



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***NIGELLA SATIVA* 'NIN (ÇÖREK OTU)
KARACİĞERDE KARBONTETRAKLORÜR
HEPATOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE
APOPTOTİK ETKİLERİNİN MOLEKÜLER
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Mevlüt Han UĞURTAN

YÜKSEK LİSANS

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz- 2014
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Mevlüt Han UĞURTAN

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NIGELLA SATIVA 'NIN (ÇÖREK OTU) KARACİĞERDE KARBONTETRAKLORÜR HEPATOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE APOPTOTİK ETKİLERİNİN MOLEKÜLER OLARAK ARAŞTIRILMASI

Mevlüt Han UĞURTAN

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman: Doç.Dr. Tuna UYSAL

2014, 50 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Tuna UYSAL

Doç. Dr. Emine ARSLAN

Yrd. Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların pek çok yan etkisinin olması, doğal bitkilere olan ilgiyi arttırmıştır. Bu tür bitkilerin ilaç olarak kullanılması, insanlık tarihi kadar eskidir.

Bu tez çalışmasında Ortadoğu ve Uzakdoğu ülkelerinde 2000 yılı aşkın süredir birçok hastalığın tedavisinde kullanılan şifalı bir bitki olarak tanımlanan *Ranunculaceae* (*Düğünçiçeğigiller*) familyasından *Nigella sativa* (Çörek otu) bitkisinin rat karaciğerinde karbontetraklorür hepatotoksitesisi üzerine apoptotik etkilerinin moleküler belirteçlerle araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla kontrol, CCl₄, CCl₄ + çörek otu yağı ve sadece çörek otu yağı olmak üzere 4 deney grubu oluşturulmuştur. Ratlardan alınarak disekte edilen karaciğer dokuları morfolojik olarak değerlendirdiğinde karbontetraklorür uygulanan karaciğer dokusunda belirgin bir yağlanma olduğu gözlenmiştir. CCl₄ ve çörek otu yağını birlikte uyguladığımız deney grubuna ait karaciğer dokusunda morfolojik olarak yağlanmanın azaldığı görülmüştür. İzole edilen DNA'lar (%0,7) agaroz jele yüklenerek fragmentasyon analizi yapılmış, izole edilen RNA'lardan cDNA sentezi ve sırasıyla GAPDH, BCL-2, BAX gen bölgelerinin amplifikasyonları yapılmıştır bunun yanı sıra kaspaz 3 enzim aktivitesi ölçümleri yapılmıştır. Gen ekspresyon düzeyleri Image J programı kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar bu gen bölgelerinin ifade seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Moleküler sonuçlarımız CCl₄ uygulanan grupta karaciğer hücrelerinin tümörleşmeye doğru gittiğini ve bu etkinin CCl₄ ve çörek otunun birlikte kullanıldığı grupta azaldığını göstermiştir. Moleküler sonuçlar ve morfolojik gözlemler çörek otu yağının karbontetraklorür hepatotoksitesisi üzerinde geri dönüştürücü ve koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: CCl₄, Çörek otu, Apoptoz, Kaspaz-3, Karaciğer.

ABSTRACT

MS THESIS

APOPTOTIC EFFECTS OF *NIGELLA SATIVA* ON CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED HEPATOTOXICITY

Mevlüt Han UĞURTAN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOLOGY**

Advisor: Assoc. Prof.Dr. Tuna UYSAL

2014, 50 Pages

Jury

Assoc. Prof.Dr. Tuna UYSAL

Assoc. Prof.Dr. Emine ARSLAN

Assist. Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Interest to natural plant has increased because many of the drugs used in the treatment have side effects. Using these types of plants as medicine, is as old as human history.

In this thesis, it is aim to identify effects of *Nigella sativa* that is a member of Ranunculacea carbontetrachloride hepatotoxicity on the apoptotic of molecular markers in the liver and it has been used for over 2,000 years to cure many diseases in the Middle East and Far East countries. For this purpose, four experimental groups were formed that consisted CCl₄, CCl₄ + black cumin oil and black cumin oil. It was observed that a remarkable anointment was observed in liver tissue when carbontetrachloride was applied. When it was evaluated morphologically, the tissue taken from rat liver tissue dissected When CCl₄ and black cumin oil and together were applied together in the liver tissue, a morphological decrease was observed in experimental group. Isolated DNA(0,7%) by loading agarose was analyzed, isolated RNA cDNA synthesis and respectively GAPDH, BCL-2, BAX gene regions of amplification were performed, as well as caspase 3 enzyme activity were measured. Gene expression levels were measured using Image J program. The results of the gene expression levels have been associated with the region. Our results in the group molecular CCl₄ liver cells was going towards become tumours and this effect reduced in group that was used CCl₄ and black cumin combination. The results of molecular and morphological observations, it was observed that black cumin oil has recycler and protective effect on carbontetrachloride hepatotoxicity.

Key words: CCl₄, Black Cumin, Apoptosis, Caspase-3, Liver.

ÖNSÖZ

Alana küçükte olsa bir kazanım sağlaması umuduyla oluşturulan “*Nigella sativa*’nın (Çörek Otu) Karaciğerde Karbontetraklorür Hepatotoksisitesi Üzerine Apoptotik Etkilerinin Moleküler Olarak Araştırılması” isimli bu çalışmanın ortaya çıkmasında birçok değerli insanın katkısı olmuştur.

Öncelikle ilk tanıştığım günden bugüne hep iyiliğini ve desteğini gördüğüm kıymetli danışmanım Doç.Dr. Tuna UYSAL hocama çok teşekkür ediyorum.

Tez çalışmamı yapabilmem için bana her türlü laboratuvar imkânını sağlayan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Prof.Dr. Kuddusi ERTUĞRUL’a,

Ayrıca bu çalışmada özverili desteklerini gördüğüm Yrd. Dr.Hüsamettin VATANSEV’e de şükranlarımı sunarım.

Yine tez sürecinde katkılarını hiçbir zaman unutamayacağım Arş. Gör. Ela Nur ŞİMŞEK’e, Uzman Meryem BOZKURT’a, Nurcan EVLİYAOĞLU’na teşekkür ediyorum.

Son olarak aileme de bu süreçte sevgi ve hoşgörülerini ile destek oldukları için teşekkürlerimi sunuyorum.

Mevlüt Han UĞURTAN

KONYA-2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL DİZİNİ	ix
TABLO DİZİNİ	ix
GRAFİK DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Karaciğer.....	3
2.2. Karbontetraklorür (CCL ₄).....	6
2.2.1. Karbontetraklorür Etki Mekanizması	7
2.2.2. Karbontetraklorür Kullanılarak Yapılan Çalışmalar.....	8
2.3. Çörek Otu (<i>Nigella sativa</i>).....	12
2.3.1.Çörek Otunun İçeriği	13
2.3.2.Çörek Otunun Kullanım Alanları	13
2.3.3.Çörek Otunun Farmakolojik Özellikleri	15
2.3.4.Çörek Otunun Kullanıldığı Çalışmalar	16
2.4.Apoptozis	18
2.5. Çalışmada tercih edilen gen bölgeleri ve enzimler	20
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1.Materyal	24
3.1.1.Materyal eldesi.....	24
3.2.Metot.....	24
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanlarının Yetiştirilmesi.....	24
3.2.2. Deney Hayvanlarının Karbontetraklorürle Muamele Edilmesi	24
3.2.3. DNA izolasyonu	25
3.2.4. RNA izolasyonu ve RT-PCR.....	26
3.2.5.PCR optimizasyonu	26
3.2.6.PCR ürünlerinin analizi	27
3.2.7. Kaspaz 3 enzim aktivitesinin ölçülmesi.....	27
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	28
4.1.Morfolojik Gözlemler	28

4.2. Moleküler Bulgular	29
4.2.1. DNA Fragmantasyonu	29
4.2.2. RT-PCR Sonuçları	30
4.2.3. Gen Ekspresyon Sonuçları	31
4.3.2.1. GAPDH	31
4.3.2.2. BAX	33
4.3.2.3. BCL-2	34
4.3.2.4. BAX/BCL-2 oranları	35
4.3.2.5. Kaspaz-3 Enzim Aktivitesi Sonuçları	37
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	38
5.1 Sonuçlar	38
5.2 Öneriler	39
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	50

ŞEKİL DİZİNİ

ŞEKİL	SAYFA
Şekil 1.1. <i>Nigella Sativa</i> (Çörek Otu) çiçeği	1
Şekil 1.2. Karaciğerin vücutta yerleşimi	2
Şekil 2.1. Karaciğer görünüş	3
Şekil 2.2. <i>Nigella sativa</i> (Çörek Otu) tohumu ve yağı	15
Şekil 2.3 Apoptoz ve Nekroz	24
Şekil 2.4 BAX- BCL2 ve kaspaz 3 ilişkisi	29
Şekil 4.1.Ratlardan alınarak diseksiyonu yapılan karaciğer dokuları	33
Şekil 4.2. İzole edilen DNA'ların agaroz jelde görünümü	34
Şekil 4.3. GAPDH ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi	36
Şekil 4.4. BAX gen ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi	37
Şekil 4.5. BCL-2 gen ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi	39

TABLO DİZİNİ

TABLO

Tablo 3.1. Kullanılan primerlerin baz dizilimleri	32
Tablo 4.1.İzole edilen DNA'ların nanodrop ölçüm sonuçları	35
Tablo 4. 2. İzole edilen RNA'ların nanodrop ölçüm sonuçları	35

GRAFİK DİZİNİ

GRAFİK

Grafik 4.1. GAPDH geninin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri	36
Grafik 4. 2. BAX geninin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri	38
Grafik 4.3. BCL-2 geninin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri	39
Grafik 4.4. BAX/ BCL-2 genlerinin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri oranı	40
Grafik 4.5. Kaspaz 3 enzim aktivitesi	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
mm ²	: Milimetrekare
cm ²	: Santimetrekare
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre

Kısaltmalar

WHO	: Dünya Sağlık Teşkilâtı
MTT	: (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide
TQ	: Timokinon
AST	: Aminotransferase
ALT	: Alanine aminotransferase
ALP	: Alkaline phosphatase
LDH	: Laktat dehidrogenaz
CCL ₄	: Karbontetraklorür
ATP	: Adenozin trifosfat
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GSH	: Glutasyon redükte formu
GSSG	: Glutasyon okside formu
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
İp	: İntraperitoneal
DAB	: Dimetil aminobenzen
Caspaz	: Cysteine Aspartic Acid Specific Protease
Bax	: Apoptoz regülatörü (bcl-2-ilişkili protein 4)
Bcl-2	: B-cell lymphoma 2
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
TSH	: Thyrotrophin-Stimulating Hormone (Tiroid uyarıcı hormon)
STH	: Somatrophic hormon (Büyüme hormonu)
MSH	: Melanosit simule edici hormon
ADH	: Antidiüretik Hormon
IŞP70	: Isı şok proteini 70

1. GİRİŞ

Geleneksel olarak tıbbi bitkilerle tedavi yöntemleri çok eskilere dayanmaktadır. Önceki çağlardan beri insanoğlu hastalıklara çare ve dertlere deva bulabilmek amacıyla birçok yola başvurmuştur. Bu yollardan ilk akla gelen bitki kaynaklı tedavi yöntemleridir. İlâç üretim teknolojilerinin olmadığı zamanlarda, birçok hastalığın tedavi edebilmek için bitkilerin çeşitli kısımları kullanılıyordu.

İlaç üretim teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte üretilen ilaçların hastalar üzerinde birçok yan etkiye neden oluşu, yine doğal ürünlere olan ilgiyi geniş ölçüde arttırmıştır. Toksik ajanlara karşı özellikle karaciğer gibi duyarlı organlarda bu şekilde doğal ürünlerin kullanımı ilaçlara oranla daha çok tercih edilmektedir.



Şekil 1. 1. *Nigella Sativa*(Çörek Otu) çiçeği (Anonim 1)

Geleneksel olarak tıbbi bitkilerin kullanımı ülkemizde ve Türk topluluklarında çok eski zamanlardan beri görülmekte olup, son zamanlarda bu alandaki çalışmaların modern tıbbı olan katkısı her geçen gün artmaktadır. Günümüzde ilâç, kozmetik ve gıda sektöründe bitki kaynaklı ürünler, saflaştırılarak ve her maddenin etki mekanizması bilinerek kullanılmakta ve bitkisel kaynaklı ürünlere talep sürekli artmaktadır. Dünya Sağlık Teşkilâtı'nın (WHO) tahminlerine göre dünya üzerinde 20.000'den fazla bitki türü tıbbî maksatlı olarak kullanılmaktadır.

Günümüzde tıbbi tedavilere yardımcı olarak birçok bitkiden faydalanılmaktadır. Tıbbî maksatla kullanılan bitkilerden biri olan çörek otu, Ranunculaceae (Düğün

çiçekleri) familyasından *Nigella sativa* türüdür. Bitkinin kapsül içerisindeki tohumu, besin olarak kullanılırken yağı ise genellikle tedavi amaçlı kullanılmaktadır.

Bitki, ismini tohumlarının siyah renginden almıştır. ‘Nigella’ kelimesi Lâtince siyahımsı mânâsına gelen ‘nigellus’dan türetilmiştir. *Nigella sativa* bitkisinin Türkçe karşılığı olarak çörek otu, ekilen çörek otu, kara çörek otu ve siyah kimyon isimleri kullanılmaktadır.

Çörek otunun birçok organ üzerindeki iyileştirici etkisini kanıtlamak için son yıllarda geniş çaplı araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmada *Nigella sativa* (çörek otu)’nın organizmanın yaşamı süresince toksisiteye en çok maruz kalan organı olan karaciğer üzerinde bugüne kadar araştırılan etkilerine ek olarak apoptotik etkileri moleküler belirteçlerle tespit edilmiştir.

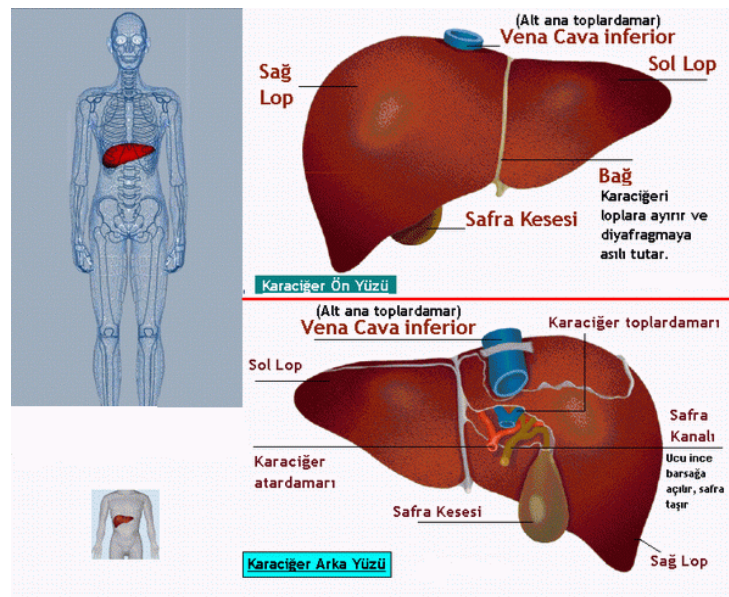


Şekil 1.2. Karaciğerin vücutta yerleşimi (Anonim 2)

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Karaciğer

Karaciğer insanda en büyük organdır, 1400-1600 g ağırlığındadır. Karaciğer karın boşluğunda, diyaframın altında yer alan bir organdır. Karaciğer; yaşam için gerekli birçok farklı fonksiyon üstlenir. Karaciğeri çıkarılan canlının birkaç saat yaşayabilmesi de bu organın önemini ortaya koymaktadır. Pek çok önemli fonksiyonu bulunmakla birlikte temel görevleri şöyle sıralanabilir; sekresyon, depo, fagositoz, detoksikasyon, konjugasyon, esterleştirme, metabolizma ve hemopoez'dir (Guyton, 1991).



Şekil 2.1. Karaciğer görünüm (Anonim 3)

Aminoasitleri, karbonhidratları, lipidleri, vitaminleri, mineralleri alır, işler ve depolar. Albumin, α ve β globulinler, pıhtılaşma faktörleri ve transport proteinleri dahil olmak üzere birçok plazma proteini karaciğer tarafından sentezlenmektedir. Karaciğer; ilaçlar ve toksinler gibi ekzojen bileşiklerin detoksifikasyonunda primer organdır. Karaciğerin diğer önemli bir fonksiyonu da bilirubinin glukuronik asitle konjugasyonudur. Karaciğer; safra asitlerinin kolesterolden sentezi ve safraya sekresyonu; böylece kolesterol metabolizmasının düzenlenmesi ve diyetel yağların absorpsiyonunun kolaylaştırılmasından da sorumludur. Karaciğer; tiroid, steroid ve diğer hormonların başlıca katabolizma yeridir ve plazma hormon düzeylerinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Diler,2005).

Karaciğer tüm bu görevleri karaciğer parankimini oluşturan epitel hücreleri aracılığıyla gerçekleştirir. Karaciğer parankiminde çeşitli nedenlerle dejenerasyon oluşurken aynı zamanda rejenerasyon da oluşur. Ancak organa gelen hasar sürekli olur ve tekrarlanırsa hücre yenilenmesinden daha fazla oranda bağ dokusu artışı meydana gelir. Bağ dokusundaki bu artış karaciğer yapısındaki bozuklukla sonuçlanır ve siroz olarak isimlendirilir Karaciğer parankiminin tahrip olması ve bunun yerine yağ dokunun gelişmesi, fonksiyonel karaciğer hücreleri yanında vasküler ve safra kanalları sistemlerini de bozar (Junqueira ve ark., 1992). Karaciğerde siroza; toksik maddeler (karbon tetraklorür, alkol, fosfor, kloroform, manganez, arsenik, kömür katranı), enfeksiyonlar ve parazit larvaları, karaciğerde alyuvar yıkımı sonucunda aşırı düzeyde hemosiderin birikimi gibi faktörler neden olmaktadır (Masaki ve ark., 1988; Ariosto ve ark., 1989; Doi ve ark., 1991; Fischer ve ark., 1991).

Karaciğer anatomik lokalizasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal rolü nedeni ile birçok toksik, zararlı madde ve ilaçlara sıkça maruz kalan bir organdır. Karaciğerde hasar dahil çeşitli patolojik tablolara yol açan 600'den fazla ilaçtan biri de karbon tetraklorür (CCl₄)'dür (Zimmerman,1978; Robbins ve ark., 2000). CCl₄, serbest radikalleri açığa çıkararak etkisini gösterir. Bu serbest radikaller lipid peroksidasyonu oluşturur ve bunu izleyerek oluşan toksik lipid peroksidasyon ürünleriyle membran hasarı ortaya çıkar (Brattin ve ark., 1985; Slater,1984). Membran hasarı engellenemez ise hücre ölümü gerçekleşir (Yao ve ark.,1994).

Karaciğerin lipid metabolizması ile ilgili fonksiyonları, yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, fosfolipid sentezi, lipoproteinlerin sentezi, keton cisimlerinin sentezi, kolesterol biyosentezi, safra asitlerinin ve safranin oluşturulmasıdır. Sağlıklı bir şahsın karaciğerindeki lipid miktarı %5 kadardır. Karaciğerde %5'ten fazla lipid veya %2'den fazla trigliserid olması durumunda karaciğer yağlanması söz edilir (Anonim 6, 2014).

Karaciğer yağlanması, plazmada serbest yağ asitleri artışı ve lipoprotein sentezinde defekt sonucu oluşur. Plazmada serbest yağ asidi artışı, açlıkta ve diyabetes mellitusta olduğu gibi yağ dokuda lipolizin artıp trigliserid sentezinin azalışına ve aşırı yağlı diyetle beslenmede olduğu gibi ekstrahepatik lipoprotein lipaz aktivitesinin artışına bağlıdır. Plazmada artan yağ asitleri, kalp ve iskelet kası tarafından alınarak enerji oluşturmada kullanılırlar veya karaciğer tarafından alınarak endojen trigliseridleri ve bunlardan da VLDL'leri oluşturmada kullanılırlar. Karaciğerde VLDL üretimi

trigliserid üretiminden az olduğunda trigliseridler karaciğerde birikirler ve karaciğer yağlanması olur (Anonim 6, 2014).

Lipoprotein sentezinde defekt, çeşitli nedenlere bağlı olabilir: 1) Pürtüklü endoplazmik retikulumda hasar nedeniyle apolipoprotein sentezinin bozulması. 2) Esansiyel yağ asitleri eksikliğinde olduğu gibi lipoproteinlerin yapısında bulunan fosfolipidlerin sağlanışında yetmezlik. 3) Kolin, metiyonin, betain gibi karaciğerde yağlanmayı önleyen lipotropik faktörlerin yetmezliğinde lipoprotein sentezi ile ilgili intrasellüler membranların sentezinin aksaması. 4) Lipoprotein salgılayıcı mekanizmada bozukluğa bağlı olarak karaciğerde oluşan endojen trigliseridlerin lipoprotein sentezinde kullanılamaması ve karaciğerden uzaklaştırılmaması Karaciğer yağlanmasına neden olan bazı besinsel, endokrin ve toksik faktörler de tanımlanmıştır (Anonim 6, 2014).

Karaciğer yağlanmasına neden olan besinsel faktörler:

- 1) Kolesterolce zengin diyetle beslenmede esansiyel yağ asitleri kolesterolle esterleşir ve fosfolipidlerin sentezi bozulur.
- 2) Aşırı karbonhidratlı diyetle beslenmede aşırı trigliserid üretimi nedeniyle plazmada serbest yağ asitleri yükselmeden karaciğer yağlanması olur.
- 3) Hipoglisemi, ammonemi, hepatik ansefalopati ile karakterize Reyes sendromunda olduğu gibi karnitin eksikliğinde uzun zincirli yağ asitleri oksidasyon için mitokondri içine alınamaz ve karaciğer yağlanması olur.
- 4) Esansiyel yağ asitleri eksikliğinde fosfolipid sentezi ve dolayısıyla lipoprotein sentezi ile ilgili intrasellüler membranların yapısı bozulur.
- 5) Açlık ve düşük proteinli diyetle beslenme durumunda da karaciğer yağlanması olur.
- 6) Vitamin E eksikliğinde yağ asidi peroksidlerinin etkisizleştirilememesiyle intrasellüler membranların yapısı bozulur.
- 7) Vitamin B₆ ve pantotenik asit eksikliğinde inozitol içeren fosfolipidlerin sentezi ve intrasellüler membranların yapısı bozulur.
- 8) Nikotinik asit eksikliğinde yağ dokudan mobilize olan serbest yağ asitleri karaciğerde fazla miktarda trigliserid oluşumuna ve sonuçta karaciğer yağlanmasına neden olur.
- 9) Etil alkol kullanımı ile NADH/NAD⁺ oranında artışa bağlı olarak sitrik asit döngüsü aktivitesinde ve yağ asidi oksidasyonunda azalma ile trigliserid sentezinde artma ve sonuçta karaciğer yağlanması olur (Anonim 6, 2014).

Karaciğer yağlanmasına neden olan endokrin faktörler:

1) ACTH, TSH, STH (GH), MSH, ADH, adrenalin, noradrenalin, glukagon gibi lipolitik hormonların aktivitelerinin artışı ile yağ dokudan mobilize olan serbest yağ asitleri karaciğerde fazla miktarda trigliserid oluşumuna ve sonuçta karaciğer yağlanmasına neden olur.

2) İnsülin, prolaktin gibi antilipolitik hormonların aktivitelerinin azalışı ile de yağ dokudan mobilize olan serbest yağ asitleri karaciğerde fazla miktarda trigliserid oluşumuna ve sonuçta karaciğer yağlanmasına neden olur (Anonim 6, 2014).

Karaciğer yağlanmasına neden olan toksik faktörler:

1) Metil grubunu aşırı tüketen ilaçların sürekli kullanılması, kolin, metionin, betain gibi karaciğerde yağlanmayı önleyen lipotropik faktörlerin yetmezliğine ve sonuçta lipoprotein sentezi ile ilgili intrasellüler membranların sentezinin aksamasına bağlı olarak karaciğer yağlanmasına neden olur.

2) CCl₄, kloroform, promisin, PAS gibi protein sentezini engelleyen maddelerin kullanılması karaciğerde lipoprotein sentezinin bozulmasına ve sonuçta karaciğer yağlanmasına neden olur (Anonim 6, 2014).

2.2. Karbontetraklorür (CCL₄)

Son yıllarda kimyasalların, hücrel toksisiteyi tetikleyen yüksek reaktif metabolitlerin biyo-transformasyonundaki rolüne dikkat çekilmektedir. Klinik olarak tedavide faydalı birçok ilaç serbest radikallerin oluşumuna yol açarak hücrel hasara neden olmaktadır. Bu kimyasallardan bir tanesi de, farklı hayvan modellerinde karaciğer hasarında geniş ölçüde kullanılan karbontetraklorürdür. CCL₄ hepatoksisitesi, triklorometil ve triklorometilperoksil radikallerinin oluşmasına yol açmaktadır. Bu radikaller lipid peroksidasyonunu başlatarak sonrasında fibroz ve nekroza neden olmaktadır (Recknagel ve ark., 1989; Kadiiska ve ark., 2000).

CCl₄ metabolik olarak triklorometil radikali içindeki sitokrom p450' yi aktive etmektedir. Biyolojik sistemlerde bu radikaller arasındaki etkileşim hücrel hasarla sonuçlanmaktadır (Packer ve ark.,1978; Poyer ve ark.,1980; Noguchi ve ark.,1982). Serbest radikallerin hücrede artışıyla oluşan karaciğer nekrozu birçok ksenobiyotik mekanizmasının doğal bir sonucudur. Serbest radikal oluşumuna neden olan

ksenobiyotiklerden biri olan CCl_4 direkt olarak karaciğer üzerine etki eder (Olson ve ark., 1981).

Karbon tetraklorür (CCl_4) böbrek ve özellikle karaciğerde, doku hasarına yol açan uçucu organik bir kimyasal ajandır. Deneysel olarak yapılan çalışmalarda CCl_4 'ün karaciğerde, mitotik aktiviteyi artırdığı, hepatositlerde dejenerasyon, hepatik yağ dejenerasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrozis, siroza ve kansere neden olduğu gösterilmiştir (Kuş ve ark., 2005; Jadhav ve ark., 2010; Manibusan ve ark., 2007). Oluşturduğu karaciğer dejenerasyonu, insandaki siroz gelişim sürecine benzerlik gösterdiği için CCl_4 , kemirgenlerde deneysel çalışmalarda en çok kullanılan kimyasal ajandır. CCl_4 'e bağlı karaciğer toksisitesinin oluşmasında oksidatif stres önemli rol oynar (Hong ve ark., 2009).

2.2.1. Karbontetraklorür Etki Mekanizması

CCl_4 vücuda solunum, sindirim ve deri yoluyla alınabilir. İnsanlarda CCl_4 'un toksik dozu solunum yolu ile alındığında 65ppm; ağızdan alındığında ise 4 ml'dir. Emildikten sonra bütün organ ve dokulara dağılan CCl_4 en çok yağ dokusunda birikir. 2-6 gün içinde yavaşça dokulardan ayrılarak başlıca akciğerler ve az miktarda da böbrekler yoluyla atılır (Kayaalp, 1991). Zehirlenme belirtileri deri, solunum veya ağız yoluyla emilimini takiben hemen ortaya çıkar. CCl_4 zehirlenmesi merkezi sinir sisteminin baskılanmasına yol açar. Buna bağlı olarak görülen başlıca belirtiler; bas ağrısı, bas dönmesi, halsizlik, ataksi, görme bulanıklığı, uyuma hali ve bilinç kaybıdır. İlk günden itibaren bulantı, kusma ve karın ağrısı görülür.

CCl_4 'un emilimden birkaç gün sonra karaciğer yağlanması ve hasarı ile ilgili belirtiler ortaya çıkar. Karaciğer hücrelerinin nekrozu sonucu aspartat aminotransferaz (AST) ve aldolaz enzim düzeyleri artar. Protrombin zamanı uzar (Mayer ve Hemmens 1997; Wang ve ark., 2005). Uzun süreli düşük miktarda (45-100 ppm) CCl_4 solunması huzursuzluk, aşırı hareketlilik, bağırsaklarda düzensiz kasılmalara neden olur. Maruz kalma birkaç haftayı geçtiğinde ciltte kuruma, kabarık kırmızı lekeler, tırnaklarda kırılma ve kuruma ortaya çıkar. Solunmadığı surece semptomlar azalır ancak tekrarlandığında yeniden ortaya çıkar.

Prooksidan aktiviteye sahip olan CCl_4 secici hepatotoksik etkisinden dolayı deney hayvanlarında siroz oluşturmak için kullanılmaktadır. CCl_4 mikronoduler siroz oluşturur. Değişik deney hayvanlarının CCl_4 'e vereceği yanıtı önceden kestirmek ve bu

yolla karaciğer sirozu modeli oluşturmak zordur.(Dashti ve ark., 1989; Arii ve ark., 1990) CCl₄ 'un tekrarlayan uygulamalarının serbest radikal üretimine neden olarak sirozu indüklediği kesin olarak bilinmektedir.

2.2.2. Karbontetraklorür Kullanılarak Yapılan Çalışmalar

Nazıroğlu ve ark. (1999); E vitamininin karaciğerine CCl₄ enjekte edilmiş fareler üzerinde E vitamininin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları dokusal incelemede E vitaminin açık bir şekilde CCl₄ uygulanan örneklerde karaciğer nekrozu ve sirozunun korunmasına yardımcı olduğunu görmüşlerdir. Klasik histolojik inceleme ve biyokimyasal veriler tarafından kanıtlanan CCl₄ kaynaklı kronik karaciğer hasarına ve siroza karşı intraperitoneal olarak uygulan E vitaminin koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermişlerdir.

Simeonova ve ark. (2001); CCl₄ tarafından indüke edilen fibrozlar , inflamantasyonlar ve karaciğer toksinlerinde tümör nekroz faktör alfanın rolünü araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda inflamantasyon ve karaciğer fibrozu indirgeyen ürünlerde TNF-alfa için sorumlu olduğunu ancak CCl₄ indüke etmede etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

Bhattacharjee ve ark. (2007); *Phyllanthus niruri* L. Bitkisinden elde ettikleri protein izolatının, CCl₄ indüke edilmiş karaciğer üzerindeki koruyucu etkisini ve antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. *Phyllanthus niruri*'nin karaciğer üzerinde koruyucu etkisini ortaya koymuşlar ve tedavi amaçlı kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Karthikeyan ve ark. (2010); kahverengi alglerden *Padina boergesii* nin CCl₄ indüke edilmiş farelerin karaciğerlerinde hepatoprotektif (koruyucu) aktivitesini araştırmışlardır. *P.boergesii* nin karaciğer üzerinde koruyucu etkisini ortaya koymuşlar ancak bu bitkinin içeriğinin belli şartlar altında koruyucu mekanizmasının değişken olabileceğini ortaya koymuşlardır.

Kurt ve ark. (2004); deneysel olarak, sıçanlarda oksidatif stres oluşturan kimyasal madde karbon tetraklorit (CCl₄)'e karşı, antioksidan özelliği bilinen kateşinin koruyucu etkisi olduğu araştırmışlardır. CCl₄ metabolizmasına bağlı olarak, oluşan serbest radikallerin MDA düzeyini artırdığı, böylece oksidatif hasarın oluştuğu tespit etmişler, kateşin uygulanan grupta bu hasarın, kateşin tarafından aktiviteleri artırılan ve serbest radikal süpürücüleri olarak kabul edilen CAT ve GPx tarafından, nispeten düzeltilerek kontrol değerlere yaklaştığı görmüşlerdir.

Pavanato ve ark. (2003), Quercetin'in farelerdeki CCl₄ indüke edilmiş karaciğer rahatsızlıklarındaki etkisini araştırmışlardır. Quercetin in karaciğer rahatsızlıklarında koruyucu bir etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır.

Park ve ark. (2000), Curcumin (zerdeçal) farelerdeki CCl₄ indüke edilmiş karaciğer rahatsızlıklarındaki koruyucu etkisini araştırmışlardır. Akut ve subakut indükasyonlarda tedavi edici etkisini göstermişlerdir.

S'anchez ve ark. (2012), Adenosine Derivative IFC-305 nın, CCl₄ sebebiyle oluşan sirozun hücre döngüsünü inhibe edici etkisini araştırmışlardır. PCNA ve p53 aktivitelerinin IFC-305 in hücre döngüsündeki tedavi edici etkisini göstermiştir.

Özbek ve ark. (2002), yaptıkları araştırmada; karbon tetraklorürle oluşturulan akut karaciğer toksisitesinde *Foeniculum vulgare* (rezene) uçucu yağının hepatoprotektif etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri Histopatolojik bulgular, biyokimyasal testler, günlük vücut ağırlık takibi ve klinik seyir; rezene uçucu yağının karbontetraklorürle oluşturulan akut karaciğer toksisitesi üzerinde anlamlı derecede koruyucu bir etkiye sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Üstündağ ve ark. (2005), soy izoflavonların ratlarda CCl₄ ile deneysel olarak oluşturulmuş karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz enzim düzeyleri üzerine etkileri araştırmışlardır. Bulguları sonucunda soy izoflavonların antioksidatif etkinliğe sahip olduğu ve soy izoflavon uygulamasının oksidatif hasarı önlemede paraoksonaz gibi bazı antioksidan özelliğe sahip enzimleri de stimule ederek etkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Erdoğan ve ark. (2004), ratlarda karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan akut karaciğer hasarı modelinde anason (*Pimpinella anisum*) uçucu yağı ekstresi ve antioksidan ajanlardan Vitamin C ve E'nin hepatoprotektif aktiviteleri plasebo ile karşılaştırılmalı olarak araştırmışlardır. Deney süreci sonrasında saptanan postmortem histopatolojik bulgular, Vitamin C ve E'nin karaciğer hasarını önleyici etkilerinin kuvvetli olduğunu anason (*Pimpinella anisum*)'un ise hepatoprotektif bir özelliğinin olmadığı, hatta karaciğer fonksiyonlarının kısmen daha da olumsuz etkilendiğini göstermişlerdir. Vitamin C ve E gruplarında olumlu, anason (*Pimpinella anisum*) grubunda ise olumsuz yönde değişim gösteren serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH) ve indirekt bilirubin seviyelerinde kontrol ve CCl₄ gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptamışlardır. Ratların vücut ağırlıklarında meydana gelen değişiklikler de biyokimyasal sonuçları destekleyen nitelikleri tespit edilmiştir. Sonuç

olarak akut karaciğer hasarında anasonun karaciğeri koruyucu bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Bayram ve ark. (2004), yaptıkları araştırmada sıçanlarda, karbon tetraklorürle (CCl₄) oluşturulan akut karaciğer hasarında, askorbik asid (C vit) ve alfa-tokoferolün (E vit) karaciğeri koruyucu etkisinin araştırılmasını amaçlamışlardır. Çalışmanın sonunda sıçanlardan intrakardiyak yolla kan alınıp ve karaciğerleri çıkarmışlar ve kanda aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT) ve indirekt bilirubin seviyelerine bakmışlardır. Karaciğerler ise histopatolojik olarak incelemiştir. Sonuç olarak, CCl₄ grubuna ait karaciğerlerde belirgin derecede balon dejenerasyonu, tek hücre nekrozu, mitoz, sentrilobüler nekroz, köprüleşme nekrozu, serum AST ve ALT seviyelerinde anlamlı derecede yükselme gibi akut karaciğer hasarını gösteren histopatolojik ve biyokimyasal bulgular saptamışlardır. C ve E vitamini gruplarında ise akut karaciğer hasarını gösteren histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklerin CCl₄ grubuna göre anlamlı bir şekilde daha az olduğu tespit etmişler ve vücut ağırlığı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Serum transaminaz enzim seviyeleri ve histopatolojik bulgular, C ve E vitaminin CCl₄'e bağlı karaciğer hasarını anlamlı derecede azalttığını tespit etmişlerdir.

Özbek ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada *Ballota glandulosissima* Hub.-Mor & Patzak liyofilize ekstresinin hepatoprotektif etkisi, sıçanlarda karbontetraklorürle (CCl₄) oluşturulan akut karaciğer toksisite modelinde araştırılmıştır. *Ballota glandulosissima* ekstresinin, karaciğer toksisitesine bağlı olarak yükselen serum aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase ve alkaline phosphatase değerlerini CCl₄ kontrol grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0,001$), bilirubin değerini ise anlamlı olmayacak tarzda ($p > 0,05$) düşürdüğü gözlemiştir. CCl₄ kontrol grubundaki serum aspartate aminotransferase ve alanine aminotransferase değerleri, sadece serum fizyolojik verilen kontrol grubuna oranla çok yüksek bulmuşlar ve deney gruplarının tüm çalışma boyunca ölçülen vücut ağırlıklarındaki değişimler, CCl₄ kontrol grubuna göre *Ballota glandulosissima* ekstresi uygulanan sıçanların daha az kilo kaybettiğini göstermiştir. Histopatolojik incelemede, *Ballota glandulosissima* ekstresi verilen karaciğerler ile CCl₄ kontrol grubundaki karaciğerler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. *Ballota glandulosissima* ekstresinin CCl₄'le oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesi üzerinde kliniğe yansiyacak düzeyde yeterli bir hepatoprotektif etki potansiyeline sahip olmadığı sonucuna varmışlardır.

Kılıçgün ve Altuner(2009), yaptıkları çalışmada; *Rosa canina* L. nın (Gül) karboneteraklorür (CCl₄) ile uyarılmış lipid peroksidasyonu, alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) aktiviteleri, protein oksidasyonunu inhibe edici etkisi ve glutatyon düzeyine etkisi araştırılmış ve çalışmada Wistar albino sıçanlardan Kontrol I, Kontrol II ve *Rosa canina* grupları oluşturulmuştur. CCl₄ uygulanan sıçan grubu Kontrol II ile *Rosa canina* grubundaki sıçanlar karşılaştırıldığında *Rosa canina*'nın plazma ALT ve AST aktiviteleri, karaciğer lipit peroksit, karaciğer protein oksidasyonu ve glutatyon düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdüğü görmüşler ve bu bulgularla *Rosa canina*'nın antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Göker ve Özmen (2009), yaptıkları çalışmada; Kontrol+karbon tetraklorür sıçanlarının (grup 2) plazma ALT ve AST enzim düzeyleri, ısırgan otu+karbon tetraklorür sıçanları (grup 3) ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu iki grubun plazma lipid peroksit düzeyleri arasında ise istatistiksel anlamda bir fark bulunmadığı gözlemlenmiştir. Diğer taraftan; yine bu iki grupta ölçülen karaciğer glutatyon ve karaciğer lipid peroksit düzeyleri kıyaslandığında, ısırgan otu+karbon tetraklorür grubu sıçanlarında (grup 3) bulunan değerlerin kontrol+karbon tetraklorür (grup2) sıçanlarındakilere kıyasla anlamlı bir azalma gösterdiği belirlenmiştir. Bu araştırmaya göre ısırgan otu yaprağının lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisi bulunduğundan antioksidan etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Karaca ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada, sıçanlarda, böbrek ve özellikle karaciğerde, doku hasarına yol açan uçucu organik bir kimyasal ajan olan CCl₄'ün indüklediği akut karaciğer toksisitesine karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisinin araştırılmıştır. CCl₄ toksisitesi sonucu karaciğerde İŞP70 immunoreaksiyonunu gösteren yoğun bir boyanma görülmüş ve CCl₄ maruziyeti ile birlikte melatonin enjekte edilen sıçanlara ait karaciğer doku kesitlerinde ise minimal İŞP70 boyanması tespit edilmiştir. Sonuç olarak immunohisto kimyasal düzeyde elde edilen bu bulgular sonucunda; CCl₄ maruziyeti sonucu karaciğerde meydana gelen zararlı etkinin, melatonin hormonu tarafından önlediği tespit edilmiştir

Özbek ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada; *Foeniculum vulgare* (rezene) uçucu yağının hepatoprotektif etkisi, karbon tetraklorürle oluşturulan akut karaciğer toksisite modeli kullanılarak sıçanlarda araştırılmıştır. Gruplara ait karaciğerlerin histopatolojik incelemesinde; serum fizyolojik grubunda normal histolojik tablo, karbontetraklorür grubunda belirgin balon dejenerasyonu ve az miktarda nekrozlar, rezene uçucu yağı grubunda ise az miktarda balon dejenerasyonu gözlenmiştir. Gruplara ait serumların

biyokimyasal incelemesinde; rezene uçucu yağının, karbon tetraklorür grubunda gözlenen yüksek serum, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, alkalın fosfataz değerlerini ($p<0,001$) ve bilirubin değerlerini ($p<0,01$) anlamlı derecede düşürdüğü saptanmıştır. Çalışma süresince ölçülen vücut ağırlık değişimleri ile klinik seyir, histopatolojik ve biyokimyasal bulguları destekler nitelikte olup, Histopatolojik bulgular, biyokimyasal testler, günlük vücut ağırlık takibi ve klinik seyir; rezene uçucu yağının karbontetraklorürle oluşturulan akut karaciğer toksisitesi üzerinde anlamlı derecede koruyucu bir etkiye sahip olduğunu çarpıcı bir şekilde ortaya koymuştur.

2.3. Çörek Otu (*Nigella sativa*)

Sık kullanılan tıbbi bitkiler arasında yer alan çörek otu Ranunculaceae familyasından dikotiledon bir bitkidir ve zengin tarihsel ve geleneksel geçmişiyle şaşırtıcı bir bitkidir. *Nigella* tohumları ve tohumdan elde edilen yağlar bitkinin aktif bileşenlerinin kaynağıdır. (Goreja, 2003). Çörek otunun anavatanı Doğu Akdeniz ülkeleri, Doğu ve Güney Avrupa'dır. Çörek otu diğer ülkelere buradan yayılmıştır. Ayrıca Kuzey Afrika, Hindistan ve Türkiye'de de yayılış göstermektedir. Ülkemizde Türkiye'de bilhassa Afyon, Burdur, Isparta, Kütahya ve Konya yörelerinde üretilmektedir (Fong, 2002).



Şekil 2.2. *Nigella sativa* (Çörek Otu) tohumu ve yağı (Anonymus 4)

Çörek otu, 2.000 yılı aşkın süredir Orta Doğu ve Uzak Doğu ülkelerinde, birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bir bitkidir. Bazı gıdalarda (ekmek, çörek, bisküvi) süs unsuru olarak kullanılan çörek otu, aromatik (kokulu) özellikleri dolayısıyla bazı gıdalarda da lezzet vesilesi olarak kullanılır. Çörek otunun tohum özsuğu ve yağının;

böceklere, virüslere ve bakterilere karşı tesirli olduğu tespit edilmiştir. Bu bitkinin yağı, müshil ilâçlarında koku ve tat değiştirici olarak kullanılmaktadır (Thatte ve ark., 1993; Huffman, 2003; Miller ve ark., 2004).

2.3.1.Çörek Otunun İçeriği

Çörek otu tohumları, uçucu yağ (% 0,38-0,49), sabit yağ (% 30-40), protein (% 20-30), saponin, melantin, nigellin ve tanen ihtiva eder. Çörek otu tohumunun kimyasal içeriği, ürünün hasat mevsimine, çeşidine ve yetiştirildiği iklime göre farklılık göstermektedir. Kahire yakınlarında yetiştirilen çörek otu tohumlarından elde edilen uçucu yağın, 67 bileşik ihtiva ettiği ve bu bileşenlerin miktarca en önemlilerinin p-simen, timokinon, a-pinen ve Å-pinen olduğu belirlenmiştir.(Dattner, 2003) Bir araştırmada, çörek otu tohumlarında % 6,4 su, % 4 kül, % 32 yağ, % 20,2 ham protein, % 6,6 ham lif ve % 37,4 karbonhidrat bulunduğu; sabit yağın % 1,2 miristik, % 8,4 palmatik, % 2,9 stearik, % 17,9 oleik, % 60,8 linoleik, az miktarda araşidik ve % 1,7 eikosadienoik asitlerden oluştuğu bildirilmiştir (Vatansev ve ark., 2013). Çörek otu tohumunda ayrıca az miktarda B1, B2 ve B6 vitamini; proteinlerin yapı taşı olan aminoasitler; iz elementler olarak bilinen ve organizmada pek çok önemli metabolik faaliyette rol alan, besin ve su ile dışarıdan alınması gereken demir, kalsiyum, magnezyum, çinko ve selenyum gibi mineraller de vardır. Çörek otu tohumlarında bulunan nigellon, ancak 1959'da izole edilmiştir (Parab ve ark., 2003). Tohumlar karaciğerde A vitaminine dönüştürülen karoten içerir (Al-Jassir, 1992).

2.3.2.Çörek Otunun Kullanım Alanları

Tarih boyunca çörek otu tohumlarının Mısırlı ve Yunan hekimler tarafından baş ağrısı, burun tıkanıklığı, diş ağrısı, barsak parazitlerinin tedavisinde ve annelerde süt üretiminin artırılmasında kullanıldığı rapor edilmektedir (El-Dakhakhny, 1965; Schleicher ve Saleh, 1998; Junemann,1998; Goreja, 2003). Siyah tohum ya da siyah kimyon olarak bilinen Nigella tohumları Orta ve Uzak doğudada geleneksel tedavide özellikle bronşiyal astım, dizanteri, enfeksiyon, obezite, hipertansiyon ve birçok gastrointestinal hastalığın tedavisinde uzun zamandır kullanılmaktadır (Schleicher ve Saleh, 1998; Al-Rowais,2002).

Dünya çapında çörek otu tohumunun bir deri hastalığı olan egzamanın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca çörek otu tohumu çekilerek un haline getirildikten sonra hamur yapılarak harici olarak romatizma olan yerlere uygulandığı bilinmektedir. (Goreja, 2003; Salem, 2005)

Yapılan çalışmalarda, çörek otunun çeşitli kanser hücrelerini öldürücü ve tümöre özel antikorların üretimini uyarıcı hususiyetlere sahip kılındığı tespit edilmiştir(Salem ve Hossain, 2000; Goreja, 2003) Ayrıca, çörek otunun normal hücrelere zehir tesiri yapmadığına yönelik araştırmalar da vardır(Goreja, 2003). Çörek otu tohumunda bulunan Å-sitosterol; salgı aktivitesini artırma, kandaki kolesterol seviyesini düşürme gibi hususiyetlerle donatılmış bir molekül olup, prostat büyümesinde tedavi edici ilaç olarak kullanılır.(Schleicher ve Saleh, 1998)

Çörek otu tohumları; idrar söktürücü, tansiyon düşürücü, süt artırıcı, iştah açıcı, adet söktürücü gibi çok yönlü tesirlere vesile olabilecek şekilde yaratılmıştır. Yağı ise kepeğe ve saç dökülmesine karşı başa sürülerek kullanılır (Junemann, 1998; Fong,2002).

Çörek otunun uçucu yağ asitlerinin; bakterilere, mantarlara, tenyaya ve halk arasında şerit olarak bilinen sestodlara (bir tür bağırsak kurdu) karşı etkili olduğu saptanmıştır (El-Dakhakhny, 1965; Al-Rowais, 2002; Morikawa, 2004). Çörek otu tohumunun hastalığa yol açan mikroorganizmalara karşı tesirinin araştırılmasına yönelik çalışmalarda, bu bitkinin farklı konsantrasyonlardaki (100, 200, 400 ug/disk) ekstraktları; *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli* ve *Candida albicans* gibi hastalık amipli mikroorganizmalar üzerinde denenmiş ve çörek otunun *Staphylococcus aureus*'un gelişimini durdurduğu, ancak diğer mikroorganizmalar üzerinde tesirli olmadığı tespit edilmiştir (Morikawa, 2004). Bunların yanında *Nigella sativa* ekstraktının kanser hücrelerini öldürdüğü bildirilmiştir. Kemik iliğinin, *Nigella sativa* ekstraktı ile muamelesinden sonra bağışıklık sistemi ile ilgili hücrelerin sayılarında artışa rastlanmıştır. Ayrıca, myelopoezisi (kan ve ilik oluşumu) uyardığı gösterilmiştir. Kanserli hastaların kanları, bu bitkiye mâruz bırakıldığında tümöre özgü antikorların (kazanılmış bağışıklık elemanları) üretiminde artış olduğu kadar makrofaj (dokuya yerleşmiş ve dokulardaki enfeksiyonlara karşı savaşan dev lenfosit hücreleri) hücrelerinin sayısı ve aktivasyonunda da artış gözlenmiştir (Goreja, 2003).

2.3.3.Çörek Otunun Farmakolojik Özellikleri

Son yirmi yıldır birçok çalışma da çörek otunun yağı ve ekstresinin çeşitli vücut sistemleri üzerindeki in vivo ve in vitro etkileri çalışılmaktadır.

Antioksidan etki

Çörek otu yağında bulunan timokuinon(esansiyel yağın temel bileşeni), lipozomlardaki enzimatik olmayan yağ peroksidasyonunu engeller. (Houghton ve ark., , 1995). Özellikle ince yüzey kromatografisi (TLC) kullanılarak *Nigella sativa*’dan elde edilen timokuinon, karvakol, t-anetol ve 4-terpineol gibi bileşiklerinin serbest radikalleri azaltma özellikleri belirlenmiştir (Burits and Bucar, 2000). Bu bileşenlerle yapılan birçok in vitro çalışmada antioksidan özellikleri gösterilmiştir. Çörek otu yağında bulunan farklı bileşenlerin birbirleriyle sinerjistik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu özellikle farmakolojik çalışmalarda bitkinin yağının veya ekstraktının bileşenlerine ayrılarak değilde tamamının kullanımının önemini vurgulamaktadır. Bu özellik daha önce birçok baharat içinde belirlenmiştir. (Beckstrom-Sternberg ve Duke, 1994). Serbest radikal oluşumu birçok insan hastalığının temelini oluşturur. Bu yüzden alternatif tıpta *N.sativa*’nın antioksidan özelliğinden faydalanılmaktadır. CCL₄ hepatoksisitesi (Nagi ve ark., 1999), karaciğer fibrozu ve sirozu (Türkdogan ve ark., 2000), ve *Schistosoma mansoni* enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer hasarı bunların başında gelmektedir.

Antikanserojenik ve Mutajenik Etki

Bazı araştırmacılar çörek otu ekstraktının ve saflaştırılmış bileşenlerinin olumlu antitümör aktivitesini araştırmışlardır. Salomi ve arkadaşları çalışmalarında çörek otundan elde ettikleri metanolik ekstraktı lenfoma ve sarkoma hücreleri üzerine uygulamış ve normal hücrelerle kıyaslandığında maksimum sitotoksik etki gösterdiğini saptamışlardır (Salomi ve ark. 1992).

Ayrıca, *N. sativa*’dan elde edilen uçucu yağa maruz bırakılan Jurkat T lenfoma hücrelerinde spesifik polipeptitlerin hücresel ekspresyonunu değiştirdiği gösterilmiştir. Bu şekilde polipeptid ekspresyonunda değişiklikler *N. sativa*’nın biyolojik aktiviteleri bir rolü olabileceğini düşündürmektedir (Hailat ve ark., 1995). Swamy ve Tan (2000),

çörek otu tohumlarının farklı kanser tipleri üzerinde P388, Molt4, Wehi 164, LL:2, Hep G2, SW620 ve J82, sitotoksik etkileri MTT testi kullanılarak araştırılmış ve çörek otu tohumlarının özellikle karaciğer karsinomu olan HepG2 üzerinde önemli derecede sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

2.3.4.Çörek Otunun Kullanıldığı Çalışmalar

Mansour ve ark., (2001), CCL₄ bağımlı akut karaciğer hasarı oluşturulan farelerde çörek otunun uçucu yağ bileşenlerinin, timokinon (TQ), p-simen ve a-pinen' in etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda özellikle timokinonun kimyasal olarak oluşturulan karaciğer hasarı üzerinde koruyucu ve antioksidatif etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Kanter ve ark., (2005), karbon tetraklorür (CCL₄) muamelesi yapılan ratlarda *Nigella sativa* ve *Urtica dioica*' nın lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim sistemleri ve bazı karaciğer enzimleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak çörek otu ve ısırganın lipid peroksidasyonu ve bağlantılı enzim aktivitesini azalttığı ve bunun yanı sıra CCL₄ uygulanan ratlarda antioksidan savunma sistemini aktifleştirdiği saptanmıştır.

Al-Ghamdi (2003), çalışmasında CCL₄ kullanılarak karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda çörek otunun sıvı süspansiyonunun etkilerini araştırmıştır. Çörek otu uygulanan deney gruplarında ALT ve AST enzim seviyelerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada çörek otunun CCL₄ bağımlı karaciğer hepatotoksitesisi üzerine koruyucu etkisi saptanmıştır.

Türkdoğan ve ark., (2003), çörek otu ve ısırgan otunun CCL₄ bağımlı karaciğer fibrozu ve siroz üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) (NS) ve *Urtica dioica* L. 'nın CCL₄ bağımlı karaciğer hepatotoksitesisi üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Bai ve Meng (2005), çalışmalarında sülfür dioksitin rat karaciğeri üzerine etkilerini apoptoz ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerine bakarak incelemişlerdir. Üç apoptoz ilişkili gen p53, BAX ve BCL-2 real time PCR kullanılarak ve immünokimyasal yöntemlerle çalışılmıştır. Çalışma sonucunda sülfür dioksitin p53 ve BAX gen ekspresyon seviyelerini arttırdığı bunun yanı sıra BCL-2 gen ekspresyonunda önemli derecede azalmaya sebep olduğu saptanmıştır.

İlhan ve Seçkin (2005), *Nigella sativa*' nın CCL₄ kullanılarak indüklenen karaciğer fibrozu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Oluşturulan 3 deney grubundan kan

örnekleri alınarak MDA, SOD ve GSH-Px aktivitelerine bakılmıştır. Sonuç olarak CCL₄ kullanılarak oluşturulan karaciğer fibrozlu ratlarda çörek otunun karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisi rapor edilmiştir.

Mohamed ve ark. (2010) çalışmalarında *Nigella sativa* nın, dimetil aminobenzen (DAB) kullanılarak oluşturulan karaciğer kanseri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Biyokimyasal araştırmalar, akım sitometri analizi ve karaciğer dokusunun histopatolojik incelemesi tüm gruplar için yapılarak sonuçlar DAB ile tedavi edilen grubun karaciğer dokularında antioksidan enzimler, histomorfoloji ve DNA içeriğinde önemli bir değişiklik olduğunu göstermiştir. 4 deney grubu üzerinde yapılan çalışmada biyokimyasal, flow sitometri ve histopatolojik incelemeler sonucunda çörek otunun karaciğer üzerine zararlı bir etkisi olmadığı aksine karaciğer üzerinde hepatoprotektif etki gösterdiği saptanmıştır.

Sayed-Ahmed ve ark. (2010), ratlarda potansiyel bir hepatokarsinojen bileşik olan dietilnitrozamin (DENa) kullanarak hepatokarsinom oluşmasını sağladıktan sonra, çörek otundan elde edilen ve güçlü antioksidan özelliğe sahip olan timokinonun (TQ), karsinom üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda dietilnitrozamin uygulandıktan sonra GSHPx, CAT ve GST gen bölgelerinin mRNA ekspresyonunda azalma ve buna ek olarak timokinonun dietilnitrozamin kullanılarak oluşturulan hepatokarsinom üzerinde koruyucu etkileri olduğu rapor edilmiştir.

Essawy ve ark. (2010), çalışmalarında CCL₄ uygulanan ratlara çörek otunu oral yoldan vererek kan hücreleri üzerindeki morfolojik, sitolojik ve biyokimyasal açıdan etkilerini araştırmışlardır. CCL₄ uygulanan deney grubu, uygulanmayan grupla karşılaştırıldığında lenfositoz ve monositoz saptanmıştır. Araştırma sonuçları çörek otunun antioksidan özelliği sayesinde hematopoetik hücreleri CCL₄ kullanılarak oluşturulan hasardan önemli ölçüde koruduğunu göstermiştir.

2.4.Apoptozis

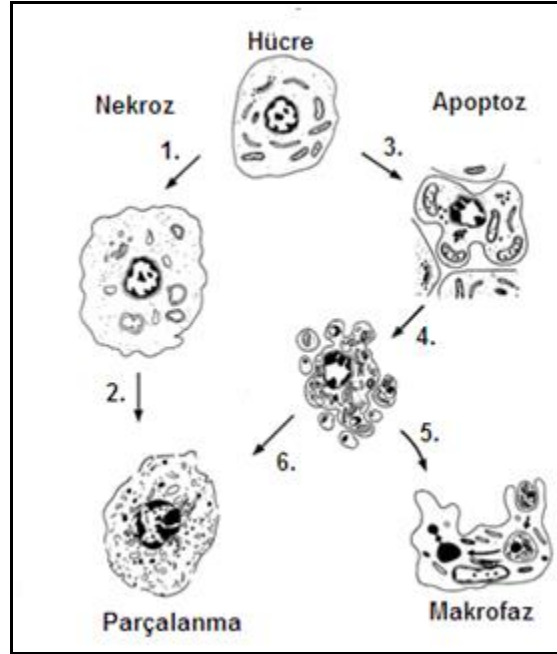
Apoptozis morfolojik olarak özel bir hücre ölüm şekli olup, ekstrensens ve intrinsens moleküler mekanizmalarca kontrol edilir. Apoptozis çok hücreli canlılarda genetik olarak kontrol edilen, gelişim ve doku homeostazisinde önemli rol oynayan fizyolojik bir süreçtir. Apoptozis mekanizmalarındaki düzensizlikler aralarında kanserin de bulunduğu çeşitli hastalıklara yol açarlar (Akgül 2009).

Apoptozis kavramının belirli komponentleri açıkça çok önceden tanımlanmış olmasına rağmen, apoptozis terimi (a-po-toe-sis) ilk olarak Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972'de, hücre ölümünün morfolojik bir formunu tanımlamak için klasik bir yazıda kullanılmıştır (Kerr ve ark. 1972). Programlanmış hücre süreci ya da apoptozis genel olarak belirli morfolojik özellikler ile karakterize edilen, enerji bağımlı biyokimyasal bir mekanizmadır. Apoptozis normal hücre turnover'ı, normal gelişim, immün sistem fonksiyonu, hormon bağımlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal olarak uyarılmış hücre ölümünü içeren çeşitli işlemlerin hayati komponenti olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Uygun olmayan apoptozis (çok az/fazla) nörodejeneratif hastalıklar, iskemik zarar, otoimmün rahatsızlıklar ve birçok kanser tipini kapsayan bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Elmore 2007). Memeli hücrelerindeki apoptozis işleminin kapsadığı mekanizmalar *Caenorhabditis elegans* nematodunun gelişim süresince meydana gelen programlanmış hücre ölümü mekanizmalarını kapsamaktadır (Horvitz 1999). Bu organizmada erişkin kurdun oluşumu için 1090 somatik hücre gereklidir, bu hücrelerin 131'i apoptozis ya da programlanmış hücre ölümünü geçirir. Bu hücreler, bu sistem içerisinde dikkate değer bir uygunluk ve kontrol altında, kurtlar arasında temel olarak değişmeyen gelişim sürecince farklı noktalarda ölürlür. Apoptozis bu yüzden hücrelerin genetik olarak belirlenmiş eliminasyonunu içeren programlanmış hücre ölümünün önemli ve ayırt edici bir modu olarak tanımlanır ve kabul edilir (Formigli ve ark. 2000).

Apoptozis normal olarak gelişim, yaşlanma ve dokulardaki hücrelerin devamını sağlamak için bir homeostatik mekanizma olarak karşımıza çıkabileceği gibi, aynı zamanda hastalık ya da zararlı ajanlar tarafından hücreler zarar gördüğünde ya da immün reaksiyonlar gibi bir savunma mekanizması olarak da oluşabilir (Norbury ve ark.2001).

Normal dokularda hücrelerin, dokunun genel fonksiyonları etkilenmedikçe hızlı bir şekilde elimine edilmesine gerek yoktur. Bu süreçte hücreler programlanmış hücre

ölümü olarak adlandırılan aktif ve spontan intiharlar üstlenir. Gerçekte, fizyolojik hücrelerin çoğunluğu apoptozis formunu alır. Nekroze zıt olarak apoptozis bir hücrenin aktif olarak belirli uyarıcıları alması ile ölüme doğru izlediği yolu gösterir (Kerr ve Harmon 1991).



Şekil 2. 3. Apoptoz - Nekroz (Anonim 5)

Hücrenin apoptoz veya nekroza gidip gitmeyeceği uyarıcı tipi ve/veya uyarıcı derecesi ile belirlenir. Sıcaklık, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik antikanser ilaçları gibi çeşitli zararlı uyarılar düşük dozlarda apoptozisi indükleyebilir fakat bu benzer uyarılar yüksek dozlarda nekroze neden olabilir. Sonuç olarak apoptozis kaspazlar olarak adlandırılan bir grup sistein proteazların aktivasyonunu ve hücrelerdeki başlangıç uyarılara bağlı kompleks ve koordine edilmiş kaskat olaylarını kapsayan çoğunlukla enerji bağımlı bir süreçtir (Elmore 2007).

Hormonal olarak aktif çeşitli maddeler, iyonize radyasyon ve kemoterapiyi içeren travmatik ajanlar vasıtasıyla gerçekleşen hücresel lezyonların ya da genetik faktörlerle aktive edilen hücresel intihar programının apoptoza neden olduğu bilinmektedir. Fizyolojik bir işlem olarak apoptoz, normal gelişim sırasında ve olgun organizmadaki çeşitli hücre tiplerinin tahribi esnasında spesifik hücrelerin kaybindan sorumludur. Apoptotik hücre sayısı, organizmanın sağlıklı ya da hasta oluşunu belirlediğinden, apoptozun fonksiyonel mekanizmaları hücrede denge unsurudur (Thompson 1994, Ballian ve ark 2007, Schwartzman ve Cidlowski 1993).

Çok hücreli organizmalarda genetik olarak hücre hasarının engellenmesi ya da hücrenin tamamen yok edilmesi apoptoz vasıtasıyla gerçekleşir. Böylece hasarın yayılması ve tümör oluşumu gibi zararlı olasılıklar engellenmiş olur. Apoptozis olayının oluşmasından önce hücresel replikasyon işlemi durur (DNA onarımı). Eğer bu esnada DNA tamiri gerçekleşemezse apoptoz ile sonuçlanan olaylar serisi başlar. Bu sırada apoptozun başlayıp başlamaması hasarın boyutuna, hücrenin tipine ve tümör geliştirme riskine bağlıdır. Apoptozis sadece intrauterin gelişme esnasındaki organogenez ve sinaptogenez olaylarında değil, aynı zamanda farklılaşmış dokuların olgunlaşmasında da gereklidir. Çünkü apoptoz vücudun bütünündeki hücre sayısının sabit tutulmasını ve immün sistem faaliyetlerinin gerçekleşmesini sağlar (Evan ve Littlewood 1998).

2.5. Çalışmada tercih edilen gen bölgeleri ve enzimler

GAPDH

Hücrenin temel işlevsel ve biyokimyasal fonksiyonlarında görev alan, hücrelerin tümünde eksprese olan ve ekspresyon seviyesi dokudan dokuya değişmeyen genlere housekeeping genler adı verilir. Housekeeping genler hücrenin işleyişini düzenleyen genler olarak da ifade edilmektedir (Thompson ve Thompson, 2005). Kantitatif RT-PCR uygulamalarında standart amacı ile çeşitli koşullarda ekspresyonu değişmediği bilinen (en az etkilenen) bir referans gene ihtiyaç vardır (Bustin, 2002).

En yaygın olarak bilinen housekeeping genler, beta-aktin, tata proteini, GAPDH, hipoksantin-guanin fosforibozil transferaz genleridir.

Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) geni gen ekspresyon verilerini kıyaslama amaçlı olarak en sık kullanılan housekeeping genlerden biridir (Barber ve ark., 2005).

BCL-2

Apoptozla ilişkili genlerden olan Bcl-2 ailesinin üyelerinin çoğu, farklı kanserlerde farklı şekillerde ifade edilir ve genlerin bazıları tanı amaçlı kanser belirteci olarak kullanılır. Bu aileye ait proteinler, mitokondriye ait programlı hücre ölümü yolunda oldukça önemli rol oynar. Bcl-2 proteini bir antiapoptotik proteindir (Tsujimoto, 1998; Gross ve ark., 1999). Bcl-2 proteini mitokondri dış zarının

sitoplazmik yüzeyinde, endoplazmik retikulum zarında ve çekirdek zarında lokalize olmaktadır (Gren ve Kroemer, 1998). Bcl-2 proteini anti-apoptotik etkisini, mitokondri proteinlerinin, örneğin sitokrom c veya AIF'nin (apoptotik uyarıcı faktör) mitokondriden çıkmasını engelleyerek göstermektedir (Kluck ve ark., 1997; Susin ve ark., 1999). Bu engellemeyi de mitokondri zarının potansiyelinin korunmasını sağlayarak başarmaktadır (Susin ve ark., 1999).

Sonuç olarak, pro-sağkalım (Bcl-2 benzeri) ve pro-apoptotik proteinlerin göreceli oranının, hücrenin duyarlılığına ve apoptotik uyarılara karşı direncine bağlı olduğu söylenebilir (Thomadaki ve Scorilas 2006; Zong ve ark. 2001; Cheng ve ark. 2001; Wei ve ark., 2001).

BAX

Bcl-2 gen ailesinin proapoptotik bir üyesi olan Bax, 19. insan kromozomu üzerinde lokalizedir. Bax, Bcl-2 ile homolog yapıya sahiptir ve Bcl-2 'nin baskın inhibitörüdür. Her iki proteinin biri diğeriyle homo- ya da heterodimer formdadır. Bcl-2 'nin artışı hücreyi apoptoza gitmekten korurken, Bax'ın artışı apoptotik hücre ölümünü stimüle eder. Normal dokularda Bax ekspresyonu Bcl-2 ekspresyonundan çok daha fazladır. Bax ekspresyonu lenfoid ve çeşitli epitelyal dokularda tesbit edilmektedir (Bilim ve ark., 1998). Pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri, sağlıklı bir hücrede sitozol ya da hücre iskeletinde konumlanır. Bir ölüm sinyali oluştuğunda ise, anti-apoptotik proteinlerle etkileşime girerek onların baskılanmasına ve apoptoz mekanizmasının başlamasına neden olur (Thomadaki ve Scorilas 2006; Zong ve ark., 2001; Cheng ve ark., 2001; Wei ve ark., 2001).

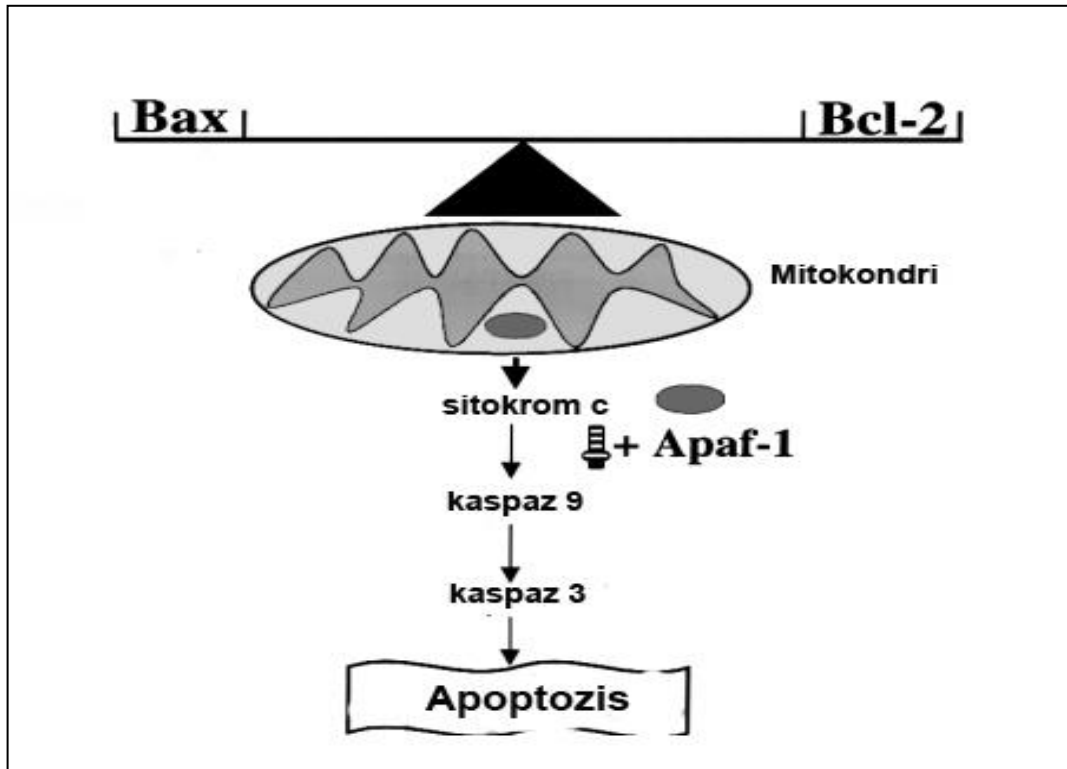
Bcl-2 ve Bax proteinlerinin bağıl yoğunlukları apoptozu düzenler. Normal bir hücrede Bcl-2 ve Bax proteinlerinin inaktif heterodimerlerini meydana getirerek miktarlarını dengeleyen bir mekanizma bulunur. Bcl-2 'nin bağıl artışı ya da fazlalığı, Bcl-2 homodimerlerinde bir artışa yol açar ve hücreyi apoptozdan korur. Bcl-2 proteini çok fazla artmış olan kanser hücreleri radyasyon ve kemoterapiye dirençlidirler. Bax'ın bağıl artışı ya da fazlalığı, Bax homodimerlerinde bir artışa yol açar ve hücreyi apoptoza yönlendirir (Klug ve Cummings, 2000).

Bax / Bcl -2 dengesi hücre için çok önemlidir ve bu oranın değişmesi hücrenin apoptoza gidip gitmeyeceğini belirler. Bax sitokrom c salınımını indüklediğinden artışı hücre için ölümcül, Bcl-2 ise anti apoptotik olması nedeniyle sit-c salınımını bloke ettiğinden artışı hücre için hayatta kalım anlamına gelmektedir (Hengartner, 2000).

KASPAZ-3

Apoptotik ölüm mekanizmasının önemli yapılarından birisi de kaspazlardır. Bu ailenin üyeleri solucanlardan insanlara kadar pek çok organizmada bulunur. Kaspaz enzimleri büyük bir proteaz ailesidir. Aktif merkezlerinde sistein aminoasidi taşırlar ve hedefledikleri proteinleri aspartik asit birimlerinden kestikleri için kaspaz ismini almışlardır. Kaspazlar ile yapılan kristallografik çalışmalarda yapılarının benzer olduğu gösterilmiştir. Kaspazlar hücre içerisinde inaktif zimojenler olarak sentezlenirler ve prokaspaz adını alırlar. Bu inaktif prokaspaz enzimleri apoptoz sinyalinin alınmasıyla birlikte aktifleşirler ve aktifleşen bu kaspazlar diğer inaktif kaspazları aspartik birimlerinden keserek aktifleştirirler. Apoptozun belirgin bir özelliği hücre protein substratların kaspazlar tarafından kırılmasıdır. Kaspazlar hücrede iki önemli biyolojik yolda görev almaktadırlar; enflamatuar sinyal yolu ve hücre ölüm yolu. Kaspaz ailesinin 7 üyesi (kaspaz-2, -3 ve 6-10) apoptotik ölüm yolunda görev alırken, diğer üçü (kaspaz-1, -4 ve 5) proinflamatuar sitokinleri aktifleştirerek savunma sisteminde görev alır. İki yol birbirinden farklı olsa da sitokin aktivatörü kaspazlar ve apoptotik kaspazlar büyük benzerlikler gösterirler. Bu sınıflandırmaların dışında kalan kaspaz-14 keratinositlerde üretilir ve epidermal farklılaşma sürecinde aktif olarak çalışır. Kaspazlar apoptotik yolda “başlatıcılar” ve “bitiriciler” olmak üzere iki grupta toplanırlar. Apoptotik ölüm işlem sırasına göre kaspazlardan ilk görev alanlar başlatıcı ya da öncü kaspazlardır ve bunların uzun öncül bölgeleri bulunur. Apoptotik yolun daha sonraki aşamalarında görev alan kaspazların diğer üyeleri ise efektör kaspazlar olarak adlandırılır. Efektör kaspazlar başlatıcı kaspazlar tarafından aktiflenirler. Her bir kaspaz enziminin optimum kesme bölgesi vardır ve bu bölge aspartik kesim noktasının N-terminalinde bulunan dört aminoasitlik bir motiftir. Bu motifin görevi, kaspazın hedef proteininin seçimini belirlemektir. Ayrıca bu motif ilgili kaspazın peptid inhibitörlerle inaktive olmasına aracılık etmektedir. Kaspaz-2, -8, -9 ve 10 başlatıcı kaspazlardandır, kaspaz-3, 6 ve 7 ise efektör kaspazlardır. Başlatıcı kaspazların üç önemli özelliği vardır; farklı şekillerde gelen uyarıları, genel bitirici faza taşırlar, yeterli miktarda bitirici kaspazın aktifleşmesini sağlayarak apoptotik sinyalin çoğalmasını sağlarlar, ölümün en son basamağında bir kontrol noktası olarak bulunurlar.

Kaspazlar hücrede yüzden farklı proteini substrat olarak kullanırlar. Kaspaz-3, 6 ve 7 başlatıcı kaspazlardan farklı olarak kısa bir N-terminal peptid (23-28 aminoasitlik) bulundurlar. Substrat ve inhibitör özgülüğünde kaspaz-3 ve 7 genellikle benzerdir. Kaspaz-6 ve 7, kaspaz-3 tarafından aktifleştirildiği için bitirici kaspazlar olarak sınıflandırılırlar.(Anonim 1)



Şekil 2.4. BAX- BCL2 ve kaspaz 3 ilişkisi (Raisova ve ark 2001).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Materyal eldesi

Çalışmamızda kullandığımız çörek otu yağı Origo firması Antep'ten temin edilmiştir. Origo çörek otu yağı, en kaliteli çörek otu tohumlarından elde edilmiştir. Çörek otları hiçbir ısıl ve kimyasal işleme maruz bırakılmadan soğuk pres methoduyla elde edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanlarının Yetiştirilmesi

Çalışmada ağırlığı 200-300 g arasında değişen, 32 adet *Wistar* cinsi sağlıklı ratlar kullanılmıştır. Deney süresince ratlar, %20 ham protein, %0,88 kalsiyum, ortalama % 0,44 fosfor, % 3,7 ham selüloz, % 5,7 ham kül, %0,2 tuz, % 10 nem içerisine sahip 2600 kg/cal metabolik enerjili, 16 mm çapında pellet tipi yem ve su ad libitum verilerek beslenmişlerdir.

3.2.2. Deney Hayvanlarının Karbontetraklorürle Muamele Edilmesi

Deney hayvanları, 4 deney grubuna ayrılmıştır (1.grup:6 adet,2.grup10 adet,3.grup 10 adet, 4.grup 6 adet).

1.Gruba (G1) 14 gün boyunca her gün günde bir kez 0,4 mL/kg zeytinyağı İp (karın içi) olarak uygulanmıştır. 2.Gruba (G2) 14 gün boyunca her gün günde bir kez 0,4 mL/kg zeytinyağı İp olarak uygulanmış, 14. uygulamadan 1 saat sonra İp yoldan 1 mL/kg karbontetraklorür enjeksiyonu yapılmıştır. 3.Gruba (G3) 14 gün süreyle *Nigella sativa* yağı 0,4 ml/kg İp (karın içi) olarak uygulanmış son uygulamadan 1saat sonra İp yoldan 1 mL/kg karbontetraklorür enjeksiyonu yapılmıştır. 4.Gruba (G4) 14 gün süreyle *Nigella sativa* yağı 0,4 ml/kg İp (karın içi) olarak uygulanmıştır. Daha sonrasında herhangi bir işlem yapılmamıştır.

Deney süresinin bitiminden 24 saat sonra ratlar eter verilerek sakrifiye edilmiştir. Sakrifiye edilen ratların karaciğerleri hızla çıkarılarak temizlenmiş ve % 0,9'luk soğuk NaCl çözeltisinde iyice yıkanmıştır. Alınan karaciğer dokuları kurulandıktan sonra kullanılabilecek kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. (Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulu kararı Karar sayısı: 2012-090, Karar tarihi: 2012-090)

3.2.3. DNA izolasyonu

Alındıktan sonra kurutularak -80 °C' de muhafaza edilen karaciğer dokuları buzdolabından çıkarıldıktan sonra çözünmesine izin verilmeden sıvı azot kullanılarak havanda toz haline getirilmiştir. Toz halindeki doku hassas terazide 25-30 mg olacak şekilde tartılmıştır.

Daha sonra tartılan dokudan Fermentas genomic DNA Purification kit aracılığıyla DNA izolasyonu yapılmak üzere prosedür takip edilmiştir. Toz haline gelmiş doku 200µl TE tamponu içinde çözünür hale getirilir. İyice çözüldükten sonra üzerine lizis solüsyonu eklenir, 65 °C' de 5 dakika inkübe edilir. Daha sonra üzerine kloroform eklenir ve 2 dakika 10.000 rpmde santrifüj edilir. Yeni tüpe alınan üst faz üzerine presipitasyon solüsyonu eklenir ve tekrar santrifüj edilir. Süper natant atılır DNA pelleti 100 µl NaCl çözeltisinde iyice çözülür. Üzerine soğuk etanol eklenir -20 °C' de 10 dakika bekletilir. Daha sonra santrifüj edilir ve DNA pelleti çözünür hale getirilir.

Elde edilen DNA'lar % 0,7 (w/v) agaroz jelde marker yüklenerek görüntülenmiş, DNA'da fragmantasyon olup olmadığı saptanmaya çalışılmıştır.

3.2.4. RNA izolasyonu ve RT-PCR

Karaciğer dokuları buzdolabından çıkarıldıktan sonra çözünmesine izin verilmeden sıvı azot kullanılarak havanda toz haline getirilmiştir. Toz halindeki doku hassas terazide 20-40 mg olacak şekilde tartılmıştır.

Toz haline gelmiş doku Axygen RNA isolation Kiti aracılığıyla üreticinin verdiği basamaklar takip edilerek total RNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen RNA'lar -86 °C'de saklanmıştır. Total RNA'ların, konsantrasyonları ve saflık dereceleri Nanodrop 2000 cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Alınan konsantrasyon değerleri göz önünde bulundurularak PCR sonuçlarının daha objektif olabilmesi için eşit konsantrasyonda (0,5 µg) total RNA, Fermentas First Strand cDNA kit aracılığıyla ters transkripsiyona uğratarak cDNA'ya çevrilmiştir. Elde edilen cDNA'ların 1 µl si çalışacağımız gen bölgelerine özgü primerlerinde içinde bulunduğu 25µl'lik PCR karışımına eklenerek, istenen gen bölgeleri amplifiye edilmiş ve gen ifade seviyeleri belirlenmiştir (PCR amplifikasyonları 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir).

Primer baz dizimleri	Ürün uzunluğu (bp)
GAPDH F 5' - CAAGGTCATCCATGACAACCTTG - 3'	496
GAPDH R 5' - GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG - 3'	
BCL -2 F 5' - GGA TTG TGG CCT TCT TTG AG - 3'	219
BCL-2 R 5' - TCT TCA GAG ACA GCC AGG AGA - 3'	
BAX-F 5' - TCT GAC GGC AAC TTC AAC TG -3'	188
BAX -R 5' - TTG AGG AGT CTC ACC CAA CC -3'	

Tablo 3.1. Kullanılan primerlerin baz dizimleri

3.2.5.PCR optimizasyonu

İlk olarak seçilen primerlerden her biri için kullanılması gereken MgCl₂, primer ve Taq polimeraz enzimi miktarlarını belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda primerlerin annealing sıcaklıkları göz önüne alınarak gradient sıcaklık denemeleri yapılmış ve uygun sıcaklık derecesi tespit edilmeye çalışılmıştır.

3.2.6.PCR ürünlerinin analizi

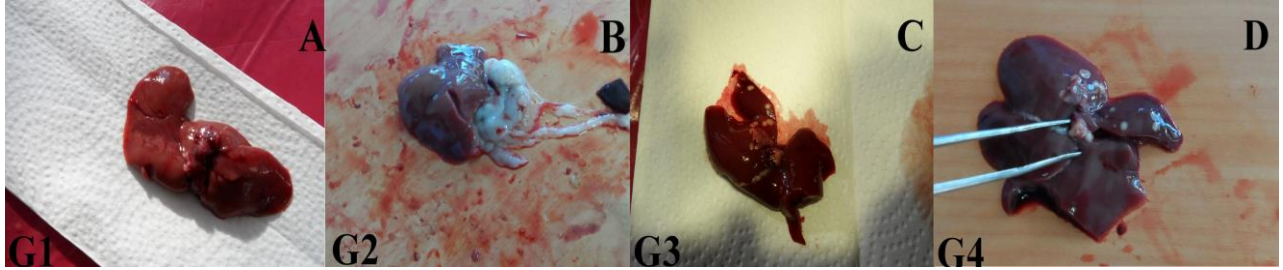
PCR işlemi sonunda ürünler %1,0 (w/v) agaroz jelde marker (Fermentas 1kb ladder) yüklenerek görüntülenmiştir. Elde edilen bantların dansitometrik analizi Image J programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çıkan sonuçlar housekeeping gen sonuçlarıyla kıyaslanarak yorumları yapılmıştır.

3.2.7. Kaspaz 3 enzim aktivitesinin ölçülmesi

Kaspaz 3 enzim aktivitesi kit kullanılarak yapılmıştır (Ab Caspase 3 Assay Kit). 10-100 mg karaciğer dokusu tartılmıştır, daha sonra doku lysis(parçalama) tamponuyla homojenize edilmiştir. Homojenat 10.000 rpmde sanrtfifüj edildikten sonra süpernatant yeni tüpe alınarak protein konsantrasyonu ölçülmüştür. Her örnek için 50 µl 2X buffer eklenmiştir. Üzerine 5'er µl DEVPNA eklenmiştir. 37 °C'de 1 saat inkübe edildikten sonra Elisa reader'da 400-405 nm'de okutulmuştur. Elde edilen sonuçlar Excel programında grafik haline dönüştürülmüştür.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1.Morfolojik Gözlemler



Şekil 4. 1.Ratlardan alınarak diseksiyonu yapılan karaciğer dokuları, **A:** Normal karaciğer dokusu (G1), **B:** CCl₄'e maruz bırakılan rat karaciğer dokusu (G2) , **C:** CCl₄ ve çörek otu yağı uygulanan rat karaciğer dokusu (G3), **D:** çörek otu yağı uygulanan rat karaciğer dokusu (G4)

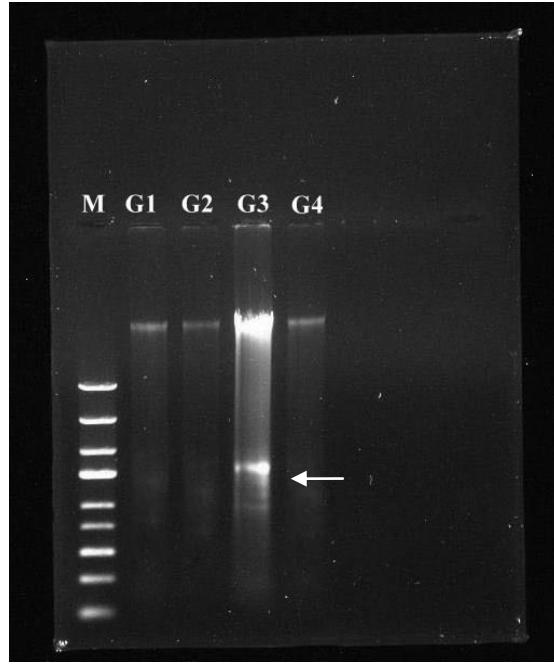
Ratlardan alınarak disekte edilen karaciğer dokularını morfolojik olarak değerlendirdiğimizde karbontetraklorür uygulanan karaciğer dokusunda belirgin bir yağlanma olduğu gözlenmiştir. Daha önce deneysel olarak yapılan çalışmalarda CCl₄'ün karaciğerde, hepatik yağ dejenerasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrozis, siroza ve kansere neden olduğu gösterilmiştir (Kuş ve ark., 2005; Jadhav ve ark., 2010; Manibusan ve ark., 2007). CCl₄ ve çörek otu yağını birlikte uyguladığımız deney grubuna ait karaciğer dokusunda morfolojik olarak yağlanmanın azaldığı görülmüştür. Çörek otu yağının, CCl₄ bağımlı karaciğer hepatoksisitesi üzerinde azaltıcı ve koruyucu etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Diğer taraftan sağlıklı karaciğere sadece çörek otu uygulanan gruptan disekte edilen karaciğer dokusunda yağlanma olması çörek otu yağının da belli bir dozdan sonra karaciğerde yağlanma yapabileceğini göstermektedir. Bu bulgu karaciğer yağlanmasıyla başlayan ve ilerleyen zamanda kanserle sonuçlanan döngünün ilk halkasını teşkil ettiğinden tüketimde belli bir dozdan fazla alınmaması gerektiğini göstermektedir.

4.2. Moleküler Bulgular

4.2.1. DNA Fragmantasyonu

Hem kontrol grubundan hemde diğer deney gruplarından izole edilen DNA'lar % 0,7' lik agaroz jele yüklenerek görüntülenmiştir. Elde edilen DNA'ların konsantrasyonları ve kalite değerleri nanodrop 2000 cihazıyla ölçülmüştür (Tablo 4. 1.)



Şekil 4. 2. İzole edilen DNA'ların agaroz jelde görünümü (M: marker, G1: Kontrol grubu, G2: CCl4 grubu, G3: CCl4+çörek otu grubu, G4: Çörek otu grubu)

Örnek adı	Nükleik asit konsantrasyonu	Birim	A260	A280	260/280
G1	1257,6	ng/µl	25,151	12,082	2,08
G2	1029,1	ng/µl	5,035	2,644	1,99
G3	1445	ng/µl	28,899	14,127	2,05
G4	1372,5	ng/µl	27,449	14,223	1,93

Tablo 4. 1. İzole edilen DNA'ların nanodrop ölçüm sonuçları

Apoptotik hücre ölümünde, endonükleazlar tarafından DNA'da fragmentler meydana getirilmesi apoptozun en belirgin göstergelerinden bir tanesidir.

DNA'da meydana gelen düzenli oligonükleozomal kırıklar hücre ölümünün apoptoz yolu ile gerçekleştiğini göstermektedir. Yapılan agaroz jel elektroforezi sonucunda çörek otu yağının karbontetraklorürle birlikte uygulandığında karaciğer hücrelerini apoptotik olarak ölüme götürdüğü saptanmıştır. DNA fragmentasyonu CCl_4 + çörek otu uygulanan grupta net olarak görülmektedir (Şekil 4.2).

Neha ve ark. (2014), çalışmalarında çörek otunun antioksidan ve antiproliferatif etkilerini araştırmışlar ve çörek otu tohumundan elde ettikleri etanolik ekstraktın karaciğer, göğüs ve böbrek hücre hatları üzerinde antioksidan etkisi olduğunu ve DNA'da kırıklar oluşturduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda çörek otu yağının karaciğer hepatotoksitesisi ve tümörleşmesi üzerinde etkili olduğunu saptanmış ve DNA kırıkları gözlenmiştir.

Mat Akhir ve ark. (2011), Ficus ekstraktını, ovarium kanseri üzerine uygulamış ve çalışma sonunda ekstraktın hücrelerde DNA kırıklarına neden olduğunu saptamışlardır. DNA'da meydana gelen bu kırılmalar apoptozun belirgin göstergesidir. Sonuçlarımız DNA'da oluşan fragmentasyon ve apoptoz ilişkisi bakımından bu çalışmayla uyum göstermektedir.

4.2.2. RT-PCR Sonuçları

İzole edilen RNA'lara ait kalite ve konsantrasyon değerleri nanodrop 2000 cihazıyla ölçülmüştür.(Tablo 4.2).

Örnek adı	Nükleik asit konsantrasyonu	Birim	A260	A280	260/280
G1	382,6	ng/ μ l	9,566	4,731	2,02
G2	464,8	ng/ μ l	11,619	5,673	2,05
G3	1115	ng/ μ l	27,875	13,523	2,06
G4	1764,6	ng/ μ l	44,115	21,134	2,09

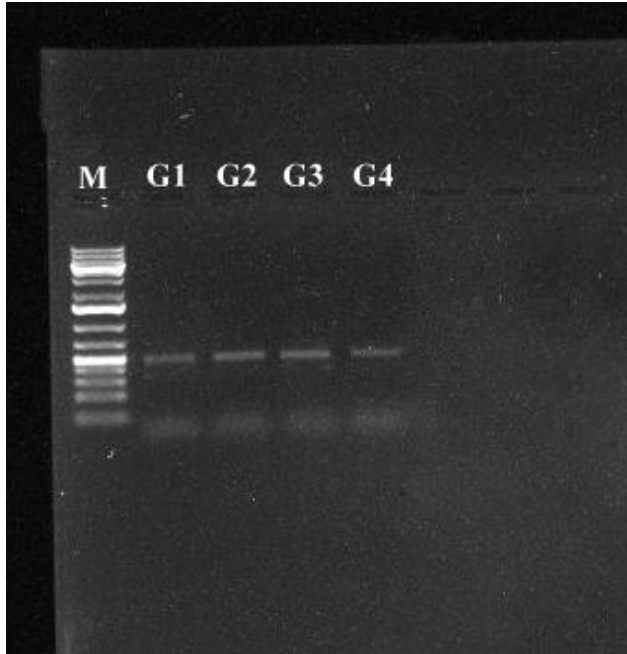
Tablo 4. 2. İzole edilen RNA'ların nanodrop ölçüm sonuçları

İzole ettiğimiz RNA'ların A_{260}/A_{280} absorbans değerleri kaliteli RNA diyebileceğimiz aralıktadır ($A_{260}/A_{280} > 2$). Gen ekspresyon sonuçlarını kıyaslarken konsantrasyon farkından kaynaklanabilecek hata payını azaltmak amacıyla eşit konsantrasyonda RNA alınarak cDNA'ya çevrilmiştir.

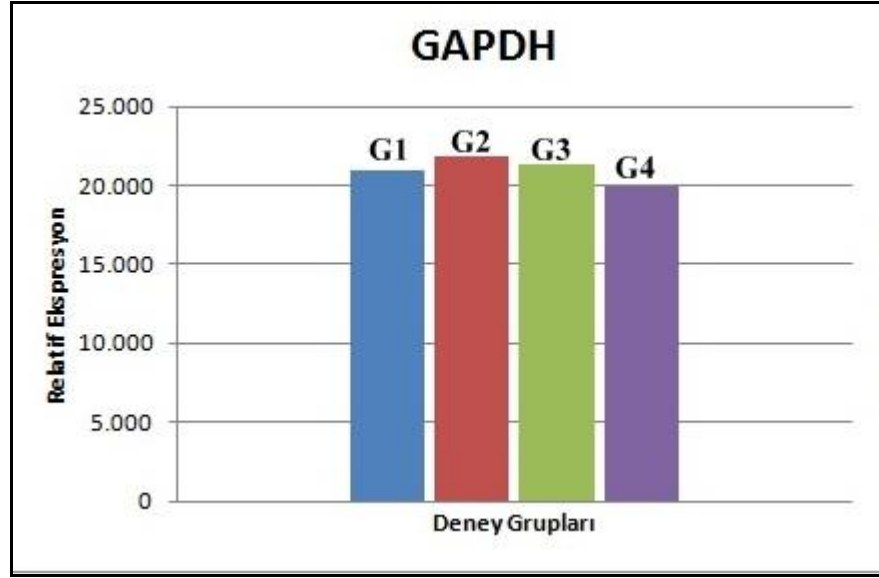
4.2.3.Gen Ekspresyon Sonuçları

4.3.2.1.GAPDH

Housekeeping gen olarak tercih ettiğimiz GAPDH geni PCR amplifikasyonu yapıldıktan sonra % 1'lik agaroz jelde görüntülenmiştir.



Şekil 4.3. GAPDH ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi



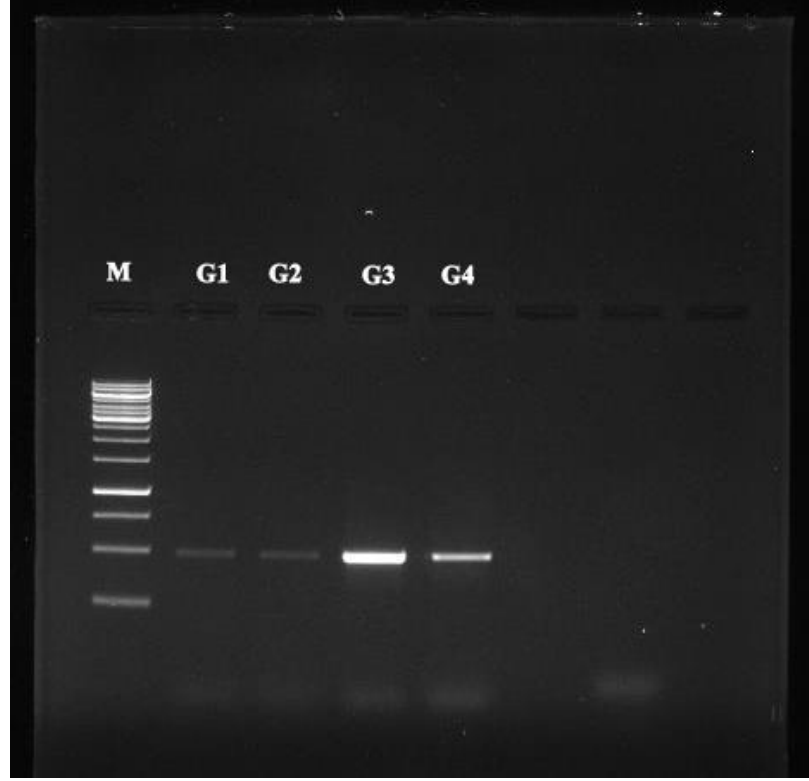
Grafik 4.1. GAPDH geninin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri

Çalışmalarda kullanılacak housekeeping genin ekspresyon düzeyi, ne kadar az değişkenlik göstererek sabit kalırsa, hedef genin ekspresyon düzeyinin belirlenmesi için o kadar güvenilir bir referans olmaktadır.

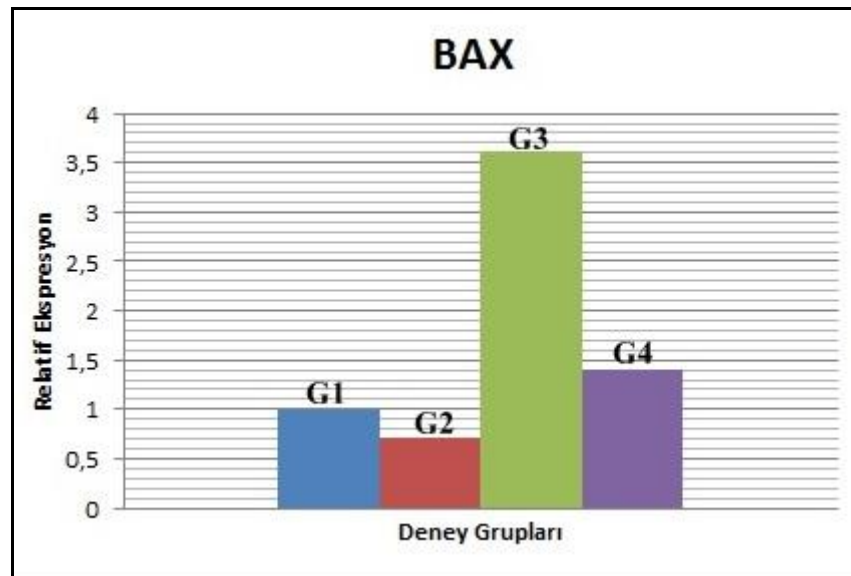
GAPDH primerleri kullanarak gerçekleştirdiğimiz PCR amplifikasyonları sonucunda GAPDH gen ekspresyon düzeyinin deney gruplarımız arasında çok fazla değişiklik göstermemesi ve hedef gen ekspresyon düzeylerini saptamada oldukça güvenilir olacağı sonucuna varılmıştır.

4.3.2.2.BAX

Proapoptotik BAX geni PCR ürünleri % 1'lik agaroz jele yüklenerek görüntülenmiştir. Daha sonra görüntülenen bantların dansimetrik analizleri yapılmıştır.



Şekil 4.4. BAX gen ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi (M: marker)



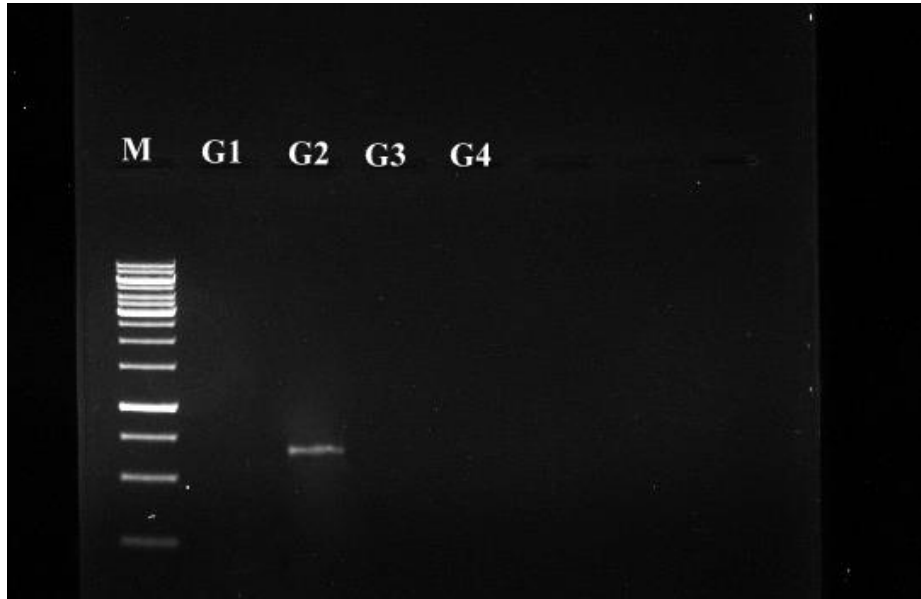
Grafik 4. 2. BAX geninin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri (Gen/GAPDH)

BAX gen ürünlerinin dansitometrik analizleri sonucunda karbontetraklorür ve çörek otu kullanılan deney grubunda kontrole oranla pro-apoptotik BAX geni ekspresyonunda belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış karbontetraklorürün karaciğerde sebep olduğu hasarın geri dönüşmez olduğunu ve hücrelerin apoptotik hücre ölümüne yönlendiğini göstermektedir.

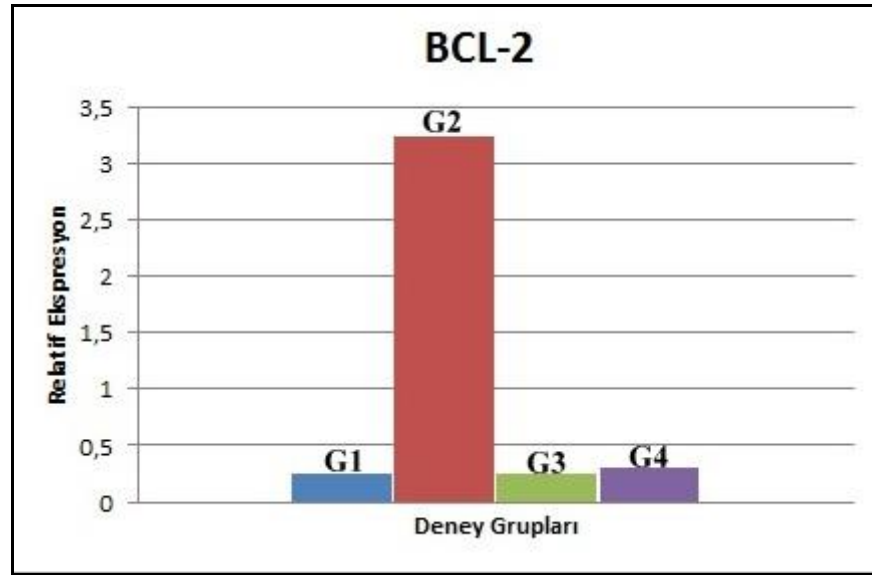
Diğer gruplara oranla görülen bu artış hücredeki BAX/BCL2 dengesinin bozulmasına ve bunun sonucunda hücrenin programlı hücre ölümüne yönlendirilmesine yol açmıştır.

4.3.2.3.BCL-2

Antiapoptotik BCL-2 geni PCR ürünleri % 1'lik agaroz jele yüklenerek görüntülenmiştir. Daha sonra görüntülenen bantların dansitometrik analizleri yapılmıştır.



Şekil 4.5. BCL-2 gen ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi (M: marker, N: Negatif kontrol)

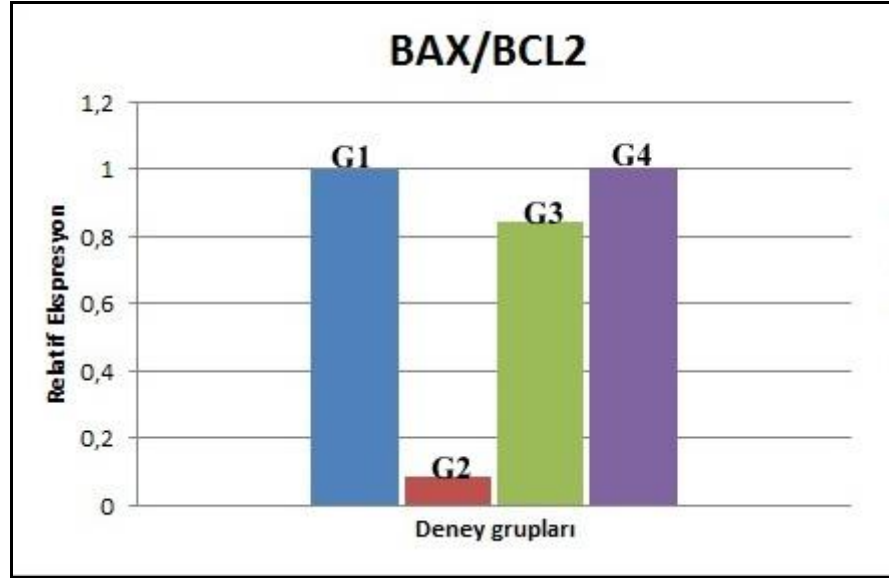


Grafik 4.3. BCL-2 geninin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri (Gen/GAPDH)

Karbontetraklorür uygulanan ratlardan elde edilen RNA'lerden amplifikasyonu yapılan antiapoptotik BCL-2 gen bölgesine ait yüksek gen ifadesi, karaciğer dokusunda apoptoza karşı direnç oluştuğunu göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda CCl₄'ün uzun vadede kansere neden olduğunu göstermiştir. Apoptoza karşı direnç kanser hücrelerinin en bilinen özelliğidir. (Klug ve Cummings, 2000).

4.3.2.4.BAX/BCL-2 oranları

BAX geni için ölçtüğümüz dansitometrik ekspresyon sonuçlarını, BCL-2 geni için ölçtüğümüz dansitometrik ekspresyon sonuçlarıyla kıyasladığımızda karbontetraklorür uygulanan grupta kontrol grubuna oranla BCL-2 gen ekspresyonunda yüksek oranda artma, BAX gen ekspresyonunda ise belirgin seviyede azalma saptanmıştır. Bu durum kimyasal uygulanan ratlarda hücrelerin apoptoza karşı direnç geliştirdiğinin bir göstergesidir. Diğer taraftan karbontetraklorürle birlikte çörek otu uygulanan gruba ait BAX/BCL2 oranına baktığımızda BAX yönünde bir artış görülmektedir. BAX/BCL2 oranının BAX yönünde artış göstermesi hasarlı hücrelerin programlı hücre ölümüne yönlendirildiğini göstermektedir.



Grafik 4.4. BAX/ BCL-2 genlerinin relatif (nisbi) ekspresyon düzeyleri oranı

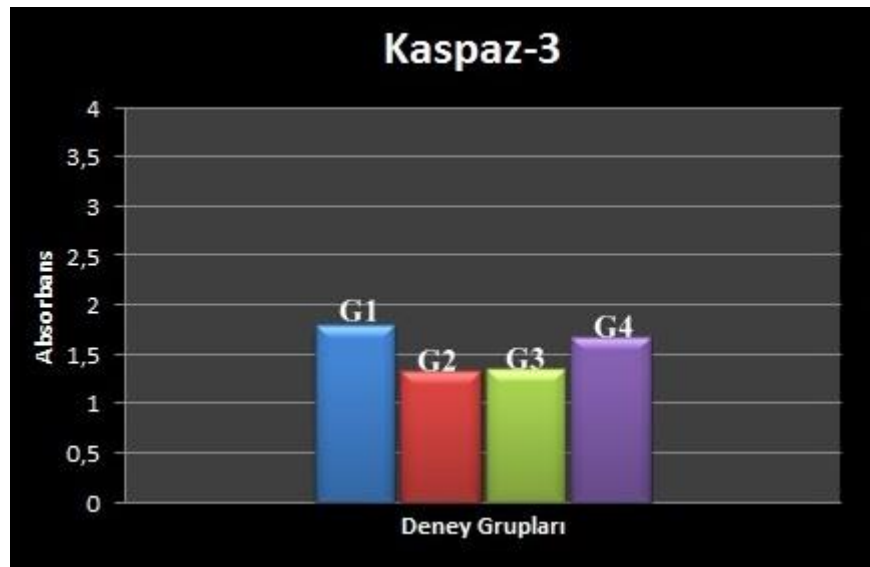
Bai ve Meng (2005), çalışmalarında sülfür dioksitin rat karaciğeri üzerine etkilerini apoptoz ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerine bakarak incelemiştir. BAX ve BCL-2 real time PCR kullanılarak çalışılmıştır. Çalışma sonucunda sülfür dioksitin BAX gen ekspresyon seviyesini arttırdığı bunun yanı sıra BCL-2 gen ekspresyonunda önemli derecede azalmaya sebep olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda benzer sonuçlara ulaşılmıştır, CCl₄ uygulanan grupta CCl₄ ve çörek otu yağı kullanılan grup arasında BAX gen ekspresyonu artmış, BCL2 gen ekspresyonu ise azalma göstermiştir.

Swamy ve Tan (2000), çörek otu tohumlarının farklı kanser tipleri üzerinde P388, Molt4, Wehi 164, LL:2, Hep G2, SW620 ve J82, sitotoksik etkileri MTT testi kullanılarak araştırılmış ve çörek otu tohumlarının özellikle karaciğer karsinomu olan HepG2 üzerinde önemli derecede sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Çalışmamızda sitotoksik etkiyi ölçen MTT testi kullanılmamıştır ancak hücreler üzerinde görülen apoptoza yönlendirici etkinin, çörek otu yağının tümörleşme üzerinde toksik etki gösterdiği sonucuna varılmaktadır.

4.3.2.5. Kaspaz-3 Enzim Aktivitesi Sonuçları

Kaspaz 3 enzim aktivitesi kiti kullanılarak tüm deney gruplarına ait karaciğer dokularında kaspaz 3 aktivitesine bakılmıştır.

Efektör kaspazlardan biri olan kaspaz 3, hücre ölüm yolağında görev almaktadır.



Grafik 4. 5. Kaspaz 3 enzim aktivitesi

Kaspazlar programlanmış hücre ölümünün en sondaki efektörüdür ve 100 kadar farklı hedef proteini keserek apoptoza neden olurlar. Kaspazların ana hedefleri arasında bir DNaz inhibitörü yer alır ve aktifleştiklerinde nükleer DNA'nın parçalanmasından sorumludurlar. Apoptozun belirgin bir özelliği hücre protein substratların kaspazlar tarafından kırılmasıdır. Hücre içinde BAX/BCL2 dengesi BAX yönünde bozulduğu zaman hücre apoptoza yönlendirilir. Bu süreçte sitokrom c salınımından sonra kaspaz 9 ve kaspaz 3 enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir.

Karbontetraklorür uygulanan deney grubunda ölçülen kaspaz enzim aktivitesinin kontrol grubuna oranla azalma göstermesi BAX/BCL2 dengesinin BCL2 yönünde bozulduğunun bir göstergesidir. Yani hücrede antiapoptotik BCL2 gen aktivitesinin artması sonucu hücre apoptoza direnç gösterir ve tümörleşme artar. Karbontetraklorür ve çörek otunun birlikte uygulandığı grupta kaspaz3 enzim aktivitesinde sadece karbontetraklorür uygulanan gruba oranla artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum çörek otu yağının karbontetraklorür toksisitesi üzerinde geri döndürücü etkisi olduğunu göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Günümüzde hayvan ve insan sağlığının korunması amacıyla kullanılan ilaçların ve kimyasal maddelerin risk oluşturması nedeniyle beşeri ve veteriner hekimlik ile gıda ve çevre alanlarında yapılan araştırmaların pek çoğu hem hastalıkların tedavisinde hem de koruyucu hekimlikte bitkisel ürünlerin kullanımını teşvik etmektedir (Dattner, 2003).

Başta sanayi ve ziraat olmak üzere birçok alanda kullanılan karbon tetraklorür, özellikle karaciğer üzerinde toksik etki göstermektedir. Bu alanda çalışan insanlar sürekli olarak bu kimyasala maruz kaldıklarından önce karaciğer yağlanması ve daha ilerleyen zamanlarda karaciğer tümörleriyle karşı karşıya kalmaktadır.

Oldukça geniş bir hastalık grubunda ve yaygın olarak kullanılan bir alternatif tıp bitkisi olarak *Nigella sativa*, etkisi en iyi bilinen bitkilerden biridir. Kanter ve ark., (2005) çalışmasında çörek otu tohumlarının farelerde karaciğer koruyucu etkisini vurgulamıştır.

Bu çalışmayla karbontetraklorür kullanılarak meydana getirilen karaciğer hasarının çörek otu yağı kullanıldığında geri dönüştürülebilir olduğunu saptadık. Çörek otunun şifa kaynağı olduğuyla ilgili birçok çalışma bulunmaktadır, ancak bu çalışmayla çörek otunun apoptotik etkisi ilk kez saptanmıştır.

Çalışmamız günümüzün vebası olarak adlandırılan kanser hastalığı içinde bir öncü çalışma niteliğindedir. Çörek otunun apoptotik etkisi özellikle yeni tedavi metodları ve kansere karşı ilaç geliştirilmesinde oldukça önemlidir.

Diğer taraftan sağlıklı karaciğere çörek otu uygulandığında görülen yağlanma oldukça önemlidir. Çörek otunun faydalı olduğu bilinmektedir ancak belirli bir dozdan fazla kullanıldığında karaciğerde yağlanma oluşturduğu gözlenmiştir. Bu bulgu karaciğer yağlanmasıyla başlayan ve kanser oluşumuna kadar giden bu süreçte oldukça bilgi vericidir. Çörek otunun kullanımı günlük belirli dozlarla sınırlandırılırsa bu etkinin önüne geçilebileceğini düşünüyoruz.

Bu nedenle yine geliştirilecek tedavi metodları ve ilaç geliştirilmesinde bu noktaya dikkat edilmelidir.

5.2 Öneriler

Bitkinin tohumları veya yağının şifa verici olması için hem yöntem hem de miktar olarak uygun alınmasına özen gösterilmelidir. Çörek otunun ve yağının iyileştirici ve koruyucu etkileri nedeniyle folklorik tıptaki var olan konumu ve gelecekteki etkisi önemlidir.

Özellikle günlük hayatta işinden dolayı sürekli olarak CCl₄'e maruz kalan insanlar çörek otu tüketerek bu kimyasalın toksik etkisinden bir nebze korunabilirler. Diğer taraftan tüketilen doz karaciğerde yağlanma ve ilerleyen aşamada tümörleşme oluşmaması için oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

- Akgül, C., 2009, Manipulation of the Bcl-2 Family Proteins As Potential Therapeutic Targets in Multiple Types of Cancer, *Turk J Bioch.* 34(11), 41-42.
- Al-Ghamdi, M.S., 2003, Protective Effect of *Nigella sativa* Seeds Against Carbon Tetrachloride-induced Liver Damage, *Am. J. Chin. Med.*, 31, 721.
- Al-Jassir, M. S., 1992, Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia, *Food Chem* ,45:239– 42.
- Al-Rowais, N. A., 2002, Herbal medicine in the treatment of diabetes mellitus. *Saudi Med J.*, 23: 1327– 31.
- Anonim 1, 2014, <http://zehirlenme.blogspot.com.tr/2010/12/kaspaz-nedir-kaspazlarin-yapisi.html>. [Ziyaret tarihi: 14.06.2014].
- Anonim 2, 2014, http://www.saglikvucut.com/saglik/hastalik/akciger-ve-karaciger-hastaligi/2013/1105/sekonder-karaciger-kanseri31479.html#.U0QDVfl_uno [Ziyaret tarihi: 14.06.2014].
- Anonim 3, 2014, <http://www.corekotu.gen.tr/> [Ziyaret tarihi: 14.06.2014].
- Anonymus 4, 2014, <http://www.rebootwithjoe.com/your-liver-and-your-health/> [Ziyaret tarihi: 14.06.2014].
- Anonymus 5, 2014, www.wikipedia.org [Ziyaret tarihi: 14.06.2014].
- Anonim 6, 2014, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-16.pdf> [Ziyaret tarihi: 18.01.2014].
- Arii, S., Monden, K., Hai, S., Sasaoki, T., Adachi, Y., Funaki, N., Higashitsuji, H., Tobr, T., 1990, Depressed function of kupffer cells in rats with CCl₄ -induced liver cirrhosis, *Res. Exp. Med.*, 190:173-182.
- Ariosto, F., Riggio, O., Cantafora, A., Colucci, S., Gaudoi, E., Mechelli, C., Merli, S., Seri, S. and Capocacia, L., 1989, Carbontetrachloride - induced experimental cirrhosis in the rat: A reappraisal of the model, *Eur. Surg. Res.*, 21: 280-286.
- Bai, J., Meng, Z., 2005, Expression of apoptosis-related genes in livers from rats exposed to sulfur dioxide, *Toxicology*, 216, 253–260.
- Barber, R. D., Harmer, D. W., Coleman, R. A., Clark, B. J., 2005, GAPDH as a housekeeping gene: analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues, *Physiol Genomics*, 21: 389–395.
- Ballian, N., Hu, M., Liu, S.H., Brunicardi, F.C., 2007, Proliferation, hyperplasia, neogenesis, and neoplasia in the islets of Langerhans, *Pancreas*, 35(3): 199-206.

- Bayram, İ., Özbek, H., Uğraş, S., Tuncer, İ., Reçber, D., 2004, Askorbik Asit ve Alfa-Tokoferol'ün Karbon Tetraklorürle Oluşturulmuş Akut Karaciğer Toksisitesi Modelinde Karaciğeri Koruyucu Etkisi, *Van Tıp Dergisi*, 11 (2):32-38.
- Beckstrom-Sternberg, S. M., Duke, J. A., 1994, Potential for synergistic action of phytochemicals in spices. In *Spices Herbs and Edible Fungi. Elsevier Science: Oxford*, 201–223.
- Bhattacharjee, R., Sil, P.C., 2007, Protein isolate from the herb, *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae), plays hepatoprotective role against carbon tetrachloride induced liver damage via its antioxidant properties, *Science direct Food and chemical toxicology*, 45: 817-826.
- Bilim, V. N., Tomita, Y., Kawasaki, T., Takeda, M., Takahashi, K., 1998, Variable bcl-2 phenotype in benign and malign lesions of urothelium, *Cancer Lett*, 128:87-92.
- Brattin, W. J., Glende, E. A., 1985, Recknagel R. O., Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity, *J Free Rad Biol Med*, 1: 27-28.
- Burits, M., Bucar, F., 2000, Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res* 14: 323–328.
- Bustin, S. A., 2002, Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR) trends and problems, *Journal of Molecular Endocrinology*, 29, 23–39.
- Cheng, E. H. Y. A., Wei, M. C., Weiler, S., Flavell, R. A., Mak, T. W., Lindsten, T., Korsmeyer, S. J., 2001, BCL-2, BCL-XL Sequester BH3 Domain-Only Molecules Preventing BAX- and BAK-Mediated Mitochondrial Apoptosis, *Molecular Cell*, 8, 705-711.
- Çınar, A., Yörük, M., Meral, İ., Kılıçalp, D., Koç, A., Ertekin, A., 1999, Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Akut ve Kronik İntoksikasyonun Karaciğerin Histolojik Yapısına, Bazı Hematolojik Değerlere ve Elektrokardiyogram Üzerine Etkileri, *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, 23: 235-242.
- Dashti, H., Jeppsson, B., Hagerstrand, I., Hultberg, B., Srinivas, U., Abdulla, M., Bengmark S., 1989, Thioacetamide and carbon tetrachloride induced liver cirrhosis, *Eur. Surgical Research*, 21: 83-91.
- Dattner, A. M., 2003, From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to the future, *Dermatol Ther*, 16: 106– 13.

- Diler, A., 2005, ''Klinik Kimyada Temel ilkeler'', Beşinci Baskıdan Çeviri, *Palme Yayıncılık*, 748-760.
- Doi, K., Kurabe, S., Shimazu, N., Inagak, M., 1991, Systemic histopathology of rats with CCl₄-induced hepatic cirrhosis, *Laboratory Animals*, 25: 21-25.
- El-Dakhakhny, M., 1965, Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L. IV. Some pharmacological properties of the seeds active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer, *Arzneimittelforschung*, 15: 1227– 9.
- Elmore, S., 2007, Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 35(4):495-516.
- Erdoğan, E., Kaya, A., Rağbetli, M. Ç., Özbek, H., Cengiz, N., 2004, Anason (*Pimpinella anisum*) Ekstresinin Deneysel Akut Karaciğer Hasarında Karaciğer Koruyucu Etkisi Var Mı?, *Van Tıp Dergisi*, 11 (3):69-74.
- Essawy, A. E., Hamed, S. S., Abdel-Moneim, A. M., Abou-Gabal, A. A., Alzergy, A. A., 2010, Role of black seeds (*Nigella sativa*) in ameliorating carbon tetrachloride induced haematotoxicity in Swiss albino mice, *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 4(19), pp.
- Evan, G., Littlewood, T. A., 1998, Matter of life and cell death, *Science*, 281: 1317-1321.
- Fischer, A., Poulsen, H. E., Hansen, B. A., Hage, E., Keiding, S., 1991, CCl₄ cirrhosis in rats: irreversible histological changes and differentiated functional impairment, *Journal of Hepatology*, 12:110-117.
- Fong, H. H., 2002, Integration of herbal medicine into modern medical practices: issues and prospects, *Integr Cancer Ther*, 1:287– 93 [discussion 293].
- Formigli, L., Papucci, L., Tani, A., Schiavone, N., Tempestini, A., Orlandini, G. E, Capaccioli, S., Orlandini, S. Z., 2000, Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis, *J Cell Physiol* 182:41–9.
- Goreja, W. G., 2003, Black Seed: Nature's Miracle Remedy. New York, NY7 *Amazing Herbs Press*.
- Göker, B., Özmen, R., 2009, Sıçanlarda Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile Beslenmenin Akut Karbon Tetraklorür Uygulamasına Bağlı Gelişen Karaciğer Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi, *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.*, 23 (2): 77 – 80
- Gren, D., Kroemer, G., 1998, The central executioners of apoptosis: caspases or mitochondria?, *Trends Cell Biol.*, 8, 267–271.

- Gross, A., McDonnell, J. M., Korsmeyer, S. J., 1999, Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis, *Genes Dev.*, 13, 1899–1911.
- Guyton, A. C., 1991, Textbook of Medical Physiology. Eighth., *W.B. Saunders Company. Philadelphia.*
- Güven, A., Erginsoy, S., Kaya, N., 2003, Kazlarda karbontetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi, *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 9(2): 131-136.
- Hailat, N., Batainch, Z., Lafi, S., Raweily, E., Aqel, M., Al-Katib, M., Hanash, S., 1995, Effect of *Nigella sativa* volatile oil on Jurkat T cell leukemia polypeptides. *Int J Pharmacogen*, 33: 16–20.
- Hengartner, M. O., 2000, The Biochemistry of apoptosis, *Nature*, 12: 407 (6805) :770-776.
- Houghton, P. J., Zarka, R., de las Heras, B., Hoult, J. R. S., 1995, Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation, *Planta Med*, 61: 33–36.
- Horvitz, H. R., 1999, Genetic control of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*, *Cancer Res*, 59:1701-1706.
- Hong, R. T., Xu, J. M., Mei, Q., 2009, Melatonin ameliorates experimental hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats, *World J Gastroenterol* 15: 1452-1458.
- Huffman, M. A., 2003, Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants, *Proc Nutr Soc*, 62:371–81.
- İlhan, N., Seçkin, D., 2005, Protective effect of *Nigella sativa* seeds on CCl₄-induced hepatotoxicity, *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi* 19(3), 175-179.
- Jadhav, V. B., Thakare, V. N., Suralkar, A. A., Deshpande, A. D., Naik, S. R., 2010, Hepatoprotective activity of *Luffa acutangula* against CCl₄ and rifampicin induced liver toxicity in rats: a biochemical and histopathological evaluation, *Indian J Exp Biol.*, 48: 822-829.
- Junemann, M., 1998, Three great healing herbs. *Twin Laked WI7 Lotus Light Publications*; p. 45.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O., 1992, Basic Histology. Seventh Edit., *Prentice Hill International Inc.*, New Jersey.
- Kadiiska, M. B., Gladen, B. C., Baird, D. D., Dikalova, A. E., Sohal, R. S., Hatch, G. E., Jones, D. P., Mason, R. P., Barrett, J. C., 2000, Biomarkers of oxidative stress study: are plasma antioxidants markers of CCl₄ poisoning?, *Free. Radic. Biol. Med.*, 28, 838–845.

- Kanter, M., Coskun, O., Budancamanak, M., 2005, Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats, *World J Gastroenterol*, 14;11(42): 6684-6688.
- Karaca, Ö., Pekmez, H., Kuş, M. A., Akpolat, N., Ögetürk, M., Kuş İ., 2011, Deneysel Karbon Tetraklorür Toksikitesi Sonucu Karaciğerdeki İSP70 İmmunoreaksiyon Artışı Üzerine Melatonin Hormonunun Etkisi, *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.*, 25 (2): 73-76.
- Karthikeyan, R., Somasundaram, S. T., Manivasagam, T., Balasubramanian, T., Anantharaman, P., 2010, Hepatoprotective activity of brown alga *Padina boergesenii* against CCl₄ induced oxidative damage in Wistar rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 696-701.
- Kayaalp, O., 1991, Tıbbi Farmakoloji, 1.Cilt, *Feryal Matbaacılık*, Ankara.
- Kerr, J. F. R., Harmon, B. V., 1991, Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. In: Tomei LD, Cope FO, eds. Apoptosis: the molecular basis of cell death, Vol. 3. New York: *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 5-29.
- Kerr, J. F. R., Wyllie, A. H., Currie, A. R., 1972, Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics, *Br J Cancer*, 26:239-57.
- Kılıçgün, H., Altıner, D., 2009, Karbontetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulmuş Sıçanlarda *Rosa canina*'nın (Kuşburnu) İn Vivo Antioksidan Etkisi, *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, Cilt 30, Sayı 2.
- Kluck, R. M., Bossy-Wetzell, E., Green, D. R., Newmeyer, D. D., 1997, The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for bcl-2 regulation of apoptosis, *Science*, 275, 1132-1136.
- Klug, S. W., Cummings, M. R., 2000, Concepts of Genetics, 6 th Ed., *Printice Hall*, Oxford.
- Kurt, H., Başaran, A., Musmul, A., 2004, Sıçanlarda Karbon Tetraklorür (CCl₄)'in Oluşturduğu Oksidatif Stresin Katesin ile Önlenmesi, *The Medical Journal of Kocatepe*.
- Kuş, I., Ögetürk, M., Öner, H., Sahin, S., Yekeler, H., Sarsilmaz, M., Protective effects of melatonin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats: a light microscopic and biochemical study, *Cell Biochem Funct*, 23: 169-174.
- Manibusan, M. K., Odin, M., Eastmond, D. A., 2007, Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.*, 25: 185-209.

- Mansour, M. A., Ginawi, O. T., El-Hadiyah, T., El-Khatib, A. S., Al-Shabanah, O. A., Al-Sawaf, H. A., 2001, Effects of the volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice: Evidence for antioxidant effects of thymoquinone, *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol*: 110 (3-4); 239-251.
- Masaki, N., Yamada, S., Orgata, I., Ohta, Y., Fujiwara, K., 1988, Enhancement of Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury by Glucagon and Insulin Treatment, *Res. Exp. Med.*, 188: 27-33.
- Mat Akhir, N. A., Chua, L. S., Abdul Majid, F. A., Sarmidi, M. R., 2011, Cytotoxicity of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Ficus deltoidea* on Human Ovarian Carcinoma Cell Line, *British Journal of Medicine & Medical Research* 1(4): 397-409.
- Mayer, B., Hemmens, B., 1997, Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells, *TIBS*, 22:477-481.
- Miller, K. L., Liebowitz, R. S., Newby, L. K., 2004, Complementary and alternative medicine in cardiovascular disease: a review of biologically based approaches, *Am Heart J.*, 147: 401– 11.
- Mohamed, H. A., El-Sayed, I. H., Moawad, M., 2010, Protective effect of *Nigella sativa* seeds against dimethylaminoazobenzene (DAB) induced liver carcinogenesis, *Nature and Science*, 8(6).
- Morikawa, T., Xu, F., Ninomiya, K., Matsuda, H., Yoshikawa, M., 2004, *Nigella* mines A3, A4, A5, and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids, with lipid metabolism-promoting activities from the Egyptian medicinal food black cumin. *Chem Pharm Bull.*, Tokyo ;52:494– 7.
- Nagi, M. N., Alam, K., Badary, O. A., 1999, Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism, *Biochem Mol Biol Int*, 47: 143–159.
- Neha, R., Vali, V., Gunaseelan, J. ve Perinbam, K., 2014 , Antioxidant and Antiproliferative Activity of the Methanolic Extract from *Nigella sativa* Seeds, *Asian Journal of Biological Sciences*, 7: 122-130.
- Norazalina, S., Norhaizan, M. E., Hairuszah, I., Sabariah, A. R., Husna, S. N., Norsharina, I., 2011, Antiproliferation and apoptosis induction of phytic acid in hepatocellular carcinoma (HEPG2) cell lines, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(73), pp. 16646-16653.
- Nazıroğlu, M., ay, M., Üstündağ, B., Aksakalı, M., Yekeler, H., 1999, Protective Effects of Vitamin E on Carbon Tetrachloride-induced Liver Damage in Rats, *Cell Biochem. Funct.* 17, 253±259.

- Noguchi, T., Fong, K. L., Lai, E. K., Alexander, S. S., King, M. M., Olson, L., Poyer, J. L., Mccay, P. B., 1982, Specificity of aphenobarbitalinduced cytochrome P450 for metabolism of carbontetrachloride to the trichloromethyl radical, *Biochem. Pharmacol.*, 31, 615–624.
- Norbury, C. J., Hickson, I. D., 2001, Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41:367–401.
- Olson, R. D., Boerth, R. C., Gerber, J. G., Nies, A. S., 1981, Mechanism of adriamycin cardiotoxicity: evidence for oxidative stress, *Life Sci.*, 29, 1391±1397.
- Özbek, H., Çitoğlu, S., Dülger, H., Uğraş, S., Sever, B., 2002, Sıçanlarda karbon tetraklorürle oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesi üzerine *Ballota glandulosissima* hub.-mor & patzak ekstresinin hepatoprotektif etkisinin araştırılması. *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*, Eskişehir.
- Özbek, H., Uğraş, S., Dülger, H., Bayram, İ., Tuncer, İ., Öztürk, A., 2002, Karbon tetraklorürle oluşturulan akut karaciğer toksisitesinde *Foeniculum vulgare* (rezene) uçucu yağının hepatoprotektif etkisi, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*, Eskişehir.
- Packer, J. E., Slater, T. F., Willson, R. L., 1978, Reactions of the carbon tetrachloride-related peroxy free radical with aminoacids: pulse radiolysis evidence, *Life Sci.* 23, 2617–2620.
- Pamukçu, T., Scott, A., 2002, İnsan ve rat karaciğer primer hücre kültürlerinde farklı N-nitrosol bileşiklerinin DNA üzerindeki etkileri, *Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, 49, 23-29.
- Parab, S., Kulkarni, R., Thatte, U., 2003, Heavy metals in herbal medicines. *Indian J Gastroenterol.*, 22:111- 2.
- Park, E. J., Jeon, C. H., Ko, G., Kim, J., Hwan, D., 2000, Protective Effect of Curcumin in Rat Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride. *J. Pharm. Pharmacol.*, 52: 437±440.
- Pavanato, A., Tun'on, M. J., S'anchez-Campos, S., Marronı, C., Llesuy, S., Gonzalez-Gallego, J., Marronı, N., 2003, Effects of Quercetin on Liver Damage in Rats with Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhosis *Digestive Diseases and Sciences, Vol. 48, No. 4: pp. 824–829.*
- Poyer, J. L., Mccay, P. B., Lai, E. K., Jenzen, E. G., Davis, E. R., 1980, Confirmation of assignment of the trichloromethyl radical spin adduct detected by spin trapping during O3 C-carbon tetrachloride metabolism in vitro and in vivo, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 94, 1154–1160.

- Recknagel, R. O., Glendek Jr., E. A., Dolazk, J. A., Waller, R. L., 1989, Mechanism of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol. Ther.* 43, 139–154.
- Rege, N. N., Thatte, U. M., Dahanukar S. A., 1999, Adaptogenic properties of six rasayana herbs used in Ayurvedic medicine. *Phytother Res.*, 13: 275– 91.
- Robbins, S. L., Cotran, R. S, Kumar, V., 2000, Basic Pathology. 6th Ed, Philadelphia, *WB Saunders Company*, pp: 516-519.
- S´anchez, V. C., Mart´inez-P´erez, L., Hern´andez-Mu˜noz, R., Velasco-Loyden, G., 2012, Recovery of the Cell Cycle Inhibition in CCl₄-Induced Cirrhosis by the Adenosine Derivative IFC-305, *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Hepatology Volume*, Article ID 212530, 13 pages doi:10.1155/2012/21253.
- Salem, M. L., Hossain, M. S., 2000, Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection, *Int J Immunopharmacol Sep*;22(9):729– 40.
- Salem, M. L., 2005, Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed, *International Immunopharmacology*, 5, 1749–1770.
- Schwartzman, R. A., Cidlowski, J. A. 1993, Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death, *Endocrine Review.*;14:133-150.
- Salomi, N. J., Nair, S. C, Jayawardhanan, K. K., Varghese, C. D, Panikkar, L. R., 1992, Anti-tumor principles from *Nigella sativa* and saffron (*Crocus sativus*) on chemical carcinogenesis in mice, *Nutr Cancer* 16: 67–72.
- Sayed-Ahmed, M. M., Aleisa, A. M., Al-Rejaie, S. S., Al-Yahya, A. A., Al-Shabanah, O. A., Hafez M. M., Nagi, M. N., 2010, Thymoquinone attenuates diethylnitrosamine induction of hepatic carcinogenesis through antioxidant signaling, *Oxid Med Cell Longev.* Jul-Aug; 3(4): 254–261.
- Schleicher, P, Saleh, M., 1998, Black seed cumin: the magical Egyptian herb for allergies, asthma, and immune disorders. Rochester, *Vermont7 Healing Arts Press*, p. 90.
- Slater, T. F., 1984, Free radical mechanisms in tissue injury, *Biochem J.*, 222:1-15.
- Simeonova, P., Gallucci, M., Hulderman, T., Wilson, R., Kommineni, C., Rao, M., Luster, M., 2001, The role of Tumor necrosis factor- α in liver toxicity, inflammation, and fibrosis induced by carbon tetrachloride. *Toxicology and Applied pharmacology*, 177,112-120.

- Susin, S. A., Lorenzo, H. K., Zamzami, N., Marzo, I., Snow, B. E., Brothers, G. M., Mangion, J., Jacotot, E., Costantini, P., Loeffler, M., Larochette, N., Goodlett, D. R., Aebersold, R., Siderovski, D. P., Penninger, J. M., Kroemer, G., 1999, Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor, *Nature*, 397, 441–446.
- Swamy, S. M. K., Tan, B. K. H., 2000, Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *J Ethnopharmacol* 70: 1–7.
- Thatte, U. M., Rege, N. N., Phatak, S. D., Dahanukar, S. A., 1993, The flip side of Ayurveda, *J Postgrad Med.*, 39:179–82, 182a–b. 13– 5.
- Thomadaki, H., Scorilas, A., 2006, BCL2 family of apoptosis-related genes: functions and clinical implications in cancer, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 43, 1-67.
- Thompson, E. B., 1994, Apoptosis and steroid hormones. *Mol Endocrinol.* ;8: 665-673.
- Thompson & Thompson, *Tıbbi Genetik*, 6. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.
- Tsujimoto, Y., 1998, Role of bcl-2 family proteins in apoptosis: apoptosomes or mitochondria?, *Genes Cells*, 3, 697–707.
- Türkdoğan, M. K., Ozbek, H., Yener, Z., Tuncer, I., Uygan, I., Ceylan, E., 2003, The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats, *Phytotherapy Research*, Volume 17, Issue 8, pages 942–946.
- Türkdoğan, M. K., Agaoglu Z., Yener, Z., Sekeroglu, R., Akkan, H. A, Avci, M. E., 2000, 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 Tierarzt Wschr*, 108: 71–73.
- Üstündağ, B. H., Bahçecioğlu, İ., Şahin, K., Gülcü, F., Düzgün, S., Özercan, İ., Gürsu, İ., 2005, Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCl₄) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri, *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 19(4), 263-27.
- Vatansev, H., Özkaya, A., Öztürk, B., Evliyaoğlu, N., Kıyıcı, A., 2013, Chemical composition of *Nigella sativa* L.seeds used as a Medical Aromatic Plant from east Anatolia Region Turkey, *Asian journal of chemistry*, Vol:25 No:10 5490-5492.
- Wei, M. C., Zong, W. X., Cheng, E. H. Y. A., Lindsten, T., Panoutsakopoulou, V., Ross, A. J., Roth, K. A., MacGregor, G. R., Thompson, C. B., Korsmeyer, S. J., 2001, Proapoptotic BAX and BAK: A Requisite Gateway to Mitochondrial Dysfunction and Death, *Science*, 292, 727-730.

- Wang, H., Wei, W., Wang, N. P., 2005, Melatonin ameliorates carbontetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stres, *Life Sci.*, 77:1902-1915.
- Yao, T., Esposti, S. D., Huang, L., 1994, Inhibition of carbon tetrachloride-induced liver injury by liposomes containing vitamin E, *Am J Physiol* 267: 476-484.
- Zimmerman, H. J., 1978, The adverse effects of drugs and other chemicals in the liver Hepatotoxicity, New York, *Appleton Century Crofts*.
- Zong, W. X., Lindsten, T., Ross, A. J., MacGregor, G. R., Thompson, C. B., 2001, BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak, *Genes and Development*, 15, 1481-1486.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mevlüt Han Uğurtan
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya 15.08.1980
Telefon : 506.508 79 89
Faks : 332.238 73 72
e-mail : mevluthan@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Konya Lisesi, Meram, Konya	1998
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2003
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	Devam ediyor
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2003-2006	Özel Kare Dershanesi	Öğretmen
2006-2009	Özel Final Dershanesi	Müdür Yardımcısı
2009-2014	Özel Envar Ortaokulu	Okul Müdürü

YABANCI DİLLER: İngilizce