

Zerdaçal (Curcuma longa L.) Takviyesi alan Erişkin Ratların Karaciğer Dokularındaki Oksidan/Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi

Investigation of Oxidant/Antioxidant Properties in Liver Tissues of Turmeric (Curcuma longa L.) Supplemented Adult Rats

Cansu TÜRKER ¹ , Şevkinaz DOĞAN ^{2*} 

¹ Kocaeli Devlet Hastanesi, Kocaeli, Türkiye

² Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Esasları Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye



ÖZET

Bitkisel ajanlar tıp alanında alternatif ve tamamlayıcı olarak kullanılmaktadır. Kurkumin, Curcuma longa L. (Zerdaçal) bitkisinden temin edilmektedir. Kansere tedavisinde kullanılan kurkuminin; birçok organda meydana gelen tümörogenezi inhibe ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yapılan diğer araştırmalarda ise kurkuminin antioksidan özelliği ile sağlıklı dokulardaki ilaçların, alkolün, radyasyonun ve ağır metallerin yol açtığı zararları önleyici özellik gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmamızda erişkin ratlarda kurkumin takviyesinin karaciğer dokusundaki oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi üzerinde meydana getirdiği etkileri araştırdık. Araştırma kapsamında 16 adet rat kullanılmış ve bu ratlar iki gruba ayrılmıştır. İlk grup olan deney grubundaki ratlara (n=8) 12 gün süresince günde 300 mg/kg dozunda kurkumin (C1386; Sigma Chemical, St. Louis, MO) mısır yağı içinde çözülürerek ağızdan gavaj yöntemi ile verildi. İkinci grup olan kontrol grubundaki ratlara ise portör etkisini yok etmek için kurkumin ile eşit miktarda mısır yağı verildi. Ratlar her gün kurkumin veya taşıyıcı vermeden çalışma boyunca tartıldı. En son verilen kurkumin ve mısır yağı takviyesinden bir gün sonra ötenazi gerçekleştirildi. Karaciğerler iki gruptan alınarak total antioksidan kapasiteleri (TAS), total oksidan kapasiteleri (TOS) ve malondialdehit (MDA) parametrelerine bakıldı. Araştırma sonucunda ölçülen total antioksidan kapasitesi (TAS) ve total oksidan kapasitesi (TOS) oranlarındaki istatistiksel olarak anlamları karşılaştırıldığında; kontrol grubuna nazaran deney grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kurkumin takviyeli diğer grupta MDA seviyeleri kontrol grubuna oranla azalma eğilimi göstermiş olup iki grup arasında anlamlı istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

Bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (BAP-Proje No:0431-YL-19).

Anahtar Kelimeler: Kurkumin, Antioksidan, Karaciğer, Rat



ABSTRACT

Herbal agents are used as an alternative and complementary medicine. Curcumin is obtained from *Curcuma longa* L. (turmeric) plant. Curcumin used in cancer treatment; There are studies showing that it inhibits tumorigenesis occurring in many organs. In other studies, it has been reported that curcumin prevents the damages caused by drugs, alcohol, radiation and heavy metals in healthy tissues with its antioxidant properties. In our study, we investigated the effects of curcumin supplementation on oxidative stress and antioxidant defense system in liver tissue in adult rats. 16 rats were used in the study and these rats were divided into two groups. In the first group, the experimental group (n=8), curcumin (C1386; Sigma Chemical, St. Louis, MO) at a dose of 300 mg/kg per day for 12 days was dissolved in corn oil and given by oral gavage method. The rats in the second group, the control group, were given equal amounts of corn oil and curcumin to eliminate the portor effect. Rats were weighed every day throughout the study without giving curcumin or carrier. They were euthanized one day after the last supplementation of curcumin and corn oil. Livers were taken from two groups and total antioxidant capacity (TAS), total oxidant capacity (TOS) and malondialdehyde (MDA) parameters were analyzed. When the statistical significance of the total antioxidant capacity (TAS) and total oxidant capacity (TOS) ratios measured as a result of the study were compared, the increase in the experimental group compared to the control group was found to be statistically significant. In the other group supplemented with curcumin, MDA levels showed a tendency to decrease compared to the control group and no significant statistical difference was found between the two groups.

Keywords: Curcumin, Antioxidant, Liver, Rat



1. Giriş

Yaygın olarak Hindistan ve Çin'de yetiştirilen zerdeçal, Zencefiller (Zingiberaceae) ailesine ait çiçekleri sarı, büyük yapraklı otsu bir bitkidir. Bitkinin yumru kısmından temin edilen kurkumin yıllar boyunca ilaç, güzellik ürünleri ve baharat olarak kullanılmıştır. Kurkumin, antiapoptotik, antioksidan, antikanser ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (1). Gıdalara renk vermesi için kullanılan zerdeçal, ısıya karşı dirençli, kokusu olmayan, antioksidan özellik gösteren tetrahidrokurkumin bileşiğini içerir. Ana bileşeni kurkumin olan zerdeçal karaciğer üzerindeki zehirlerin temizlenmesinde ve karaciğer fonksiyonlarını ayarlama etkilidir.

Karaciğer bağışıklıkta, sindirimde, metabolizmada ve besinlerin depolanmasında görevleri olan bir organdır. Bu görevlere ek olarak diğer ekstrahepatik organlar için ihtiyaç olan kimyasal ajanları salgılayan büyük bir bezdir. Vücudumuzun organ ve bez olarak parçası olan karaciğer sağlıklı bir kan dolaşımı sağlayarak zararlı olabilecek toksinleri yok eder ve sindirim sistemi tarafından emilen besin maddelerini kullanılabilir şekle dönüştürür. Vücudumuzun için gerekli olan vitaminlerin, demirin ve glikozun deposudur. Ayrıca bazı hormonların, insülinin ve hemoglobinin parçalanmasını sağlamaktadır. Bu görevlere ek olarak kanı ilgilendiren kimyasal ajanların gerekli pıhtılaşmasını sağlar. Sağlıklı bir vücut için karaciğerin birden fazla fonksiyonu bulunmaktadır. Karaciğerin çalışmasını engelleyen olumsuz etkileyen koşullar düzgün ve sağlıklı beslenememe, yaşam tarzının kötü olması ve karaciğeri yoran ağır işlerdir. Bu sebeplerin sonucu olarak kalp ve damar ile ilgili rahatsızlıklar, aşırı kilo alımı, sindirim sistemi problemleri gibi sağlıklı tehdit eden sorunların görülme riski artmaktadır.

Birçok gıda maddesi karaciğerin sağlıklı çalışması ve temizlenmesi için etkilidir. Bu maddelerin arasında kurkuminin de büyük bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Kurkumin hem karaciğerin çalışması açısından hem de LDL'nin hızlı bir şekilde atılmasını sağlaması açısından önemlidir. Literatür bilgisinde, antioksidan özelliğe sahip olan kurkuminin karaciğer, beyin ve kalp doku hasarlarında doku hasarlanmasını ve oksidatif stresi azalttığı belirtilmiştir (2,3). Çalışmamızda, kurkuminin karaciğer üzerinde yaptığı etkiler araştırılmış olup bu etkileri ortaya çıkarmak karaciğer sağlığı açısından önem arz etmektedir.

2. Materyal ve Metot

Çalışmamıza dâhil edilen 8'er haftalık erişkin ratlar (cinsiyet önceliği bulunmamaktadır) Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Deneylerle ilgili tüm çalışmalar yine bu laboratuvarında yürütülmüştür. Laboratuvar ortamı 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Ratları strese sokacak herhangi bir kısıtlama yapılmamış olup beslenme kesintisine gidilmemiştir. Yemleri ve suları ad libitum şeklindedir. Çalışma kapsamında 2 gruba ayrılan toplam 16 adet rat kullanıldı (bu iki grup arasındaki ağırlık farkları two sample t testi ile istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) hale gelecek şekilde ayarlandı).

Kontrol Grubu: Araştırma süresince tek mısır yağı ile beslenen gruptur. Deney süresi boyunca buradaki ratlara ($n=8$) başka hiçbir uygulama yapılmamıştır. Ratları strese sokacak herhangi bir kısıtlama yapılmamış olup beslenme kesintisine gidilmemiştir. Yemleri ve suları ad libitum şeklindedir.

Deney Grubu: Araştırma süresince 300 mg/kg/gün dozda kurkumin ile beslenen gruptur. Bu gruptaki ratlara ($n=8$) mısır yağı içinde çözülen 300 mg/kg miktardaki kurkumin (C1386; Sigma Chemical, St. Louis, MO) on iki gün boyunca ağızdan gavaj yolu zerk edildi. Ratları strese sokacak herhangi bir kısıtlama yapılmamış olup beslenme kesintisine gidilmemiştir. Yemleri ve suları ad libitum şeklindedir. İkinci grup olan kontrol grubundaki ratlara ise portör etkisini yok etmek için kurkumin ile eşit miktarda mısır yağı verildi. Ratlar her gün kurkumin veya taşıyıcı vermeden çalışma boyunca tartıldı. En son verilen kurkumin ve mısır yağı takviyesinden bir gün sonra ötenazi gerçekleştirildi ve karaciğerde çalışmaya başlandı. Toplam antioksidan seviyeleri (TAS), malondialdehit (MDA) ve toplam oksidan seviyeleri (TOS) spektrofotometre yöntemi ile ölçülüp oksidatif stres indeksleri belirlendi. TAS ve TOS seviyeleri, Erel (2005) tarafından geliştirilen, hazır kitler (Paraoxonase kiti - Rel Assay - Türkiye) ile MDA ölçümü ise Besler ve arkadaşlarının (2002) geliştirdiği metoda göre yapıldı (4,5).

Doku Örneklerinin Alınması: Son kurkumin beslemesinden bir gün sonra 50 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anestezi verilerek servikal dislokasyon yöntemi ile ötanazi yapıldı ve hızlı bir şekilde karaciğer dokuları çıkarıldı. Çıkarılan karaciğer dokuları soğuk serum fizyolojik ile yıkanarak malondialdehit (MDA), total oksidan (TOS) ve total antioksidan seviyelerini (TAS) belirlemek üzere incelendi. İki gruptan temin edilen dokulardan malondialdehit (MDA), total oksidan (TOS) ve total antioksidan seviyeleri (TAS) Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde spektrofotometre (Perkin Elmer UV/Vis spectrophotometer model lambda 20) yöntemi ile ölçülerek oksidatif stres indeksleri belirlendi.

Total Antioksidan Statüsü (TAS) Tayini: Ticari olarak temin edilen kitlelerle TAS düzeyleri ölçülerek sonuçlar mmol Trolox eşvalan/L olarak gösterildi (4).

Total Oksidan Statüsü (TOS) Tayini: Ticari olarak temin edilen kitlelerle TOS düzeyleri ölçülerek sonuçlar mmol H₂O₂ eşvalan/L olarak gösterildi (4).

Malondialdehit (MDA) Tayini: Ticari olarak temin edilen kitlelerle MDA ölçümü (Bioxytech MDA-586 Assay Kit, Oxis Research, Poland) yapıldı. Yapılan bu ölçüm MDA'nın kromojenik reaktif olan N-metil-2-fenilindol ile 450C'de reaksiyonu prensibine dayanmaktadır. Meydana gelen bileşik abzorbanı 586 nm'de ölçüldü. Çizilen standart eğri grafiğinden elde edilen faktörle abzorbanlar çarpıldı. Sonuçlar mmol/gr yaş doku cinsinden ifade edildi (5).

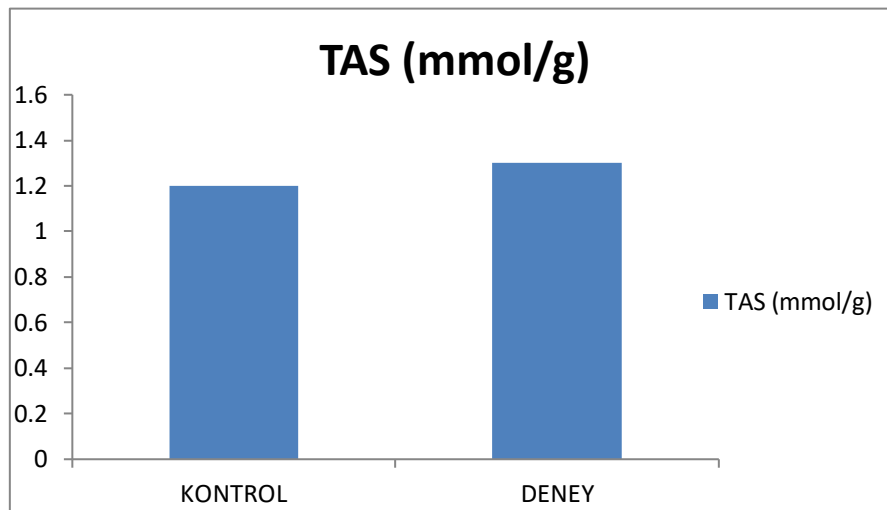
3. Bulgular

Total Antioksidan Kapasite (TAS): İki grup arasındaki total antioksidan kapasite (TAS) değerlerine bakıldığında; deney grubu kontrol grubuna oranla ($p < 0.05$) anlamlı istatistiksel bir artış göstermiştir (Tablo 1, Şekil 1).

Tablo 1. Gruplara ait TAS düzeyleri

Gruplar	n	TAS (mmol/g)
Kontrol	8	1,22±0.06 ^{c,a1}
Deney	8	1,32±0.13 ^{a,c}

a, a1: $p < 0,001$, c: $p < 0,05$



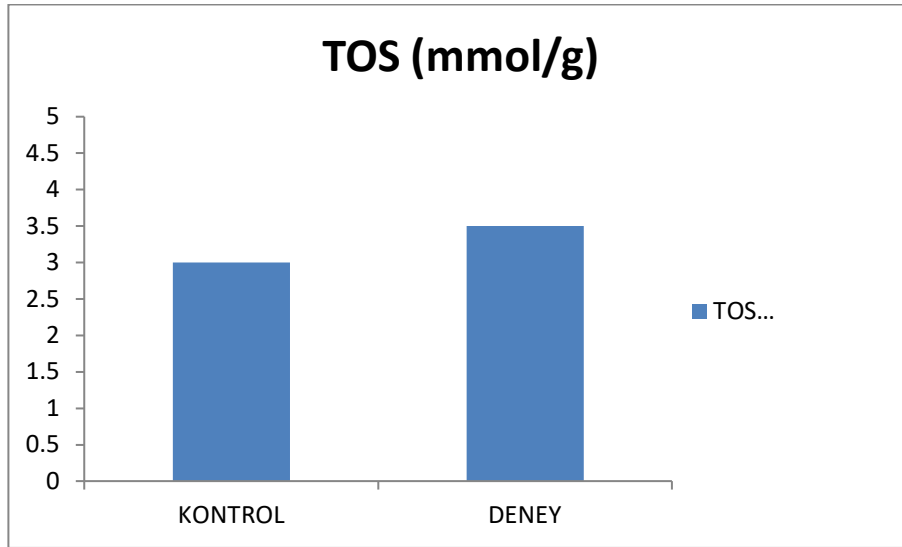
Şekil 1. TAS düzeyleri (Sonuçlar $X \pm SD$ olarak verilmiştir.) $p < 0.05$

Total Oksidan Kapasite (TOS): İki grup arasındaki total oksidan kapasite (TOS) değerlerine bakıldığında; deney grubu kontrol grubuna oranla ($p<0.05$) anlamlı istatistiksel bir artış göstermiştir (Tablo 2, Şekil 2).

Tablo 2. Gruplara ait TOS düzeyleri

Gruplar	n	TOS (mmol/g)
Kontrol	8	$3,08\pm0.47^{a,c}$
Deney	8	$3,52\pm0.37^{a1,c}$

a, a1: $p<0,001$, c: $p<0,05$



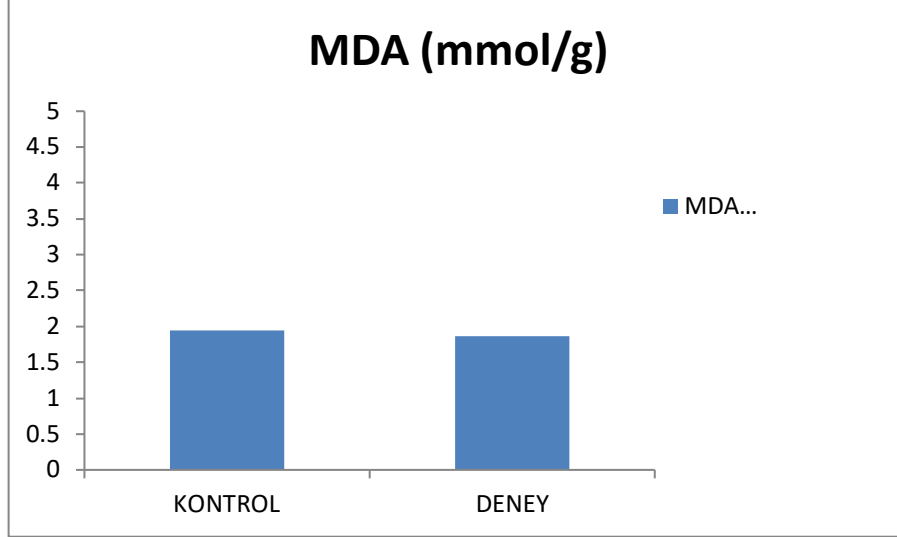
Şekil 2. TOS düzeyleri (Sonuçlar $X \pm SD$ olarak verilmiştir). $p<0.05$

Malondialdehit (MDA): Gruplar arasında anlamlı bir istatistiksel fark olmamasına rağmen ($p>0,05$) kurkumin verilen grupta MDA seviyeleri kontrol grubuna göre azalma eğilimi göstermiştir (Tablo 3, Şekil 3).

Tablo 3. Gruplara ait MDA düzeyleri

Gruplar	n	TOS (mmol/g)
Kontrol	8	$1,95\pm0,27^{a,c}$
Deney	8	$1,86\pm0,42^{a1,c}$

a, a1: $p<0,001$, c: $p>0,05$



Şekil 3. MDA düzeyleri (Sonuçlar $X \pm SD$ olarak verilmiştir). $P>0.05$

4. Tartışma ve Sonuç

Antiinflatuar, antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal olarak özellik gösteren kurkumin sık çalışılan bir fitokimyasaldır. Sık çalışılmasına rağmen hâlen bilinmeyen bir etki mekanizmasına sahiptir (6, 7). Bununla birlikte, araştırmalar, kurkumin için bir antioksidan mekanizma göstermiştir. Bu, oksidazları inhibe ederek, oksidasyon yollarını etkileyerek, bu yollar sonucunda oluşan ürünleri önleyerek ve demir gibi metal iyonlarının oksidasyon özelliklerini zararsız hale getirerek çalıştığını gösterir (8).

Karaciğer, metabolik homeostazın sürdürülmesi ve zararlı metabolitlerin detoksifiye edilmesi gibi önemli fizyolojik işlevler için kemoterapötik ilaçlar, ağır metaller ve alkol gibi birçok toksik maddeye maruz kalmaktadır. Bu nedenle, hepatotoksisite dünya çapında meydana gelen bir klinik tezahürdür (9,10). Oksidatif stres, karaciğer hastalığının gelişiminde önemli bir rol oynar. Özellikle karaciğerde fibroz oluşturarak siroz gibi birçok karaciğer hastalığına neden olur. Antioksidanlar, karaciğer fibrozunu ve oksidatif stresin neden olduğu fibrozis sonucu gelişen hastalıkları önlemede önemli rol oynamaktadır. Vücutta oksidatif strese neden olan serbest radikaller farklı şekillerde üretilir ancak üretilen tüm radikaller oksidatif stres oluşturmaz. Bununla birlikte, birkaç hücre içi ve hücre dışı faktörün etkisi, oksidatif strese yol açan reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olur (10). Zerdeçal, özellikle hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları ve nitrojen dioksit radikalleri, birçok serbest radikal üzerinde temizleyici etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Antioksidan enzim düzeylerini artırarak oksidatif stresi azaltır. Zerdeçal; lipoliz, lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarını inhibe ettiği birçok in vivo ve in vitro çalışmada gösterilmiştir (11,12).

Çalışmalar kurkuminin antioksidan aktivitesinin kalbi koruyucu rolü olduğunu ve 300 mg/kg olarak kullanılan dozun antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermiştir (2,13,14). Kavaklı ve diğerleri (2011) tarafından yapılan bir araştırma, kurkuminin omurilik dokularını oksidatif hasara karşı etkili bir şekilde koruduğu sonucuna varmıştır (15). Zerdeçalın güçlü antioksidanlarla karşılaştırılabilir güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olması, kurkumin birçok hastalığın tedavisinde potansiyel bir antioksidandır (11, 12, 16). Yaklaşık 60 kg ağırlığındaki bir kişinin günde ortalama 60-100 mg kurkumini güvenle alabileceği bildirilmiştir (17). Yüksek dozlarda bile kurkuminin bilinen bir toksisitesi yoktur. Ancak yüksek dozlarda uzun süreli kullanım bazı fare ve sıçan türlerinde hepatotoksisiteye neden olabilmektedir (10, 17). Birçok in vitro çalışma, kurkuminin kronik karaciğer hastalıklarına karşı koruyucu ve iyileştirici etkilerinin olduğunu göstermektedir. İn vivo hayvan çalışmaları, karaciğer hasarının belirli yollarını etkisiz hale getirerek anti-fibrojenik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (7, 18).

Thiyagarajan ve Sharma (2004) sıçan serebral iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde kurkuminin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini, antioksidan savunma enzimlerini artırdığını ve serbest radikal oluşumunu ve doku hasarını azalttığını göstermişlerdir (2). Çalışmamızda kurkumin verilen grupta TAS düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ($P<0.05$) saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Bu sonuca göre kurkuminin antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği

sonucuna varılmıştır. Araştırmamızı destekleyen literatür, zerdeçalın antioksidan özelliğinin fenolik bileşen kurkuminden kaynaklandığını ileri sürmektedir (8). Birlikte ele alındığında, bu çalışmanın sonuçları, 12 gün boyunca kurkumin verilen sıçanların karaciğer dokusunun oksidatif hasara karşı korunduğunu ve antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiğini göstermektedir.

Özetle yaptığımız bu çalışma, kurkumin takviyesinin yetişkin sıçanlarda karaciğer dokusunun oksidatif/antioksidan durumunu etkilediğini ve antioksidan özelliği nedeniyle bu etkileri engelleyebileceğini göstermiştir. Çalışmamızda elde edilen bilgiler de literatürdeki bilgileri destekler niteliktedir. Bu konuyu tam olarak aydınlatmak için yaptığımız çalışmalara ek olarak, kurkuminin insan vücudu üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak için çeşitli organlarda ve metabolik yollardaki moleküler etkilerini netleştirmek için daha fazla araştırma yapılmıştır. Daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. kurkuminin antioksidan özelliklerinin doku ve sistemler üzerindeki etkileri sınırlıdır. Çalışmamızda kurkuminin karaciğerde oksidatif/antioksidan durumunun belirlenmesi ilerideki araştırmalar için faydalı olacaktır.

Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.

Çalışmanın Etik Kurul izni, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 01.03.2017 tarih ve 278 numaralı karar ile alınmıştır.

Kaynakça

- 1- Choudhuri T, Pal S, Agwarwal ML, Das T, Sa G. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction. FEBS Lett; 2002;512(1-3):334-40.
- 2- Thiyagarajan M, Sharma SS. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. Life sciences. 2004;74(8):969-85.
- 3- Oğuz A. Hepatik İskemi Reperfüzyon Hasarında Curcumin'in Karaciğer Ve Uzak Organ Üzerine Etkilerinin Araştırılması: Tıpta Uzmanlık Tezi. Dicle Ün. Tıp Fak. Genel Cerrahi ABD; Diyarbakır, 2010.
- 4- Erel O. A novel automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem, 2005;38: 1103–1111.
- 5- Besler HT, Comoglu S, Okcu Z. Serum levels of antioxidant vitamins and lipid peroxidation in multiple sclerosis. Nutr Neurosci; 2002;5(3): 215–20.
- 6- Gupta SC. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2012;39(3): p. 283-299.
- 7- Vera-Ramirez L. Curcumin and liver disease. Biofactors, 2013;39(1): p. 88-100.
- 8- Ak T, Gülçin İ. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. Chemico-biological interactions 2008;174(1): p. 27-37.
- 9- Auger C. Dysfunctional mitochondrial bioenergetics and the pathogenesis of hepatic disorders. Frontiers in cell and developmental biology, 2015;3.
- 10- Casas-Grajales S, Muriel P. Antioxidants in liver health. World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics, 2015;6(3): p. 59-72.
- 11- Pari L, Tewas D, Eckel J. Role of curcumin in health and disease. Arch Physiol Biochem; 2008;114: 127-149.
- 12- Sharma R, Gescher A, Steward W. Curcumin: the story so far. Eur J Cancer; 2005;41(13):1955-68.
- 13- Duan W, Yang Y, Yan J, Yu S, Liu J, Zhou J. The effects of curcumin post-treatment against myocardial ischemia and reperfusion by activation of the JAK2/STAT3 signaling pathway. Basic Res Cardiol, 2012;107:263.
- 14- Naik SR, Thakare VN, Patil SR. Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. Exp Toxicol Pathol, 2011;63:419-31.

- 15- Kavaklı HS, Koca C, Alici O. Antioxidant effects of curcumin in spinal cord injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2011;17(1): p. 14-18.
- 16- Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. *Archives of gerontology and geriatrics*. 2002;34(1):37-46.
- 17- Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (*Curcuma longa*). *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*,2003;9(1): p. 161-168.
- 18- Ghosh N. Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases. *Pharmaceutical biology*,2011;49(9): p. 970-988.