol alımı ve hepatit virüsü enfeksiyonu olmadan rastlanan alkolik olmayan karaciğer yağlanması tanımında önemlidir. Diyabetli hastalarda serum aminotransferazlarının yükselmesi sıklıkla gözlenmekte ve bu çoğunlukla karaciğere yağ infiltrasyonundan kaynaklanmaktadır. Şişmanlıkta da serum aminotransferazlarının özellikle de ALT aktivitesinin yükseldiği bilinmektedir.²⁷¹ Diyabette serum glikoz konsantrasyonu; AST aktivitesi ile birlikte serum ALT düzeylerinde de önemli oranda yükselmektedir.²⁷²

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı'nda 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 aşamalarının etik kurallara uygun olduğu, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 22.02.2012 tarih ve 140 sayılı yazısı ve Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulunun 24.02.2012 tarih ve 2012.2.17 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar

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

***Nigella sativa* L. Etanol Ekstraktı:** Bitki aktardan temin edilip Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalında Yrd. Doç. Dr. Yalçın Karagöz tarafından teşhis edildikten sonra 200 gr tartılarak 50 °C'de 500 ml'de % 70 etanolde üç kere 24 saat boyunca geri soğutucu altında ekstrakte edildi. Ardından etanol kısmı ve

bir miktar su evapratör ile uzaklaştırıldıktan sonra koyu kahverengi renginde yaklaşık % 25 verim ile 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 yapılabilmesi için 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. Ekstreler oral yoldan gastrik sonda ile her rata 1 ml olacak şekilde uygulandı.

N-asetil Sistein (NAC): 600 mg tablet NAC (Mentopin, Hermesarzneimittel GmbH, Münih-Almanya) uygun dozda gastrik sonda yardımıyla oral yoldan uygulandı.

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 (-86 °C)	Nuaire NU-9483E, USA
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. 1000 mg/kg etanol ekstresi grubu. 1000 mg/kg dozunda *Nigella sativa* L. 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 2 g/kg Kontrol grubu. 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj yardımıyla oral yoldan verildi.

Grup V: NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/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: *Nigella sativa* L. 250 mg/kg etanol ekstresi + Parasetamol 2 g/kg (oral)

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

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

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlenmiştir.^{273, 274} Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki ratlara deney sonuna kadar, yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) verildi. 2 g/kg dozunda oral gavaj ile 2 ml uygulanan parasetamol ile 24 saat bekleddikten sonra karaciğer 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	NAC + Parasetamol	140 mg/kg + 2 g/kg
VI	6	<i>Nigella sativa</i> L. etanol ekstresi + Parasetamol	250 mg/kg + 2 g/kg
VII	6	<i>Nigella sativa</i> L. etanol ekstresi + Parasetamol	500 mg/kg + 2 g/kg
VIII	6	<i>Nigella sativa</i> L. etanol ekstresi + Parasetamol	1000 mg/kg + 2 g/kg

Tüm gruplara parasetamol uygulamasından 24 saat sonra yüksek doz tiyopental (50 mg/kg) ile ötanazi uygulanarak deney sonlandırıldı. Tüm gruptaki hayvanların karaciğerleri ve kan örnekleri alındı. Alınan karaciğerlerin biyokimyasal analizlerinin yapılması için -80 °C dondurucuda muhafaza edildi. Toplanan kanlar 4000 g'de santrifüj edilerek serumları elde edildi ve serumlar -80 °C dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar

3.2.2.1. Karaciğer Dokusunda Yapılan Analizler

Makroskopik analizlerden sonra, rat dokuları -80 °C'de saklandı. Her ratın karaciğeri teker teker sıvı azot eşliğinde havanda homojenize edildi. Daha sonra her bir karaciğer dokusu ölçümü için yaklaşık 100 mg doku spesifik homojenat tamponunda ultra-turraks doku homojenizatörü ile homojenize edildi. Daha sonra yöntemdeki direktiflere göre santrifüj edildi. Karaciğerdeki biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan SOD enzim aktivitesi yüksek hassasiyetteki 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 karaciğeri ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü.²⁷⁵ Ayrıca her bir parametre için homojenize edilmiş tüm karaciğer süpernatantlarında protein seviyesi ölçüldü ve ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi.

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

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 460 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 dokularımızı homejenize edildi
3. 70 mM sükroz, 210 mM mannitol ve 1 mM Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren pH'ı 7.2 olan doku başına 1 ml soğuk HEPES buffer ile ultra-turrax homojenizatörde buz üstünde 1 dakika 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. Eğrinin denklemi $y = - 0,000617x + 0,561$ ve R^2 değeri ise 0,986 olarak bulundu.

Total Glutasyon (GSH) tayini

GSH miktarının ölçülmesi ve prensibi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi.²⁷⁵ Ölçüm ortamındaki DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

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 yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi. Eğrinin denklemi $y = 1,67x + 0,581$ ve R^2 değeri ise 0,983 olarak bulundu.

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) miktarının tayini

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

Deneyin Prensibi: 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 TBARS, pembe renkli kromojen meydana getirir. 15 dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 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 platelerde 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. Tüplerin ağzını kapatıp 95 °C'de 45 ila 60 dk inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrasında tüpler 5 dk buz üzerinde bekletildi.
6. Daha sonra tüm tüpler 3000 rpm de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatantı alındı.
7. 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. Eğrinin denklemi $y = 0,00285x + 0,278$ ve R^2 değeri ise 0,964 olarak bulundu.

3.2.2.2. Serumda Yapılan Analizler

TNF- α ölçümü için serumun elde edilmesi: Biyokimya tüpüne konulan kanlar 4000 rpmde 10 dk +4 °C'de santifüj edildi. Analiz yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Her bir örneğin rat TNF- α seviyeleri ikişer kere tekrarlamalı olarak yüksek hassasiyetteki ELISA kitiyle (Invitrogen-KRC3011-USA) ölçüldü.

AST, ALT ölçümü için serumun elde edilmesi: Biyokimya tüpüne konulan kanlar 4000 rpm de 10 dk +4 °C'de santifüj edildi. Analiz yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Her örneğin rat AST ve ALT seviyeleri ikişer kere tekrarlamalı olarak yüksek hassasiyetteki ELISA kitiyle (USCN life science-E90207Ra, E91214Ra (China) ölçüldü.

TNF- α Miktarı

Kullanılan reaktifler: Rt TNF- α Standart (% 0.1 sodyum asid içerir), Standart diluent buffer (% 0.1 sodyum asid içerir), İnkübasyon buffer, Rt TNF- α High ve low kontrol, Rt TNF- α Biotin conjugate (Biotinleşmiş anti- TNF- α), Streptavidin-HRP (3.3 mM Tymol), Streptavidin-HRP Diluent, Wash buffer, Stabilize chromogenTetrametil benzidin(TMB), Stop solution.

Deney prensibi: Bu çalışmada Invitrogen Rt TNF- α kiti kullanıldı. Kit içinde mevcut olan platelerin kuyuları Rt TNF- α 'ya spesifik monoklonal antikolar ile kaplıdır. Standartlar ve numunelerin kuyulara eklenmesi ile TNF- α 'lar spesifik antkorlara

yapışırlar. Bu komplekse özgü biotinlenmiş antikorlar eklenerek immobilize TNF- α 'ya yapışması sağlanır. Daha sonra Streptavidin–Peroxidase (ikincil antikor) eklenerek komplekse yapışması sağlanır. Substrat solüsyonu eklenir ve komplekse bağlı enzim ile etkileşerek renk oluşturur. Reaksiyonu durdurmak için stop solüsyonu eklenir.

Deneyin yapılışı:

1. Blank kuyusuna 100 μ l Standart Diluent buffer eklendi.
2. Standartlar, numuneler ve kontrollerden kuyulara 100 μ l eklendi. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
3. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.
4. Kör kuyusu hariç diğer kuyulara 100 μ l biotinlenmiş Rt TNF- α biotin konjugat eklendi.
5. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
6. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı. Kör kuyusu hariç diğer kuyulara 100 μ l Streptavidin HRP working solution eklendi.
7. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra yarım saat oda sıcaklığında incübasyona bırakıldı.
8. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.
9. Her kuyuya 100 μ l Stabilize Chromogen eklendi ve sıvılarda ki renklenme mavi olmaya başladı.
10. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra yarım saat oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
11. Her kuyuya stop solution eklendi. Sıvılardaki renklenme sarı renge dönüştü.
12. 450 nm'de ölçüm yapıldı.

Hesaplama: Ölçümler Epoch Elisa reader cihazında yapıldı. Cihazın Gen 5 programı kullanılarak hesaplama yapıldı. Standartlara uygun lineer eğri hazırlandı. Y axis: TNF- α

kons., X axis: abs. ve numunelerimizin konsantrasyonları belirlendi. Konsantrasyonlar pg/ml olarak hesaplandı.

AST Ölçümü

Kullanılan reaktifler: Standart(dondurulmuş), Detection reagent A(green), Detection reagent B(red), TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay Diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

Deney prensibi: USCNK Life Science Aspartat Aminotransferaz (AST) kiti kullanıldı. Rat AST 'sine özgün antikorlar ile kaplı olan plate'lere standart ve numunelerin eklenmesi ile antijen antikor birleşmesi olmaktadır. Bu AST'ye spesifik olan biotin konjugatlı polyclonal antikorları AST ile birleşir. Daha sonra bu antikor HRP içeren avidin konjugatına bağlanır. TMB substrat solüsyonu biotinlenmiş antikor ve HRP avidin renk oluşumuna sebep olur. Sülfirik asit ile reaksiyon inhibe edilerek okunur.

Deneyin yapılışı:

1. Kuyulara Standart, kör ve numunelerden 100 µl eklendi. Plate'in üstü kapatıldıktan sonra 2 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
2. Yıkama işlemi 3 kere yapıldıktan sonra, her kuyuya 100 µl Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
3. Yine yıkama işlemi 3 kere yapıldıktan sonra her kuyuya 100 µl Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dk. 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
4. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
5. Her kuyuya 90 µl Substrat eklendi. 15-20 dk. 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
6. Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlemlendi.
7. 450 nm'de ölçüm alındı.

Hesaplama: Ölçümler Epoch Elisa reader cihazında yapıldı. Cihazın Gen 5 programı kullanılarak hesaplamalar yapıldı. Standart Log-Log eğri hazırlandı. Y axis: AST kons.,

X axis: abs. Standartlara en uygun şekilde bir doğru çizildi ve Numunelerimizin konsantrasyonları belirlendi. Konsantrasyonlar ng/ml olarak hesaplandı.

ALT Ölçümü

Kullanılan reaktifler: Standart(dondurulmuş), Detection reagent A(green), Detection reagent B(red), TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay Diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

Deney prensibi: USCNK Life Science Alanin Aminotransferaz (ALT) kiti kullanıldı. Rat ALT'sine özgün antikolar ile kaplı olan plate'lere standart ve numunelerin eklenmesi ile antijen antikor birleşmesi olmaktadır. Bu ALT'ye spesifik olan biotin konjugatlı polyclonal antikoları ALT ile birleşir. Daha sonra bu antikor HRP içeren avidin konjugatına bağlanır. TMB substrat solüsyonu biotinlenmiş antikor ve HRP avidini etkileyerek renk oluşumuna sebep olur. Enzim substrat reaksiyonuna sülfirik asid ile son verilir.

Deneyin yapılışı:

1. Standart, blank ve numunelerimizden her kuyuya 100 µl eklendi. 2 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
2. Tüm sıvılar alındı, yıkama işlemi uygulanmadı.
3. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
4. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
5. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dk. 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
6. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Her kuyuya 90 µl Substrat solüsyonu eklendi. 15-20 dk. 37 °C'de karanlıkta inkübasyona bırakıldı.

8. Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi ve sarı renk gözlenmeye başlandı.

9. 450 nm’de ölçüm alındı.

Hesaplama: Ölçümler Epoch Elisa reader cihazında yapıldı. Cihazın Gen 5 programı kullanılarak hesaplama yapıldı. Standartlara uygun Log-Log eğrisi hazırlandı. Y axis: ALT kons., X axis: abs. Numunelerimizin konsantrasyonları belirlendi. Numune konsantrasyonlar ng/ml olarak hesaplandı.

3.2.3. İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi ve $p < 0.05$ 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 farklı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler anlamsız olduğunu göstermektedir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. ALT, AST ve TNF- α Analizleri

Tablo 4.1. Rat serumunda ölçülen ALT, AST ve TNF- α sonuçları.

GRUPLAR	ALT (U/L)	AST(U/L)	TNF- α (pg/ml)
Sağlıklı	37.19 \pm 8.22 ^a	72.19 \pm 11.95 ^a	34.13 \pm 8.84 ^a
Sağlıklı + NS 1000 mg/kg	40.63 \pm 10.28 ^{ab}	75.94 \pm 7.82 ^{ab}	33.38 \pm 5.80 ^a
Sağlıklı + NAC 140 mg/kg	45.25 \pm 5.87 ^{ab}	77.94 \pm 18.80 ^{ab}	37.38 \pm 6.25 ^a
Parasetamol 2 g/kg	184.50 \pm 50.40 ^c	225.13 \pm 52.22 ^d	191.88 \pm 39.65 ^d
NAC 140 mg/kg + Prst 2 g/kg	91.75 \pm 11.03 ^d	116.63 \pm 18.09 ^c	96.63 \pm 14.61 ^c
NS 250 mg/kg + Prst 2 g/kg	69.30 \pm 10.50 ^c	121.63 \pm 11.67 ^c	80.15 \pm 11.63 ^{bc}
NS 500 mg/kg + Prst 2 g/kg	67.11 \pm 13.18 ^c	99.94 \pm 6.01 ^{bc}	82.63 \pm 12.07 ^{bc}
NS 1000 mg/kg + Prst 2 g/kg	60.90 \pm 9.33 ^{bc}	92.50 \pm 14.10 ^{ab}	64.25 \pm 17.52 ^b

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 \pm Standart Sapma)

4.1.2. SOD, GSH ve MDA Analizleri

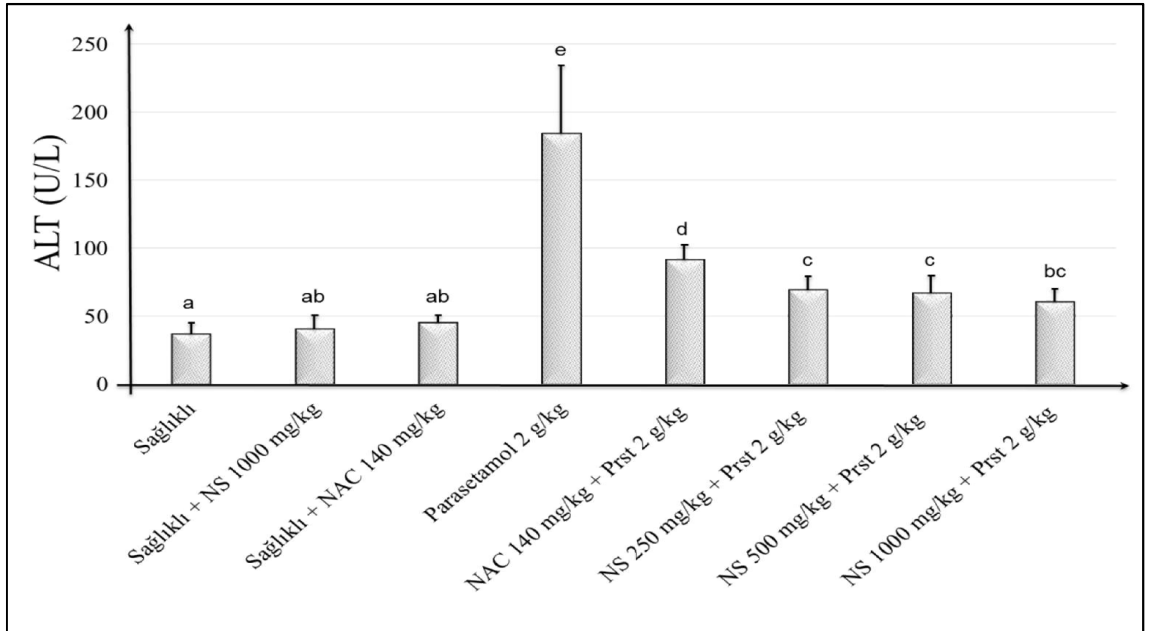
Tablo 4.2. Rat karaciğer dokusunda ölçülen SOD, GSH ve MDA sonuçları.

GRUPLAR	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
Sağlıklı	30.80 \pm 6.58 ^d	5.39 \pm 1.63 ^{bc}	1.46 \pm 0.29 ^a
Sağlıklı + NS 1000 mg/kg	32.80 \pm 4.83 ^d	5.57 \pm 2.07 ^{bc}	1.41 \pm 0.49 ^a
Sağlıklı + NAC 140 mg/kg	28.81 \pm 5.23 ^{cd}	5.85 \pm 1.12 ^c	1.51 \pm 0.59 ^a
Parasetamol 2 g/kg	17.08 \pm 4.96 ^a	2.05 \pm 0.59 ^a	3.93 \pm 1.66 ^b
NAC 140 mg/kg + Prst 2 g/kg	21.40 \pm 5.54 ^{ab}	5.05 \pm 0.98 ^{bc}	2.17 \pm 0.97 ^a
NS 250 mg/kg + Prst 2 g/kg	22.12 \pm 4.78 ^{ab}	4.04 \pm 1.44 ^b	2.07 \pm 0.78 ^a
NS 500 mg/kg + Prst 2 g/kg	24.80 \pm 4.52 ^{bc}	5.25 \pm 0.87 ^{bc}	1.96 \pm 0.62 ^a
NS 1000 mg/kg + Prst 2 g/kg	28.56 \pm 6.71 ^{cd}	5.48 \pm 1.77 ^{bc}	1.79 \pm 0.38 ^a

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 \pm Standart Sapma)

Sağlıklı, Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, Sağlıklı + NAC 140 mg/kg, Parasetamol 2 g/kg, NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 250 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 500 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki ALT seviyeleri sırası ile; 37.19 U/L protein, 40.63 U/L protein, 45.25 U/L protein, 184.50 U/L protein, 91.75 U/L protein, 69.30 U/L protein, 67.11 U/L protein, 60.90 U/L protein olarak ölçüldü (Tablo 4.1.).

Sağlıklı grubuna göre Parasetamol 2 g/kg verilen grubun ALT seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı rat gruplarımıza NAC ve NS uygulamaları sonucu ALT seviyelerinde ise sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Parasetamol 2 g/kg grubunda artmış olan ALT seviyeleri parasetamol uygulanan 250, 500 ve 1000 mg/kg NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu belirlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak en etkili doz ise NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görüldü.

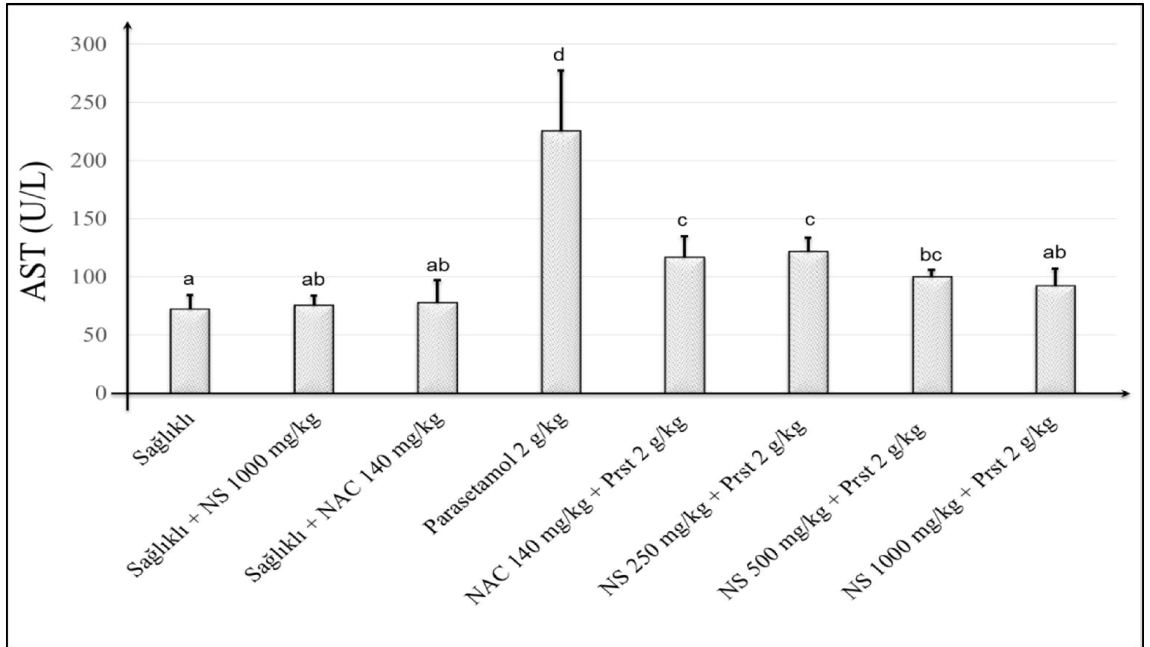


Şekil 4.1. Rat serumunda ölçülen ALT miktarının grafikte gösterilmesi

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, Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, Sağlıklı + NAC 140 mg/kg, Parasetamol 2 g/kg, NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 250 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 500 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki AST seviyeleri sırası ile; 72.19 U/L protein, 75.94 U/L protein, 77.94 U/L protein, 225.13 U/L protein, 116.63 U/L protein, 121.63 U/L protein, 99.94 U/L protein, 92.50 U/L protein olarak ölçüldü (Tablo 4.1.).

Çalışmamızda Sağlıklı grubuna göre Parasetamol 2 g/kg verilen grubun AST seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı rat gruplarımıza NAC ve NS uygulamaları sonucu AST seviyelerinde ise sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Parasetamol 2 g/kg grubunda artmış olan AST seviyeleri parasetamol uygulanan 250, 500 ve 1000 mg/kg NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu belirlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak en etkili doz ise NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görüldü.

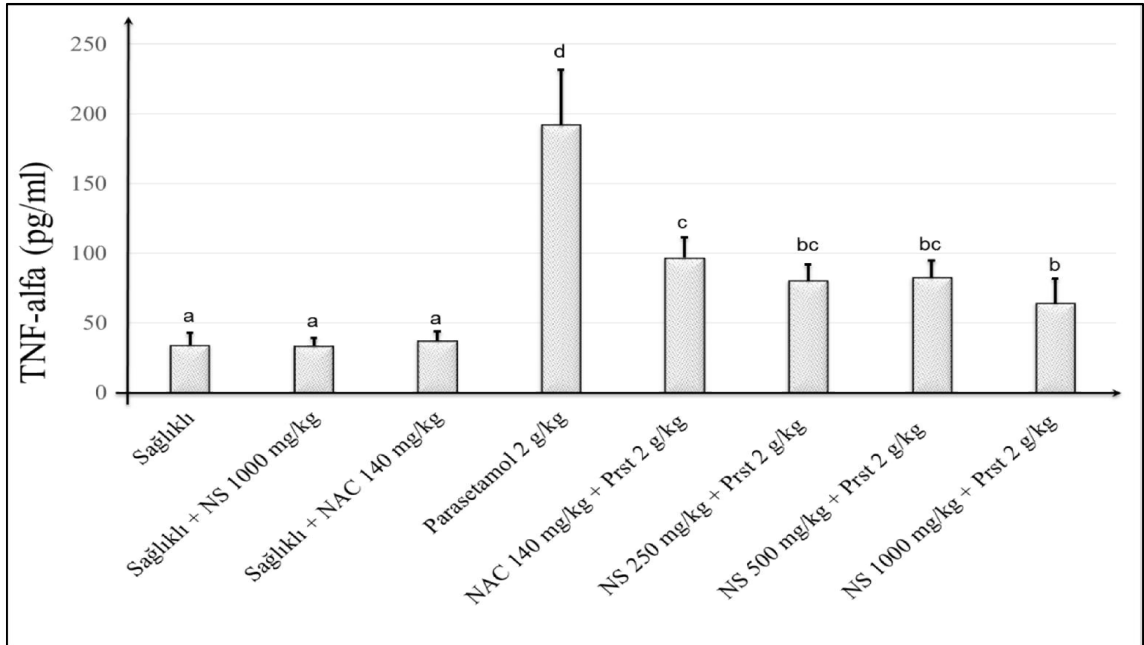


Şekil 4.2. Rat serumunda ölçülen AST miktarının grafikte gösterilmesi

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, Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, Sağlıklı + NAC 140 mg/kg, Parasetamol 2 g/kg, NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 250 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 500 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki TNF- α seviyeleri sırası ile; 34.13 pg/ml protein, 33.38 pg/ml protein, 37.38 pg/ml protein, 191.88 pg/ml protein, 96.63 pg/ml protein, 80.15 pg/ml protein, 82.63 pg/ml protein, 64.25 pg/ml protein olarak ölçüldü (Tablo 4.1.).

Sağlıklı grubuna göre Parasetamol 2 g/kg verilen grubun TNF- α seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı rat gruplarımıza NAC ve NS uygulamaları sonucu TNF- α seviyelerinde ise sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Parasetamol 2 g/kg grubunda artmış olan TNF- α seviyeleri parasetamol uygulanan 250, 500 ve 1000 mg/kg NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu belirlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak en etkili doz ise NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görüldü.

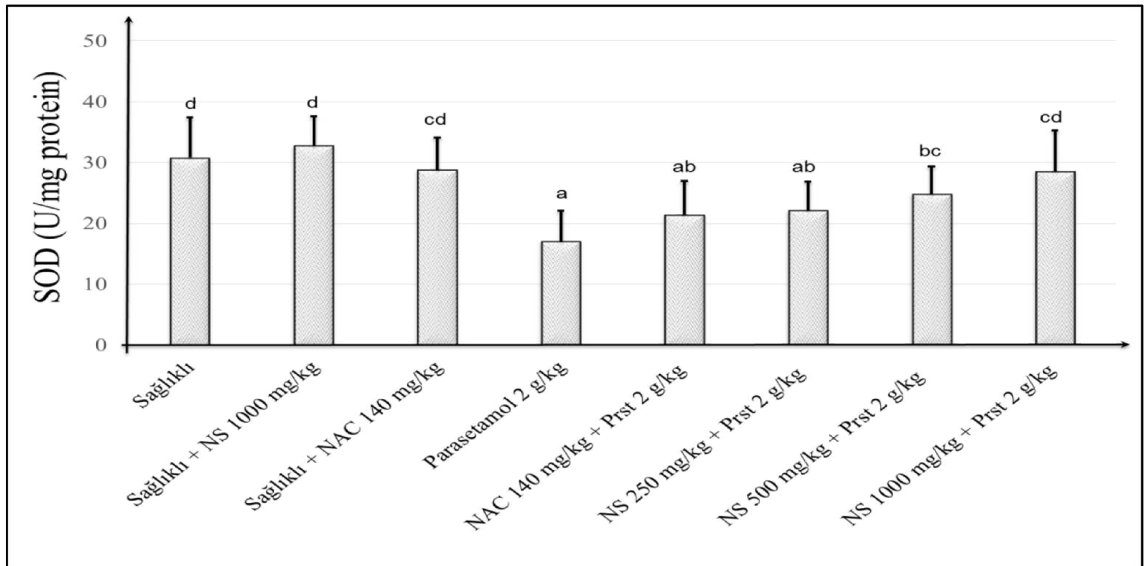


Şekil 4.3. Rat serumunda ölçülen TNF- α miktarının grafikte gösterilmesi

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, Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, Sağlıklı + NAC 140 mg/kg, Parasetamol 2 g/kg, NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 250 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 500 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki SOD aktiviteleri sırası ile; 30.80 U/mg protein, 32.80 U/mg protein, 28.81 U/mg protein, 17.08 U/mg protein, 21.40 U/mg protein, 22.12 U/mg protein, 24.80 U/mg protein, 28.56 U/mg protein olarak ölçüldü (Tablo 4.2.).

Bulgularımız sonucunda Sağlıklı grubuna göre Parasetamol 2 g/kg verilen grubun SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı rat gruplarımıza NAC ve NS uygulamaları sonucu SOD aktivitesinde ise sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Parasetamol 2 g/kg grubunda azalmış olan SOD aktivitesi parasetamol uygulanan 250, 500 ve 1000 mg/kg NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği belirlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak etkili doz ise NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görüldü.

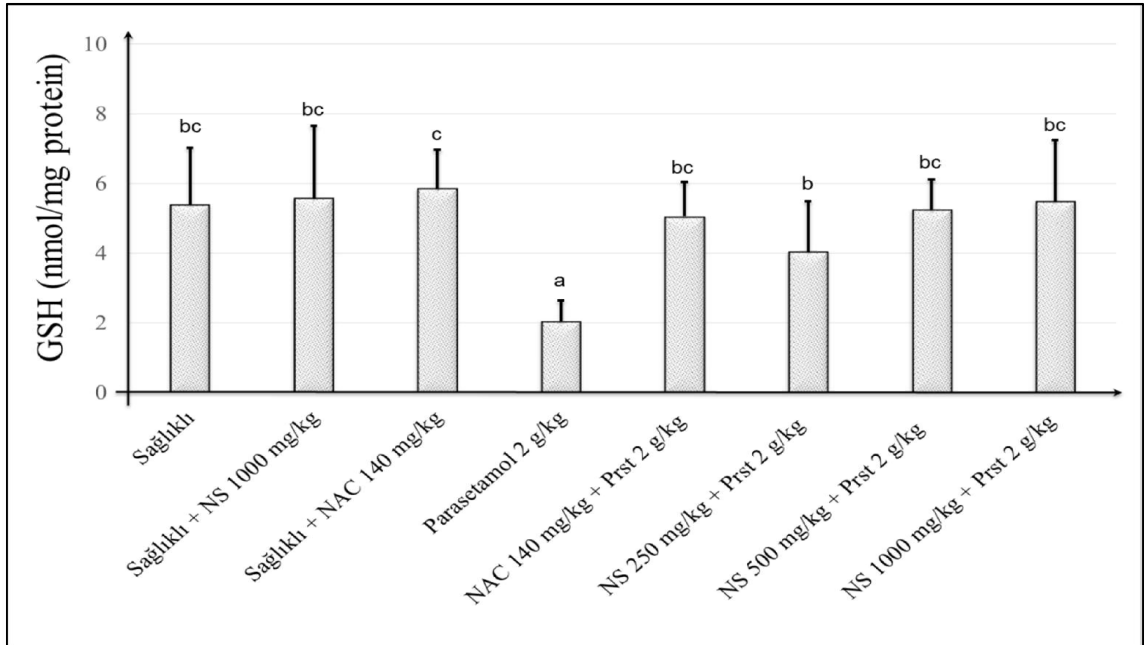


Şekil 4.4. Rat serumunda ölçülen SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi

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, Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, Sağlıklı + NAC 140 mg/kg, Parasetamol 2 g/kg, NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 250 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 500 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki GSH seviyeleri sırası ile; 5.39 nmol/mg protein, 5.57 nmol/mg protein, 5.85 nmol/mg protein, 2.05 nmol/mg protein, 5.05 nmol/mg protein, 4.04 nmol/mg protein, 5.25 nmol/mg protein, 5.48 nmol/mg protein olarak ölçüldü (Tablo 4.2.).

Çalışmamızda Sağlıklı grubuna göre Parasetamol 2 g/kg verilen grubun GSH seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı rat gruplarımıza NAC ve NS uygulamaları sonucu GSH seviyesinde ise sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Parasetamol 2 g/kg grubunda azalmış olan GSH seviyesinin parasetamol uygulanan 250, 500 ve 1000 mg/kg NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği belirlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak en etkili doz ise NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görüldü.

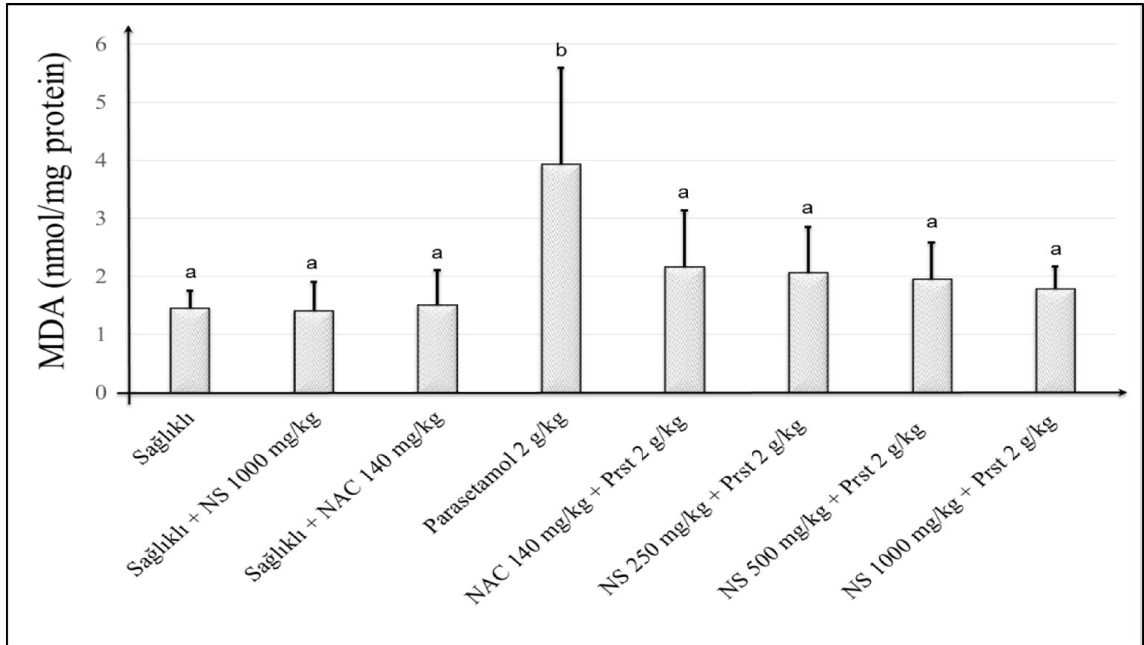


Şekil 4.5. Rat serumunda ölçülen GSH (Glutatyon) seviyesinin grafikte gösterilmesi

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, Sağlıklı + NS 1000 mg/kg, Sağlıklı + NAC 140 mg/kg, Parasetamol 2 g/kg, NAC 140 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 250 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 500 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg, NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki MDA seviyeleri sırası ile; 1.46 nmol/mg protein, 1.41 nmol/mg protein, 1.51 nmol/mg protein, 3.93 nmol/mg protein, 2.17 nmol/mg protein, 2.07 nmol/mg protein, 1.96 nmol/mg protein, 1.79 nmol/mg protein olarak ölçüldü.

Sağlıklı grubuna göre Parasetamol 2 g/kg verilen grubun MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ($p < 0.05$). Sağlıklı rat gruplarımıza NAC ve NS uygulamaları sonucu MDA seviyesinde ise sağlıklı grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Parasetamol 2 g/kg grubunda azalmış olan MDA seviyesinin parasetamol uygulanan 250, 500 ve 1000 mg/kg NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü belirlendi ($p < 0.05$). İstatistiksel olarak en etkili doz ise NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görüldü.



Şekil 4.6. Rat serumunda ölçülen MDA seviyesinin grafikte gösterilmesi

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 ($p < 0.05$).

5. TARTIŞMA

Karaciğer aminoasitlerin, karbonhidratların, lipitlerin işlenip depolanması ve birçok plazma proteininin ve safra asidinin sentezlenmesi gibi yaşam için gerekli olan hayati bir organdır. Karaciğer yokluğunda veya işlev yitiminde, diyalizle çok kısa bir süre fonksiyonları devam ettirilebilir fakat karaciğerin fonksiyonunu, uzun süreli yokluğunda telafi edebilmenin hiçbir yolu yoktur.²⁷⁶ Aynı zamanda karaciğer ilaçlar ve toksinler gibi tüm ekzojen bileşiklerin dönüştürülmesinde yani ksenebiyotik metabolizmasında, lipofilik maddelerin hidrofilik yapıya dönüştürülmesi olarak bilinen biyotransformasyon işlemlerinin gerçekleştiği yerdir. Ksenobiyotik metabolizması (Yunanca xenos "yabancı" ve biyotik "canlılarla ilgili"), ilaç ve zehir gibi bir organizmanın normal biyokimyasına yabancı olan ve böylece ksenebiyotik kimyasal yapılar oluşturan bir dizi bileşiklerin kullandığı metabolik yolları tanımlayan bir terimdir. Bu metabolik yollar genellikle zehirli bileşiklerin zararlı etkisini ortadan kaldırma işlevini görürler.²⁷⁶

Zehirlenmeler acil servislere yapılan başvuruların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır.²⁸ ABD ve İngiltere’de zehir danışma merkezlerine aşırı doz ilaç alımı nedeniyle yapılan başvuruların en sık nedeni de, yüksek doz parasetamol alımlarıdır.⁹⁶ Parasetamol yaygın olarak kullanılan, tedavi edici dozlarda güvenli, etkin analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Parasetamol’e olan güven o kadar artmıştır ki artık marketlerin raflarında bile görmek şaşırtıcı olmaktan çıkmıştır. İngiltere’de 7000 anne üzerinde yapılan bir çalışmada annelerin % 84’ünün yeni doğan çocuklarına ilk 6 ayda parasetamol verdiği gösterilmiştir.⁶ ABD’de ise 100 milyon insan senede en az bir kez parasetamol almakta, 50 milyon insan ise haftada bir kez parasetamol içeren ürün kullanmaktadır ve bu ürünlerin % 70’i tezgâh üstü yani OTC (Over-The-Counter) olarak satılmaktadır. Yukarıda da bahsettiğimiz gibi etkinliği, göreceli güvenilirliği ve kolay ulaşılabilir olmasının yanı sıra yan etki bakımından da oldukça güvenli olması sebebiyle yaygın olarak kullanılması

aklımızda toksisite gibi bazı soru işaretleri bırakmaktadır. Parasetamol toksisitesi ABD ve İngiltere’de transplantasyon gerektiren ilaca bağlı akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın, toksik ilaç alımlarının ise en yaygın ikinci nedenidir.¹²⁴ Amerika Zehir Kontrol Merkezleri Birliği (American Association of Poison Control Centers) 2002 yılı istatistiklerinde yüksek doz parasetamol alan 30.000 vaka bildirilmiştir. Bu vakaların 110’u ölümlle sonuçlanmıştır.⁹⁸ Vakaların büyük kısmı intihar amaçlı alımlardan oluşurken, % 8-26 vakada alımlar kazara oluşmaktadır. Amerikan Zehir Kontrol Veri Merkezi verilerine göre ölüm oranları 1997’den 2001’e kadar yaklaşık iki kat artmıştır ve her yıl parasetamolün aşırı alımına bağlı olarak yaklaşık 458 ölüm meydana gelmektedir.²⁷⁷ Bu nedenle parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarının gerçek bir iş yükünü oluşturmaktadır.²⁷⁸

Parasetamolün bilinçli ya da bilinçsiz olarak aşırı dozda alımı insanlarda ciddi hepatotoksisiteye ve hatta karaciğer yetmezliğine neden olabilmektedir. Oral alımı takiben toksisite oluşturan minimal doz çocuklarda 150 mg/kg ve yetişkinlerde total 7.5 gr’dır.⁹⁵ Ortaya çıkan hepatotoksisitenin derecesi parasetamole maruz kalınan süreye, doza ve antioksidan mekanizmalara bağlı olarak değişmektedir. Karaciğer parasetamol toksisitesi için en önemli hedef organdır. Yapılan yoğun çalışmalara rağmen parasetamole bağlı karaciğer hücre hasarının mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır.²⁷⁹ Ancak karaciğer toksisitesi oluşumunda birçok neden ortaya atılmıştır. Bunlardan biri parasetamolün sitokrom p450 sistemiyle reaktif toksik metaboliti olan NAPQI’ya dönüştürülmesidir.^{77, 78} NAPQI proteinlere, lipitlere ve nükleik asit gibi hücre makromoleküllerine kovalent bağlanıp oksidatif stresi başlatır. Bu stres lipit peroksidasyonuna yol açar ve membran bütünlüğünü bozarak hücre hasarına neden olur.²⁸⁰ Parasetamol glukoronik asit ve sülfat konjugasyon reaksiyonlarıyla hepatik metabolizmalarla karaciğerde detoksifiye edilir.^{281, 282} Parasetamol, toksik dozlarda alındığında ise hepatik GSH tüketimini artırarak antioksidan kapasitenin azalmasına neden olur. Doz aşımında GSH’ın % 70’ten fazlası tükenir. Kabul edilen ortak görüşlere göre bu

hasarlanma süreci de, yukarı da bahsedilen parasetamolün toksik reaktif bir metabolit olan NAPQI'ya metabolize olmasıyla başlar. Parasetamol toksisitesinin nasıl olduğu konusunda yapılan araştırmalarda birçok araştırmacı, oluşan NAPQI tarafından mevcut GSH depoları kullanıldığında, geri kalan reaktif NAPQI'nın hücrenel hedef proteinlerin sülfhidril gruplarına bağlanarak toksik etki meydana getirdiği yönünde de görüş bildirmişlerdir.^{82, 83, 279} Bu sürecin sonucunda, mitokondriyal solunumun baskılanması, ATP'nin tüketimi ve mitokondriyal oksidatif stres gözlenebilir. ATP tüketiminin hepatositler ve sinüzoidal endotelial hücrelerde, selüler onkotik nekroza yol açtığı rapor edilmiştir.^{235, 279}

Parasetamol toksisitesinde oluşan hadiselerin önemlilerinden biri de serbest radikallerin oluşumunun artmasıdır. Parasetamolün oksidatif strese bağlı hepatotoksik etki mekanizması reaktif oksijen türevleri, reaktif nitrojen türevleri ve peroksidasyon reaksiyon ürünlerinin formasyonuna yol açmasıdır. Son yıllarda, parasetamol metabolizmasının karaciğerde oksidatif stres oluşturarak hepatositlerin ölümüne neden olduğu ve hepatotoksik etki mekanizmasında serbest radikallerin rolü ileri sürülmektedir.²⁸³ Başta hidroksil radikali olmak üzere diğer radikaller de çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve bunun sonucunda hücrenel hasar meydana gelebilir.^{85, 91} Hücrenel homeostasis, hücre membranlarındaki lipid bariyerin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğüne bağlıdır. Hücrede membran hasarına neden olan etkenler birçok patolojik olayın başlamasına katkıda bulunurlar. Hücre içinde radikal artışı veya dokularda antioksidan savunmanın azalması serbest radikal hasarına bağlı hücre ölümü, doku hasarı ve organ fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilir.^{282, 284} Serbest radikal toksisitesiyle karakterize LPO, membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile gelişen zincirleme bir kimyasal reaksiyondur. LPO'nun organizma açısından önemi, reaksiyon son yıkım ürünleri olan sitotoksik aldehitlerden ileri gelir. Bu ürünler, protein sentezini inhibe ederek, proteinlerde çapraz bağlanmalara neden olarak, DNA replikasyonunu bloke ederek ve hücre membranının akışkanlığını azaltarak

hücresel fonksiyonları bozarlar.^{93, 282} Serbest radikaller birçok dejeneratif hastalık yanında ksenobiyotik toksisitesinde de rol oynayarak LPO'yu stimüle ederler.²⁸⁵ Bu doku hasarı göstergelerinden biride lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA seviyesindeki artıştır.^{86, 93}

Dünya çapında parasetamol toksisitesini maruziyetinin artması bu konuya olan ilginin de her geçen gün artmasını sağlamıştır. Parasetamol intoksikasyonları genellikle ilacın oral alımı sonrası görüldüğünden^{72, 76, 96, 286} çalışmamızda parasetamolü oral yolla vermeyi uygun bulduk. Bu kapsamda en çok tercih edilen metod ratlarda oral yol ile yapılan akut parasetamol toksisite yöntemidir.²⁸⁷⁻²⁸⁹ Bu noktada literatürde ratlarda parasetamol toksisitesi oluşturma ile ilgili pek çok doz seçeneği bulunmaktadır.^{288, 290-292} Ratlarda oluşturulan parasetamol toksisitesinde literatürde çok yüksek dozlarda model oluşturulduğu söylene de 3 ile 6 gr/kg'lık dozlarda yaptığımız denemeler sonucunda bu dozlarda süspansiyon hali bile neredeyse mümkün olmadığını gördük.²⁹³ Parasetamolün çözünürlüğü son derece düşük olduğundan biz de PBS içinde CMC (Karboksi metil selüloz) ile süspansiyon haline getirdik ve ratlara 2 g/kg uygulayarak toksisite modelini ön denemeler sonucunda oluşturabildik.²⁹²

Parasetamole bağlı karaciğer toksisitesinde, tetikleyici rol oynayan oksidatif stres sonucu açığa çıkan serbest radikallerin üretilmesini engellemek, ayrıca toksisite sonucu ortaya çıkan reaktif metabolitlerin etkilerini engellemek ve toksisite sonucu azalan GSH depolarını doldurma yeteneğine sahip olacağına inandığımız *Nigella sativa* L. etanol ekstresiyle antioksidan terapi etkinliğini var olan NAC tedavisi yöntemiyle karşılaştırmalı olarak göstermeyi amaçladık. Bu amaçla bir deney protokolü hazırladık ve bu çalışmamızı bulgularımızla desteklemeye çalıştık.

Bu tez çalışmasında;

1. Vücudumuza giren her türlü maddenin biyotransformasyon reaksiyonlarının gerçekleştiği yer olan karaciğer dokusu hedef doku olarak seçildi ve üzerine bir toksisite modeli belirlendi,
2. Hem en çok toksisiteye neden olan hem de intihar amaçlı olarak kullanılan ilaçların başında gelen parasetamol seçildi,
3. Parasetamol ile indüklenen deneysel hepatotoksisite rat modeli oluşturuldu,
4. Halk hekimliğinde birçok hastalıkta çokça kullanılan şifalı bir bitki olan *Nigella sativa* L. seçildi ve etanol ekstresi hazırlandı,
5. Parasetamol ile oluşturulan karaciğer toksisitesi üzerine *Nigella sativa* L.'nin etanol ekstresi var olan tedavi yöntemi NAC uygulaması ile kıyaslamalı olarak denendi,
6. Hepatotoksisiteyi yansıtan önemli biyokimyasal parametreler olan ALT, AST ve TNF- α üzerinden hepatotoksisite seviyesi NAC ile karşılaştırmalı olarak belirlendi,
7. Ayrıca oksidatif stres hipotezi üzerinden parasetamol ile oluşturulan toksisitede artmış olan oksidatif stres SOD, GSH ve MDA üzerinde mekanizması gerek model üzerinden gerek ise *Nigella sativa* L.'nin etanol ekstresi ve NAC üzerinde kıyaslamalı olarak tartışıldı.

1950'li yıllardan bu yana ilaçlarla meydana gelebilen yan etkilerin yol açtığı ciddi sağlık sorunları, bazı kronik rahatsızlıkların kesin sonuç alıcı tedavisinin olmayışı, hasta için uzun, rahatsızlık verici oluşu, hastaya getirdiği ekonomik yük ve en önemlisi bu yan etkilerin de yine farklı bir kimyasalla tedavi edilmeye çalışılması insanları alternatif arayışlara itmiş ve en eskiden olduğu halk hekimliği ile doğala dönüş olan alternatif tıp uygulamalarını popüler hale getirmiştir. Alternatif tıp; tedavi yaptığı ileri sürülen, ancak bu etkileri bilimsel metotlarla tam olarak kanıtlanamayan geleneksel

veya güncel tıbbi uygulamalara verilen isimdir. Alternatif tıpta akupunktur, kaplıcalar, şifalı sular, masaj, ayurveda, hipnoz ve şifalı bitkiler gibi pek çok yöntem vardır.

Dünyada yaklaşık 250.000 bitki türü bulunmaktadır. İnsanoğlu bu bitkileri var olduğu günden bu yana gerek besin maddesi, gerekse tedavi amaçlı olarak kullanmaktadır. *Nigella sativa* L. yani halk arasında bilinen ismi ile çörek otu, Ranunculaceae familyasından olup yukarıda bahsedilen bitkiler arasında herkes tarafından bilinen ve tüketilen bir bitkidir. *Nigella sativa* L. eski çağlardan beri tedavi amaçlı kullanılmasının yanı sıra gıdalar ile birlikte bir baharat olarak da kullanılmaktadır. *Nigella sativa* L. günümüzde başta Doğu Akdeniz ülkeleri olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak tarımı yapılan yıllık otsu bir bitki türüdür ve Türkiye’de 12 *Nigella* türü yetişmektedir. *Nigella sativa* L. tohumları ülkemizde ve dünyada daha çok pasta, börek ve poğaçaya gibi hamurlu gıdalarla birlikte kullanılmasının yanı sıra balla birlikte üst solunum yolları enfeksiyonları ve astım için, iştah açıcı olarak, süt artırıcı, adet düzenleyici, sarılık giderici, gaz giderici, idrar söktürücü (diüretik) gibi amaçlar için de kullanılmaktadır.¹⁵⁰ Halk arasında kuvvetlenmek, bronşları açmak, bağışıklık sistemini güçlendirmek için tohumları havanda iyice dövülüp, balla karıştırılarak yaygın olarak alınmaktadır. Ayrıca çörek otu yağının saç kıran ve hemoroid tedavisinde kullanıldığı da bilinmektedir.¹⁵⁰

Yapılan araştırmalarda; *Nigella sativa* L.’nin çeşitli kanser hücrelerini öldürdüğü ve tümöre karşı özel antikörlerin üretimini uyardığı, ayrıca makrofaj hücrelerinin sayısı ve aktivasyonunda da artışa neden olduğu saptanmıştır.¹³⁷ *Nigella sativa* L. ekstraktının kemik iliğinde bağışıklık sistemi ile ilgili hücrelerin sayılarında artışa neden olduğu, ayrıca myelopoezisi uyardığı gösterilmiştir. Çörek otu tohumunda bulunan β -sitosterol’ün vücutta salgı aktivitesini artırdığı ve kandaki kolesterol seviyesini düşürdüğü, prostat büyümesinde tedavi edici özellikte olduğu belirtilmiştir.²⁹⁴ Çörek

otunun uçucu yağ asitlerinin; bakteri, mantar ve halk arasında şerit olarak bilinen sestodlara karşı etkili olduğu tespit edilmiştir.¹⁵⁵

Asırlardır kullanılan *Nigella sativa* L. ile ilgili yapılan araştırmaların sayısı da son yıllarda artmaktadır. 2005’li yıllara kadar yaklaşık 175 çalışma yapılmışken 2005’li yıllardan günümüze kadar bu çalışma sayısı yaklaşık 1000 adeti bulmuş ve bu da bu bitki ile ilgili son yıllarda her yıl ortalama 150’ye yakın makale yapıldığını göstermektedir. Literatürde parasetamolün karaciğer hasarı üzerine *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Yapılan araştırmalarda *Nigella sativa* L. içeriğindeki zengin bileşenlerin izole edilmesi ve bu maddelerin çok değerli bileşenler olması bize bu bitkinin oksidatif strese bağlı karaciğer hasarında tedaviye yardımcı olabileceği hususunda bizi bu bitkiyi çalışmaya yönlendirdi. Fenolik asit içeriği bakımından zengin olan *Nigella sativa* L. etanol ekstresi antioksidan,^{121, 122, 127-132} antiinflamatuvar,^{123, 129, 133-135} antibakteriyel,^{140, 141} antiallerjik,^{133, 134} antiviral¹⁵ özellik gösterir. Fenolik bileşenlerden zengin besinlerin karaciğer üzerinde de koruyucu etkileri gösterilmiştir.¹⁷⁶ Merfort ve ark.²¹ 1997 yılında yaptıkları bir araştırmada *Nigella sativa* L. tohumlarının % 70’lik etanolle ekstraksiyonundan elde ettikleri flavonoid glikozitleri arasında kuersetinin de varlığını bildirmişlerdir. Kuersetin bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan fenolik bir flavonoiddir.^{170, 171} Doğal bir flavonol olan kuersetin enzimatik olmayan antioksidanlardan biridir. Oksidatif stresin neden olduğu hasarlara karşı hücreyi korumada reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi ve metal katyonlarının şelatlanması üzerinden etkilidir.¹⁷² Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada *Nigella sativa* L. tohumlarını % 70 etanol ekstraksiyonuyla elde ettiğimiz ekstraktı deney hayvanlarımıza belirli dozlarda oral yoldan verdik.

Ayrıca *Nigella sativa* L.'nin toksisitesinin düşük olmasıda güvenilir bir alternatif tedavi olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Zaoui ve ark.¹⁴⁷ yaptıkları çalışmada *Nigella sativa* L. için farelerde akut karaciğer toksisitesinde enzim düzeylerinde değişim ve herhangi histopatolojik modifikasyonu gözlenmediği bildirilmiştir.^{147, 168} Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde; Sağlıklı grubu (Grup I) ile 1000 mg/kg verilen NS kontrol grubu (Grup II) arasında rat serumunda ölçülen ALT, AST, TNF- α seviyeleri ile SOD aktivitesi, MDA ve GSH seviyelerinde belirgin bir değişim gözlenmedi.

Daha önceden yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi toksik dozlarda parasetamol alımları, oksidatif yolla hepatosit hasarlanmasına yol açar, inflamatuvar reaksiyonları artırır ve serum ALT ve AST değerlerini artırır. ALT ve AST transaminazlar olarak da bilinen ve karaciğerde bulunan intraselüler enzimlerdir. ALT ve AST hepatosellüler membran hasarı ya da nekrozun değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerdendir.²⁹⁵ Manda ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve β -Karotenin tedavi edici etkisi araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada ALT ve AST değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin şekilde artış olduğu saptanmıştır.²⁹⁶ Ahmed ve arkadaşları²⁸⁹ tarafından yapılan bir çalışmada ise parasetamol ratlara oral yolla uygulanarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve *Ambrosia Maritima* isimli bir maddenin koruyucu etkileri araştırılmıştır. Yapılan ölçümlerde ALT ve AST değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin derecede arttığı saptanmıştır.²⁸⁹ Bizim çalışmamızda da önceden yapılan çalışmalara benzer şekilde sağlıklı kontrol grubuna göre parasetamol kontrol grubunda 24 saat sonra alınan kan örneklerinden yapılan ölçümlerde ALT ve AST değerlerinde üç ile dört kat düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı derecede belirgin artışlar saptandı ($p < 0.05$). Bununla beraber NS ve NAC uygulamaları yapılmış tedavi gruplarında parasetamol kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde ALT

ve AST seviyeleri düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). NS uygulaması artan dozla paralel olarak koruyucu etki göstermesi ile birlikte 1000 mg/kg dozunda en iyi etkiyi göstermiş ve bu etkinin NAC'den istatistiksel olarak daha güçlü olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Bu sonuçlar *Nigella sativa* L. etanol ekstresi ile yapılan uygulamanın istatistiksel olarak anlamlı şekilde parasetamole bağlı hepatik hasarı enzimatik olarak düzelttiğini göstermiştir.

Parasetamolün aşırı alımıyla meydana gelen karaciğer hücre disfonksiyonu ve hücre ölümü doğal ve adaptif immün cevaplar da dahil olmak üzere immünojenik reaksiyonları tetikler.²⁹⁷ Kupffer hücreleri prostaglandinler, IL, TNF- α ve değişik sitokinler olmak üzere değişik faktörler salgırlar.²⁹⁷ Kupffer hücrelerinden salgılanan TNF- α , hücre çoğalması, diğer inflamatuvar mediyatörlerin üretimi ve programlanmış hücre ölümü de dahil olmak üzere bir dizi hücre sel yanıtı uyarır.²⁹⁷ Kupffer hücrelerinden salgılanan TNF- α direkt olarak karaciğer hücre nekrozuna neden olur, lökosit adherans ve aktivasyonunu provoke eder, hepatosit ve Kupffer hücrelerinden IL-8 üretimini stimüle ederek, nötrofil kemotaksisine sebep olur. İlaçla indüklenen karaciğer hasarında üretilen TNF- α , Inf- γ , IL- β gibi çeşitli inflamatuvar sitokinlerin doku hasarının ilerlemesine katkıda buldukları kanıtlanmıştır.^{298, 299} Enflamasyonun klasik toksikolojik süreçte önemli bir rol oynadığı ve inflamatuvar bir sitokin olan TNF- α 'nın bu süreçteki mediyatörler arasında en önemlilerinden biri olduğu bilinmektedir.²⁶⁸ TNF- α çoğunlukla karaciğerdeki makrofajlardan üretilen bir proinflamatuvar sitokindir. Sistemik toksisitenin ve karaciğer hasarının primer mediyatörüdür. Fulminan hepatik yetmezlik ve bunun gibi karaciğer hasarlarında TNF- α 'nın önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir.²⁶⁸ Artmış TNF- α seviyesi karaciğer hasarında önemli bir rol oynadığı ve bu artışın karaciğer hasarının dolaylı bir göstergesi olduğu Lee ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir.²⁶⁴ Sheng-Lei ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da karaciğer

toksisitesi oluştuğunda TNF- α seviyesinin yükseldiğini ve uygulanan tedavinin başarısına göre toksisite azaldıkça TNF- α seviyesinin azaldığını belirtmişlerdir.²⁶¹ Yan-Ling Wu ve arkadaşları, fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve TNF- α seviyesinin arttığını göstermişlerdir.²⁸⁶ Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada parasetamol ile indüklenen karaciğer toksisitesinde TNF- α 'nın önemli bir rol oynayacağını düşündük ve TNF- α seviyelerini yüksek hassasiyetli bir ölçüm metodu olan ELISA ile ratların kanlarından elde ettiğimiz serumlarda ölçtük. Sonuçlarımız yapılan tüm araştırmaları destekler nitelikte benzerlik gösterdi. Parasetamol ile toksisite oluşturduğumuz ratlarda TNF- α seviyesinde yaklaşık 6 kat artış saptanırken, NS ve NAC uygulamaları yapılmış tedavi gruplarında parasetamol kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde TNF- α seviyesinin düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). NS etanol ekstresinin uygulanan tüm gruplarda doza paralel olarak anlamlı bir şekilde etkili olduğu gözlemlendi. NAC ile kıyaslama yaptığımızda tüm NS gruplarında daha iyi etkiler gözlemlendi ve 1000 mg/kg dozunda en iyi etkiyi göstermiş ve bu etkinin NAC'den istatistiksel olarak daha güçlü olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Bu sonuçlar NS uygulamasının TNF- α seviyesi üzerine istatistiksel olarak anlamlı şekilde etkili olduğunu gösterdi ($p<0.05$). Parasetamolün aşırı alımıyla Kuppfer hücrelerinden salgılanan prostaglandinler, TNF- α ve diğer inflamatuvar mediyatörlerin azalması NS etanol ekstresinde bulunan kuersetin, kaempferol ve bunun gibi flavonoidler aracılığıyla olmuş olabilir.

SOD, süperoksitin oksijen ve hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir enzim ailesidir. Bu nedenle oksijene maruz kalan neredeyse tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır. Süperoksit hücrelerde ana reaktif oksijen ürünlerinden biridir ve bu nedenle SOD anahtar bir antioksidan olarak rol oynar. CAT ve SOD gibi antioksidan enzimler lipit peroksidazlar ya da reaktif oksijen ürünleri

tarafından kolayca inaktive olurlar ve bu nedenle parasetamol toksisitesinde bu enzim aktivitelerinde azalmalar saptanmıştır.³⁰⁰ Hua ve ark.³⁰¹ yaptıkları bir çalışmada farelere parasetamol verilerek akut karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve giderek artan dozlarda antioksidan özellikli picroside II verilerek bu maddenin mitokondriyal koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Farelerden elde edilen serumda yapılan ölçümlerde parasetamol zehirlenmesi oluşturulan grupta SOD aktivitesinde azalma izlenmiş, daha sonra giderek artan dozlarda picroside II verilerek bu düşük SOD değerlerinde artan dozla doğru orantılı şekilde arttığı saptanmıştır. Xin ve ark.³⁰² yaptıkları diğer bir çalışmada Cu, Zn-superoksid dismutaz yetersizliği olan farelerde, parasetamol toksisitesine karşı olan dirençleri araştırmışlar ve farelerden elde edilen kan örneklerinde yaptıkları çalışmada serum SOD değerlerinin parasetamol ile zehirlenen normal farelerde azaldığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında sağlıklı grubuna göre parasetamol verilen grubun SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Parasetamol grubunda azalmış olan SOD aktivitesi parasetamol uygulanan tüm NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği belirlendi ($p<0.05$). NAC ile kıyaslama yapıldığında tüm NS gruplarında daha iyi etkiler gölemlendi ve en iyi etkinin ise istatistiksel olarak NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görüldü.

GSH, kimyasal olarak reaktif toksik bileşikler ya da oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli moleküllerden biridir.¹⁷ Serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli görevleri bulunan GSH'ın asıl kaynağı kükürt içeren aminoasitler, özellikle sistein ve metiyonindir. GSH, serbest radikal artışına ve lipid peroksidasyon oluşmasına bağlı olarak meydana gelen ürünlerle kolayca reaksiyona girerek metabolizma için zararlı olan bu ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılması için görev

alan güçlü bir antioksidandır. Oksidatif hasardan kaynaklanan lipit peroksidasyon ürünleriyle reaksiyona girerek GSSG'ye dönüşür. Serbest radikal hasarı ve lipit peroksidasyonu ile GSH düzeylerinin arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda lipit peroksidasyon ürünlerinde artış, GSH düzeylerinde düşüşler saptanmıştır.³⁰³ Manda ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada kan GSH değerleri parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalmış olarak saptanmış, verilen β -Karoten tedavisi ile bu değerlerde artış belirlenmiştir.²⁹⁶ Yapar ve arkadaşlarınca yapılan benzer bir çalışmada parasetamolle indüklenen toksisitede serum GSH değerleri azalmış olarak saptanmış ve verilen L-Karnitin tedavisi ile bu azalmış GSH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.²³⁵ *Nigella sativa* L.'nin izole rat hepatositlerinde tetra-bütil hidroperoksid ile indüklenmiş oksidatif hasara karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu ve intrasellüler GSH üretimini arttırdığı kantitatif olarak saptanmıştır.¹⁸⁶ Bizim çalışmamızda da benzer şekilde doku GSH değerinin parasetamolle indüklenen hepatotoksisitede azaldığı tespit edildi. Parasetamol toksisitesi oluşturulan ratların karaciğer dokularında GSH değerlerindeki azalmanın *Nigella sativa* L. ile tedavi edilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını tespit ettik ($p<0.05$). Parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında sağlıklı grubuna göre parasetamol verilen grubun GSH seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Parasetamol grubunda azalmış olan GSH seviyesi parasetamol uygulanan tüm NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği belirlendi ($p<0.05$). NAC ile kıyaslama yapıldığında istatistiksel olarak NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda daha iyi etki olduğu belirlendi.

Lipit peroksidasyonu parasetamole bağlı karaciğer hasarına neden olan en önemli mekanizmalardan biridir ve serbest oksijen radikallerine bağlı olarak ortaya çıkar. 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.³⁰⁴ MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipit peroksidasyonunun en yaygın kullanılan belirleyicilerinden biridir. Oksidatif strese maruz kalan dokularda, MDA düzeylerinde artış görülür. Başka bir söylemle MDA düzeyi oksidatif stres için potansiyel bir biyomarker olarak kullanılabilir.³⁰⁴ Parasetamol toksisitesinin MDA seviyesine etkisi üzerine yapılan bir çalışmada ratlara 2 g/kg tek doz parasetamol uygulanmış ve ratlar uygulamanın 10'uncu saatinde dekapite edilerek kanları alınmış ve serumda MDA seviyelerine bakıldığında kontrole göre parasetamol uygulanan grubun serum MDA seviyelerinin anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir.²⁹² Yapar ve ark.²³⁵ tarafından yapılan bir çalışmada fareler parasetamol ile zehirlenmiş ve L-Karnitinin hepatoprotektif etkileri araştırılmış ve bu çalışmada 24 saat sonra alınan kan örneklerinde MDA değerleri, zehirlenme grubunda artmış olarak saptanmış ve verilen L-Karnitin tedavisi ile MDA değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Cheng-chin ve arkadaşlarınca yapılan bir başka çalışmada fareler parasetamol ile intraperitoneal olarak zehirlenmiş ve S-allil ile S-propil'in koruyucu etkileri araştırılmış ve bu çalışmada MDA'nın zehirlenme grubunda kontrol grubuna göre arttığı ve uygulanan tedaviyle MDA değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir.²³⁶ Kılıksız ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada, ratlarda radyasyona bağlı olarak oksidatif hasar oluşturulmuş ve biyomarkerler üzerine NAC'nin etkileri araştırılmış ve yapılan bu çalışmada radyasyon oluşturulan gruptaki serum MDA değerleri kontrol grubuna göre artmış olarak tespit edilmiş, bu yükselen değerlerin NAC tedavisi verilen grupta ise azaldığı rapor edilmiştir.³⁰⁵ İnal ve ark.¹⁷⁹ yaptıkları bir çalışmada ise ultraviyole A ile deride irritasyon meydana getirmişler ve bunun sonucunda MDA seviyesinde artış, CAT, SOD seviyelerinde azalma meydana geldiğini gözlemişlerdir.

Ultraviyole A ile birlikte kuersetin verilen grup ile sadece ultraviyole A'ya maruz kalan grup karşılaştırıldığında MDA düzeyinde azalma, CAT ve SOD enzim aktivitelerinde ise artış gözlemlenmiştir.¹⁷⁹ 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.¹⁸⁰ Bizim çalışmamızda da benzer şekilde parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında sağlıklı grubuna göre parasetamol verilen grubun MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ($p<0.05$). Parasetamol grubunda artmış olan MDA seviyesi parasetamol uygulanan tüm NS gruplarında ve NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.05$). NAC ile kıyaslama yapıldığında tüm NS gruplarında daha iyi etkiler olduğu ve en iyi etkinin ise istatistiksel olarak NS 1000 mg/kg + Parasetamol 2 g/kg grubunda olduğu görüldü.

Nigella sativa L. etanol ekstresinin parasetamol toksisitesi üzerine rat karaciğerlerinden elde edilen SOD enzim aktivitesi, GSH ve MDA seviyesi sonuçları genel olarak dikkate alındığında bu bitkiden elde edilen ekstre içerisindeki maddelerin antioksidan özelliğini desteklemektedir. Bu biyokimyasal verilerin doğrultusunda parasetamolün rat karaciğerlerinde meydana getirmiş olduğu hasara bağlı olarak serum enzimlerinin, enflamasyon marker'i olan TNF- α 'nın, serbest radikallerin artarak lipid peroksidasyonun meydana geldiğinin ve bunun da uygulanan *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin antioksidan etkisi sayesinde karaciğer enzimleri, TNF- α seviyesinde azalış ve antioksidan etki ile karaciğer hasarının engellendiği söylenebilir. NAC ile kıyaslama yapıldığında ise NS uygulaması artan dozla paralel şekilde koruyucu etki göstermesi ile birlikte 1000 mg/kg dozunda en iyi etkiyi göstermiş ve bu etkinin NAC'den istatistiksel olarak daha güçlü olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). *Nigella sativa* L. bu etkiyi etanol ekstresi içerisinde majör olarak bulunan fenolik aynı zamanda flavanoid olan kuersetin,

kaempferol, rutin ve bunun gibi flavonoidler aracılığıyla göstermiş olabilir. Bu bileşikler bu koruyucu etkiyi serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırarak bilayer özellik gösteren hücre zarında bulunan fosfolipitleri lipid peroksidasyonuna karşı koruyarak gösterdikleri rapor edilmiştir.^{159, 175} 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.¹⁸² Pannala ve ark.³⁰⁶ yaptıkları bir çalışmada flavonoidlerin kimyasal ve antioksidatif özelliklerini incelemişler ve kaempferolün 4'-OH ve 3-OH gruplarına bağlı olarak yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirtmişlerdir. *Nigella sativa* L. etanol ekstresi içerisinde de bulunan kuersetin, kaempferol ve rutin flavonoidlerinin antioksidan aktiviteleri sentetik kaynaklı antioksidanlarla karşılaştırıldığında antioksidan özelliklerinin yüksek olduğu gözlemlenmektedir. *Nigella sativa* L. tohumları ve yağının etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber hepatotoksisitede bu kadar başarı sağlamasının nedeni, yapısında bulunan ve flavonoidler sınıfına dahil olan kuersetin ve kaempferol gibi birçok maddeden kaynaklandığını düşünmekteyiz. *Nigella sativa* L. etanol ekstresindeki zengin fenolik bileşenlerin varlığı bu kanımızı desteklemektedir. Literatürdeki çalışmalar da dikkate alındığında yukarıda ifade ettiğimiz gibi bizimde çalışmamızda ortaya çıkan toksisiteyi azaltan ekstre içinde etken madde olarak kuersetin, kaempferol ve rutin flavonoidlerinin antioksidan etkilerinden kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Günümüzde parasetamol intoksikasyonlarının tedavisinde halen tercih edilen tedavi seçeneği NAC uygulamasıdır. NAC, amino asit L-sistein ve GSH'nin her ikisinin

asetilenmiş bir prekürsördür ve uzun yıllardır parasetamol aşırı alımlarına bağlı hepatotoksisitenin önlenmesi için antidot olarak kullanılmıştır. Günümüzde hayvan ve insan çalışmalarında NAC'nin güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir ve serbest radikaller ve oksidan hasarla karakterize çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik ajan olarak kullanılmaktadır.³⁰⁷ Bu çalışmamızda ratlara Parasetamol 2 g/kg vermeden 1 saat önce 140 mg/kg dozunda NAC'yi oral olarak verdik. Biyokimyasal bulguları incelediğimiz de her üç dozda da *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin uygulamasının NAC uygulamasından istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar verdiğini görmekteyiz. Aynı zamanda *Nigella sativa* L.'nin hem yan etki bakımından güvenilir olması hem de içeriğindeki etkin maddelerin doğal antioksidan olması alternatif tedavi de ilk tercih olarak kullanılabilir mi sorusunu aklımızda uyandırmaktadır. Günümüzde sentetik ilaçların meydana getirdiği yan etkilerin yol açtığı ciddi sağlık sorunlarını da göz önünde bulundurursak elde edilen bulgular son derece önemlidir. Mevcut çalışmanın sonuçları ile parasetamolün indüklediği karaciğer hasarı üzerinde *Nigella sativa* L.'nin koruyucu etkisi NAC'ye göre üstün role sahip olabileceği gösterilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, parasetamolle indüklenen karaciğer hasarının sıçan karaciğer dokusu oksidan / antioksidan dengesi üzerine etkisi ile bu etki üzerinde *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin olası koruyucu rolünün olup olmadığını pozitif kontrol olarak NAC'nin kullanıldığı deneysel hayvan modeliyle araştırmayı amaçladık. Bu amaçla, ALT, AST ve TNF- α düzeyleri ile SOD enzim aktivitesi GSH ve MDA seviyesindeki değişiklikler incelenmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları ile parasetamolün indüklediği karaciğer hasarı üzerinde *Nigella sativa* L.'nin koruyucu etkiye sahip olabileceği gösterilmiştir. Oksidan / antioksidan parametreler ile belirlenen hepatotoksisitenin *Nigella sativa* L. etanol ekstresi ile azaltılabileceği gösterilmiştir. Parasetamol ile ortaya çıkan karaciğer hasarında pek çok faktör rol oynarken, reaktif oksijen türleri önemli yer tutmaktadır. Mevcut veriler *Nigella sativa* L.'nin ALT, AST, TNF- α ile SOD, GSH ve MDA düzeyleri üzerinde bilhassa 1000 mg/kg dozunda istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olduğu açık bir şekilde görülmektedir. Bu çalışmamızın sonuçlarına göre *Nigella sativa* L.'nin güçlü bir antioksidan olduğu ve parasetamol ile indüklenen hepatotoksisitenin şiddetini azaltmada yardımcı olabileceği söylenebilir. Parasetamol toksisitesine karşı *Nigella sativa* L. uygulanması serbest radikallerin temizlenmesi ve antioksidan aktivite artışıyla karaciğer hücre hasarını engeleyerek katkı sağladığı gösterilmiştir. Parasetamol indüklenmesiyle oluşan karaciğer hasarına karşı antidot olarak kullanılan NAC tedavisine göre daha başarılı sonuçlar alınması *Nigella sativa* L.'nin tedavide umut verici katkısının olduğunu göstermiştir. Böylece *Nigella sativa* L.'nin ratlarda NAC tedavisinde olduğu gibi antioksidan bir etki gösterdiği, parasetamolün oluşturduğu hasarı geriletmediği ve koruyucu etkide bulunduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak; parasetamolle indüklenen hepatotoksisitede etkinliğiyle *Nigella sativa* L. göz doldurucu bir etki yapmıştır ve hepatotoksisitede faydalı olacağı kanaatini doğurmuştur. *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 olan kuersetin, kaempferol ve rutin flavonoidlerinin antioksidan etkileri diyebiliriz. 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 edilerek karakterize edilmesi etken maddelerin mekanizmanın tam olarak aydınlatılabilmesi için devam edecektir. *Nigella sativa* L. etanol ekstresinin karaciğeri oksidatif strese karşı korumada etkin bir rol oynaması sebebiyle klinik olarak yararlı olabilir. En önemli avantajı ise bu bitkinin herkes tarafından kolayca temin edilebilmesi, tadının ve lezzetinin insanların damak tadına hitap etmesi nedeniyle sadece parasetamol toksisitesi ile ilgili olaylarda değil vücudumuzun an be an maruz kaldığı oksidatif stres 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 karaciğer hasarında koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Scherlock S, Dooley J. *Disease of the Liver and Biliary System*, 10th ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1997: 103-117.
2. Fabrega E, Miseses MA, Teran A, Moraleja I, Casafont F, Crespo J, Pons-Romero F. Etiologies and outcomes of acute liver failure in a Spanish community. *International Journal of Hepatology*, 2013, 2013: 1-5.
3. Mutimer DJ, Ayres RC, Neuberger JM, Davies MH, Holguin J, Buckels JA, Mayer AD, McMaster P, Elias E. Serious paracetamol poisoning and the results of liver transplantation. *Gut*, 1994, 35: 809-814.
4. Schiodt FV, Atillasoy E, Shakil AO, Schiff ER, Caldwell C, Kowdley KV, Stribling R, Crippin JS, Flamm S, Somberg KA, Rosen H, McCashland TM, Hay JE, Lee WM. Etiology and outcome for 295 patients with acute liver failure in the United States. *Liver Transplantation and Surgery*, 1999, 5: 29-34.
5. Lewis RK, Paloucek FP. Assessment and treatment of acetaminophen overdose. *Clinical Pharmacy*, 1991, 10: 765-774.
6. 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.
7. Makin AJ, Wendon J, Williams R. A 7-year experience of severe acetaminophen-induced hepatotoxicity (1987-1993). *Gastroenterology*, 1995, 109: 1907-1916.
8. Prescott LF. Paracetamol overdose. Pharmacological considerations and clinical management. *Drugs*, 1983, 25: 290-314.
9. Bonkovsky HL, Kane RE, Jones DP, Galinsky RE, Banner B. Acute hepatic and renal toxicity from low doses of acetaminophen in the absence of alcohol abuse or

- malnutrition: evidence for increased susceptibility to drug toxicity due to cardiopulmonary and renal insufficiency. *Hepatology*, 1994, 19: 1141-1148.
10. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, Reisch JS, Schiodt FV, Ostapowicz G, Shakil AO, Lee WM. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology*, 2005, 42: 1364-1372.
 11. Mobasher MA, Gonzalez-Rodriguez A, Santamaria B, Ramos S, Martin MA, Goya L, Rada P, Letzig L, James LP, Cuadrado A, Martin-Perez J, Simpson KJ, Muntane J, Valverde AM. Protein tyrosine phosphatase 1B modulates GSK3beta/Nrf2 and IGFIR signaling pathways in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Cell Death & Disease*, 2013, 4: e626.
 12. Saccomano S, Deluca DA. Too toxic. *Nursing Management*, 2008, 39: 32A-32H.
 13. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, 31: 55-138.
 14. 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.
 15. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. *International Immunopharmacology*, 2005, 5: 1749-1770.
 16. Oliver L. Emergency Medicine : A Comprehensive Study Guide. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski O (eds). *Acetaminophen*, 4th ed. New York, Mc Graw-Hill Companies Inc, 2004: 1088-1094.

17. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current Opinion in Pharmacology*, 2007, 7: 355-9.
18. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2006, 63: 1821-1827.
19. Dauksas E, Venskutonis PR, Sıvık B. Comparison of oil from *Nigella damascena* seed recovered by pressing, conventional solvent extraction and carbon dioxide extraction. *Food and Chemical Toxicology*, 2002, 67: 1021-1024.
20. Bayir Y, Karagoz Y, Karakus E, Albayrak A, Sengul O, Can I, Yayla N, Kuskun U, Keles MS. *Nigella sativa* reduces tissue damage in rat ovaries subjected to torsion and detorsion: oxidative stress, proinflammatory response and histopathological evaluation. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 2012, 74: 41-49.
21. Merfort I, Wray V, Barakat HH, Hussein SAM, Nawwar MAM, Willuhn G. Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry*, 1997, 46: 359-363.
22. Uras ŞS. *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Mersin: Mersin Üniversitesi, 2009.
23. Turkdogan MK, Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, Uygan I, Ceylan E. The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research*, 2003, 17: 942-946.
24. 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.

25. Yeşil O, Akoğlu H, Onur Ö, Güneysel Ö. Acil Servise Başvuran Zehirlenme Olgularının Geriye Dönük Analizi. *Marmara Medical Journal*, 2008, 21: 26-32.
26. James LP, Gill P, Simpson P. Predicting risk in patients with acetaminophen overdose. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2013, 7: 509-512.
27. Rendell M, McGrane D, Cuesta M. Fatal compulsive water drinking. *The Journal of the American Medical Association*, 1978, 240: 2557-2559.
28. 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.
29. Akkose S, Bulut M, Armagan E, Cebicci H, Fedakar R. Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the Uludag University Hospital, Marmara Region, Turkey. *Clinical Toxicology*, 2005, 43: 105-109.
30. Lippman M, Rumley W. Medical Emergencies. In: Dunagan WC, Rinder ML (eds). *Manual of Medical Therapeutics*. Boston, Little, Brown and Company, 483-514.
31. Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology*, 10th ed. New York, McGraw-Hill Companies Inc, 2003: 332-344.
32. Sielaff TD, Curley SA. Liver. In: Bruchinardi FC, Anderson DK, Billiar TR (eds). *Schwartz's principles of surgery*, 8th ed. Philadelphia, McGraw-Hill Companies Inc, 2004: 1139-1186.
33. Sauders WB. Cecil essential of medicine. Tuzcu M (Çeviri editörü). İstanbul, Talat matbaası, 1995: 320-322.
34. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş. Demir R (Çeviri Editörü). Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 459-469
35. Wanless IR. Anatomy, histology, embroyology, and developmental anomalies of the liver. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ (eds). *Sleisenger and Fordtran's*

- Gastrointestinal and liver disease* , 8th ed. Philadelphia, USA, Elsevier, Saunders, 2006: 1543-1585.
36. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas*, 4th ed. USA, Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 532-548.
37. Goyri-O'Neill J, Pais D, Freire de Andrade F, Ribeiro P, Belo A, O'Neill A, Ramos S, Neves Marques C. Improvement of the embalming perfusion method: the innovation and the results by light and scanning electron microscopy. *Acta Medica Portuguesa*, 2013, 26: 188-194.
38. Khan MA, Pumir A, Vassilicos JC. Kinematic simulation of turbulent dispersion of triangles. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 2003, 68: 26313-26326.
39. Arici S. Toksik Hepatit. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 2008, 1: 113-119.
40. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 1989, 97: 439-445.
41. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, McCashland TM, Shakil AO, Hay JE, Hynan L, Crippin JS, Blei AT, Samuel G, Reisch J, Lee WM. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Annals of Internal Medicine*, 2002, 137: 947-954.
42. Lucke B, Mallory T. The Fulminant Form of Epidemic Hepatitis. *The American Journal of Pathology*, 1946, 22: 867-945.
43. Trey C, Davidson CS. The management of fulminant hepatic failure. *Progress in Liver Diseases*, 1970, 3: 282-298.
44. Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Seminars in Liver Disease*, 1986, 6: 97-106.

45. Gimson AE, O'Grady J, Ede RJ, Portmann B, Williams R. Late onset hepatic failure: clinical, serological and histological features. *Hepatology*, 1986, 6: 288-294.
46. Steinberg JL, Yeo W, Zhong S, Chan JY, Tam JS, Chan PK, Leung NW, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation in patients undergoing cytotoxic chemotherapy for solid tumours: precore/core mutations may play an important role. *Journal of Medical Virology*, 2000, 60: 249-255.
47. Sass DA, Shakil AO. Fulminant hepatic failure. *Liver Transplantation*, 2005, 11: 594-605.
48. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. *The New England Journal of Medicine*, 2008, 359: 285-292.
49. Harrison PM, Wendon JA, Gimson AE, Alexander GJ, Williams R. Improvement by acetylcysteine of hemodynamics and oxygen transport in fulminant hepatic failure. *The New England Journal of Medicine*, 1991, 324: 1852-1857.
50. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, 2006, 12: 250-275.
51. Camu F, Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic analgesics. *Best Practice & Research. Clinical Anaesthesiology*, 2002, 16: 475-488.
52. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
53. Shahroor S, Shvil Y, Ohali M, Granot E. Acetaminophen toxicity in children as a "therapeutic misadventure". *Harefuah*, 2000, 138: 654-657, 710.
54. Forrest JA, Clements JA, Prescott LF. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clinical Pharmacokinetics*, 1982, 7: 93-107.
55. Miller RP, Roberts RJ, Fischer LJ. Acetaminophen elimination kinetics in neonates, children, and adults. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1976, 19: 284-294.

56. Aniya Y, Yokomakura T, Yonamine M, Nagamine T, Nakanishi H. Protective effect of the mold *Monascus anka* against acetaminophen-induced liver toxicity in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1998, 78: 79-82.
57. Gerson RJ, Casini A, Gilfor D, Serroni A, Farber JL. Oxygen-mediated cell injury in the killing of cultured hepatocytes by acetaminophen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1985, 126: 1129-1137.
58. Jaya DS, Augustine J, Menon VP. Role of lipid peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in alcohol and drug toxicity. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1993, 31: 453-459.
59. Mirochnitchenko O, Weisbrot-Lefkowitz M, Reuhl K, Chen L, Yang C, Inouye M. Acetaminophen toxicity. Opposite effects of two forms of glutathione peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 10349-10355.
60. Potter WZ, Davis DC, Mitchell JR, Jollow DJ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. 3. Cytochrome P-450-mediated covalent binding in vitro. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 203-210.
61. Slattery JT, Wilson JM, Kalhorn TF, Nelson SD. Dose-dependent pharmacokinetics of acetaminophen: evidence of glutathione depletion in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1987, 41: 413-418.
62. Graham GG, Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. *American Journal of Therapeutics*, 2005, 12: 46-55.
63. Clissold SP. Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, 1986, 32 Suppl 4: 46-59.
64. Lim RK, Guzman F, Rodgers DW, Goto K, Braun C, Dickerson GD, Engle RJ. Site of Action of Narcotic and Non-Narcotic Analgesics Determined by Blocking

Bradykinin-Evoked Visceral Pain. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 1964, 152: 25-58.

65. Botting RM. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clinical Infectious Diseases*, 2000, 31 Suppl 5: S202-210.
66. Davies NM, Good RL, Roupe KA, Yanez JA. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error?--Not as easy as 1, 2, 3. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2004, 7: 217-226.
67. Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*, 2004, 56: 387-437.
68. Swierkosz TA, Jordan L, McBride M, McGough K, Devlin J, Botting RM. Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Medical Science Monitor*, 2002, 8: BR496-503.
69. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 2004, 18: 790-804.
70. Pini LA, Sandrini M, Vitale G. The antinociceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain. *European Journal of Pharmacology*, 1996, 308: 31-40.
71. Heymann MA. Non-narcotic analgesics. Use in pregnancy and fetal and perinatal effects. *Drugs*, 1986, 32 Suppl 4: 164-176.
72. Graham GG, Scott KF, Day RO. Tolerability of paracetamol. *Drug Safety*, 2005, 28: 227-240.
73. Fontana RJ. Acute liver failure due to drugs. *Seminars in Liver Disease*, 2008, 28: 175-187.

74. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th ed. New York, McGraw-Hill Companies Inc, 2007: 591-592.
75. Norris W, Paredes AH, Lewis JH. Drug-induced liver injury in 2007. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2008, 24: 287-297.
76. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2003, 24: 154-157.
77. Zimmerman HJ. Drug-induced liver disease. *Drugs*, 1978, 16: 25-45.
78. 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.
79. Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. *Seminars in Liver Disease*, 1990, 10: 267-278.
80. 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.
81. Gibson JD, Pumford NR, Samokyszyn VM, Hinson JA. Mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity: covalent binding versus oxidative stress. *Chemical Research in Toxicology*, 1996, 9: 580-585.
82. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition*, 2003, 31: 1499-1506.
83. Pumford NR, Roberts DW, Benson RW, Hinson JA. Immunochemical quantitation of 3-(cystein-S-yl)acetaminophen protein adducts in subcellular liver fractions following a hepatotoxic dose of acetaminophen. *Biochemical Pharmacology*, 1990, 40: 573-579.

84. Chun LJ, Tong MJ, Busuttill RW, Hiatt JR. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2009, 43: 342-349.
85. Wallace JL. Acetaminophen hepatotoxicity: NO to the rescue. *British Journal of Pharmacology*, 2004, 143: 1-2.
86. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *The New England Journal of Medicine*, 1993, 329: 2002-2012.
87. Laskin DL, Rodriguez del Valle M, Heck DE, Hwang SM, Ohnishi ST, Durham SK, Goller NL, Laskin JD. Hepatic nitric oxide production following acute endotoxemia in rats is mediated by increased inducible nitric oxide synthase gene expression. *Hepatology*, 1995, 22: 223-234.
88. Hodgson PD, Renton KW. The role of nitric oxide generation in interferon-evoked cytochrome P450 down-regulation. *International Journal of Immunopharmacology*, 1995, 17: 995-1000.
89. Nussler AK, Beger HG, Liu ZZ, Billiar TR. Nitric oxide, hepatocytes and inflammation. *Research in Immunology*, 1995, 146: 671-677.
90. Shinagawa T, Yoshioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y, Takayanagi M. Apoptosis in cultured rat hepatocytes: the effects of tumour necrosis factor alpha and interferon gamma. *The Journal of Pathology*, 1991, 165: 247-253.
91. Laskin JD, Heck DE, Gardner CR, Laskin DL. Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2001, 3: 261-271.
92. Wink DA, Miranda KM, Espey MG, Pluta RM, Hewett SJ, Colton C, Vitek M, Feelisch M, Grisham MB. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2001, 3: 203-213.
93. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 1990, 186: 421-431.

94. Hung O, Nelson LS. Emergency Medicine : A Comprehensive Study Guide. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski O (eds). *Acetaminophen*, 4th ed. New York, McGraw-Hill Companies Inc, 2000: 1125-1236.
95. Rose SR. Subtleties of managing acetaminophen poisoning. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 1994, 51: 3065-3068.
96. Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug Safety*, 2001, 24: 503-512.
97. Draganov P, Durrence H, Cox C, Reuben A. Alcohol-acetaminophen syndrome. Even moderate social drinkers are at risk. *Postgraduate Medicine*, 2000, 107: 189-195.
98. Hartley V. Paracetamol overdose. *Emergency Nurse*, 2002, 10: 17-24.
99. Bray GP, Harrison PM, O'Grady JG, Tredger JM, Williams R. Long-term anticonvulsant therapy worsens outcome in paracetamol-induced fulminant hepatic failure. *Human & Experimental Toxicology*, 1992, 11: 265-270.
100. Sanaka M, Kuyama Y, Mineshita S, Qi J, Hanada Y, Enatsu I, Tanaka H, Makino H, Yamanaka M. Pharmacokinetic interaction between acetaminophen and lansoprazole. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1999, 29: 56-58.
101. Whitcomb DC, Block GD. Association of acetaminophen hepatotoxicity with fasting and ethanol use. *The Journal of the American Medical Association*, 1994, 272: 1845-1850.
102. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology*, 1995, 22: 767-773.

103. Wang EJ, Li Y, Lin M, Chen L, Stein AP, Reuhl KR, Yang CS. Protective effects of garlic and related organosulfur compounds on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1996, 136: 146-154.
104. Wallace CI, Dargan PI, Jones AL. Paracetamol overdose: an evidence based flowchart to guide management. *Emergency Medicine Journal*, 2002, 19: 202-205.
105. Bernal W, Donaldson N, Wyncoll D, Wendon J. Blood lactate as an early predictor of outcome in paracetamol-induced acute liver failure: a cohort study. *Lancet*, 2002, 359: 558-563.
106. Schmidt LE, Dalhoff K. Serum phosphate is an early predictor of outcome in severe acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Hepatology*, 2002, 36: 659-665.
107. Prescott LF, Matthew H. Cysteamine for paracetamol overdosage. *Lancet*, 1974, 1: 998.
108. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006: CD003328.
109. 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.
110. Bond GR, Requa RK, Krenzelok EP, Normann SA, Tendler 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.
111. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*, 1977, 2: 432-434.

112. Yip L, Dart RC, Hurlbut KM. Intravenous administration of oral N-acetylcysteine. *Critical Care Medicine*, 1998, 26: 40-43.
113. Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1991, 13: 79-82.
114. Burkhart KK, Janco N, Kulig KW, Rumack BH. Cimetidine as adjunctive treatment for acetaminophen overdose. *Human & Experimental Toxicology*, 1995, 14: 299-304.
115. Slattery JT, McRorie TI, Reynolds R, Kalhorn TF, Kharasch ED, Eddy AC. Lack of effect of cimetidine on acetaminophen disposition in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1989, 46: 591-597.
116. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *The American Journal of Medicine*, 1991, 91: 131S-139S.
117. Peterson FJ, Knodell RG, Lindemann NJ, Steele NM. Prevention of acetaminophen and cocaine hepatotoxicity in mice by cimetidine treatment. *Gastroenterology*, 1983, 85: 122-129.
118. Windmeier C, Gressner AM. Pharmacological aspects of pentoxifylline with emphasis on its inhibitory actions on hepatic fibrogenesis. *General Pharmacology*, 1997, 29: 181-196.
119. McBride PV, Rumack BH. Acetaminophen intoxication. *Seminars in Dialysis*, 1992, 5: 292-297.
120. Matthew H. Acute acetaminophen poisoning. *Clinical Toxicology*, 1973, 6: 9-11.
121. Farmer DG, Anselmo DM, Ghobrial RM, Yersiz H, McDiarmid SV, Cao C, Weaver M, Figueroa J, Khan K, Vargas J, Saab S, Han S, Durazo F, Goldstein L, Holt C, Busuttil RW. Liver transplantation for fulminant hepatic failure:

- experience with more than 200 patients over a 17-year period. *Annals of Surgery*, 2003, 237: 666-75; discussion 675-676.
122. Barshes NR, Gay AN, Williams B, Patel AJ, Awad SS. Support for the acutely failing liver: a comprehensive review of historic and contemporary strategies. *Journal of the American College of Surgeons*, 2005, 201: 458-476.
123. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2007, 11: 525-548.
124. Bernal W, Wendon J, Rela M, Heaton N, Williams R. Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology*, 1998, 27: 1050-1055.
125. 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.
126. Atef M, Abo-Norage MA, Hanafy MS, Agag AE. Pharmacotoxicological aspects of nitrate and nitrite in domestic fowls. *British Poultry Science*, 1991, 32: 399-404.
127. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Tharakan ST, Sung B, Anand P. Potential of spice-derived phytochemicals for cancer prevention. *Planta Medica*, 2008, 74: 1560-1569.
128. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 2000, 14: 323-8.
129. 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. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 2001, 108: 71-3.

130. Fararh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Takewaki T. Isulinotropic properties of *Nigella sativa* oil in Streptozotocin plus Nicotinamide diabetic hamster. *Research in Veterinary Science*, 2002, 73: 279-282.
131. Badary OA. Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 67: 135-142.
132. Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 2000, 143: 219-226.
133. Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ, Kiesewetter H. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytotherapy Research*, 2003, 17: 1209-1214.
134. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research*, 2003, 17: 299-305.
135. El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International Immunopharmacology*, 2006, 6: 1135-1142.
136. 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.
137. Swamy SM, Tan BK. Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 70: 1-7.
138. 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.

139. 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.
140. Hanafy MS, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *Journal of Ethnopharmacology*, 1991, 34: 275-278.
141. Morsi NM. Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiologica Polonica*, 2000, 49: 63-74.
142. 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*, 2003, 17: 183-186.
143. Khan MA. Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 1999, 7: 15-35.
144. 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.
145. 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.
146. El-Dakhakhny 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.
147. 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.

148. Boskabady MH, Shirmohammadi B, Jandaghi P, Kiani S. Possible mechanism(s) for relaxant effect of aqueous and macerated extracts from *Nigella sativa* on tracheal chains of guinea pig. *BMC Pharmacology*, 2004, 4: 3.
149. 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.
150. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 11: 6662-6666.
151. Al-Naggar TB, Gomez-Serranillos MP, Carretero ME, Villar AM. Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 88: 63-68.
152. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine*, 2004, 11: 56-64.
153. 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 α s1-casein locus on the expression of genes in the goat mammary gland during lactation. *Reproduction Nutrition Development*, 2003, 43: 459-469.
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. Formica JV, Regelson W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 1995, 33: 1061-1080.

156. 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.
157. 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.
158. 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.
159. Chander V, Singh D, Chopra K. Catechin, a natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Pharmacological Research*, 2003, 48: 503-509.
160. 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.
161. 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.
162. Friedman LS. Our new president--Daniel K. Podolsky, M.D. *Gastroenterology*, 2003, 124: 1524-1531.
163. Bors W, Michel C, Saran M. Flavonoid antioxidants: rate constants for reactions with oxygen radicals. *Methods in Enzymology*, 1994, 234: 420-429.

164. 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.
165. Elangovan V, Sekar N, Govindasamy S. Chemopreventive potential of dietary bioflavonoids against 20-methylcholanthrene-induced tumorigenesis. *Cancer Letters*, 1994, 87: 107-113.
166. 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.
167. 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.
168. 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*, 2004, 12: 206-212.
169. 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.

170. 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*, 2005, 51: 117-123.
171. Yavaşer R. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan kapasitelerinin Karşılaştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2011.
172. Ye F, Yan S, Xu L, Jiang Z, Liu N, Xiong S, Wang Y, Chu Y. Tr1 regulatory T cells induced by ConA pretreatment prevent mice from ConA-induced hepatitis. *Immunology Letters*, 2009, 122: 198-207.
173. 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.
174. 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: G120-126.
175. 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.
176. 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.

177. 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.
178. 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.
179. 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.
180. 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.
181. 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*, 2008, 13: 217-224.
182. 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*, 2007, 7: 404-410.
183. 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.
184. Pannala AS, Rice-Evans C. Rapid screening method for relative antioxidant activities of flavonoids and phenolics. *Methods in Enzymology*, 2001, 335: 266-272.

185. Peterson J, Dwyer J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 1998, 18: 1995-2018.
186. Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicology Letters*, 1998, 95: 23-29.
187. Akkuş T. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Konya, Mimoza Yayınları, 1995: 1-80.
188. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Yayın No: 29. Afyon, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları*, 2000: 1-35.
189. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2006, 160: 1-40.
190. 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.
191. Kılınç A, Kılınç K. *Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri*, 1. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2000.
192. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutation Research*, 2004, 567: 1-61.
193. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *The Biochemical Journal*, 1984, 219: 1-14.
194. 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.

195. Weiss SJ, LoBuglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Laboratory Investigation*, 1982, 47: 5-18.
196. Buonocore G, Groenendaal F. Anti-oxidant strategies. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 2007, 12: 287-295.
197. 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.
198. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, 1985, 1: 3-25.
199. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation*, 1982, 47: 412-426.
200. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 1990, 186: 1-85.
201. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 1985, 312: 159-163.
202. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.
203. 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*, 1987, 127: 21-28.
204. Afanas'ev IB. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological & pathological conditions. *Molecular Biotechnology*, 2007, 37: 2-4.
205. Auroma O. Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1999, 8: 53-63.

206. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 1989, 82: 747-752.
207. 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.
208. Kutay F. Enzimler. İçinde: Onat T, Emerk K, Sözmen EY (editörler). *İnsan Biyokimyası*, 2. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2002: 197-220, 439.
209. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*, 25th ed. New York, McGraw-Hill Companies Inc, 2000: 254-258.
210. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger, Principles of Biochemistry*, 3th ed. New York, 2000: 784-787.
211. Aslan R, DüNDAR Y. Bir fizyolojik eleman olarak azot oksit. *Hayvan Araştırma Dergisi*, 1998, 8: 34-38.
212. Lohinai ZM, Szabo C. Role of nitric oxide in physiology and patophysiology of periodontal tissues. *Medical Science Monitor*, 1998, 4: 1089-1095.
213. 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.
214. 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.
215. Baccanari DP. Coupled oxidation of NADPH with thiols at neutral pH. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1978, 191: 351-357.
216. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1997, 3-4: 92-95.

217. Prichard M, Ducharme NG, Wilkins PA, Erb HN, Butt M. Xanthine oxidase formation during experimental ischemia of the equine small intestine. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 1991, 55: 310-314.
218. Seifried HE, Anderson DE, Sorkin BC, Costello RB. Free radicals: the pros and cons of antioxidants. Executive summary report. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134: 3143S-3163S.
219. Houston M, Estevez A, Chumley P, Aslan M, Marklund S, Parks DA, Freeman BA. Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium. Kinetic characterization and oxidative impairment of nitric oxide-dependent signaling. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 4985-4994.
220. Doctor RB, Mandel LJ. Minimal role of xanthine oxidase and oxygen free radicals in rat renal tubular reoxygenation injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 1991, 1: 959-969.
221. Hirata F, Hayaishi O. Possible participation of superoxide anion in the intestinal tryptophan 2,3-dioxygenase reaction. *The Journal of Biological Chemistry*, 1971, 246: 7825-7826.
222. 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.
223. 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.

224. Ersoy A, Dilek K. Hemodiyaliz Hastalarında Eritrosit Membran Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidatif Homeostazis Değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1999, 1: 1-4.
225. 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.
226. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2003, 14: S221-226.
227. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters*, 1991, 281: 9-19.
228. Panduri V, Weitzman SA, Chandel NS, Kamp DW. Mitochondrial-derived free radicals mediate asbestos-induced alveolar epithelial cell apoptosis. *American Journal of Physiology*, 2004, 286: L1220-1227.
229. 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.
230. Thomas CE, Aust SD. Free radicals and environmental toxins. *Annals of Emergency Medicine*, 1986, 15: 1075-1083.
231. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*, 1999, 424: 83-95.
232. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57: 715S-724S; discussion 724S-725S.

233. Çakatay U, Kayalı R. Protein oksidasyonunun klinik öemi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2004, 35: 140-149.
234. Ozdemir R, Parlakpınar H, Polat A, Colak C, Ermis N, Acet A. Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. *Toxicology*, 2006, 219: 142-149.
235. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Cıtil M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2007, 59: 121-128.
236. 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*, 2006, 44: 393-397.
237. Friedberg EC. *DNA Repair and Mutagenesis*, 2th ed. New York, Freeman WH and Company, 1984: 1-2.
238. 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.
239. Teoule R. Radiation-induced DNA damage and its repair. *International Journal of Radiation Biology & Related Studies in Physics, Chemistry & Medicine*, 1987, 51: 573-589.
240. Dizdaroglu M. Chemical determination of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Methods in Enzymology*, 1994, 234: 3-16.
241. 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.

242. 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.
243. Halliwell B. Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker? *Free Radical Biology & Medicine*, 2002, 32: 968-974.
244. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3th ed. London, Oxford University Press Inc, 1999.
245. Milligan JR, Ward JF. Yield of single-strand breaks due to attack on DNA by scavenger-derived radicals. *Radiation Research*, 1994, 137: 295-299.
246. 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.
247. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 2003, 17: 1195-1214.
248. 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.
249. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 2000, 21: 361-370.
250. Aust AE, Eveleigh JF. Mechanisms of DNA oxidation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1999, 222: 246-252.
251. 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.

252. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2004, 15: 91-96.
253. Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. *Reproductive Toxicology*, 1999, 13: 347-352.
254. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2004, 44: 275-295.
255. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 1995, 64: 97-112.
256. 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.
257. 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.
258. 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.
259. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ. *Biyokimya*, 6. Baskı. Ankara, Aktif Yayınevi, 2009: 348-470.
260. 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.

261. 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.
262. Blumberg J. Use of biomarkers of oxidative stress in research studies. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134: 3188S-3189S.
263. Değirmenci E. Acil Servise Başvuran Hastalarda Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Araştırılması. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi. Acil Tıp Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2013.
264. Sun WY, Wei W, Gui SY, Wu L, Wang H. Protective effect of extract from *Paeonia lactiflora* and *Astragalus membranaceus* against liver injury induced by bacillus Calmette-Guerin and lipopolysaccharide in mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2008, 103: 143-149.
265. Astegiano M, Sapone N, Demarchi B, Rossetti S, Bonardi R, Rizzetto M. Laboratory evaluation of the patient with liver disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2004, 8: 3-9.
266. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *The New England Journal of Medicine*, 2000, 342: 1266-1271.
267. Satoh M, Yamazaki M. Tumor necrosis factor stimulates DNA synthesis of mouse hepatocytes in primary culture and is suppressed by transforming growth factor beta and interleukin 6. *Journal of Cellular Physiology*, 1992, 150: 134-139.
268. Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*, 2006, 43: S31-44.

269. Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, 1995, 21: 1045-1050.
270. Gupta SK, Saxena A, Singh U, Arya DS. Bosentan, the mixed ETA-ETB endothelin receptor antagonist, attenuated oxidative stress after experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2005, 275: 67-74.
271. Luster MI, Simeonova PP, Gallucci RM, Bruccoleri A, Blazka ME, Yucesoy B, Matheson JM. The role of tumor necrosis factor alpha in chemical-induced hepatotoxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, 919: 214-220.
272. Akerman P, Cote P, Yang SQ, McClain C, Nelson S, Bagby GJ, Diehl AM. Antibodies to tumor necrosis factor-alpha inhibit liver regeneration after partial hepatectomy. *The American Journal of Physiology*, 1992, 263: G579-585.
273. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of Azadirachta indica leaf extract: part II. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 89: 217-219.
274. 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. Part A*, 1998, 53: 223-229.
275. 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.
276. Jakoby WB, Ziegler DM. The enzymes of detoxication. *The Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265: 20715-20718.

277. Arundel C, Lewis JH. Drug-induced liver disease in 2006. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2007, 23: 244-254.
278. Gyamlani GG, Parikh CR. Acetaminophen toxicity: suicidal vs. accidental. *Critical Care*, 2002, 6: 155-159.
279. Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology Letters*, 2003, 144: 279-288.
280. Murat K. Asetaminofen ile uyarılan karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerinde katekinlerin koruyucu etkisinin incelenmesi. Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. Ankara: Başkent Üniversitesi, 2010.
281. Albano E, Rundgren M, Harvison PJ, Nelson SD, Moldeus P. Mechanisms of N-acetyl-p-benzoquinone imine cytotoxicity. *Molecular Pharmacology*, 1985, 28: 306-11.
282. 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.
283. Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Critical Reviews in Toxicology*, 1987, 18: 27-79.
284. Dix TA, Aikens J. Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation. *Chemical Research in Toxicology*, 1993, 6: 2-18.
285. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*, 1993, 23: 21-48.
286. Wu YL, Jiang YZ, Jin XJ, Lian LH, Piao JY, Wan Y, Jin HR, Joon Lee J, Nan JX. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, protects acetaminophen-induced hepatic toxicity in mice. *Phytomedicine*, 2010, 17: 475-479.

287. Fagan E, Wannan G. Reducing paracetamol overdoses. *British Medical Journal*, 1996, 313: 1417-1418.
288. 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.
289. Ahmed MB, Khater MR. Evaluation of the protective potential of *Ambrosia maritima* extract on acetaminophen-induced liver damage. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 75: 169-174.
290. Kamanaka Y, Kawabata A, Matsuya H, Taga C, Sekiguchi F, Kawao N. Effect of a potent iNOS inhibitor (ONO-1714) on acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat. *Life Sciences*, 2003, 74: 793-802.
291. Mandal SC, Saraswathi B, Kumar CK, Mohana Lakshmi S, Maiti BC. Protective effect of leaf extract of *Ficus hispida* Linn. against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research*, 2000, 14: 457-459.
292. Ojo OO, Kabutu FR, Bello M, Babayo U. Inhibition of paracetamol-induced oxidative stress in rats by extracts of lemongrass (*Cymbropogon citratus*) and green tea (*Camellia sinensis*) in rats. *African Journal of Biotechnology*, 2006, 5: 1227-1232.
293. Hohmann MS, Cardoso RD, Pinho-Ribeiro FA, Crespigio J, Cunha TM, Alves-Filho JC, da Silva RV, Pinge-Filho P, Ferreira SH, Cunha FQ, Casagrande R, Verri WA, Jr. 5-lipoxygenase deficiency reduces acetaminophen-induced hepatotoxicity and lethality. *BioMed Research International*, 2013, 2013: 627046.
294. El-Fatraty HM. Isolation and structure assignment of an antimicrobial principle from the volatile oil of *Nigella sativa* L. seeds. *Die Pharmazie*, 1975, 30: 109-111.

295. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *American Family Physician*, 2005, 71: 1105-1110.
296. Manda K, Bhatia AL. Role of β -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Nutrition Research*, 2003, 23: 1097-1103.
297. Gandhi A, Guo T, Ghose R. Role of c-Jun N-terminal kinase (JNK) in regulating tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) mediated increase of acetaminophen (APAP) and chlorpromazine (CPZ) toxicity in murine hepatocytes. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2010, 35: 163-173.
298. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1995, 133: 43-52.
299. Blazka ME, Elwell MR, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Histopathology of acetaminophen-induced liver changes: role of interleukin 1 alpha and tumor necrosis factor alpha. *Toxicologic Pathology*, 1996, 24: 181-189.
300. Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK, Herunsalee A, Charuchongkolwongse S, Niumsukul S, Srichairat S. Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2005, 28: 1165-1171.
301. Gao H, Zhou YW. Anti-lipid peroxidation and protection of liver mitochondria against injuries by picoside II. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 11: 3671-3674.
302. 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.

303. Yagi K. Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic diseases. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1994, 366: 165-169.
304. 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.
305. Kilciksiz S, Demirel C, Erdal N, Gurgul S, Tamer L, Ayaz L, Ors Y. The effect of N-acetylcysteine on biomarkers for radiation-induced oxidative damage in a rat model. *Acta Medica Okayama*, 2008, 62: 403-409.
306. Bo T, Zhihong P, Peiwu Y, Feng Q, Ziqiang W, Yan S, Yongliang Z, Huaxin L. General complications following laparoscopic-assisted gastrectomy and analysis of techniques to manage them. *Surgical Endoscopy*, 2009, 23: 1860-1865.
307. N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review*, 2000, 5: 467-471.

EK-1. Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Nuh YAYLA
Doğum Tarihi	: 19.08.1983
Doğum Yeri	: Erzurum
Medeni Hali	: Evli, 1 çocuk
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240, Erzurum
Tel	: 0537 875 80 64
Fax	: 0442 327 88 00
E-mail	: nuhyayla@outlook.com.tr
Eğitim	
Lise	: Erzurum Lisesi (2002)
Lisans	: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2003-2007)
Yabancı Dil Bilgisi	
Yok	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Türk Eczacıları Birliği – 13. Bölge Erzurum Eczacılar Odası	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Kitap okuma Yüzme Bilgisayar ve Teknoloji	

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



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



Sayı : B.30.2.ATA.0.23.85-28
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

24.02.2012
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 22.02.2012 tarih ve B.30.2.ATA.0.22.02.02/140 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "**Nigella Sativa Etanol Ekstresinin Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 24.02.2012 tarih ve 2 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 17 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Sın
Yrd.Doç.Dr. Y. Bayır'ın
27.02.2012

Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
Başkan

Toplantı Tarihi : 24.02.2012

Toplantı Sayısı : 2

KARAR NO : 17- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "**Nigella Sativa Etanol Ekstresinin Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 22.02.2012 tarih ve B.30.2.ATA.0.22.02.02/140 sayılı yazıları 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 – Kampus/ERZURUM
Telefon : 0-442-236 08 80 Fax : 0-442-236 08 81 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr