

## Timokinon Uygulamasının Akciğerler Üzerine Antioksidan Etkisinin İncelenmesi

Kübra TAŞKAN<sup>1,a</sup>, Şerife TÜTÜNCÜ<sup>2,b,\*</sup>

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Samsun, Türkiye.

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0001-8603-0697; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0001-6834-7244

Geliş Tarihi: 06.05.2022

Kabul Tarihi: 07.07.2022

**Özet:** Bitkiler uzun yıllardan bu yana lezzet verici özelliklerinin dışında, hastalıkların tedavilerinde kullanılmıştır. Fitoterapi amaçlı olarak kullanılan bitkiler oldukça fazladır ve en yaygın kullanılanlarından biri de Çörek otudur. *Nigella sativanın* en önemli ve en yaygın kullanılan etken maddesi tohumlarından elde edilen timokinon (thymoquinone)'dur. Yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda ise timokinon ya direkt olarak kullanılmış ya da tohumdan elde edilen yağlar kullanılmıştır. Çalışmamızda farklı hastalıklar üzerine etkisi olan timokinon'un antioksidan etkisinin ağız yoluyla ve intraperitoneal yolla uygulamaları sonrasında akciğerler üzerine olan olası etkilerinin in vivo olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 35 adet Sprague Dawley soyu rat kullanıldı. Ratlar, bir kontrol ve dört deney grubu olmak üzere toplam 5 gruba ayrıldı ve deney 42 gün sürdürüldü. Deney gruplarına her gün düzenli olarak 1mg/kg, 2 mg/kg (intraperitoneal); 10 mg/kg, 20 mg/kg (oral gavaj) timokinon uygulaması yapıldı. Tüm gruplardaki ratların akciğer dokularında farklı şiddetlerde immun reaksiyonlar gözlemlendi. Sonuç olarak timokinon'un farklı dozlarının hem ağız yoluyla hem de intraperitoneal yolla uygulamaları sonrasında akciğerler üzerine olan olası immunomodülasyon etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Antioksidan mekanizmada oldukça önemli belirteçler arasında olan iNOS ve SOD-1'in akciğerlerdeki lokalizasyon ve ekspresyonları in vivo olarak gösterilmiş ve timokinonun sistemdeki antioksidan etkileri gösterilmiştir. Tüm gruplarda farklı immun reaksiyonların gözlenmesi, timokinonun sitokin türüne, uygulama şekillerine ve doza göre farklılıklar olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Akciğer, Antioksidan etki, İmmunohistokimya, Rat, Timokinon.

### Investigation of Antioxidant Effect of Thymoquinone Application on Lungs

**Abstract:** Plants have been used in treating diseases for many years, apart from their flavoring properties. The plants used for phytotherapy are quite numerous. One of the most commonly used herbs is black cumin (*Nigella sativa*). The most essential and common ingredient in *Nigella sativa* is thymoquinone, which is produced from its seeds. In most studies, thymoquinone was used directly, or the oils derived from the seeds were used. We aimed to study the potential effects of thymoquinone on the lungs, affected by numerous diseases, after oral and intraperitoneal administration in vivo. In our study, 35 Sprague Dawley rats were used. The rats were divided into five groups, a control group, and four test groups, and the experiment lasted 42 days. 1 ml/kg, 2 mg/kg (intraperitoneal) and 10 mg/kg, 20 mg/kg (oral gavage) thymoquinone were administered to the experimental groups on a daily basis. Different intensities of immune reactions were observed in the lung tissues of rats in all groups. In conclusion, this study investigated the possible immunomodulation effects on the lungs after oral and intraperitoneal administration of different doses of thymoquinone. The localization and expression of iNOS and SOD-1, which are among the most important markers in the antioxidant mechanism, in the lungs have been demonstrated in vivo, and the antioxidant effects of thymoquinone in the system have been demonstrated. The observation of different immune reactions in all groups led to the conclusion that there were differences in thymoquinone cytokine type, application methods and dose.

**Keywords:** Antioxidant effect, Immunohistochemistry, Lung, Rat, Thymoquinone.

### Giriş

Bitkiler insanların ve diğer canlıların beslenmesinde oldukça önemli yer tutmaktadır. Özellikle aromatik ve tıbbi bitkiler hem lezzet artırıcı olarak hem de tedavi amaçlı olarak günlük hayatta oldukça fazla kullanılmaktadır. *Nigella sativa* (Çörek otu), bu tür bitkiler arasında yer alan ve uzun geçmişe dayanan bitkidir. Yapılan birçok çalışmada *Nigella sativanın* antioksidan, antiinflamatuar, antidiyabetik, antikanserijen ve immunomodülasyon etkileri olduğu gösterilmiştir. Timokinon, timohidrokinon ve

ditimokinon bitkinin aktif bileşenleri arasında yer almaktadır (Randhawa ve Alghamdi, 2011). Bilimsel çalışmalarda en sık kullanılan etken madde ise timokinon'dur. Timokinonun birçok kanser hücresine karşı sitotoksik etkili olduğu ve kanser hücrelerine spesifik antikör üretiminde aktif rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Salemi ve Hossainb (2000) yaptıkları çalışmalarında çörek otu tohumunun özünün ve yağının viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkili olduğunu göstermiştir

(Salemai ve Hossainb, 2000). Timokinon ile yapılan çalışmalarda etken maddenin belli nörofarmakolojik etkileri de gösterilmeye çalışılmış ve timokinon'un hafif epilepside antikonvülzan olarak kullanılabileceği ortaya konulmuştur (Abuharfeil ve ark., 2001; Hosseinzadeh ve Parvardeh, 2004; Rahmani ve Aly, 2015).

Organizmada reaktif oksijen türevleri (ROT) ile enzimatik ve enzimatik olmayan anti-oksidan savunma mekanizmaları arasında bir düzen bulunmaktadır. Bu düzenin ROT lehine bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır ve bu durum bazı değişikliklere sebep olur (Kahraman ve ark., 2003). Oksidatif stres, oksijene ihtiyaç duyan tüm canlı sistemlerde, çeşitli basamaklarda oluşabilen doğal bir süreçtir (Turna ve ark., 2011). Çörek otu uçucu yağı, sabit yağlara kıyasla fazla miktarda antioksidan özelliğe sahiptir (Sultan ve ark., 2009). Rasheed ve ark.nın (2018) yapmış oldukları çalışmalarında timokinonun peroksinitrit (ONOO-) ile indüklenen histon-A2 hasarını önemli ölçüde azalttığı ve tirozin, lizin, arjinin, prolin ve treonin aminoasitlerinin oksidatif hasarını önlediği bildirilmiştir. Timokinonun antioksidan etki potansiyelinin, molekül yapısındaki kinonun redoks özellikleriyle ve fizyolojik bariyerlerden kolay geçmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Darakhshan ve ark., 2005). Karaciğerde yüksek düzeyde bulunan glutatyon molekülü hücrel mekanizmalarda önemli role sahiptir. Glutatyonun tükenmesi ve bunun ardından artan oksidatif stres; protein inaktivasyonuna, protein oksidasyonuna, lipid peroksidasyonuna, toplam tiyol bileşenin azalmasına ve hücre canlılığının kaybına neden olabilmektedir. Timokinon uygulamaları sonucunda malondialdehitin azaldığı, toplam tiyol bileşen ve glutatyon seviyesinin arttığı ve böylece oksidatif stresin azaltıldığı bildirilmiştir (Mollazadeh ve Hosseinzadeh, 2014). İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) düşük miktarda salındığında antioksidan etki gösterirken yüksek miktarda salındığında oksidatif stres oluşturan oksidatif stres belirteçlerinden bir tanesidir. Yapılan çalışmalarda timokinonun, oksidatif streste önemli fonksiyonu olan iNOS ekspresyonunu inhibe edebildiği ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu indükleyebildiği gösterilmiştir (Khalife ve Lupidi, 2007). Timokinonun aynı zamanda da sisplatin, doksorubisin, gentamisin, vankomisin ve civa klorürün neden olduğu böbrek toksisitesine; karbon tetraklorür, siklofosamid, asetaminofen ve aflatoksin B1 ile indüklenen hepatotoksositeye ve siklofosomid ve doksorubiinin kalp toksisitesine karşı koruyucu etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Farooqui ve ark., 2017). Ayrıca siklofosamid toluen ve bleomisin kaynaklı akciğer hasarını azalttığı, benzopiren kaynaklı mide tümörlerini engellediği ve gentamisin

ototoksitesini engelleyerek koruyucu rol aldığı bilinmektedir (Darakhshan ve ark., 2015). Timokinonun, katalaz (catalaz CAT) aktivitesini arttırdığı ve timokinon tedavisinin iskemi-reperfüzyon (I/R) yaralanmasına karşı karaciğer dokusunu koruyabileceği de yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Yildiz ve ark., 2008). Çalışmamızın amacı; timokinon'un farklı dozlarının hem ağız yoluyla hem de intraperitoneal (ip) yolla uygulamaları sonrasında akciğerler üzerine olan olası antioksidan etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesidir.

## Materyal ve Metot

Çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu, Deneysel Onay No: 2015/51). Çalışma materyali olarak 35 adet Sprague Dawley ırkı erişkin dişi rat kullanıldı. Ratlar, Deneysel 1 (1mg/kg timokinon, IP), Deneysel 2 (2mg/kg timokinon, IP), Deneysel 3 (10 mg/kg, gavaj), Deneysel 4 (20 mg/kg, gavaj) ve Kontrol (herhangi bir uygulama yapılmayan) olarak 5 gruba ayrıldı ve her grup 7'şer rattan oluştu (Abdelmeguid ve ark., 2011; Al-Asoom ve ark., 2014). Çalışma sonunda akciğer dokuları alınarak %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Rutin histolojik doku takibi prosedürleri uygulanarak elde edilen kesitlerde histolojik yapının incelenmesi için Crossmon'un üçlü boyama tekniği uygulandı. Ayrıca iNOS ve SOD-1 ekspresyonunu göstermek için immunohistokimyasal yöntemlerden streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanıldı. Elde edilen preparatlar Nikon E-80i araştırma mikroskobu ve Nikon digital-sight DS-Fi1 görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı.

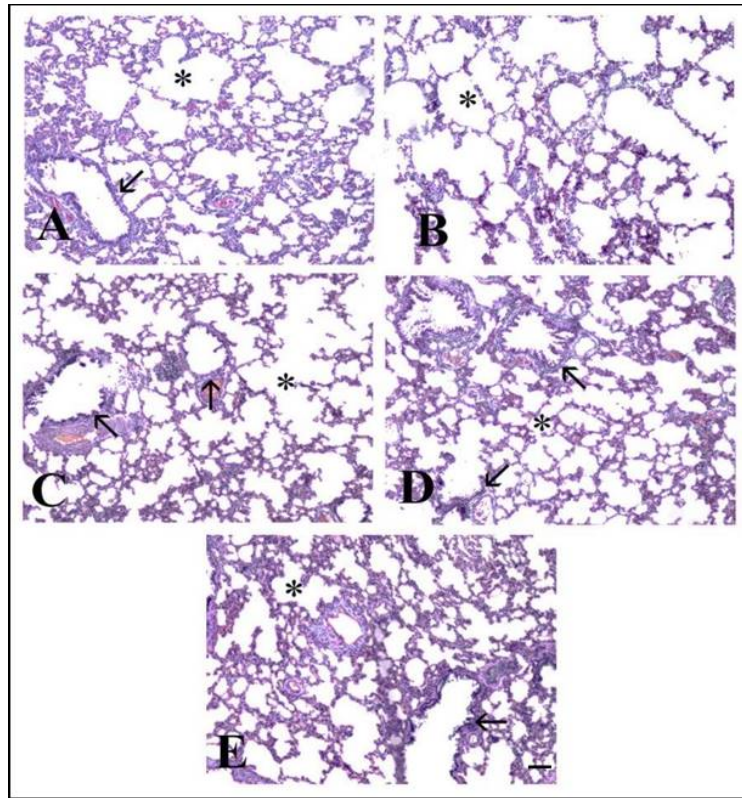
İmmunohistokimyasal değerlendirilmeler boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı (Kayhan ve ark., 2013; True, 1990).

**İmmunohistokimyasal Boyama:** Parafin bloklardan alınan 5µ'luk kesitlerde iNOS (1/200) ve SOD-1 (1/750)'in varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanılarak gösterildi (True, 1990). Primer antikor olarak tavşan poliklonal iNOS (Abcam, ab3523) ve tavşan poliklonal SOD-1 (Bioss, bs-10216R) kullanıldı. Sekonder antikor olarak fare ve tavşana specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC kit (ab64264) kullanıldı. Kesitler deparafinize edildikten sonra proteoliz için sitrat buffer (pH:6) solüsyonu içerisinde, 700 watt'lık devirde mikrodalga fırında ısıtma işlemine tabi tutuldu. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için, kesitler %3'lük hidrojen

peroksit solüsyonunda inkübe edildi. Fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkamayı takiben kesitlerde spesifik olmayan protein bağlanmalarını önlemek amacıyla, kit içerisindeki serum damlatıldı. Daha sonra kesitlere 1/200 (iNOS) ve 1/750 (SOD) dilüsyonlarında primer antikor damlatılarak +4 °C'de 1 gece bekletildi. Yıkama işlemini takiben kesitlere biotinlenmiş sekonder antikor damlatıldı ve yıkama işleminden sonra streptavidin-HRP komplekste inkübe edildi. Son aşamada kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidine (DAB) kullanıldı ve hematoksilin ile zıt boyama yapılarak preparatlar entellan yapıştırıcı ile kapatıldı.

## Bulgular

**Histolojik Bulgular;** Akciğerler incelendiğinde, organın dıştan fibröz bir kapsülle sarılı olduğu, alveoler yapı, bronş, bronşiyol ve damarlar net olarak belirlendi. Organ; bronş, bronşiyol ve alveoller yönünden incelendiğinde gruplar arasında bazı morfolojik farklılıklar tespit edildi. Tüm deney gruplarında akciğerlerdeki lenfosit infiltrasyonlarının ve dejenerasyonlarının kontrol grubuna kıyasla azaldığı belirlendi (Şekil 1).



**Şekil 1.** Akciğer trikrom (üçlü) boyama; 1mg/kg timokinin ip (A), 2mg/kg timokinin ip (B), 10mg/kg gavaj timokinin (C), 20mg/kg gavaj timokinin (D), kontrol (E), akciğer genel görünüm, ok: bronşiyoller, \*: alveoller, Bar 50µm

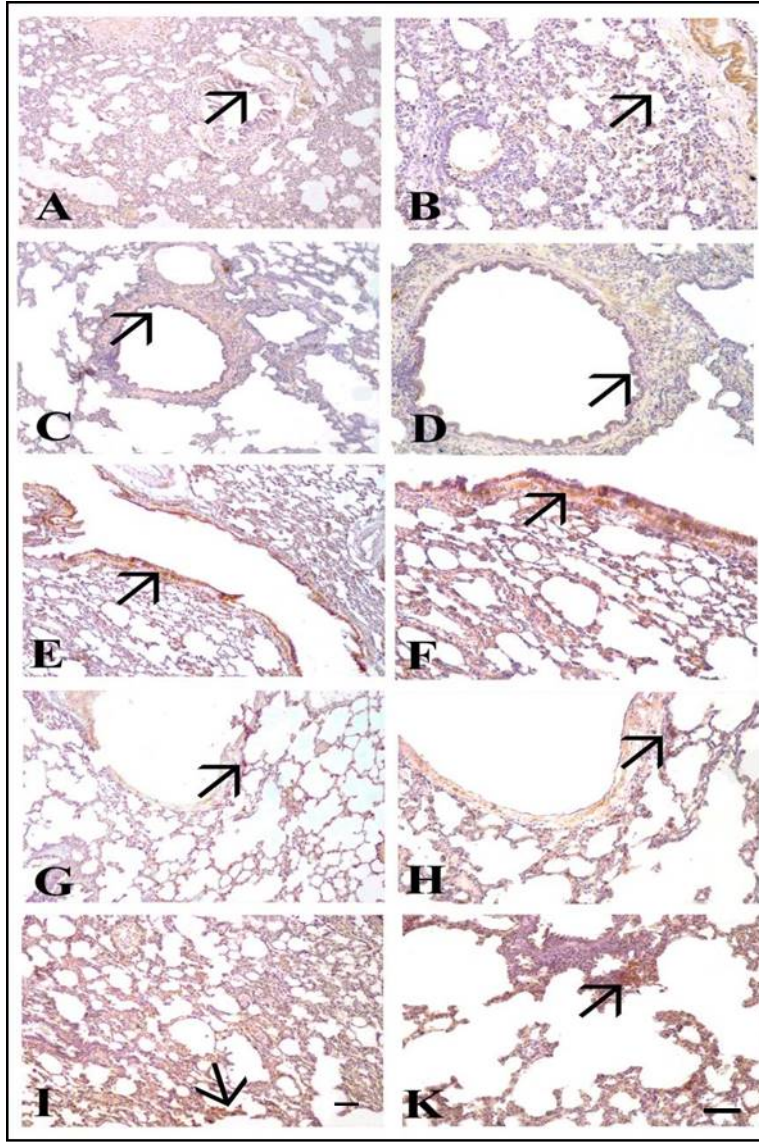
### İmmünohistokimyasal

İmmünohistokimyasal olarak iNOS ve SOD-1 ekspresyonları, tüm gruplara ait akciğerlerin bronş ve bronşiyollerinin epitel hücrelerinin, bronş ve bronşiyollerinin duvarındaki hücrelerin ve alveol duvarında bulunan hücrelerin reaksiyon yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Tüm gruplarda bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında bulunan hücrelerde farklı şiddette boyanma reaksiyonları gözlemlendi.

**iNOS;** Gruplara ait tüm preparatlar değerlendirildiğinde immün pozitif reaksiyonların genellikle bronş ve bronşiyollerin epitel

### Bulgular:

hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarında farklı şiddetlerde olduğu gözlemlendi. En yoğun reaksiyonların kontrol grubunda olduğu, diğer gruplarda ise daha hafif olduğu belirlendi. Kontrol grubunda bronş ve bronşiyol epitelinde orta şiddette immün reaksiyonlar gözlemlendi. 10mg/kg gavaj uygulanan gruptaki reaksiyonlar kontrol grubuna benzer iken diğer üç grupta reaksiyonların azaldığı tespit edildi. Alveol duvarlarındaki reaksiyonlara baktığımızda ise, kontrol grubunda orta şiddette reaksiyonlar gözlenirken, deney gruplarında zayıf şiddette reaksiyonların varlığı tespit edildi (Şekil 2) (Tablo 1).



**Şekil 2.** Akciğer iNOS ekspresyonu, Ok:İmmun pozitif hücreler: 1mg/kg timokinin ip (A), 2mg/kg timokinin ip (C), 10mg/kg gavaj timokinin (E), 20mg/kg gavaj timokinin (G), kontrol (I) x10; 1mg/kg timokinin ip (B), 2mg/kg timokinin ip (D), 10mg/kg gavaj timokinin (F), 20mg/kg gavaj timokinin (H), kontrol (K) Bar 50µm

**Tablo 1.** iNOS'un ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri.

| Grup                              | Kontrol | 1.Grup      | 2.Grup      | 3.Grup          | 4.Grup          |
|-----------------------------------|---------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|
|                                   | Grubu   | (1ml/mg,ip) | (2ml/mg,ip) | (10mg/kg,gavaj) | (20mg/kg,gavaj) |
| <b>Bronş ve bronşiyol epiteli</b> | ±       | +           | ++          | +++             | ++              |
| <b>Alveol Duvarı</b>              | ±       | +           | +           | ++              | ++              |

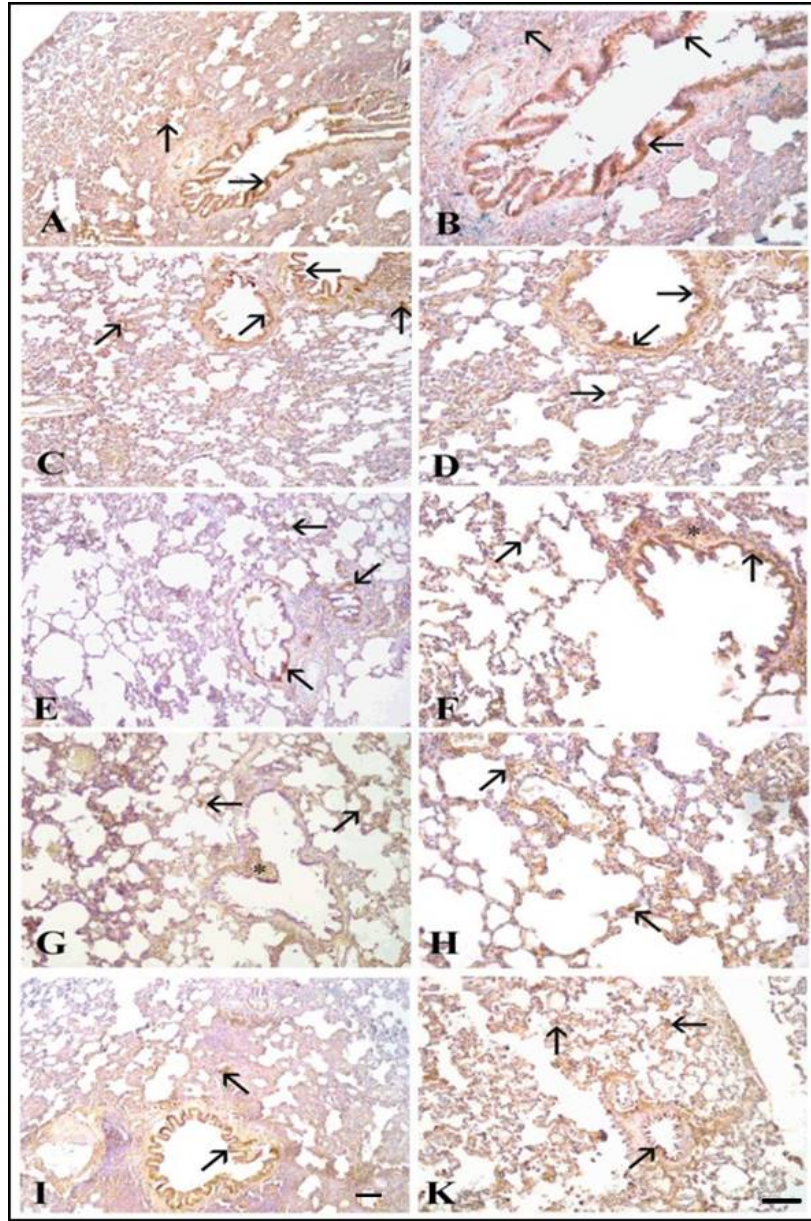
Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

**SOD-1;** Preparatlar incelendiğinde, bronş ve bronşiyollerin epitel hücrelerinde, bronş ve bronşiyol duvarındaki hücrelerde ve alveol duvarlarında farklı şiddetlerde immün pozitif reaksiyonlar gözlemlendi. Grupları kendi aralarında ayrıntılı olarak değerlendirdiğimizde; bronş epitellerinde en yoğun

immün pozitif reaksiyonların 1mg/kg ip timokinin uyguladığımız birinci deney grubunda, en zayıf reaksiyonun ise 20mg/kg gavaj grubunda olduğu tespit edildi. Alveol duvarında immün reaksiyon şiddetlerine baktığımızda kontrol grubu, 2mg/kg ip grubu ve 20mg/kg gavaj gruplarında reaksiyon

şiddetlerinin birbirine benzer ve orta şiddette olduğu belirlendi. 1mg/kg ip ve 10mg/kg gavaj gruplarındaki

immun reaksiyonların ise birbirine benzer ve zayıf şiddette olduğu tespit edildi (Şekil 3) (Tablo 2).



**Şekil 3.** Akciğer SOD-1 ekspresyonu, Ok: İmmün pozitif hücreler: 1mg/kg timokinon ip (A), 2mg/kg timokinon ip (C), 10mg/kg gavaj timokinon (E), 20mg/kg gavaj timokinon (G), kontrol (I) x10; 1mg/kg timokinon ip (B), 2mg/kg timokinon ip (D), 10mg/kg gavaj timokinon (F), 20mg/kg gavaj timokinon (H), kontrol (K) Bar 50µm

**Tablo 2.** SOD-1'in ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri

| Grup                       | Kontrol | 1.Grup      | 2.Grup      | 3.Grup          | 4.Grup          |
|----------------------------|---------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|
|                            | Grubu   | (1ml/mg,ip) | (2ml/mg,ip) | (10mg/kg,gavaj) | (20mg/kg,gavaj) |
| Bronş ve bronşiyol epiteli | ++      | +++         | ++          | ++              | +               |
| Alveol Duvarı              | ++      | +           | ++          | +               | ++              |

Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

## Tartışma ve Sonuç

Timokinon içerdiği fenolik bileşikler ve faydalı farmakolojik etkileri nedeni ile geleneksel tıpta tedaviye destek olarak yaygın kullanımı söz konusudur. Timokinon yüksek antioksidan özelliğe sahip ana aktif fenolik bir bileşik içermesinden dolayı birçok çalışmada antienflamatuar, antimikrobiyal ve antikanserijen etkilere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Timokinonun oksidatif hasara karşı böbrek, karaciğer, kalp, akciğer ve mide üzerinde koruyucu etkilere sahip olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (El-Sheikh ve ark., 2015). Ancak literatür taramaları sonucunda antioksidan etkisinin karşılaştırmalı olarak farklı doz ve uygulama şekline göre değişiklik gösterip göstermediğini bildiren çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu çalışma, antioksidan etkide doz ve uygulama yöntemlerinin karşılaştırılarak hangi uygulama yönteminin ve dozun daha etkili olduğunu değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

Timokinon ve akciğerler üzerine yapılan çalışmalarda; timokinonun siklofosamid, toluen ve bleomisin kaynaklı akciğer hasarını azalttığı, benzopiren kaynaklı mide tümörlerini engellediği ve gentamisin ototoksisitesini engelleyerek koruyucu rol aldığı yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Güzelsoy ve ark., 2018). Çalışmamızda tüm akciğer dokuları ayrıntılı olarak değerlendirildi. Timokinon'un ip ve oral gavaj yolları ile farklı dozlarda uygulanmasının akciğerlerin histolojik yapısında belirgin bir farklılık tespit edilemedi. Çalışmamızın bulguları Yüncü ve ark. (2013)'nin yapmış oldukları çalışmanın bulguları ile paralellik göstermektedir. Ayrıca yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda, timokinon'un ip ve gavaj uygulamaları sonucunda iNOS ekspresyonunun gavaj uygulanan iki deney grubunda da kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi. Beydilli ve ark. (2015) rat beyin dokusunda timokinon ile yaptıkları çalışmalarında, deney grubunda iNOS seviyesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğunu bildirmişler. Usta ve ark. (2018) karaciğer ve böbrek dokusu ile yaptıkları çalışmalarında timokinon uygulamasının kontrol gruplarına göre azalmış olduğunu tespit etmişler. Bu azalış ise timokinonun nitrik oksit ve nitrik oksit sentetaz inhibisyonu ile antioksidan etki oluşturduğunu söylemişlerdir. Çalışmamızın bulguları bahsedilen çalışmaların (Beydilli ve ark., 2015; Usta ve ark., 2018) bulgularından farklılık göstermektedir. Yapılan literatür taramaları da göz önüne alındığında, bu farklılığın nedeninin; uygulama şekli, doz ve organa göre değişiklik gösterdiğini bildiren (Hojna ve ark., 2010) literatür bulguları ile uyumluluk gösterdiği görülmektedir. Sunulan çalışmada SOD-1'in immun

ekspresyonunun 20mg/kg gavaj uygulanan grupta diğer gruplara göre azaldığı, ip uygulama gruplarında ise kontrol grubuna benzer şekilde artmış olduğu gözlemlendi. Aslankoç ve ark. (2019) oksidatif stres durumu ve antioksidan mekanizma üzerine yaptıkları çalışmalarında SOD düzeylerinin artmış olduğunu bildirmişler. Beydilli ve ark. yaptıkları çalışmalarında timokinon uygulanan grupta SOD seviyelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Desai ve ark. (2015) tarafından yapılan farklı bir çalışmada timokinon uygulamasının SOD seviyelerini arttırdığını, bunu da lipid peroksidasyonunu azaltarak yapmış olabileceğini söylemişler. Çalışmamızda üç deney grubunun bulguları bahsedilen çalışmalarla paralellik göstermektedir. Parlar ve ark. (2019) akciğerde yaptıkları çalışmalarında antioksidan belirteçlerin timokinon uygulanan grupta azaldığını bildirmişler. Mevcut çalışmamızda yüksek doz gavaj uygulanan grubun bulguları Parlar ve Arslan (2019)'in bulguları ile uyumluluk göstermektedir.

Mevcut çalışmamızda timokinon uygulanan deney gruplarında hem iNOS hem de SOD-1 ekspresyonlarında farklı şiddetlerde immun ekspresyonlarında azalmaların gözlenmesi, bize timokinon uygulamalarının antioksidan mekanizma üzerine olumlu etkisi olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca sunulan bu çalışma ile timokinon'un farklı dozlarının hem ağız yoluyla hem de intraperitoneal yolla uygulamaları sonrasında akciğerler üzerine olan olası antioksidan etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Antioksidan mekanizmada ve oksidasyonda etkili olan iNOS ve SOD-1'in akciğerlerdeki lokalizasyon ve ekspresyonları *in vivo* olarak gösterilmiş ve timokinonun sistemdeki antioksidan etkileri gösterilmiştir. iNOS ve SOD-1'in ekspresyonları tüm gruplarda alveollerde, bronş ve bronşiyollerde gösterilmiştir. Tüm gruplarda farklı immun reaksiyonların gözlenmesi, timokinonun farklı uygulama şekillerinin antioksidan mekanizmayı inaktive etmediğini; etki mekanizmasının ise uygulama şekline ve dozuna bağlı olarak değişiklikler gösterdiği çalışmamızda gösterilmiştir. iNOS için en etkili dozun 1mg/kg ip uygulamasının; SOD-1 için ise gavaj uygulamalarının daha etkili olduğu sonucuna varılmaktadır. Sonuçlarımızı desteklemek için, daha fazla histokimyasal ve biyokimyasal teknikleri içeren çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## Etik izin

Bu çalışma için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu, Deneysel Onay No: 2015/51 numara ile izin alınmıştır. Ayrıca yazarlar Araştırma ve Yayın Etiğine uyulduğunu beyan etmişlerdir.

## Çıkar çatışması

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

## Finansal destek

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi tarafından PYO.VET.1904.20.014 proje numarası ile desteklenmiştir.

## Benzerlik Oranı

Makalenin benzerlik oranının sisteme yüklenen raporda belirtildiği gibi %13 olduğunu beyan ederiz.

## Teşekkür

Bu çalışmada desteklerini veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi'ne teşekkürlerimizi sunarız.

## Açıklama

Makale 1. Yazarın yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

## Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: ŞT  
Tasarım: ŞT  
Denetleme/Danışmanlık: ŞT  
Veri Toplama ve/veya İşleme: ŞT, KT  
Analiz ve/veya Yorum: ŞT, KT  
Kaynak Taraması: ŞT, KT  
Makalenin Yazımı: ŞT, KT  
Eleştirel İnceleme: ŞŞT

## Kaynaklar

Abdelmeguid NE, Fakhoury R, Kamal SM, AlWafai RJ, 2011: Effect of Nigella sativa L. and thymoquinone on streptozotocin induced cellular damage in pancreatic islets of rats. *Asian J Cell Biol*, 6 (1),1-21.  
Abuharfeil NM, Salim M, Von Kleist S, 2001: Augmentation of natural killer cell activity in vivo against tumour cells by some wild plants from Jordan. *Phytother Res*, 15, 109-113.  
Aslankoç R, Demirci D, İnan U, Yıldız M, Ozturk A, Cetin M, Şirin S, Yılmaz B, 2019: Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü- Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutatyon Peroksidaz (GPx). *SDÜ Tıp Fak Derg*, 26 (3), 362-369.  
Al-Asoom LI, Al-Shaikh BA, Bamosa AO, El-Bahai MN, 2014: Effect of Nigella sativa supplementation to exercise

training in a novel model of physiological cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Toxicol*, 14, 243-250.  
Beydilli H, Yılmaz N, Cetin ES, Topal Y, Topal H, Sozen H, Altuntas I, Cigerci IH, 2015: The Effects of Thymoquinone on Nitric Oxide and Superoxide Dismutase Levels in a Rat Model of Diazinon-induced Brain Damage. *Stud EthnoMed*, 9 (2), 191-195.  
Darakhshan S, Bidmeshki Pour A, Hosseinzadeh Colagar A, Sisakhtnezhad S, 2015: Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacol Res*, 95-96, 138-58.  
Desai SD, Saheb SH, Das KK, Haseena S, 2015: Effect of Thymoquinone on MDA and SOD levels in Streptozotocine Induced Diabetic Albino Rats. *Int J Pharm Sci Res*, 7 (8), 523-526.  
El-Sheikh AAK, Morsy MA, Abdalla AM, Hamouda AH, Alhaider IA, 2015: Mechanisms of Thymoquinone Hepatorenal Protection in Methotrexate-Induced Toxicity in Rats. *ediat Inflamm*, 2-13.  
Farooqui Z, Shahid F, Khan AA, Khan F, 2017: Oral administration of Nigella sativa oil and thymoquinone attenuates long term cisplatin treatment induced toxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomed Pharmacother*, 96, 912-23.  
Güzelsoy P, Aydın S, Başaran N, 2018: Çörek Otunun (Nigella Sativa L.) aktif bileşeni timokinonun insan sağlığı üzerine olası etkileri. *J Lit Pharm Sci*, 7 (2), 118-35.  
Hojna S, Kunes J, Zicha J, 2010: Alterations of NO Synthase Isoforms in Brain and Kidney of Rats With Genetic and Salt Hypertension. *Physiol Res*, 59, 997-1009.  
Hosseinzadeh H, Parvardeh S, 2004: Anticovulsant effects of thymoquinone, the major constituent of Nigella Sativa seeds, in mice. *Phytomedicine*, 11, 56-64.  
Kahraman A, Çakar H, Vurmaz A, Gürsoy F, Koçak S, Serteser M, 2003: Ağır Egzersizin Oksidatif Stres Üzerindeki Etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 4 (2).  
Kayhan S, Güzel A, Duran L, Tutuncu Ş, Güzel A, Günaydın M, Salis O, Okuyucu A, Selcuk MY, 2013: Effects of leflunomide on inflammation and fibrosis in bleomycine induced pulmonary fibrosis in wistar albino rats. *J Thorac Dis Title*, 5 (5), 641-649.  
Khalife KH, Lupidi G, 2007: Nonenzymatic reduction of thymoquinone in physiological conditions. *Free Radic Res*, 41 (2), 153-61.  
Mollazadeh H, Hosseinzadeh H, 2014: The protective effect of Nigella sativa against liver injury: a review. *Iran J Basic Med Sci*, 17 (12), 958-66.  
Parlar A, Arslan SO, 2019: Thymoquinone exhibits anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects on allergic airway inflammation. *Clin Exp Med*, 4 (2), 60-65.  
Rahmani AH, Aly SM, 2015: Nigella S and its active constituents thymoquinone shows pivotal role in the diseases prevention and treatment. *Asian J Pharm Clin Res*, 8 (1), 48-53.  
Randhawa MA, Alghamdi MS, 2011: Anti-cancer activity of Nigella sativa (black seed) A Review. *Am J Chin Med*, 39, 1075-1091.  
Rasheed Z, Altorbag AA, Al-Bossier AS, Alnasser NA, Alkharraz OS, Altuwayjiri KM, 2018: Protective potential of thymoquinone against peroxynitrite

- induced modifications in histone H2A: in vitro studies. *Int J Biol Macromol*, 112, 169-174.
- Salemai ML, Hossainb MS, 2000: Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Int Immunopharmacol*, 22, 729-40.
- Sultan MT, Butt MS, Anjum FM, Jamil A, Akhtar S, Nasir M, 2009: Nutritional profile of indigenous cultivar of Black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. *Pak J Bot*, 41, 1321-1330.
- True LD, 1990: Principles of Immunohistochemistry. 2nd ed., Gower Medical Publishing New York, USA.
- Turna G, Kılıç N, Sarı ZYS, 2011: Ehrlich Asit Solid Tümör Modeli Oluşturulmuş Farelerde Thymus sipleus ve Taurinin Karaciğer MDA, GSH, AOPP Düzeylerine ve SOD Aktivitesine Etkileri. *Turk Klin J Med*, 31 (5), 1153-1159.
- Usta A, Dede S, Çetin S, 2018: Deneseli Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Doku Total Oksidan ve Antioksidan Düzeyne Etkisi. *Ataturk Univ Vet Bil Derg*, 13 (1), 84-91.
- Yıldız F, Coban S, Terzi A, Ates M, Aksoy N, Cakir H, 2008: *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World J Gastroenterol*, 14 (33), 5204-9.
- Yüncü M, Şahin M, Bayat N, Sarı İ, 2013: Effects of *Nigella sativa* oil on rat liver development. *Gaziantep Medical Journal*, 19 (3), 180-184.
- \*Yazışma Adresi:** Şerife TÛTÛNCÛ  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.  
**e-mail:** serife.tutuncu@omu.edu.tr