

Veteriner Biyokimyada Yeni yaklaşımlar

Editör
Hikmet Yeter ÇOĞUN

BİDGE Yayınları

Veteriner Biyokimyada Yeni yaklaşımlar

Editör: Prof. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN

ISBN: 978-625-372-486-3

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.12.2024

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /
Ankara



İçindekiler

Nöron Dejenerasyon Mekanizmasının Biyokimyasal Temeli ve İlişkili Hastalıklar.....	4
Firuze KURTOĞLU.....	4
Varol KURTOĞLU.....	4
Emsalnur AÇIKGÖZ.....	4
Comparision Of The Fatty Acid Compositions Of Six Cornelian Cherry (Cornus Mas L.)	43
Ozcan Baris ÇİTİL	43
Fatih YILDIRIM	43
Structure and uses of <i>Nigella sativa</i>	52
Ayşen ALTINER.....	52
Tanay BİLAL	52

BÖLÜM I

Nöron Dejenerasyon Mekanizmasının Biyokimyasal Temeli ve İlişkili Hastalıklar

Firuze KURTOĞLU¹
Varol KURTOĞLU²
Emsalnur AÇIKGÖZ³

Giriş

Nöron dejenerasyonu ile seyreden hastalıklar, kısa ifadesi ile nörodejeneratif hastalıklar (NH), merkezi sinir sisteminde geri dönüşümsüz nöron kaybı ya da işlev bozukluğu sonucu gelişir. Bu gelişim mekanizmasında normalde aşan apoptoz süreçleri, bu süreçte etkili olan gen mutasyonları, mitokondrial fonksiyon bozuklukları, endoplazmik retikulum stresi gibi biyokimyasal etmenler

¹ Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD. Kampüs KONYA, Orcid: 0000-0001-8034-8266, vetkurtoglu@gmail.com

² Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları ABD. Kampüs KONYA, Orcid: 0000-0001-8963-2618 vkurtoglu@selcuk.edu.tr

³ Vet. Hekim, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD. Kampüs KONYA, Orcid: 0009-0001-4232-7365, Emsalnuracikgoz@gmail.com

başroldedir. İlerleyen yaş, hipoksi, organizmada radikal üretimini etkileyen çevresel faktörler ve genetik aktarımlar sözü edilen bu süreçleri hızlandırarak Alzheimer, Parkinson, Huntington, Frontotemporal Demans, Multipl Skleroz gibi temelde benzer bozukluklarla ortaya çıkan hastalıklara zemin hazırlarlar.

Hayvan deneyi araştırmaları ve genetik çalışmalar nörodejeneratif hastalıkların gelişim mekanizmalarının hücre içi hatalı katlanmış protein birikimi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuş olmakla birlikte, bunun birincil etmen olup olmadığı ya da farklı segmentlerde bozulmuş olan hücre fonksiyonlarının sonucunda mı oluştuğu konusunda net bilgiler henüz ortaya konamamıştır.

1.Nöron ve Astrosit Yapıları ve Metabolik İşlevleri

Merkezi sinir sisteminde (MSS)'de bulunan 2 temel hücre grubu nöronlar ve glial hücrelerdir. Nöronlar sinyal hücreleri iken; glial hücreler grubunda incelenen astrositler nöronlar için destek fonksiyonu olarak işlev gösterdikleri için yardımcı hücreler olarak tanımlanmışlardır. Nöronlar mitoz geçirmez iken, astrositler bölünebilir özelliktedirler (Perea ve ark, 2009).

Astrositler, memeli merkezi sinir sistemindeki (MSS) hücrelerin yaklaşık %30'unu oluşturur ve astrositler merkezi sinir sisteminde sayı itibarı ile nöronların yaklaşık olarak 5 katı kadar bulunabilirler. MSS'de bilgi iletmek ve homeostazı sürdürmekle görevlidirler (Sofroniew ve Vinters, 2010). Nöron yıkımı, beyin travmaları, bakteriyel ve viral kaynaklı enfeksiyonlar, iskemi gibi patolojik olgular sonucunda sayı ve yapıca değişikliğe uğrayarak reaktif astrositlere dönüşürler (Pekny ve Nilsson, 2005).

Astrositlerin hem sağlıklı hem de hasarlı beyinde birçok önemli fonksiyonu yerine getirdikleri bilinmektedir. Astrositler,

MSS nöronları için destek hücreleridir. Besin maddelerinin kılcal damarlardan nöronlara ulaştırılmasından, atıkların nöronlardan atılmasının sağlanması, istenmeyen maddelerin MSS ne girişinin önlenmesi ile kan beyin bariyerine (KBB) katkıda bulunulması, nöronlar arasındaki hücre dışı sahada potasyum iyonu konsantrasyonunun düzenlenmesine kadar birçok konuda nöronlara destek verirler. Aynı zamanda iyon ve pH homeostazını koruma, glikoz kaynağı, antioksidan etki, salgıladıkları nörotrofik faktörler, kemokinler, sitokinler ile sinaptik aktiviteyi sağlama gibi aktiviteleri vardır (Yu ve ark, 2021).

Başta Alzheimer, Parkinson, Huntington, Frontotemporal demans, Multipl skleroz gibi nöron dejenerasyonu ile seyreden sinir sistemi hastalıklarında ve iskemi-travma sonrası dönemlerde astrositlerin morfolojisinde ve işlevinde karakteristik değişiklikler görülür; hastalığın ilerleme şiddeti ya da iyileşme süreci de bu değişikliklere bağlı gelişir.

Farlı nedenler ile nöron hasarının şekillenmesi ile hücre uzantıları büyümüş ve hipertrofik görünüm kazanmış olan sayıca artmış reaktif astrositler oluşur, sonuçta glial kökenli skar dokusu oluşturur. Bu skar dokusunun ise birçok nörotoksik madde üretiminden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Akbulut ve ark, 2023). Aktifleşen ve hipertrofik bir morfoloji gösteren astrositlerden, özellikle nöron dejenerasyonu için günümüzde spesifik bir biyobelirteç olarak kabul edilen Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP) eksprese edilir (Panickar ve Norenberg, 2005).

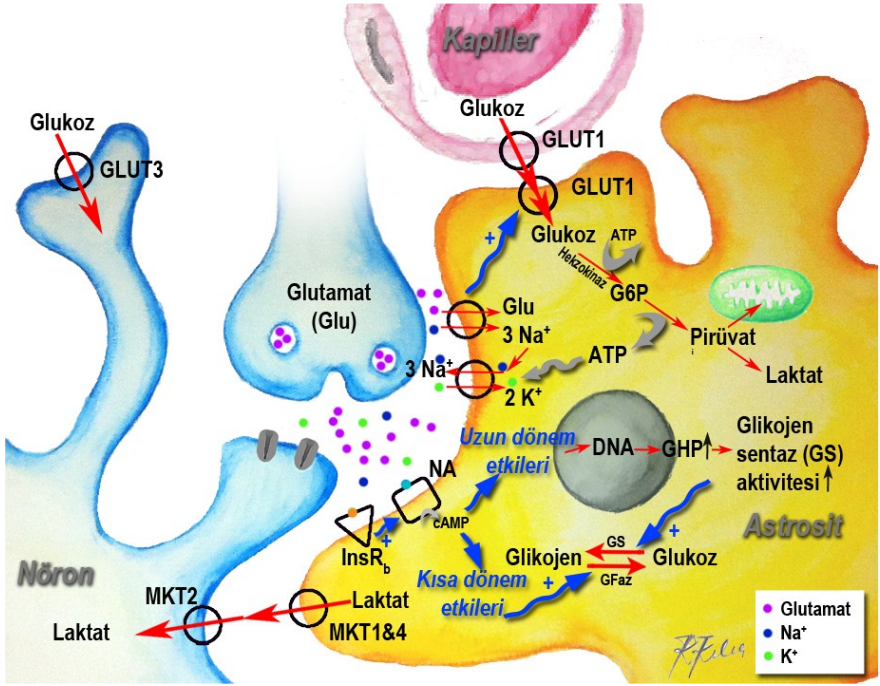
Beynin ana yakıt molekülü olan glikoz beyin dokusuna kapiller dolaşımdan glukoz Taşıyıcı yapılar (GLUT) ile nakledilir. GLUT1, astrositlerin uç bölümlerinden glikoz girişi sağlar.

Nöronlarda ise bu taşınma işlemi GLUT3 ler ile gerçekleştirilir. Astrosit Nöron Laktat Mekik Hipotezine göre, nöronların kullandığı enerji astrositlerden çok daha fazladır ancak nöronlarda hücre içine giren glukoz daha azdır ve enerjinin büyük bir kısmı astrositlerde üretilip nöronlara sunulan laktattan sağlanmaktadır (Pellerin ve Magistretti, 2003) (Şekil 1).

Laktatın taşınması Monokarboksilat Taşıyıcılar (MKT) ile gerçekleştirilir. Simpson ve ark, 1999). MKT lerin, beyinde, laktat, pirüvat, keton cisimleri gibi metabolitlerin taşınmasından sorumlu olan türleri, astrosit üzerinde bulunan MKT1 ve MKT4 (Hertz ve Dienel, 2005); nöronlar üzerinde yer alan MKT2 (Simpson ve ark, 2007) ve koroid plexus ile retina gibi sınırlı alanda lokalize olan MKT3 tür (Philip ve ark, 2001).

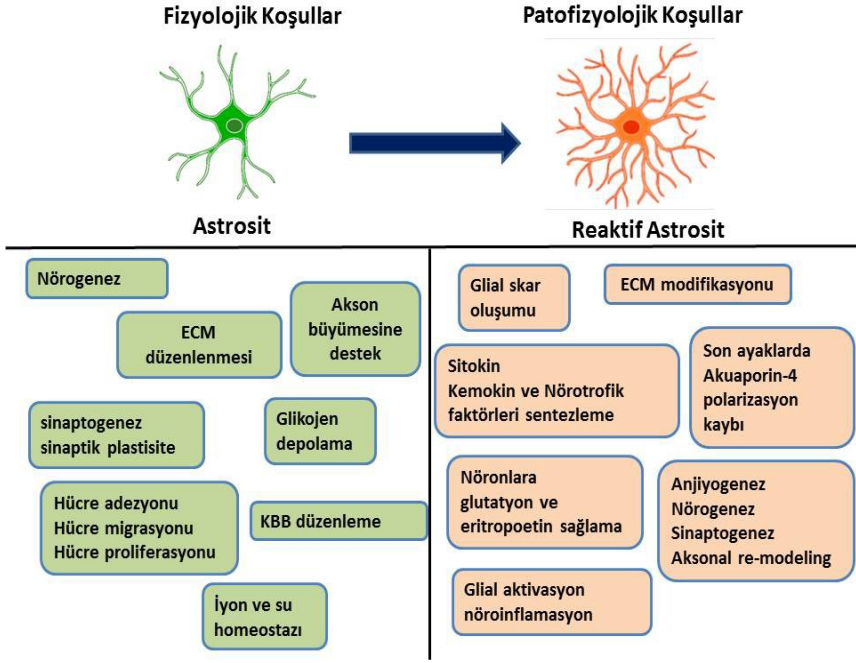
Artan enerji gereksiniminin karşılanmasında astrositler tarafından dış ortamdan alınan glutamat da etkilidir. Bu mekanizma aynı zamanda eksitotoksositeye neden olabilecek düzeyde artan glutamatın dış ortamdan temizlenmesine de ayrıca hizmet etmiş olmaktadır (Rossi ve ark, 2000).

Astrositlerde yer alan glikojenden periferden gelen glukozun sinaptik aktivite için yeterli olmadığı durumlarda glukozu dönüştürülerek enerji elde edilir. Glikojenden sağlanan bu enerji yoğun sinaptik aktivitede sinaptik aralıktaki glutamat ve K⁺ geri alımında da kullanılmaktadır (Kılıç, 2013).



Şekil 1. Beyinde glukoz, glikojen ve laktat metabolizması ile ilgili yollar. Kılıç (2013) den alınmıştır.

Astrosit skar dokusunun mevcut olduğu durumlarda ise, dış ortamdan temizlenemeyen yüksek orandaki glutamatlar eksitotoksisiteye neden olur ve depolarizasyonu olumsuz etkiler (Pelleri ve Magistretti, 2003). Glutamat taşınımalarını sağlayan GLT ler ve aktiviteleri bu nedenle MSS de glutamat eksitotoksisitesinin ve buna bağlı gerçekleşen nöron kayıplarının ortaya çıkmaması açısından önem taşır. Glutamatın nörotoksik olabilmesi için çok yüksek konsantrasyonlara ulaşması gerektiği vurgulanmaktadır. Bu durum ise astrositlerin etkili bir glutamat temizleyicisi olduğunu ortaya koyabilir (Rosenberg ve Aizenman, 1989).



Şekil 2. Fizyolojik ve patofizyolojik koşullar sırasında astrositlerin çeşitli fonksiyonları (Akbulut ve ark. 2023' den alınmıştır).

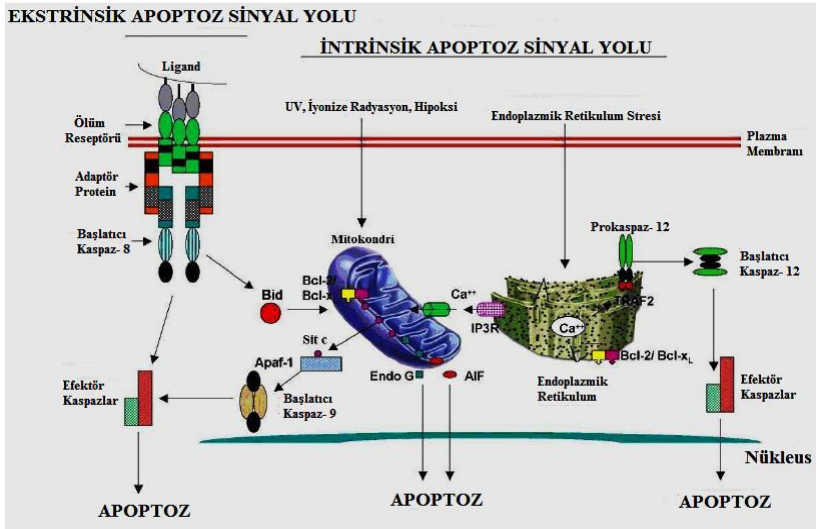
Yapılan çalışmalarda yangı ve hasara yanıt olarak oluşan astrosit aktivasyonunun, mikroglia tarafından salınan büyüme faktörü-alfa (TGF- α), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Klein ve ark, 1997).

2.Endoplazmik Retikulum Stresi ve Apoptoz

Endoplazmik retikulum (ER), ekstraselüler ortama gönderilecek proteinlerin katlanmasının gerçekleştiği ağ yapıda yüksek oranda Ca^{+2} içeren bir organeldir. Proteinlerin katlanma aşamalarının başarılı bir şekilde tamamlanması hücre metabolizması için çok önemlidir. Bunun için Bip/GRP78, GRP94 (glikozla düzenlenen protein 78 ve 94) ER şaperon proteinleri ve PDI (protein

disülfid izomeraz) gibi proteinler senkronize bir şekilde çalışırlar (Bahar ve ark, 2016). Glikoliz yolunun yetersiz çalışması, hipoksi, hücre içi kalsiyum metabolizmasının bozulması, oksidatif stres, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar gibi çok sayıda etkenin proteinlerin doğru bir şekilde katlanması üzerine etkisi vardır. Hücrelerin bu şekilde stres altına girmesi ER'nin protein katlama yeteneğini azaltmakta ve katlanmamış proteinlerin hücre içerisinde birikimine yol açmaktadır (van der Kallen, ve ark, 2009).

Hücrelerde katlanmamış protein birikimi toksik etkiye sahiptir ve hücreye zarar vermektedir. Hücreler genel olarak ER stresinin etkilerinden kurtulmak için UPR olarak adlandırılan sinyal yollarından oluşan bir yolu kullanmaktadır. UPR sistemi; ER işlevlerini düzenleyen kompleks bir mekanizmadır. Katlanmamış protein birikimini azaltan bir yanıt oluşturarak, ER işlevlerini düzenler. Adaptasyon sağlanamazsa ve katlanmamış protein birikimi devam ederse hücre apoptoza götürülür (Vanlı ve ark, 2022).



Şekil 3. Apoptotik Sinyal Yolakları (Gupta ve ark 2006) 'den düzenlenmiştir.

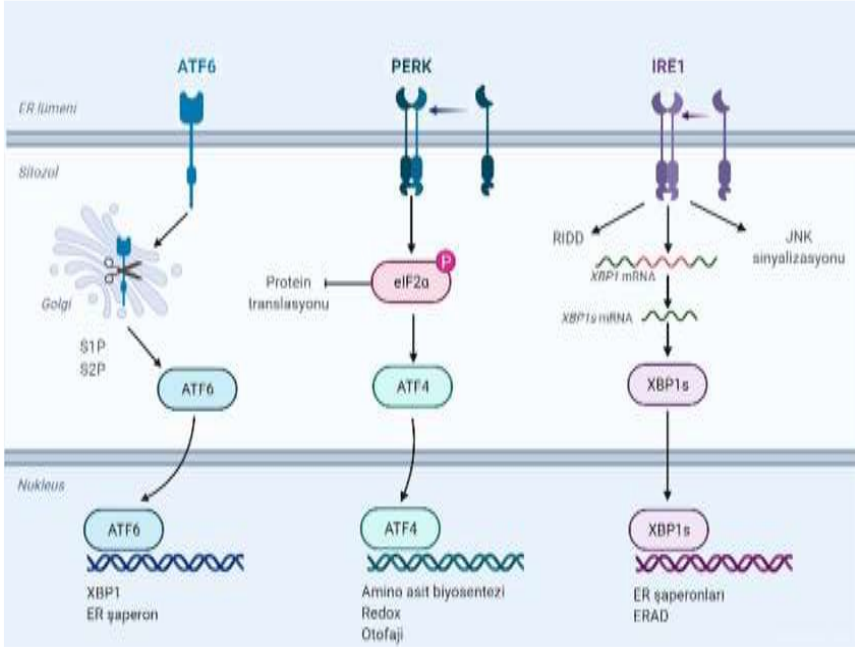
2.1.Katlanmamış protein yanıtı (UPR Yolağı)

ER stresine maruz kalan nöronal dokularda sürekli UPR yolaklarının sinyalizasyonu, beyin dokularında geri dönüşümsüz nöredejeneratif hasara neden olabilmektedir (Demirtaş ve ark. 2016). Bu çalışmalardan bazılarında fare ve insan kadavra beyin nöronlarında özellikle hipokampal ve piramidal nöronlarda fosforile PERK ve fosforile eIF2 α 'nın aşırı derecede arttığı gözlenmiştir (O'Connor ve ark, 2008). PERK yolağı kaskadında bulunan CCAAT/enhancer binding protein-homolog (CHOP) proteininin upregülasyonunun Alzheimer Hastalığı için bir belirteç olabileceği düşünülmektedir. CHOP'un aşırı ekspresyonu reaktif oksijen türlerinin oluşmasına, yüksek seviye amiloid- β birikimine, demir homeostazının bozulmasına, nöroinflamasyon ve nihayetinde nöronal apoptoza sebebiyet vererek Alzheimer Hastalığı patofizyolojisinde yer aldığı ileri sürülmektedir (Li ve ark, 2014).

Katlanmamış Protein Cevabında (UPR) 3 farklı yolak tanımlanmıştır. İlk olarak, ATF 6 yolağında normalde Grp78 ile kompleks halde bulunan ATF 6, ER lümeni içinde çok fazla katlanmamış protein olması durumunda Grp78 nin kompleksten ayrılması ile Golgiye transfer olur. Golgide S1 Proteaz ve S2 Proteazlar tarafından kesilir ve takiben nukleusa geçip ER şaperonlarının translasyonlarını aktive eder.

İkinci yolakta ise ER lümeni içinde ATF 6 yolağında olduğu gibi çok sayıda katlanmamış protein olduğunda, serin treonin kinaz olan PERK, eIF2 α 'yı fosforilleyerek protein translasyonunu kısmen durdurarak katlanmamış protein yanıtı (UPR) oluşturur. Üçüncü yolakta ise yine katlanmamış protein artışı durumunda ER membranında bulunan serin treonin kinaz aktivasyonu ile lümen

içerisinde, X-box bağlayıcı protein 1 (XBP1)'in nukleusta şaperon proteinlerin sentezini uyarak ER stresine yanıt oluştururlar (Sel ve Oğuz, 2022).



Şekil 4. Şematik UPR yolları

2.1.1.PERK (protein kinase R benzeri endoplasmik retikulum kinaz)

Protein kinaz R benzeri endoplasmik retikulum kinazı olarak bilinen PERK bir Tip 1 transmembran proteinidir. PERK, GRP78'den ayrıldığında kinaz domaini otofosforillenir ve PERK, aktif hale gelir. GRP78, ER lümenine protein katlanmasına yardımcı olması için gönderilir. PERK'in aktivasyonu ile birlikte downstream efektörü olan ökaryotik başlatıcı faktör 2 alfa (eIF2α) fosforillenir. Fosforillenen eIF2α hücre içindeki genel protein translasyonunu azaltır (Harding ve ark 2000).

2.1.2.ATF6

Katlanmamış protein tepkisinin diğer bir sinyal yolu aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (activating transcription factor 6, ATF6)'dır. ATF6 bir Tip 2 transmembran proteinidir. ATF6'nın, ATF6 α ve ATF6 β iki adet homolog proteini vardır. Bu proteinlerin, DNA bağlayan domainleri benzerdir ve transkripsiyonel aktivasyon domainleri farklıdır. Bu proteinler nükleusa taşınır ve GRP78 gibi ER stresi cevabında rol oynayan genlerin ifadesini etkilerler (Oflamaz ve Demir 2018).

Aktive edici transkripsiyon faktörü 6 ER membranında GRP78 ile bulunmaktadır ve inaktiftir. Endoplazmik retikulum stresinde GRP78'in ayrılmasıyla aktif hale gelir ve ayrılan GRP78 ER lümeninde protein katlanmasına yardımcı olur. ATF6 ise ER'den golgi aygıtına taşınır ve burada önce S1P (site 1 proteaz) tarafından ve sonra S2P (site 2 proteaz) tarafından kesilerek aktif forma dönüştürülür. Aktif ATF6 daha sonra nükleusa taşınır ve ER stres tepkisi elemanı bulunan genleri indükler. ATF6'nın indüklediği ER şaperon proteinleri ise GRP78, GRP94, protein disülfür izomerazdır (Szegezdi ve ark 2006, Ron ve Walter 2007).

2.1.3.IRE1 (İnositol-gerektiren enzim tip 1)

İnozitol gerektiren enzim tip 1, serin-treonin kinaz alanı ve endoribonükleaz alanına sahip oluşuyla çift aktivite gösteren bir enzimdir. IRE1'in IRE1 α ve IRE1 β olmak üzere iki izoformu vardır. Bir tip I ER transmembran proteini IRE1 N-terminal alanı aracılığıyla ER stresini tespit edebilir ve bağlı olduğu GRP78'den ayrılır. IRE1'de oligomerizasyon ve otofosforilasyonla aktif hale geçer. Aktive olmuş IRE1 X-box bağlayıcı protein 1 (XBP1) mRNA'sınının bağlanmasına yardım eder. XBP1, GRP94 (Glucose-

regulated protein 94 Glikoz düzenlemeli protein 94) ve GRP78 (Glucose-regulated protein 78 Glikoz düzenlemeli protein 78) gibi şaperon proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu sağlamaktadır (Bahar ve ark 2016). İnozitol gerektiren enzim tip 1, serin/treonin kinaz aktivitesine sahip bir tip I ER transmembran proteinidir ve N-terminal lüminal alanı aracılığıyla ER stresini tespit edebilir ve en korunan UPR sinyal yolunu başlatır.

2.1.4.Şaperonlar

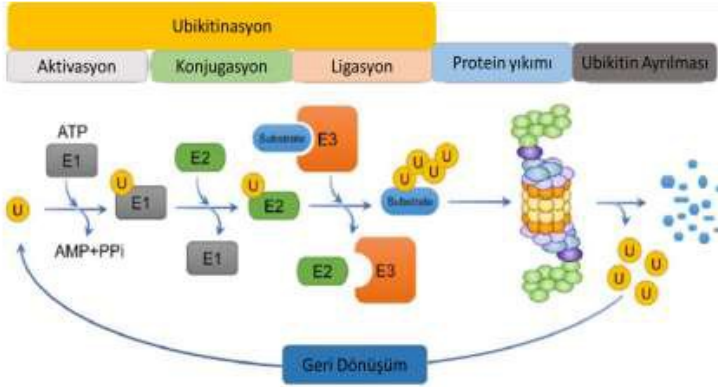
Şaperonlar yeni sentezlenen proteinlerin düzgün katlanmasının sağlanması ve protein mekanizmasının doğru çalışmasını sağlayan çok geniş bir protein ailesidirler (Hartl, 1996; Vabulas et al., 2010). İlk olarak yüksek sıcaklıklara maruz kalan hücrelerde izole edildiği için (Bukau, 1993) ısı şok proteinleri (Heat Shock Protein HSP) olarak da adlandırılırlar. Proteinlerin hücre sitoplazmasında ribozomlarda sentezi sonrası katlanmalarında rol oynayarak, sentezlenen polipeptit zincirinin amino (N) terminal kısmına bağlanarak polipeptit zincirinin stabilizasyonunda rol alırlar (Moran et al., 2019).

En yaygın bulunan ve en fazla korunmuş şaperon proteini HSP 70 (Rosenzweig ve ark., 2019). Hsp 70 katlanma yanısıra ayrıca sitozolden hücre içi organellere (mitokondri, kloroplast ve endoplazmik retikulum) taşınan katlanmamış polipeptit zincirlerine zar boyunca eşlik eder ve organel içinde bulunan diğer şaperon sistemine aktarır (Pfanner ve ark, 2019). Hsp70'lerden salındıktan sonra, yeni sentezlenen polipeptitler ya kendiliğinden katlanabilir ya da daha fazla katlanma ve olgunlaşma için Hsp90 sistemi gibi diğer şaperonlara veya şaperoninlere aktarılabilir (Kramer ve ark, 2009).

Şaperoninler, hücrede şaperonların bir alt grubu olarak bulunmaktadır. Şaperonin içinde, protein katlanması devam ederken katlanmayan kısımların birbiri üzerine katlanmaları da engellenmektedir (Cooper & Adams, 2019). Hsp90 da hücre için çok önemli olan hücre sinyallemede yer alan proteinlerin çoğunun katlanmasını sağlar ve ayrıca hatalı katlanmış proteinleri de düzeltmeye çalışan bir sistemdir (Kijima et al., 2018; Kmiecik et al., 2020).

2.2.Ubikuitin-Proteazomal Sistem (UPS)

Lizozom dışı çalışan bu sistem hücrel homeostazı düzenler (Kocaturk & Gözüaçık, 2018). Ubikitin ökaryotik hücrelerde bulunan 76 amino asitlik bir polipeptittir ve ATP bağımlı proteoliz gerçekleştirir (Wang et al., 2020a). Kısa ömürlü proteinlerin UPS aracılığıyla parçalanması, ubikuitin proteinlerinin hedef proteinlere sıralı olarak eklenmesiyle başlamaktadır (Finley, 2009). Çoklu-ubikitinlenmiş proteinler daha sonra ATP bağımlı olarak multikatalitik proteaz komplekslerinin alt birimleri tarafından proteazomlarda yıkılırlar (Schwartz & Ciechanover, 2009). Protein yıkımından sonra ubikuitin tekrar başka proteinlere tutunmak üzere kompleksten ayrılır hücre içine geri dönmektedir (Şekil 5)



Şekil 5. Proteinlerin Ubikitin sistemi ile parçalanması (Abbak, 2024' den alınmıştır).

3. Nöron Dejenerasyonunda Katlanmamış Protein Birikimi ve Hatalı Protein Denetimi

Nöron dejenerasyonu ile gelişen hastalıklarda en yaygın nörodejeneratif bulgular hücre içinde biriken nörofibriller yumaklar (NFY), hücre dışı yerleşimli plaklar (amiloid protein kümeleri) ve sinaptik kayıplardır. Nörofibriller yumakların temelini hiper fosforilize tau proteini; amiloid plakların ana komponentini ise amiloid prekürsör proteininin (APP) sekretazlarla kopartılması sonucu oluşan, 39-43 amino asit dizilimli fibril yapıları beta amiloid peptid oluşturmaktadır ($A\beta$). Sözü edilen sekretaz enzimleri enzimatik olarak alfa (α) ve beta (β) ve gamma (γ) sekretazlar olup, özellikle β ve γ -sekretaz aktiviteleri ile $A\beta$ peptidler ortaya çıkmaktadır. $A\beta$ polipeptid uzunluğu nörotoksiteyi belirleyen en önemli etmendir (Hardy ve Israel, 1999).

$A\beta$ ' nin fibriller oluşturarak astrositleri aktive ettiği, bu hücrelerden salınan moleküllerin nöronlarda nörotoksik ve nörotropik etkiler oluşturduğu düşünülmektedir. Bu etkiler

sonucunda da tau proteinlerinin hiper fosforilasyonu şekillenerek kümeleşmeye meyilli protein yığınları oluşmaktadır. Özellikle Alzheimer hastalığında (AH) gözlenen A β birikimi ve NFY oluşumu sonucu sinapslarda fonksiyonel bozulmalar, nöron ölümü dejenerasyonu ve ölümü, nörotransmitter eksikliği ve biyokimyasal değişikliklere neden olmaktadır. (Bush ve ark, 1995)

Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu gelişimine bağlı olarak kinaz enzim sistemlerinin aktive olduğu ve tau hiperfosforilasyonunun buna bağlı şekillendiği belirtilmektedir. (Wang ve ark, 2020b) A β birikiminin kalsiyum ve sodyum iyonlarının geçirgenliklerini etkileyerek özellikle hücre içi kalsiyum oranında aşırı artmaya neden olduğu; glukoz ve glutamat taşınmasını etkileyecek düzeyde membran lipid peroksidasyonunu tetiklediği, sonuç olarak yine mitokondriyal disfonksiyonu ortaya çıkabileceği belirtilmektedir (Mark ve ark, 1997)

Hücre içindeki kontrol sistemlerince düzeltilemeyen hatalı proteinler çözünmeyen yumaklar oluşturmaya meyillidirler ve normal globüler yapılarının aksine çok iplikçikli uzun liflere sahip β -tabakasını oluşturmakta ve amiloid olarak adlandırılmaktadırlar (Eisenberg ve Jucker, 2012; Hartl, 2017).

3.1 Amiloid Beta (A β)

Amiloid proteinler fibriller yapıda bir ya da daha fazla türde protofilamentten oluşan ancak tek bir protofibrilden de şekillenebilen yapılardır. Protofibriller yan zincirleriyle birbirine paralel şekilde bağlanmışlardır. Amiloid hipotezi, (A β) özellikle Alzheimer hastalığı için başlıca uyarıcı olduğunu ve aşırı üretiminin veya temizlenmesinin azalmasından kaynaklandığını öne sürer (Allen 2017). Çözünmeyen (A β) plakları Alzheimer hastalığının başlıca

patolojik özelliği olmasına rağmen insanlarda bulunan kanıtlar neticesinde plakların mevcudiyetinin bilişsel aktivitede azalmaya sebep olmadığı, asıl zararı çözünür amiloid oligomerlerinin verdiği ve plakların oligomerleri izole ederek korucuyu etki gösterme olasılığı da bildirilmiştir (Chabrier ve ark 2011).

Amiloid öncü proteinin (APP) parçalanmasından sorumlu enzimler α -, β - ve γ -sekretazdır. $A\beta$, amiloid öncü proteinin (APP) β - sekretaz ve γ -sekretaz tarafından ardışık kesilmesiyle oluşur. Bölünmenin gerçekleştiği noktaya bağlı olarak 38,40 veya 42 amino asit içeren üç temel $A\beta$ beta üretilmiş olur. APP veya presenilin genlerindeki mutasyonlar APP bölünmesini teşvik ederek amiloid beta seviyelerini arttırabilir. Bu enzimlerin katalitik bileşeni ise Presenilin 1 veya Presenilin 2'dir (Chabrier ve ark 2011).

α - sekretaz ADAM 9, 10 ve 17 olarak bilinen üç enzimi kapsamaktadır. β -sekretaz yıkımı iki aspartil proteaz olan β -bölge APP yıkım enzimi (BACE) 1 ve 2 aktivitesinden kaynaklanır. γ -sekretaz, presenilin 1 veya 2, nikastrin, PEN2 (presenilin geliştirici 2) ve APh1a veya APh1b (ön farenks-kusurlu fenotip 1) olmak üzere dört proteinin bir kompleksidir. Presenilin, γ -sekretazın katalitik bileşenidir ve APP'nin C-terminal peptidini C99 veya C83'ten parçalayarak $A\beta$ 'yı veya toksik olmayan bir peptid olan p3'ü oluştururlar. γ -sekretazın APP'den başka çok sayıda substratı vardır (Allen 2017).

Ailesel Alzheimer hastalarında APP, Presenilin 1 veya Presenilin 2'de mutasyonların mevcut olduğunu ve $A\beta$ üretimini arttırarak, $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ oranını değiştirerek veya kümeleşme eğilimini artırarak hastalığın oluşumuna zemin hazırladığı bildirilmiştir. $A\beta_{42}$ 'nin kümeleşme eğimi daha yüksektir ve daha

patolojik form kabul edilir (Chabrier ve ark 2011). Nöronlarda endozomlarda ve lizozomlarda birikerek protein yıkım aşamalarını sekteye uğratır. Ayrıca hücre dışı A β oligomerlerinin özellikle de A β 42 nin, plazma membranındaki normal prion proteinine bağlanarak nörona Ca²⁺ girişini arttırdığı bildirilmiştir (Allen 2017). Nörodejenerasyon ile ilişkili çoğu protein hücre içinde birikirken A β hücre dışında birikim gösterir. Fibrillerin büyümesi de muhtemelen hücre dışında olduğu için ilerleyici birikimi için transselüler yayılım içermek zorunda değildir (Vaquer-Alicea ve Diamond 2019).

3.2.Tau

Tau protein agregatlarını içeren nörofibriller yumaklar (NFY) Alzheimer hastalığının ikinci belirgin patolojik oluşumudur (Monteiro ve ark 2023). Nörofibriller yumak (NFY) ların Alzheimer'ın nedeni mi veya sonucu mu olduğu ise hala belirsizliğini korumaktadır (Gallagher ve ark 2016).

NFY'ler eşleştirilmiş helezonik filamentlerden ve düz filamentlerden oluşurlar. Eşleştirilmiş helezonik filamentlerin ana protein bileşeni mikrotübül ilişkili tau'dur. Eşleştirilmiş helezonik filamentlerin ve düz filamentlerin yapısı normal fibrillerden oldukça farklıdır. Ayrıca eşleştirilmiş helezonik filamentlerin yapısındaki tau yüksek oranda kümelenmiş, anormal hiperfosforilasyon, glikozilasyon, ubiquitinasyon, glikasyon, poliaminasyon, nitrasyon ve proteolize uğramıştır (Gong ve ark 2005).

Tau proteinleri tüm omurgalıların sinir sisteminde bol miktarda bulunan mikrotübül ilişkili proteinlerdir (Wang ve ark 1993). Tau proteinin beyinde yoğun olarak nöronlarda bulunduğu, gliada ise az miktarda da olsa mevcut olduğu bildirilmiştir (Gong ve ark 2005). Çalışmalar sonucunda tau proteinin sinir sisteminde geniş

bir dağılımı olsa da nöronlarda daha çok aksonlarda yoğunlaştığı ve aksonal mikrotübüllerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Binder ve ark 1985). Sitozolik bir protein olan Tau tübülün alt birimlerinden nöronal mikrotübüllerin oluşumunu uyarır, stabilite eder, hücrenin yapısını stabilize eder ve aksonal büyümeyi desteklemede rol oynarlar (Gong ve ark 2005, Alquezar ve ark 2021).

Fizyolojik koşullarda tau yüksek çözünürlükte ve doğal olarak katlanmamış yapıdadır, tubulin ile etkileşime girerek mikrotübüllerin birleşmesini teşvik eder (Weingarten ve ark 1975). İnsanda tau kromozom 17q21’de 16 ekzondan oluşan mikrotübül ilişkili protein tau geni (MAPT) tarafından kodlanır. Ekzon 1,4,5,7,9,11,12 ve 13 yapıda her zaman mevcut iken diğerleri ise alternatif eklenebilmektedir (Andreadis 2006). İnsanda tau proteininin ekzon 2, ekzon 3 ve ekzon 10’un alternatif eklenmesiyle altı tau izoformu görülmektedir. Ekzon 10’un eklenmesinin tauopatiler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Wang ve Mandelkow 2016).

Taunun izovaryantlarının heterojenliği nokta fosforilasyon kaynaklıdır. En uzun tau izoformu olan 2N4R’nin 85 tane potansiyel fosforilasyon bölgesi vardır ve 71’i fizyolojik veya patolojik koşullarda fosforile edilebilir. Tau hem normal homeostaz sırasında hem de stres kaynaklı glikozilasyon, ubikitinasyon, glikasyon, nitrasyon ve oksidasyon gibi bir dizi post translasyonel modifikasyonlarla düzenlenmektedir (Medeiros ve ark 2011). Anormal hiperfosforilasyon ve glikozilasyon nörodejenerasyon için kritik rol oynadığı ve Alzheimer hastalığının erken safhalarında görülebileceği, ubikitinasyon, glikasyon ve nitrasyonun ise daha ileri aşamalarda ortaya çıktığı düşünülmektedir (Gong ve ark 2005).

Taunun normal düzeydeki fosforilasyonu biyolojik aktivitesi için gerekli iken, taunun hiperfosforilasyonu biyolojik aktivitesinin kaybına yol açmaktadır. Alzheimer hastalığında birarada gözlemlenen amiloid β ve tau oluşumları arasında bağlantı olduğu, A β 'nın nöron içindeki glikoz metabolizmasını bozarak taunun O-glikozilasyonunu azaltarak hiperfosforilasyonu artırdığı düşünülmektedir. Anormal hiperfosforilasyon tau'yu işlevsiz hale getirir iken glikozilasyonun NFY yapısının korunmasını sağladığı bilinmektedir (Gong ve ark 2005). Taunun ayrıca MSS de transferrin gibi davranarak Fe iyonlarını bağlayıp dağıtmakla da görevli olabileceği ortaya atılmıştır.

3.3. Alfa-sinüklein (α -sinuklein)

Alfa sinüklein ilk kez 1988'de nörona özgü bir protein olarak tanımlanmıştır. Günümüzde ise α -sinükleinopatiler olarak bilinen çeşitli nörodejeneratif bozuklukların patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (Stefanova 2023). Alfa-sinüklein 140 amino asitten oluşur ve molekül ağırlığı 14 kDa'dır. Multimerik bir protein olan α -sinuklein, hücresel lokalizasyon olarak sitoplazmada ve zarlara yakın lokalizasyonda bulunur. α -sinükleinin anyonik fosfolipitlerle etkileşime girdiği, sinaptik vezikül organizasyonunda, bağlanmasında, salınımında ve geri dönüşümünde rol oynadığı; patolojik koşullarda ise, α -sinuklein birikiminin sitozolde, endolizozomal sistemde, ekzosomlarda ve hatta çekirdekte olduğu bildirilmiştir (Bayati ve McPherson 2024).

Alfa-sinüklein özellikle Parkinson hastalığının (PH)'ın patolojik etkeni olarak bilinen küçük presinaptik bir proteindir. Alfa-sinüklein hem ailesel PH'da hem de sporadik PH'da Lewy cisimlerinin ve Lewy nöritlerinin ana bileşenidir. Alfa-sinüklein

yanlış katlanmaya ve kümeleşmeye eğilimlidir (Rideout ve Stefanis 2011). Parkinson hastalığında hem mutasyona uğramış formda bulunur hem de aşırı miktarlarda ekspresse edilmiştir (Bayati ve McPherson 2024). Alfa sinüklein oligomerik formları hre zarını dengesizliği, hre dışı boşlukta birikimi, normal hre yapısını ve işlevini bozabilecekleri, protein parçalama sistemlerinde işlev kaybı yaratabilmeleri ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu teşvik edebilecekleri için toksik kabul edilir. Alfa sinüklein hreden hreye yayılabildiği için bir prion proteini olarak tanımlanabilmektedir (Stefanova 2023).

3.4.Apo E

APOE geni 19. Kromozomda bulunur ve 299 aminoasit uzunluğunda lipoprotein sınıfından bir plazma glikoproteini olan Apolipoprotein E'yi kodlar. APOE MSS de esas olarak astrositlerde veya patolojik koşullarda nöronda ekspresse edilen bir lipit taşıma proteinidir. Apo-E de lipit bağlanma bölgesini temsil eden polipeptit zincirin karboksil-terminal üçte birinde bir dizi amfipatik heliks vardır (Rall ve ark. 1982). Nöronların yanı sıra karaciğer, deri ve makrofajlarda da sentez edilir. MSS de APOE kolesterolün nöronal iletimini sağlar. Kan beyin bariyeri periferden ve MSS arasındaki lipoprotein ve APOE değişimini kısıtlar (Giau ve ark. 2015).

Organizmada APOE'nin çeşitli işlevleri vardır plazmada ise çoğunlukla HDL, LDL ve VLDL gibi lipoproteinlerle ile ilişkilendirilir. Periferik sistemde ise şilomikronların, VLDL ve HDL'nin ayrılmaz bileşenidir. APOE karaciğer ve diğer dokularda bulunan düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü ailesinin (LDLR) yelerine karşı yüksek afinitesi vardır ve ana ligandır. Bu aile LDLR, LDLR ile ilişkili protein 1 (LRP1), VLDL reseptörü ve

APOE reseptörü 2'yi içermektedir. APOE nin LDLR ile etkileşimi APOE içeren lipoproteinlerin uzaklaştırılmasını sağlar ve periferik sistemdeki lipidlerin homeostazını düzenlerler (Van Giau ve ark. 2015).

APOE geninin polimorfizmi geç başlangıçlı AD için en büyük genetik risk faktörüdür. APOE glikoz taşınması, nöronal sinyalleme, nöroinflamasyon ve mitokondriyal işlev gibi etkileri de olduğu yapılan çalışmalarda tespit edildi. APOE insanda üç izoformu bulunan lipid taşıma proteini apolipoprotein E'yi (APOE) kodlar. İzofomlarının popülasyonda görülme sıklığı ise APOE2 %7, APOE3 %79 ve APOE4 %14'tür. AD için en güçlü genetik risk faktörü APOE 4 tür. APOE3 iyi huylu APOE 2 koruyucu kabul edilmektedir. APOE4 taşıyıcısı bireylerde bir veya iki alelin mevcut olması AD riskini 2 ila 15 kat artırır. APOE AD de bozulan demir ve bakır metabolizmasıyla ilişkili olabilir çünkü APOE4'nin AB bağlama eğilimi vardır ve AB'yi bağlayıp temizleyen düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüyle ilişkili protein 1 (LRP1) ile rekabet halindedir. Ancak in vivo ortamda az miktarda APOE AB 'ye bağlanma eğilimi gösterir ve LRP1'e bağlanan pek çok protein daha vardır. BOS ta APOE4 ferritin artışıyla ve APOE seviyesi hücreden demir çıkışını düzenleyen bakır bağlayıcı bir protein olan çoklu bakır feroksidaz seruloplazmin seviyeleriyle ilişkilidir (Blades ve ark. 2024).

Farklı nörodejeneratif hastalıklarda biriken proteinler değişim göstermekle beraber protein katlanma süreci, ara ürünler, son ürünler ve ana özellikleri arasında önemli ölçüde benzerlikler bulunmaktadır. Çeşitli hastalıklardaki agregatların yapısındaki yanlış katlanmış proteinleri sınıflandırılacak olursak A β ve tau proteinleri Alzheimer hastalığı, frontal temporal demans, kortikal

bazal dejenerasyon, ilerleyici supranükleer palsi, arjirofilik. Tane hastalığı ve kronik travmatik ensefalopatide, α -sinuklein proteini, Parkinson hastalığında, multipl sistem atrofisi ve Lewy cisimcikli demansta; TAR DNA bağlayıcı protein 43 (TDP-43), amiyotrofik lateral skleroz ve frontotemporal demansta; prion proteinleri ise Creutzfeldt-Jakob hastalığı, sığır süngerimsi ensefalopati, kronik zayıflama hastalığı ve scrapie gibi hastalıklarında görülmektedir (Soto ve Pritzkow 2018).

4.Nörodejenerasyon Gelişimi ve Metal İyonlar

Metal iyonların merkezi sinir sisteminde, özellikle de beyindeki hemostazı, normal bir işleyiş için esansiyeldir. Alzheimer başta olmak üzere, bu işleyişte etkili olan ve özellikle aşırı birikimleri sonucu nörotoksisitelerine en sık rastlanan metal iyonlar demir, bakır, çinko ve kalsiyum olup, A β birikimi, tau hiper fosforilasyonu ve buna bağlı tau kümelenmesi, nöron yıkımına neden olması en belirgin etkileri olarak bilinmektedir (Adlard ve ark, 2018).

4.1.Demir

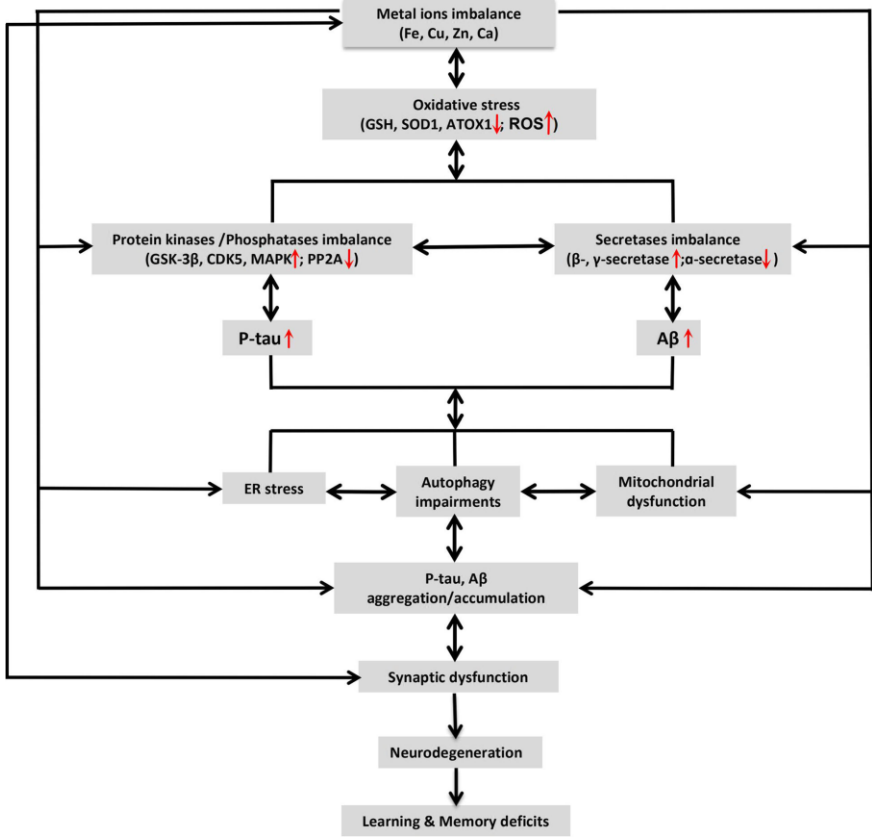
Demir, insan beyinde bol bulunan geçiş metal iyonlarından (0,04 mg/g doku). Bazal gangliyada buluma oranı yüksek iken, beyaz madde ve medulla oblongata da daha düşük konsantrasyonda tespit edilirler (Drayer ve ark, 1986; Moss ve ark, 2000).

Demir özellikle yüksek oranlarda bulunduğu zaman oksidatif yıkım gücü yüksek hidroksil radikallerinin şekillenmesinden sorumludur. Demir, nöronlara transferrin (Tf), divalan metal taşıyıcı 1 (DMT1) ve laktoferrin (Lf) ile taşınır iken nöron dışına taşınımından ferroportinler (FPN) sorumludur. Laktoferrin özellikle Fe⁺³ 'e affinitesi yüksek olan bir glikoproteindir. DMT1, Lf, Tf ve FPN

proteinlerinin regülasyonunda ortaya çıkan bozukluklarda demirin hem dağılımı hem de birikim mekanizmaları etkilenmektedir (Wang ve ark, 2020).

Artan demir düzeylerinin A β plaklarının miktarı ve tau patolojileri ile direk ilişkili olduğu, artan A β toksikasyonunun, artan demir ile ilişkili olan A β birikiminden kaynaklandığı belirtilmektedir (van Duijin ve ark, 2017). A β lara ya da tau proteinlerine bağlanan demir, A β birikimini ve tau hiper fosforilasyonunu artırarak senil plakların ve NFY ların oluşumunu hızlandırır, dolayısı ile nörotoksosite riski artar (Rogers ve ark, 2019). Bu mekanizmada APP translasyonunun demir tarafından artarak sekretazların aktive edilmesi ve özellikle toksik etkinliği yüksek A β 42 agregatlarının birikiminin etkin olması belirtilmektedir (Guo ve ark, 2014).

Demir (Fe⁺²) siklin bağımlı kinaz 5 (CDK5) ve glikojen sentaz kinaz 3 β (GSK-3 β) enzimlerini hiperaktif ederek tau fosforilasyonunu hızlandırır iken, demir şelatorü olarak etki eden deferoksaminin fare beyinde bu hiper fosforilasyonu azalttığı tespit edilmiştir (Guo ve ark, 2013). Demir iyonları etkisi ile artan hiperfosforilasyon mekanizmasından sorumlu olan diğer enzimler ise ekstraselüler protein kinaz 1/2 (ERK 1/2) ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK) olarak açıklanabilir (Huang ve ark, 2007).



Şekil 6: Alzheimer benzeri nörodejenerasyon ve bilişsel eksikliklerde metal iyon dengesizliği. Metal iyon dengesizliği (Fe, Cu, Zn ve Ca) GSH, SOD1 ve ATOX1'in azalmış seviyesi/aktivitesi ve artmış ROS seviyesiyle gösterilen oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres, GSK-3β, CDK5, MAPK gibi protein kinazları aktive eder ve/veya PP2A'yı inhibe ederek tau hiperfosforilasyonunu hızlandırabilir; ayrıca β- ve γ-sekretazları aktive ederek ve/veya α-sekretazı inhibe ederek Aβ aşırı üretimini teşvik edebilir. Dengesiz metal iyonları ve oksidatif stresle birlikte veya bağımsız olarak hiperfosforile tau (p-tau) ve aşırı üretilen Aβ, ER stresi, mitokondriyal disfonksiyon ve otofajik bozukluklara neden olarak p-tau ve Aβ agregasyonuna ve birikimine yol açabilir. Yine, p-tau/Aβ birikimi, otofajik/mitokondriyal eksiklikler, ER stresi ve oksidatif stres veya bağımsız olarak dengesiz metal iyonları sinaps hasarlarına neden olabilir ve bu da sinaptik işlev bozukluğuna, nörodejenerasyona ve sonunda öğrenme ve hafıza

eksikliklerine neden olur. Şekilde çift taraflı oklarla gösterildiği gibi, bu patolojik süreçlerin çoğu çift yönlü bir şekilde gerçekleşir ve böylece yaşa bağlı kronik nörodejenerasyon sırasında bir kısır döngü oluşturabilir. (Wang ve ark, 2020'den alınmıştır).

4.2.Çinko

Çinko, demirden sonra insan beyinde ikinci en çok bulunan geçiş metal iyonu olup, serumdan yaklaşık 10 kat daha fazla bulunarak beyinde 150 µM konsantrasyona ulaşır. Bu miktarın büyük bir kısmı enzimatik aktiviteden ve yapısal stabiliteden sorumlu olan 2800'den fazla proteinin yapısına bağlı bulunurken, %10-20 lik serbest kısmı ise sinaptik veziküllerde depolanmış halde bulunur; nöronal stimülasyon ile sinapslardan salınarak transmisyonu ve diğer biyokimyasal fonksiyonları yönetir (Paoletti ve ark, 2009; Sensi ve ark, 2009).

Beyin dokusunda fazla oranda bulunan çinko tau monomerlerine affinite göstererek bağlanır ve GSK-3β, ERK1/2 ve c-Jun N terminal kinaz (JNK) proteinlerinin aşırı ifadesine neden olurken, protein fosfataz 2A (PP2A) inaktivasyonunu Src bağımlı metabolik yol ile sağlar ve hiperfosforile tau patolojilerine neden olur. Sözü edilen bu metabolik yol çinko şelasyonu sağlayan ajanlar ile PP2A inhibitörük fosforile olur ve tau fosforilasyonu ile birikimini zayıflatır (Sun ve ark, 2012; Xiong ve ark, 2013).

Protein depozisyonuna ilaveten Aβ rezidülerine direk bağlanan çinko bu partikülerin çözünürlüğünü zayıflatarak, kümeleşmelerine, dolayısı ile bu birikimlere bağlı nöron dejenerasyonlarına neden olur (Miller ve Nussinov, 2010). Patolojik durumlarda presinaptik nöronlar ve astrositlerden serbest bırakılan yüksek miktarda çinko, NADPH-oksidadz aktivasyonuna ve nöronlarda ROS üretimine, mikroglyal aktivasyona, sonuç olarak ise nöron ölümlerine neden

olur (Furuta ve ark, 2016). Metallo-proteinlerden salınan çinkonun da beyinde çinko konsantrasyonlarında yükselmeye neden oldukları ve sözü edilen bu kaskadlara katkıda bulundukları belirtilmektedir (Wang ve ark, 2020).

Çinkonun, ubiquitin-proteozom sistemi (UPS) ni zayıflatarak α -sinuklein birikimini hızlandırdığı ve özellikle dopaminerjik nörodejenerasyona yol açtığı da ortaya konmuştur (Kumar ve ark, 2018).

4.3.Bakır

Bakır beyinde özellikle frontal lobda ve cerebellumda 60-110 μ M düzeylerinde bulunur. En yüksek konsantrasyonda bulunduğu bölgeler ise substansia nigra ve hipokampüstür (Davies ve ark, 2013). Bakır komplekslerinin ve A β oligomerlerinin nöronlara penetre olma oksidatif stresi tetikleme kapasitesi oldukça yüksektir. Alzheimer modellerinde içme suyu ile düşük miktarlarda bakırın A β birikimini artırarak, öğrenme güçlüğü oluşturduğu belirtilmiştir (Sparks ve Schreurs, 2003). Demir iyonlarının etkilerine benzer şekilde, bakır iyonlarının yüksek konsantrasyonları ile tau hiper fosforilasyonunun artışı tespit edilmiş, bakırın şelasyonunu sağlayan ajanlar ile insan nöroblastoma hücrelerinde tau hiper fosforilasyon mekanizmalarının zayıfladığı bildirilmiştir (Voss ve ark, 2014).

Bakır yetersizliğinin ise bazı nörodejeneratif bulgular ile seyreden vakalarda, özellikle cerebral korteks, frontal korteks, amigdala ve hipokampusta kontrol gruplarına göre %50 ye varan oranlarda bakır düşüşlerine neden olduğu, özellikle süperoksit dismutaz 1(SOD1) ve antioksidan protein 1 (ATOX1) gibi bakır bağımlı enzimlerin aktivitesindeki düşüşlere bağlı olarak antioksidan ve antiinflamatuvar mekanizmaların yetersizliği nedeni

ile ROS birikimi ile kronik nöroinflamasyon geliştirdiği ortaya konmuştur (Choo ve ark, 2013).

4.4.Kalsiyum

Nöron dejenerasyonu patolojilerinde yangısel reaksiyonlar, hiperaktif astrosit artışı, ROS üretimi, A β artışı ve birikimi, NFY agregasyonu hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda artışa neden olan esas etmenlerdir. İntraselüler Ca⁺² artışı da ters kaskad olarak A β üretimine yol açar. Sarkoplazmik/endoplazmik retikulum (S/ER) kalsiyum ATP az (SERCA) inhibisyonu ile artan sitoplazmik Ca⁺², β sekretaz aktivasyonu ile A β üretimini artırır (Wang ve ark, 2017). Bu mekanizmaya dayalı olarak, Ca⁺² girişinin inhibisyonu ile de A β oligomerlerine bağlı nörotoksisitenin ve çözünmeyen A β 1-40, A β 1-42 miktarlarının azalabileceği, transgenik farelerde ortaya konmuştur (Samad ve ark, 2017).

Diğer metal iyonlarda da belirtildiği gibi artan Ca⁺², birçok kinaz aktivasyonunu artırarak tau hiper fosforilasyonuna neden olmaktadır (Li ve ark, 2019). Hücre içi artan Ca⁺², aynı zamanda mitokondriaya giren Ca⁺² miktarında artışa neden olurken, bu durum mitokondrial disfonksiyona, ROS üretiminde artmaya, mitokondrial membran geçirgenliğinde bozulmaya ve de apoptotik faktörlerin etkisi ile ilerleyici hücresel dejenerasyonlara yol açar (Goldstein ve ark, 2000).

Sonuç

Nöron dejenerasyonları, biyokimyasal işlev yönünden oldukça kompleks olup, birçok faktörün katılımı ile gelişir. Hatalı protein katlanmaları, hücre içi siklusunda ortaya çıkan düzensizlikler, mutasyonlara bağlı olarak tamir mekanizmalarının düzgün işlemeyişi daha çok genetik bozukluklar sonucu gerçekteşiirken,

beslenme, yaşı, yaşam tarzı, cinsiyet gibi çevresel faktörler ise bu bölümde açıklanmaya çalışılan biyokimyasal mekanizmalara farklı şekillerde katkıda bulunurlar. Günümüzde özellikle 65 yaş üstü insanlarda büyük bir hızla yaygınlaşan ve nöron dejenerasyonu ile gelişmeye başlayıp ilerleyen hastalıkları konu olan deneysel çalışmalar büyük bir hızla devam etmektedir. Netleşen mekanizmalara ve genetik sahadaki ilerlemelere karşın teşhis ve özellikle de tedavi aşamalarında henüz tam çözüm aşamalarına ulaşamamıştır. Çok faktörlü gelişen bu hastalıkların belirtilerin ortaya çıkışından yıllar öncesi başlamış olması, klinik semptomların hastalıkların ilerlemiş aşamalarında ortaya çıkması nedenleri ile tedavi güçlükleri yaşanmakta, nedene yönelikten ziyade semptomatik tedaviden öteye gidilememektedir. Hızla ilerleyen çok aşamalı çalışmalarla yakın gelecekte istenen hedeflere ulaşılması ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR

Abbak N (2024). Protein Homeostazi Nörodejeneratif Hastalıklar Üzerine Genel Etkileri. Nörodejeneratif Hastalıklara Biyolojik Yaklaşım Ed. Akkoyun T, Akkoyun B.M, Eciroğlu H. Bölüm 9. 123-146. İksad yayınları.

Adlard PA, Bush AI. (2018). Metals and Alzheimer's Disease: How Far Have We Come in the Clinic? J Alzheimers Dis;62(3):1369–79.

Akbulut HN, Gonca Topal G, Eyigör Ö. (2023). İskemik Beyin Hasarında Reaktif Astrositlerin Fonksiyonları. Derleme. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 49 (1) 133-143, 2023 DOI: <https://doi.org/10.32708/uutfd.1261257>.

Allen, SJ (2017). 'Pathophysiology of Alzheimer's disease', in Gunhild Waldemar, and Alistair Burns (eds), *Alzheimer's Disease*, 2 edn, Oxford Neurology Library (Oxford) Doi: <https://doi.org/10.1093/med/9780198779803.003.0002>

Alquezar, C., Arya, S., & Kao, A. W. (2021). Tau post-translational modifications: dynamic transformers of tau function, degradation, and aggregation. *Frontiers in neurology*, 11, 595532. Doi: <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.595532>

Andreadis, A. (2006). Mis-regulation of tau alternative splicing in neurodegeneration and dementia. *Alternative splicing and disease*, 89-107.

Bahar, E., Kim, H., & Yoon, H. (2016). ER stress-mediated signaling: action potential and Ca²⁺ as key players. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1558.

Bayati, A., & McPherson, P. S. (2024). alpha-synuclein, autophagy-lysosomal pathway, and Lewy bodies: Mutations, propagation, aggregation, and the formation of inclusions. *Journal of Biological Chemistry*, 107742.

Binder, L. I., Frankfurter, A., & Rebhun, L. I. (1985). The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *The Journal of cell biology*, 101(4), 1371-1378. Doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.101.4.1371>

Blades, B., Hung, Y. H., Belaidi, A. A., Volitakis, I., Schultz, A. G., Cater, M. A., La Fontaine, S. (2024). Impaired cellular copper regulation in the presence of ApoE4. *Journal of Neurochemistry*, 168(9), 3284-3307.

Bukau, B. (1993, Aug). Regulation of the Escherichia coli heat-shock response. *Mol Microbiol*, 9(4), 671-680.

Bush, M. L., Miyashiro J. S., and Ingram V. (1995). Activation of a neurofilament kinase, a tau kinase, and a tau phosphatase by decreased ATP levels in nerve growth factor differentiated PC-12 cells, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92, 1861–1865,

Chabrier, M. A., Neely, K. M., Castello, N. A., & LaFerla, F. M. (2011). The Contribution of Transgenic Models to the Understanding of Alzheimer's Disease Progression and Therapeutic Development. *Animal Models for Neurodegenerative Disease*, 1.234-245.

Choo XY, Alukaidey L, White AR, Grubman A. (2013). Neuroinflammation and copper in Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis.*:145345.

Cooper, G. M., & Adams, K. (2019). Protein Folding and Processing. In *The cell: a molecular approach* (8 ed., pp. 331-334). Oxford University Press.

Davies KM, Hare DJ, Cottam V, Chen N, Hilgers L, Halliday G, (2013). Localization of copper and copper transporters in the human brain. *Metallomics*.;5(1):43–51.

Demirtas, L., Guclu, A., Erdur, F. M., Akbas, E. M., Ozcicek, A., Onk, D., & Turkmen, K. (2016). Apoptosis, autophagy & endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Indian journal of medical research*, 144(4), 515-524.

Drayer B, Burger P, Darwin R, Riederer S, Herfkens R, Johnson GA. (1986). MRI of brain iron. *AJR Am J Roentgenol*.;147(1):103–10.

Eisenberg, D., & Jucker, M. (2012). The amyloid state of proteins in human diseases. *Cell*, 148(6), 1188-1203.

Finley, D. (2009). Recognition and processing of ubiquitin-protein conjugates by the proteasome. *Annu Rev Biochem*, 78, 477-513.

Furuta T, Ohshima C, Matsumura M, Takebayashi N, Hirota E, Mawaribuchi T (2016). Oxidative stress upregulates zinc uptake activity via Zrt/Irt-like protein1 (ZIP1) in cultured mouse astrocytes. *Life Sci*.; 151:305–12.

Gallagher, D., Coen, R.F., Lawlor, B.A. (2016). Alzheimer's Disease. In: Hardiman, O., Doherty, C., Elamin, M., Bede, P. (eds) *Neurodegenerative Disorders*. Springer, Cham. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-23309-3_4

Giau, V. V., Bagyinszky, E., An, S. S. A., & Kim, S. Y. (2015). Role of apolipoprotein E in neurodegenerative diseases. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 1723–1737. <https://doi.org/10.2147/NDT.S84266>

Goldstein JC, Waterhouse NJ, Juin P, Evan GI, Green DR. (2000). The coordinate release of cytochrome c during apoptosis is rapid, complete and kinetically invariant. *Nat Cell Biol.*;2(3):156–62.

Gong, C. X., Liu, F., Grundke-Iqbal, I., & Iqbal, K. (2005). Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease. *Journal of neural transmission*, 112, 813-838. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0221-0>

Guo C, Wang P, Zhong ML, Wang T, Huang XS, Li JY. (2013). Deferoxamine inhibits iron induced hippocampal tau phosphorylation in the Alzheimer transgenic mouse brain. *Neurochem Int.*;62(2):165–72.

Guo LY, Alekseev O, Li Y, Song Y, Dunaief JL. (2014). Iron increases APP translation and amyloid-beta production in the retina. *Exp Eye Res.* 129:31–7.

Gupta, S., Agrawal, A., Agrawal, S., Su, H., & Gollapudi, S. (2006). A paradox of immunodeficiency and inflammation in human aging: lessons learned from apoptosis. *Immunity & Ageing*, 3(1), 5.

Harding, H. P., Zhang, Y., Bertolotti, A., Zeng, H., & Ron, D. (2000). Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Molecular cell*, 5(5), 897-904.

Hardy J ve Israel A (1999). Alzheimer's disease. In search of gamma-secretase. *Nature*. 8;398(6727):466-7. doi: 10.1038/18979.

Hartl, F. U. (1996). Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*, 381 (6583), 571-579.

Hartl, F. U. (2017). Protein Misfolding Diseases. *Annu Rev Biochem*, 86, 21-26.

Hertz L. ve Dienel, G.A. (2005) Lactate transport and transporters: general principles and functional roles in brain cells. *J Neurosci Res*, 79, 11-18.

Huang X, Dai J, Huang C, Zhang Q, Bhanot O, Pelle E. (2007). Deferoxamine synergistically enhances iron-mediated AP-1 activation: a showcase of the interplay between extracellular-signal-regulated kinase and tyrosine phosphatase. *Free Radic Res*;41(10):1135–42.

Kılıç K (2013). Glikojen Döngüsünün Bozulmasının Kortikal Yayılan Depolarizasyon Oluşumu ve Panneksin1 Kanalları Üzerine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Temel Nörolojik Bilimler Programı. Ankara.

Kijima, T., Prince, T. L., Tigue, M. L., Yim, K. H., Schwartz, H., Beebe, K., Lee, S., Budzynski, M. A., Williams, H., Trepel, J. B., Sistonen, L., Calderwood, S., & Neckers, L. (2018). HSP90 inhibitors disrupt a transient HSP90-HSF1 interaction and identify a noncanonical model of HSP90-mediated HSF1 regulation. *Sci Rep*, 8(1), 6976.

Klein MA, Möller JC, Jones LL., Bluethmann H, Kreutzberg GW, Raivich G. (1997). Impaired neuroglial activation in interleukin-6 deficient mice. *Glia*; 19:227-233.

Kmiecik, S. W., Le Breton, L., & Mayer, M. P. (2020). Feedback regulation of heat shock factor 1 (Hsf1) activity by Hsp70-mediated trimer unzipping and dissociation from DNA. *EMBO J*, 39(14), e104096.

Kocaturk, N. M., & Gozuacik, D. (2018). Crosstalk Between Mammalian Autophagy and the Ubiquitin-Proteasome System. *Front Cell Dev Biol*, 6, 128.

Kramer, G., Boehringer, D., Ban, N., & Bukau, B. (2009). The ribosome as a platform for co-translational processing, folding and targeting of newly synthesized proteins. *Nature structural & molecular biology*, 16(6), 589-597.

Kumar V, Singh D, Singh BK, Singh S, Mittra N, Jha RR (2018). Alpha-synuclein aggregation, ubiquitin proteasome system impairment, and L-Dopa response in zinc-induced parkinsonism: resemblance to sporadic Parkinson's disease. *Mol Cell Biochem*.;444(1–2):149–60.

Li XG, Hong XY, Wang YL, Zhang SJ, Zhang JF, Li XC. (2019). Tau accumulation triggers STAT1-dependent memory deficits by suppressing NMDA receptor expression. *EMBO Rep*.; 20(6).

Li Y, Guo Y, Tang J, Jiang J, Chen Z (2014). New insights into the roles of CHOP-induced apoptosis in ER stress. *Acta Biochim. Biophys Sin (Shanghai)*.; 46:629-40.

Mark, R. J., Lovell, M. A., Markesbery, W. R., Uchida, K., and Mattson, M.P. (1997). A role for 4-hydroxynonenal in disruption of ion homeostasis and neuronal death induced by amyloid beta-peptide. *J. Neurochem.*, 68, 255–264,

Medeiros, R., Baglietto-Vargas, D., & LaFerla, F. M. (2011). The role of tau in Alzheimer's disease and related disorders. *CNS neuroscience & therapeutics*, 17(5), 514-524. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00177.x>

Miller Y, Ma B, Nussinov R. (2010). Zinc ions promote Alzheimer Abeta aggregation via population shift of polymorphic states. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 107(21):9490-5.

Monteiro, A. R., Barbosa, D. J., Remião, F., & Silva, R. (2023). Alzheimer's disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs. *Biochemical Pharmacology*, 211, 115522. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115522>

Moos T, Trinder D, Morgan EH. (2000). Cellular distribution of ferric iron, ferritin, transferrin and divalent metal transporter 1 (DMT1) in substantia nigra and basal ganglia of normal and beta2-microglobulin deficient mouse brain. *Cell Mol Biol (Noisy-le-Grand).*;46(3):549–61.

Moran Luengo, T., Mayer, M. P., & Rudiger, S. G. D. (2019). The Hsp70-Hsp90 Chaperone Cascade in Protein Folding. *Trends Cell Biol*, 29(2), 164-177.

O'Connor T, Sadleir KR, Maus E, Velliquette RA, Zhao J, Cole SL (2008). Phosphorylation of the translation initiation factor eIF2alpha increases BACE1 levels and promotes amyloidogenesis. *Neuron*; 60:988-1009.

Oflamaz, A. O., & Demir, N. (2018). Nörodejeneratif Hastalıklarda Katlanmamış Protein Cevabının Tedavi Edici Potansiyeli. *Akdeniz Tıp Dergisi*, 4(2), 104-113.

Panickar KS, Norenberg MD. (2005). Astrocytes in cerebral ischemic injury: morphological and general considerations. *Glia*; 50:287-98.

Paoletti P, Vergnano AM, Barbour B, Casado M (2009). Zinc at glutamatergic synapses. *Neuroscience.*;158(1):126–36.

Pekny M, Nilsson M. (2005). Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia*; 50:427-34.

Pellerin, L.ve Magistretti, P.J. (2003). How to balance the brain energy budget while spending glucose differently. *J. Physiol*, 546,325.

Perea G and Navarrete M and Araque A (2009) Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends in Neurosciences*, 32 (8): 421-431.

Pfanner, N., Warscheid, B., & Wiedemann, N. (2019). Mitochondrial proteins: from biogenesis to functional networks. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 20(5), 267-284.

Philip, N.J., Yoon, H. ve! Lombardi, L. (2001). Mouse MCT3 gene is expressed preferentially in retinal pigment and choroid plexus epithelia. *Am J Physiol. Cell. Physiol*, 280, C1319-1326.

Rall Jr, S. C., Weisgraber, K. H., & Mahley, R. W. (1982). Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. *Journal of Biological Chemistry*, 257(8), 4171-4178.

Rideout, H. J., & Stefanis, L. (2011). Animal Models of Parkinson's. *Animal Models for Neurodegenerative Disease*, 86.

Rogers JT, Xia N, Wong A, Bakshi R, Cahill CM. (2019). Targeting the Iron-Response Elements of the mRNAs for the

Alzheimer's Amyloid Precursor Protein and Ferritin to Treat Acute Lead and Manganese Neurotoxicity. *Int J Mol Sci.*;20(4).

Ron, D., Walter, P. (2007). Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8(7), 519-529.

Rosenberg PA, Aizenman E. (1989). Hundred-fold increase in neuronal vulnerability to glutamate toxicity in astrocyte-poor cultures of rat cerebral cortex. *Neurosci. Lett.*; 103:162-68

Rosenzweig, R., Nillegoda, N. B., Mayer, M. P., & Bukau, B. (2019). The Hsp70 chaperone network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 20(11), 665-680.

Samad N, Ishaq S, Bano S, Manzoor N. (2017). Calcium Regulation in Alzheimer's Disease: Mechanistic Understanding. *J Coll Physicians Surg Pak.*;27(9): 566–71.

Schwartz, A. L., & Ciechanover, A. (2009). Targeting proteins for destruction by the ubiquitin system: implications for human pathobiology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 49, 73-96.

Sel, F ve Oğuz, S.F (2022). Unfolded Protein Response Related Diseases in Endoplasmic Reticulum Archives Medical Review Journal;31(1):35-45 doi:10.17827/aktd.984446

Sensi SL, Paoletti P, Bush AI, Sekler I. (2009). Zinc in the physiology and pathology of the CNS. *Nat Rev Neurosci.*10(11):780–91.

Simpson, I.A., Appel, N.M., Hokari, M., Oki, J., Holman, G.D., Maher, F. (1999) Blood brain barrier glucose transporter:

effects of hypo and hyper-glycemia revisited. *J. Neurochem*,72, 238-247.

Simpson, I.A., Carruthers, A. ve Vannucci, S.J. (2007) Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *J.Cereb Blood Flow Metab*, 27, 1766-1791.

Sofroniew MV, Vinters HV. (2010). Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathology*; 119:7-35

Soto, C., Pritzkow, S. (2018). Protein misfolding, aggregation, and conformational strains in neurodegenerative diseases. *Nature Neuroscience*, 21, 1332-1340. Doi: 10.1038/s41593-0180235-9

Sparks DL, Schreurs BG. (2003). Trace amounts of copper in water induce beta-amyloid plaques and learning deficits in a rabbit model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*.;100 (19):11065–9.

Stefanova, N. (2023). α -Synuclein and neurodegeneration. In *Primer on the Autonomic Nervous System* (pp. 535-538). Academic Press.

Sun XY, Wei YP, Xiong Y, Wang XC, Xie AJ, Wang XL (2012). Synaptic released zinc promotes tau hyperphosphorylation by inhibition of protein phosphatase 2A (PP2A). *J Biol Chem*.;287(14):11174–82.

Szegezdi, E., Logue, S. E., Gorman, A. M., & Samali, A. (2006). Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO reports*, 7(9), 880-885.

Vabulas, R. M., Raychaudhuri, S., Hayer-Hartl, M., & Hartl, F. U. (2010). Protein folding in the cytoplasm and the heat shock response. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2(12), a004390.

van der Kallen, C. J., van Greevenbroek, M. M., Stehouwer, C. D., & Schalkwijk, C. G. (2009). Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the development of diabetes: is there a role for adipose tissue and liver? *Apoptosis*, 14(12), 1424-1434 doi:10.1007/s10495-009-0400-4

van Duijn S, Bulk M, van Duinen SG, Nabuurs RJA, van Buchem MA, van der Weerd L (2017). Cortical Iron Reflects Severity of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.*;60(4):1533–45.

Van Giau, V., An, S.S.A. (2015). Optimization of specific multiplex DNA primers to detect variable *CLU* genomic lesions in patients with Alzheimer's disease. *BioChip J* 9, 278–284 (). <https://doi.org/10.1007/s13206-015-9306-8>

Vanlı S, Akçakavak G, Kurtoğlu F (2022). Apoptoz ve Mekanizmaları. Temel Tıp Bilimlerinde Güncel Çalışmalar-3. Ed. Kübra İrday. 181. İksad Yayınları

Vaquer-Alicea J, Diamond MI (2019). Propagation of Protein Aggregation in Neurodegenerative Diseases. *Annu Rev Biochem.* Jun 20;88: 785-810. doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-045049. Epub 2019 Mar 27. PMID: 30917002.

Voss K, Harris C, Ralle M, Duffy M, Murchison C, Quinn JF. (2014). Modulation of tau phosphorylation by environmental copper. *Transl Neurodegener.*;3(1):24.

Wang, Y., Loomis, P. A., Zinkowski, R. P., & Binder, L. I. (1993). A novel tau transcript in cultured human neuroblastoma cells expressing nuclear tau. *The Journal of cell biology*, 121(2), 257-267.

Wang, Y., & Mandelkow, E. (2016). Tau in physiology and pathology. *Nature reviews neuroscience*, 17(1), 22-35.

Wang Y, Shi Y, Wei H. (2017). Calcium Dysregulation in Alzheimer's Disease: A Target for New Drug Development. *J Alzheimers Dis Parkinsonism*.;7(5), 156-168

Wang, Y., Jiang, X., Feng, F., Liu, W., & Sun, H. (2020a). Degradation of proteins by PROTACs and other strategies. *Acta Pharm Sin B*, 10(2), 207-238.

Wang Lu, Ya-Ling Yin, Xin-Zi Liu, Peng Shen, Yan-Ge Zheng, Xin-Rui Lan, Cheng-Biao Lu and Jian-Zhi Wang. (2020b). Current understanding of metal ions in the pathogenesis of Alzheimer's disease *Translational Neurodegeneration* 9:10 <https://doi.org/10.1186/s40035-020-00189-z>

Weingarten, M. D., Lockwood, A. H., Hwo, S. Y., & Kirschner, M. W. (1975). A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(5), 1858-1862.

Xiong Y, Jing XP, Zhou XW, Wang XL, Yang Y, Sun XY. (2013). Zinc induces protein phosphatase 2A inactivation and tau hyperphosphorylation through Src dependent PP2A (tyrosine 307) phosphorylation. *Neurobiol. Aging*.; 34(3):745–56.

Yu G, Zhang Y, Ning B. (2021). Reactive Astrocytes in Central Nervous System Injury: Subgroup and Potential Therapy. *Front Cell Neuroscience*; 15:764-92.

BÖLÜM II

Comparision Of The Fatty Acid Compositions Of Six Cornelian Cherry (Cornus Mas L.)

Ozcan Baris ÇİTİL¹
Fatih YILDIRIM²

1. Introduction

Cornelian cherry samples obtained from six different K-1: K-2: K-3: K-4: K-5: K-6, in Anatolia. The present study describes the determination of fatty acid composition of the oil samples obtained from some cornus mas and the comparison of variations species. The fatty acid compositions of cornus mas were determined by Shimadzu 15-A Gas Chromatography. According to the results, fatty acid composition of the cornus samples is significantly varied depending on cornus mas..

¹ Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi, Karapınar Aydoğanlar Meslek Yüksekokulu Fakültesi, Veterinerlik Bölümü, Konya/Türkiye, Orcid: 0000-0003-1999-5805, ozcancitil@gmail.com

² Agricultural Engineer, Ministry of Agriculture and Forestry, Konya Food Control Directorate, Konya/Türkiye, Orcid: 0000-0002-9399-3827, yilfatih@hotmail.com

2. Method

Cornelian cherry, is grown as foliage plant in parks and gardens. Cornelian cherry fruit is very rich in phenol, and tocopherols (Minovski, 1975). Linoleic acid, oleic, linoleic, palmitic and stearic acids decrease LDL cholesterol and raises HDL cholesterol. Cardiovascular diseases are important protective (Simopoulos 1998).

Cornelian cherry is a kind of fruit which, is from Umbeliflorae ordo in the Comaceae familia, a bush which sheds it's leafage in the winter or can reach height of 7-8 meters, it's trunk diameter is 24-45 cm. It's leaves are dark green and their both sides are hairy (Baytop 1984). In the result of a study in Konya, its fruit weights were determined between 3,65-4,57 gram

Cornelian cherry increases the blood's clotting. It has antipyretic and antidiarrheal property. When cornelian cherry is boilt and drunk, it increases the acid content in the urine.it helps to get rid of the kidney stones. It has antioxidant property. It's a storage for vitamin C. It prevents the formation of heart disorders. It prevents the formation of breast and prostate cancer. The total production of cornelian cherry is 13000 tonnes in our country (Anonmyous, 1996). Cornelian cherry which, grows in the mountainous areas in the Anatolia where, are unavailable for growing fruits and vegetables, has microclimate property. It's preferred to vegetable in the mountainous areas where, growing vegetables are can not be done (Ozrenk 2002).

Cornelian cherry is resistant against the temperatures until -35°C (Karakır 1992). In February-March, it has little yellow coloured flowers, its fruits are red and elliptical shaped. The tree of

cornelian cherry grows in dry, loam soils. It's reproduction actualize by the seeds's help. The fruits of cornelian cherry tastes sour, its used for making jam, marmalade, compote, tarhan as it's eaten fresh and dried. Dye is obtained from its shell and tannin is obtained from its leaves. The fruit of cornelian cherry can be kept for a long time in the closed boxes after boil in the sugar added water. Cornelian cherry fructifies unless the height increases too much. Also it has a characteristic which requires so much water. In some parts of Anatolia, cornelian cherry is called Ergen, Eğren, Kiren or Kiran (Anonmyous 2006).

2.1. Collection of samples

The fruits of *Cornus mas* which, are used as vegetable material in this study, obtained from the candidate genotypes (K-1, K-2, K-3, K-5, K-6) which, were determined after the reclamation selection, which is about *Cornus mas* genotypes are grown up in Konya province, district of Beyşehir, in Kurucuova Town (HMSO 1984).

2.2. Preparation of the samples

The cornelian cherry were collected from the ground and were then washed. The cornelian cherry were then opened using a standard method, and the kernels were vacuum-packed in plastic bags and stored at -20°C until they could be extracted. Identification of the species of cornelian cherry collected was carried out according to the usual procedures, based on methods suggested by (Kalyoncu 1996), at the deep-freeze of the Department of Animal Nutrition at Selcuk University.

2.3. Fatty acid analysis

Fat extraction was carried out according to the AOAC (AOAC 1990). The each part of about 5 g was extracted with

chloroform/methanol mixture (2/1, v/v) (Folch 1957). The fatty acids were converted to their methyl esters using standard Boron trifluoride-methanol method (MOSS 1974). The resultant fatty acid methyl esters were separated and stored at -20 °C. At the beginning of each analysis, the samples were allowed to equilibrate to room temperature and analysed by gas chromatography (Shimadzu 15-A), equipped with dual flame ionisation detector and a 1.8 m × 3 mm internal diameter packed glass column containing GP 10 % SP-2330 on 100/120 Chromosorb WAW, cat no: 11851. Column temperature was 195 °C for 32 min., and then rose progressively at 30 °C/min up to 225 °C where it was maintained for 11 min at 220 °C. Carrier gas was nitrogen (2 ml/min). The injector and detector temperatures were 230 and 240 °C respectively. Conditions were chosen to separate fatty acids of carbon chain length from 8 to 24. The fatty acids were identified by comparison of retention times with known external standard mixtures (Alltech), quantified by a Shimadzu Class-VP software and the results were expressed as percentage distribution of fatty acid methyl esters. Each of the experiments was repeated three times.

2.4. Statistical analysis

Nineteen cornelian cherry samples were analyzed for each parts of species were analyzed in triplicate. The average results of peak area are offered as means ± SD. The statistical analysis of the percentages of fatty acid was tested by analysis of variance (ANOVA) and comparisons between mean values were performed Duncan's test. Differences between means were reported as significant if $P < 0.05$.

3. Conclusion

According to literature information, fatty acid composition of cornelian cherry has not been investigated. The aim of this study is to determine the fatty acid compositions and $\omega 6/\omega 3$ ratios of the oil samples obtained from some cornelian cherry grown in Anatolia, and to compare species.

Lipid content is around 1% in oil samples obtained from Cornelian cherry species. The fatty acid compositions of parts of the cornelian cherry samples and retention times are presented in Table 1. It was identified 24 fatty acids for the cornelian cherry samples and evaluated their compositions for species. The highest fatty acid ratios are as follows; linoleic acid 18:2 $\omega 6$ (63.46%) in K-5 species, palmitic acid 16:0 (6.28%) in K-1 species, oleic acid 18:1 (17.70%) in K-3, stearic acid 18:0 (2.04%) in K-3, myristic acid 14:0 (0.07%) in K-1. Linoleic acid is the most abundant polyunsaturated fatty acid in all parts. Palmitic acid is the most abundant saturated fatty acid in all parts. The total SFA (saturated fatty acid) composition of the studied species is assigned between 7.75-8.54% while PUFA (poly unsaturated fatty acid) composition is 74.07-75.80%.

Table 1. Fatty Acid Composition of Oil Samples Obtained from *Cornus mas Species*

Fatty Acids	K-1	K-2	K-3	K-4	K-5	K-6
C 8:0	0.07 $\pm$ 0.05a	0.00 $\pm$ 0.00b	0.00 $\pm$ 0.00b	0.00 $\pm$ 0.00b	0.00 $\pm$ 0.00b	0.00 $\pm$ 0.00b
C 10:0	0.00 $\pm$ 0.01a	0.01 $\pm$ 0.01a	0.01 $\pm$ 0.00a	0.01 $\pm$ 0.00a	0.02 $\pm$ 0.01a	0.01 $\pm$ 0.01a
C 12:0	0.00 $\pm$ 0.00a	0.00 $\pm$ 0.00ab	0.00 $\pm$ 0.00ab	0.00 $\pm$ 0.00ab	0.00 $\pm$ 0.00ab	0.00 $\pm$ 0.00ab
C 14:0	0.07 $\pm$ 0.05a	0.02 $\pm$ 0.01c	0.04 $\pm$ 0.01abc	0.04 $\pm$ 0.01abc	0.01 $\pm$ 0.01c	0.01 $\pm$ 0.00c
C 16:0	6.28 $\pm$ 0.30a	6.52 $\pm$ 0.43a	5.45 $\pm$ 1.06abc	6.00 $\pm$ 0.03abc	6.26 $\pm$ 0.99a	6.18 $\pm$ 0.20ab
C 17:0	0.19 $\pm$ 0.15bc	0.11 $\pm$ 0.02c	0.17 $\pm$ 0.04bc	0.14 $\pm$ 0.01bc	0.83 $\pm$ 0.64a	0.56 $\pm$ 0.39ab

C 18:0	1.55±0.44cd	1.68±0.37cd	2.04±0.43bcd	1.85±0.03cd	1.37±0.09d	1.65±0.33cd
C 20:0	0.03±0.01ab	0.02±0.01ab	0.03±0.00ab	0.02±0.00ab	0.02±0.01ab	0.02±0.01ab
C 21:0	0.02±0.01abc	0.01±0.00c	0.01±0.00bc	0.01±0.00bc	0.01±0.00bc	0.01±0.00c
C 24:0	0.01±0.01ab	0.01±0.01ab	0.01±0.01ab	0.00±0.00b	0.01±0.00a	0.01±0.01ab
Σ SFA	8.14±0.06ab	8.39±0.64ab	7.75±0.60ab	8.08±0.01ab	8.54±1.26ab	8.46±0.12ab
C 14:1	0.00±0.00a	0.00±0.00ab	0.00±0.00ab	0.00±0.00ab	0.00±0.00ab	0.00±0.00ab
C 16:1	0.05±0.01a	0.02±0.01bc	0.03±0.01bc	0.03±0.00bc	0.02±0.01bc	0.02±0.00bcd
C 17:1	0.01±0.01ab	0.01±0.01ab	0.02±0.01ab	0.01±0.00ab	0.00±0.00b	0.01±0.01ab
C 18:1	17.56±0.58a	17.49±1.25a	17.70±0.15a	17.62±0.04a	17.08±1.74a	15.70±1.40a
C 20:1	0.03±0.01ab	0.01±0.00abcd	0.01±0.01abcd	0.02±0.00abcd	0.02±0.00abcd	0.01±0.00abcd
C 22:1	0.01±0.00a	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
C 24:1	0.00±0.00bc	0.00±0.00abc	0.00±0.00bc	0.00±0.00abc	0.00±0.00ab	0.00±0.00abc
Σ MUFA	17.65±0.58a	17.54±1.26a	17.77±0.15a	17.69±0.04a	17.13±1.75a	15.74±1.40a
C 18:2	60.35±1.07ab	60.17±2.67ab	60.71±0.40ab	60.53±0.06ab	63.46±0.66ab	61.07±3.58ab
C 18:3	13.85±1.62a	13.87±3.39a	13.74±0.12a	13.67±0.10a	10.86±1.35a	14.70±2.34a
C 20:2	0.00±0.01bc	0.01±0.01abc	0.01±0.00abc	0.01±0.00abc	0.00±0.00c	0.01±0.01abc
C 20:4	0.00±0.01b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b	0.00±0.00b
C 20:5	0.00±0.00b	0.01±0.01b	0.01±0.00b	0.01±0.00b	0.00±0.00b	0.01±0.01b
C 22:4	0.00±0.00b	0.01±0.01ab	0.01±0.01ab	0.01±0.00ab	0.00±0.00b	0.01±0.01ab
C 22:5	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a	0.00±0.00a
Σ PUFA	74.20±0.64ab	74.07±0.76ab	74.49±0.46ab	74.23±0.04ab	74.33±1.93ab	75.80±1.34ab
Σ UFA	91.86±0.06ab	91.61±0.64ab	92.25±0.60ab	91.92±0.01ab	91.46±1.26ab	91.55±0.12ab
Σ ω3	13.85±1.62a	13.88±3.40a	13.75±0.12a	13.69±0.10a	10.87±1.35a	14.71±2.35a
Σ ω6	60.35±1.07ab	60.19±2.65ab	60.74±0.41ab	60.55±0.06ab	63.47±0.66ab	61.09±3.56ab
Σ SFA/PUFA	0.01±0.00ab	0.11±0.01ab	0.10±0.01b	0.11±0.00ab	0.12±0.02ab	0.11±0.01ab

If the value has denotation of ab, bc (or cd) it is found in the range of a and b, b and c, c and d.

Linoleic acid is mostly found in Citil et al. and the major MUFA, contributing approximately 24.67-61.24% to the total SFA content in Orchidaceae species. The level of PUFA (poly unsaturated fatty acid) depends on level of linoleic acid. The greatest proportion of linoleic acid is found in Citil et al (Anonymous 2002). EC reported that erucic acid 22:1 ω 9 in vegetable oils had to be found at a maximum value of 5.0% for the human health (Citil 2011). In this study, erucic acid was found to be between 0 and 0.01% in all cornelian cherry species.

Dyerberg noted that an increase in the ratio of ω 3/ ω 6 PUFA increased the availability of ω 3 PUFAs, which are beneficial for human health (EC 1980). The long chain ω 3 and ω 6 fatty acids commonly are called PUFAs. Long-chain ω 3 PUFAs cannot be readily synthesised by human bodies and mostly are obtained through the diet, and ratios of ω 3/ ω 6 are considered to be important (Dyerberg 1986). The lowest linoleic acid content (60.17%) is found to be in this study. Nutritionists suggested that ω 3 fatty acids had to be found more in human diet. Therefore, they reported that ω 6/ ω 3 ratio had to be values below 4.0 for the human health (Alasalvar 2002). In the present study, ω 6/ ω 3 ratio is between 4.15% to 5.84 in six different K-1: K-2: K-3: K-4: K-5: K-6, in Anatolia

References

MİNOVSKI D., Rizovski R., Cornus mas L. Cornelian cherry Plant Bree. Abst. 45, 5786 (1975).

SİMOPOULOS A. P., World Rev Nutr Diet, 83, 219 (1998).

Baytop T., Türkiye’ de Bitkilerle Tedavi, İstanbul Üniv., Ecz. Fak. Yay.No: 40, 298 (1984).

Türkoğlu N., R. I. Gazioğlu, M. Kör, Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 768 (1999).

ANONMYOUS, 1996, Tarımsal yapı ve üretim. DİE, Ankara. (1996).

ÖZRENK K., Yüzüncü Yıl Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi), Van. 2002.

KARAKIR M. N., I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi (13-16 Ekim 1992), 1, 171 (1992).

ANONMYOUS, 2006. <http://www.fao.org> (2006).

CİTİL O. B., K. K. Tekinsen, Chemistry of Natural Compounds, 46, 943 (2011).

EC, 1980. Council Directive 80/891/EEC, Official Journal L, p. 254.

DYERBERG J., Nutr. Rev., 44, 125 (1986).

ALASALVAR C., K. D. A. Taylor, E. Zubcov, F. Shahidi, M. Alexis, Food. Chem., 79, 145 (2002).

HMSO, UK., 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease (report on health and social subjects No. 46) London.

KALYONCU, İ. H. 1996. Konya Yöresindeki Kızılıcık (*Cornus mas L.*) Tiplerinin Bazı Özellikleri ve Farklı Nem Ortamlarındaki Köklenme Durumu Üzerine Bir Araştırma. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı, Doktora tezi (Basılmamış), Konya.

BARON L.C., C. Riggert, R.L. Stebbins, S. Bell, Oregon State University Extension Service Circular 1219, 19 (1985).

AOAC, Official Methods for The Analysis, 15 th ed., Arlington, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC (1990).

FOLCH J., M. Lees, G. H. Sloane Stanley, J. Biol. Chem., 226, 497 (1957).

MOSS C. W., M. A. Lambert, W. H. Merwin, Appl. Microbiol., 28, 80 (1974).

BÖLÜM III

Structure and uses of *Nigella sativa*

Ayşen ALTINER¹
Tanay BİLAL²

Nigella sativa, which is in the Ranunculaceae family and grows in Southwest Asia, Europe and North Africa and is mostly grown in the Afyon, Burdur and Konya regions in our country, is a 20-30 cm long flowering plant. It grows along roadsides and in wheat fields. It has linear-lanceolate leaves. The flowers are usually yellow, white, pink, pale blue and purple. The seeds are black in color and flat and cone-shaped (Forouzanfar & al., 2014). The chemical composition of *Nigella sativa* varies depending on the

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Buyukcekmece, Istanbul.

² Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Buyukcekmece, Istanbul.

plant's harvest season, variety, climate and region where it is grown (Sultan & al., 2009).

The seeds contain essential oils, proteins, alkaloids and saponin. Most of the biological activities of the seeds are due to thymoquinone, the main component of the essential oil. Most of the biological activities of the seeds are due to thymoquinone, the main component of the essential oil (Ali & Blunden, 2003). The main fatty acids are linoleic acid, palmitic acid, oleic acid and stearic acid. The active components of the essential oil are thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinone and thymol (Ghosheh & al., 1999). Neutral lipids constitute approximately 97% of total fat, followed by glycolipids and phospholipids. Triglycerides are the main class of neutral lipids. Seeds contain the enzyme lipase. High levels of glycolipids were found in *Nigella sativa* seed. Glucose was the only carbohydrate detected. The major classes of phospholipids were phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine and phosphatidylinositol. Stigmasterol, campesterol and lanosterol were also detected in small amounts (Ramadan & Moersel, 2002). β -Carotene has been measured at high levels in *Nigella sativa* seeds. The seeds have also been found to contain crude fiber, minerals, and vitamins such as ascorbic acid, thiamine, niacin, pyridoxine, and folic acid (Takruri & Dameh, 1998).

Thymoquinone is a hydrophobic molecule. It is highly sensitive to light and is degraded by light. After oral administration, thymoquinone is metabolized by liver enzymes to form hydroquinone, which is then converted to mercapturic acid and excreted in the urine (Darakhshan & al., 2015). The seeds, which are widely used in bread, buns and some types of cheese, were used by

ancient Egyptian and Greek physicians for headaches, nasal congestion, toothaches, shedding of intestinal worms, regulating menstruation in women and increasing breast milk. It has long been used among the people of the Middle East and Far East as a traditional medicine in the treatment of a wide range of diseases such as dysentery, infections, obesity, back pain, hypertension, asthma, bronchitis and gastrointestinal problems (Ahmad & al. 2013).

Nigella sativa seeds are used as a flavoring agent in the production of pastry, cheese, pickles and bakery products (Cheikh-Rouhou & al., 2007). Seeds have a strong peppery flavor and have found use in coffee, tea and salads. *Nigella sativa* has been shown to have anti-inflammatory, antioxidant, antitumor, antibacterial activity and a stimulating effect on the immune system. The seeds were found to provide 80% protection against methyl nitrosourea-induced oxidative stress, inflammatory response and carcinogenesis in rats (Mabrouk & al., 2002). *Nigella sativa* seeds are used externally for alopecia, eczema, leukoderma, freckles and acne. Oral administration of thymoquinone has provided significant protection against carbon tetrachloride hepatotoxicity (Nagi & Almakki, 2009). Active ingredients such as thymol lowered blood pressure through blockade of calcium channels. Thymoquinone protected the testicles against the harmful effects of cadmium exposure with its anti-inflammatory and antioxidant effects (Fouad & Jresat, 2015).

Administration of thymoquinone together with ethanol and high-fat diet decreased serum amylase, lipase and caspase-1 enzyme levels, protected the pancreas against pathological changes and produced a cholesterol-lowering effect in diabetic rats (Al-Naqeep & al., 2009). Thymoquinone accelerates respiration. Thymoquinone has been shown to be used as an anticonvulsant in epilepsy

(Hosseinzadeh & Parvardeh, 2004). β -sitosterol found in *Nigella sativa* seeds increased secretory activity, reduced blood cholesterol levels and was therapeutic in prostate enlargement. *Nigella sativa* extract caused an increase in the number of immune system-related cells in the bone marrow and stimulated myelopoiesis. Thymoquinone treatment attenuated doxorubicin-induced elevations in serum urea, total cholesterol, and triglyceride in mice (Badary & al., 2000).

Nigella sativa seeds have been effective in regulating blood pressure and blood lipid levels. It is known to be a good appetite stimulant, as well as being used in the treatment of skin diseases, as an antidiarrheal and antiemetic. The main effects of thymoquinone are on apoptosis, angiogenesis, migration, invasion, metastasis, cell cycle and proliferation, inflammation and oxidative stress (Darakhshan & al., 2015). Thymoquinone has protective effects against cardiac toxicity induced by cyclophosphamide and doxorubicin, renal toxicity induced by cisplatin, vancomycin, doxorubicin, gentamicin and mercury chloride, and hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride, cyclophosphamide, aflatoxin B1 and acetaminophen (Farooqui & al., 2017). Tincture made from *Nigella sativa* seeds has been used to treat dysmenorrhea, indigestion, diarrhea, loss of appetite, amenorrhea, worms, and skin rashes. *Nigella sativa* seeds have also been given internally to prevent vomiting, and the oil has been used externally as an antiseptic (Mollazadeh & Hosseinzadeh, 2014).

Thymoquinone reduces oxidative stress with its antioxidant and anti-inflammatory effects, increases the expression and activity of antioxidant enzymes, and protects cells from cancer by inducing apoptosis (Kou & al., 2017). Ismail et al. (2010) reported that *Nigella*

sativa oil and thymoquinone have antioxidant activity and increase the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase. Thymoquinone has been found to inhibit eicosanoid formation and membrane lipid peroxidation through inhibition of the cyclooxygenase and 5-lipoxygenase pathways of arachidonate metabolism. *Nigella sativa* oil is considered a natural radioprotective agent against ionizing radiation and its oxidative and immunosuppressive effects. Thymoquinone has been reported to reduce bleomycin-induced pulmonary fibrosis progression in rats, to reduce lymphoid hyperplastic cell activation around the bronchi, emphysema in the air alveoli, inflammatory cell infiltration, and to increase glutathione S-transferase and superoxide dismutase enzyme activities to normal values (El-Khouly & al., 2012). Thymoquinone prevented neuropathy and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats (Radad & al., 2014).

Thymoquinone protected cultured dopaminergic Th immunoreactive cells from 1-methyl-4-phenyl pyridinium and rotenone toxicity. Thymoquinone prevented gentamicin-induced acute renal failure in rats by regulating mitochondrial functions and increasing ATP production, and reduced nephrotoxicity and degenerative changes (Sayed-Ahmed & Nagi, 2007). Thymoquinone reduced acetaminophen-induced hepatotoxicity and nitrate/nitrite formation in mice and inhibited nitric oxide production. Thymoquinone increased glutathione levels and superoxide dismutase activity in gastric dysfunction and ulcers of rats and decreased malondialdehyde levels and myeloperoxidase activity, thus showing protective effects due to its antioxidant properties (El-Abhar & al., 2013). Thymoquinone showed a protective effect against vancomycin-induced renal injury by

decreasing serum blood malondialdehyde, urea nitrogen and creatinine levels and increasing glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in renal tissue (Basarslan & al., 2012).

Thymoquinone protected the kidney from oxidative damage caused by pyelonephritis by regulating the levels of catalase, superoxide dismutase and malondialdehyde (Evirgen & al., 2011). It has been determined that the antioxidant activity of *Nigella sativa* is not only due to thymoquinone but also to other components such as carvacrol. Thymoquinone decreased malondialdehyde and serum glucose levels in pancreatic β cells and increased serum insulin and tissue superoxide dismutase levels in diabetic rats (Abdelmeguid & al., 2010). *Nigella sativa* oil reduced cyclosporine A-induced tissue damage by increasing catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities and decreasing malondialdehyde, protein carbonyl, and nitric oxide levels in heart tissue in mice (Ebru & al., 2008). It has been determined that thymoquinone has a protective effect against tertiary butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in isolated rat hepatocytes and increases intracellular glutathione production (Daba & Abdel-Rahman, 1998).

It is suggested that the antioxidant effect potential of thymoquinone may be related to the redox properties of the quinone in its structure and the easy passage of thymoquinone into subcellular compartments (Darakhshan & al., 2015). Thymoquinone has been shown to reduce liver damage caused by parasites and its antioxidant properties are responsible for this effect. It has been reported that thymoquinone significantly reduces peroxynitrite-induced histone-A2 damage and can prevent oxidative damage of tyrosine, lysine, arginine, proline and threonine amino acids

(Rasheed & al., 2018). It has been suggested that thymoquinone increases catalase activity and that thymoquinone treatment may protect liver tissue against ischemia-reperfusion injury (Yildiz & al., 2008).

It has been found that thymoquinone can inhibit the expression of nitric oxide synthase enzyme, which plays a role in oxidative stress, and increase the expression of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase and glutathione peroxidase, and cause inhibition of lipogenesis in hepatocytes by reducing the level of NADH (Khalife & Lupidi, 2007). It has been shown that thymoquinone can protect hepatocyte cell membrane integrity by increasing the decreased intracellular glutathione level in isolated rat hepatocytes exposed to oxidative stress with tertiary butyl hydroperoxide and by preventing the oxidation of the formed pyridine nucleotides. It has been reported that *Nigella sativa* and thymoquinone exhibit antioxidant effects against nitrosative stress in the brain tissue of rats induced by exposure to radiation (Ahlatci & al., 2014). Thymoquinone has been shown to have antioxidant and anti-inflammatory effects in samples of hippocampal neurodegeneration induced by long-term exposure to toluene. Thymoquinone reduced high-cholesterol diet-induced hepatic oxidative stress and lowered plasma cholesterol levels in rabbits (Fouad & Jresat, 2015). Thymoquinone inhibited mitochondrial cytochrome C-mediated reactive oxygen species formation in the liver and reduced inflammation (Usta & Dede, 2017).

Nigella sativa has been shown to have strong antibacterial effects against both gram-positive and gram-negative species. The methanolic extract was found to have a strong inhibition of *Streptococcus mutans*, thus preventing plaque formation and dental

caries. It was found to have antibacterial activity against *Shigella sonnei*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Shigella boydii*, and *Escherichia coli* (El-Kamali & al., 1998). In a study using mouse cytomegalovirus, intraperitoneal administration of the oil significantly reduced the viral load of the liver and spleen (Salem & Hossain, 2000). Alcoholic extracts have shown antibacterial activity against *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*. The essential oil was found to exhibit activity against *Shigella flexneri* *in vitro* (Chowdhury & al., 1998).

It has been reported that the volatile fatty acids of *Nigella sativa* are effective against bacteria, fungi and cestodes. *Nigella sativa* has been found to inhibit the growth of bacteria that cause gastrointestinal morbidity, such as *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori* (Bakal & al., 2017). It has been reported that *Nigella sativa* has an inhibitory effect on the growth of pathogenic bacteria such as *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Brucella abortus*, *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium renale*, *Escherichia coli*, *Mannheimia haemolytica*, *Staphylococcus aureus* and *Trueperella pyogenes* (Namjoo & al., 2013). El-Far et al. (2017) concluded that the mixture of *Nigella sativa* and honey is anti-*Helicobacter pylori* and antidyspeptic agent. Following the administration of thymoquinone, biochemical and histological results showed regression of acute bacterial prostatitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* (Rifaioğlu & al., 2013).

The number of *Streptococcus pyogenes* able to adhere to renal epithelial cells was decreased in a dose-dependent manner by the use of thymoquinone. It has been reported that thymoquinone has antibacterial effects against some bacteria such as *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* and bactericidal effects especially against gram-positive cocci (Khan & al., 2013). Lipopolysaccharide-induced liver injury was ameliorated in rats given 5 mg/kg/day or 10 mg/kg/day intraperitoneal thymoquinone for 3 weeks. It is reported that thymoquinone has activity against *Mycobacterium tuberculosis* and also shows activity against pathogenic strains such as *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* (Mahmoudvand & al., 2014). Thymoquinone was able to improve prostatitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* with its antioxidant and anti-inflammatory effects (Rifaioğlu & al., 2013).

Thymoquinone has been found to have anti-inflammatory activities and prevent the formation of edema and granuloma. Administration of thymoquinone significantly alleviated the symptoms of allergic conjunctivitis by reducing the levels of histamine, IgE, and cytokines (Hayat & al., 2011). Thymoquinone reduced the production of reactive oxygen species, osteoclast activity that causes bone resorption, and the levels of proinflammatory cytokines such as interleukin-6, interleukin-1 α , and tumor necrosis factor- α , which cause differentiation of osteoclast precursors. It has been observed that the antinociceptive effect of *Nigella sativa* oil is due to its inhibitory effect on nociceptive systems and/or inflammatory mediators (Amin & Hosseinzadeh, 2016). Thymoquinone induced the production of interferon gamma and reduced the production of interleukin-4, interleukin-5, and interleukin-13 in bronchoalveolar lavage fluid (El-Gazzar & al., 2006).

Thymoquinone reduced leukotriene-B₄ and leukotriene-C₄ levels by inhibiting the expression of 5-lipoxygenase, the key

enzyme in leukotriene biosynthesis (El-Gazzar & al., 2006). Anti-schistosomiasis effect of *Nigella sativa* oil and thymoquinone has been reported in mice infected with *Schistosoma mansoni*. Timokinonun Thymoquinone prevented acetic acid-induced colitis in rats by inhibiting platelet activating factor and histamine release (Mahgoub, 2003). Ethanol extract has been found to have anticestode effect in children. The aqueous extract was found to have potent *in vivo* antifungal activity against candidiasis in mice. Thymoquinone promoted apoptotic cell death by causing lysosomal membrane permeability and leakage of lysosomal proteases (Racoma & al., 2013). *Nigella sativa* seeds have therapeutic effects against respiratory problems such as dyspnea and asthma. Gali-Muhtasib et al. (2004) showed that the apoptotic effects of thymoquinone are regulated by the Bcl-2 protein and are p53 dependent.

Nigella sativa is a safe and promising anticancer agent. Extensive research with *Nigella sativa* may contribute to the discovery of new anticancer strategies. Sethi et al (2008) found that thymoquinone blocked NF-kappa B activation induced by various carcinogens and inflammatory stimuli and suppressed tumor necrosis factor-induced activation in a dose- and time-dependent manner. *Nigella sativa* oil reduced the fibrinolytic potential of human fibrosarcoma cell line *in vitro*. Mabrouk et al. (2002) reported that dietary supplementation with honey and *Nigella sativa* had a protective effect against methylnitrosourea-induced inflammatory response, oxidative stress and carcinogenesis in the skin, lung and colon. Nagi and Almakki (2009) reported that oral administration of thymoquinone was effective in increasing glutathione transferase and quinone reductase activities, making thymoquinone a promising

prophylactic agent against chemical carcinogenesis and toxicity in liver cancer.

Oral treatment of rats with *Nigella sativa* resulted in decreased DNA synthesis, hydrogen peroxide formation and tumor incidence. Khan and Sultana (2005) reported the preventive effect of *Nigella sativa* against ferric nitrilotriacetate-induced renal oxidative stress, hyperproliferative response and renal carcinogenesis. Kaseb et al (2007) suggested that thymoquinone is effective in the treatment of prostate cancer. Shafi et al. (2009) reported that methanol, chloroform and n-hexane extracts of *Nigella sativa* killed human epithelial cervical cancer cells by inducing apoptosis Yi & al. (2008), timokinonun in vitro ve in vivo anjiyogenezi engellediğini ve düşük dozda neredeyse hiç kemotoksik yan etki olmadan insan prostat tümörü büyümesini engellediğini buldular. It has been reported that α -hederin isolated from *Nigella sativa* seeds has potent *in vivo* antitumor activity. El-Mahdy et al. (2005) reported that thymoquinone induced apoptosis of myeloblastic leukemia cells, disrupted mitochondrial membrane potential, and increased the activation of caspases 3, 8, and 9 in these cells. Yi et al (2008) found that thymoquinone inhibited angiogenesis and human prostate tumor growth at low doses

Gali-Muhtasib et al. (2004) suggested that thymoquinone is anti-neoplastic and pro-apoptotic against colon cancer cells. El-Mahdy et al. (2005) reported that thymoquinone exhibited anti-proliferative effects on human myeloblastic leukemia cells. Thymoquinone can abolish gemcitabine- or oxaliplatin-induced NF-kappa B activation and cause chemosensitization of pancreatic tumors to conventional therapeutics. Salim and Fukushima (2003) showed that the essential oil of *Nigella sativa* inhibited post-onset

colon carcinogenesis in rats. Chehl et al. (2009) reported that thymoquinone induced apoptosis and inhibited proliferation in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. Topical application of oil extract of the seeds inhibited skin carcinogenesis in mice. Badary & Gamal-El-Din, 2001 found that thymoquinone significantly inhibited the incidence and burden of fibrosarcoma tumor induced by methylcholanthrene in Swiss Albino rats.

Nigella sativa has been found to be effective in inactivating breast cancer cells *in vitro* (Farah & Begum, 2003). Thymoquinone was found to improve therapeutic efficacy by reducing ifosfamide-induced nephrotoxicity and enhancing the antitumor activity of ifosfamide. Thymoquinone or dithymoquinone has been found to be cytotoxic to a variety of human tumor cells. It was found to significantly increase splenic natural killer cells in mice to induce cytotoxicity against tumor targets (Abuharfeil & al., 2001). Thymoquinone has been reported to induce p53-dependent and p53-independent apoptosis mechanisms. It has been reported that thymoquinone is equivalent to 5-fluorouracil, a drug used in the treatment of colon cancer, exhibits antitumor activity against colon cancer cells, reduces lung damage caused by cyclophosphamide, toluene and bleomycin, prevents benzopyrene-induced gastric tumors and plays a protective role by preventing gentamicin toxicity (Darakhshan & al., 2015). Thymoquinone showed significant dose-dependent antitumor activity in HepG2 cell line (Bai & al., 2013).

It has been shown that oral administration of thymoquinone to diabetic rats for 6 weeks causes a decrease in plasma glucose and an increase in insulin levels (Pari & Sankaranarayanan, 2009). Oral administration of thymoquinone significantly reduced the blood glucose increase and glycated hemoglobin level in streptozocin-

induced diabetic hamsters. Treatment with *Nigella sativa* oil in rats with non-insulin dependent diabetes caused significant decreases in plasma glucose levels (Fararh & al., 2005). *Nigella sativa* seed extract administered orally reduced blood glucose levels in alloxan-induced diabetic rabbits after 2 months of treatment. It has been determined that the hypoglycemic effect of *Nigella sativa* seed is due to the inhibition of hepatic gluconeogenesis. A human study found that consuming 1 g of *Nigella sativa* seeds twice daily reduced blood glucose levels after 2 weeks (Bamosa & al., 1997).

The active ingredients of *Nigella sativa* reduced the risk of atherosclerosis by lowering serum low-density lipoprotein cholesterol levels and increasing serum high-density lipoprotein cholesterol levels (Nader & al., 2010). *Nigella sativa* seed reduced serum cholesterol levels. When patients with high cholesterol were fed 1 g of *Nigella sativa* seeds per day for 2 months, blood LDL cholesterol and triglyceride levels significantly decreased, while HDL cholesterol levels increased (Bhatti & al., 2009). It has been reported that *Nigella sativa* significantly increases HDL-cholesterol concentration and reduces total cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride levels (Nader & al. (2010). Asgary et al. (2013) reported that *Nigella sativa* had positive effects on the lipid profile in hypercholesterolemic rabbits. *Nigella sativa* has been reported to significantly reduce serum triglyceride and LDL cholesterol (Al-Naqeep & al., 2009).

Thymoquinone decreased norepinephrine and dopamine levels and increased serotonin levels in one study. It has been reported that thymoquinone protects cholesterol-fed rabbits against atherosclerosis and may prevent the formation of hyperlipidemia and atherosclerosis (Nader & al., 2010). Thymoquinone has been

reported to protect primary dopaminergic neurons in cell cultures obtained from Parkinson's disease patients (Radad & al., 2009). Thymoquinone exhibited anxiolytic effects in stressed mice with decreases in plasma nitrite and increases in brain γ -aminobutyric acid content. Thymoquinone has been reported to protect against amyloid- β -induced toxicity and disruption of synaptic functions and to suppress the production of reactive oxygen species (Alhebshi & al., 2013).

Nigella sativa seed is carminative, meaning it has the ability to remove gases from the stomach and intestines and aid digestion. It supports peristalsis and evacuation. The essential oil of *Nigella sativa* is antimicrobial and helps to deworm the intestines. It is used in diarrhea, indigestion, dyspepsia and eructation, and also as a breath freshener. The gastroprotective effect of thymoquinone is due to proton pump inhibition. The seeds have a bile-reducing property. Thymoquinone treatment significantly inhibits acid production and pepsin in the stomach (El-Abhar & al., 2013). It is known that *Nigella sativa* oil is effective in relieving gastrointestinal complaints due to its smooth muscle relaxant properties and has an antispasmodic effect in many cases. It has been reported that the aqueous extract of the seeds exhibited anti-ulcer activity by reducing the acid volume in the gastric juice in rats treated with acetylsalicylic acid. Administration of seed oil in rats caused a significant increase in the mucus content and glutathione level in the stomach and a significant decrease in mucosal histamine content, providing significant protection against ethanol-induced ulcer (El-Dakhakhny & al., 2000). Thymoquinone prevented lead-induced steroidogenic and spermatogenic dysfunction of the testis (Mabrouk & Ben Cheikh, 2016).

REFERENCES

Abdelmeguid, N. E., Fakhoury, R., Kamal, S. M. & Al Wafai, R. J. (2010). Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic β -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes*, 2 (4), 256-266. Doi: 10.1111/j.1753-0407.2010.00091.x.

Abuharfeil, N. M., Salim, M. & Von Kleist, S. (2001). Augmentation of natural killer cell activity in vivo against tumor cells by some wild plants from Jordan. *Phytotherapy Research*, 15 (2), 109-113. Doi: 10.1002/ptr.692.

Ahlatci, A., Kuzhan, A., Taysi, S., Demirtas, O. C., Alkis, H. E., Tarakcioglu, M., Demirci, A., Caglayan, D., Saricicek, E. & Cinar, K. (2014). Radiation-modifying abilities of *Nigella sativa* and thymoquinone on radiation-induced nitrosative stress in the brain tissue. *Phytomedicine*, 21 (5), 740-744. Doi: 10.1016/j.phymed.2013.10.023.

Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, Z. A. & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (5), 337-352. Doi: 10.1016/S2221-1691(13)60075-1.

Alhebshi, A. H., Gotoh, M. & Suzuki, I. (2013). Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid β -induced neurotoxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 433 (4), 362-367. Doi: 10.1016/j.bbrc.2012.11.139.

Ali, B. H. & Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research*, 17 (4), 299-305. Doi: 10.1002/ptr.1309.

Al-Naqeep, G., Ismail, M. & Allaudin, Z. (2009). Regulation of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene expression by thymoquinone-rich fraction and thymoquinone in HepG2 cells. *Journal of Nutrigenetics Nutrigenomics*, 2 (4-5), 163-172. Doi: 10.1159/000227264.

Amin, B. & Hosseinzadeh, H. (2016). Black cumin (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone: An overview on the analgesic and anti-inflammatory effects. *Planta Medica*, 82 (1-2), 8-16. Doi: 10.1055/s-0035-1557838.

Asgary, S., Ghannadi, A., Dashti, G., Helalat, A., Sahebkar, A. & Najafi, S. (2013). *Nigella sativa* L. improves lipid profile and prevents atherosclerosis: Evidence from an experimental study on hypercholesterolemic rabbits. *Journal of Functional Foods*, 5 (1), 228-234. Doi: 10.1016/j.jff.2012.10.011.

Badary, O. A., Abdel-Naim, A. B., Abdel-Wahab, M. H. & Hamada, F. M. (2000). The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143 (3), 219-226. Doi: 10.1016/s0300-483x(99)00179-1.

Badary, O. A. & Gamal-El-Din, A. M. (2001). Inhibitory effects of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis. *Cancer Detection and Prevention*, 25, 362-368.

Bai, T., Lian, L. H., Wu, Y. L., Wan, Y. & Nan, J. X. (2013). Thymoquinone attenuates liver fibrosis via PI3K and TLR4 signaling pathways in activated hepatic stellate cells. *International Immunopharmacology*, 15 (2), 275-281. Doi: 10.1016/j.intimp.2012.12.020.

Bakal, S. N., Bereswill, S. & Heimesaat, M. M. (2017). Finding novel antibiotic substances from medicinal plants - Antimicrobial properties of *Nigella sativa* directed against multidrug-resistant bacteria. *European Journal of Microbiology and Immunology (Bp)*. 7 (1), 92-98. Doi: 10.1556/1886.2017.00001.

Bamosa, A. O., Ali, B. A. & Sowayan, S. A. (1997). Effect of oral ingestion of *Nigella sativa* seeds some blood parameters. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 5 (2-3), 126-129.

Basarslan, F., Yilmaz, N., Ates, S., Ozgur, T., Tutanc, M., Motor, V. K., Arica, V. Yilmaz, C., Inci, M. & Buyukbas, S. (2012). Protective effects of thymoquinone on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 31 (7), 726-733. Doi: 10.1177/0960327111433185.

Bhatti, I. U., Rehman, F. U., Khan, M. A. & Marvat, S. K. (2009). Effect of prophetic medicine kalonji (*Nigella sativa* L) on lipid profil of human beings. An in vivo approach. *World Applied Sciences Journal*, 6 (8), 1053-1057.

Chehl, N., Chipitsyna, G., Gong, Q., Yeo, C. J. & Arafat, H. A. (2009). Anti-inflammatory effects of the *Nigella sativa* seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells. *Proceedings of the 9th Annual Meeting of Hepato Pancreato Biliary Association (Oxford)*, 11 (5), 373-381. Doi: 10.1111/j.1477-2574.2009.00059.x.

Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C. & Attia, H. (2007). *Nigella sativa* L. Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry*, 101 (2), 673-681. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.02.022

Chowdhury, A. K. A., Islam, A., Rashid, A. & Ferdous, A. (1998). Therapeutic potential of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds in monkey model with experimental shigellosis. *Phytotherapy Research*, 12, 361-363. Doi: 10.1002/(SICI)1099-1573(199808)12:5<361::AID-PTR302>3.0.CO;2-1

Daba, M. H. & Abdel-Rahman, M. S. (1998). Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicology Letters*, 95 (1), 23-29. Doi: 10.1016/s0378-4274(98)00012-5.

Darakhshan, S., Bidmeshki Pour, A., Hosseinzadeh Colagar, A. & Sisakhtnezhad, S. (2015). Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacological Research*, 95-96, 138-158. Doi: 10.1016/j.phrs.2015.03.011.

Ebru, U., Burak, U., Yusuf, S., Reyhan, B., Arif, K., Faruk, T. H., Emin, M. Aydin, K. Atilla, I. Semsettin, S. & Kemal, E. (2008). Cardioprotective effects of *Nigella sativa* oil on cyclosporine A-induced cardiotoxicity in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 103 (6), 574-580. Doi: 10.1111/j.1742-7843.2008.00313.x.

El-Abhar, H. S., Abdallah, D.M. & Saleh, S. (2013). Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by

ischaemia/reperfusion in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 84 (2-3), 251-258. Doi: 10.1016/s0378-8741(02)00324-0.

El-Dakhakhny, M., Barakat, M., El-Halim, M. & Aly, S. M. (2000). Effects of *Nigella sativa* oil gastric secretion and ethanol-induced ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 299-304. Doi: 10.1016/s0378-8741(00)00235-x.

El-Far, A. H., Korshom, M. A., Mandour, A. A., El-Bessoumy, A. A. & El-Sayed, Y. S. (2017). Hepatoprotective efficacy of *Nigella sativa* seeds dietary supplementation against lead acetate -induced oxidative damage in rabbit - Purification and characterization of glutathione peroxidase. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 711-718. Doi: 10.1016/j.biopha.2017.02.044

El Gazzar, M., El Mezayen, R., Marecki, J. C., Nicolls, M. R., Canastar, A. & Dreskin, S. C. (2006). Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation. *International Immunopharmacology*, 6 (7), 1135-1142. Doi: 10.1016/j.intimp.2006.02.004.

El-Kamali, H. H., Ahmad, A. H., Mohammad, A. S., Yahia, A. A. M., El-Tayeb, I. & Ali, A. A. (1998). Antibacterial properties of essential oils from *Nigella sativa* seeds etc. *Fitoterapia*, 69, 77-78.

El-Khouly, D., El-Bakly, W. M., Awad, A. S., ElMesallamy, H. O. & El-Demerdash, E. (2012). Thymoquinone blocks lung injury and fibrosis by attenuating bleomycin-induced oxidative stress and activation of nuclear factor KappaB in rats. *Toxicology*, 302 (2-3), 106-113. Doi: 10.1016/j.tox.2012.09.001.

El-Mahdy, M. A., Zhu, Q., Wang, Q. E., Wani, G. & Wani, A. A. (2005). Thymoquinone induces apoptosis through activation of

caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. *International Journal of Cancer*, 117, 409-417. Doi: 10.1002/ijc.21205.

Evirgen, O., Gökçe, A., Ozturk, O. H., Nacar, E., Onlen, Y., Ozer, B. & Köksaldi Motor, V. (2011). Effect of thymoquinone on oxidative stress in Escherichia coli-induced pyelonephritis in rats. *Current Therapeutic Research Clinical and Experimental*, 72 (5), 204-215. Doi: 10.1016/j.curtheres.2011.09.002

Farah, I.O. & Begum, R. A. (2003). Effect of Nigella sativa and oxidative stress on the survival pattern of MCF-7 breast cancer cells. *Biomedical Sciences Instrumentation*, 39, 359-364.

Fararh, K. M., Shimizu, Y., Shiina, T., Nikami, H., Ghanem, M. M. & Takewaki, T. (2005). Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science*, 79 (3), 219-223. Doi: 10.1016/j.rvsc.2005.01.001.

Farooqui, Z., Shahid, F., Khan, A. A. & Khan, F. (2017). Oral administration of Nigella sativa oil and thymoquinone attenuates long term cisplatin treatment induced toxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 912-923. Doi: 10.1016/j.biopha.2017.12.007.

Forouzanfar, F., Bazzaz, B. S. & Hosseinzadeh, H. (2014). Black cumin (Nigella sativa) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17 (12), 929-938. Doi: 10.22038/IJBMS.2015.3849

Fouad, A. A. & Jresat, I. (2015). Thymoquinone therapy abrogates toxic effect of cadmium on rat testes. *Andrologia*, 47 (4), 417-426. Doi: 10.1111/and.12281. Epub 2014 Apr 16.

Gali-Muhtasib, H., Diab-Assaf, M., Boltze, C., Al-Hmaira, J., Hartig, R., Roessner, A. & Schneider-Stock, R. (2004). Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *International Journal of Oncology*, 25, 857-866.

Ghosheh, O. A., Houdi, A. A. & Crooks, P.A. (1999). High performance liquid chromatography analysis of the pharmacologically active quinines and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa*). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 19, 757-762. Doi: 10.1016/s0731-7085(98)00300-8.

Hayat, K., Asim, M. B., Nawaz, M., Li, M., Zhang, L. & Sun, N. (2011). Ameliorative effect of thymoquinone on ovalbumin-induced allergic conjunctivitis in Balb/c mice. *Current Eye Research*, 36 (7), 591-598. Doi: 10.3109/02713683.2011.573898.

Hosseinzadeh, H. & Parvardeh, S. (2004). Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine*, 11 (1), 56-64. Doi: 10.1078/0944-7113-00376.

Ismail, M., Al-Naqeep, G. & Chan, K. W. (2010). *Nigella sativa* thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 48, 664-672. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.002.

Kaseb, A. O., Chinnakannu, K., Chen, D., Sivanandam, A., Tejawani, S., Menon, M., Dou, Q. P. & Reddy, G. P. (2007). Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for

hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Research*, 67, 7782-7788. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1483.

Khan, N. & Sultana, S. (2005). Inhibition of two stage renal carcinogenesis, oxidative damage and hyperproliferative response by *Nigella sativa*, *European Journal Cancer Prevention*, 14, 159-168. Doi: 10.1097/00008469-200504000-00012.

Kou, B., Liu, W., Zhao, W., Duan, P., Yang, Y., Yi, Q., Guo, F., Li, J., Zhou, J. & Kou, Q. (2017). Thymoquinone inhibits epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer cells by negatively regulating the TGF- β /Smad2/3 signaling pathway. *Oncology Reports*, 38 (6), 3592-3598. Doi: 10.3892/or.2017.6012.

Khalife, K. H. & Lupidi G. (2007). Nonenzymatic reduction of thymoquinone in physiological conditions. *Free Radical Research*, 41 (2), 153-161. Doi: 10.1080/10715760600978815.

Khan, M. A., Ashfaq, M. K., Zuberi, H. S., Mahmood, M. S. & Gilani, A. H. (2013). The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytotherapy Research*, 17 (2), 183-186. Doi: 10.1002/ptr.1146.

Mahmoudvand, H., Sepahvand, A., Jahanbakhsh, S., Ezatpour, B. & Ayatollahi Mousavi, S. A. (2014). Evaluation of antifungal activities of the essential oil and various extracts of *Nigella sativa* and its main component, thymoquinone against pathogenic dermatophyte strains. *Journal of Mycology Medical*, 24 (4), e155-161. Doi: 10.1016/j.mycmed.2014.06.048.

Mabrouk, A. & Ben Cheikh, H. (2016). Thymoquinone supplementation ameliorates lead-induced testis function

impairment in adult rats. *Toxicology and Industrial Health*, 32 (6), 1114-1121. Doi: 10.1177/0748233714548474.

Mabrouk, G. M., Moselhy, S. S., Zohny, S. F. Ali, E. M., Helal, T. E., Amin, A. A. & Khalifa, A. A. (2002). Inhibition of methylnitrosourea (MNU)-induced oxidative stress and carcinogenesis by orally administered bee honey and *Nigella* grains in Sprague Dawely rats. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 21, 341-346.

Mahgoub, A. A. (2003). Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicology Letters*, 143 (2), 133-143. Doi: 10.1016/s0378-4274(03)00173-5.

Mollazadeh, H. & Hosseinzadeh, H. (2014). The protective effect of *Nigella sativa* against liver injury: a review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17 (12), 958-966.

Nader, M. A., El-Agamy, D. S. & Suddek, G. M. (2010). Protective effects of propolis and thymoquinone on development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Archives of Pharmacal Research*, 33, 637-643. Doi: 10.1007/s12272-010-0420-1.

Nagi, M. N. and Almakki, H. A. (2009). Thymoquinone supplementation induces quinone reductase and glutathione transferase in mice liver: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Phytotherapy Research*, 23, 1295-1298. Doi: 10.1002/ptr.2766.

Namjoo, A., Sadri, S.M., Rafieian, M., Ashrafi, K., Fard, N. S., Samani R. A. & Azmarch, F. M. (2013). Comparing the effects of *Nigella sativa* extract and gentamicin in treatment of urinary tract

infection caused by Ecoli. *Journal Mazandaran University of Medical Sciences*, 22 (96), 22-29.

Pari, L. & Sankaranarayanan, C. (2009). Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sciences*, 85 (23-26), 830-834. Doi: 10.1016/j.lfs.2009.10.021.

Racoma, I. O., Meisen, W. H., Wang, Q. E., Kaur, B. & Wani, A. A. (2013). Thymoquinone inhibits autophagy and induces cathepsin-mediated, caspase-independent cell death in glioblastoma cells. *PLoS One* 8 (9), e72882. Doi: 10.1371/journal.pone.0072882.

Radad, K., Hassanein, K., Al-Shraim, M., Moldzio, R. & Rausch, W. D. (2014). Thymoquinone ameliorates lead-induced brain damage in Sprague Dawley rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 66 (1), 13-17. Doi: 10.1371/journal.pone.0072882.

Radad, K., Moldzio, R., Taha, M. & Rausch, W. D. (2009). Thymoquinone protects dopaminergic neurons against MPP⁺ and rotenone. *Phytotherapy Research*, 23 (5), 696-700. Doi: 10.1002/ptr.2708.

Ramadan, M. F. & Moersel, J. T. (2002). Neutral lipid classes of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oils. *European Food Research and Technology*, 214, 202–206. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.01417.x

Rasheed, Z., Altorbag, A. A., Al-Bossier, A. S., Alnasser, N. A., Alkharraz, O. S., Altuwayjiri, K. M., Alobaid, A. S., Alsaif, A. K., Alanazi, Y. H., Alghidani, B. A., Alduaji, M. A., Mozah, A. A. B. & Alsuhaibani, S. A. (2018). Protective potential of thymoquinone against peroxynitrite induced modifications in

histone H2A: in vitro studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 169-174. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.157.

Rifaioğlu, M. M., Nacar, A. Yuksel, R., Yonden, Z., Karcioglu, M., Zorba, O. U., Davarci, I. & Sefil, N. K. (2013). Antioxidative and anti-inflammatory effect of thymoquinone in an acute *Pseudomonas* prostatitis rat model. *Urologia Internationalis*, 91 (4), 474-481. Doi: 10.1159/000351261.

Salem, M. L. & Hossain, M. S. (2000). Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *International Journal of Immunopharmacology*, 22, 729–740. Doi: 10.1016/s0192-0561(00)00036-9.

Salim, E. I. & Fukushima, S. (2003). Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*, 45: 195-202. Doi: 10.1207/S15327914NC4502_09.

Sayed-Ahmed, M. M. & Nagi, M. N. (2007). Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34 (5-6), 399-405. Doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04560.x.

Sethi, G., Ahn, K. S. & Aggarwal, B. B. (2008). Targeting nuclear factor-kappa B activation pathway by thymoquinone: role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis. *Molecular Cancer Research*, 6, 1059-1070. Doi: 10.1158/1541-7786.MCR-07-2088.

Shafi, G., Munshi, A., Hasan, T. N., Alshatwi, A. A., Jyothy, A. & Lei, D. K. (2009). Induction of apoptosis in HeLa cells by chloroform fraction of seed extracts of *Nigella sativa*. *Cancer Cell International*, 9, 29-36. Doi: 10.1186/1475-2867-9-29.

Sultan, M. T., Butt, M. S., Anjum, F. M., 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. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 1321-1330.

Takruri, H. R. H. & Dameh, M. A. F. (1998). Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 404-410. Doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199803)76:3<404::AID-JSFA964>3.0.CO;2-L

Usta, A. & Dede, S. (2017). The effect of thymoquinone on nuclear factor kappa B levels and oxidative DNA damage on experimental diabetic rats. *Pharmacognosy Magazine*, 13 (3), 458-461. Doi: 10.4103/pm.pm_134_17

Yi, T., Cho, S. G., Yi, Z., Pang, X., Rodriguez, M., Wang, Y., Sethi, G., Aggarwal, B. B. & Liu, M. (2008). Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7, 1789-1796. Doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0124.

Yildiz, F., Coban, S., Terzi, A., Ates, M., Aksoy, N., Cakir H, Oca, A. R. & Bitiren, M. (2008). *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World Journal of Gastroenterology*, 14 (33), 5204-5209. Doi: 10.3748/wjg.14.5204

