

**AFYOKARAHİSAR YÖRESİNDEKİ SAPONİN İÇERİĞİ
YÜKSEK BİTKİLERİN RADYASYONA KARŞI
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ekrem BATTAL

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR

KİMYA ANABİLİM DALI

Eylül 2008

Bu tez çalışması 104T187 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AFYOKARAHİSAR YÖRESİNDEKİ SAPONİN İÇERİĞİ
YÜKSEK BİTKİLERİN RADYASYONA KARŞI
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ekrem BATTAL

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR

KİMYA ANABİLİM DALI

Eylül 2008

ONAY SAYFASI

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR danışmanlığında,
Ekrem BATTAL tarafından hazırlanan

**Afyonkarahisar Yöresindeki Saponin İçeriği Yüksek Bitkilerin Radyasyona Karşı
Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi** başlıklı bu çalışma, lisansüstü eğitim ve
öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri

uyarınca

11/09/2008

tarihinde aşağıdaki jüri tarafından

Kimya Anabilim Dalında

Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı, SOYADI	İmza
Başkan	Yrd. Doç. Dr. Cemal ÇİFCİ	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Mehmet KARABACAK	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR	

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Zehra BOZKURT
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER	<u>SayfaNo</u>
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
ŞİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Saponinler	3
2.1.1 Saponinlerin Sınıflandırılması	4
2.1.2. Saponinlerin Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanımı	5
2.1.2.1 Hücre membranlarındaki etkileri	5
2.1.2.2 Lipid metabolizması üzerine etkileri	5
2.1.2.3 Antioksidan etkileri	6
2.2 Sabunotu (<i>Saponaria Officinalis</i>)	7
2.3 Radyasyon ve Çeşitleri	8
2.3.1 İyonize Radyasyonun ve Biyolojik Etkileri	11
2.3.1.1 Somatik etkiler	11
2.3.1.2 Genetik etkiler	14
2.3.2 Radyasyonun Etki Mekanizması	15
2.3.2.1 Fiziksel olay	15
2.3.2.2 Fizikokimyasal olay	16
2.3.2.3 Kimyasal olay	16
2.3.2.4 Biyolojik olay	17

2.4 Antioksidan Aktivite	17
2.4.1 Doğal Antioksidanlar	18
2.4.1.2 Enzimatik antioksidanlar	20
2.4.1.2.1 Süperoksitdismutaz (SOD)	20
2.4.1.2.2 Glutatyonperoksidaz (GPx)	21
2.4.1.2.3 Katalaz	21
2.4.1.3 Enzimatik olmayan antioksidanlar	22
2.4.1.3.1 C Vitamini	22
2.4.1.3.2 β-Karoten	23
2.4.1.3.3 Glutatyon (GSH)	23
2.5. Serbest Radikaller	24
2.5.1 Serbest Radikal Oluşumu ve Reaktif Oksijen Türleri	25
2.5.1.1 Süperoksit anyon radikali (O ₂ ⁻)	26
2.5.1.2 Hidrojen peroksit	27
2.5.1.3 Hidroksil radikali	28
2.5.1.4 Singlet oksijen	29
2.5.1.5 Hipokloröz asit	29
2.5.1.6 Nitrik oksit	30
2.5.2 Serbest Radikal Kaynakları	30
2.5.3 Serbest Radikallerin Etkileri	31
2.5.3.1 Serbest radikallerin lipidlere etkileri	32
2.5.3.2 Proteinler üzerine etkileri	34
2.5.3.3 Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri	35
3. MATERYAL VE METOD	36
3.1. Materyal	36

3.1.1 Araç ve Gereçler	36
3.1.2. Kimyasal Maddeler	37
3.1.3 Saponin İçeren Bitkini Toplanması, Karakterizasyonu ve Saponinlerin Ekstraksiyonu	38
3.1.4 Hayvan Materyali	39
3.2. Metot	40
3.2.1 Ratlara X-radyasyonunun Verilmesi	40
3.2.2 Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	40
3.2.3 Biyokimyasal Analizler	41
3.2.3.1 GSH tayini	41
3.2.3.2 MDA tayini	42
3.2.3.3 β -Karotin düzeyi ölçümü	42
3.2.3.4 Askorbik asit düzey ölçümü	43
3.2.3.5 Antioksidan aktivite tayini	44
3.2.3.6 Üre-azot tayini	44
3.2.4 İstatistik Analizler	44
3.2.5 Hayvan Etik Kurulu	44
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	53
6. KAYNAKLAR	61
6.1 İnternet Kaynakları	68

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AFYOKARAHİSAR YÖRESİNDEKİ SAPONİN İÇERİĞİ YÜKSEK BİTKİLERİN RADYASYONA KARŞI ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ekrem BATTAL

**Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Do. Dr. Hüseyin ENGİNAR

Saponin içeren farklı dozlardaki sabunotu (*Saponaria officinalis*) ekstreleriyle beslenen ratlardaki X-radyasyonunun (XR) neden olduğu oksidatif strese karşı glutatyon seviyeleri ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada 100 adet Albino Wistar rat 10 gruba ayrıldı. Bu gruplarda iki adet kontrol grubu iki adet XR grubu bir adet 100 mg/kg ekstre grubu iki adet 100 mg/kg ekstre + XR grubu bir adet 200 mg/kg ekstre grubu iki adet 200 mg/kg ekstre + XR grubu mevcuttur. Çalışma sonunda kandaki malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), askorbik asit (AA), retinol ve β -karoten, antioksidan aktivite(AOA) ve üre-azot konsantrasyonları ölçülmüştür. Bu çalışma sonucunda retinol haric tüm tümgruplarda istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmuştur. Radyasyon verilen gruplarda GSH ($p < 0.01$) değeri kontrol gruplarına göre radyasyonla anlamlı bir şekilde azalmış olmasına rağmen sabunotu ekstresi ile beslenen gruplarda ise bu değer artmıştır. Yalnız radyasyon verilen grupta MDA değeri kontrol grubuna göre artış gösterirken zamanla bu değer düşüğü görülmüştür. S verilen tüm gruplarda ise MDA değerlerinin kontrol gruplarının değerlerine yakın çıkmasına karşın radyasyon verilen ve sabunotu ekstresi ile beslenen gruplarda bu değer düşüğü bulunmuştur. Gerek sabunotu ekstresi ile beslenen gruplarda gerekse kontrol gruplarında radyasyon verilen gruplara göre vitamin-C konsantrasyonu düşmüş ve bu düşüş 21 gün boyunca devam etmiştir. Radyasyon verilen tüm gruplar sabunotu ekstresi ile beslenen gruplar ve kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında radyasyon gruplarında AOA ve β -karoten değerlerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Radyasyon ve sabunotu ekstresi verilen grupların üre-azot konsantrasyonu kontrol

grubuyla karşılaştırıldığında bu değerlerin anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur. Bulunan sonuçlara göre, sabunotu ekstresi antioksidan sistemi güçlendirdiği, radyasyona maruz kalan ratlarda serbest radikallerin neden olduğu lipit peroksidasyonu düşürdüğü görülmüştür.

2008, 68 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Sabunotu (*Saponaria officinalis*) ekstresi, Lipit peroksidasyon, saponin, X-ışınları, Rat

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PLANT CONTAINING SAPONINE IN AFYONKARAHISAR REGION AGAINST TO RADIATION

Ekrem BATTAL

Afyon Kocatepe University
Institu for the Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry,

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hüseyin ENGINAR

Protective effect of saponin containing extract from *Saponaria officinalis* against X-radiation (XR)-induced oxidative stress in rat were evaluated for in lipid peroxidation (LPO) product and levels of glutathione. 100 Albino Wistar rats were divided ten group containin ten rats in each group. These groups are containing two control, two X-radiation (XR), one 100 mg/kg *Saponaria officinalis* extract (SE), two 100 mg/kg + XR, one 200 mg/kg SE and two 200 mg/kg SE + XR groups. We assayed the effects of XR and XR+administration of SE (100 mg/kg, 200 mg/kg) on serum malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), reduced ascorbic acid (AA), retinol β -caratone antioxidant activity (AOA) and urea-nitrogen concentrations in rats. All experimental parameters were found meaningful statistically except retinol concentration. When control groups compared with XR and SE giving groups, the plasma GSH ($p < 0.01$) value significantly decreased in XR group but its value increased in extract groups. Only giving XR groups, the plasma MDA ($p < 0.01$) value significantly increased with respect to control group but this concentration decreased timely. MDA values in all SE groups were found approximately to control group but this concentration were decreased in XR+ SE-treated groups. Vitamin-C concentration was decreased in SE group or control group compared with XR group and these falling values continued 21 days after giving radiation. When all radiation treated group compared with control and only SE treated

groups, AOA (p <0.03) and β -caroten values(p <0.013) significantly decreased in radiation treated group. Urea-nitrogen concentratins(p <0.001) were increased importantly in XR and SE treated group compared with control groups. The results showed that all extract have enhanced the antioxidant status and have decreased the incidence of free radical-induced lipid peroxidation in blood sample of rats exposed XR.

2008, 68 pages

Keywords: *Saponaria officinalis* extract, Lipid peroxidation, saponin, X-rays, Rat

TEŞEKKÜR

Bu alıŐma Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakóltesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR yönetiminde hazırlanarak Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuŐtur. Yüksek lisans öğrenciliğim boyunca ders ve tez aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yanımda olan, hayatım boyunca da unutamayacağım dersler almıŐ olduğum değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR'a teşekkür ederim. Kan parametrelerinin değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Dr. İsmail KÜÇÜKKURT'a ve Yrd. Doç. Gülcan AVCI'ya teŐekkürlerimi bir borç bilirim. Deneysel alıŐmalar sırasında Kimya Bölümün her türlü imkânlarını bize sunan Doç. Dr. İbrahim EROL'a teŐekkürlerimi bir borç bilirim.

Ekrem BATTAL

AFYONKARAHİSAR, Eylül 2008

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1.Simgeler

HO^*	Hidroksil radikali
HO_2^*	Hidroperoksi radikali
LOO^*	Lipit peroksit
O_2	Moleküler oksijen gazı
O_2^*	Süperoksit radikali
NO^*	Nitrik oksit radikali
OH^-	Hidroksil iyonu
H^+	Hidrojen iyonu

2.Kısaltmalar

AA	Askorbik asit
ADP	Adenin difosfat
AOA	Antioksidan aktivite
BH	Biyolojik molekül
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen daimin tetra asetik asit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GRUP 1	Negatif kontrol grubu
GRUP 2	CMC Kontrol grubu

GRUP 3	Rradyasyongrubu(IR) +1
GRUP 4	Rradyasyongrubu(IR) +21
GRUP 5	100 mg/kg Saponin kontrol
GRUP 6	100 mg/kg Saponin + IR +1
GRUP 7	100 mg/kg Saponin + IR +21
GRUP 8	200 mg/kg Saponin kontrol
GRUP 9	200 mg/kg Saponin + IR +1
GRUP 10	200 mg/kg Saponin + IR +21
GSH	Redükte glutatyon
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
GST	Glutatyon S-transferaz
GTP	Guanin trifosfat
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
Gy	Grey
LH	Yağ asidi
LP	Lipit peroksidasyonu
LPO	Lipit peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
RNA	Ribo nükleik asit
RNS	Reaktif nitrojen türlerinden
ROS	Reaktif oksijen türleri
SE	<i>Saponaria officinalis</i> extract
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
Sv	Sievert

TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbiturik asit substratı
TCA	Trikloroasetik asit
XR	X radyasyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa No
Şekil 2.1	Steroidal yapıdaki saponinlerin yapısı.	3
Şekil 2.2	Triterpenoid saponinlerin yapısı.	4
Şekil 2.3	Sabunotu.	7
Şekil 2.4	Alfa, beta ve gama ışınlarının giriş güçleri.	9
Şekil 2.5	Radyasyon kaynakları dağılımı.	10
Şekil 2.6	Radayasyonun doğrudan etkisi (DNA molekülüne verilen zarar).	15
Şekil 4.1	Tüm grupların GSH değerleri.	46
Şekil 4.2	Tüm grupların MDA değerleri.	47
Şekil 4.3	Tüm grupların Vit-C değerleri.	48
Şekil 4.4	Tüm grupların AOA değerleri.	49
Şekil 4.5	Tüm grupların β -karoten değerleri.	50
Şekil 4.6	Tümgrupların retinol değerleri.	51
Şekil 4.7	Tüm grupların üre-azot değerleri.	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1 Radyasyonun doku üzerine etkileri	12
Çizelge 2.2 Bütün vücudun büyük dozlara maruz kalmasından sonra meydana gelecek belirtiler ve sonuçları	13
Çizelge 2.3 Endojen kaynaklı antioksidanlar	19
Çizelge 2.4 Eksojen kaynaklı antioksidanlar	20

1.GİRİŞ

Yaşadığımız çağda hızlı gelişen teknolojik gelişmelerle insanlar radyasyona doğal yoldan (fon radyasyonu) veya tanı ve tedavi amaçlı olarak maruz kalmaktadırlar. Alınan radyasyon iyonlayıcı radyasyon ise, hücrede bulunan atom veya moleküllerin elektronlarını uyararak veya kopararak atom veya molekülü aktif hale getirir.

Radyasyonun biyolojik etkiler meydana getirdiği, X ışınlarının 1895 yılında keşfedilmesinden hemen sonra gözlenmiştir. O yıllarda X- ışınlarına fazla maruz kalma sonucu ciddi cilt reaksiyonları ve epilasyon (saç ve kılların dökülmesi) meydana geldiği görülmüştür. Daha sonra bu ışınlara maruz kalmanın sadece cild üzerine tahribat yapmakla kalmayıp, vücut organları üzerinde sistematik tahribat meydana getirdiği de anlaşılmıştır.

Tanı ve tedavide kullanılan radyasyon atom ve molekülleri iyonlaştıracak güce sahiptir. Oluşan bu ürünler hücre membranı üzerine zarar vererek ters etki yaparlar. Hücrede oluşan aktif serbest radikaller, biyomolekülü oksitleyerek hücrenin ölümüne ve daha sonrada dokunun zedelenmesine neden olur. Böylece iyonize radyasyonun hücre ve doku üzerinde etkisi çıkmış olur.

Bir maddenin çift oksijenle reaksiyonunu engelleyen veya radikal reaksiyonlarını durdurabilen bileşikler antioksidan maddeler olarak bilinirler. Metabolizmada antioksidan sistemleri bulunursa, hücre zarı serbest radikallerin vereceği tahribata karşı korumuş olur. İyonize radyasyon vücuda verildiği zaman hem sağlıklı hem de sağlıklı olmayan hücreleri aynı şekilde etkiler. Radyasyon tedavisinde sağlıklı hücrelerin antioksidan bileşiklerle korunması ve radyasyonun oluşturduğu serbest radikallerde tümör hücrelerini tahrip ederek öldürmesi istenir.

Son zamanlarda sağlık alanında yapılan araştırmalar, gerek hastalıkların tedavisinde gerekse koruyucu hekimlikte bitkisel ürünlerin önemini göstermektedir (Dündar 2001). Bu bitkiler olası koruyucu etkilerinin taşıdıkları antioksidan özellikli maddelerden oluştuğu ve antioksidanların hücreleri doğal oksidasyon reaksiyonlarından koruduğu fark edilmiştir.

Doğal bileşiklerle (sebze, meyve, hububat, baklagiller) beslenen uzak doğu ülkelerinde, kanser (meme, prostat ve kolon) (Constantinou vd. 1996), kalp hastalıkları, hipertansiyon, diyabet ve diğer birçok vakalarının gelişmiş ülkelere göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bunun temel nedeni ise bitkisel diyetlerin olası koruyucu etkilerinin taşıdıkları antioksidan özellikli maddelerden oluştuğu ve antioksidanların hücreleri doğal oksidasyon reaksiyonlarından korunmasıdır.

Günümüzde, bitkiler ve bitkilerin içerisinde bulunan farklı maddeler birçok hastalığın tedavisinde kullanımı her geçen gün artmaktadır. Bu maddelerden biri de saponinlerdir. Doğada pek çok bitkide bol miktarda bulunan saponin Afyonkarahisar yöresinde yetişen birçok bitkide de mevcuttur. Sabunotu, yonca, atkestanesi, yılan yastığı, karamık, lotus gibi bitkilerin saponin içerikleri oldukça yüksektir.

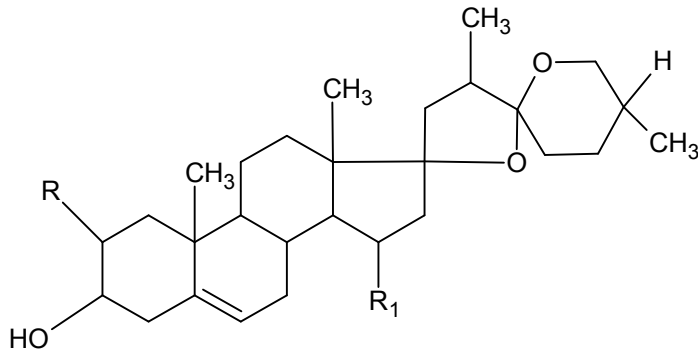
Bilim adamları saponin içeriği yüksek bitkileri gerek beşeri hekimlikte gerekse hayvan sağlığının korunmasında kullanmaktadırlar. Bu çalışmalar sonucunda; saponinlerin hipokolesterolemik, antikarsinogenik, antioksidan, antiinflamator, antimikrobiyel, antiprotozoal, antifungal ve antihipertansif etkileri olduğu bildirilmiştir (Ono ve Yamaguchi 1999, Vegamania 1995, Öztaşan vd. 2004).

Bu çalışmada, sabunotundan saponin içeren ekstre elde edilmiştir. Bu ekstre nin değişik dozlarının X-radyasyonuna karşı antioksidan özelliklerinin araştırılması yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

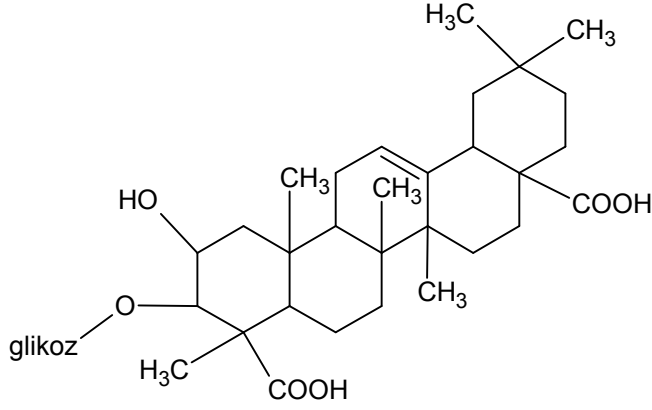
2.1 Saponinler

Saponin yüksek molekül ağırlıklı, genellikle triterpenik veya steroidal bir aglikona sahip maddelerdir (Oleszek 2002). Saponinler hem suda hem de yağda çözünebilir maddeler olduğu için yüzey gerilimini düşürücü özelliğe sahiptirler. Yapılarında büyük bir aglikagon (saponin) molekülü ile şeker ve üronik asit moleküllerinden oluşur. Saponin yapısına bağlı olarak saponinler iki ana grupta toplanır (steroit (şekil 2.1) ve triterpenler (şekil 2.2))



Şekil 2.1 Steroidal yapıdaki saponinlerin yapısı.

Steroid saponinler genel olarak eşey hormonları, kortizon ve durtamini gibi maddelerin bileşiminde başlangıç maddesi olarak kullanılırlar. Bu yüzden de sanayide çok değerli bileşikler olup doğada pek çok bitkide bolca bulunur.



Şekil 2.2 Triterpenoid saponinlerin yapısı.

Önceleri saponinlerin sadece bitkilerde bulunduğu düşünülürken, bazı deniz hayvanlarında da bu tip bileşiklerin bulunduğu tespit edilmiştir. *Echinodermata* (derisidikenliler), *Holothuroidae* (denizkadayıfı), *Asteroitae* (denizyıldızı) familyalarına dâhil canlılardan da yapıca farklı, fakat özellikleri bakımından saponin karakterinde bileşikler izole edilmiştir (Sen 1998).

Saponinler, insan ve hayvan beslenmesinde birçok biyolojik özelliklere sahip maddelerdir. Bunların membran geçirgenliği, savunma sistemini uyarması, antikanserojenik özelliklere sahip oldukları ve ayrıca hayvanlarda büyümeyi, besleme ve üremeyi etkilediği saptanmıştır. Yapılarının değişik oluşu, protozoan öldürdüğü, antioksidan özelliğinin olduğu, sindirimde proteinleri, midede vitamin ve mineralleri bozduğu, hypoglisemi, antifungal ve antiviral etki gösterdiği bildirilmiştir (Öztaşan 2004).

2.1.1 Saponinlerin Sınıflandırılması

Saponinler, aglikonlarının yapılarına göre değişik gruplar altında toplanırlar (Yeşilada 1995, Sparg 2004).

- Steroidal saponinler

- Triterpenik saponinler
- Aglikonu asit olan ve üronik asit taşıyan saponinler
- Hayvansal saponinler

Gerek steroidal ve gerekse triterpenik tip saponinler taşıdıkları karbonhidrat zinciri sayısına göre iki grup altında toplanabilirler. Monodezmozidik saponinler bir karbonhidrat zinciri taşırlar, bisdezmozidik saponinler ise iki karbonhidrat zinciri taşırlar. Monodezmozidik yapıda olanlar tipik saponin özellikleri gösterirken, bisdezmozidiklerin bu özellikleri hemen hemen yoktur.

2.1.2 Saponinlerin Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanımı

2.1.2.1 Hücre membranlarındaki etkileri

Saponinlerin biyolojik etkileri membranlar üzerinde olmaktadır. Saponinlerin membranlarda gözenek oluşturması fizyolojik araştırmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Plock 2001). Saponinlerin eritrosit membranları üzerinde litik etkisi çok eskiden bilinmekte ve bu özellikleri saponinlerin tanınmasında kullanılmaktadır (Kaya 1995) .

Saponinlerin sebep olduğu lezyonlar membran yüzeyindeki saponinler ve kolesterolün oluşturduğu misel benzeri yapılar olarak düşünölmektedir. Saponin molekülleri kolesterolle birleşerek membranın dış yüzeyi hidrofobik hale getirirler (Franchis 2002).

2.1.2.2 Lipid metabolizması üzerine etkileri

Saponinlerin hem yağda hem de suda çözünebilmeleri yüzey gerilimini düşürücü etkiye ve deterjan özelliğine sahip olmaları nedeniyle, safra asitleri, yağ asitleri, digliseritler ve

yağda çözünen vitaminleri içeren misellerin oluşumu da dâhil olmak üzere sindirim sisteminde yağda çözünen maddelerin emulsifikasyonunu etkilerler (Cheeke 1999).

Yüzlerce safra asiti ve saponin molekülleri, hidrofobik çekirdek kısmı içe, hidrofilik karbonhidrat kısmı dışa gelecek şekilde kompleksler oluştururlar (Morehouse 1999).

Saponin içeren bitkilerin yedirildiği veya saponin ekstraktı verilen insan ve çeşitli hayvanlarda lipid metabolizmasının etkilendiği görülmüştür. Ratlarda, tavşanlarda, piliçlerde ve insanlarda saponinlerin serum kolesterol düzeyini azalttığı bildirilmiştir. Whitehead ve grubu (1981) saponinlerin, karaciğer lipid ve plazma trigliserit konsantrasyonunu azalttığını, ancak karaciğer kolesterol ve plazma yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini ise etkilemediğini saptamışlardır.

2.1.2.3 Antioksidan etkileri

Antioksidanlar oksidatif zincir reaksiyonlarının başlamasını ve devam etmesini engelleyen lipidlerin oksidasyonunu geciktiren ya da durduran bileşiklerdir. Bunlar serbest radikallerin, singlet ve triplet oksijenin nötralize edilmesinde veya peroksidazların dekompozisyonunda önemli rol oynarlar (Javanmardi 2003). Çay saponinleri ile ratlarda yapılan çalışmada antioksidan etkinin ksantin, ksantin oksidaz sistem üzerinden olduğu bildirilmiştir (Sur 2001).

Siyah ve yeşil çayın insanlar üzerindeki antioksidan etkileri de polifenolik bileşiklere bağlanmaktadır. *Panax ginseng*'in metanollü ekstaktındaki saponinlerin de antioksidatif özelliklerinin bulunduğu bildirilmektedir.

2.2.Sabunotu (*Saponaria Officinalis*)

Anayurdu bilinmemekte, ancak Avrupa, Asya'nın batısından doğu Türkistan'a kadar uzanan geniş bir alana sahiptir. Ülkemizde nemli yerlerde, özellikle Karadeniz bölgesi'nde sıkça görölmektedir.

Sabunotu 30-80 cm boyunda çok yıllık, oldukça nadiren çatallaşan bir bitkidir. Kökleri yeraltında yatay olarak çevresine yayılır, parmak kalınlığında, dışı kahverengimsi, içi beyaz renkli ve köklerinin sürgünleri ile çevresinde kümeler oluşturur. Gövdesi sağlam yapılı, yeşil veya kahverengimsi yeşil renkte ve yuvarlaktır.



Şekil 2.3 Sabunotu

Familyası: Karafilgillerden, Caryophyllaceae, Nelkengewaechse dir. Bilinen bileşimi: saponin, sapurubinler, sapurobin asidi, sapotoksin, karbonhidratlar, yağlı maddeler ve tuzlar, vitamin C. Etken maddesi, kök ve yapraklarda bulunan saponindir. Drogda saponazid miktarı %1-5 civarında bulunmaktadır. Kökler saponinleri (%5 civarında) taşımaktadır (<http://www.agaclar.net/forum/showthread.php?t=1256>).

2.3 Radyasyon ve Çeşitleri

Elektromanyetik dalgalar veya parçacıklar biçimindeki enerji aktarımına radyasyon denir. Bir kaynaktan çevreye parçacık akışı veya dalga biçiminde enerji salınımı olarak tanımlanabilir. Kararsız durumda olan bir atom çekirdeğinin değişik şekillerde radyasyonlar yayınlamak kararlı duruma geçme eğilimine radyoaktivite, bu olaya da radyoaktif bozunma adı verilir.

Atomdan elektron koparmak için yeterli enerjiye sahip olan radyasyona iyonize radyasyon denir. İyonize radyasyonlar doğal veya yapay olabilirler. En çok karşılaşılan iyonize radyasyon tipleri alfa radyasyonu, beta radyasyonu, gama radyasyonu, X-ışınları ve nötron radyasyonudur.

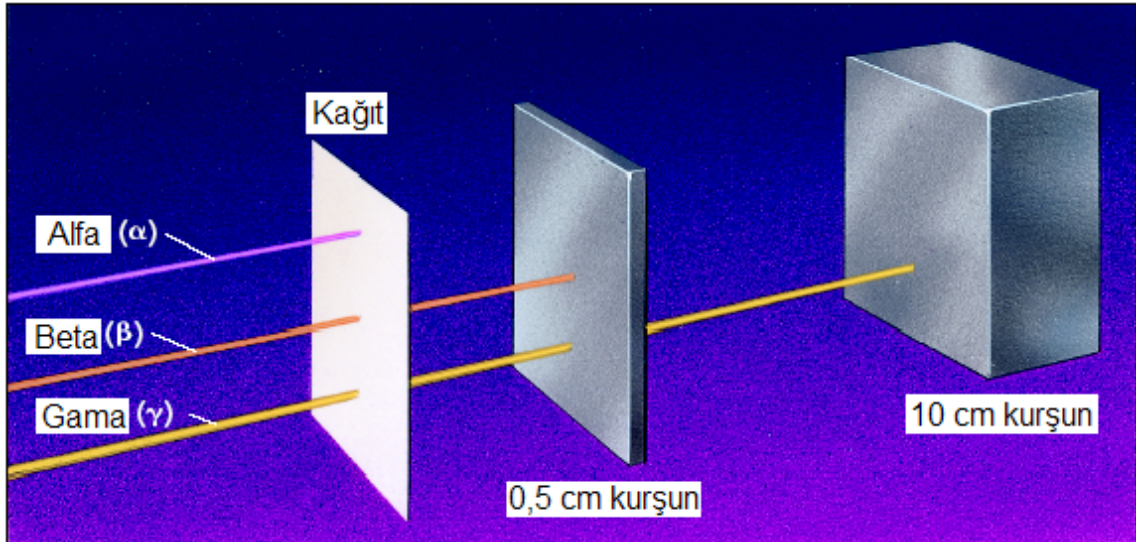
Alfa radyasyonu, İki nötron ve ağır pozitif yüklü iki protondan oluşmuş alfa tanecikleridir. Uranyum, plutonyum, radyum, radon gibi ağır elementlerden yayınlanırlar. Havada birkaç cm den uzağa gidemeyen alfa radyasyonunu bir kâğıt kalınlığı veya derinin en dışındaki ölü tabaka bile durdurabilir. Ancak alfa yayınlayan radyoaktif madde vücut içine alınırsa bütün enerjisini çok küçük bir alanda etrafındaki hücrelere aktarır ve bu nedenle oldukça yıkıcı olmaktadır (Erdik 1998).

Beta radyasyonu, Kütleleri çok hafif, negatif yüklü parçacıklar olup alfalardan daha ileri mesafelere ulaşabilir. Derinin sadece üst tabakasına girebilir, yanıklara yol açabilirler ve vücut içinde çevresindeki dokuları ışınlar. Bir metal tabakası, pencere camı ve sıradan giysilerle durdurulabilirler (Erdik 1998).

Gama radyasyonu, elektromagnetik dalga enerjisidir. Havada ulaşabileceği mesafeler oldukça uzundur. Bir madde içine girdiğinde ortam molekülleri ile etkileşerek enerjisini kaybetmeye başlar. Kurşun ve beton gibi yoğun maddeler bu ışınlar karşı korunmada kullanılır (Erdik 1998).

X-ışınları, X-ışını tüplerinden yapay olarak elde edilen ışınlardır. Gama ışınlarına benzer fiziksel özellik gösterirler (Erdik 1998).

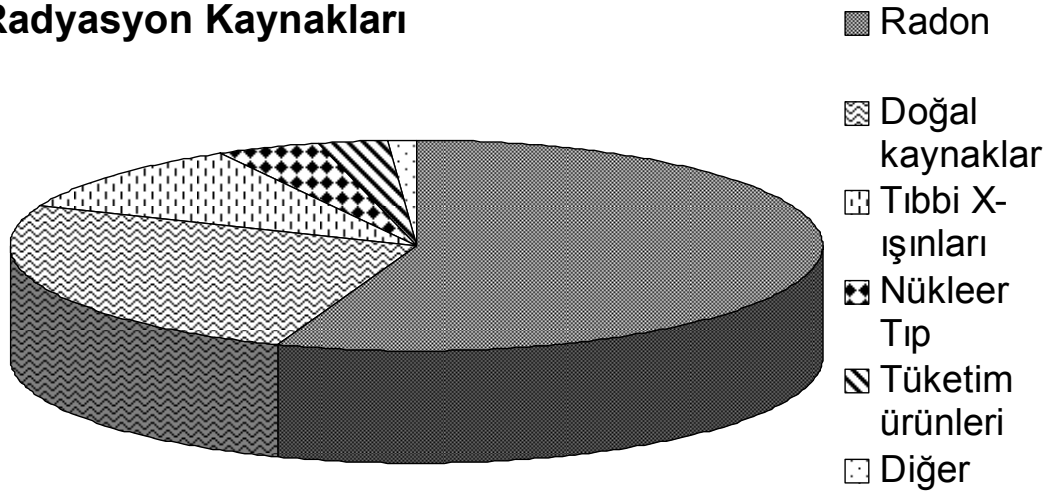
Nötron radyasyonu, nükleer güç elde edilirken oluşur ve direk iyonize etkisi yoktur. Ancak başka bir atomun çekirdeğine çarparak onu aktif hale getirip gama ışınları yayınlanmasına neden olabilirler. Durdurmak için kalın beton veya su kullanılmaktadır. Nötronlar kütlesi büyük, yüksüz parçacıklar olup gama ışını ile kıyaslandığında organlarda 20 kat daha fazla hasara neden olabilir. Şekil 2.2 de çeşitli radyasyonların etki mesafeleri görülmektedir (Demir 2000).



Şekil 2.4 Alfa, beta ve gama ışınlarının giriş güçleri.

Yaşamış olduğumuz dünya doğal ve yapay radyasyonların etkisi altında bulunmaktadır. Dünyadaki radyasyon kaynakları şekil 2.5 de belirtilmektedir.

Radyasyon Kaynakları



Şekil 2.5 Radyasyon kaynakları dağılımı.

Doğal radyasyon insanların katkısı olmaksızın oluşan radyasyonlardır. Dış ve iç kaynaklı olabilirler. Dış kaynaklı olanlar kozmik ışınlar ve yeryüzündeki kayalar ile toprakların yapısında bulunan radyoaktif elementlerin yaydığı radyasyonlardır. İç kaynaklı olan ise canlıların vücudunda doğal olarak bulunan K-40 ve C-14 gibi maddeler ile radon gazı gibi radyoaktif izotopların yaydığı radyasyondur. Bireylerin doğal radyasyondan aldıkları doz oranı dünyanın çeşitli bölgelerinde farklılıklar gösterir. Deniz seviyesinden yükseklik arttıkça kozmik ışınlardan alınan doz oranı da artar.

Yapay radyasyon, insan aktiviteleri sonucu çevreye salınan radyoaktif maddeler nedeniyle oluşur. Yapay radyasyonlar tıp, endüstri, sterilizasyon, gıda korunması ve

tarım gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Nükleer silahlar ve nükleer santral kazaları ile dünyadaki radyoaktivite düzeyleri insanlar tarafından artırılmaktadır (Göksel 1973).

2.3.1 İyonize Radyasyonun Biyolojik Etkileri

Bir radyasyon etkilemiş olduğu atom veya molekülün bağ elektronlarını yerinden kopartarak atom veya molekülden uzaklaştırabiliyorsa bu radyasyona iyonize radyasyon denir. İyonize radyasyon, doku ve organın büyümesinde aksaklıklara veya ölümüne sebep olur. Radyasyon hasarları, ışınlanan doku veya organların radyasyona karşı duyarlılıklarına ve bu doku ve organların vücutta gördükleri fonksiyona bağlıdır. Doku ölümü, tamir olunamayan hasarlardan ileri gelir, doku tamamen tahrip olmamışsa tamir olayı başlayarak normal hücre fonksiyonları geçici olarak durur ve ölen hücrelerin yenilenmesi için hücreler hızla çoğalır. Radyasyonun doku ve organlar üzerindeki en önemli etkisi kan ve kemik iliğinde görülür. İyonize radyasyonun biyolojik etkileri somatik ve genetik etkiler şeklinde sınıflandırılabilir (Yülek 1992).

2.3.1.1 Somatik etkiler

Vücuttaki atom ve moleküllerin radyasyonla etkileşmesi sırasında organizma tarafından soğrulan enerji yeterikadar büyükse biyolojik etkiler ışınlanan kişide meydana gelir. Bu etkilere iyonlayıcı radyasyonun somatik etkileri denir. Yani somatik etkiler ışınlanan kişilerin kendisinde görülen etkilerdir.

Büyük bir radyasyon dozuna bir kerede maruz kalma sonucu ortaya çıkan biyolojik etkiler kişiden kişiye önemli ölçüde değişmekle birlikte genel olarak çizelge 2.1'deki gibi özetlenebilir. Ayrıca bütün vücudun çok büyük dozlara maruz kalmasından sonra meydana gelecek belirtiler, tedavi edilip edilemeyeceği ve sonuçları çizelge 2.2'de verilmiştir.

Genel olarak bir tümör, normal vücut dokularında meydana gelen değişikliklerden hâsıl olan anormal bir doku kütesidir. Tümör etrafındaki dokulardan bağımsız büyür. Bir tümör kanser ya da habis olması için yanındaki dokulara atlaması ve onları tahrip etmesi gerekir.

Çizelge 2.1 Radyasyonun doku üzerine etkileri

Soğurulan Doz (Sv)	Biyolojik Etkiler
0-0,25	Gözlenebilir bir hasar yoktur.
0,25-0,5	Kanda geçiçi hafif değişiklikler ile gecikmiş etkiler olabilir. Sağlıklı bir kişide ciddi hasar olasılığı çok azdır.
0,5-1	Mide bulantısı ve kusma, kanda daha sonra iyileşen değişiklikler olur. Normal yaşam süresinde kısalma olasılığı vardır.
1-2	24 saat içersinde bulantı ve kusma, bir haftadan sonra saç dökülmesi, ishal kan tablosunda orta derecede değişiklikler olur. Kan yapan organlar dışında birkaç haftada iyileşme mümkündür.
2-4	1-2 saat içinde midde bulantısı ve kusma, iç kanama kan tablosunda değişiklikler, kilo kaybı, ishal, saç dökülmesi olur. 2-6 hafta içersinde % 50 ölüm olasılığı vardır.
4-6	Bir saat içersinde bulantı ve kusma, bir hafta sonunda ishal, ağız ve boğazda enfeksiyon, ateş, iç kanama, kan tablosunda ciddi değişiklikler ve hızla zayıflama olur. Işına maruz kalanların %80-100 ünün iki ay içinde ölümü, sağ kalanların çok uzun sürede iyileşmesi.

Çizelge 2.2 Bütün vücudun büyük dozlara maruz kalmasından sonra meydana gelecek belirtiler ve sonuçları

Doz Ağırlığı Gy	1	1-2	2-6	6-10	10-15	15 Büyük
Tedavi ihtiyacı	İhtiyaç yok	Klinik müdahale	Etkin tedavi	Tedavi mümkün	Palvatif tedavi	Palvatif tedavi
Kusma ve kaç saat sonra başlayacağı	Yok	1 Gy % 5 2 Gy %50 3 saat	3Gy %50 2 saat	% 100 1 saat	% 100 30 dakika	% 100 30 dakika
Kritik organlar	Yok	Yok	Kan yapıcı dokular	Kan yapıcı dokular	Mide bağırsak sistemi	Mide bağırsak sistemi
Belirtiler	Kan tablosunda geçici değişiklik	Orta dereceli lokopeni	İleri lokopeni kanama enfeksiyon	İleri lokopeni kanama enfeksiyon	Ateş uyuşukluk ishal	Ateş uyuşukluk ishal
Tedavi	Pisiko tedavi	Psikoterapi, homotolojik tetkikler	Kan nakli antibiyotik	Kemik iliği nakli	Elektrolitik dengenin desteklenmesi	Yapılacak bir şey yok
Tedavinin sonucu	Fevkalade	Fevkalade	Koruyucu	Koruyucu	Zayıf	Ümitsiz
Ölüm	Yok	Yok	% 0-20	% 80-100	% 90-100	% 100
Ölüm zamanı	_____	_____	2 ay	2 ay	2 hafta	6 gün

Radyasyon kansere sebep olan faktörlerden biri olmakla beraber kanseri tedavi de eden bir unsurdur. Çoğalan hücrelerin radyasyona olan duyarlılığı fazladır. Bu sebeple tedavide kanserli ve sağlam dokular birlikte ışınlandığında kanserli hücreler devamlı çoğaldıklarından, radyasyondan daha fazla etkilenirler.

Radyasyonlar başlıca üç yoldan kansere neden olurlar, bunlar;

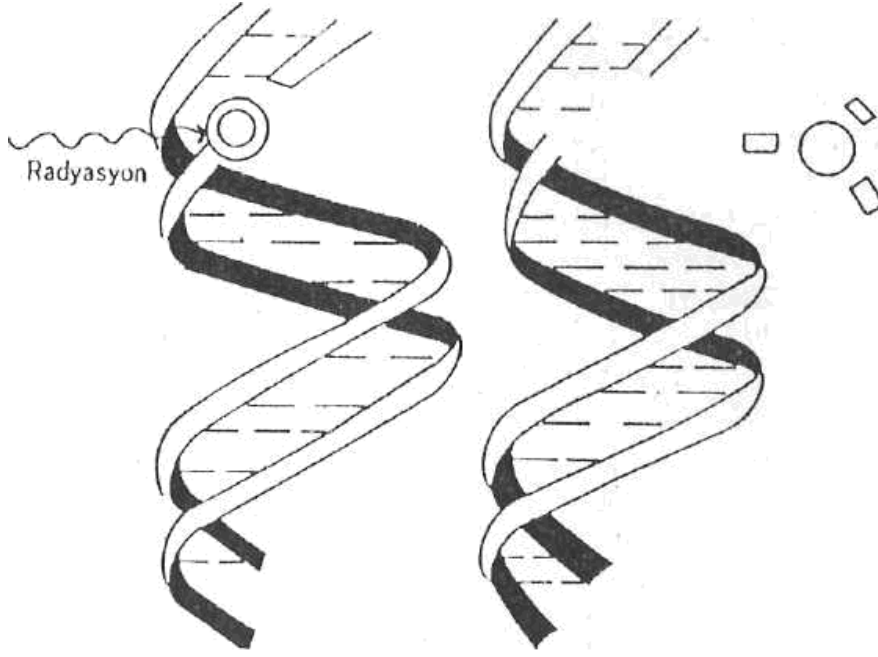
- Doğrudan etki
- Yardımcı etki
- Uzak etki

Radyasyona maruz kalmış bir doku veya organda kanser oluşması radyasyonun doğrudan etkisidir. Çok az bir radyasyona maruz kalmış bir organ veya dokuda kanserin görülmesi bu organ veya dokuda kanser yapıcı faktörlerin mevcut olduğu ancak radyasyonun bu faktörlere yardımcı olduğu kabul edilir. Vücudun bir kısmının ışınlanmasından sonra başka bir kısmında kanser ortaya çıkması, ışınlanmış dokuda meydana gelmiş özel hücreler ve kimyasal maddelerin kan dolaşımı yolu ile vücuda yayılmasından ileri gelir ki bu da radyasyonun uzak etkisidir. Radyasyonun hâsıl ettiği kanser en fazla, kan, cild, akciğer, kemik ve kemik iliğinde meydana gelir.

2.3.1.2 Genetik etkiler

Radyasyonun etkisi radyasyona maruz kalan kişilerin nesillerinde görülebilir. Buna iyonlayıcı radyasyonun genetik etkisi adı verilir. Günümüzde insanlar iki çeşit etkiye maruz kalmaktadırlar. Bunlardan biri kimyasal maddeler, diğeri ise radyasyondur.

Elektromanyetik radyasyonlar çok geniş bir enerji aralığına sahiptir. Hücre üzerinde etkili olan radyasyon ise ultraviyole ışınları ve daha enerjistik olanlardır. İyonlayıcı radyasyonların madde üzerine doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki tür etkisi vardır. Doğrudan etkisi, atom veya molekülleri iyonlaştırması veya moleküllerin kovalent bağlarını kırarak parçalamasıdır. Dolaylı etki radyasyonun serbest radikaller oluşturarak organlarda hasar meydana getirmesidir. Radyasyonun etkisi gerek doğrudan gerekse dolaylı yoldan DNA zincirini parçaladığı durumda, bu parçalanmış DNA zinciri kendinden sonraki hücrelere aktarılıyorsa radyasyonun genetik etkisi ortaya çıkmış olur. (Şekil 2.6)



Şekil 2.6 Radyasyonun doğrudan etkisi (DNA molekülüne verilen zarar).

2.3.2 Radyasyonun Etki Mekanizması

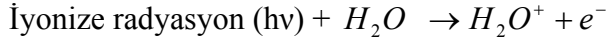
İyonlayıcı radyasyonun bir canlıda biyolojik hasar meydana getirebilmesi, radyasyonun enerjisinin canlı hücreye ve dokuya aktarılmasıyla mümkündür. İyonlayıcı radyasyonun hücrelerle etkileşmesi ile biyolojik hasarın görülmesi arasında birbirini takip eden 4 farklı olay meydana gelir.

2.3.2.1 Fiziksel olay

Radyasyon, enerjisini fotoelektrik etki ve Compton etkileşimi ile hücrenin atom ve moleküllerine aktarır, atomda uyarılma ya da iyonlaşma meydana gelir. Ortalama 10^{-16} sn ile en kısa süren olaydır.

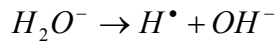
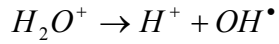
2.3.2.2 Fizikokimyasal olay

Hücrelerde en fazla bulunan molekül olan suyun radyasyon etkisiyle parçalanması yani suyun radyolizidir.



Meydana gelen elektronlar su molekülü ile birleşir. $H_2O + e^- \rightarrow H_2O^-$

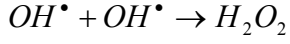
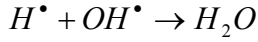
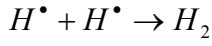
Oluşan H_2O^+ ile H_2O^- iyonları kararlı değildir. Kimyasal olarak çok reaktif olan bu ikincil ürünler hücrenin moleküllerinde parçalanmalara yol açabilir. Kararsız olan bu ürünler bozularak H^+ ve OH^- iyonları ile H^\bullet ve OH^\bullet radikalleri meydana gelir.



Bu radikaller de çok reaktif olduklarından hücre içerisinde ikincil ürünler meydana gelmesine sebep olurlar. Fizikokimyasal olay 10^{-16} saniye ile 10^{-13} saniye arasında değişen bir zamanda oluşur.

2.3.2.3 Kimyasal olay

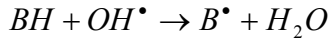
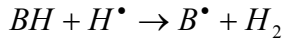
Reaktifler hem kendi aralarında hemde daha önce etkileşmemiş moleküllerle tepkimeye girerler.



Kimyasal aşamada meydana gelen hidrojen peroksit de oldukça reaktif bir maddedir. Kimyasal kademede ki olaylar saniyeler veya saatler mertebesinde gelişir.

2.3.2.4 Biyolojik olay

Reaktifler, biyolojik moleküllerle (BH) reaksiyona girerek biyolojik hasarların gelişmesine yol açarlar.



2.4. Antioksidan Aktivite

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri ya da antioksidanlar olarak bilinmektedirler. Süperoksit radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen fakat enzim olmayan bileşikler de organizmada oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşiklerin en önemlileri A, E ve C vitaminleridir. Enzimler oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler. Vitaminler ve flavanoidler gibi bileşikler, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirmektedirler. Oksidanların oluşturduğu hasarı onaran antioksidanlar da bulunmaktadır. Ağır metaller, hemoglobin,

seruloplazmin ve E vitamini oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engellerler (Onat vd. 2002).

İyi bir antioksidan serbest radikalleri belirli bir şekilde ortadan kaldırır, redoks metalleri tutar, antioksidan ağı içerisinde diğer antioksidanları tetikler, organizmada kolayca emilir ve membran ve/veya sulu ortamlarda fonksiyoneldir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) önemli enzimatik antioksidanlardır (Mates vd. 1999).

2.4.1 Doğal Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar; enzimatik ve enzimatik olmayanlar şeklinde ikiye ayrılırlar. Bunların dört temel görevi vardır.

Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme ile olur. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlarla bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme olayıdır. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterir

Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması.

Eksojen antioksidanlar ise vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler (Akkuş 1995). Çizelge 2.3 ve 2.4 de Antioksidanların sınıflandırılması yer almaktadır.

Çizelge 2.3 Endojen kaynaklı antioksidanlar

<i>Endojen Kaynaklı Antioksidanlar</i>		
Enzim olanlar	Enzim olmayanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Melatonin	Ferritin
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	Seruloplazmin	Bilirubin
Glutasyon S-Transferazlar (GST)	Transferin	Glutasyon
Katalaz (CAT)	Miyoglobin	Sistein
Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi	Hemoglobin	Metiyonin
Hidroperoksidaz	Albümin	Ürat
	Laktoferrin	

Çizelge 2.4 Eksojen kaynaklı antioksidanlar

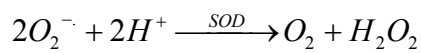
Eksojen Kaynaklı Antioksidanlar		
Vitamin Antioksidanlar	İlaç Antioksidanlar	Gıda Antioksidanlar
Vitamin E	Allopürinol	Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)
β-karoten	Oksipürinol	Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)
Askorbik asit (vitamin C)	Pterin aldehit	Sodium benzoat
Folik asit	Tungsten	Ethoksikuin
	Adenozin	Propilgalat
	Lokal anestezik	Fe-süperoksit dismutaz
	Klasiyum kanal blokerleri,	
	Diphenyline iodonium vb.	

2.4.1.2 Enzimatik antioksidanlar

Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden üç enzim yardımıyla korunur. Bunlar; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalazdır (Bhagavan 2002).

2.4.1.2.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi süperoksidin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevrimini katalizler (Fridovich 1997).



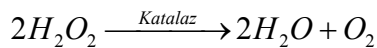
Bu reaksiyon dışardan etki görmeden de meydana gelebilir. Fakat SOD ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 4000 kat artar. İnsanda SOD'un iki tipi bulunmaktadır. Bunlar sitoplâzmadaki bulunan Cu ve Zn içeren SOD ve mitokondride bulunan Mn içeren SOD'dur. Süperoksit, oksijeni metabolize eden hücreleri serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korur. Lipitperoksidasyonunu baskılar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur (Kajihara vd. 1990).

2.4.1.2.2 Glutasyon peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz selenyum içeren bir enzimdir ve hidrojen peroksitin, fosfolipit hidrojen peroksitlerin ve diğer serbest hidrojen peroksitlerin yıkılmasını katalizler. Eritrosit glutasyon peroksidaz biyolojik aktivitesi için temel olan, enzimin aktif merkezinde bulunan, sisteinde S yerine selenyumun girdiği selenosistein formunda dört selenyum atomu içerir. Uzun süreli selenyum eksikliğinde tüm vücut dokularında GPx aktivitesi azalır (Kalaycıoğlu vd. 2000).

2.4.1.2.3 Katalaz

Katalaz en çok peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar (Dawn 1996). Aşağıdaki reaksiyonda ifade edildiği üzere katalazın peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki fonksiyonu vardır.



Katalaz enzimi, yapısında dört adet hem grubu içeren alt ünitelerden oluşmuş kompleks bir hemoproteindir. Aktivitesi daha çok karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde etkilidir. Bağ doku ise enzim aktivitesinin en düşük olduğu bölgedir.

Katalaz, SOD'ın süperoksit radikallerinden oluşturduğu H₂O₂ ile metabolik yollardan oluşan H₂O₂ gerektiği oranda indirgeyerek suya dönüştürür. Toksik etkiye sahip H₂O₂'in fazlalığı katalazın yanında peroksidazla detoksifiye edilmektedir (Boyd 1988).

Kanser, diabet, ateroskleroz, katarakt, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada, antioksidan sistemin öncelikli bir enzimi olan katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) primer antioksidan savunma sistemini oluşturmaktadır (Yılmaz ve Ozan 2003).

2.4.1.3 Enzimatik olmayan antioksidanlar (doğal antioksidanlar)

Askorbik asit (vitamin C), α-tokoferol (vitamin E), glutatyon ve melatonin gibi moleküllerle de etkili bir şekilde serbest radikallere engel olunarak oksidatif stres kontrol altında tutulabilmektedir. Bazen de enzimatik antioksidan savunma ile doğal antioksidanlar birlikte çalışarak vücudun korunmasını sağlamaktadırlar. Örneğin Peroksidaz enzimleri (GPx gibi), dihidroaskorbikasit (indirgenmiş vitamin C) gibi ajanlar kullanarak peroksit radikallerini nötralize etmektedirler (Wood ve Simith 1991).

2.4.1.3.1 Vitamini C

Vitamin C organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Vitamin C bir ketolaktondur. L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit gibi iki aktif formu olan askorbik asit iyi bir redükleyicidir. Aynı zamanda radikal süpürücü olan askorbik asit, reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etki sağlamaktadır. Ayrıca, vitamin C serbest radikal kaynağı gibi hareket edebilen çeşitli işlevli bir bileşimdir (Yanbeyi 1999).

Bu özelliklerinin yanında askorbik asit tirozinden epinefrin sentezinin dopamin β -hidroksilaz basamağında, lizinden karnitin sentezinde, tirozin yıkılımında p-hidroksi fenil pirüvatın homogentizata oksidasyonunda, safra asitlerinin sentezindeki 7- α -hidroksilaz başlangıç basamağında ve demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger. İmmünite ve yara iyileşmesinde olumlu etkileri vardır (Dawn 1996).

2.4.1.3.2 β -Karoten

Biyolojik sistemlerde görme, epitelyumizasyon, büyüme ve üreme gibi belli başlı fonksiyonları olan β -karotenin son yıllarda immun sistemi üzerine etkisi incelenmektedir. Bu vitamin kandaki hücrel faktörlerde çoğalma, özellikle T ve B lenfositlerin sayı ve oranlarındaki olumlu gelişme, peritonel makrofajların fagositoz yeteneklerinin artması, plazma hücrelerinin Ig sentezleme fonksiyonlarının gelişmesi gibi fonksiyonlar üzerine olumlu etki gösterir (Kalaycıoğlu vd. 2000).

Özellikle β -karoten oksijenin düşük parsiyel basınçlarında serbest peroksit radikallerinin dokularda yakalanmasında bir rol oynayabilir. β -karotenin bir antioksidan olarak etki gösterebilmesi, konjuge alkil yapısında serbest organik peroksit radikallerinin stabilizasyonundan kaynaklanmaktadır. β -karoten, düşük oksijen konsantrasyonlarında etkili olduğundan daha yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkili olan E vitamininin antioksidan etkilerini tamamlamaktadır (Menteş ve Ersöz 1993).

2.4.1.3.3 Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH) karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptittir. GSH çok önemli bir antioksidan olup serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarın oluşmasını engeller. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünü engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan

transportunu sağlar. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (Onat vd. 2002).

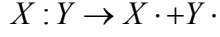
Demir şelatörleri de SOD'a benzer bir mekanizmayla hücre içine girerek serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirir ve böylece Fenton reaksiyonunu ve sonuçta hidroksil radikali oluşumunu inhibe ederler. Desferroksamin serbest Fe^{3+} 'ü bağlar. Oksipüranol allopürinolün metabolitidir, doğrudan hidroksil radikali ve hipokloriti azaltıcı yönde etki gösterir. Mannitol hidroksil radikalini toplayıcı etki gösterir. Probukol kan kolesterolünü düşürmede kullanılır. Lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonunu kırıcı etkisi vardır (Akkuş 1995, Burtis and Ashwood 1999).

2.5 Serbest Radikaller

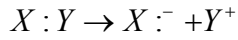
Atomlar, proton ve nötronlardan oluşan pozitif yüklü bir çekirdek ve çekirdeğin çevresinde bulunan negatif yüklü elektronlardan oluşurlar. Radikaller, dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron bulunduran kimyasal türlerdir ve molekülün kimyasal simgesinin sağ tarafına konan noktayla gösterilir (Çelik 2005). Böyle bir kimyasal tür basit bir atom ya da karmaşık yapıya sahip bir organik molekül olabilir.

Kimyasal ve biyokimyasal tepkimeler daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir. Elementlerin bir kısmı, atomik yapılarında paylaşılmamış elektron içerdiklerinden, doğada atomları şeklinde değil, moleküller şeklinde bulunurlar. Örneğin hidrojen, karbon, nitrojen, oksijen ve diğer bazı elementler doğada atomları şeklinde serbest bulunmazlar. Asal gazlar gibi elementlerde ise içerdikleri bütün orbitalleri elektronlarla doyurulduğu için serbest atom şeklinde bulunabilirler ve reaktiviteleri yoktur (Kalak 1995). Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler (Akkuş 1995).

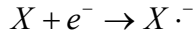
a- Homolitik ayrılma ile radikal oluşumu



b- Heterolitik ayrılma ile iyon oluşumu



c- Elektron transferi ile radikal oluşumu



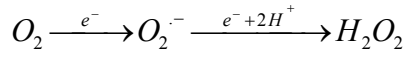
Serbest radikaller organik veya inorganik moleküller şeklinde pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler. İki serbest radikalın birbiri ile reaksiyona girmesi sonucu radikal olmayan bir bileşik ortaya çıktığı gibi, bir serbest radikal, radikal olmayan bir yapıyla reaksiyona girerek başka bir serbest radikal oluşturabilir. Bu özellik serbest radikallerin zincir reaksiyonları oluşturabilmelerini sağlar (Mccord 1985).

2.5.1 Serbest Radikal Oluşumu ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerdeki en çok görülen serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler, oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerin iyonları ve hidroksil radikalidir. Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir. Bu elektronlardan dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Moleküler oksijen (O₂), iki tane eşleşmemiş elektronu bulunduğu için kendisi de bir radikaldir. Her iki atom denge halinde olduğundan bu oksijen molekülünün reaktif bir özelliği yoktur. Bu özelliğinden dolayı oksijen, diğer

serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer.

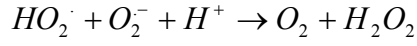
Mitokondriyal elektron transport zinciri tarafından gerçekleştirilen bu süreçte, % 1–2 oranında moleküler oksijen kaçağı meydana gelir. Bu oksijenin indirgenmesi ile süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif ürünler açığa çıkar. Bu radikaller oksijenin toksik etkisinin gerçek nedenini oluştururlar (Cheeseman ve Slater 1993).



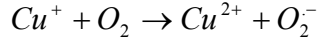
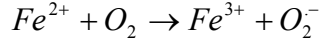
2.5.1.1. Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında, paylaşılmadığında ya da spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesinde bulunurlar. Bu orbitaller birer elektron daha kabul edebilirler. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu radikali ($O_2^{\cdot-}$), iki elektron alması ile de peroksi anyonu (O_2^{-2}) oluşur ((Brunori ve Rotilio 1984) Oksijenin 2p orbitallerinden birine tek elektron girdiği zaman oluşan süperoksitin aktifliği bulunduğu ortama bağlıdır. Sulu çözeltilerde askorbik asit ve tiyoller gibi moleküller için zayıf okside edici bir radikalken, Sitokrom c ve ferrik-EDTA gibi demir içeren kompleksler için ise okside gücü yüksek bir serbest radikal olduğu bilinmektedir. Aşağıdaki reaksiyonda da gösterildiği gibi bu özelliği ile süperoksit, hemoglobin metabolizmasını da etkilemektedir (Stryer 1995).

Süperoksit ile perhidroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri yükseltgenir diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda, oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir.



İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit meydana getirebilir.

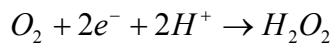
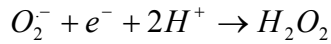


Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdürler. Bu yüzden, geçiş metalleri iyonlarının oksijenle reaksiyonları geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olarak düşünülebilir.

Süperoksit radikali, sülfidril gruplarının disülfidlere yükseltgenmesine ve ferrik demirin ferröz formuna indirgenerek ferritinden demirin direkt olarak ayrılmasına neden olur. Ferritin, demirin güvenli depolama formudur. Demir, süperoksit radikali ve H_2O_2 'den OH üretimini artırır (Akkuş 1995).

2.5.1.2 Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksitin oluşabilmesi için moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir yükseltgeyicidir (Markesbery 1997).



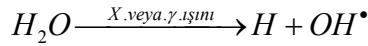
H_2O_2 , süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen bir reaksiyon sonucu oluşur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler oluşur. Bu sebeple bu reaksiyon bir

dismutasyon reaksiyonudur. Hidrojen peroksitin pK'sı 10,6 olduğundan, nötral ve asidik koşullarda net yük taşımaz, biyolojik zarları kolayca geçebilir. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediği için radikal özellikte değildir (Kılınç ve Kılınç 2002)

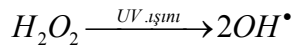
2.5.1.3 Hidroksil radikali (.OH)

Oksijen radikalleri içinde reaktifliği ve toksik etkisi yüksek olanı hidroksil radikalidir ($\cdot OH$). Hidroksil radikali ($\cdot OH$), hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara sebep olur. Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları hidroksil oluşumundaki en önemli reaksiyonlardır (Mccord ve Day 1978).

Suyun yüksek enerjili iyonizan radyasyona maruz kalmasıyla da OH^* oluşur.



H_2O_2 nin UV ışığına maruz kalması ile OH^* oluşabilir.



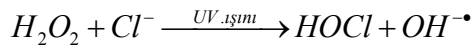
Biyolojik sistemlerdeki en reaktif tür olan $\cdot OH$, ortamda rastladığı her biyomolekülle hızlı şekilde tepkimeye girer. Bu nedenle 10^{-9} saniyeden daha kısa bir ömre sahiptir. Hidroksil radikalinin başlıca tepkimeleri elektron transfer tepkimeleri, hidrojen çıkarma tepkimeleri ve katılma tepkimeleridir. $\cdot OH$ 'nin seçtiği başlıca hedefler elektronca zengin bileşiklerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikalik tepkimelerde binlerce farklı ara ürünler oluşabilir (Kılınç ve Kılınç 2002).

2.5.1.4 Singlet oksijen

Singlet Oksijen radikal değildir. Bunun sebebi singlet oksijenin ortaklanmamış elektronu yoktur. Oksijenin yüksek enerjili bir formu olan singlet oksijende spin kısıtlaması olmadığından reaktivitesi çok yüksektir. Aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde verip oksijene geri dönüşebildiğinden, oluşumu kemilüminesans ölçümü ile takip edilebilir. Vücutta, pigmentlerin oksijenli ortamda ışığı absorplamasıyla, hidroperoksitlerin metal varlığındaki yıkım tepkimelerinde ya da kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında oluşabilir. Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Singlet oksijen özellikle karbon-karbon çift bağları ile tepkime verir. Doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girer ve peroksi radikalini (ROO.) oluşturur. Böylelikle hidroksil radikali (.OH) kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir. (Kılınç ve Kılınç 2002).

2.5.1.4 Hipokloröz asit (HOCl)

Hipokloröz asit radikal olmadığı halde ROS arasında yer almaktadır. Fagositik hücreler tarafından bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, 6 monosit, makrofajlar ve eozinofiller O_2^- radikalini üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem arz eder. Özellikle nötrofiller içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile O_2^- nin dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 i klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür (Carr vd. 2000).



2.5.1.6 Nitrik oksit

Serbest radikallerden biriside nitrik oksit (NO^\cdot), tek sayıda elektron içeren renksiz gaz şeklinde inorganik bir serbest radikaldir. Bakteriler, sigara dumanı ve egzoz gazları reaktif azot oksitleri üretir. NO kararlı bir serbest radikaldir ve fizyolojik şartlar altında birçok fonksiyonda rol oynar (Simonian and Coyle 1996).

Hücre içi konsantrasyonu fazla arttığında nöron ölümü ile sonuçlanan toksik olayları başlatır. Nitrik oksit, biyolojik sistemlerde O_2 , O_2^\cdot ve geçiş metalleriyle reaksiyona girer. Metal ve tiyol içeren proteinlerle yürüyen reaksiyonlar, enzim aktivitelerinde zayıflamaya neden olur. Nitrik oksitin elektron tranport zincirindeki demir içeren komplekslere saldırması, bozulmuş enerji metabolizmasıyla sonuçlanır. Nitrik oksit oluşumunun artması sinir hücreleri tahribatına yol açar (Reiter 1998).

2.5.2 Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal oluşumu biyolojik sistemlerde normal metabolik olayların seyri esnasında ve organizmanın çeşitli dış etkilere maruz kalmasıyla meydana gelir. Serbest radikaller, iyonize radyasyon, stres yapıcı durumlar, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda vücuttaki biyolojik fonksiyonların yan ürünü olarak oluşurlar (Basaga 1990).

Serbest radikal kaynakları iki grupta incelenir.

a- Biyolojik kaynaklar

- Radyasyon
- Aktive olmuş fagositler
- Antineoplastik ajanlar: nitrofurantoin, bleomisin, doxorubicine
- Alışkanlık yapan maddeler: alkol ve uyuşturucu maddeler

- Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)
- Stres; Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (Dündar 2000).

b- İntrasellüler kaynaklar

- Küçük moleküllerin otooksidasyonu
- Enzimler ve proteinler: ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin
- Mitokondrial elektron transportu
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom b₅)
- Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler
- Plazma membranı: lipoksijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu
- Oksidatif stres yapıcı durumlar: iskemi, travma, intoksikasyon

Hücrelerde serbest radikal üretimi, bazı yabancı toksik maddeler tarafından da büyük oranda artırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler veya antioksidan aktiviteyi düşürürler (Çelik 2005).

2.5.2 Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrede lipit, protein, DNA ve karbonhidrat gibi önemli hücresel yapı ve bileşiklerde etkilidir. Membranı oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler gibi doymamış yağ asitleri ile membran proteinleri radikaller için oldukça çekici hedeflerdir.

Radikaller yoğun olarak üretildiklerinde, aerobik solunumu ve kapillar permeabiliteyi bozarak, hücrel potasyum kaybını ve kapillar trombosit agregasyonunu hızlandırır (Çelik 2005).

2.5.3.1 Serbest radikallerin lipidlere etkileri

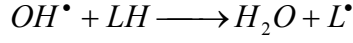
Serbest radikallerin lipitlere yaptığı etki lipit peroksidasyonu (LP) olarak adlandırılır, LP doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen gurubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalın süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikali olduğu, bu nedenle lipit peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikalının başlattığı kabul edilmektedir. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksid hidroksil radikaline dönüşmektedir (Niki 1987).

Birçok olayda bu şekilde oluşan lipit peroksitleri RO• ve OH• verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (Burton 1989).

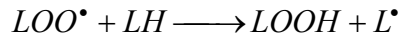
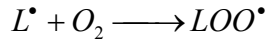
Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir bileşenidir ve Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksil ve peroksi radikallerini verirler. Fe veya Cu tuzları lipit peroksidasyonunun hızını artırarak, hücre zarı akışkanlığı ve geçirgenliğini zayıflatırlar, bu olay hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olabilir. Lizozomal membranların yıkımlanması hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur (Niki 1987).

Lipit peroksidasyonu üç ayrı bölümde incelenebilmektedir. Bunlar başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonlarıdır.

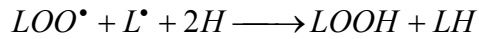
Başlama safhası: OH radikali, bir yağ asitinin (LH) metilen molekülünden bir hidrojen atomu (H⁺) kopararak bir lipit radikali (L[•]) oluşturur. Bu reaksiyon hem membran lipitleri hem de besinsel yağlar için geçerlidir.



İlerleme ve yıkım safhası: Zincirleme reaksiyona uğrayan lipit radikaline O₂ ilavesi ile devam eder ve lipit peroksil radikali (LOO[•]) ile lipit peroksit oluşur.



Sonlanma safhası: Zincir reaksiyonu antioksidanlar (likopen gibi) tarafından sonlandırılabilir.



LPO, otooksidasyonda olduğu gibi organizmada oluşan serbest radikallerden biri veya bir kaçının etkisi ile membran yapısında bulunan çoklu yağ asidi zincirindeki α-metilen gruplarından bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Biyolojik sistemlerde LPO'nu başlatan serbest radikalın, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, LPO'nun uyarılmasında asıl etkili radikalın hidroksil radikali olduğu benimsenmektedir. Serbest radikal etkisi ile yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidinin radikal özelliği kazanmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir. Molekül içi konjuge dien bağlarının farklı pozisyonlara gelmesi ile değişikliğe uğrayabilen kararsız lipit

radikalinin moleküler oksijenle tepkimesi sonucu lipit peroksit radikali meydana gelir (Spiteller 2001).

Peroksidasyon bir defa başladıktan sonra yüzlerce yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüştürülmekte, böylelikle olay hızlı bir şekilde katalizlenerek devam etmektedir. LPO'nda yayılma zincirinin uzunluğu; membrandaki lipitprotein oranı, doymamış yağ asidi içeriğinin artması, oksijen konsantrasyonu ve vitamin E benzeri zincir reaksiyonlarını kesen antioksidanların varlığı gibi pek çok faktöre bağlıdır. LPO demir ve bakır iyonları ya da bu iyonların oluşturduğu fosfat esterleriyle oluşturduğu basit şelatları (Fe^{+2} -ADP), hemoglobin ve myoglobini de içeren bazı demir proteinleri, lipit hidroperoksitlerini bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadırlar (Köylü 2003).

Bu kompleks bozunma ürünleri de etan, pentan, aldehit, peroksitler, alkoller, hidroksi yağ asitleri ve diğer karbonil bileşikleridir. Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak reaktif olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar.

2.5.3.2 Proteinler üzerine etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipitlere oranla daha az hassastır. İçerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlı olarak etkilenirler. Triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ile sülfür radikalleri oluşur. Bu karbon merkezli radikallerin karbonillerinin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir.

Serbest radikallerin yarattığı hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon ve çapraz bağlanmalar meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını yerine

getiremezler. Enzimler de protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler (Dikici 1999).

2.5.3.3 Nükleik asitler ve DNA' ya etkileri

DNA yapısında oksidatif hasara sebep olan pek çok sebep vardır. İyonize radyasyon, artmış oksijen konsantrasyonu, ksantin oksidaz ve çeşitli kimyasallar aşırı radikal oluşumuna neden olarak direkt hasara yol açarlar. Bazı serbest radikallerde DNA tamir enzimlerini etkileyerek hasara yol açarlar. İyonize radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA' yı etkileyerek hücrede değişime ve ölüme yol açabilir. DNA yapısındaki pürin ve pirimidin bazılarında parçalanma ve yıkım sonuçta DNA nın denatürasyonuna neden olur. Oksidatif hasar kırıkları, baz çifti değişimleri, yeniden düzenlenme gibi yapısal değişimlere neden olmaktadır. DNA, serbest radikallerden kolay zarar görebilen önemli bir hedeftir (Winrow vd. 1993).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1 Araç ve Gereçler

Çalışmamızda Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ve Fizyoloji Anabilim Dallarında bulunan ve aşağıda özellikleri verilen cihazlar/ labratuvar malzemelerinden yararlanılmıştır.

Spektrofotometre (*Shimadzu. UV-1601*)

Buz Dolabı/Derin Dondurucu (*Siemens*)

Soğutmalı santrifüj (*Nüve. NF 1000 R.*)

Vorteks (*Nüve. NM 110*)

Hassas terazi (*Precisa. 205 ASC. 0,0001 g'a duyarlı*)

Su banyosu (*Nüve. BM 402*)

Isıtıcı tabla (*Nüve. HP 221*)

Shaker (*Nüve. SC 350*)

Değişik hacimlerde otomatik pipet (*Ependorf, Scorex*)

Farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (*Isolab*)

Ependorf tüpü (*0,5-1,5 ve 2 ml'lik, Roth*)

Mikro Playte (*96 kuyucuklu, Roth*)

Cerrahi makas, pens, doku tutucular

Cerrahi eldiven

Polietilen enjektör (*2,5, 5, 10 ml, Ayset*)

İnsulin enjektörü

Lityum-Heparinli tüp

3.1.2. Kimyasal Maddeler

2,4 dinitrophenylhydrazine (DNPH) (Fluka)

(NH₄)₂ Fe (SO₄)₂ (Merck)

Antioxidant Assay Kit (Cayman Chemical Kat. No:709001)

Askorbik asit (Merck)

BHT (Sigma)

Disodyum fosfat (Na₂HPO₄) (Merck)

DMSO (Sigma)

DTNB (Elman's)

Düşük kaynama dereceli agaroz (LMP-37 oc) (Sigma)

EDTA-Na₂ (Merck)

Ethanol (Sigma)

Ethidium bromide (Sigma)

Etil asetat (Sigma)

Guanidin HCl (Sigma):

H₂O₂ (Merck)

HCl (Merck)

N-(1-naphthyl)ethylenediamin (NEDD) (Merck)

Na₂ HPO₄ Sodyumbifosfat (Merck)

Na₂WO₄*2H₂O (Merck)

NaCl (Merck)

NaOH (Merck)

n-Hekzan (Merck)

Normal kaynama dereceli agaroz (HMP-65 oc) (Sigma)

Okzalik asit (Merck)
PBS tablet (Sigma)
Sodyum Benzoat (Merck)
Sodyum Sitrat (Merck)
Sodyum tunstad($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
Sülfanilamit (Merck)
Sülfürik asit (Merck)
Tiyobarbiturik asit(TBA) (Merck)
Trikloroasetik asit TCA (Merck)
Tris-HCl (Sigma)
Triton X100 (Sigma)
Ürik Asit (Merck)

3.1.3 Saponin İçeren Bitkinin Toplanması, Karakterizasyonu ve Saponinlerin Ekstraksiyonu

Afyonkarahisar yöresinde yetişen sabunotu Sincanlı-Afyonkarahisar yöresinden toplanmıştır. Elde edilen sabun otunun tür belirlemesini, Fen Edebiyat Fakültesi Byoloji Bölümü öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa Kargıoğlu yapmıştır.

Deney sırasında kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır. Sabunotu gölgede kurutulduktan sonra 25 g kuru madde havanda ezilerek üzerine 250 ml etil asetat eklenerek sıcaklık 40 °C'ye getirilip döner buharlaştırıcıda 50 devir/dakika 8 saat döndürüldü. Bu süre sonunda ekstrakt süzüldü ve çözelti döner kurutucuda vakum altında 50°C de etil asetat ortamdan tamamen uzaklaştırıldı. Kalan kuru madde üzerine 20 ml metanol ilavesi yapılarak kuru madde içerisindeki saponinler asılı maddeler

olarak ortamdan çekildi. Daha sonra ekstre içindeki çözücü tamamen uzaklaştırıldı. Toplanan ekstre ağzı kapalı cam kapta derin dondurucuda saklandı.

3.1.4 Hayvan Materyali

Bu çalışmada, ağırlıkları 130-160 g olan 100 adet dişi Albino-Wistar ratlar kullanılmıştır. Bu hayvanlar Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezinden temin edildi. Sıçanlar ortama uyum sağlamaları bakımından Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezine geldikten on gün sonra çalışmaya başlanmıştır. Ratlara deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlatma uygulanmış oda sıcaklığı 22 ± 2 °C olarak ayarlanmış ve önlerinde sürekli olarak yem ve taze su bulundurulmuştur. Deneysel çalışma 21 gün sürmüştür. Gruplar oluşturulurken hayvan seçimleri rasgele seçilerek 10 gruba bölünmüştür. Serum fizyolojik ve bitki ekstraları karboksi metil selüloz içinde çözüldükten sonra ratlara gastrit gavaj yöntemiyle verilmiştir.

Deneysel hayvan grupları ise şu şekilde oluşturulmuştur.

- 1. Grub: Kontrol grubu;** Ratlar standart yemle beslendi
- 2. Grub: CMC Kontrol grubu:** 100 mg/kg % 0,5 sodyum karboksi metil selüloz (CMC) ağızdan gastrit gavaj şeklinde verildi.
- 3. Grub: Radyasyongrubu(IR) +1;** Ratlar standart yemle beslenip 3 hafta sonunda 6 Gy X-ray verildi.
- 4. Grub: Radyasyongrubu(IR) +21;** Ratlar standart yemle beslenip 3 hafta sonunda 6 Gy X-ray verildikten sonra 21 gün standart yemle beslendi.
- 5. Grub: 100 mg/kg Saponin kontrol;** Ratlar standart yem ve 100 mg/kg *Saponaria officinalis* ağızdan gastrit gavaj şeklinde verildi.
- 6. Grub: 100 mg/kg Saponin + IR +1;** Ratlar standart yem ve 100 mg/kg *Saponaria officinalis* ağızdan gastrit gavaj şeklinde beslenip 3 hafta sonunda 6 Gy X-ray verildi.
- 7. Grub: 100 mg/kg Saponin + IR +21;** Ratlar standart yem ve 100 mg/kg *Saponaria officinalis* ağızdan gastrit gavaj şeklinde verildi ve 3 hafta sonunda 6 Gy X-ray verildikten sonra 21 gün standart yemle beslendiler.

8. Grub: 200 mg/kg Saponin kontrol; Ratlar standart yem ve 200 mg/kg *Saponaria officinalis* ağızdan gastrit gavaj şeklinde verildi.

9. Grub: 200 mg/kg Saponin + IR +1; Ratlar standart yem ve 200 mg/kg *Saponaria officinalis* ağızdan gastrit gavaj şeklinde beslenip 3 hafta sonunda 6 Gy X-ray verildi.

10. Grub: 200 mg/kg Saponin + IR +21; Ratlar standart yem ve 200 mg/kg *Saponaria officinalis* ağızdan gastrit gavaj şeklinde verildi ve 3 hafta sonunda 6 Gy X-ray verildikten sonra 21 gün standart yemle beslendiler.

Grup çalışmasında MDA, GSH, Vitamin-C, Retinol, Üre-azot, antioksidan aktivite (AOA) ve β -karotene bakılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1 Ratlara X-radyasyonunun Verilmesi

10x10x10 cm lik plastik kaplara konan 4 adet rat 10 cm yükseklikten Indico 100 Rab X-ışın cihazı ile (CPI, Ontario, Canada) 3 Gy/dak doz hızında tüm vücudu doz alacak şekilde X-radyasyonu verildi.

3.2.2 Ratlardan Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Çalışma süresi sonunda, bir gece öncesinden yem verilmeyen hayvanlar 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altında kanları Li-heparin'li cam tüplere konularak laboratuarda aynı gün içinde gerekli ölçümler yapıldı. Çalışmada MDA, GSH, Vitamin-C, Retinol, Üre-azot, AOA ve β -karotene bakılmıştır.

3.2.3 Biyokimyasal Analizler

3.2.3.1 GSH tayini

Hemen hemen eritrositlerin bütün non-protein sülfidril grupları, indirgenmiş GSH şeklinde bulunur. 5,5'ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit, sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilmiş bir disülfid bileşimidir. Oldukça sarı renkli anyon oluştururlar. GSH madde miktarı bu sarı bileşiğin 412 nm dalga boyunda optik dansitesi saptanarak değerlendirilir (Griffith 1980).

Çöktürücü: 1,67 gr Metafosforik asit + 0,2 gr EDTA + 30 gr NaCl 50 ml distile suda çözülür ve 100 ml 'ye distile su ile tamamlanır.

Fosfat Çözeltisi: 26,7 gr Disodyum fosfat (Na_2HPO_4) 250 ml distile suda çözülür 500 ml'ye distile suyla tamamlanır.

DTNB (Elman's): 40 mg DTNB %1 Sodyum Sitrat çözeltisi ile 50 ml distile suda çözülür 100 ml'ye tamamlanır.

GSH Standardı: 40 mg GSH 50 ml distile suda çözülür 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

Kör: 2 ml distile su + 3 ml çöktürücü

Standart 0,2 ml GSH Standardı + 1,8 ml distile su + 3 ml çöktürücü iyice karıştırılır, 5 dk beklenir. Daha sonra adi süzgeç kâğıdından süzülür ve 1 ml süpernatant alınarak başka bir tüpe konur. Bu tüpe 4 ml fosfat çözeltisi ve 0,5 ml DTNB ayırıcı katılır ve iyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 412 nm dalga boyunda 10 dk içinde okunur. Numune 0,2 ml EDTA'lı tamkan alınır 1,8 ml distile su katılır ve karıştırılır 3 ml çöktürücü katılır ve karıştırılır 5 dk beklenir. Bundan sonraki işlemler standarttaki gibidir.

$$GSH - \text{düzeyi}(mg / dl) = \frac{\text{Numunenin} - \text{absorbans} \times 40mg}{S \text{ tan dardıa} - \text{absorbans}}$$

3.2.3.2 MDA tayini

Doku lipid peroksidasyon düzeyleri, tiyobarbitürik asit reaktif substans (TBARS) konsantrasyonları ölçülerek saptandı (Draper and Hardley 1990). MDA ve yağ asitleri peroksidasyonunun yıkılım ürünlerinin kompleksinin TBA ile oluşturduğu rengin maksimum absorpsiyonu 532 nm de ölçülerek hesaplandı.

0,5 ml doku homojenatı üzerine 2,5 ml %10 luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu ve 5000 devir/dk da 10 dk santrifüj edildi. 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1ml % 0,67 lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dk kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm de numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı absorpsiyonları okundu.

$$MDA - değeğer(nmol / ml) = (Absorbansdeeri) \times (7,6374)$$

3.2.3.3 β - Karoten ve retinol düzeyi ölçümü

Serumda retinol (A vitamini) ve β - karoten düzeyleri Suzuki ve Katoh'un 1990 yılında geliştirdikleri yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Testin prensibi: A vitamini'nin 325 nm ve β -karoten'in 453 nm dalga boylarında maksimum ışık absorpsiyonu esasına dayanır. Kullanılan ayıraçlar: Absolut etanol (%99,5): Distile su ile %95'lik etil alkol hazırlandı ve her ml'sinde 20 μ g olacak şekilde butil hidroksi toluen (BHT) ilave edildi. n-Hekzan: Analiz saflığında kullanıldı. Bütül hidroksi toluen (BHT) Testin yapılışı: Işık geçirmemesi için alüminyum folyo ile kaplanmış kapaklı bir santrifüj tüpüne 1 ml taze serum konuldu. Daha sonra üzerine sırasıyla 1 ml BHT'li etanol ve 3 ml n-hekzan ilave edildi. Tüp içeriği 10 dakika altüst edilerek karıştırıldı ve 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra hekzan fazından 3 ml bir kuvartz spektrofotometre küvetine alınarak n-hekzana karşı sırasıyla A vitamini için 325 nm ve β - karoten için 453 nm dalga boyunda absorpsiyonlar okundu.

$$\beta\text{- karoten } (\mu\text{g/dl}) = \text{Absorbans } (453 \text{ nm}) / 0,00258$$

A vitamini ($\mu\text{g}/\text{dl}$) = Absorbans (325 nm)- [β - karoten konst. x 0,00017] / 0,00182
0,00258 = 1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ konsantrasyondaki β - karoten standardının n-hekzan fazında 453 nm dalga boyundaki absorbansdır. 0,00017 = 1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ konsantrasyondaki β - karoten standardının n-hekzan fazında 325 nm dalga boyundaki absorbansdır. 0,00182 = 1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ konsantrasyondaki retinol standardının n-hekzan fazında 325 nm dalga boyundaki absorbansdır.

3.2.3.4 Askorbik asit düzeyi ölçümü

Plazma askorbik asit (vitamin-C) düzeyi Omaye ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı (1979). Fosfotungstik asitin proteinleri çöktürdükten sonra askorbik asit ile reaksiyona girerek renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Kullanılan ayırıcılar: Renk ayırıcı: 20 g sodyum tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 10 g disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) bir erlene aktarıldı. Isıtılarak 30 ml suda çözüldü. Başka bir behere 15 ml distile su ve 5 ml sülfürik asit karışımı hazırlandı. Hazırlana ilk çözelti 250 ml bir kaynatma balonuna alınarak üzerine ikinci çözelti yavaş yavaş karıştırılan ilk çözelti üzerine ilave edildi. 2 saat geri soğutmalı ısıtıcıda kaynatıldı. Askorbik asit stok standart çözeltisi (50 mg/dl): 50 mg L-askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) 100 ml % 0,5'lik oksalik asit ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$) çözeltisinde çözüldü. Askorbik asit çalışma standardı çözeltisi (1 mg/dl): stok standart çözeltisinden 1 ml alındı ve % 0,5'lik oksalik asit çözeltisi ile 25 ml ye tamamlandı. T-kör standart ve test olarak işaretlenmiş santrifüj tüplerine sırasıyla 2 ml distile su, 2 ml çalışma standardı ve 2 ml plazma konuldu. Üzerine 2 ml renk ayırıcı ilave edilerek karıştırıldı ve 30 dakika oda ısısında bekletildi. Tekrar karıştırıldıktan sonra 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Spektrofotometrede 700 nm de köre karşı standart ve testin absorbansları okundu.

$$\text{Vitamin C (mg/dL)} = \frac{\text{testin absorbansı}}{\text{standartın absorbansı}} \times \text{standart konsantrasyonu}$$

3.2.3.5 Antioksidan aktivite tayini

Satndardize edilmiş olan Fe–EDTA kompleksi Fenton reaksiyonuna göre hidrojen peroksitle reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturur. Oluşan bu radikal benzoatı parçalayarak TBARS oluşturur. Oluşan bu raksiyonun rengi spektrofotometrik olarak ölçülerek AOA belirlenmiş olur. AOA konsantarsyonu Koracevic metoduna göre (2001) Shimadzu UV-1601 marka spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

3.2.3.5 Üre-N tayini

Üre-N kiti (BioSystems, Spain. Kat. No: 11536) kullanılarak Shimadzu UV-1601 marka spektrofotometrede tayin edilmiştir.

3.2.4 İstatistik Analizler

Deneylerden elde edilen verilerin (MDA, GSH ve AA, retinol, β -karoten) istatistik analizleri SPSS istatistik yazılımında (SPSS for Windows; Release 10.0.1 Standard Version) yapıldı. Farklı gruplar arasındaki değerlendirilmede one-way ANOVA ile gerçekleştirildi. Eğer ANOVA da önemli farklılıklar ortaya çıkmışsa Duncan's multiple range testi kullanılarak post-hoc değerlendirilmesi yapıldı. $P < 0,05$ den küçükse değerler anlamlı bulundu. Bulgulardan elde edilen sonuçlar tablolarda ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde verildi.

3.2.5 Hayvan Etik Kurulu

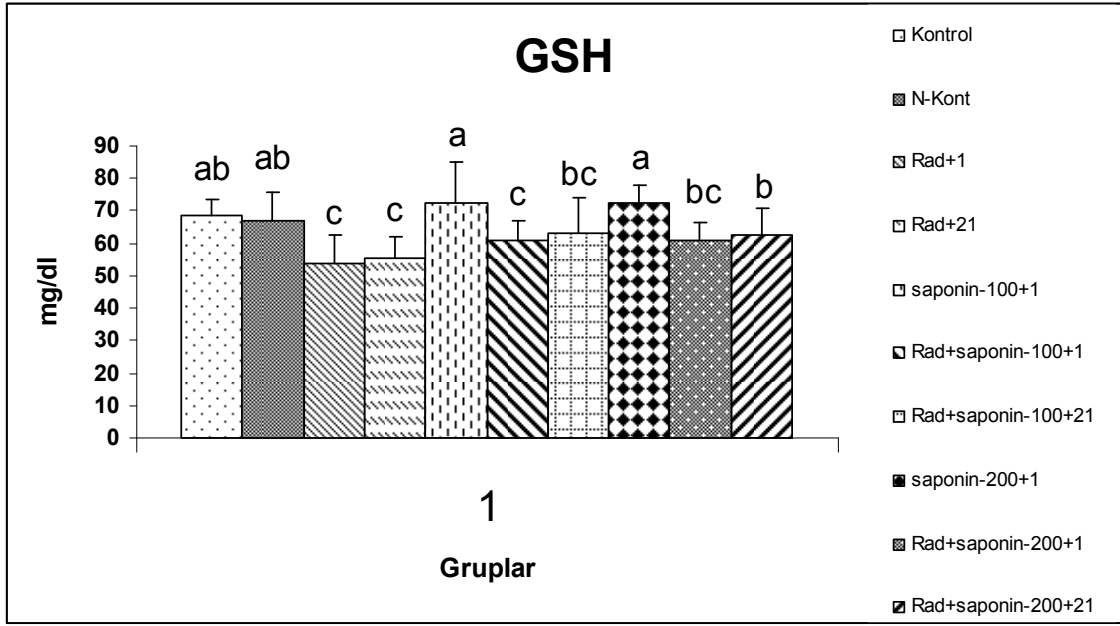
Çalışmanın etik kurulu raporu, araştırmaya başlamadan önce AKÜ Hayvan Etik Kuruluna başvurularak etik kurulu onayı alınmıştır

4. BULGULAR

Yaptığımız çalışmalarda ratlar deney ortamına alıştıktan sonra kontrol grubu hariç diğer gruplara tedavi uygulandı, Tüm gruplardan alınan kan numunelerinden GSH, MDA, β -karoten, retinol, vitamin-C, antioksidan aktivite (AOA) ve üre-azot değerleri ölçüldü. Bulunan değerler Şekil 4.1-7 arasında gösterilmiştir.

Çalışmanın sonunda sabunotu ekstresi ile beslenen ratlarda GSH (mg/dl) değeri GRUP 1 için $68,74 \pm 5$, GRUP 2 için $66,7 \pm 8,9$, GRUP 3 için $54,02 \pm 8,27$, GRUP 4 için $55,51 \pm 6,3$, GRUP 5 için $72,19 \pm 13,14$, GRUP 6 için $60,93 \pm 6,17$, GRUP 7 için $63,04 \pm 11,12$ değerler bulunurken aralarındaki istatistiksel anlam değeri p ise 0,01 olarak çıkmıştır. Elde edilen GSH değerleri şekil 4.1 de görülmektedir.

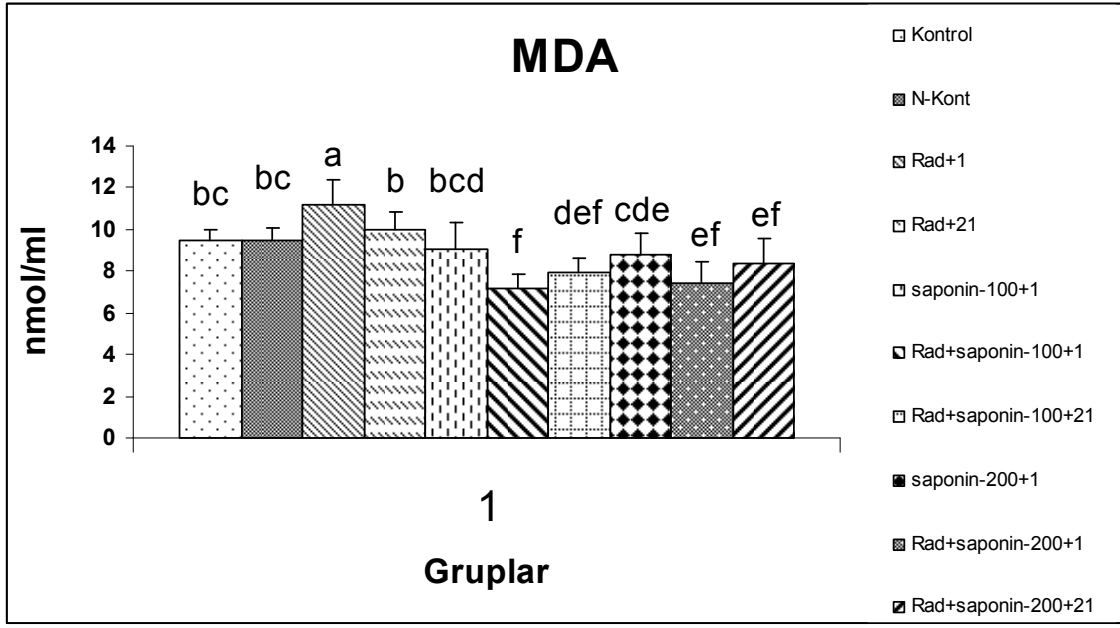
Radyasyon verilen gruplarda GSH değeri kontrol gruplarına göre radyasyonla azalmış olmasına rağmen sabunotu ekstresi ile beslenen gruplarda ise bu değer artmıştır.



Şekil 4-1 Tüm grupların GSH değerleri (saponin = sabunotu ekstresi)

MDA değerleri sabunotu ekstresi ile beslenen GRUP 1 için $9,48 \pm 0,54$, GRUP 2 için $9,44 \pm 0,64$, GRUP 3 için $11,21 \pm 1,16$, GRUP 4 için $10,01 \pm 0,77$, GRUP 5 için $9,03 \pm 1,25$ ve GRUP 6 için $7,15 \pm 0,66$ hesaplandı. Bu grup için p değeri ise 0,01 dir.

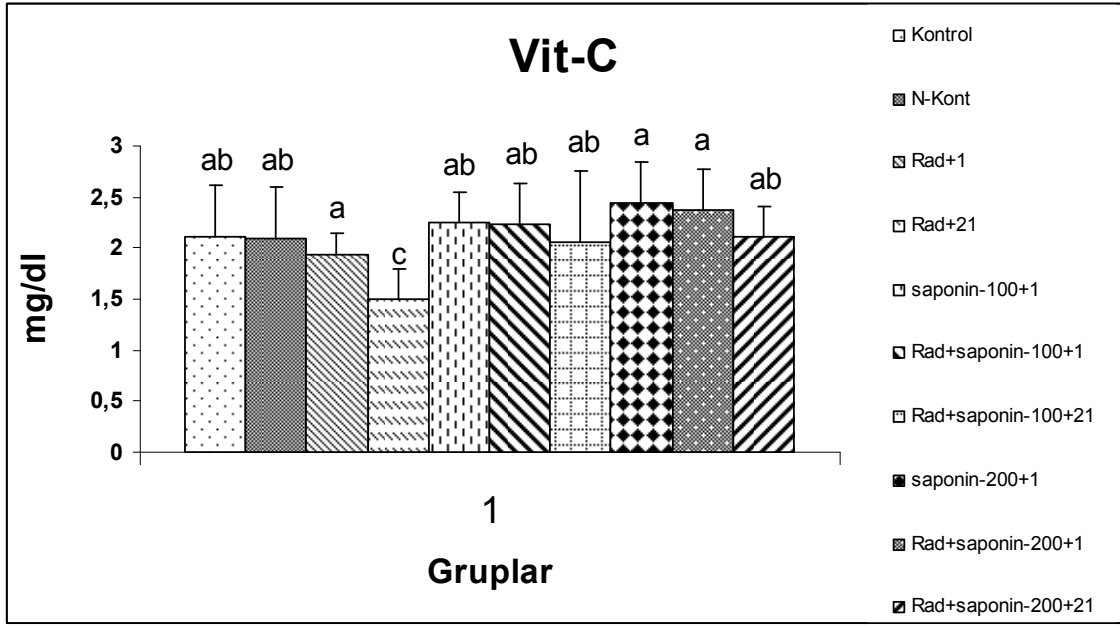
Yalnız radyasyon verilen grupta MDA değeri kontrol grubuna göre artış gösterirken zamanla bu değer düşüğü görülmüştür. Sabunotu ekstresi verilen tüm gruplarda ise MDA değerlerinin kontrol gruplarının değerlerine yakın çıkmasına karşın radyasyon verilen ve sabunotu ekstresi ile beslenen gruplarda bu değer düşüğü bulunmuştur



Şekil 4-2 Tüm grupların MDA değerleri (saponin = sabunotu ekstresi)

Sabunotu ekstresi ile beslenen grupları için bulduğumuz değerler sırasıyla GRUP 1 için $2,11 \pm 0,51$, GRUP 2 için $2,1 \pm 0,52$, GRUP 3 için $1,94 \pm 0,2$, GRUP 4 için $1,5 \pm 0,25$ GRUP 5 için $2,25 \pm 0,25$ GRUP 6 için $2,24 \pm 0,35$ olarak hesaplandı. Bu gruplar için p değeri ise 0,01 dir.

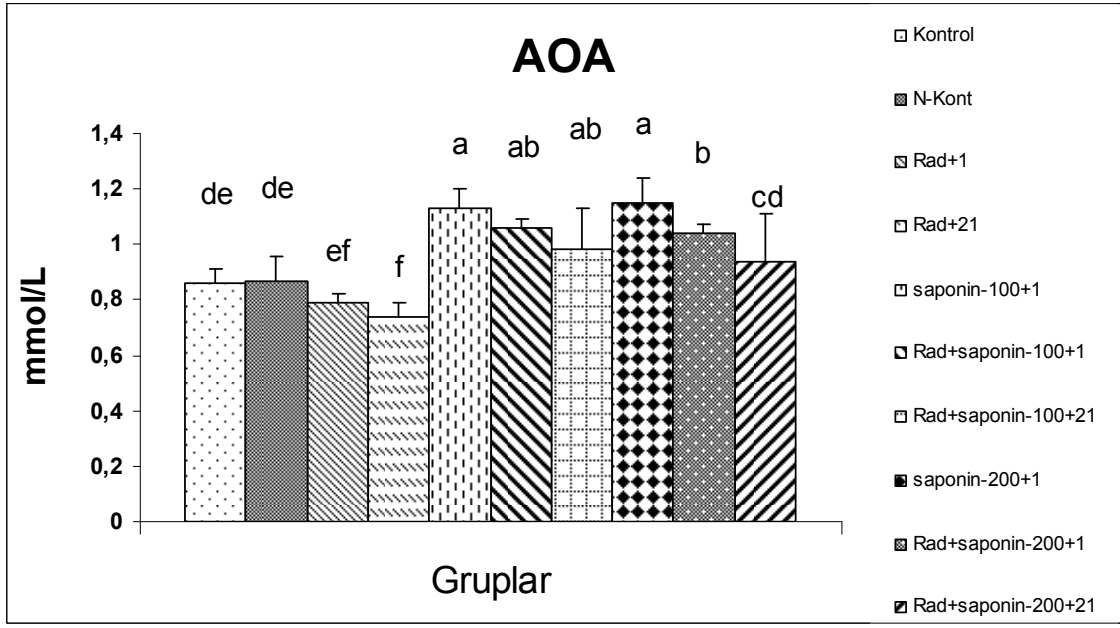
Gerek sabunotu ekstresi ile beslenen gruplarda gerekse kontrol gruplarında radyasyon verilen gruplara göre vitamin-C konsantrasyonu düşmüş ve bu düşüş 21 gün boyunca devam etmiştir. Düşük ve yüksek konsantrasyondaki sabunotu ekstresi verilen gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında vitamin-C değeri üzerinde bir etki yapmadığı bulunmuştur.



Şekil 4-3 Tüm grupların Vit-C değerleri (saponin = sabunotu ekstresi)

Sabunotu ekstresi ile beslenen grupları için bulduğumuz değerleri sırasıyla GRUP 1 için $0,86 \pm 0,05$, GRUP 2 için $0,87 \pm 0,09$, GRUP 3 için $0,79 \pm 0,03$, GRUP 4 için $0,74 \pm 0,05$, GRUP 5 için $1,13 \pm 0,07$, GRUP 6 için $1,06 \pm 0,03$ olarak hesaplandı. Bu grup için p değeri ise 0,03 tür.

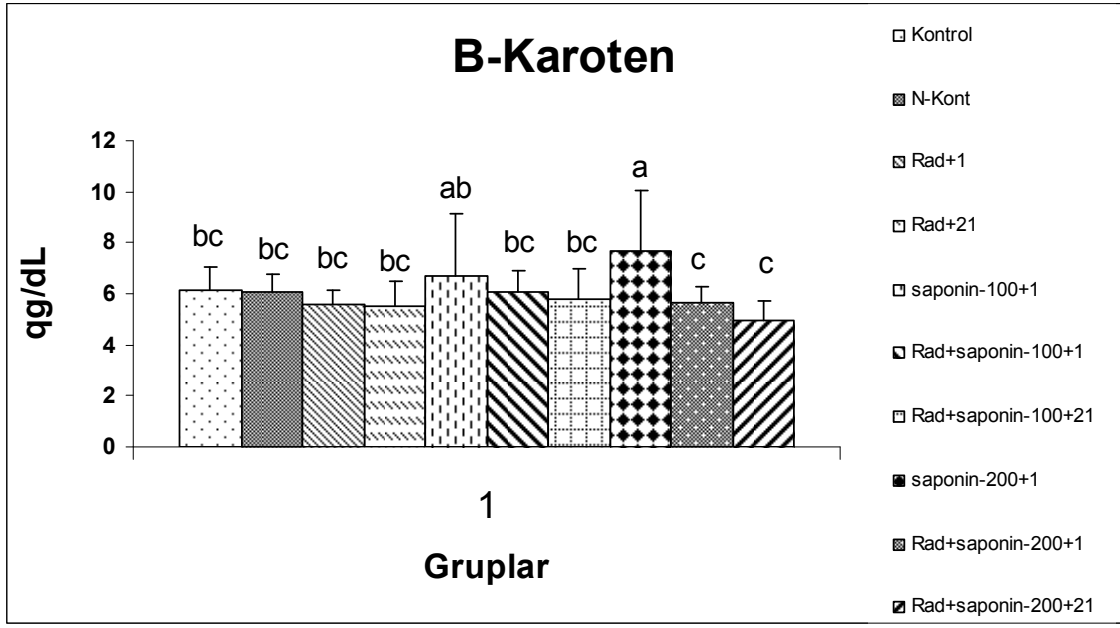
Sadece radyasyon verilen ve sabunotu ekstresi ile beslenen gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında radyasyon gruplarında AOA değerlerinde anlamlı bir azalma gözlenirken, sabunotu ekstresi gruplarında ise bu değerde anlamlı bir artış bulunmuştur. Tüm gruplarda radyasyon verildikten 21 gün sonraki AOA konsantrasyonunun azaldığı saptanmıştır.



Şekil 4-4 Tüm grupların AOA değerleri (saponin = sabunotu ekstresi)

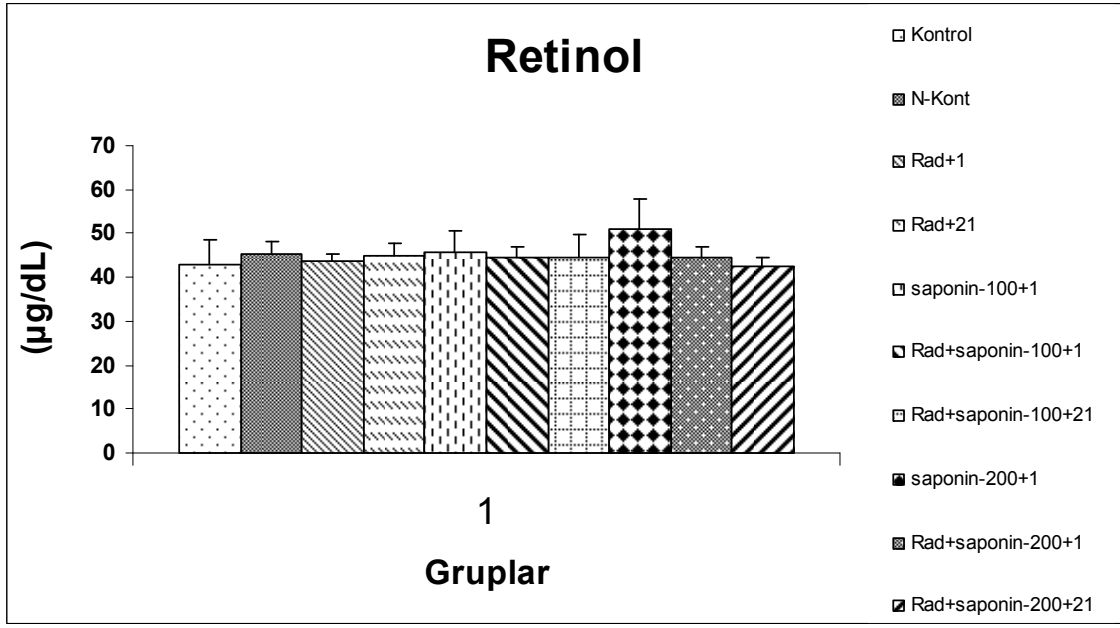
Bulduğumuz değerler GRUP 1 için $6,15 \pm 0,86$, GRUP 2 için $6,1 \pm 0,68$, GRUP 3 için $5,57 \pm 0,62$, GRUP 4 için $5,48 \pm 1,02$ GRUP 5 için $6,73 \pm 2,42$ GRUP 6 için $6,1 \pm 0,82$ GRUP 7 için $5,81 \pm 1,21$ ve GRUP 8 için $7,65 \pm 2,43$ olarak hesaplandı. Bu grup için p değeri ise 0,013 tür.

Şekil 4.5 incelendiğinde kontrol grubuyla sadece radyasyon ve düşük konsantrasyonda sabunotu ekstresi verilen gruplar arasındaki β -karoten konsantrasyonlarında bir anlamlılık görülmemektedir. Yüksek konsantrasyonda sabunotu ekstresi verilen radyasyonlu ve radyasyonsuz gruplarının β -karoten değerlerinin kontrol ve sadece radyasyon verilen tüm gruplara göre anlamlı olduğu bulunmuştur



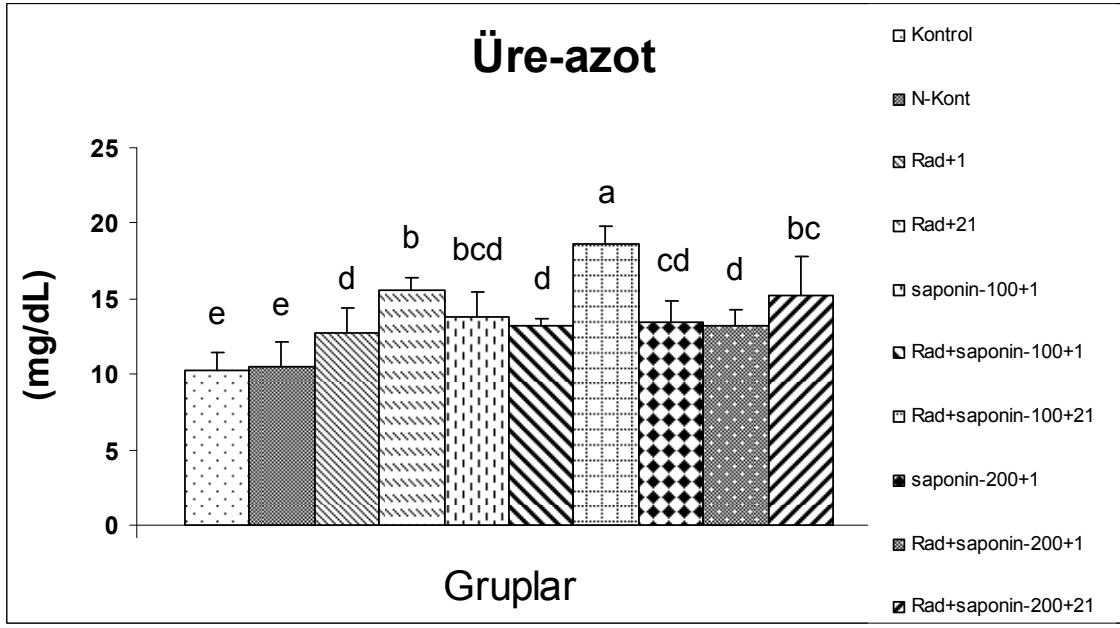
Şekil 4-5 Tüm grupların β-karoten değerleri (saponin = sabunotu ekstresi)

Retinol değerleri kontrol ve sadece radyasyon dozu uygulanan gruplar için sırasıyla $43,05 \pm 5,53$, $45,18 \pm 2,81$, $43,73 \pm 1,63$, $44,99 \pm 2,88$ olarak hesaplanmış olup sabun otu ekstresi ile beslenen ve radyasyona maruz kalan grup için retinol değerleri GRUP 5 için $45,75 \pm 4,94$ GRUP 6 için $44,43 \pm 2,6$, GRUP 7 için $43,33 \pm 5,3$ ve GRUP 8 için $51,04 \pm 6,8$ olarak hesaplandı. Şekil 4.6 görüldüğü gibi gerek radyasyonlu gruplar ve gerekse ekstre verilen grupların retinol değerleri arasında bir anlamlılık bulunamamıştır.



Şekil 4-6 Tümgrupların Retinol değerleri (saponin = sabunotu ekstresi)

Bulduğumuz değerler kontrol ve sadece radyasyona maruz kalan gruplar için sırasıyla $10,23 \pm 1,19$, $10,49 \pm 1,62$, $12,77 \pm 1,65$, $15,53 \pm 0,9$ olarak hesaplanmıştır. Sabunotu eksteresiyle beslenen ve radyasyona maruz kalan grup için retinol değerleri GRUP 5 için $13,85 \pm 1,61$, GRUP 6 için $13,18 \pm 0,52$, GRUP 7 için $18,6 \pm 1,21$ ve GRUP 8 için $13,4 \pm 1,51$ olarak hesaplandı. Bu grup için p değeri ise 0,001 dir.



Şekil 4-7 Tüm grupların Üre-azot değerleri (saponin = sabunotu ekstresi)

Üre-azot konsantrasyonu incelendiğinde radyasyon verilen tüm gruplarda radyasyon verildikten 21 sonraya kadar bu değerlerin anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur. Sabunotu ekstresi verilen gruplarda verilen konsantrasyonla birlikte üre-azot değerinin arttığı bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkiler içerisinde değişik fitokimyasal maddeler vardır. Besin özelliği taşımayan bu maddelerle ilgili olarak sağlık alanında yapılan araştırmalar, gerek hastalıkların tedavisinde gerekse koruyucu hekimlikte fitokimyasalların önemini artırmıştır (Dündar 2001). Son yıllarda eterik yağlar, tanenli maddeler, mineraller, glikozitler, alkaloidler, saponinler, flavonoidler ve vitaminler gibi genel gruplar altındaki binlerce fitokimyasal maddenin etkileri yoğun olarak çalışılmaktadır (Francis 2002).

Bitkisel tedavi yöntemleri ve bitki araştırmaları da hızlı bir şekilde alternatif çalışmalar olarak literatürde yer almaya başlamıştır. Ancak ülkemiz zengin bir bitki örtüsüne sahip olduğu halde bitkilerin halk arasındaki tedavi veya diğer amaçlarla kullanılmasını konu alan bilimsel çalışma yeterli seviyede değildir. Tüm dünyada bilinen *Saponaria officinalis* bitkisinde başta steroidal saponinler olmak üzere, fenolik maddeler, fiber, resveratrol ve stilbenler gibi bitkisel kimyasalları taşımakta, bünyelerindeki saponinler dikkate alınarak endüstri ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılmaktadır (Sparg 2004).

Saponin içerikli bitkilerin daha çok sindirim kanalında, düşük miktarlarda alındıklarında, alınan besin maddelerinden lipid ve glikoz miktarlarının emilimini düşürdükleri ve metabolizmada bu yolla etkili olduğu çalışmalar mevcuttur (Mahato 1988). Saponin içerikli bitkilerin özellikle antiinflamatuvar, antiprotozoal, hipoglisemik ve hipokolesterolemik etkilerine ilişkin literatürler yaygındır (Cheeke 1999).

Saponin içeren bitkilerin yedirildiği hayvanlar veya saponin ekstraktı verilen insanlarda yapılan çalışmalarda lipid metabolizması ve serum kolesterol düzeyini değiştirdiği bildirilmiştir (Morehouse 1999). Whitehead ve ark, saponinlerin, karaciğer lipid ve plazma trigliserit konsantrasyonunu azalttığını, ancak karaciğer kolesterol ve plazma HDL düzeyini ise etkilemediğini saptamışlardır.

İyonize radyasyon ışınlama ve absorblama dozlarına, ışınlamanın sürekli veya kesikli olmasına ve ışınlanan dokunun radyasyona karşı dayanıklılığına bağlı olarak canlı hücrelerde çeşitli değişikliklere sebep olurlar. İyonize radyasyonun oluşturduğu serbest radikallerin en önemlisi OH^{\bullet} radikalidir. Diğer hücre bileşenleriyle reaksiyona giren OH^{\bullet} radikali organik radikaller oluşturur. Reaktif oksijen radikalleri (ROS) ve serbest radikaller nükleik asitler, lipitler, proteinler ve karbonhidratlar gibi hücrel makromoleküllere zarar verirler. Oluşan bu radikaller membran lipitleriyle etkileşerek, membran geçirgenliğini, akışkanlığını ve yapısını bozan bir zincir reaksiyonu başlatırlar (Archer ve Wills, 1973). Serbest radikaller, lipit peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile kanserojenler arasında bir ilişki bulunduğunu göstermiştir. Radyasyonun neden olduğu serbest radikal üreten birçok bileşiğin kansere sebep olduğu görülmüştür (Akkuş 1995).

Fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalar iyonize radyasyonun membran üzerinde, hasar etkisini göstermiştir. Sprague-Dawley türü erkek fareler 800 cGy radyasyonla tüm vücutları ışındandıktan sonra oksidasyonun arttığı gözlenmiştir (Karbownik ve Reiter 2000). Scott ve arkadaşlarının 1989'da yaptığı bir çalışmada iyonize radyasyon hasarından korunmada antioksidan enzimler oldukça önemli olduğunu göstermişlerdir. Düşük seviyedeki iyonize radyasyon, fizyolojik mekanizmanın koruyuculuğunu uyarır ve koruyucu görevine karşı adapte olmasını sağlar. Koruma görevine karşı adapte olmasını sağlayan dozlar genellikle 0,5 Gy in altındaki dozlardır (Karbownik and Reiter 2000).

Oksidatif hasarın farklı parametrelerini kullanarak yapılan çalışmalarda düşük dozdaki iyonize radyasyonun antioksidan kadar etkili olduğu gözlenmiştir (Kojima vd. 1998). Fare beynindeki LPO (Lipit peroksidasyon) ya karşı 50 cGy iyonize radyasyon ile antioksidan melatoninin koruyucu etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada koruyucu etkilerin benzer olduğu gözlenmiştir (Kojima vd. 1999). Umagaki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ratların tüm vücuduna 3 Gy radyasyon vererek kemik iliği ve karaciğerdeki oksidatif stresin neden olduğu DNA ve lipitlerdeki değişimleri

gözlemlemişlerdir (Umagaki vd. 2001). Yapılan diğerk bir çalışmada X-radyasyonuylar ratlarđ ışınlamışlar ve oluşan OH^{\bullet} radikallerini spin yakalama tekniğiyle gözlemlemişlerdir (Takeshita vd. 2004).

GSH önemli bir antioksidan olup proteinlerdeki R-SH gruplarını indirgemiş halde tutar ve bu gruplar oksidasyona karşı muhafaza eder. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarın oluşmasını engeller. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engellemiş olur. Bunlar sülfür merkezli radikaller (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfid bağını oluşturur. Bu da proteinlerin yapılandırmasını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engeller. Ayrıca GSH eritrosit zarını H_2O_2 'ten, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan koruyarak, yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlamaktadır (Onat vd. 2002).

Çalışmamızda GSH değerleri Şekil 4-1 de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre radyasyon + sabunotu ekstresi verilen gruplarda GSH seviyeleri ile radyasyon grubunun GSH değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı görülmüştür. Verilen radyasyon fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin aktif hale getirmiştir. Eğer bir sistemde lipid peroksidasyonu başladığı zaman enzimsel savunma sistemi yeterli gelmediği durumlarda düşük moleköl ađırlıklđı radikal tutucular GSH, E vitamini, askorbik asit, bilirubin, karotenler, ürik asit gibi, yağ sidleri yerine kendileri yükseltgenerek reaksiyonun devamını engellerler (Freeman ve Crapo 1982). Vücut dışarıdan 0,5 Gy den daha fazla dozda gibi radyasyona maruz kaldığı zaman, vücut savunmasında oluşan lipid peroksidasyonu engellemeye yetmemektedir. Bu durum, saponin içeren bitkilerin rasyona katılmasının hücrelerde doğal oksidasyon reaksiyonlarının yıkıcı etkilerine karşı koruyucu etki sağlayan antioksidan gücü artırdığını göstermektedir (Sur ve arkadaşları 2001). Yapmış olduğumuz çalışmada saponin içeren *Saponaria officinalis* GSH düzeylerini ve total antioksidan kapasiteyi artırdığı görülmüş olup Sur ve arkadaşlarının çalışmasını desdeklemektedir.

Elde edilen verilere göre bitki ekstereleri verildiği zaman GSH değerlerinde, ekstre konsantrasyonlarıyla orantılı olarak bir artış olmadığı görülmektedir. Buradanda yüksek miktardaki saponin konsantrasyonunun GSH değerleri üzerinde bir etkisinin olmadığı ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bu sonucu her iki sabunotu ekstresi konsantrasyonu için radyasyon verildikten sonraki sonuçlarda desteklemektedir. Saponinler serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarın oluşmasını engellemişlerdir. Bu sonuçlar Yalınkılıç (2007) ve Sur ve arkadaşlarının (2001) yaptığı çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

MDA seviyelerini kontrol için Kaya ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Wistar türü dişi farelere 12 saat aralıkla iki kez 360 cGy lik radyasyon vermişler ve ışınlamadan altı saat sonra MDA seviyelerinde anlamlı artış gözlemişlerdir (Kaya vd. 1999). Radyoloji bölümünde radyasyona maruz kalan ve kalmayan kişiler üzerine yapılan bir çalışmada MDA düzeylerini araştırılmış ve radyasyonla çalışan personelin MDA aktivite düzeyleri, radyasyonla çalışmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Serhatlıoğlu vd. 2003). Diğer bir çalışmada ise İlhan ve grubu, mobil telefonlarının yaymış olduğu elektromanyetik radyasyonunun oksidatif stresi araştırılmış ve bu radyasyonun kandaki MDA düzeylerini düşürdüğünü gözlemişlerdir (İlhan vd. 2004). Bu sonuç düşük seviyedeki radyasyonun koruyucu etkisinden kaynaklanmaktadır (Karbownik ve Reiter 2000). γ -Radyasyonunun antioksidan sistemi ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi araştırılması için *Yucca schidigera* ekstreleriyle beslenen tavşanlarda, saponinlerin lipit peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (Enginar vd. 2006).

Yapmış olduğumuz çalışmada ise 6 Gy radyasyon dozunun lipit peroksidasyona neden olduğu MDA düzeylerini artırdığı bulunmuştur. Bulunan bu sonuç Kaya ve arkadaşlarının (1999) ve Serhatlıoğlu ve arkadaşlarının (2003) çalışmasıyla uygunluk göstermiştir. 200 mg/kg sabunotu ekstresi dozunun 100 mg/kg dozundan etkili olduğu bulunmuştur (şekil 4-2) sabunotu ekstresi verilen gruplarda radyasyonun etkisine bakıldığında radyasyonun MDA değerini artıracak beklenirken düşürdüğü bulunmuştur. Burada saponinlerin lipit peroksidasyonunda oldukça etkili olduğu

bulunmuştur. Bulunan bu sonucun Cemek ve arkadaşlarının (2007) yapmış olduğu radyasyonun oksidatif stres yaptığı ve çörekotu yağının lipit peroksidasyonuna karşı etkili olduğu sonucuyla örtüşmektedir. XR verildikten ve sabunotu ekstresi ile beslenme kesildikten 21 gün sonraki MDA değerinin arttığı ve kontrol seviyesine doğru ulaştığı bulunmuştur. Bunun nedeni ise lipit peroksidasyona karşı etkili olan saponinlerin vücuttan atılımları ile ilgili olabilir. Elde edilen bulgulara göre saponinlerin, lipit peroksidasyonunu önlemede güçlü bir antioksidan potansiyele sahip olduğu 200 mg/kg sabunotu ekstresi dozunun 100 mg/kg dozundan etkili olduğu görülmüştür.

Serbest peroksil radikallerinin zararlı etkilerine karşı organizmayı koruyan doğal antioksidanlardan biri de vitamin C dir. Serum lipit peroksidleri üzerine askorbik asid ve α -tokoferol arasındaki sinerjistik etki iyi bilinmektedir. Askorbik asid, tokoferol ile membran iç yüzeyinde veya dış yüzeyinde etkileşmektedir (Negre vd. 1991). Vitamin C organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Askorbik asit stres ve radyasyonun neden olduğu serbest radikal tutucu olarak metabolizmada görevi bulunmuştur (Jose 1995). Cernobil nükleer kazasından sonra yüksek radyasyona maruz kalan kişilerde vitamin-C eksikliği gözlenmiştir (Spirichev 1996).

Askorbik asidin düşük konsantrasyonlarında antioksidan etkisinin azalması, prooksidan etkisinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. İn vitro incelemelerde reaksiyon, sistemde endojen peroksid, oksijen ve demir gibi metal iyonları varlığında, düşük askorbat konsantrasyonlarında lipit peroksidasyonu ile sonuçlanırken yüksek konsantrasyonlarda ise antioksidan özellik göstermiştir (Negre vd. 1991). Sadece radyasyon verilen grupların vitamin-C değeri kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir. Bu sonuca göre radyasyonun serbest radikal oluşturduğu ve oluşan serbest radikallerin bir kısmı vitamin-C ile reaksiyon vererek kandaki konsantrasyonunun düştüğü görülmektedir. Bulunan bu sonuçlar çernobil kazasının (Spirichev 1996) sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Sabunotu ekstresi verilen gruplardaki vitamin-C değerleri kontrol ve radyasyon verilen gruplardakinden yüksek çıkmıştır. Bu sonucun verilen ekstrenin antioksidan sistemi radyasyona karşı güçlendirdiğini ortaya çıkarmaktadır.

β -karoten oksijenin düşük kısmi basınçlarında serbest peroksit radikallerinin dokularda yakalanmasında bir rol oynayabilir. β -karotenin bir antioksidan olarak etki gösterebilmesi, konjuge alkil yapısında serbest organik peroksit radikallerinin kararlılığından kaynaklanmaktadır. β -karoten, düşük oksijen konsantrasyonlarında etkili olduğundan daha yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkili olan E vitamininin antioksidan etkilerini tamamlamaktadır (Menteş ve Ersöz 1993). İnsan ve hayvanlarda, β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır (Yanbeyi 1999).

Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre XR β -karoten seviyesini anlamlı bir şekilde etkilemediği görülmüştür. Düşük konsantrasyonda verilen sabunotu ekstresi β -karoten değeri üzerinde anlamlı bir etki yapmazken yüksek konsantrasyonda verilen sabunotu ekstresi β -karoten değerini artırmıştır. Yüksek konsantrasyonun radyasyonun iyonlayıcı etkisine karşı savunma sistemi üzerinde bir etki yapmadığı bulunmuştur (şekil 4.5). Yalınkılıç ve Enginar'ın (2008) değişik saponin içeren bitkilerle yaptığı çalışmada saponinlerin β -karoten değerlerini artırdığı ve XR verildikten sonra bu değerlerin düştüğünü bulmuşlardır. Çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar Yalınkılıç ve Enginar'ın (2008) çalışmasıyla benzerlik göstermektedir.

Antioksidan aktivite ve oksidatif stres çalışmalarında, organizmada antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliğini araştırmak için çeşitli biyolojik materyalde çeşitli antioksidanların aktiviteleri veya konsantrasyonları sıklıkla ölçülmektedir. Antioksidan parametrelerinden GSH, vitamin-C ve β -karoten seviyeleri incelendiğinde sabunotu ekstresi verilen ratlarda bu değerlerin kontrol grubuna göre arttığı görülmüştür. Dolayısıyla bu değerlerin artması AOA artıran temel değerlerdir. XR verilen ve sabunotu ekstresi ile beslenen gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında radyasyon gruplarında AOA değerlerinde anlamlı bir azalma gözlenirken, sabun otu gruplarında ise kontrol grubuna göre bu değerde anlamlı bir artış bulunmuştur. Bulunan bu değerler GSH, vitamin-C ve β -karoten sonuçlarıyla uyum göstermektedir.

Retinolun(vitamin A) tüm veya kısmi olarak radyasyona maruz kalmış bünyelerde radyasyona karşı koruma sağladığı literatür olarak bildirilmektedir (Seifter 1988). Karotenoidlerde olan vitamin A antioksidan özelliği ve savunma modülatörlüğünden dolayı sağlık için büyük önem taşıdığı ve kanser önlemede önemli rolünün olduğu bilinmektedir (Knekt 1991). Vitamin A ve karoten radyasyonun ve kemoterapinin toksik etkilerine karşı zararlı etkilerini azaltma potansiyelleri mevcuttur. Gerek saponin ekstresi verilen gruplarda gerekse XR'ye maruz kalan gruplarda retinol değerlerinin değişmediği bulunmuştur. Bulunan bu sonuç Redlich ve arkadaşlarının (1998) yaptığı çalışmayla uyumluluk göstermektedir.

Üre-azot Protein metabolizmasının bir ürünüdür ve böbrekler yoluyla idrarla atılır. Sıklıkla kan üre azotu (BUN) olarak ölçülür. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede önemli bir ölçüttür. Ancak böbrek fonksiyonları dışında vücuttaki azot yükü, günlük sıvı alımı ve idrar akım hızından da etkilendiğinden tek başına karar verdirici değildir. Üre-azot değeri arttığı durumlarda, böbrek fonksiyon bozukluğu dışında kalp yetmezliği, tuz ve su alımındaki dengesizlikler (kusma, ishal, sık idrara çıkma, terleme), bağırsaklarda kanama, stres, yanıklar, diyetle fazla protein alımı, iyonlayıcı radyasyona maruz kalma ve akut myokard enfarktüsü gibi nedenlerden dolayı kandaki değeri yükselmektedir.

Plazma üre-azot düzeyi vücuttaki azotlu maddelerin metabolizma düzeyini göstermesi açısından önemli bir göstergedir. Bu alanda yapılan araştırmaları hemen tamamı saponin içeriği yüksek olan *Yucca schidigera*'nın üre-N düzeyini azalttığı yönündedir (Lowe 1997, Bil-Yem, 2006). Bizim yaptığımız çalışmada kontrol grubuna göre radyasyon verilen gruplarda ve saponin ekstresi verilen gruplarda da konsantrasyonla birlikte üre-azot değerinin arttığı görülmüştür. Bunun sebebi ise sabunotu ekstresi yüksek konsantrasyonlarından kaynaklanabileceği ve radyasyonun iyonlayıcı etkisi böbrekler üzerinde etkili olmasından dolayı üre-azot üzerinde ters etki yaptığını göstermektedir.

Sonuç olarak uygulanan radyasyon dozunun oksidatif stresi artırarak lipit peroksidasyonuna neden olduğu, 21 gün sonunda normal değerlerine yaklaştığı grlmtr. *Saponaria officinalis*'ten elde edilen saponin içeren farklı dozlardaki ekstrelerin lipit peroksidasyonu üzerinde etkili olduğu bulunmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Akkuş, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri. Mimoza yayınları, 134s. Konya.
- Archer, J.F. And Wills, E.D. 1973. Effects of Ionizing Radiation on Sulphydryl and Disulphide Components of Cultered Mammalian Cells, *Int. Journal Radiation Biology*, 23, 571-581.
- Basaga, H.S. 1990. Biochemical Aspects of Free Radicals. *Biochem, Cell Biol.*, 68, 989-998.
- Bhagavan, N.V. 2002. *Medical Biochemistry*, Harcourt Acedemic Press, Kanada
- Bil-Yem. 2006. *Standart Rat Yemi Prospektusu*. Ankara.
- Boyd, R.F. 1988. *General Microbiology*, Second edition, Times Mirror/Mosby College Publishing, Missouri, ABD.
- Brunori, M. And Rotilio, G. 1984. Biochemistry of Oxygen Radical Species. *Method. Enzymol.*, 105, 22-35.
- Burtis, C.A. And Ashwood, E.R. 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- Burton, G.W. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr.*119(1):109-11. Braugher J.M. Chase R.L. And Pregenzer J.F. 1987. Oxidation of ferrous iron during peroxidation of lipid substrates. *Biochim Biophys Acta.*, 921(3), 457-464.
- Carr, A.C. McCall, M.R. And Frei, B. 2000. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species—reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscl. Thromb Vasc Biol*, 20, 1716-1723.
- Cemek, M., Enginar, H., Karaca, T. And Unak, P. 2007. In Vivo Radioprotective Effects of *Nigella sativa* L Oil and Reduced Glutathione Against Irradiation-Induced Oxidative Injury and Number of Peripheral Blood Lymphocytes in Rats. *Photochemistry and Photobiology*, 82, 1691-1696 .

- Cheeke, P.R. 1999. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. Proceeding of the American Society of Animal Science. 1-10.
- Cheeseman, K.H. And Slater, T.F. 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry”. Br. Med. Bull., 49(3), 479–480.
- Constantinou, A. Metha, R.G.And Vaughan, A. 1996. Inhibition of N-nitroso-N-methylurea-induced mammary tumors in rats by soybean isoflavens. Antican Res., 16, 3293-3298.
- Çelik, H. 2005. Malarya (Sıtma) Hastalarında Oksidatif stres ve Mononükleer Lenfosit DNA Hasarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Dawn, B.M. Allan, D.M. And Colleen, M.S. 1996. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Demir, M. 2000. Nükleer Tıp Fiziği. İstanbul Üniversitesi Yayını, No: 4252. İstanbul.
- Dikici, İ. 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya, 73 s.
- Draper, H.H. And Hadley M.1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol, 186, 421-30.
- Dündar, Y. 2001. Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam, Kocatepe Tıp Dergisi, 2,131-138.
- Dündar, Y. Ve Aslan, R. 2000. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, A.K.Ü. Yayın no: 29. Uyum Ajans Ankara, 1. Basım. S: 4-6.108.
- Enginar, H., Eryavuz, A., Gülcan, A., Kaya, E., Küçükkurt, İ. And Fidan, F. 2006. Effect of *Yucca schidigera* extract on lipid peroxidation and antioxidant activity in rabbits exposed to g-radiation, Revue Méd. Vét., 157, 415-419.
- Erdik, E. 1998. Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, 82- 94 s. Gazi Kitabevi, Ankara.

- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P.S. And Becker, K. 2002. The biological action of saponins in animal systems, *Br.J.Nutr.*, 88, 587-605.
- Freeman, A. And Crapo, J. 1982. Biology of disease free radical and tissue injury. *Lab Invest*, 47, 412-26.
- Fridovich, I. 1997. Superoxide anion radical, superoxide dismutases and related matters. *J. Biological Chemistry*, 272(30), 185–18525.
- Göksel, S. 1973. Radyasyonların Biyolojik Etkileri ve Radyasyon Koruması, İTÜ Nükleer Enerji Enstitüsü Yayınları, İstanbul.
- Griffith, O.W., 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem*, 106: 207–212 .
- İlhan, A. Şahin, D.A. Armutçu, F. Gürel A. And Akyol, Ö. 2004. The indices of mobile phone-induced oxidative stress in plasma and erythrocytes, The effect of Ginkgo biloba on the parameters, *Journal of Neurological Sciences [Turkish]*, 21, 201-209.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C. Locke, E. And Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accesions. *Food Chemistry*, 83,547-550.
- Jose, J. K. And Kutan, R. 1995. Antioxidant activity of *Embllica officinalis*, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 19, 63–70.
- Kajihara, J. Enomoto, M. Katoh, K. Mitsuta And K.Konho, M. 1990. Relationship between the ligand structure of copper and stability of superoxide dismutase, *Agric. Biol. Chem.*, 54(2), 495-499.
- Kalak, S. 1995. Tip II Diabetes Mellitus’lu Hastalarda Lökosit Zarı Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Savunma Sistemlerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Konya.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N. Ve Tiftik A.M. 2000. Biyokimya, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

- Karbownik, M. And Reiter, R.J. 2000. Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation, *Experimental Biology and Medicine*, 225, 9–22.
- Kaya H. Delibas N. Serteser M. Ulukaya, E. Özkaya O. 1999, The effect of melatonin on lipid peroxidation during radiotherapy in female rats. *Strahlenther Onkol*, 175, 285–288.
- Kaya, S. 1995. Diğer bitkisel zehirler. *Veteriner Klinik Toksikoloji*. S: 158
- Kılınç, K. Ve Kılınç, A. 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2), 110-118.
- Kirchner, (ed). 1980. *Nuclear Medicine Review Syllabus*. The Society of Nuclear Medicine, Inc; 65-101, New York.
- Knekt, P. 1991. Dietary antioxidants and the risk of lung cancer. *Am. J. Epidemiol.*, 145, 471–479.
- Kojima, S., Matsuki, O., Nomura, T., Kubodera, A., Honda, Y., Honda, S., Tanooka, H., Wakasugi, H. And Yamaoka, K. 1998. Introduction of mRNAs for glutathione synthesis-related proteins in mouse liver by low doses of γ -rays. *Biochim Biophys Acta.*, 1381, 312-318.
- Koracevic, D., Koracevic, G. Djordjevic, V. Andrejevic, S. And Cosic, V. 2001. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids, *J. Clin. Pathol.*, 54, 356-361.
- Köylü, A.A. 2003. Çeşitli Kanser Türlerinde Lipid Peroksidasyonu, Antioksidan Enzimler ve Bunların Tümör Belirteçleri ile Olan ilişkileri. *Uzmanlık Tezi*, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Şanlıurfa.
- Lowe, J.A., Kershaw, S.J., Taylor, A.J. And Linforth RS. 1997. The effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal volatiles occurring concurrently with faecal aroma amelioration. *Res.Vet.Sci.*, 63(1), 67-71.
- Mahato, S.B., Sarkar, S.K. And Poddar G. 1988. Triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 27 (10), 3037-3067.

- Markesbery, W.R., 1997. Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer' s Disease. *Free Radical Biology And Medicine*, 23(1), 134–147.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C. And De Castro, I.N. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases, *Clin Biochem*, 32, 595–603.
- Mccord, J.M., 1985. Oxygen Derived Free Radicals in Postischemic Tissue Injury. *New Engl. J. Med.* 17, 159-163.
- Mead, J.F. 1984. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. *Free radical in molecular biology. Agging aand disease*, 53-66.
- Mente, G. Ve Ersöz, B. 1993. *Harperin Biyokimyası*. Barış Kitabevi, İstanbul.
- Morehouse, L.A. And Bangerter, F.W. 1999. Comparison of synthetic saponin cholesterol absorption inhibitors in rabbits; evidence for a nonstoichiometric, intestinal mechanism of action. *J. Lipid Research*.40,464-74.
- Negre-Salvayre, A., Affany, A. And Hariton, C. 1991. Additional antilipoperoxidant activities of alphanatocopherol and ascorbic acid on membrane-like systems are potentiated by rutin. *Pharmacology*, 42, 262- 272.
- Niki, E. 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids*. 44(2-4), 227-53.
- Oleszek, W. 2002. Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatography A*. 967:147-162.
- Omaye, S.T. Turnbull J.D. And Savberlich H.E. 1979. Ascorbic acid analysis. II. Determination after derivatisation with 2,2-dinitrophenylhydrazine. Selected methods fordetermination of ascorbic acid in animal cells tissues and fluids. In *Methods in Enzymology*, 62 (Edited by D. B. McCormick and L. D. Wright), Academic Press, pp. 7–8. New York.
- Onat, T. Emerk, K. Sözmen, E.Y, 2002. *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Ono, R. Yamaguchi, H. 1999. Anabolic effect of soybean saponin on bone component in the femoral tissues of rats. *J. Healt. Sci.* 45 (5), 251–255.

- Öztaşan, N. Eryavuz, A. Bülbül, A. Avcı, G. Küçükkurt, İ.ve Fidan, A.F. 2004. Deneysel hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda kalp atım sayısı ve ortalama kan basıncı üzerine yucca schidigera ekstraktının etkisi. 30. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Konya.
- Plock, A. Sokolowska-Kohler, W. And Presber, W. 2001. Application of flow cytometry and microscopical methods to characterize the effect of herbal drugs on Leishmania sp. *Experimental Parasitology*, 97, 141–153.
- Redlich C.A., Rockwell, R., Chung, J.S., Sikora A.G., Kelley, M. And Mayne, S.T. 1998. Vitamin A Inhibits Radiation-Induced Pneumonitis in Rats. *The Journal of Nutrition*, 128, 1661-1664.
- Reiter, R.J. 1998. Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. *Progress in Neurobiology*, 56, 359-384.
- Scott, M,D. Meshnick, S,R. And Eaton, J,W. 1989. Superoxide Dismutase Amplifies Organismal Sensitivity to Ionizing Radiation. *J. Biol.* 264, 2498-2501.
- Seifter, E. J. Mendecki, S. Holtzman, J. D. Kanofsky, E. Friedenthal, L. Davis and J. Weinzweig 1988. Role of vitamin A and beta carotene in radiation protection: Relation to antioxidant properties. *Pharmacol. Ther.*, 39, 357–365.
- Sen, S. Makkar H.P.S.,And Becker K. 1998. Alfalfa saponins and their implication in animal nutrition. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 131-140.
- Serhatlıoğlu, S. Gürsu F.M. Gulcü F. Canatan H. And Gökmerdan A. 2003. Levels of paraoxonase and arylesterase activities and malondialdehyde in workers exposed to ionizing radiation. *Cell Biochem Function*, 21, 371–375.
- Simonian, N.A. And Coyle, J,T. 1996. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 36, 83–106.
- Sparg, S.G. Light M.E. And Staden J.van. 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 94: 219-243.
- Spirichev, V. B. V. M. Kodentsova and N. V. Blazheveich 1996. The vitamin and trace element status of the personnel of the Chernobyl atomic electric power station and of pre school children in the city of Slavutich. *Fiziol. Zh.*, 40, 38–48.

- Spiteller, G. 2001. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. *Exp. Gerontol.*, 36 1425–1457.
- Stryer, L. 1995. *Biochemistry*, Fourth Edition, W.H. Freeman and Company, New York.
- Sur, P., Chaudhuri, T., Vedasiromoni, J.R., Gomes, A. And Ganguly, D.K. 2001. Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea. *Biol. Pharm. Bull.*, 24(3), 209–213.
- Suzuki, I. and N. Katoh. 1990. A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in cattle using spectrophotometer, *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52, 1281–1283.
- Takeshita, K., Fujii, K., Anzai, K. And Ozawa, T. 2004. In Vivo Monitoring Of Hydroxyl Radical Generation Caused By X-Ray Irradiation Of Rats Using The Spin Trapping/Epr Technique, *Free Radical Biology & Medicine*, 36, 1134 – 1143.
- Umegaki, K., Sugisawa, A., Sung, J.S., Yamada K. And Mitsuaki, S. 2001. Different Onsets Of Oxidative Damage To Dna And Lipids In Bone Marrow And Liver In Rats Given Total Body Irradiation. *Free Radical Biology & Medicine*, 31, 1066–1074.
- Whitehead, C.C., McNab J.M. And Griffin H.D. 1981. The effects of low dietary concentrations, of saponin on liver lipid accumulation and performance in laying hens. *Br. Poult. Sci.*, 22 (3),282-288.
- Winrow, V,R. Winyard, P,G. Morris, C,J. Blake, D,R., 1993. Free radicals in inflammation: Second messengers and mediators of tissue destruction. *Dr MED Bull.*, 49, 506-522.
- Wood ,E.S. And Simith, C.A., 1991, *Molecular and Cell Biochemistry*, Chapman & Hall, Hong Kong Yanbeyi, S. 1999.
- Yalınkılıç, Ö. And Enginar, H. 2008. Effect of X-Radiation on Lipid Peroxidation and Antioxidant Systems in Rats Treated with Saponin-containing Compounds. *Photochemistry and Photobiology*, 84, 236–242.

Yanbeyi, S. 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri, Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

Yeşilada, E. 1995. Heterozitler ve Saponinler. Ders notları. Gazî Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognazi Anabilim Dalı. S:4-20.

Yılmaz, S. Ve Ozan, T.S. 2003. Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. Türk Biyokimya Dergisi, 28(4): 252-256.

Yülek, G. 1992. Radyasyon Fiziği ve Radyasyondan Korunma. Sek Yayınları No: 14, 198s. Ankara.

6.1 İnternet Kaynakları

Tarih

1- (<http://www.agaclar.net/forum/showthread.php?t=1256>). 20-06-2008

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ekrem BATTAL

Doğum Yeri : Gediz

Doğum Tarihi : 01.04.1974

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Endüstri Meslek Lisesi Kimya Bölümü 3 Yıl

Lisans : İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü 4 Yıl

Yüksek Lisans :

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Milli Eğitim Bakanlığında öğretmen olarak 12 Yıl

Yayımları (SCI ve diğer)

Diğer konular