

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BİTKİ EKSTRAKLARININ ADRIYAMİSİN UYGULANAN PİLİÇ
EMBRİYOSUNUN GÖZ VE KALP KASI ÜZERİNDEKİ ANTIOKSİDAN
ETKİLERİ**

Nesrin HAŞİMİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2006**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BİTKİ EKSTRAKLARININ ADRIYAMİSİN UYGULANAN PİLİÇ
EMBRİYOSUNUN GÖZ VE KALP KASI ÜZERİNDEKİ ANTIOKSİDAN
ETKİLERİ**

Nesrin HAŞİMİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2006**

Doç. Dr. Davut MUSA danışmanlığında, Nesrin HAŞİMİ 'nin hazırladığı “ Bazı Bitki Ekstraklarının Adriyaminin Uygulanan Piliç Embriyosunun Göz ve Kalp Kası Üzerindeki Antioksidan Etkileri ” konulu bu çalışma 10/02/2006 tarihinde Aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Davut MUSA

Üye : Doç. Dr. Nihat DİLSİZ

Üye : Doç. Dr. Muharrem BİTİREN

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr. İbrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu çalışma HÜBAK tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 569

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Kuş Embriyosu Gelişiminde Önemli Rol Oynayan Embriyo Örtüleri	4
2.1.1. Amnion kesesi	4
2.1.2. Koriyon (Seroza)	5
2.1.3. Allantois	5
2.2. Serbest Radikaller.....	5
2.2.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türevleri.....	6
2.2.1.1. Süperoksid radikali (O ⁻²).....	7
2.2.1.2. Hidrojen peroksid (H ₂ O ₂).....	8
2.2.1.3. Hidroksil radikali (*OH).....	9
2.2.1.4. Tekli (singlet) oksijen (*O ₂)	10
2.2.2. Serbest radikallerin kaynakları.....	11
2.2.2.1. Biyolojik kaynaklar	11
2.2.2.2. Hücre içi kaynaklar	11
2.2.3. Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar	11
2.2.3.1. Proteinlere etkileri	12
2.2.3.2. Nükleik asit ve DNA'ya etkileri.....	12
2.2.3.3. Karbonhidratlara etkisi.....	12
2.2.3.4. Lipidler üzerine etkisi.....	13
2.3. Antioksidanlar	13
2.3.1. Enzim antioksidanlar	13
2.3.1.1. Süperoksid dismutaz (SOD)	14
2.3.1.2. Katalaz.....	14
2.3.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH Px)	15
2.3.1.4. Mitokondriyal sitokrom oksidaz.....	15
2.3.2. Enzim olmayan antioksidanlar	16
2.3.2.1. Askorbik asit (C vitamini).....	16
2.3.2.2. β-Karoten (vitamin A ön maddesi).....	16
2.3.2.3. Vitamin E.....	17
2.4. Ekstreleri Kullanılan Bitkiler.....	17
2.4.1. <i>Trigonella foenum graecum</i>	17
2.4.2. <i>Nigella sativa</i>	19
2.5. Antrasiklin Antibiyotikler ve Adriamycin (ADR).....	24
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	28
3.1. Deney Hayvanları.....	28
3.2. Bitki Ekstraksiyon Yöntemi	28
3.3. Yumurtaların Muayenesi ve Enjeksiyon Tekniği.....	28
3.4. Deney Grupları.....	31
3.5. Preperatların Hazırlanması.....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	34
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	49
ÖZET	50
SUMMARY	52

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI BİTKİ EKSTRAKLARININ ADRIYAMİSİN UYGULANAN PİLİÇ EMBRİYOSUNUN GÖZ VE KALP KASI ÜZERİNDEKİ ANTIOKSİDAN ETKİLERİ

Nesrin HAŞİMİ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Davut MUSA
Yıl: 2006, Sayfa 53

Bu çalışmada, *Nigella sativa* ve *Trigonella foenum graecum* bitkilerinin adriyamisini uygulanan hızlı bölünen hücreler üzerindeki muhtemel etkileri araştırıldı. Adriyamisinden kaynaklanan serbest radikallerin piliç embriyosu göz ve kalp dokusu üzerindeki zararlarına karşı bu bitki ekstraktlarının etkileri araştırıldı. 480 adet Broiler cinsi döllenmiş yumurtalar 8 eşit gruba ayrıldı. Her embriyoya 10 µg adriyamisini, 4 mg ve 8 mg bitki ekstraktlarından önce ve sonra verildi. Embriyolar 8 günlükken ve 19 günlükken yumurtalar açılıp fizyolojik su ile yıkanarak hassas terazide kalp ve vücut ağırlıkları alındı. *Nigella sativa*'nın adriyamisinden kaynaklanan serbest radikallere ve kardiyotoksitesiteye karşı kalbi koruduğu görüldü. *Trigonella foenum graecum* 'da böyle bir etki görülmedi. Bunun sonucunda biz *Nigella sativa* 'nın adriyamisinin kalpteki toksisitesine karşı tedavi edici etkisinin olduğunu öneriyoruz.

ANAHTAR KELİMELER: *Nigella sativa* , *Trigonella foenum graecum*, Piliç Embriyosu,
Adriyamisini

ABSTRACT

MSc Thesis

ANTIOXIDANT EFFECTS OF SOME HERB EXTRACT ON HEARD AND EYE OF CHICK EMBRYO TREATED WITH ADRIAMYCIN

Nesrin HAŞİMİ

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Davut MUSA

Year: 2006, Page: 53

The present study was done to investigate the possible effects of *Nigella sativa* and *Trigonella foenum graecum* on chick embryo rapid dividing cells. To investigate the effect of extract against free radicals caused by adriamycin in chick embryo eye and heart tissue. 480 fertile eggs of broiler chickens were divided into 8 equal groups. Adriamycin (10 µg) was applied to each embryo before and after treatments with 4 mg and 8 mg *Nigella sativa* and *Trigonella foenum graecum*. Eight and nineteen days old embryos were liberated from egg shells washed with normal saline to remove all derbies and weighed, hearts were removed and weighed in sensitive balance. *Nigella sativa* can reduce adriamycin induced cardiotoxicity and may be protective for adriamycin induced free radical damage in the heart tissue while there is no significant results in *Trigonella foenum graecum* case. Histopathological observations did not shows any changes in heart tissue. So we suggest that protective effect of *N. sativa* treatment on adriamycin heart toxicity should be evaluated extensively.

KEY WORDS: *Nigella sativa* , *Trigonella foenum graecum*, Chick Embryo, Adriamycin

TEŞEKKÜR

Bu alıőmada benden yardımlarını esirgemeyen danıőmanım sayın Do. Dr. Davut MUSA 'ya, Bölüm Başkanı Do. Dr. Nihat DİLSİZ'e, Veteriner Fakültesinden Yrd. Doç. Dr. Muğdat YERTÜRK 'e, Tıp Fakültesi Patoloji ABD Başkanı Doç. Dr. Muharrem BİTİREN'e, sevgili arkadaşlarım Ayőe Nur AKGÜNLÜ, Gülten ŐENOCAK ve Lokman VARIŐLI'ya teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. 14 günlük piliç embriyosu şeması	4
Şekil 2.2. <i>Trigonella foenum graecum</i> 'un bir görüntüsü.....	18
Şekil 2.3. <i>Trigonella foenum graecum</i> 'un tohumları	18
Şekil 2.4. <i>Nigella sativa</i> 'nın bir görüntüsü.....	19
Şekil 2.5. <i>Nigella sativa</i> 'nın tohumları	20
Şekil 2.6. Adriyaminin 'in kimyasal formülü	26
Şekil 3.1. Döllenen yumurtaya ekim usulleri	29
Şekil 3.2. Embriyolara bitki ekstresi enjeksiyonu	30
Şekil 3.3. Hassas terazide vücut ağırlığının alınışı.....	30
Şekil 3.4. Hassas terazide kalp ağırlığının alınışı.....	30
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait gözün enine kesiti	37
Şekil 4.2. ADR grubuna ait gözün enine kesiti	37
Şekil 4.3. AN4 grubuna ait gözün enine kesiti	38
Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait kalp kesiti.....	38
Şekil 4.5. ADR grubuna ait kalp kesiti	39
Şekil 4.6. AN4 grubuna ait kalp kesiti	39
Şekil 4.7. TA4 grubuna ait kalp kesiti	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Oksijenden oluşan başlıca reaktif türler	7
Çizelge 2.2. Antrasiklinlerin biyolojik etkileri	25
Çizelge 3.1. Kullanılan fiksatiflerin formülleri	32
Çizelge 3.2. Malory üçlü boya formülü	33
Çizelge 4.1. Deney gruplarının vücut ve kalp ağırlığı ortalamaları	34
Çizelge 4.2. ADR grubu ile diğer grupların istatistiksel karşılaştırılması	36

SİMGELER DİZİNİ

ADR	Adriyamin
AN4	10 µg Adriyamin ve 4 mg <i>Nigella sativa</i> ekstresi verilen deney grubu
AN8	10 µg Adriyamin ve 8 mg <i>Nigella sativa</i> ekstresi verilen deney grubu
AT4	10 µg Adriyamin ve 4 mg <i>Trigonella foenum graecum</i> ekstresi verilen deney grubu
DNA	Deoksi Ribonükleik Asit
DTQ	Ditimokinon
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Redükte Formu
NA4	4 mg <i>Nigella sativa</i> ekstresi ve 10 µg Adriyamin verilen deney grubu
NK	Natural Killer Hücreler
RNA	Ribonükleik asit
SOD	Süperoksit Dismutaz
TA4	4 mg <i>Trigonella foenum graecum</i> ekstresi ve 10 µg Adriyamin verilen deney grubu
TA8	8 mg <i>Trigonella foenum graecum</i> ekstresi ve 10 µg Adriyamin verilen deney grubu
THQ	Timohidrokinon
TQ	Timokinon

1. GİRİŞ

Serbest radikal dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan bir atom veya moleküldür. Hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar (Barton ve Zard, 1985; Mearson ve ark., 1982). Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (Del Maestro, 1980; Kehrer ve Smith, 1994).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Akkuş, 1995). Normalde oksijen aerobik hücrelerde oksidatif fosforilasyon yoluyla enerji üretiminde kullanılan zorunlu bir maddedir (Basaga, 1990; Hinder ve Stein, 1991).

Normal metabolizmanın yanı sıra hiperoksia, inflamasyon, radyasyonla artan oksijen metabolizması süperoksit, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitin oluşumunu arttırır. Klinik uygulamalarda kullanılan birçok preparat özellikle antineoplastik ajanlar örneğin; adriyamisin (ADR), daunorubicin ve aktiviteleri için quinoid gruplar yada metallere gereksinim duyan antibiyotikler oksijenin serbest radikallerini açığa çıkarabilirler (Erden, 1992).

Serbest oksijen radikalleri, hücrenin önemli komponentleri olan lipid, karbonhidrat, protein ve DNA'yı oksitleyerek biyolojik sistemlerde ağır hücre zedelenmelerine neden olurlar (Uysal, 1998). Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık

savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (Halliwell, 1996; Nakazawa ve ark., 1996).

Adriyamisin kemoterapide kullanılan sitotoksik antrasiklin antibiyotiktir (Çerçi ve Ulakoğlu, 2001; Booser ve Hortobagy, 1994; Muggia ve Green, 1991; Lee ve ark., 2002). Çok geniş spektrumlu olmasına karşın yan etkilerinin fazla oluşu ADR için bir dezavantajdır. En büyük yan etkileri kemik iliği depresyonu (Kaya, 1995; Ommaty, 2001) ile akut ve kronik kardiyotoksitesidir (Çerçi ve Ulakoğlu, 2001; Booser ve Hortobagy, 1994; Muggia ve Green, 1991; Lee ve ark., 2002). ADR, DNA'ya bağlanma ve nükleik asit sentezini inhibe etme yeteneğine sahiptir ve lipid peroksit radikalleri şeklinde kardiyotoksitesiteye neden olmaktadır (Çerçi ve Ulakoğlu, 2001).

Nigella sativa ve *Trigonella foenum graecum* halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerdir. *Trigonella foenum graecum* yurdumuzda ve Akdeniz Havzasında yetişen tek yıllık ve otsu bir bitkidir. Yurdumuzda, Hindistan'da, Güney Afrika'da ve Akdeniz Ülkeleri'nde kültürleri yapılmaktadır (Alhabori ve Raman, 1998). *Trigonella foenum graecum* bitkisinin diyabette kan şekeri ve kolesterol düşürücü etkisinin olduğu (Bordia ve ark., 1997) ve kanda lipid peroksidasyonunu engellediği (Ravikumar ve Anuradha, 1999) deneylerle gösterilmiştir.

Nigella sativa yüzyıllardan beri Orta Doğu, Kuzey Afrika, Uzak Doğu ve Asya'da geleneksel tedavi yöntemi olarak kullanılmakla birlikte ekmek ve yemeklerde baharat olarakta kullanılmaktadır (Salemai ve Hossainb, 2000). Yapılan çalışmalar *Nigella sativa* 'nın antitümoral (Nari ve ark., 1991; Salomi ve ark., 1992), bakterisid (El-Komali ve ark., 1998; Mouhajir ve ark., 1999), antisestod ve antinematod (Mahmoud ve ark., 2002), antiinflamatuvar (Houghton ve ark., 1995; Mutabagani ve El- Mahdy, 1997), analjezik (Khanna ve ark., 1993), antidiyabetik (Al-Hader ve ark., 1993) ve diüretik (Zaoui ve ark., 2002) etkisinin olduğunu ortaya koymuştur.

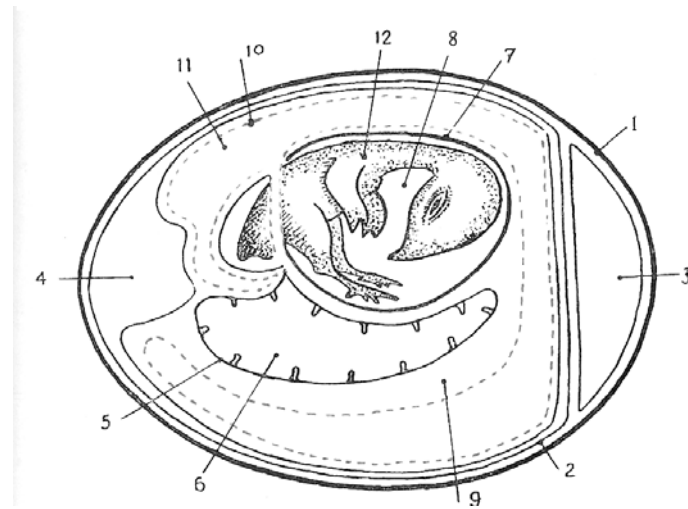
Nigella sativa'nın çeşitli farmakolojik etkisi (antibakteriyel, antiparazitik ve antiinflamatuvar) içerdiği timokinon (TQ), timohidrokinon (THQ), ditimokinon (DTQ), carbacol, nigellicine, nigellimine N-oksit, nigellidine, ve α -hedrin maddelerinden kaynaklanmaktadır (Randhawa ve Al-Ghamdi, 2002).

Bu çalışmada *Nigella sativa* ve *Trigonella foenum graecum* metanol ekstralarının adriyaminin uygulanan hızlı bölünen hücreler üzerindeki sitotoksik ve histolojik etkileriyle piliç embriyosunun vücut ve kalp ağırlıkları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Hızlı bölünen hücre olarak yumurta içinde gelişmekte olan piliç embriyosu kullanılmıştır. Yumurtanın kapalı bir sistem olmasından dolayı farmakolojik ve teratojenik çalışmalarda yumurta içinde gelişmekte olan piliç embriyosu sıkça kullanılmaktadır. Bizim bu çalışmada denek olarak piliç embriyosu seçmemizin sebebi; yumurtanın kapalı bir sistem olması, kuluçka süresinin kısa olması ve ucuza mal olmasıdır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kuş Embriyosu Gelişiminde Önemli Rol Oynayan Embriyo Örtüleri

Kuş embriyosunda üç farklı embriyo örtüsü gelişir. Bunlar Amniyon, Koriyon (seroza) ve Allantoistir. Embriyo yumurtadan çıkarken Amniyon ve Seroza tamamen, Allantoisin ise büyük bir kısmı atılır. Vitellus kesesi barsağa bağlı kalır (Akpınar, 2001). Şekil 2.1.'de 14 günlük tavuk embriyosunun şeması görülmektedir.



Şekil 2.1. 14 günlük piliç embriyosu şeması (Çetin, 1968) 1. kabuk
2. kabuk zarı 3. hava boşluğu 4. albumin 5. vitellus zarı
6. vitellus 7. amniyotik zar 8. amniyotik boşluk
9. ekstraembriyal boşluk 10. koryoallantoik zar
11. allantoik boşluk 12. embriyo

2.1.1. Amniyon kesesi

Embriyoyu kese şeklinde kuşatan bir örtüdür. Embriyoyu kurumaktan ve dış etkilere koruyan amniyon boşluğu amniyon sıvısı ile doludur. Embriyo bu sıvı

içinde gelişimini tamamlar. Amnion kesesi embriyonik gelişimin 30. saatinde oluşmaya başlar (Akpınar, 2001).

2.1.2. Koriyon (seroza)

Amniyon kıvrımlarının dış tabakasından meydana gelen bir örtüdür. Gelişimi, amnion kesesi tamamlandıktan sonra başlar. Koriyon, gelişimin ikinci haftası sonuna doğru vitellus kesesini tamamen kuşatacak şekilde büyür ve yumurta zarları kireçli kabuğa yapışır. Embriyoyu dıştan tamamen kuşatan koriyon ile amniyon arasındaki boşluk (sero-amniyotik boşluk) embriyo dışı boşluktur. Sonuçta embriyo, koriyon tarafından kuşatılan embriyo örtüleri içinde kalmış olur (Akpınar, 2001).

2.1.3. Allantois kesesi

Allantois gelişimin 4. gününde embriyo vücudunun dışına yani embriyo dışı sölom içine uzanır. Allantois boşluğu bir sıvı ile doludur. Kese, 4. günden 10. güne kadar hızlı bir şekilde büyüyerek sero-amniyotik alanda yayılıp yassılaşıp vitellus kesesi ve embriyoyu kuşatır. Embriyo kanının oksijenlenmesi ve metabolik atık olan CO₂ 'in dışarı atılması allantois dolaşım ile gerçekleştirilir. Bunun yanında diğer atık maddelerini örneğin azotlu bileşikleri toplama görevini de yaparak embriyo dışı böbrek fonksiyonunu gerçekleştirir. Ayrıca albuminin emilmesi ve embriyoya iletilmesini, gelişimin ileri safhalarında kemik oluşumu için gerekli olan kalsiyumun yumurta kabuğundan emilmesini sağlar (Akpınar, 2001).

2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikal dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan bir atom veya moleküldür. Hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar (Barton ve Zard, 1985; Mearson ve ark., 1982). Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok

aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (Del Maestro, 1980; Kehrer ve Smith, 1994).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelmektedirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklaşmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizle ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995).

2.2.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Akkuş, 1995). Oksijen atomunun dış yörüngesini oluşturan p orbitalinde 2 elektron (e^-) eksik olduğundan diradikal olarak kabul edilir. Oksijen radikal durumunda iken radikal olmayan yapılarla yavaş, serbest radikallerle ise kolayca reaksiyona girebilmektedirler (Cheeseman ve Slater, 1993; Riley, 1994).

Normalde oksijen aerobik hücrelerde oksidatif fosforilasyon yoluyla enerji üretiminde kullanılan zorunlu bir maddedir (Basaga, 1990; Hinder ve Stein, 1991). Oksijen moleküllerinin %95-99'u oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondriyal sitokrom oksidazlar ile 4 elektron alarak suya dönüştürülmekte ($\text{O}_2 + 4 e^- \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$) ve sonuçta ATP elde edilmektedir. Ancak bu zincirden sızan %1-5 oranında oksijen molekülü suya katalitik olmayan adımlarla indirgenirken bazı toksik maddeler oluşmaktadır (Luft ve Lanndau, 1995). Oluşan bu maddeler reaktif oksijen serbest radikalleri olarak bilinmektedir. Çizelge 2.1.'de oksijenden oluşan başlıca reaktif türler gösterilmektedir. Aerobik hücredeki serbest radikal biyokimyasının en önemli reaktanları işte bu nedenle oksijen ve onun radikal türevleri olmaktadır (Barber ve Harris, 1994).

Çizelge 2.1. Oksijenden oluşan başlıca reaktif türler (Kılınç ve Kılınç, 2002)

Tür	Adı
O_2^{\bullet}	Singlet oksijen
$\text{O}_2^{\bullet -}$	Süperoksid
H_2O_2	Hidrojen peroksit
OH^{\bullet}	Hidroksil radikali
ROO^{\bullet}	Peroksi radikali
RO^{\bullet}	Alkoksi radikali
ROOR^{\bullet}	Endoperoksit
HO_2^{\bullet}	Hidroperoksit radikali

2.2.1.1. Süperoksid radikali ($\text{O}_2^{\bullet -}$)

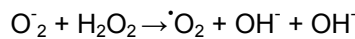
Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksid, başlıca şu mekanizmalarla üretilmektedir.

1. İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksid radikali oluşur.
2. Başta çeşitli hidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksid radikali bir ürün olarak oluşabilir.
3. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksid yapımı ile sonlanır.
4. Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksid üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif ürünlerin oluşumunu da başlatır (Kılınç ve Kılınç, 2002).

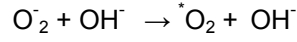
Süperoksid, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (Akkuş, 1995).

Süperoksid radikali ortamdan uzaklaştırılmazsa;

1. Ortamdan bir proton alarak perhidroksil radikali oluşturabilir.
2. H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ve tekli oksijen oluşturabilir.



3. Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek tekli oksijen oluşturabilir (Kılınç ve Kılınç, 2002).

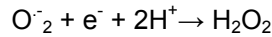


Süperoksit radikalinin ortamdan uzaklaştırıldığı tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir ve bu tepkime, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından süperoksit radikalinden hidrojen peroksit ve oksijen molekülü oluşmasıyla sonuçlanır (Kılınç ve Kılınç, 2002).

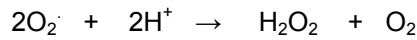


2.2.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

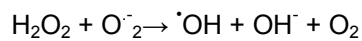
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi meydana getirir.



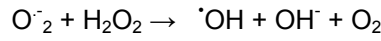
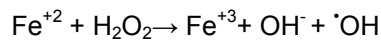
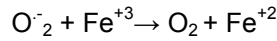
Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur ki bu dismutasyon ya spontaldır yada düperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenir (Akkuş, 1995).



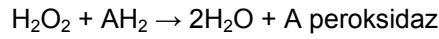
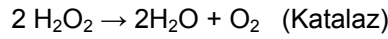
Hidrojen peroksit yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin bakır, demir gibi metal iyonların varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasıdır (Kılınç ve Kılınç, 2002).



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Bu reaksiyon ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz cereyan edebilir. Fakat katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{3+}) süperoksid tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir, sonra bu ferro demir kullanılarak “Fenton reaksiyonu” ile hidrojen peroksitten $\cdot OH$ ve OH^- üretilir (Akkuş, 1995).



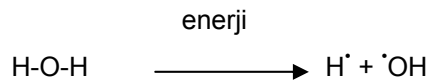
H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır (Akkuş, 1995). Biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli oksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirirler (Kılınç ve Kılınç, 2002).



2.2.1.3. Hidroksil radikali ($\cdot OH$)

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilebilen hidroksil radikali ($\cdot OH$) canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir:

1. İyonlaştırıcı radyasyon etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması gerçekleşir:



2. Hidrojen peroksidin eksik indirgenmesi ile $\cdot\text{OH}$ yapımı, vücutta bu radikalin en önemli kaynağıdır. H_2O_2 'nin iki elektron ile indirgenmesiyle su oluşurken, tek elektronla indirgenmesi $\cdot\text{OH}$ yapımına neden olur. Bu tür indirgenme Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir (Fenton reaksiyonu) (Kılınç ve Kılınç, 2002).

Son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur. (Akkuş, 1995).

2.2.1.4. Tekli (singlet) oksijen ($\cdot\text{O}_2$)

Singlet oksijen ($\cdot\text{O}_2$) ortaklaşmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür (Akkuş, 1995). Başlıca şu mekanizmalarla vücutta oluşabilir;

1. Pigmentlerin (örneğin flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorplamasıyla
2. Hidroperoksitlerin metaller varlığındaki yıkım tepkimelerinde
3. Spontal dismutasyon tepkimeleri sırasında (örneğin fagozom içinde)
4. Prostoglandin endoperoksit sentaz, bazı sitokrom p^{450} tepkimelerinde, miyelo/ kloro/ laktoperoksitaz enzimlerinin etkileri sırasında (Kılınç ve Kılınç, 2002).

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($\text{R}\cdot$), peroksil radikalleri ($\text{RO}\cdot$), tiyol radikalleri ($\text{RS}\cdot$) gibi önemli serbest radikaller de meydana gelirler. Bunlardan özellikle poliansatüre yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir (Akkuş, 1995).

2.2.2. Serbest radikallerin kaynakları

2.2.2.1. Biyolojik kaynakları

Aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar (Nitrofurantoin, bleomisin, doxorubicin, adriyamisin), radyasyon, alkol, uyuşturucu, hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar ve strese artan katekolaminlerin oksidasyonu serbest radikal kaynağıdır (Akkuş,1995).

2.2.2.2. Hücre içi kaynakları

Tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler ve antibiyotiklerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin), mitokondriyal elektron transportu, lipoksijenaz, prostoglandin, NADPH oksidaz, iskemi, tramva, oksidazlar ve flavoproteinler bilinen serbest radikal oluşturan kaynaklardır (Akkuş, 1995).

2.2.3. Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar

Fizyolojik ve Patolojik durumlarda, organizma yüksek oranda oksidanlarla ve serbest radikallerle karşılaşabilir. Metabolitik hızın ve oksijen basıncının artması ile redoks etkinlikli ksenobiyotiklerin alınması ve hücrel antioksidan yetersizliğinin sonucu olarak oksidan baskının artabileceği gösterilmiştir. Bu radikallerin önemli bir kısmı antioksidanlar ve bazı enzimatik savunma sistemleri tarafından etkisizleştirirler. Oksidan maddelerin oluşumu ile savunma mekanizmalarının işleyişi arasında bir denge söz konusudur. Bu dengenin oksidan baskının artması yönünde bozulması hücrelerin veya organizmanın hasarı ile sonuçlanabilir. Oksidan etki sonucu oluşan hasarın büyüklüğü hasar üretilme hızı ile oksidatif harabiyeti önleyen, sınırlayan yada kısmen tamir eden koruyucu mekanizmalar arasındaki dengeye bağlıdır (Freeman ve Crapo,1982; Halliwell ve Gutteridge, 1984; Hinshow ve Sklor, 1986; Hocstein ve Atallah, 1988; Slater, 1984).

2.2.3.1. Proteinlere etkileri

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır.

- 1) Amino asitlerin modifikasyonu
- 2) Proteinlerin fragmentasyonu
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar (Bast ve Goris, 1989; Richardson, 1991; Ripine ve Bast, 1997).

2.2.3.2. Nükleik asit ve DNA'ya etkileri

Oksijen radikalleri oksidatif yarılma ile DNA hasarına yol açabilirler. Pirimidinler (sitozin,timin) pürinlere göre daha hassastır. DNA bağlarının kopması, DNA çift sarmalının ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve hücre ölümü (apoptozis) gelişebilir. (Cheeseman, 1993; Halliwell, 1994; Nielsen ve ark., 1997). DNA moleküllerinin nükleusta sıkı heliks yapısında düzenlenmiş olması ve histonlarla korunuyor olması, serbest radikallerle temasa bağlı değişiklikleri engeller (Richardson, 1991).

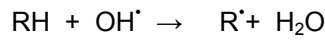
2.2.3.3. Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Bunlar diabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik proseslerde önemli rol oynarlar (Reznick ve ark., 1992).

İnflamatuvar eklem hastalıklarında sinoviyal sıvıya geçen polimorf hücrelerden ekstrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2 buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronoik asidi parçalarlar (Akkuş, 1995). Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunur. Bununda oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (Akkuş, 1995; Hennekens, 1994).

2.2.3.4. Lipitler üzerine etkisi

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitler üzerine yaptığı etkidir ki bu lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır Lipit peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Radikal, lipit molekülünden bir H atomu çıkartarak karbon merkezli lipit radikalinin (R[•]) oluşmasına yol açmaktadır (Niki, 1987).



Oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Peroksit radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder. Hidroperoksitler ve bunlara bağlı oluşan serbest radikaller ya birbirleri ile reaksiyona girip inaktif kondenzasyon ürünlerini vererek yada tepkimeye değişik yapı ve yetenekteki bazı bileşiklerin (antioksidanlar) girmesiyle zincir uzaması durdurulur (Ball ve ark., 1986; Burton ve Traber, 1989).

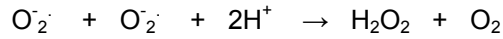
2.3. Antioksidanlar

2.3.1. Enzim antioksidanlar

- Süperoksid dismutaz
- Katalaz
- Glutasyon peroksidaz
- Mitokondrial sitokrom oksidaz

2.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

1968'de Fridovich tarafından keşfedilen bu metaloenzim, oksijeni mektabolize eden bütün hücrelerde bulunur ve süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizler.

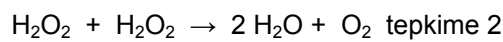
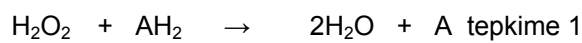


SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır (Ceballos ve ark., 1990). SOD ile O_2^- 'nin dismutasyonu ile H_2O_2 çıkarılması hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden H_2O_2 çıkarılması için SOD; katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleriyle birlikte çalışır (Ceballos ve ark., 1990; Clair ve Holland, 1991).

SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitesinin azalması diabet gibi bazı hastalıkların patogenezinin oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir (Perinondi ve ark., 1990).

2.3.1.2. Katalaz

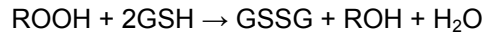
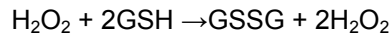
Katalaz yapısında protoporfirin IX Fe (Hem) grubu içerdiğinden bir hemoprotein olarak kabul edilmiştir (Smith ve ark., 1983). Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve mukoz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır (Murray ve ark., 1991). H_2O_2 oluşum hızının düşük olduğu durumlarda peroksidatif tepkime (tepkime 1) veya H_2O_2 oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkime (tepkime 2) yaparak hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (Yalçın, 1992; Notarjan, 1994).



Katalazın görevi oksidaz etkisiyle oluşan hidrojen peroksitin yıkımıdır.

2.3.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH Px)

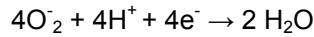
Sitozolde yerleşik bir enzim olan glutatyon peroksidaz, tetramer yapısındadır ve dört selenyum atomu içerir. GSH Px aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksitin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar (Yalçın, 1998).



Hidrojenin redükte olması ile meydana gelen okside glutatyon (GSSG), glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar redükte glutatyon (GSH) oluşur.

2.3.1.4. Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Mitokondrilerde solunum zincirinin en son basamağında yer alan ve bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken süperoksit radikalının suya dönüşümünü sağlar.



Ancak süperoksit radikallerinin oluşumu çoğu kez enzimin kapasitesini aşar ve diğer enzimlerin devreye girmesiyle süperoksit radikalının zararlı etkileri engellenir (Yalçın, 1998).

2.3.2. Enzim olmayan antioksidantlar

2.3.2.1. Askorbik asit (C vitamini)

Vücutta sentezlenemeyen, esansiyel bir bileşik olan askorbik asit, suda çözünen ve genellikle turunçgillerin meyvelerinden elde edilen bir vitamindir. Askorbik asit organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir (Akkuş, 1995). Aynı zamanda güçlü bir antioksidandır, süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve zarları da oksidan hasara karşı korur. E vitamininin rejenerasyonunda görev alır. Askorbik asit feri-demiri (Fe^{3+}) ferro-demire (Fe^{2+}) indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek hücre içi moleküldür. Bu etkisiyle süperoksit radikalının üretimine neden olur. Bu özelliği C vitamininin proksidan etkisi olmasına neden olmaktadır (Yalçın, 1998).

2.3.2.2. β -Karoten (vitamin A ön maddesi)

β -Karoten yağda çözünen bir antioksidan olarak, serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksiyona girmeden önce onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu önler (Anderson ve Meister, 1989; Burton ve Traber, 1989). Karotenoidler özel kimyasal yapılarından dolayı singlet oksijeni tutabilirler. Tek bir β -Karoten molekülü 1000 singlet oksijen molekülünü etkisiz hale getirebilir. Bu özellik β -Karoteni çok kuvvetli bir singlet oksijen yok edicisi yapar (Anderson ve Meister, 1989).

β -Karoten mükemmel bir antioksidan olmasına karşın bu etkisi vitamin E'nin aksine düşük basınçlarda etkilidir. İn vivo ortamda yapay bir lipid bilayer kullanılarak yapılan kontrollü bir çalışmada β -Karotenin antioksidan etkinliğinin yüksek oksijen basıncında azaldığı gösterilmiştir (760 torr ve %100 oksijen). Böylece β -Karoten dokunun parsiyel oksijen basıncına bağlı olarak vitamin E'nin

antioksidan etkisini tamamlar (Ball ve ark., 1986; Burton ve Traber, 1989; Anderson ve Meister, 1989).

2.3.2.3. Vitamin E

Vitamin E'nin biyolojik olarak en aktif formu α -Tokoferoldür. α -Tokoferol lipoproteinler ve biyolojik membranlar içinde bulunan yağda çözünen ve zincir-kırıcı bir antioksidandır (Meister, 1994; Hennekens, 1994). En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır. Mitokondri endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipitlerinin α -tokoferole karşı çok yüksek affinitesi vardır. Tokoferoller fenolik bir hidrojeni peroksidasyona uğramış bir doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikaline aktarırlar (Halliwell, 1991). Bunun sonucunda serbest radikal zincir reaksiyonları kırılır. α -tokoferol radikali glutasyon ve askorbik asidin bulunduğu ortamlar da rejenere olabilir ve tekrar α -tokoferol şekline geçebilir. Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipit yapılarında örneğin eritrosit ve solunum sistemi membranlarında etkileri belirgindir (Muggli, 1994; Sies ve ark., 1994).

2.4. Ekstreleri Kullanılan Bitkiler

2.4.1. *Trigonella foenum graecum*

Fabaceae familyasına ait olan *Trigonella foenum graecum* yurdumuzda ve Akdeniz Havzasında yetişen tek yıllık ve otsu bir bitkidir. Yurdumuzda, Hindistan'da, Güney Afrika'da ve Akdeniz Ülkeleri'nde kültürleri yapılmaktadır (Alhabori ve Raman, 1998). Yaprakları trifoliat, çiçekleri tek başına, yaprakların koltuğundadır (şekil 2.2.). Meyvesi yay gibi kıvrık, uzun ve uç tarafı sivrilmiştir.



Şekil 2.2. *Trigonella foenum graecum* 'un bir görüntüsü (Anonymous, 2005)

Tohumları prizmaya benzer müsilaj ve yağ taşır (şekil 2.3.). Baharat karışımında kullanıldığı gibi pastırmanın üzerini örten çemen de bu tohumların tozu ile hazırlanır, iştah açıcıdır.



Şekil 2.3. *Trigonella foenum graecum* 'un tohumları (Anonymous, 2005)

Bitkinin kuvvetli ve kalıcı bir kokusu vardır. Koku trigonellin alkoloidinden ileri gelir (Baytop, 1984). *Trigonella* bitkisinin diyabette kan şekeri ve kolesterol düşürücü etkisinin olduğu (Bordia ve ark., 1999) ve kanda lipid peroksidasyonunu engellediği (Ravikumar ve Anuradha, 1999) deneylerle gösterilmiştir.

2.4.2. *Nigella sativa*

Nigella türleri tek yıllık bitkilerdir. Çiçekler aktinomorf, tek ve tabanda ince parçalı yapraklardan yapılmış bir involukrum ile sarıdır. Korolla 5 petalli, nektaryum 5 tanedir. Meyve çok tohumlu, stilus meyva tepesinde uzun ve dışa doğru kıvrık olarak kalır (şekil 2.4.). Ülkemizde 12 türü yetişmektedir (Işık, 2003).



Şekil 2.4. *Nigella sativa* 'nın bir görüntüsü (Anonymous 2005)

Nigella sativa, Ranunculaceae (Düğünçiçeğigiller) familyasına ait, 20-30 cm yükseklikte bir bitkidir (Al-Awadi ve Gumaa, 1987). *Nigella* kelimesi Latince siyahımsı anlamına gelen *Nigellus*'tan gelmektedir. Ülkemizde bu bitki için çörekotu, ekilen çörekotu, kara çörekotu ve siyah kimyon gibi isimler kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

Dünyada Güney Avrupa, Rusya, Sudan, Etiyopya, Suriye, İran, Afganistan ve Hindistan gibi ülkelerde yetiştirilirken (Türker ve Bayrak, 1997), yurdumuzun Batı ve Orta Anadolu kısımlarında (Afyon, Burdur, Isparta) yetişmektedir (Al-Awadi ve Gumaa, 1987). Anavatanı Doğu Akdeniz Ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa' dır.

Bitkinin tohumları (şekil 2.5.) siyah ve köşeli olup uçucu yağ taşımaktadır. Tohumların, aromatik özelliğinden dolayı gıda sanayisinde, bazı gıdaları süslemede (bisküvi, çörek vb.) ve lezzet verici olarak tulum, çökelek gibi yiyeceklerde

kullanılmaktadır (Salemaı ve Hossainb, 2000). Ayrıca çeşitli hastalıkları tedavi amaçlı ilaç olarak da kullanılmaktadır.



Şekil 2.5. *Nigella sativa* (çörek otu) tohumları (Anonymous, 20005)

N. sativa (çörek otu) tohumları birçok ülkede bronşial astım, romatizma, alerjik hastalıklar, çeşitli sindirim bozuklukları ve parazit enfeksiyonlarında kullanılmaktadır ve doğru dozda ve doğru şekilde kullanıldığında herhangi bir yan etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Haq ve ark., 1995; Haq ve ark., 1999; Ali ve Blunden, 2003).

Yunanlı doktorların yaptıkları çalışmalarda bitkinin baş ağrısına, diş ağrısına ve bağırsak kurtlarına etki ettiği bildirilmektedir. Ayrıca tohumlarının lohusalıkta sütü arttırdığı, menstruasyonu düzenlediğini ve diüretik olarak kullanıldığını bildirmektedirler (Sahih, 2004).

Bazı araştırmalar sonucunda *N. sativa* tohumlarının immün sistemin yardımcı T (Th) ve sitotoksik T (Tc) hücre oranlarında % 70 artış sağladığı, farelerde yapılan çalışmalarda cisplatin ve ifosamide kemoterapisinde sitotoksik ilacın antitümör etkisini arttırdığı ve sitotoksik ilaca bağlı yan etkileri azalttığı kanısına varılmıştır (Nair ve ark., 1991).

N. sativa tohumları T lenfositlerinden interlökin-3 salgılanmasını artırır. Makrofajlara direkt etkisinin bu interlökinlerle olduğu düşünülmektedir (Haq ve ark., 1995; Haq ve ark., 1999).

N. sativa mast hücrelerinden histamin salınımını engellemektedir. Ayrıca, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis* ve diş çürüklerine neden olan çeşitli bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir. *N. sativa*'nın bu antibakteriyel özelliğinden yararlanarak bazı besinlerin saklanması koruyucu olarak da kullanılabilir (Hanafy ve Hatem, 1991).

N. sativa'nın kimyasal içeriğinde 100' den fazla madde bulunduğu bildirilmiş, bu maddelerin %38'i karbonhidrat (glukoz, ksiloz, arabinoz) (Işık, 2003), %0.38-0.49 uçucu yağ, %30-40 sabit yağ, %20-30 protein, saponin, melantin, nigellin ve tanen olduğu bildirilmiştir (Türker ve Bayrak, 1997).

Ayrıca thymoquinone (TQ), nigellone, arjinin, linoleik asit, oleik asit ve enzim fonksiyonları için kofaktör rolü oynayan kalsiyum, potasyum, demir, çinko, magnezyum, selenyum ve vitaminlerden A, B, B2, C vitamini ve niasin bulunmaktadır. Aldığımız gıdaların bazılarının doğal olmadığını ve vücudumuzda kansere neden olabilecek serbest radikallerin yıkımını da düşündüğümüzde, *N. sativa*'da bulunan yağ asitleri sayesinde serbest radikaller bağlanarak vücuttan atılabilirler (Sahih, 2004).

Çörekotu tohumunun kimyasal bileşimi üzerine yapılan çalışmaların bazı sonuçları birbiri ile çelişkilidir. Bileşim, tohumların yetiştirildiği iklim, tür, hasat ve bileşimin saptanmasında kullanılan tekniğe bağlı olarak değişmektedir (Türker ve Bayrak, 1997).

Yapılan çalışmalar, çörekotu tohumunda bulunan timokinon (TQ), ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ), timol ve nigellon'un uçucu yağlar oldukları ve bunlardan nigellon ve TQ' un etken madde oldukları bildirilmektedir (Worthen ve ark., 1998).

Akgül, çörekotunda %5-7 su, %3.7 kül, %30-40 sabit yağ, %0.01-01 uçucu yağ ve nigellin, melantin, %20-30 protein ve %1.06 Ca bulunduğunu bildirmiştir (Akgül, 1993).

Tohumu oluşturan diğer kimyasal bileşenler; β -sitosterol (% 69.4), stigmasterol (% 18.6) ve kampesterol (% 11.9) dur. Ayrıca tohumda B vitamini bulunmaktadır (Nergiz ve Ötleş, 1993).

N. sativa tohumlarından elde edilen TQ 'nun insektisit, antibakteriyel, antitümöral, bronkodilatör, hipotansif ve antioksidan etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Salomi ve ark., 1992; Burits ve Bucar, 2000).

Çörekotu, 2000 yılı aşkın bir süredir Uzak Doğu ve Orta Doğu Ülkelerinde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bir araştırmada, çörekotunun çeşitli kanser hücrelerine sitotoksik etki ettiğini, hücrel aktivasyonu arttırdığı ve tümör hücrelerine özgü antikorların sayısını arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca, normal hücrelere olumlu etki yaptığı belirtilmiştir (Swamy ve Tan, 2000; Medenica ve ark., 1993).

El-Kadi ve Kandil (1987), insanlar üzerine yaptıkları araştırmada çörekotu verilen insanlarda T4:T8 oranının %72 ve NK hücrelerinin oranının da arttığını göstermiştir (Kaya, 2002).

Çörekotunun uçucu yağ asitlerinin kullanıldığı araştırmalarda antibakteriyel, antifungal ve tenyaya karşı antihelmintik etki gösterdiği ve çocuklar üzerinde yapılan çalışmalarda da sestodlara karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Rathee ve ark., 1982). Ayrıca uçucu yağın atardamar kan basıncını ve kalp atışını düşürdüğü belirtilmiştir (El-Tahir ve ark., 1993).

Çörekotu ile yapılan başka bir çalışmada bazı gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere etki ettiği, gram-negatiflere daha çok etki ettiği bildirilmiştir (Morsi, 2000). Ayrıca, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus fecalis*'in gelişimini olumsuz etkilediği belirtilmiştir (Saxena ve Vyas, 1986).

Kobay ve ratların üzerine yapılan bir çalışmada çörekotu tohumlarının uçucu yağının uterin düz kaslarının spontan hareketlerini ve oksitosin stimülasyonunun neden olduğu olumsuz etkileri inhibe ettiği bildirilmiştir. Çörekotu tohumlarının uçucu yağının antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir (Aqel ve Shaheen, 1996).

Sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada etanol ile indüklenmiş ülser ve gastrik sekresyona *N.sativa* yağının etkisi incelenmiştir. İnceleme sonucunda *N.sativa* yağının koruyucu etkisinin olduğu ve bu koruyucu etki ile, etanol ile indüklenen ülserin sonlandırılabilceği bildirilmiştir (El-Dakhakny ve ark., 2000).

Yapılan başka bir çalışmada, *N. sativa* tohumları ve çeşitli reçinelerden (assafoetida, aloe ve olibanum) oluşan karışım diabetli ratlarda kullanılmış ve insülin salınışını intestinal glukoz emilimini baskılayarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Al-Awadi ve Gumaa, 1987).

Kanserli hastaların kemik iliği üzerine yapılan bir çalışmada çörekotunun kanserli hücreleri öldürdüğü bildirilmiştir. Ayrıca, yüzey markırlarını (NK, CD3-/CD56+, CD3, CD4, CD 8, CD38, CD37, CD19 ve CD33) ve immün sistem ile ilgili hücrelerin sayılarını arttırdığı bildirilmiştir (Medenica ve ark., 1993).

N. sativa proteinlerinin antioksidan etki gösterdiği ve immün cevabı düzenlediği bildirilmiştir (Badary ve ark., 1999; Burits ve Bucar, 2000). *N. sativa* yağı üzerine yapılan bir çalışmada sıçanlarda lökosit ve trombosit sayısını azalttığı ve hemoglobin miktarını arttırdığı gözlenmiştir (Zaoui ve ark., 2002).

N. sativa tohumlarının koruyucu özelliği üzerine yapılan bir çalışmada, schistosomiasis ile enfekte edilen fare hücrelerine *N. sativa* tohum ekstresi ve TQ'nun etkisi araştırılmıştır. Schistosomiasis' den kaynaklanan kromozomal sapmalara karşı *N. sativa* tohum ekstresi ve TQ 'nun koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (Aboul-Ela, 2002).

Yapılan araştırmalarda *N. sativa* yağının çeşitli parazitler üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Rathee ve ark., 1982; Haq ve ark., 1999; Mahmoud ve ark., 2002; Ali ve Blunden, 2003).

Mahmoud ve ark.'nin yaptıkları bir çalışmada farede *Schistosoma mansoni*'nin enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer hasarına karşı *N. sativa* yağının etkisi araştırılmıştır ve karaciğerdeki larva miktarını azalttığı, karaciğerdeki ve ince bağırsaktaki yumurta sayısını azalttığı bildirilmiştir (Mahmoud ve ark., 2002).

N. sativa'nin toksisitesi üzerine yapılan bir çalışmada düşük miktarda toksisitesinin olduğu belirtilmiştir. Serum kolesterol, trigliserid ve glukoz düzeyini ve lökosit ve platelet miktarını azalttığı, hematokrit ve hemogloblin düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (Zaoui ve ark., 2002).

Hepatoksisitesi üzerine yapılan başka bir çalışmada ise hepatositler üzerine olumsuz herhangi bir etki bulunamamıştır. Ancak serum gamma-glutamil transferaz ve serum alanin aminotransferaz oranını arttırdığı belirtilmiştir (Tennekoon ve ark., 1991).

2.5. Antrasiklin Antibiyotikler ve Adriyamisin (ADR)

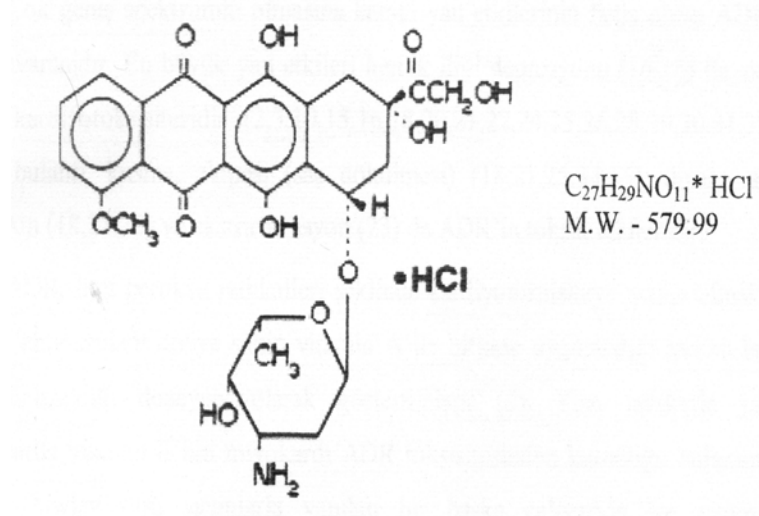
Antrasiklin antibiyotikler 1960'ların başlarından beri çeşitli farmasötik laboratuarlarda izole edilmiş ve üzerinde hala çalışılmaktadır (Muggia ve Green, 1991). Kemoterapide kullanılan antrasiklin antibiyotiklerin antineoplastik aktiviteleri ilk kez 30 yıl önce gösterildi (Booser ve Hortobagyi, 1994). Antineoplastik antibiyotikler çok geniş spektrumludur ve 1000'den fazla analoğa sahiptirler. Orijinal antrasiklinler kanser tipinin çoğuna karşı etkindir (Booser ve Hortobagyi, 1994; Çerçi ve Ulakoğlu, 2001). Geçtiğimiz 20 yıl içinde antrasiklinlerin bazı biyolojik etkileri açıklanmıştır (çizelge 2.2.). Bu etkiler kısaca; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun inhibisyonu, DNA polimeraz, RNA polimeraz ve DNA tamir enzimlerinin, topoizomeraz I ve topoizomeraz II'nin inhibisyonu ve hücre membran yapılarında değişikliklere neden olan serbest radikallerin üretilmesi şeklinde

açıklanabilir (Booser ve Hortobagyi, 1994; Çerçi ve Ulakoğlu, 2001; Muggia ve Green, 1991).

Çizelge 2.2. Antrasiklinlerin biyolojik etkileri (Booser ve Hortobagyi, 1994)

Inhibisyon	Mitokondriyal oksidatif fosforilasyon inhibisyonu DNA polimerazlar RNA polimerazlar DNA tamir enzimleri Metallothionein sentezi Topoizomeraz I Topoizomeraz II Helikazlar
	Serbest radikal üretimi Membran modülasyonu Endonükleolitik ayrılma

Adriyamisin (Doxorubicin, 14-hidroxydaunorubicin), *Streptomyces peucetius*'tan elde edilen mutant *Streptomyces peucetius* var. *caesius* kültüründen izole edilmiş sitotoksik bir antrasiklin antibiyotiktir (Booser ve Hortobagyi, 1994; Çerçi ve Ulakoğlu, 2001; Lee ve ark., 2002; Anonymous, 2002). Kimyasal yapısı kromoforik 4 halkalı bir aglikon kısmı (substitüe antrasiklin halkası) ile ona glikozid bağı ile eklenmiş nadir bir aminoşeker (daunozamin)den oluşur (şekil 2.6.) (Kaya, 1995; Anonymous, 2002).



Şekil 2.6. Adriyamisin'in kimyasal formülü (Booser ve Hortobagyi, 1994)

ADR, DNA'ya bağlanma ve nükleik asit sentezini inhibe etme yeteneğine sahiptir (Çerçi ve Ulakoğlu, 2001; Lee ve ark., 2002). İnterkalasyon ile DNA'ya bağlanarak replikasyon ve transkripsiyonu bozar. Topoizomeraz II inhibisyonunun sonucu olarak DNA'da kırıklar (DNA cleavage) meydana getirir (Lee ve ark., 2002; Anonymous, 1994). Serbest radikal oluşturarak DNA'da hasar yapar (Anonymous, 1994). Hücre siklusunun herhangi bir fazına özgü değildir (Kaya, 1995; Anonymous, 1994); fakat S fazına girmiş hücrelerde etkinliği en fazladır (Kaya, 1995).

ADR mide-barsak kanalından absorbe edilmez (Kaya, 1995; Coşan, 1999). Dokulara fazla bağlanıp oradan yavaş salınır. İlaç, karaciğer, kalp, akciğer ve böbreklere hızla varır ve bu organlarda bazı değişimlere yol açabilir (Kaya, 1995). Karaciğerde hızlı metabolize edilmesine karşın vücutta kalışı ve etkisi uzun sürer. Büyük kısmı safra yolu ile atılırken bir kısmı da böbreklerden atılır (Coşan, 1999). İdrarın rengini kırmızıya boyar (Kaya, 1995; Ommaty, 2001). Kan-beyin bariyerini aşmaz (Anonymous, 2002). Plasental geçiş vardır (Anonymous, 1994). Anne sütüne geçmektedir (Anonymous, 1994; Anonymous, 2002).

ADR intravenöz (i.v.) veya intravezikal yollarla uygulanmaktadır (Ommaty, 2001). İ.v. yolla ADR uygulaması sırasında ilacın damar dışına sızması dokularda ekstrevasyona sebep olabilir (Şen, 1999). Topikal ADR uygulamasının mesane mukozası tarafından iyi tolere edildiği bildirilmiştir (Erdoğan, 1995). Araştırmacılar, ovaryum kanserli 15 hastadan oluşan bir grupla yaptıkları bir çalışmada, intraperiton olarak lizozomal ADR uygulamasıyla, sınırlanmış toksisite ve ümit verici klinik cevap bulmuşlardır (Booser ve Hortobagyi, 1994). Çok geniş spektrumlu olmasına karşın yan etkilerinin fazla oluşu ADR için bir dezavantajdır. En büyük yan etkileri kemik iliği depresyonu (Kaya, 1995; Ommaty, 2001) ile akut ve kronik kardiyotoksisitedir (Booser ve Hortobagyi, 1994; Çerçi ve Ulakoğlu, 2001; Alican, 1993; Baybek, 1995; Erdoğan, 1995; Anonymus, 1998; Barçın, 1999). Ayrıca bulantı, kusma, alopesi (saç dökülmesi), diyare, ağızda ülserasyon (Anonymous, 1994; Ommaty, 2001; Anonymous, 2002) ve ekstrevasyon (Şen, 1999) da ADR'in toksik etkileridir.

ADR, lipid peroksit radikalleri şeklinde kardiyotoksisiteye neden olmaktadır. ADR 'nin antioksidan etkiye sahip vitamin A ile birlikte uygulandığı zaman bu yan etkilerin azaldığı deneysel olarak gösterilmiştir (Çerçi ve Ulakoğlu, 2001). Yine farelerde yapılan çalışmalarda vitamin E 'nin miyokardı ADR toksisitesinden koruduğu bulunmuştur. Sprague-Dawley türü sıçanlarla yapılan bir başka çalışmada ise vitamin C kullanımının, ADR ekstravazasyonunda, nekrozu belirgin olarak azalttığı tespit edilmiştir (Şen, 1999).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Denekler Beyza piliç üretim fabrikasından (Antakya) temin edilen 480 adet yumurta içinde gelişmekte olan Broiler cinsi piliç embriyolarından oluşmuştur. Denekler 8 gruba ayrılarak 38⁰C ve %60 nem oranına sahip yavaş dönen kuluçka makinesine yerleştirildi.

3.2. Bitki Ekstraksiyon Yöntemi

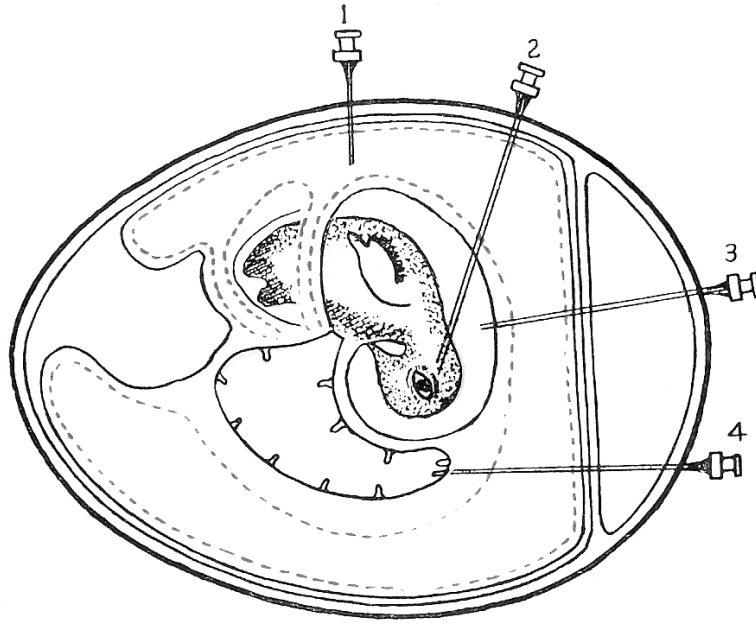
Bitkiler Şanlıurfa 'da bulunan aktarlardan satın alındı. Bitkiler teşhis edilip temizlendikten sonra 500 gr tartıldı. Bitkilerin tohumları elektrikli mekanik öğütücü ile iyice öğütülüp toz haline getirildikten sonra 100 ml %100'lük metanolde 24 saat bekletilip süzüldü. Elde edilen sıvıdan rotary evaporeyter cihazı yardımıyla metanol uzaklaştırılarak bitki ekstresi elde edildi. *Nigella sativa* ve *Trigonella foenum graecum* ekstrelerinden %10 'luk Gum Arabica ile 0.1 ml'de 4 ve 8 mg olmak üzere süspansiyon hazırlandı. Adriyaminin 0.1 ml'de 10 µg olmak üzere fizyolojik su ile seyreltildi.

3.3. Yumurtaların Muayenesi ve Enjeksiyon Tekniği

Döllenmiş yumurtaların kuluçka makinesine konulduğu gün sıfır olarak hesaplanıp, 5. günden itibaren yumurtalar karanlık bir odada, içine 100 Watt 'lık bir ampul yerleştirilmiş, üstüne yalnız yumurtanın oturabileceği oval bir delik bulunan kutu üstüne konarak muayene edildi. Embriyonun başının bulunduğu kısma kalemle işaret konularak hava boşluğunu çevresi çizildi.

Döllenen yumurtaya enjeksiyon yapmadan önce kabuk %70 'lik alkol ile dezenfekte edildi. Yumurtanın kabuğunda delik açılıp steril iğne gözle takip edilerek amniyotik boşluğa girildi (şekil 3.1.). Hazırlanan bitki ekstratlarından farklı dozlarda amniyotik boşluğa enjekte edildi (şekil 3.2.).

Kabuğa açılan delik kontaminasyonu ve yumurta içine fazla hava girişini engellemek amacıyla yapışkan bir bantla kapatılarak yumurtalar tekrar kuluçka makinesine konuldu.



Şekil 3.1. Döllenen yumurtaya ekim usülleri (Çetin, 1968)

- 1 Allantoik boşluğa
- 2 Embriyonun beynine
- 3 Amniyotik boşluğa
- 4 Vitellus kesesine

Yumurtaların bir kısmına, embriyolar 8 günlükken farklı dozlarda bitki ekstratları verildi ve 2 saat inkübasyondan sonra yumurtalar açılıp embriyolar uygun fiksatiflere konuldu.



Şekil 3.2. Ebriyolara bitki ekstresi enjeksiyonu

Yumurtaların bir kısmına ise embriyolar 14 günlükken farklı dozlarda bitki ekstraktları veriliyor, yumurtalar tekrar kuluçka makinesine yerleştirildi. 19. günde yumurtalar açılıp embriyolar fizyolojik su ile yıkanarak hassas terazide tartılıp vücut ağırlığı alındı (şekil 3.3.). Ardından her embriyonun diseksiyonu yapılarak göz ve kalpleri alınıp kalpler hassas terazide tartıldı (şekil 3.4.).



Şekil 3.3. Hassas terazide vücut ağırlığının alınması



Şekil 3.4. Hassas terazide kalp ağırlığının alınması

Kalp örnekleri ikiye bölünerek sağ atriyum ve sağ ventrikül ile göz örnekleri uygun fiksatiflere konularak histolojik değerlendirme için preparatlar hazırlandı.

3.4. Deney Gurupları

1. Grup (Kontrol grubu) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba 0.1 ml fizyolojik su verilip normal gelişimlerine bırakılarak normal değerlerin saptanması amaçlanmıştır.
2. Grup (*Trigonella foenum graecum* + ADR (TA 4mg)) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba ilk olarak 0.1 ml'de 4 mg *Trigonella foenum graecum* ekstresi, bir saat sonrada 0.1 ml'de 10 µg ADR verilmiştir.
3. Grup (*Trigonella foenum graecum* + ADR (TA 8mg)) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba ilk olarak 0.1 ml'de 8 mg *Trigonella foenum graecum* ekstresi, bir saat sonra 0.1 ml'de 10 µg ADR verilmiştir.
4. Grup (ADR + *Trigonella foenum graecum* (AT 4mg)) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba ilk olarak 0.1 ml'de 10 µg ADR, bir saat sonrada 0.1 ml'de 4 mg *Trigonella foenum graecum* ekstresi verilmiştir.
5. Grup (ADR) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba sadece 0.1 ml'de 10 µg ADR verilmiştir.
6. Grup (*Nigella sativa* + ADR (NA 4 mg)) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba ilk olarak 0.1 ml'de 4 mg *Nigella sativa* ekstresi, bir saat sonrada 0.1 ml'de 10 µg ADR verilmiştir.
7. Grup (ADR + *Nigella sativa* (AN 4 mg)) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba ilk olarak 0.1 ml'de 10 µg ADR, bir saat sonrada 0.1 ml'de 4 mg *Nigella sativa* ekstresi verilmiştir.
8. Grup (ADR + *Nigella sativa* (AN 8 mg)) : 60 denekten oluşmuştur. Bu gruba ilk olarak 0.1 ml'de 10 µg ADR, bir saat sonrada 0.1 ml'de 8 mg *Nigella sativa* ekstresi verilmiştir.

3.4. Preparatların Hazırlanması

Alınan örnekler histolojik değerlendirme için sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirilmiştir.

1. Fiksasyon: Örnekler uygun fiksatiflere (Bouin, Susa, Zenker) konularak 24 saat bekletildi. Kullanılan fiksatiflerin formülleri aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan fiksatiflerin formülleri

Susa Fiksativi		Zenker Fiksativi	
Glasiyal asetik asit	4 ml	Civa klorür	5 gr
Formaldehid (%40)	20 ml	Potasyum dikromat	2.5 gr
Civa klorür	4.5 gr	Sodyum sülfat	1 gr
Sodyum klorür	0.5 gr	Distile su	100 ml
Trikloro asetik asit	2 gr	Formaldehid (%40)	5 ml
Distile su	80 ml	*Formaldehit kullanmadan önce eklenir.	
Bouin Fiksativi			
Glasiyal asetik asit	5 ml		
Formaldehid (%40)	25 ml		
Pikrik asit (suda)	75 ml		

2. Yıkama: Susa ve Zenker fiksatiflerine konulan örnekler akar suda 24 saat bekletilerek, Bouin fiksatifine konulanlar ise pikrik asitten kaynaklanan sarı renk tamamen gidene kadar %50'lik alkolle yıkandı.
3. Dehidrasyon: Doku içindeki suyu uzaklaştırmak için örnekler artan alkol serilerinden (%30, %50, %70, %85, %90, %100, %100) 10'ar dakika bekletilerek geçirildi.
4. Saydamlaştırma ve parafine gömme: Dokunun saydamlaştırılması için örnekler 2 dakika ksilende bekletildi. Ardından örnekler 60-65⁰C 'de eritilmiş parafinle bloklar döküldü.
5. Kesit alma: Parafin soğuyup katılaştıktan sonra mikrotomla örneklerden kesitler alınıp, albümin- mayer karıştırılmış saf suda yüzdürülerek kesitler lam üzerine alındı.

6. Rehidrasyon: Kesitler kuruyup lama yapıştıktan sonra iki kez ksilen banyosu, ardından azalan alkol serilerinden (%90, %85, %70, %50, %30 ve saf su) geçirilip bir sonraki aşama olan boyama için dokuya su girişi sağlandı.
7. Boyama: Preparatlar hematoksilinde 5 dakika, eozinde 30 saniye, malory üçlü boyada (çizelge 3.2.); solusyon A'da 15 dakika, solusyon B'de 1 dakika, solusyon C'de 15 dakika bekletilerek boyandı.

Çizelge 3.2. Malory üçlü boya formülü

Solusyon A		Solusyon C	
Asit fuksin	0.1 gr	Anilin mavisi	0.5 gr
Distile su	100 ml	Orange G	2 gr
Solusyon B		Oksalik asit	2 gr
%1'lik Fosfomolibdik asit		Distile su	100 ml

8. Yıkama : Kesitler saf suda, fazla boyalar tamamen uzaklaşınca kadar yıkandı.
9. Dehidrasyon : Dokudaki suyu uzaklaştırmak için örnekler artan alkol serilerinden (%30, %50, %70, %85, %90, %100,) ve ksilenden geçirildi.
10. Kapatma : Kesitlerin üzerine birer damla Kanada Balsamı damlatılıp, lamelle kapatılarak kurumaya bırakıldı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada kullanılan bitki ekstreleri ve adriyamisin belirtilen dozlarda embriyolara verilip, vücut ve kalp ağırlıkları alınarak grup ortalama değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler çizelge 4.1. 'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Deney gruplarının vücut ve kalp ağırlığı ortalamaları

GRUPLAR	VÜCUT AĞIRLIĞI ORTALAMASI (GRAM)	KALP AĞIRLIĞI ORTALAMASI (GRAM)
Kontrol	27.3922	0.1737
TA(4)	28.8547	0.1517
TA(8)	30.2748	0.1630
AT(4)	32.5078	0.1879
ADR	30.9852	0.1731
NA(4)	29.7073	0.1743
AN(4)	32.5289	0.2238
AN(8)	30.1019	0.2070

Çalışma için oluşturulan kontrol, TA(4), TA(8), AT(4), ADR, NA(4), AN(4), AN(8) grupları arasındaki farklılıklar SPSS programında Bağımsız T-Testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen “p” değerleri 0.05, 0.01 ve 0.001 sabitlerine göre değerlendirilerek anlamlılık düzeyleri saptanmıştır. $p < 0.05$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında önemli bir farklılık vardır”, $p > 0.05$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında önemli bir farklılık yoktur”, $p < 0.01$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında çok önemli bir farklılık vardır”, $p < 0.001$ ise “karşılaştırılan gruplar arasında ileri düzeyde önemli bir farklılık vardır” şeklinde ifade edilmektedir.

Yapılan istatistiksel analize göre;

1. Kontrol grubu ile TA(4) grubu vücut ve kalp ağırlıkları arasında önemsiz farklılık görülmüştür ($p>0.05$).
2. Kontrol grubu ile TA(8) grubu vücut ağırlıkları arasında çok önemli farklılık görülürken ($p<0.01$), kalp ağırlıkları arasında önemsiz farklılık görülmüştür ($p>0.05$).
3. Kontrol grubu ile AT(4) grubu vücut ağırlıkları arasında çok önemli farklılık görülürken ($p<0.01$), kalp ağırlıkları arasında önemsiz farklılık görülmüştür ($p>0.05$).
4. Kontrol grubu ile ADR grubu vücut ağırlıkları arasında çok önemli farklılık görülürken ($p<0.01$), kalp ağırlıkları arasında önemsiz farklılık görülmüştür ($p>0.05$).
5. Kontrol grubu ile NA(4) grubu vücut ağırlıkları arasında önemli farklılık görülürken ($p<0.05$), kalp ağırlıkları arasında önemsiz farklılık görülmüştür ($p>0.05$).
6. Kontrol grubu ile AN(4) grubu vücut ağırlıkları arasında ileri düzeyde önemli farklılık görülürken ($p<0.001$), kalp ağırlıkları arasında çok önemli farklılık görülmüştür ($p<0.01$).
7. Kontrol grubu ile AN(8) grubu vücut ağırlıkları arasında önemli farklılık görülürken ($p<0.05$), kalp ağırlıkları arasında önemsiz farklılık görülmüştür ($p>0.05$).

Kontrol grubu ile diğer grupların karşılaştırılması sonucunda AN(4) grubu dışındaki tüm grupların kalp ağırlıklarında önemsiz farklılık görülürken AN(4) grubunun kalp ağırlığında çok önemli farklılık görülmüştür. Vücut ağırlıklarında ise TA(4) grubunda önemsiz, NA(4) ve AN(8) gruplarında önemli, TA(8), AT(4) ve ADR gruplarında çok önemli, AN(4) grubunda ise ileri düzeyde önemli farklılıklar görülmüştür.

Yukarıdaki açıklamadan da anlaşılacağı gibi, profilaktik gruplardan vücut ağırlıkları bakımından TA(4) grubu dışındaki diğer gruplarda (TA(8) ve NA(4)) çok önemli ve önemli farklılık görülmüştür.

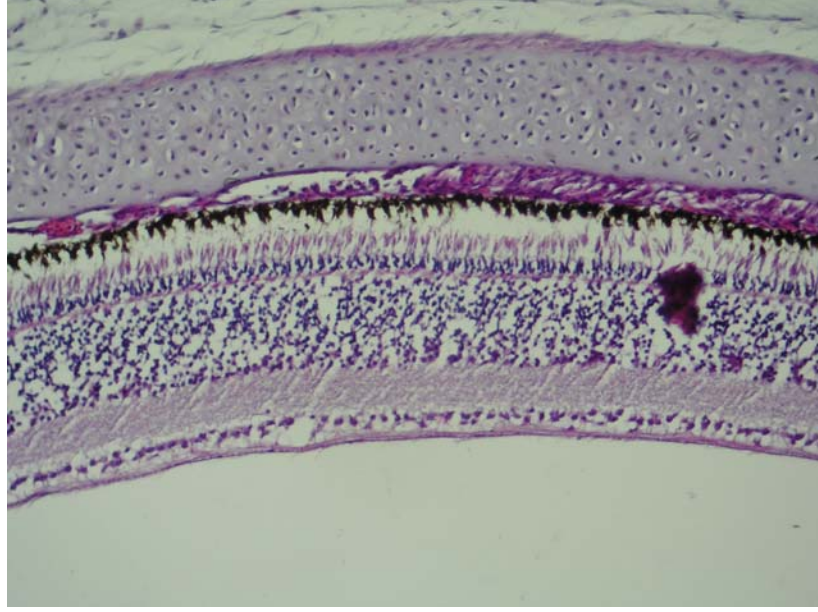
Tedavi gruplarında (TA(4), AN(4) ve AN(8)) vücut ağırlıklarında çok önemli, ileri düzeyde önemli ve önemli farklılık görülmüştür. Tedavi gruplarından AN(4) grubunun kalp ağırlıklarında çok önemli farklılık görülmüştür. Ayrıca Kontrol grubu ile hasta grup (ADR) karşılaştırıldığında kalp ağırlıklarında önemsiz farklılık görülürken, vücut ağırlıklarında çok önemli farklılık görülmüştür.

Çizelge 4.2. ADR grubu ile diğer grupların istatistiksel karşılaştırılması

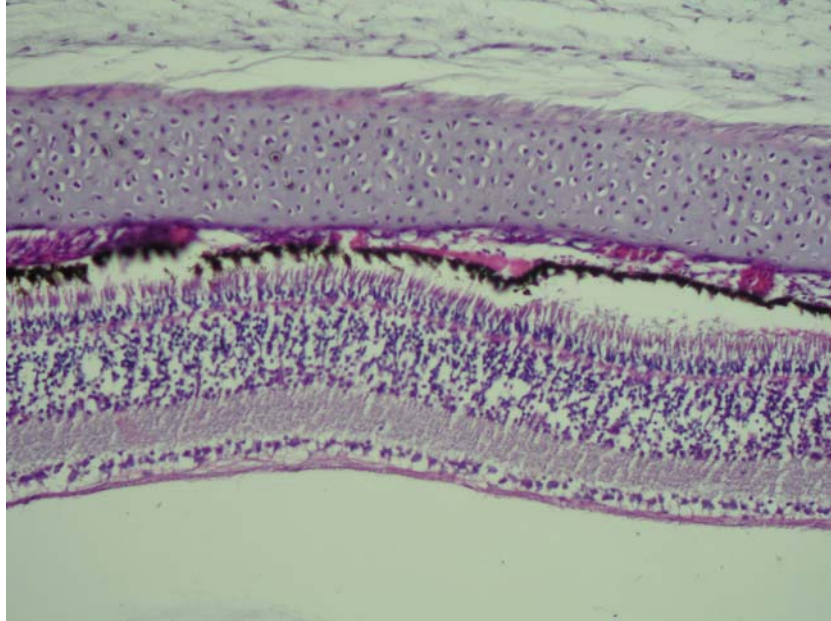
GRUPLAR	VÜCUT AĞIRLIĞINA GÖRE "P" DEĞERİ	KALP AĞIRLIĞINA GÖRE "P" DEĞERİ
Kontrol	0.003***	0.971*
TA(4)	0.073*	0.234*
TA(8)	0.531*	0.521*
AT(4)	0.605*	0.335*
NA(4)	0.404*	0.942*
AN(4)	0.230*	0.006***
AN(8)	0.530*	0.092*
	*P > 0.05 (önemsiz)	**P < 0.05 (önemli)
	P < 0.01 (çok önemli)	*P < 0.001 (ileri düzeyde önemli)

Hasta grup ADR ile profilaktik ve tedavi gruplarının karşılaştırılması sonucunda tüm grupların vücut ağırlıklarında önemsiz farklılık görülmüştür. Kalp ağırlıklarında ise sadece AN(4) grubunda çok önemli farklılık görülmüştür.

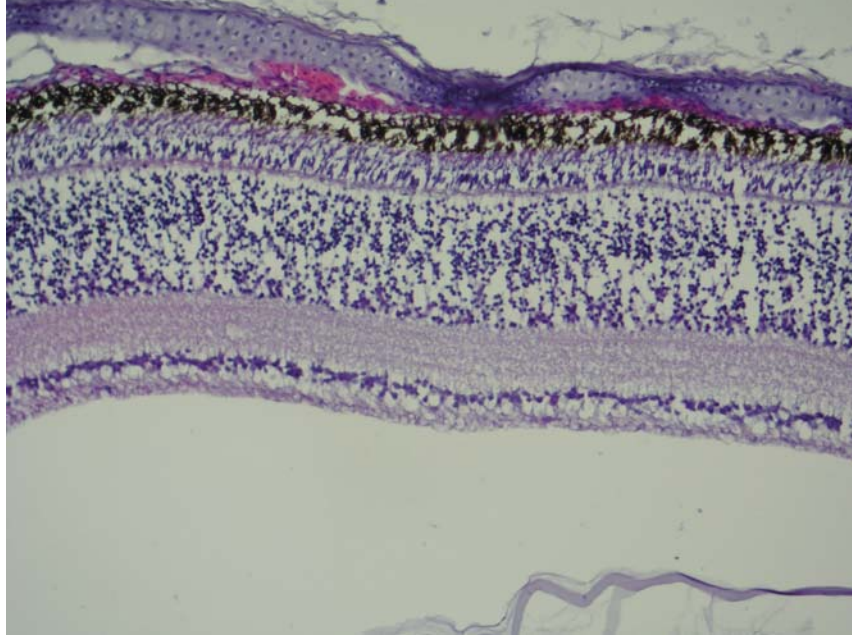
Histopatolojik incelemelerde kontrol grubu (şekil 4.1.) ile diğer grupların (şekil 4.2., şekil 4.3.) karşılaştırılması sonucunda adriyamisininin göz üzerinde önemli bir toksisitesinin olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait gözün enine kesiti. Histolojik tabakalar normal sınırlardadır (x200)



Şekil 4.2. Adriyamisin grubuna ait gözün enine kesiti. Histolojik tabakalar normal sınırlardadır (x200)



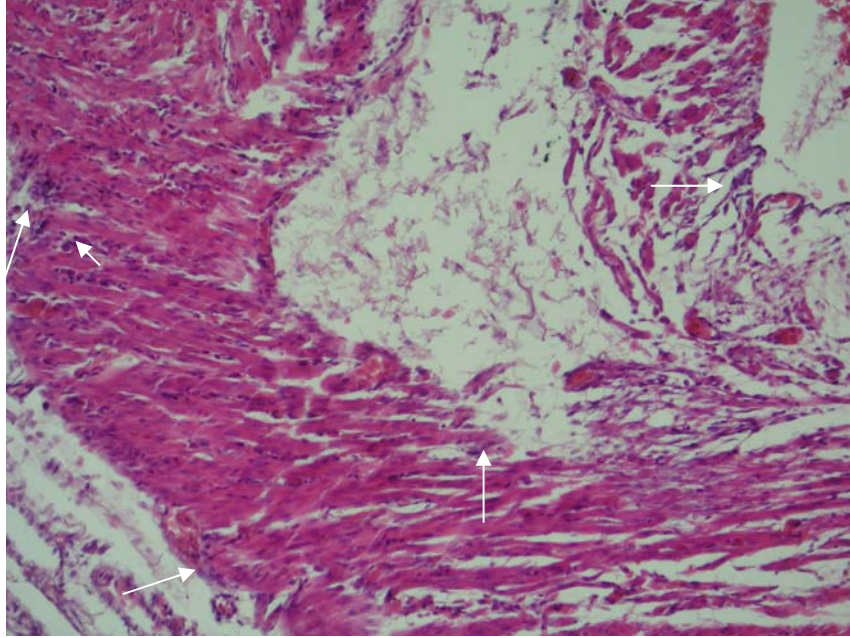
Şekil 4.3. Adriyamisin+N.sativa (4 mg) grubuna ait gözün enine kesiti. Histolojik tabakalar normal sınırlardadır (x200)

Kontrol grubu kalp örneklerinin incelenmesinde endokard, miyokard ve perikard yapılarının normal histolojik sınırlarda olduğu görülmektedir (şekil 4.4.).



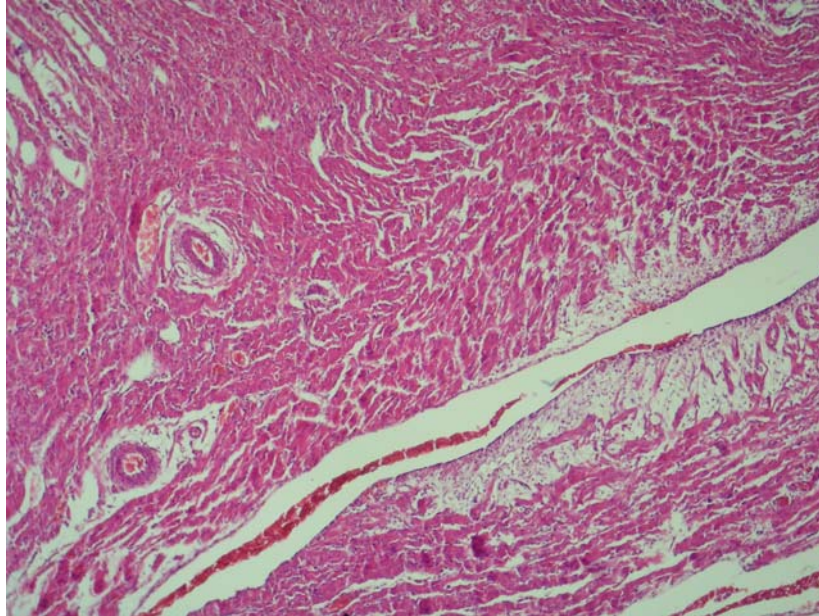
Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait kalp kesiti (x40)

Adriyaminin perikard, miyokard ve endokarda yer yer küçük topluluklar yapmış iltihabi hücre infiltrasyonuna sebep olduğu görülmüştür (şekil 4.5.).



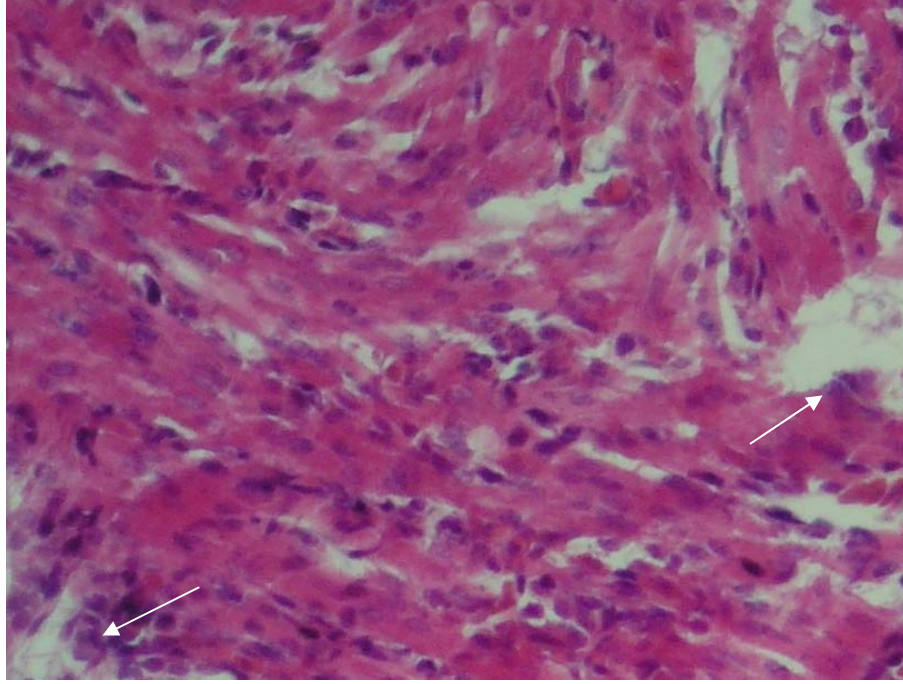
Şekil 4.5. Adriyamin grubuna ait kalp kesitinde endokard ve miyokard içinde iltihabi hücre toplulukları görülmektedir (oklar) (x200)

Nigella sativa verilen profilaktik ve tedavi gruplarında adriyaminin kaynaklanan iltihabi hücre topluluklarına rastlanmamıştır (şekil 4.6.). Bu da *Nigella sativa* ekstresinin adriyaminin oluşturduğu kardiyotoksositeye kaşı kalbi koruduğunu göstermektedir.



Şekil 4.6. Adriyamin+N.sativa (4 mg) grubuna ait kalp kesitinde iltihabi hücre infiltrasyonu izlenmemektedir (x100)

Trigonella foenum graecum verilen tedavi ve profilaktik gruplarda adriyamisinden kaynaklanan iltihabi hücre toplulukları görülmüştür (şekil 4.7.). Bu da *Trigonella foenum graecum* ekstresinin adriyamisinin oluşturduğu kardiyotoksisiteye kaşı kalbi korumadığını göstermektedir.



Şekil 4.7. *T. foenum graecum* (4 mg)+ Adriyamisin grubuna ait kalp kesitinde küçük topluluklar oluşturan iltihabi hücreler (oklar) (x200)

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Nigella sativa ve *Trigonella foenum graecum* birçok ülkede çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar *Nigella sativa* 'nın antitümoral (Nari ve ark., 1991; Salomi ve ark., 1992), bakterisid (El-Komali ve ark., 1998; Mouhajir ve ark., 1999), antisestod ve anti nematod (Mahmoud ve ark., 2002), antiinflamatuvar (Houghton ve ark., 1995; Mutabagani ve El- Mahdy, 1997), analjezik (Khanna ve ark., 1993), antidiyabetik (Al-Hader ve ark., 1993) ve diüretik (Zaoui ve ark., 2002) etkisinin olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca adriyamisin ile tedavi edilmiş Erlich Asit Tümör hücreleri taşıyan farelerin yaşama süresini uzattığı ve bitkinin adriyamisin ile oluşan serbest radikallerin oluşturduğu yan etkileri ortadan kaldırdığı kanısına varılmıştır (Musa ve ark., 2004).

Adriyamisin antineoplastik bir antibiyotiktir. Serbest radikal oluşturarak DNA'da hasar yapar, hücre siklusunun herhangi bir fazına özgü değildir fakat S fazına girmiş hücrelerde etkinliği daha fazladır (Kaya, 1995). ADR, lipit peroksit radikalleri şeklinde kardiyotoksisiteye neden olmaktadır. ADR mide-barsak kanalından absorbe edilmez (Kaya, 1995; Coşan, 1999). Dokulara fazla bağlanıp oradan yavaş salınır. İlaç, karaciğer, kalp, akciğer ve böbreklere hızla varır ve bu organlarda bazı değişimlere yol açabilir (Kaya, 1995). Bazı bitki ekstreleri ilaçların dokularda meydana getirdiği serbest radikal sitotoksitelerini ortadan kaldırırlar. *N. sativa* ekstresi adriyamisinden oluşan serbest radikallerin süpürücüsü olarak bildirilmiştir (Worthern ve ark., 1998).

Embriyonik dönemde kalbin miyokard tabakasının kök hücrelerin farklılaşmasıyla oluştuğu göz önüne alınarak bu çalışmayla kök hücrelerin heterojen popülasyonundan uygun olmayan hücreler ile kardiyotoksisiteye sahip ilaçların faaliyetini ve yan etkilerini ölçmek mümkündür.

Bu çalışmada yumurta içinde gelişmekte olan Broiler cinsi piliç embriyolarına daha önce yapılan çalışmalar göz önünde tutularak 0.1 ml de 10 µg adriyamisin verilerek serbest radikal oluşumu sağlandı ve alternatif tedavi olarak *Nigella sativa* ve *Trigonella foenum graecum* bitki ekstraktları 0.1 ml'de 4 mg ve 8 mg olmak üzere iki dozda verildi. Embriyolardan hazırlanan preparatların incelenmesi sonucunda adriyamisinin kalpte iltihabi hücre infiltrasyonuna sebep olduğu görülürken göz üzerinde önemli bir toksisitesine rastlanmadı. *N sativa* ekstresi verilen profilaktik ve tedavi gruplarında adriyamisinin oluşturduğu serbest radikallerin zararlı etkilerinin giderildiği ve 4 mg *N. sativa* 'nın piliç embriyosunda vücut ve kalp ağırlığı ortalamasını arttırdığı görülmüştür.

Trigonella foenum graecum ekstresi verilen embriyoların kalp ağırlığı ortalamasında bir değişiklik görülmezken vücut ağırlığı ortalamasında artış görüldü. Histopatolojik incelemeler sonucunda ise adriyamisinin kardiyotoksitesine karşı koruyucu bir rolünün olmadığı kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak, *Trigonella foenum graecum* 'un piliç embriyosunda vücut ağırlığı ortalamasını arttırdığı, fakat adriyamisinin kardiyotoksitesine karşı bir rolü olmadığı kanısına varılmıştır. 4mg *N. sativa* 'nın piliç embriyosunda vücut ve kalp ağırlığı ortalamasını arttırdığı ve adriyamisinin kardiyotoksitesine karşı kalbi koruduğu kanısına varılmıştır.

Yaptığımız bu çalışmanın biyokimsasal analizlerle de desteklenmesi durumunda adriyamisin ile tedavi gören hastalarda kardiyotoksiteye karşı *N. sativa* uygulanmasının yararlı olacağını öneriyoruz.

KAYNAKLAR

- ABOUL-ELA, E. I., 2002. Cytogenetic Studies on *Nigella sativa* Seeds Extract and Thymoquinone on Mouse Cells Infected with Schistosomiasis Using Karyotyping. *Mutation Research*, 516: 11-17.
- AKGÜL, A., 1993. *Baharat Bilimi ve Teknolojisi*. Gıda Teknolojisi Der., Yay. No: 15, Ankara.
- AKKUŞ, İ. 1995. *Serbest Radikaller ve Patolojik Etkileri*. Konya MimozaYayınları, 157. Konya.
- AKPINAR, M.A. 2001. *Genel Hayvan Embriyolojisi*. Özemek matbaası, 191, Sivas.
- AL- HADER, A., AGEL, M., and HASAN, Z., 1993. Hypoglycemic Effects of the Volatile Oil of *Nigella sativa* Seeds. *International Journal of Pharmacognosy*, 31: 96-100.
- AL-AWADI, F. M., and GUMAA, K. A., 1987. Studies on The Activity of Individual Plants of an Antidiabetic Plant Mixture. *Acta. Diabetol. Lat.*, 24: 37-41.
- AL-HABORI, M., and RAMAN, A., 1998. Antidiabetic and Hypocholesterolamic Effects of Fenugreek. *Phytother. Res.*, 12: 233-242.
- ALİ, B. H., and BLUNDEN, G., 2003. Pharmacological and Toxicological Properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res.*, 17(4): 299-305.
- ALİCAN, F., 1993. *Kanser*. Alfa Matbaacılık, 1-58, İstanbul.
and *Nigella sativa* Extracts on Cisplatin-Induced Toxicity in Rats. *Journal*
- ANDERSON, M.E., and MEISTER, A., 1989. Glutathione Moesters. *Anal. Biochem.*, 183: 16-20.
- ANONYMOUS, 1994. Bc Cancer Agency (Care&Research), Drug Index(Professional) Doxorubicin. <http://www.bccancer.bc.ca/HPI/DrugDatabase/DrugIndexALPro/Doxorubicin.html> Cancer Drug Manual.
- ANONYMOUS, 1998. Breast Cancer Symposium: Taxotere with Adriamycin, Cytoxan Effective for Metastatic Breast Cancer. www.plsgroup.com/dg/d35a6.htm.
- ANONYMOUS, 2002. Pharmacia Inc., www.meds.com/leukemia/idamycin, Kalamazoo, MI, 49001, USA.
- ANONYMOUS, 2002. Healthcommunities. Com, Inc., *Chemotherapy Medications and Their Side Effects*. <http://www.oncologychannel.com/chemotherapy/medsideeffects2.shtml>.
- ANONYMOUS, 2005. <http://www.pharm.chula.ac.th/vichien/crude-45/cardiac/fenugr.htm>
- ANONYMOUS, 2005. www.rolv.no/images/medisinplanter/nige_sat.jpg
- ANONYMOUS, 2005. www.ruhr-uni-bochum.de/boga/html/Trigonella_foenum_graecum
- ANONYMOUS, 2005. www.thegoatinthegarden.com/products/nig01r.jpg
- AQEL, M., and SHAHEEN, R., 1996. Effects of the Volatile Oil of *Nigella sativa* Seeds on the Uterine Smooth Muscle of Rat and Guinea Pig. *J. of Ethnopharmacol.*, 52: 23-26.
- BADARY, O. A., AL-SHABANAH, O. A., NAGI, M. N., AL-RIKABI, A. C., and ELMAZAR, M. M., 1999. Inhibition of Benzo(a)pyrene-Induced Forestomach Carcinogenesis in Mice by Thymoquinone. *Eur. J. Cancer Prev.*, 8(5): 435-440.

- BALL, S., WEINDRUCH, R., and WALFORD, L., 1986. Antioxidant and Immun Response, Free Radicals. Aging and Dejenervative Diseases, 427-456.
- BARBER, D.A., and HARRIS, S.R.X., 1994. Oxygen Free Radicals and Antioxidants. A Review. Acm Pharm., 34-26.
- BARÇIN, C., 1999. Doksorubisine Bağlı Kardiyotoksisitenin Önlenmesinde Oktreotidin Rolü. Tıpta Uzmanlık Tezi, GATA, Kardiyoloji ABD., Ankara.
- BARTON, D.H.R., and ZARD, S.Z., 1985. Radicasls: Their Importances in Synthetic Chemistry and Their Revalence to Biology. Plul Trans R. Soc. Lond, 1085: 311-805.
- BASAGA, H.S., 1990. Biochemical Aspects of Free Radicals. Biochem Cell Biol, 68-989.
- BAST, A., and GORIS, R.J.A., 1989. Oxidative Stres, Biochemistry Anahuman Disease. Pharm.Weekbl., 11(6): 199-206.
- BAYBEK, İ., 1995. Adriamycin'in İn Vitro İnsan Lenfosit Kültürleri Üzerindeki Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İ.Ü. Sağlık Bil. Ens. Genetik ABD., İstanbul.
- BAYTOP, T., 1984. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. İ.Ü. Yayınları No: 3255, İstanbul.
- BERGER, S.J., GOSKY, D., ZBEROWSKA, E., 1991. Sensitive Enzymatic Cycling in Diabetes. Diabetes, 46(4): 405-412.
- BOOSER, D.J., HORTOBAGYI, G.N., 1994. Anthracycline Antibiotics in Cancer. Therapy. Drugs, 47(2): 223-258.
- BORDIA, A., VERMA, S. K., and SRIVASTAVA, K. C., 1997. Effects of Ginger (*Zingibe Officinale* Rosc.) and Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) on Blood Lipids and Platellet Agregation in Patients with Coronary Artery Disaease. Prostaglandins Leukot Essent Faty Acids, 56: 379-384.
- BURITS, M., and BUCAR, F., 2000. Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil. Phytother. Ress., 14(5): 323-328.
- BURTON, G., and TRABER, M., 1989. Antioxidant Actions of Carotenoids. J. Nutr, 119: 109-111.
- CEBALLOS, L., JAPON, M., and HIRSCH, E., 1990. Superoxide Dismutase and Parkinsons Disease. The Lancet, 335: 1035-6.
- CHEESEMAN, K.H., 1993. Mechanism and Effect of Lipid Peroxidation. Molecular Aspect of Medicine, 7-191.
- CHEESMAN, K.H., and SLATER, T.F., 1993. An Intoduction to Free Radicals Biochemistry. British Medical Bullet, 49: 481-493.
- CLAIR, D.K., and HOLLAND, J., 1991. Complemantory DNA Encoding Homan Colon Cancer Manganese Superoxide Dismutase and the Expression of its Gone in Human Cell Cancer. Res., 51: 939-43.
- COŞAN, D., 1999. Sıçanlarda Benzo(a)piren Toksisitesine Doxorubicin ve Taksolün Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, O.Ü. Sağ. Bil. Enst. Tıbbi Biyoloji ABD., Eskişehir.
- ÇERÇİ, B., and ULAKOĞLU, G., 2001. The Effects of Adriamycin on L-Strain Cells. Chimica Acta Turcica, 28(1): 25-27.
- ÇETİN, E.T. 1968. Pratik Mikrobiyoloji. Menteş Matbaası, 644, İstanbul.
- DEL MAESTRO, R.F., 1980. An Aproach to Free Radicals in Medicine and Biology. Acta Physiol Scand, 492: 153-168.
- EL-DAKHAKNY, M., BARAKAT, M., ABD EL-HALIM, M., and ALY S. M., 2000. Effect of *Nigella sativa* Oil on Gastric Secretion and Ethanol Induced Ulcer in Rats. J. Ethnopharm., 72: 299-302.

- EL-KOMALI, H.H., AHMED, A.H., and MOHAMMED, A.A.M., 1998. Antibacterial Properties of Essential Oils from *Nigella sativa* Seeds. Cymbopogon Citratus Leaves and Pulicaria Undulata Aerial Parts. *Fitoterapia*, 69: 77-79.
- EL-TAHIR, K.E.H., ASHOUR, M.M.S., and AL-HARBI, M.M., 1993. The Respiratory Effects of the Volatile Oil or the Black Seed (*Nigella Sativa*) in Guinea-Pigs: Elucidation of the Mechanisms of Action. *General Pharmacology*, 24: 1115-1122.
- ERDEN, M., 1992. Serbest Radikaller. *Temel Klinik Tıp Bilimleri*, 12: 201-206.
- ERDOĞAN, H., 1995. İntravezikal uygulanan Adriamycin, Mitomycin C ve BCG'nin Normal Keme Mesane Epiteli Üzerindeki Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Yezi, C.Ü., Tıp Fak., Üroloji ABD., Sivas*.
- FREEMAN, B.A., and CRAPO J.D., 1982. Free Radicals and Tissue Injury-Lab-Invest, 47: 412-5.
- HALLIWELL, B., 1991. Reactive Oxygen Species in Living System: Sources, Biochemistry and Role in Human Disease. *Am. J. Med.*, 91(3c): 145-225.
- HALLIWELL, B., 1994. Free Radicals, Antioxidants and Human Disease Curiosity, Cause or Cansequence. *The Lancet*, 721-4.
- HALLIWELL, B., 1996. Oxidative Stress, Nutrition and Healt. *Experimental Strategies for Optimization of Nutritional Antioxidant in Take in Humans. Free Radicals Res.*, 25: 57-74.
- HALLIWELL, B., and GUTTERIDGE, J.M.C., 1982. Lipid Peroxidation Oxygen Radicals, Cell Damage and Antioxidant Thrapy. *The Lancet*, June 23: 1396-97.
- HANAFY, M. S., and HATEM, M. E., 1991. Studies on the Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* Seeds (Black Cumin). *J. Ethnopharmacology*, 34(2-3): 275-280.
- HAQ, A., ABDULLATIF, M., LOBO, I. P., KHABAR, S. A. K., SHETH, U. K., and AL SEDAIRY, T. S., 1995. *Nigella sativa* : Effect on Human Lymphocytes and Polymorphonuclear Leucocyte Phagocytic Activity. *Immunopharmacology*, 30 (2): 147-155.
- HAQ, A., LOBO, I. P., AL-TUFAIL, M., RAMA, R. N., and AL SEDAIRY, T. S., 1999. Immunomodulatory Effect of *Nigella sativa* Proteins Fractionated by Ion Exchange Chromatography. *Int. J. Immunopharmacol. Apr.*, 21 (4): 283-295.
- HENNEKENS, C.M.D., 1994. Health Promotion and Disease Prevention: The Role of Antioxidant Vitamins . *The American J. of Medicine*, Vol 97.
- HINDER, R.A., and STEIN, H.J., 1991. Oxygen Derived Free Radicals. *Arch. Surgs.*, 104.
- HINSHOW, B.D., and SKLOR, L.A., 1986. Cytoskeletal and Morpholojic Impact of Cellular Oxidant Injury. *Am. J. Pathol.*, 123: 454-64.
- HOCHSTEIN, P., and ATALLAH, A.S., 1988. The Nature of Oxidant and Antioxidant Systems in the Inhibition of Mutation and Cancer. *Mut. Res.*, 202: 363-75.
- HOUGHTON, P.J., ZARKA, R., DE LAS HERAS, B., and HOULT, J.R.S., 1995. Fixed Oil of *Nigella sativa* and Derived Thymoguinone Inhibit Eicosanoid Generation in Leukocytes and Membrane Lipid Peroxidation. *Planta Medica*, 61: 33-36.
- İŞİK, H., 2003. *Nigella sativa* (çörek otu) Tohum Destek Tedavisinin Alerjik Rinit Hastalarının Hematolojik Parametreleri ve Polimorf Nüveli Lökosit

- Fonksiyonları Üzerine *Ex Vivo* Araştırılması. Marmara Ü. Sağ. Bil. E. Farmasötik Mik. ABD., Yüksek Lisans Tezi, Tez No: 124083, İstanbul.
- KAYA, M. S., 2002. Çörek otu (*Nigella sativa*) Tohumunun İnsanlarda Hücresel Bağışıklık Sisteminin CD3+, CD4+, CD8+ Hücreleri ve Diğer Lökositler Üzerine Etkileri. Yüzüncü Yıl Ü. Sağ. Bil. E. Fizyoloji Anabilim Dalı Yük. Lisans Tezi, Tez no: 115061, Van.
- KAYA, S., 1995. Adriamycin Uygulanan Wistar Albino Sıçanlardaki Sitogenetik İncelemeler. Yüksek Lisans Tezi, İ.Ü. Sağ. Bil. E. Genetik ABD., İstanbul.
- KEHRER, J.P., and SMITH, C.V., 1994. Free Radicals in Biology: Sources, Reactivities and Roles in the Etiology of Human Diseases. Academic press, 25-62.
- KHANNA, T., ZAİDİ, F.A., and DANDIYA, P.C., 1993. CNS and Analgesic Studies On *Nigella sativa*. *Fitoterapia*, 64: 407-410.
- KILINÇ, K., ve KILINÇ, A., 2002. Oksijenin Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33: 100-118.
- LEE, T.K.W., LAU, T.C.M., NG, I.O.L., 2002. Doxorubicin-Induced Apoptosis and Chemosensitivity in Hepatoma Cell Lines. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 49: 78-86.
- LUFT, R., and LANNDAU, B.R., 1995. Mitochondrial Medicine. *Intern Med.*, 238-405.
- MAHMOUD, M.R., EL-ABHAR, H.S., and SALEH, S., 2002. The Effect of *Nigella sativa* Oil Against Liver Damage Induced by Schistosoma Mansonii Infection in Mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 1-11.
- MEARSON, F.Z., KAGON, V.E., KOZLOV, Y.P., BELKINA, L.M., and ARKHIPENKO, Y.V., 1982. The Role of Lipid Peroxidation in Pathogenesis of Ischemic Damage and the Antioxidant Protection of the Heart. *Basic Res Cardiol*, 77: 465-85.
- MEDENICA, R., MUKERJEE, S., HUSCHART, T., KOFFSKY, J., and CORBIT, W., 1993. *Nigella sativa* Plant Extract Increases Number and Activity of Immune Component Cell in Humans. *Exper. Hematol.*, 21(3) : 1186.
- MEISTER, A., 1994. Glutathione Ascorbate and Cellcycle Regulation. *FEBSS letters*, 47: 1-4.
- MORSI, N. M., 2000. Antimicrobial Effect of Crude Extracts of *Nigella sativa* on Multiple Antibiotics-resistant Bacteria. *Acta. Microbiol. Pol.*, 49(1): 63-74.
- MOUHAJIR, F., PEDERSEN, J.A., REJDALI, M., and TOWERS, G.H.N., 1999. Antimicrobial Thymohydroquinones of Moroccan *Nigella sativa* Seeds Detected by Electron Spin Resonance. *Pharmaceutical Biology*, 37: 391-395.
- MUGGIA, F.M., GREEN, M.D., 1991. New Anthracycline Antitumor Antibiotics. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 11: 43-46.
- MUGGLI, D., 1994. Physiological Requirements of Vitamin E as a Function of the Amount and Type of Polyunsaturated Fatty Acid. *Fatty Acids and Lipids*, Vol 75: 166-168.
- MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., RODWELL, V.W., 1991. *Harpers Biochemistry*. 2. Edition. Typo.
- MUSA, D., DİLSİZ, N., GÜMÜŞHAN, H., ULAKOĞLU, G., BİTİREN, M., 2004. Antitumor Activity of an Ethanol Extract of *Nigella sativa* Seeds. *Biologia*, 59(6): 735-740.

- MUTABAGANI, A., and EL-MAHDY, S.A.M., 1997. A Study of the Anti-Inflammatory Activity of *Nigella sativa L.* and Thymoquinone in Rats. Saudi Pharmaceutical Journal, 5: 110-113.
- NAIR, S.C., SALOMI, M.J., PANIKKAR, B., and PANIKKAR, K.R., 1991. Modulatory Effects of *Crocus sativus* and *Nigella sativa* Extracts on Cisplatin-Induced Toxicity in Mice. Journal of Ethnopharmacology, 31: 75-83.
- NAKAZAWA, H., GENKA, C., and FUJISHIMA, M., 1996. Pathological Aspects of Active Oxygens/Free Radicals. Japan J Physiol, 46: 15-32.
- NERGIZ, C. and ÖTLEŞ, S., 1993. Chemical composition of *Nigella sativa L.* Seeds. Food Chem., 48(3) : 259-261.
- NIELSEN, F., MIKKELSEN, B.B., NIELSEN, J.B., ANDERSAN, H.R., and GRANDJEAN, P., 1997. Plasma Malon Dialdehyde as Biomarker for Oxidative Stress Reference Interval and Effectsof Life-Style Factors. Clin. Chem., 1209-14.
- NIKI, E., 1987. Antioxidants in Retation to Lipid Peroxidation Chemistry and Physics of Lipids. 227-253.
- NOTARJAN, D., 1994. Oxidants in Vasler Endothelyum. JI Lob. Clin. Med., 125: 26-37.
of Pharmazie De Belgique, 53: 87-95.
- OMMATY, R., 2001. Vademecum (Modern İlaç Rehberi). Hacettepe Taş Kitapçılık, 147-149, Ankara.
- PERINONDI, N.L., THOMSON, W., and SCHMID, H.H.O., 1990. Diabetic Heart and Kidney Exhibit Creased Resistance to Lipid Peroxidation. Biochim Et Biophys. Acta,1047: 63-9.
- RATHEE, P. S., MISHRA, S. H., and KAUSHAL, R., 1982. Antimicrobial Activity Essential Oil, Fixed Oil and Unsaponifiable Matter of *Nigella sativa L.* Indian. J. Pharmac. Sci., 44: 8-10.
- RAVIKUMAR, P., and ANURADHA, C. V., 1999. Effects of Fenugreek Seeds on Blood Lipid Peroxidation and Antioxidants in Diabetic Rats. Phytother. Res., 13: 197-201.
- REZNICK, A.Z., CROSS, C.E., HU, M.L., 1992. Modifications of Plasma Proteins by Cigarette Smoke as Measured by Protein Carbonyl Formation. Biochem., 286: 607-611.
- RICHARDSON, J.S., 1991. Oxygen Free Radicals and Brain Dysfunction. Intern J. Neurosciece, 57: 1-17.
- RILEY, P.A., 1994. Free Radicals in Biology: Oxidative Stress and the Effects of Ionizing Radiation. Int. J. Radiat. Biol, 27-65.
- RIPINE, J.E., and BAST, A., 1997. Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmorary Disease. Am J Respir Crit Care Med., 156: 341-347.
- SAHIH, B., 2004. Black Seed. [www.members.aol.com/Black seeds](http://www.members.aol.com/Black%20seeds).
- SALEMAI, M. L., and HOSSAINB, M. S., 2000. Protective Effect of Black Seed Oil from *Nigella sativa* Against Murine Cytomegalovirus Infection. Int. J. Immunopharmacol., 22(9): 729-740.
- SALOMI, N.J., NAIR, S.C., and JAYAWARDHANAN, K.K., 1992. Antitumour Principles From *Nigella sativa* Seeds. Cancer Letters, 63: 41-46.
- SAXENA, A. P., and VYAS, K. M., 1986. Antimicrobial Activity of Seeds of Some Ethnomedicinal Plants. J. of Economic and Taxonomic Botany, 8: 291-299.

- SIES, H., STAHL, W., SUNGUIST, A., 1994. Antioxidant Functions of Vitamins Annals. New York Academy of Science, 7-20.
- SLATER, T.F., 1984. Free Radical Mechanism Tissue Injury. Biochem, 222: 1-15.
- SMITH, E.L., HILL, R.L., LEHMAL, R., 1983. Principle of Biochemistry. 382-3.
- SWAMY, S. M., and TAN, B. K., 2000. Cytotoxic and Immunopotentiating Effects of Ethanolic Extract of *Nigella sativa L.* Seeds. J. Ethnopharmacol., 70(1): 1-7.
- ŞEN, S.C., 1999. Adriamycin Ekstavazasyonuna Bağlı Cilt Yaralarının Önlenmesinde Vitamin C Kullanımı: Deneysel Çalışma. Tıpta Uzmanlık Tezi, U.Ü. Tıp Fak., Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi ABD., Bursa.
- TENNEKOON, K. H., JEEVATHAYAPARAN, S., KURUKULASO- ORIYA, A. P., and KARUNANAYAKE, E. H., 1991. Possible Hepatotoxicity of *Nigella sativa* Seeds and *Dregea volubilis* Leaves. Journal of Ethnopharmacology, 31: 283-289.
- TÜRKER, L., ve BAYRAK, A., 1997. Çörek otu (*Nigella sativa L.*)' nun Sabit ve Uçucu Yağ Kompozisyonunun Araştırılması. Standart., 430: 128-137.
- UYSAL, M., 1998. Serbest Radikaller, Lipid Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. Klinik Gelişim II, 2: 336-341.
- WORTHEN, D. R., GHOSHEH, O. A., and CROOKS, P. A., 1998. The In vitro Anti-tumor Activity of Some Crude and Purified Components of Black Seed. *Nigella sativa L.* Anticancer Res., 18(3A): 1527-1532.
- YALÇIN, A.S., 1992. Serbest Radikaller ve Patolojik Etkileri. 40-41.
- YALÇIN, A.S., 1998. Antioksidanlar. Klinik gelişim II, 342-346.
- ZAOUI, A., CHERRAH, Y., ALAOUI, K., MAHASSINE, N., AMAROUCH, H., and HASSAR, M., 2002. Effects of *Nigella sativa* Fixed Oil on Blood Homeostasis in Rat. Journal of Ethnopharmacology, 79: 23-26.
- ZAOUI, A., CHERRAH, Y., MAHASSINI, N., ALAOUI, K., AMAROUCH, H., and HASSAR, M., 2002. Acute and Chronic Toxicity of *Nigella sativa* Fixed Oil. Phytomedicine, 9: 69-74.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Şanlıurfa'nın Viranşehir ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Viranşehir'de tamamladı. 1998-2002 yılları arasında Harran Ünv. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Eğitim gördü. Halen Harran Ünv. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine devam etmektedir.

ÖZET

Nigella sativa ve *Trigonella foenum graecum* Türkiyede birçok hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılan bitkilerdir. Bu çalışmada *Nigella sativa* ve *Trigonella foenum graecum* metanol ekstrelerinin adriyaminin uygulanan hızlı bölünen hücreler üzerindeki sitotoksik ve histolojik etkileriyle piliç embriyosunun vücut ve kalp ağırlıkları üzerindeki etkileri araştırıldı. Hızlı bölünen hücreler olarak yumurta içinde gelişmekte olan Broiler cinsi 480 adet piliç embriyosu kullanıldı. Denekler 8 günlükken ve 14 günlükken 8 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol): Embriyolara 0.1 ml fizyolojik su verilerek normal gelişimlerine bırakıldı.

Grup 2 (TA4): 0.1 ml'de 4 mg *Trigonella foenum graecum* ekstresi, bir saat sonrada 10 µg ADR 0.1 ml 'de verildi.

Grup 3 (TA8): 0.1 ml'de 4 mg *Trigonella foenum graecum* ekstresi, bir saat sonrada 10 µg ADR 0.1 ml 'de verildi.

Grup 4 (AT4): 10 µg ADR 0.1 ml 'de, bir saat sonrada 0.1 ml'de 4 mg *Trigonella foenum graecum* ekstresi verildi.

Grup 5 (ADR): Sadece 10 µg ADR 0.1 ml 'de verildi.

Grup 6 (NA4): 0.1 ml'de 4 mg *Nigella sativa* ekstresi, bir saat sonrada 10 µg ADR 0.1 ml 'de verildi.

Grup 7 (AN4):10 µg ADR 0.1 ml 'de, bir saat sonrada 0.1 ml'de 4 mg *Nigella sativa* ekstresi verildi.

Grup 8 (AN8): 10 µg ADR 0.1 ml 'de, bir saat sonrada 0.1 ml'de 8 mg *Nigella sativa* ekstresi verildi.

8 günlük embriyolara bitki ekstreleri ve adriyaminin verilip 2 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra yumurtalar açılıp embriyolar fizyolojik su ile yıkanarak uygun fiksatiflere konuldu. 14 günlük embriyolara bitki ekstreleri ve adriyaminin verilerek kuluçka makinesine yerleştirildi. 19. günde yumurtlar açılıp embriyoların vücut ve kalp ağırlıkları alınarak kalp ve göz örneklerinden preparatlar hazırlandı. Yapılan

incelemeler sonucunda, gözün adriyamininin toksisitesinden etkilenmediği, *Trigonella foenum graecum* 'un piliç embriyosunda vücut ağırlığı ortalamasını arttırdığı, fakat adriyamininin kardiyotoksitesine karşı bir rolü olmadığı kanısına varılmıştır. 4mg *N. sativa* 'nın piliç embriyosunda vücut ve kalp ağırlığı ortalamasını arttırdığı ayrıca *N. sativa* ekstresinin adriyamininin kardiyotoksitesine karşı kalbi koruduğu kanısına varılmıştır.

SUMMARY

Nigella sativa and *Trigonella foenum graecum* are medicinal herbs, used widely in Turkey to prevent many diseases as diabetic, hypertensive and others. In this study we investigate the effect the methanol extract of *Nigella sativa* and *Trigonella foenum graecum* on chick embryo cells treated with adriamycin to study the possible effects of adriamycin possible cardiotoxicity. For this study, we have used 480 Broiler chick embryos divided into 8 groups of 8 and 14 days aged each.

Group 1 (control group): Treated with 0.1 ml normal saline only

Group 2 (TA4): Each embryo received 4 mg *Trigonella foenum graecum* in 0.1 ml, after one hour treated with 10 µg ADR in 0.1 ml

Group 3 (TA8): Each embryo received 8 mg *Trigonella foenum graecum* in 0.1 ml, after one hour treated with 10 µg ADR in 0.1 ml

Group 4 (AT4): Each embryo received 10 µg ADR in 0.1 ml, after one hour treated with 4 mg *Trigonella foenum graecum* in 0.1 ml

Group 5 (ADR): Embryos in this group, received 10 µg ADR only, used as treated control group

Group 6 (NA4): Each embryo received 8 mg *Nigella sativa* in 0.1 ml, after one hour treated with 10 µg ADR in 0.1 ml

Group 7 (AN4): Each embryo received 10 µg ADR in 0.1 ml, after one hour with treated with 4 mg *Nigella sativa* in 0.1 ml

Group 8 (AN8): Each embryo received 10 µg ADR in 0.1 ml, after one hour with treated with 8 mg *Nigella sativa* in 0.1 ml

8 days embryos were incubated for 2 hours liberated from egg shell washed in saline solution and fixed in fixative and prepared ordinary sections to valuate the effects of treatment on heart and eye cells. Herb extracts and adriamycin was injected to 14 days embryos and incubated for 5 days. On 19. day all eggs were opened and embryos dissected. Slides were prepared from heart and eye of each embryo.

From our results no toxic effects of adriamycin on eyes. Treatment with *Trigonella foenum graecum* can increase the total body weight of embryo. But no protective against adriamycin toxicity. Treatment with 4 mg *Nigella sativa* can increase total body and heart weight also can protect embryos against cardiotoxicity of adriamycin.