



Emre KAYA<sup>1, a</sup>  
Seval YILMAZ<sup>1, b</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0002-7445-3091

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0001-5472-3560

## Çörek Otu Yağının Ratlarda Doksorubisin Kaynaklı Kardiyotoksiste Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi

Çalışma, ratlarda doksorubisin (DOX) kardiyotoksitesini üzerine çörek otu yağının etkilerinin ortaya konulması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada ratlar 4 gruba ayrılmıştır: 1. Grup: Kontrol grubu, 2. Grup: Çörek otu yağı uygulanan grup (2 mL/kg/gün gavaj, 7 gün), 3. Grup: DOX uygulanan grup (20 mg/kg vücut ağırlığı, i.p. tek doz) ve 4. Grup: DOX (20 mg/kg vücut ağırlığı, i.p. tek doz) + çörek otu yağı (2 mL/kg/gün gavaj, 7 gün) uygulanan gruptur. Çörek otu yağı uygulamasına DOX uygulamasından 2 gün önce başlanmış ve 7 gün süre ile devam edilmiştir. Çalışma sonunda kalp dokusunda malondialdehid (MDA), redükte glutatyon (GSH) düzeyleri ile katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon-S-transferaz (GST) gibi antioksidan enzimlerin aktivite belirlenmiştir. DOX uygulanan grupta, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA (P<0.001) ve GSH (P<0.001) düzeylerinde artış, KAT (P<0.001), GSH-Px (P=0.024) ve GST (P<0.001) aktivitelerinde düşüş saptanmış olup SOD aktivitesinde istatistik olarak önemli bir fark belirlenmemiştir. DOX uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, DOX+çörek otu uygulanan grupta MDA, GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px ve GST aktivitelerinin kontrol grubu değerlerine ulaştığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, çörek otu yağının kalp dokusunu güçlü kemoterapötik bir ilaç olan DOX'in neden olduğu oksidatif hasara karşı koruduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Doksorubisin, çörek otu yağı, malondialdehid, antioksidan

### Determination of Effects of Nigella Sativa Oil on Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats

This study was carried out to determine the effects of nigella sativa oil on the doxorubicin (DOX) cardiotoxicity in rats. In the study, rats were divided into 4 groups: Group 1: Control group, Group 2: Nigella sativa oil-treated group (2 mL/kg/day gavage, 7 days), Group 3: DOX-treated group (20 mg/kg body weight, single dose, i.p.), and Group 4: DOX (20 mg/kg body weight, single dose, i.p.) + nigella sativa oil (2 mL/kg/day gavage, 7 days) treated group. Nigella sativa application was started 2 days before DOX application and continued for 7 days. At the end of the study, malondialdehyde (MDA), reduced-glutathione (GSH) levels, and antioxidant enzymes activities such as catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), and glutathione-S-transferase (GST) were determined. In the DOX-treated group, there was an increase in MDA (P<0.001) and GSH (P<0.001) levels, and a decrease in CAT (P<0.001), GSH-Px (P=0.024), and GST (P<0.001) activities compared to the control group. There was no statistically significant difference in SOD activity. MDA, GSH levels and CAT, GSH-Px and GST activities were found to be reached to the values of control group in the DOX+nigella sativa treated group compared to the DOX-treated group. As a result, Nigella sativa oil has been shown to protect heart tissue against oxidative damage caused by DOX, a potent chemotherapeutic drug.

**Key Words:** Doxorubicin, nigella sativa oil, malondialdehyde, antioxidant

### Giriş

Doksorubisin (DOX), çeşitli maligniteler için etkili ve sıklıkla kullanılan, antrosiklin grubuna dahil, ticari olarak adriamisin olarak bilinen kemoterapötik bir ajandır (1). DOX göğüs, over, testis, tiroid ve akciğer kanserlerinde ve Ewing sarkomu, osteosarkom ve rabdomiyosarkom gibi birçok hastalığın tedavisinde önemli klinik uygulaması olan en önemli antitümör ilaçlardandır. Ayrıca akut lösemiler, multipl miyeloma, Hodgkin hastalığı ve yaygın non-Hodgkin lenfomaları da içine alan hematolojik kanserlerde de yararlı etkileri olduğu belirlenmiştir (2, 3). Genel olarak diğer ajanlarla (siklofosfamid, sisplatin, nitrosoüreler) kombine tedavide kullanılmaktadır. Bu şekilde sinerjik etki göstererek tek başına kullanıldığı zaman gözlenen etkisinden daha uzun bir iyileşmeye olanak vermektedir (3). Kullanımını sınırlayabilen başlıca olumsuz etkisi kardiyotoksitesidir. DOX'e bağlı kardiyotoksiste geliştiğinde kötü prognoz taşır ve sıklıkla ölümcül sonuçlar doğurabilir (1).

DOX kaynaklı kardiyotoksitenin mekanizması, serbest radikal oluşumuna, lipid peroksidasyonunun uyarılmasına ve daha sonra hücrel membran bütünlüğünün değiştirilmesine bağlıdır. Bu hipotez, antioksidanların DOX toksisitesine karşı bildirilen sitoprotektif etkisi ile de desteklenir (4).

DOX, DNA replikasyonunu baskılar ve DNA çift sarmalındaki baz çiftlerine bağlanarak DNA sentezini bloke eder. Hücre büyümesini ve bölünmesini engeller. Sonuç olarak, hücre bütünlüğünü koruyamaz ve lizise gider. Lizis olan hücreyle birlikte dış ortama salınan DNA-DOX kompleksi, diğer sağlıklı hücrelere girerek lizise gitmelerine neden olur. Bu etki, serbest oksijen radikallerinin rol aldığı enflamatuvar doku

**Geliş Tarihi** : 04.03.2019  
**Kabul Tarihi** : 29.04.2019

### Yazışma Adresi Correspondence

**Emre KAYA**  
Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
Elazığ – TÜRKİYE

emrekaya@firat.edu.tr

reaksiyonları ile doku ölümlerine yol açar (5). Ayrıca sitokrom P-450 redüktaz enzimleri DOX gibi antrasiklinlerin semikinon radikallerine indirgenmesini sağlarlar. Semikinon radikali ise oksijen ile reaksiyona girerek DNA zincirini parçalayan süperoksit radikallerini ( $O_2^-$ ) oluşturur.  $O_2^-$ , hem hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) hem de hidroksil radikali ( $OH^+$ ) oluşumunda rol oynar (6).

Günümüzün en önemli ölüm nedenlerinden olması sebebiyle kanser oluşumunun önlenmesi, üzerinde en çok çalışılan konulardan biridir. Bununla birlikte, etkinli antitümör bir madde olan DOX'in kardiyotoksik etkileri sebebiyle tümör önleyici etkinin sınırlandırılması ve kalp üzerine toksik etkilerinin önlenmesi çalışmalarını da gündeme gelmektedir.

Çörek otu (*Nigella sativa*) Ranunculaceae familyasına ait yıllık çiçekli bir bitkidir. Tohumları ve diğer parçaları, Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya'da yüzyıllarca gıda olarak kullanılmıştır. Çörek otu, zengin besleyici bir temel bileşen kaynağıdır ve yağı, çoklu doymamış yağ asitleri, fitosteroller ve güçlü antioksidan özellikler sergileyen timokinon, karvakrol, t-anethole ve 4-terpineol dahil olmak üzere diğer bazı fitokimyasallar bakımından oldukça zengindir (7). Birçok çalışmada (8-12) farklı bileşenlere karşı böbrek, beyin, mide mukozası, kalp, karaciğer gibi farklı dokularda oluşan toksisitelere karşı koruyucu etkinliği olduğu gösterilmiştir.

Çalışmada; ratların kalp dokusunda malondialdehid (MDA), redükte glutatyon (GSH) düzeyleri ile katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon-S-transferaz (GST) gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri incelenerek, DOX'in oluşturabileceği kardiyotoksositeye karşı çörek otunun etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

**Hayvanlar ve Çalışma Düzeni:** Çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın izni ile yapılmıştır (Protokol No: 2012/03-43). Çalışmada hayvan materyali olarak Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Ünitesi'nden temin edilen 12 haftalık erkek Wistar-Albino cinsi ratlar (250-300 g) kullanılmış ve araştırmanın deneysel bölümü Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yapılmıştır. Ratlar,  $25 \pm 2$  °C sabit ısı, %60-65 düzeyinde nem ve havalandırılmalı odalarda; 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olmak üzere standart şartlarda barındırılmış ve deneysel uygulamalar boyunca ratlara standart ticari rat yemi (pellet yem) ve musluk suyu *ad libitum* olarak verilmiştir.

Çalışmada ratlar her bir grupta 7 rat olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır: 1. Grup: Kontrol grubu, 2. Grup: Çörek otu yağı uygulanan grup (2 mL/kg/gün gavaj, 7 gün), 3. Grup: DOX uygulanan grup (20 mg/kg vücut ağırlığı, i.p. tek doz) ve 4. Grup: DOX (20 mg/kg vücut ağırlığı, i.p. tek doz) + çörek otu yağı (2 ml/kg/gün gavaj, 7 gün) uygulanan gruptur. Çörek otu yağı uygulamasına DOX uygulamasından 2 gün önce başlanmış ve 7 gün süre ile devam edilmiştir. Çalışmada kullanılan DOX ve

çörek otu yağı miktarları daha önceki çalışmalara göre belirlenmiştir (13, 14). Çalışma sonunda kalp dokusunda MDA, GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px, SOD ve GST gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

**Biyokimyasal Analizler:** Uygulamaların sonunda ratlar sakrifiye edilerek kalp doku örnekleri alınmıştır. Kalp doku örnekleri biyokimyasal çalışmaların yapılacağı zamana kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Analizlere başlamadan önce kalp dokuları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra distile su ile 1:10 (ağırlık/hacim) oranda sulandırılarak Potter-elvehjem homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenatlar MDA, GSH, KAT, SOD ve GST analizleri için +4 °C'de 15 dk 3500 rpm'de, GSH-Px analizi için ise 55 dk 13500 rpm'de santrifüj edilmiştir.

Doku örneklerinde MDA düzeylerinde oluşan değişimler spektrofotometrik olarak Placer ve ark. (15)'dan modifiye edilmiş olan yöntemle göre ölçülmüştür. Bu metot tiyobarbitürik asit (TBA)'in, lipid peroksidasyonunun ürünlerinden olan MDA ile reaksiyonuna dayanmaktadır. GSH tayini için Ellman ve ark. (16) tarafından bildirilen metod kullanılmıştır. Bu metod, sülfidril gruplarının 5,5'dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ilave edildiğinde sarı renk meydana getirmesi ve bu rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanan bir metoddur. KAT aktivitesini belirlemek için Aebi metodu (17) uygulanmıştır. KAT,  $H_2O_2$ 'in yıkımını katalizleyen bir enzimdir.  $H_2O_2$ 'in KAT enzimi tarafından yıkım hızı, spektrofotometrik olarak 240 nm dalga boyunda  $H_2O_2$ 'in ışığı absorbe etmesinden faydalanılarak belirlenmiştir. GSH-Px aktivitesi ölçümü için Beutler metodu (18) kullanılmıştır. GSH-Px, GSH'un okside glutatyon (GSSG)'a oksidasyonunu  $H_2O_2$  kullanarak katalizler. GSSG'un oluşum hızı glutatyon redüktaz reaksiyonu vasıtasıyla ölçülür. SOD aktivitesi Sun ve ark. (19)'nın modifiye ettikleri yöntemle göre tayin edilmiştir. SOD aktivite ölçümü, ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından üretilen  $O_2^-$ 'nin nitroblue tetrazolium (NBT)'u redükleyerek renk oluşması esasına dayanan metod ile ölçülmüştür. GST, GSH ile elektrofilik maddelerin konjugasyonunu katalizleyen bir enzimdir. GSH ile 1-klor-2,4-dinitrobenzen (CDNB) bileşiğinin birleşmesi ile oluşan ürünün (1-(S-glutatyonil)-2,4 dinitrobenzen) spektrofotometrik olarak 340 nm'de ölçülmesi ile GST aktivitesi belirlenmiştir (20). Homojenatlardaki protein düzeyleri Lowry ve ark. (21) metoduna göre belirlenmiştir.

**İstatistiksel Analiz:** Elde edilen tüm veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak belirlenmiş ve istatistiksel analizler SPSS 22 programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin Shapiro-Wilk normallik testi sonucunda normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gruplar arasındaki değerlendirme tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ve ikili karşılaştırmalar için de *post hoc* Tukey testi kullanılmıştır.  $P < 0,05$  değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## Bulgular

Tablo 1, ratların kalp dokusunda kontrol ve deney gruplarında MDA ve GSH düzeylerini, Tablo 2 ise KAT, GSH-Px, SOD ve GST enzim aktivitelerini göstermektedir. DOX uygulanan grupta, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA ( $P<0.001$ ) ve GSH ( $P<0.001$ ) düzeylerinde artış, KAT ( $P<0.001$ ), GSH-Px ( $P=0,024$ ) ve GST ( $P<0.001$ ) aktivitelerinde istatistiki olarak belirgin bir düşüş saptanmış olup SOD aktivitesinde istatistiki olarak önemli bir fark belirlenmemiştir. Çörek otu yağının tek başına uygulandığı grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır. DOX uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, DOX+çörek otu uygulanan grupta MDA, GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px ve GST aktivitelerinin kontrol grubu değerlerine ulaştığı gözlenmiştir.

## Tartışma

DOX kanser hastalarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, etki mekanizması hala iyi bilinmemektedir. DOX'in hem antikanser etkilere sahip olup hem de kalp ve diğer organlarda toksisiteye neden olmasında çeşitli mekanizmalara sahip olduğu görülmekte olup ilk retrospektif klinik çalışmalarda gözlenen kardiyak rahatsızlıkların DOX uygulamasına bağlı oluştuğu bildirilmiştir (22, 23).

DOX'in neden olduğu kalp hasarının patogenezi multifaktöryeldir ve ilacın metabolizması ve antitümör aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir. DOX kaynaklı kardiyotoksisitenin önemli özelliklerinden biri etkilerin doza bağımlı oluşudur (22, 24).

Serbest radikaller, aşırı kalsiyum yüklenmesi ve mitokondriyal disfonksiyon, DOX kaynaklı kardiyotoksisitede ana tetikleyicilerdir (25). DOX kaynaklı oksidatif stresin seviyesi, kalpte diğer dokularda (karaciğer, böbrek, dalak) olduğundan 10 kat daha yüksektir (26).

DOX'in indüklediği kardiyotoksisitenin patogenezinin halen dahi iyi anlaşılmamış olmasına rağmen, kardiyotoksisitenin ana mekanizması olarak serbest radikal oluşumu öne sürülmüştür (27). MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin önemli bir oksidasyon ürünüdür ve artan MDA içeriği, lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir. Çalışmada, kontrol grubuna göre DOX uygulanan grupta MDA düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği saptanmıştır. MDA seviyesindeki artış DOX'in oluşturduğu hasarın bir göstergesi olarak düşünülebilir. DOX uygulanan grupta MDA seviyesindeki yükselme, hücresel bileşenlerle, özellikle hücre zarında çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona giren ve MDA seviyesini yükselten demir iyonlarının salınmasına yol açan DOX'in metabolizması ile ilgili olabilir (28).

DOX'e bağlı toksisitenin patogenezinde antioksidan enzimlerin ve serbest radikal rol oynadığına ait bilgiler mevcuttur (29-32). İlişovic ve ark. (29) DOX uygulamasından sonra kalp dokusunda MDA düzeyinde anlamlı artış ile beraber GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir düşüş saptadıklarını bildirmişlerdir. Luo ve ark. (30) 10 mg/kg tek doz DOX verilen ratların kalp dokusunda MDA düzeyinin yükseldiğini göstererek, DOX'in MDA veya benzer başka sitotoksik maddelerin salınımını indükleyerek kardiyotoksisiteyi başlattığını ileri sürmüşlerdir. Chopra ve ark. (31) ratlar üzerinde DOX uygulaması (10 mg/kg) ile oluşan kardiyotoksisite üzerine propolis uygulamasının etkilerini inceledikleri çalışmalarında kan ve dokuda GSH ve tiyobarbitürat reaktif madde düzeylerinin DOX uygulaması sonrasında yükseldiğini bildirmişlerdir. Alyane ve ark. (33) ratların kalp dokusunda DOX (20 mg/kg) uygulamasından 24 saat sonra MDA ve  $O_2^-$  seviyelerinin yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Park ve ark. (34) ratlarda DOX uygulaması ile deneysel bir toksisite meydana getirip N-asetilsisteinin ve selenyumun koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmada kalp dokusu

**Tablo 1.** DOX uygulanan ratların kalp dokusunda çörek otunun MDA ve GSH düzeyleri üzerine etkileri

	Kontrol	Çörek otu	DOX	DOX+ Çörek otu
MDA (nmol/gr doku)	0.33±0.01 <sup>ab</sup>	0.24±0.01 <sup>a</sup>	0.51±0.03 <sup>c</sup>	0.37±0.01 <sup>b</sup>
GSH (µmol/mL)	0.26±0.01 <sup>a</sup>	0.43±0.05 <sup>a</sup>	0.83±0.13 <sup>b</sup>	0.27±0.06 <sup>a</sup>

a, b, c: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

**Tablo 2.** DOX uygulanan ratların kalp dokusunda çörek otunun KAT, GSH-Px, SOD ve GST ativiteleri üzerine etkileri

	Kontrol	Çörek otu	DOX	DOX+ Çörek otu
KAT (k/gr protein)	21.78±1.11 <sup>a</sup>	21.52±1.07 <sup>a</sup>	17.12±0.33 <sup>b</sup>	20.63±0.32 <sup>a</sup>
GSH-Px (U/gr protein)	11.30±1.23 <sup>a</sup>	10.45±1.31 <sup>a</sup>	5.92±0.60 <sup>b</sup>	12.51±3.03 <sup>a</sup>
SOD (U/mg protein)	2.25±0.11	2.36±0.11	2.44±0.07	2.59±0.03
GST (U/mg protein)	3.38±0.22 <sup>a</sup>	3.11±0.12 <sup>a</sup>	2.25±0.18 <sup>b</sup>	3.07±0.11 <sup>a</sup>

a, b: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

başta olmak üzere birçok dokuda, MDA düzeyinin DOX verilen grupta yükseldiğini, tedavi gruplarında ise düştüğünü tespit etmişlerdir. Narin ve ark. (35) tavşanlarda yaptıkları çalışmada DOX'e (15 mg/kg i.p.) uygulaması sonrası kalpte meydana gelen toksisitenin patogenezinde kalp dokusundaki antioksidan enzim aktivitelerinde bir azalma, lipid peroksidasyon ürünlerinde ve serbest radikal düzeylerinde ise artmanın rol oynayabileceğini tespit etmişlerdir. Demir ve ark. (36) DOX verilen tavşanlarda miyokardiyal MDA düzeyinin arttığını, GSH-Px aktivitesinin azaldığını saptamışlardır ve DOX'e bağlı kardiyotoksitenin patogenezinde miyokardiyal lipid peroksidasyonunda artış ve antioksidan sistemlerdeki azalmanın rol oynayabileceğini göstermişlerdir. Xu ve ark. (37) ratlara DOX ve deferipion uyguladıkları çalışmada DOX uygulanan grupta sol atrium dokusunda SOD ve suksinat dehidrogenaz aktivitelerinde düşme, MDA düzeyinde artış belirlemişlerdir. Chularojmontri ve ark. (38) rat kardiyak hücre kültüründe yaptıkları biyokimyasal çalışmada DOX'in verdiği hasarda hücrelerin antioksidan kapasitesini ve bunun vitamin E ve vitamin C ile değişimini araştırmışlar, DOX verilen grupta KAT, SOD aktiviteleri ile GSH düzeylerini kontrol grubuna göre düşük, vitamin C ve vitamin E gruplarında yüksek olarak bulmuşlardır. Bolaman ve ark. (32) tek doz 10 mg/kg dozunda DOX uygulayarak akut kardiyotoksitenin meydana getirilen ratlarda amifostinin koruyucu etkilerini araştırmışlar, DOX uygulaması sonrası kalp dokusunda MDA düzeyinin arttığını, diğer antioksidan enzim düzeylerinin ise anlamlı olarak düştüğünü tespit ederek amifostinin DOX kardiyotoksitesini azaltabileceği sonucuna varmışlardır.

DOX kardiyotoksitesi ile ilgili olarak, kalp dokusunun, yüksek oksidatif metabolizmaya sahip olması ve antioksidan savunma mekanizmalarının karaciğer gibi diğer organlardan daha az olması nedeniyle serbest radikal hasarına karşı çok duyarlı olduğu bilinmektedir (39, 40). Bu çalışmanın sonuçları, tek bir DOX dozunun ratlarda toksisiteye neden olduğunu doğrulamıştır. Çalışmada, DOX uygulanan ratların kalp dokusunda, MDA ve GSH seviyeleri anlamlı derecede yükselmiş, SOD hariç antioksidan enzim aktiviteleri ise azalmış olup, DOX kardiyotoksitesinde radikallerin büyük bir rol oynadığı hipotezi desteklenmiştir. Çalışmadaki bulgular DOX'in meydana getirdiği oksidatif stresteki yükselişe nedeniyle aktif serbest radikallerin oluşumuna sebep olabileceğini düşündürmektedir. Bazı araştırmacılar (38) oksidatif strese sonucu bazı dokularda GSH düzeylerinde düşüş saptamışlarken, bazı araştırmacılar (31, 40) ise meydana gelen oksidatif hasarın GSH düzeylerini artırabileceğini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda DOX uygulaması sonrası GSH düzeylerinde gözlenen artış dokuların oksidatif strese karşı bir tepkisi olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir. Ayrıca GSH düzeyindeki artış, GSH'un GSSG'a dönüşümünü katalize eden antioksidan bir enzim olan GSH-Px aktivitesindeki düşüş GSH'un GSSG'a dönüşümünü engellemiş olabileceği şeklinde de yorumlanabilir. GSH, sayısız elektrofilik ve oksitleyici bileşiklerle etkileşim kurarak, hem nükleofil hem de etkili

indirgeyici görevi gören başlıca hücrenel -SH bileşiğidir. -SH grubunun serbest oksijen radikalleri ile direkt etkileşimi ile non-enzimatik bir antioksidan olarak görev yapabilir veya bir koenzim olarak serbest oksijen radikalleri için enzimatik detoksifikasyon reaksiyonunda görev alabilir (41). GST, birçok toksik maddelerin vücut dışına atılmasını sağladığı gibi, prostoglandinlerin izomerizasyonu, safra tuzları, hem, bilirubin ve yağ asitleri gibi nonsubstrat ligandları GSH ile bağlayarak daha kolay şekilde taşınmasını da sağlamaktadır. Aynı zamanda reaktif elektrofilik bileşiklerin organizmada hasar oluşturmasını, aynı tür bileşikler birbirine kovalent bağlayarak engelleyebilmektedir (40). GST aktivitesindeki azalış, DOX'in metabolizması sırasında reaktif oksijen türleri oluşumuyla mücadele etmek için hücrede GSH'a bağlanarak taşınan zararlı maddelerin artışına cevap olduğu şeklinde yorumlanabilir. DOX uygulamasından sonra KAT, GSH-Px ve GST gibi antioksidan enzim aktivitelerindeki azalma ise DOX'in metabolizması sırasında serbest radikal üretiminde bir artışla açıklanabilmektedir.

Çeşitli maligniteler için sıklıkla kullanılan bir kemoterapötik ajan olan DOX'in kardiyotoksik etkilerinin hafifletilmesi amacıyla bazı antioksidan ajanların toksisite şiddetini düşürerek, daha etkili ve daha yüksek dozların uygulanmasının mümkün olabileceği belirtilmiştir.

Yapılan birçok çalışma (10, 42-46), çörek otu tohumu ve bileşenlerinin antioksidan, anti-tümör, anti-inflamatuar ve analjezik, bağışıklık sistemini güçlendirici, anti-ülserojenik, hipoglisemik, antibakteriyel etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Uz ve ark. (11) çörek otu yağının siklosporin A ile indüklenen kardiyomyopati üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında çörek otu yağı ile muamelenin, lipid peroksidasyonunu azalttığı, hücrenel oksidasyonunu ve antioksidan enzimleri iyileştirdiği, kardiyak histopatolojiyi normale döndürdüğü bulunmuşlardır. Son çalışmalar (47, 48), DOX kaynaklı toksisiteye karşı çörek otunun etkin maddesi olan *timokinonun* koruyucu bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur.

Nagi ve ark. (49) ratlarda siklofosfamide bağlı kardiyotoksisiteye karşı timokinonun olası koruyucu etkileri incelendikleri çalışmalarında timokinon ilavesinin, siklofosfamidin kan ve kalp dokusunda neden olduğu biyokimyasal değişiklikleri düzelttiğini belirlemişlerdir. Araştırmacıların sonuçları, timokinonun faydalı etkilerinin, antioksidan özelliklerinin yanı sıra, kalp dokularındaki mitokondriyal fonksiyonu ve enerji üretimini iyileştirme kabiliyetine atfedildiğini göstermektedir.

Al-Shabanah ve ark. (47) farelerde timokinonun DOX kardiyotoksitesini hafifletebilecek seçici sitoprotektif bir ajan olabileceğini bildirmişlerdir. Nagi ve Mansour (48) ratlarda DOX (15 mg/kg i.p. tek doz) ile oluşturulmuş kardiyotoksisiteye karşı timokinonun lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini, O<sub>2</sub><sup>-</sup> süpürücüsü olduğunu ve DOX'in neden olduğu kardiyotoksisiteye karşı koruyucu etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmada, çörek otunun DOX ile oluşturulan kardiyotoksitede lipit peroksidasyonun azaltılmasında ve azalmış olan antioksidan enzimlerin aktivitelerinin artırılmasında etkili bir ajan olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak, DOX uygulanan ratlarda lipid peroksidasyonun arttığı, antioksidan aktivitelerin azaldığı, DOX ile beraber çörek otu yağı verildiğinde ise olarak MDA, GSH düzeyleri ve antioksidan enzim

aktivitelerinin kontrol grubuna yaklaştığı saptanmıştır. MDA ve GSH düzeyleri ve antioksidan enzim aktivitelerinin düzelmesi çörek otu yağının DOX kaynaklı serbest radikal üretilmesini sınırlayarak, antioksidan savunma sistemini artırarak, oksidatif stresi önleme yeteneğine sahip olması ile açıklanabilir. Bu sonuçlar, çörek otu yağının DOX kardiyotoksitesine karşı kalbi koruyabileceği düşündürmektedir.

### Kaynaklar

1. Takemura G, Fujiwara H. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from the cardiotoxic mechanisms to management. *Prog Cardiovasc Dis* 2007; 49: 330-352.
2. Šimunek T, Štěrba M, Popelová O, et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity: Overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacol Rep* 2009; 61: 154-171.
3. Octavia Y, Tocchetti CG, Gabrielson KL, et al. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: From molecular mechanisms to therapeutic strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52: 1213-1225.
4. Kimura T, Fujita I, Itoh N, et al. Metallothionein acts as a cytoprotectant against doxorubicin toxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 299-302.
5. Chu E, Sartorelli AC. Cancer chemotherapy. In: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. (Editors). *Basic and Clinical Pharmacology*, Chapter 54, McGraw-Hill Education 2012; 949-975
6. Elbaky NA, Ali AA, Ahmed RA. Cardioprotective effect of simvastatin on doxorubicin-induced oxidative cardiotoxicity in rats. *J Basic App Sci* 2010; 6: 29-38.
7. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res* 2000; 14: 323-328.
8. Yaman I, Balıkcı E. Protective effects of *Nigella sativa* against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2010; 62: 183-190.
9. Mohamadin AM, Sheikh B, El-Aal AAA, Elberry AA, Al-Abbasi FA. Protective effects of *Nigella sativa* oil on propoxur-induced toxicity and oxidative stress in rat brain regions. *Pest Biochem Physiol* 2010; 98: 128-134.
10. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6662.
11. Uz E, Burak U, Yusuf S, et al. Cardioprotective effects of *Nigella sativa* oil on cyclosporine A-induced cardiotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 103: 574-580.
12. Farooqui Z, Afsar M, Rizwan S, Khan AA, Khan F. Oral administration of *Nigella sativa* oil ameliorates the effect of cisplatin on membrane enzymes, carbohydrate metabolism and oxidative damage in rat liver. *Toxicol Rep* 2016; 3: 328-335.
13. Iqbal M, Dubey K, Anwer T, Ashish A, Pillai KK. Protective effects of telmisartan against acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Pharmacol Rep* 2008; 60: 382.
14. Hamed MA, El-Rigal NS, Ali SA. Effects of black seed oil on resolution of hepato-renal toxicity induced by bromobenzene in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17: 569-581.
15. Placer ZA, Cushmann LL, Johnson BG. Estimation of products of lipid peroxidation in biological systems. *Anal Biochem* 1960; 16: 359-364.
16. Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961; 7: 88-95.
17. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU (Editor). *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd Edition, Weinheim: Verlag Chemie, 1974: 673-678.
18. Beutler E. *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods*, 3rd Edition, Orlando: Grune & Stratton, 1984.
19. Sun Y, Oberly LW, Ying LA. Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
20. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
21. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
22. Lefrak EA, Pittha J, Rosenheim S, Gottlieb JA. A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. *Cancer* 1973; 32: 302-314.
23. Green DM, Grigoriev YA, Nan B, et al. Congestive heart failure after treatment for Wilms' tumor: A report from the National Wilms' Tumor Study group. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1926-1934.
24. Akolkar G, da Silva Dias D, Ayyappan P, et al. Vitamin C mitigates oxidative/nitrosative stress and inflammation in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2017; 313: 795-809.
25. Shi Y, Moon M, Dawood S, McManus B, Liu PP. Mechanisms and management of doxorubicin cardiotoxicity. *Herz* 2011; 36: 296-305.
26. Mukherjee S, Banerjee SK, Maulik M, et al. Protection against acute adriamycin-induced cardiotoxicity by garlic: Role of endogenous antioxidants and inhibition of TNF- $\alpha$  expression. *BMC Pharmacol* 2003; 3: 16.
27. Umlauf J, Horký M. Molecular biology of doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Exp Clin Cardiol* 2002; 7: 35.
28. Li T, Singal PK. Adriamycin-induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol. *Circulation* 2000; 102: 2105-2110.
29. Ilišković N, Hasinoff BB, Maliszka KL, et al. Mechanisms of beneficial effects of probucol in adriamycin cardiomyopathy. *Mol Cell Biochem* 1999; 196: 43-49.

30. Luo X, Evrovsky Y, Cole D, et al. Doxorubicin induced acute changes in cytotoxic aldehydes, antioxydant status and cardiac function in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1360: 45-52.
31. Chopra S, Pillai KK, Husain SZ, Giri DK. Propolis protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *Exp Molecular Pathol* 1995; 62: 190-198.
32. Bolaman Z, Cicek C, Kadikoylu G, et al. The protective effects of amifostine on adriamycin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Tohoku J Exp Med* 2005; 207: 249-253.
33. Alyane M, Kbsa LB, Boussenane HN, Rouibah H, Lahouel M. Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pak J Pharm Sci* 2008; 21: 201-209.
34. Park ES, Kim SD, Lee MH, et al. Protective effects of N-acetylcysteine and selenium against doxorubicin toxicity in rats. *J Vet Sci* 2003; 4: 129-36.
35. Narin F, Demir F, Akgün H, Kuzugüden S, Köklü E. Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksisite ve kardiyotoksisite üzerine pentoksifilin etkisi. *Türk Kardiyol Dern* 2004; 32: 279-287.
36. Demir F, Narin F, Akgün H, ve ark. Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksisite üzerine melatoninin etkisi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2004; 47: 260-268
37. Xu LJ, Jin L, Pan H, et al. Deferiprone protects the isolated atria from cardiotoxicity induced by doxorubicin. *Acta Pharmacol Sin* 2006; 27: 1333-1339.
38. Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK, Herunsalee A, et al. Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 1165-1171.
39. Herman EH, Zhang J, Chadwick DP, Ferrans VJ. Comparison of the protective effects of amifostine and dexrazoxane against the toxicity of doxorubicin in spontaneously hypertensive rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; 45: 329-334.
40. Yılmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology* 2006; 218: 164-171.
41. Harmankaya A, Özcan A. Effect of different doses of mistletoe lectin-I on the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$ , nitric oxide, total antioxidant and oxidant capacity in rabbits. *Van Vet J* 2017; 28: 41-45.
42. Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, et al. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 7782-7788.
43. Alobaedi OH, Talib WH, Basheti IA. Antitumor effect of thymoquinone combined with resveratrol on mice transplanted with breast cancer. *Asian Pac J Trop Med* 2017; 10: 400-408.
44. Halawani E. Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. *Adv Biol Res* 2009; 3: 148-152.
45. Abdel-Fattah AFM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone in mice. *Eur J Pharmacol* 2000; 400: 89-97.
46. Salem ML. Immunomodulatory and immunotherapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 1749-1770.
47. Al-Shabanah OA, Badary OA, Nagi MN, et al. Thymoquinone protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity without compromising its antitumor activity. *J Exp Clin Cancer Res* 1998; 17: 193-198.
48. Nagi MN, Mansour MA. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: A possible mechanism of protection. *Pharmacol Res* 2000; 41: 283-289.
49. Nagi MN, Al-Shabanah OA, Hafez MM, Sayed-Ahmed MM. Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2011; 25: 135-142.