

**SAPONİN İÇEREN BAZI BİTKİLERİN
RADYASYONA KARŞI ANTIOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ömer YALINKILIÇ

Danışman Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR

**KİMYA ANABİLİM DALI
ŞUBAT 2007**

Bu tez çalışması 104T187 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAPONİN İÇEREN BAZI BİTKİLERİN RADYASYONA KARŞI
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömer YALINKILIÇ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR

KİMYA ANABİLİM DALI

ŞUBAT 2007

Ömer YALINKILIÇ'ın yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “Saponin içeren bazı bitkilerin radyasyona karşı antioksidan özelliklerinin araştırılması” başlıklı bu çalışma, lisans üstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliğince kabul edilmiştir.

Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. Cemal ÇİFCİ
(Başkan)

Jüri üyesi : Yrd. Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Jüri üyesi: Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR
(Danışman)

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun.....Gün
ve Sayılı Kararı ile Onaylanmıştır.

Prof. Dr. Süleyman TAŞGETİREN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SAPONİN İÇEREN BAZI BİTKİLERİN RADYASYONA KARŞI ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömer YALINKILIÇ

Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ENGİNAR

Üç farklı bitki türünden (atkestanesi, *Aesculuc hippocastanum* L. (AKE), yonca, *Medicago sativa* L. (YE) ve ıspanak, *Spinacia oleracea* L. (IE)) elde edilen saponin içeren ekstratlarla beslenen ratlardaki X-radyasyonunun neden olduğu oksidatif strese karşı glutatyon seviyeleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada 5 Grey (Gy), 10 Gy lik X-radyasyon (XR) dozu ve 5 Gy, 10 Gy lik XR dozuna ilaveten 25.0 mg/kg, 50.0 mg/kg bitki ekstraktları verilen ratlardaki kan serumundaki malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), askorbik asit (AA), retinol ve β -karoten konsantrasyonları ölçülmüştür. Sadece radyasyon verilen gruplarda radyasyon dozunun artmasıyla kan serumundaki MDA ($p < 0.001$) değerleri önemli ölçüde artarken, GSH ($p < 0.01$) retinol, askorbik asit ve β -karoten seviyesi azalmıştır. XR ve ekstre verilen gruplarda, MDA serum konsantrasyon değerleri radyasyon dozuyla artarken, ekstre miktarının artmasıyla bu değerler önemli ölçüde azalmıştır. XR ve ekstraktla muamele edilen gruplarda, GSH, AA, retinol ve β -karoten seviyesi XR dozuyla önemli şekilde azalırken, bu değerler ekstre konsantrasyonunu artmasıyla artmıştır. Ayrıca

XR+ekstrelerle muamele edilen gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman GSH, β -karoten, retinol ve AA seviyeleri önemli ölçüde artarken sadece MDA değeri önemli ölçüde azalmıştır. Bulunan sonuçlara göre, tüm ekstreler antioksidan sistemi güçlendirdiği, radyasyona maruz kalan ratlarda serbest radikallerin neden olduğu lipit peroksidasyonu düşürdüğü görülmüştür. Ancak tüm vücuda XR verilen ratlarda, AKE'nin antioksidan etkisi diğer iki ekstreye göre daha fazla olduğu bulunmuştur.

2007, 64 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Atkestanesi (*Aesculuc hippocastanum* L.), Yonca (*Medicago sativa* L.) ; Ispanak (*Spinacia oleracea* L.), Lipit peroksidasyon, X-ışınlar, Rat

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES SAPONINE CONTAINING PLANTS AGAINST RADIATION

Ömer YALINKILIÇ

University of Afyonkarahisar Kocatepe Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hüseyin ENGİNAR

Protective effect of saponin containing extracts from three plant species used in Turkish traditional medicine against X-radiation (XR)-induced oxidative stress in rat were evaluated for in lipid peroxidation (LPO) product and levels of glutathione: *Aesculuc hippocastanum* L. seed extract (AKE), *Medicago sativa* L. extract (YE) and *Spinacia oleracea* L. extract(IE). We assayed the effects of XR dose (5 Gy, 10 Gy) and XR+administration of plant extracts(25.0 mg/kg, 50.0 mg/kg) on serum malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), reduced ascorbic acid (AA), retinol and β -caratone concentrations in rats. Only giving XR groups, the plasma MDA ($p < 0.001$) value significantly increased but GSH ($p < 0.01$), AA, retinol and β -caratone concentration in blood decreased with increasing XR doses. In the XR+extracts-treated groups, plasma concentrations of MDA were increased significantly with increasing radiation but their concentrations were decreased significantly with increasing extract

concentrations. Plasma concentrations of GSH, β -carotene, retinol and AA in XR+extracts-treated groups were decreased importantly with increasing XR but their values increased with increasing extract concentrations. And also blood samples of XR+extracts-treated groups compared with control group, GSH, β -carotene, retinol and AA significantly increased but only MDA values significantly decreased. 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. However, antioxidant effect of AKE given animal was more effective than that of YE and IE administered whole-body XR rats.

2007, 64 pages

Keywords: *Aesculuc hippocastanum* L. seed extract, *Medicago sativa* L. extract, *Spinacia oleracea* L. extract, Lipid peroxidation, 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 Yrd. Doç. Dr. Mustafa CEMEK'e sonsuz teŐekkürlerimi bir borç bilirim.

Deneysel alıŐmalar sırasında Kimya Bölümün her türlü imkânlarını bize sunan Doç. Dr. İbrahim EROL'a teŐekkürlerimi bir borç bilirim.

Ratlardan kan alımı sırasında yapmış olduğu yardımları için Serkan ŐEN'e teşekkür ederim.

Tez çalıŐmam boyunca destekleri ile her zaman yanımda olan eŐim Rabia YALINKILIÇ'a ve aileme teşekkür ederim.

Ömer YALINKILIÇ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Serbest Radikaller	3
2.1.1 Serbest Radikal Oluşumu ve Reaktif Oksijen Türleri	4
2.1.1.1 Süperoksit radikali	5
2.1.1.2 Hidrojen peroksit	6
2.1.1.3 Hidroksil radikali	8
2.1.1.4 Singlet oksijen	9
2.1.1.5 Hipokloröz asit (HOCL)	9
2.1.1.6 Nitrik oksit	9
2.1.2 Serbest Radikal Kaynakları	10
2.1.3 Serbest Radikallerin Etkileri	11
2.1.3.1 Membran lipitlerine etkileri ve lipit peroksidasyonu	12
2.1.3.2 Proteinlere etkileri	16
2.1.3.3 Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri	16
2.2 Antioksidanlar	17
2.2.1 Doğal Antioksidanlar	17
2.2.1.2 Enzimatik antioksidanlar	19
2.2.1.2.1 Süperoksit dismutaz (SOD)	19
2.2.1.2.2 Glutasyon peroksidaz (GPx)	19
2.2.1.2.3 Katalaz	20
2.2.1.3 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	20
2.2.1.3.1 C Vitamini	20
2.2.1.3.2 E Vitamini	21

2.2.1.3.3 Glutatyon (GSH)	22
2.2.1.3.4 Karotenoidler	23
2.3 Radyasyon ve Çeşitleri	23
2.3.1 İyonize Radyasyonun ve Biyolojik Etkileri	26
2.3.2 Radyasyonun Etki Mekanizması	27
2.3.2.1 Fiziksel Olay	28
2.3.2.2. Fiziko-kimyasal olay	28
2.3.2.3 Kimyasal olay	29
2.3.2.4 Biyolojik olay	29
2.4 Saponinler	30
2.4.1 Saponinlerin biyolojik etkileri ve tedavide kullanımı	32
2.4.1.1 Hücre membranlarındaki etkileri	32
2.4.1.2 Saponinlerin lipid metabolizması üzerine etkisi	33
2.4.1.3 Antioksidan etkileri	33
2.4.1.4 Saponinlerin antihipertansif etkisi	34
2.4.1.5 Antikarsinojenik etkisi	34
2.4.1.6 Mineraller üzerine etkileri	35
3. MATERYAL VE METOT	36
3.1 Materyal	36
3.1.1 Hayvan materyali	36
3.1.2 Bitki ekstralarının hazırlanması	37
3.2. Metot	38
3.2.1 Ratlara X-radyasyonunun verilmesi	38
3.2.2 Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması	39
3.2.3 Biyokimyasal analizler	39
3.2.4 İstatistik Analizler	39
3.2.5 Hayvan Etik Kurulu	40
4. BULGULAR	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
6. KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekiller</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	MDA ile TBA arasında oluşan reaksiyon	15
Şekil 2.2	Alfa, beta ve gama ışınlarının giriş güçleri	25
Şekil 2.3	Radyasyon kaynakları	25
Şekil 2.4	Steroid yapıdaki saponinlerin yapısı	30
Şekil 2.5	Triterpenoid saponinlerin yapısı	31
Şekil 4.1	Deneye başlamadan önce ratlardaki ağırlık değişimi	41
Şekil 4.2	Deneye başladıktan sonraki ratlardaki ağırlık değişimi	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelgeler</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Endojen Kaynaklı Antioksidanlar	18
Çizelge 1.2 Eksojen Kaynaklı Antioksidanlar	19
Çizelge 4.1 Değişik Dozlarda X-Radyasyonu ve Atkestanesi Ekstresi Verilen Gruplardaki GSH, MDA , β -Karoten, Retinol ve Vitamin-C Değerleri	47
Çizelge 4.2 Değişik Dozlarda X-Radyasyonu ve Yonca Ekstresi Verilen Gruplardaki GSH, MDA , β -Karoten, Retinol ve Vitamin-C Değerleri	48
Çizelge 4.3 Değişik Dozlarda X-Radyasyonu ve Ispanak Ekstresi Verilen Gruplardaki GSH, MDA , β -Karoten, Retinol ve Vitamin-C Değerleri	48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

HO*	Hidroksil radikali
HO ₂ *	Hidroperoksi radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
LOO*	Lipit peroksit
O ₂	Moleküler oksijen gazı
O ₂ *	Süperoksit radikali
HOCL	Hipokloröz Asit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
NO ₂	Azot di oksit
NO*	Nitrik oksit radikali
C ₆ H ₈ O ₆	Askorbik asit

Açıklama

Kısaltmalar

A°	Angustron = 1.0x10 ⁻¹⁰ m
AA	Askorbik asit
AKE	Atkestanesi ekstresi
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleikasit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GRUP 1	Serumfizyolojik + 5 Gy X radyasyonu
GRUP 2	Serumfizyolojik + 10 Gy X radyasyonu
GRUP 3	25 mg/kg AKE + 5 Gy X radyasyonu
GRUP 4	25 mg/kg AKE + 10 Gy X radyasyonu
GRUP 5	50 mg/kg AKE + 5 Gy X radyasyonu
GRUP 6	50 mg/kg AKE + 10 Gy X radyasyonu
GRUP 7	25 mg/kg YE + 5 Gy X radyasyonu
GRUP 8	25 mg/kg YE + 10 Gy X radyasyonu
GRUP 9	50 mg/kg YE + 5 Gy X radyasyonu
GRUP 10	50 mg/kg YE + 10 Gy X radyasyonu
GRUP 11	25 mg/kg IE + 5 Gy X radyasyonu
GRUP 12	25 mg/kg IE + 10 Gy X radyasyonu
GRUP 13	50 mg/kg IE + 5 Gy X radyasyonu
GRUP 14	50 mg/kg YE + 10 Gy X radyasyonu
GSH	Redükte glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş glutasyon
GST	Glutasyon S-transferaz
GTP	Guanin trifosfat
HNE	Hidroksinonenal
IE	Ispanak ekstresi
LPO	Lipit peroksidasyonu

Açıklama

Kısaltmalar**Açıklama**

MDA	Malon dialdehit
PUFA	Çoklu-doymamış yağ asitleri
RNA	Ribo nükleik asit
RNS	Reaktif nitrojen türlerinden
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
Sv	Sievert
TBA	Tiyobarbitürik asit
XR	X radyasyonu
YE	Yonca ekstresi

1.GİRİŞ

Günümüzde insanlar radyasyona doğal yoldan (fon radyasyonu) veya tanı veya tedavi amaçlı olarak maruz kalmaktadırlar. Maruz kalınan radyasyon iyonlayıcı radyasyon ise, hücrede bulunan atom veya moleküllerin elektronlarını uyararak veya kopararak atom veya molekülü aktif hale getirir. Tanı ve tedavide kullanılan bu ışınlar iyonlayıcı radyasyon olup atom ve molekülleri iyonlaştıracak yeterli enerjiye sahiptirler. Oluşan bu ürünler hücre membranı üzerine zarar vererek ters etki yaparlar. Hücrede oluşan aktif serbest radikal, biyomolekülü oksitleyerek hücrenin ölümüne ve daha sonrada dokunun zedelenmesine neden olur. Böylece iyonize radyasyonun hücre üzerindeki öldürücü etkisi oksidatif strese neden olur.

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

Sağlık alanında yapılan araştırmalar, gerek hastalıkların tedavisinde gerekse koruyucu hekimlikte bitkisel ürünlerin önemini göstermektedir (Dündar 2001). Son yıllarda ise bitkisel diyetlerin olası koruyucu etkilerinin taşıdıkları antioksidan özellikli maddelerden oluştuğu ve antioksidanların hücreleri doğal oksidasyon reaksiyonlarından koruduğu fark edilmiştir. Beslenme alışkanlıkları doğal bileşikleri içeren (sebze, meyve, hububat, baklagiller) 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 görülmektedir. Bunun temel nedeni ise bitkisel diyetlerin olası koruyucu etkilerinin taşıdıkları antioksidan özellikli maddelerden oluştuğu ve antioksidanların hücreleri doğal oksidasyon reaksiyonlarından koruduğu fark edilmiştir.

Günümüzde, bitkiler ve bitkilerin içerisinde bulunan farklı maddeler birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu maddelerden biri de saponinlerdir. Doğada pek çok bitkide bolca bulunan saponinler genellikle yonca, nohut, ıspanak, atkestanesi, bakla, bezelye, mercimek, kuru fasulye gibi bitkilerde bulunmaktadır.

Son yıllarda saponin içeriği yüksek bitkilerden ekstre edilen saponinlerin gerek beşeri hekimlikte gerekse hayvan sağlığının korunması ve verim artışına yönelik kullanıma olanaklarını araştıran çalışmaların sayısı önemli düzeyde artmıştır. Bilim adamları tarafından genelde antinutrisyonel faktör olarak ele alınan saponinlerin düşük dozlarda diyetlere ilave edilmesinin sağlığa etkisi ve çeşitli hastalıklardaki tedavi imkânlarının araştırılmaları yapılmış ve önemli veriler elde edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda; saponinlerin hipokolesterolemik, antikarsinojenik, antioksidan, antiinflamator, antimikrobiyel, antiprotozoal, antifungal ve antihipertansif etkileri olduğu bildirilmiştir (Ono ve Yamaguchi 1999, Vegamania 1995, Öztaşan vd. 2004).

Yurdumuzda yetişen bitkiler içerisinde saponin içerenler oldukça fazladır. Bunlara atkestanesi, yonca, nohut, fasulye ve ıspanak örnek olarak verilebilir.

Bu çalışmada, atkestanesi, yonca, ve ıspanaktan saponin içeren ekstreler elde edilmiştir. Bu ekstrelerin değişik dozlardaki radyasyonlara karşı antioksidan özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

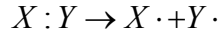
2.1 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu maddelerin yarı ömürleri çok kısa olmasına karşın oldukça fazla reaktiftirler. Bu radikaller normal metabolik olaylar sırasında oluşabilecekleri gibi çok çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da meydana gelebilirler (Barber ve Harris 1994).

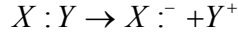
Deneysel serbest oksijen radikalleri ile ilgili tartışmaları genellikle reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinden (RNS) oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1999). ROS ve RNS UV, X-ray ve gamma ışınlarına maruz kalma, atmosfer kirliliği, yangı sırasında makrofaj ve nötrofillerden salınma ve mitokondri katalizli elektron taşıyıcı reaksiyonların ve diğer mekanizmaların ürünü olarak üretilirler (Cadenas 1989). ROS ve RNS'nin biyolojik sistemlerde hem yararlı hem de zararlı etkileri olmak üzere iki rolü bulunmaktadır (Valko vd. 2004). ROS'un yararlı etkileri arasında hücrel cevaplar gibi fizyolojik rolleri vardır. Örneğin, yangı oluşturan ajanlara karşı savunmada ve hücrel sinyal iletiminde önemli bir fonksiyon olduğu bilinir. Çoğunlukla ROS düşük konsantrasyonlarda mitojenik özelliğin uyarılması gibi yararlı etkiler gösterirken yüksek düzeylerde nükleik asit, protein ve lipidleri içeren hücrel yapıların bozulmasında önemli araçları oluşturur (Poli vd. 2004). ROS'nin oluşturacağı zararlı etkiler antioksidan enzimlerle ve bunlara destek olarak enzimatik olmayan antioksidanlarla giderilmeye çalışılır (Halliwell 1994). ROS etkisi ile oluşan oksidatif zararı önlemek için hücrede antioksidatif savunma sistemleri vardır. Reaktif oksidanlar yaşam süresince organizmada birikim gösteren ve serbest radikallerin neden olduğu DNA, lipid ve protein hasarları, yaşlanmadan kaynaklanan nörodejeneratif bozukluklar, artrit, aterosklerozis ve kanser gibi hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığı öne sürülmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1999).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler (Akkuş 1995):

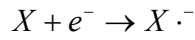
a- Homolitik ayrılma ile radikal oluşumu



b- Heterolitik ayrılma ile iyon oluşumu



c- Elektron transferi ile radikal oluşumu

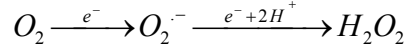


Serbest radikaller organik veya inorganik moleküller şeklinde pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler. İki serbest radikalın birbiri ile reaksiyona girmesi sonucu radikal olmayan bir bileşik ortaya çıktığı gibi, bir serbest radikal, radikal olmayan bir yapıyla reaksiyona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

2.1.1 Serbest Radikal Oluşumu ve Reaktif Oksijen Türleri

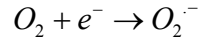
Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler, oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerin iyonları ve hidroksil radikalidir. Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir. Bu elektronlardan dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Moleküler oksijen (O_2), 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^{-}), hidrojen peroksit ve hidroksil

radikali gibi reaktif ürünler açığa çıkar. Bu radikaller oksijenin toksik etkisinin gerçek nedenini oluştururlar (Cheeseman ve Slater 1993).



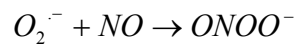
2.1.1.1 Süperoksit radikali

Tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) meydana gelir (Brunori ve Rotilio 1984)



Diğer radikallere oranla reaktivitesi çok azdır. Oluşumuna neden olduğu radikallerle birlikte organizmada genel bir oksitleyici gibi davranmaktadır. Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Hidrojen peroksidin kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması bakımından önemlidir (Mccord 1993).

Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir.



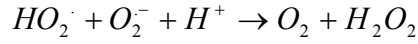
Böylece NO'nın normal etkisi inhibe edilir. Ayrıca, peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2), hidroksil radikali (OH^*) ve nitronyum iyonu gibi daha başka toksik ürünlere dönüşürler.

Süperoksit, düşük pH değerlerinde daha reaktif olup yükseltgeyici perhidroksil radikali (HO_2^*) oluşturmak üzere protonlanır. Fizyolojik pH'daki protonlanmış formu % 1'den azdır. Süperoksit anyonu hem yükseltgeyici hem de indirgeyici özelliğe sahiptir. İndirgeyici olarak görev yaptığında, örneğin ferrisitokrom C'nin ya da nitroblue

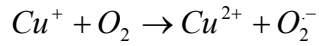
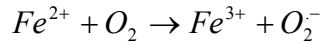
tetrazolium'un indirgenmesinde bir elektron kaybeder ve oksijene yükseltgemiş olur. Sitokrom C'yi indirgemesi SOD tarafından inhibe edilir. Bundan faydalanılarak SOD aktivitesi ve fagositler tarafından üretilen (O_2^-) tayini yapılır (Weiss 1986).

Oksidan olarak görev yaptığında, örneğin epinefrinin yükseltgenmesinde bir elektron alır ve hidrojen peroksida indirgenir.

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



İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit meydana getirebilir.



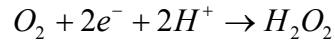
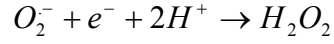
Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdürler. Bu yüzden, geçiş metalleri iyonlarının oksijenle reaksiyonları geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olarak düşünülebilir.

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).

2.1.1.2 Hidrojen peroksit

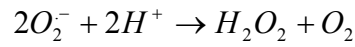
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile

birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir yükseltgeyicidir (Markesbery 1997).

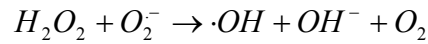


Dismutasyon sürekli olarak veya superoksit dismutaz (SOD) enzim aracılığı ile katalize edilebilir (Desideri ve Falconi 2003).

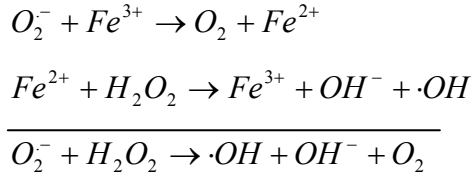
Hidrojen peroksit genellikle biyolojik sistemlerde süperoksidin dismutasyonu ile meydana gelir. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



Hidrojen peroksit, bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Aşağıdaki reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir (Liochev ve Fridovich 2002).



Bu reaksiyon katalizör varlığında veya katalizörsüz oluşabilir. Fakat katalizörsüz reaksiyon çok yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci şekil ise çok hızlıdır ve fenton reaksiyonu adını alır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{3+}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{2+}) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten $\cdot OH$ ve OH^- üretilir.



Mitokondride bol miktarda H_2O_2 bulunur. Ortamda metal iyonları da çok bulunduğu için çok fazla hidroksil radikali üretimi söz konusudur. Bu metal katyonları, DNA veya hücre zarına bağlanırsa hidroksil radikali oluşumuna sebep olabilir (Reiter 1998).

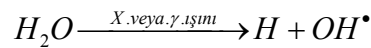
2.1.1.3 Hidroksil radikali

Oksijen radikalleri içinde en reaktif ve en toksik etkili 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).

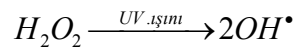
Hidroksil radikali oluşunca hemen üretildiği yerin birkaç angustron (Å) uzaklığında herhangi bir molekülle reaksiyona girer. Reaktifliği yüksek olduğu için $37^\circ C$ ' da beklenen yarılanma ömrü 1×10^{-9} saniyedir (Karbownik ve Reiter 2000).

Bu radikal nükleer ve mitokondriyal DNA, membran lipitleri ve karbonhidratları gibi, hücrenin makro molekülleri üzerine yıkıcı etki yapmamaktadır (Halliwell vd. 1993).

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



H_2O_2 nin UV ışığına maruz kalması ile OH^\bullet oluşabilir.

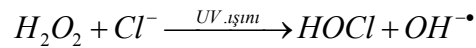


2.1.1.4 Singlet oksijen

Singlet oksijen ortaklaşmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür (Akkuş 1995). Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROS gurubunda yer alan $\cdot O_2$ serbest radikal reaksiyonların başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olur.

2.1.1.5 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 birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür (Carr vd. 2000).



2.1.1.6 Nitrik oksit

Nitrik oksit (NO^{\bullet}), tek sayıda elektron içeren renksiz gaz şeklinde bulunan 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 ve Coyle 1996). Hücre içi konsantrasyonu fazla arttığında nöron ölümü ile sonuçlanan toksik olayları başlatır. Nitrik oksit, biyolojik sistemlerde O_2 , O_2^- ve geçiş metalleriyle reaksiyona girer. Metal ve tiyol içeren proteinlerle yürüyen reaksiyonlar, enzim aktivitelerinde zayıflamaya neden olur. Nitrik oksitin elektron

transport zincirindeki demir içeren komplekslere saldırması, bozulmuş enerji metabolizmasıyla sonuçlanır. Nitrik oksit oluşumunun artması sinir hücreleri tahribatına yol açar (Reiter 1998).

2.1.2 Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu 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).

- a- Biyolojik kaynaklar
 - i. Radyasyon
 - ii. Aktive olmuş fagositler
 - iii. Antineoplastik ajanlar: nitrofurantoin, bleomisin, doxorubicine
 - iv. Alışkanlık yapan maddeler: alkol ve uyuşturucu maddeler
 - v. Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)
 - vi. Stres: Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır.

- b- İntrasellüler kaynaklar
 - i. Küçük moleküllerin otooksidasyonu
 - ii. Enzimler ve proteinler: ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin
 - iii. Mitokondrial elektron transportu
 - iv. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom b₅)
 - v. Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler

- vi. Plazma membranı: lipoksijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu
- vii. Oksidatif stres yapıcı durumlar: iskemi, travma, intoksikasyon

Hücrelerde serbest radikal üretimi, bazı yabancı toksik maddeler tarafından da büyük oranda arttırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler veya antioksidan aktiviteyi düşürürler.

2.1.3 Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller birçok patobiyolojik olaylarda rol oynamaktadırlar. İltihabi hastalıklar, otoimmün hastalıklar, kanser, radyasyon hasarı, göz rahatsızlıkları, yaşlanma, Alzheimer hastalığı, diyabet ve birçok kimyasal maddenin toksite göstermesinde serbest radikallerin etkili olabileceği belirtilmiştir (Aydın vd. 2001).

Hücrenin bütünlüğü membran vasıtasıyla korunur. Biyolojik molekülün fonksiyonları onun üç boyutlu yapısına bağlıdır. Biyolojik membranlar hücrenin içyapı bileşenlerini sürekli korur. Membran yapısını dayanıklılığı onların fonksiyonları bakımından önemlidir. Lipid peroksidasyonu lipidden yapılmış olan membranın bozunmasına ve hücrenin varlığını sürdürebilmesini tehdit eder. Lipit peroksidasyonundan neden olduğu hücre hasarı bilinen iki mekanizmayla gerçekleşmektedir. Bunlardan birincisi, membranın anatomik yapısının bozunması, diğeri ise membran içerisine toksik bileşiklerin difüzyonudur (Poli vd. 1985). Lipit peroksidasyonundan fazla miktarda aldehit meydana gelir (Diazani 1982). Yüksek miktardaki aldehit konsantrasyonu savunma bölgesinde toplanabilir ve enzim moleküllerindeki sülfür gruplarını bloke ederler. Hücre içerisinde bazı mekanizmalar bulunup bunlar toksik bileşikleri metabolize toksitesini giderir. Anaerobik aldehitler aldehit dehidrogenaz vasıtasıyla katalizlenir. Aerobik aldehitlerse ve bazı sülfür gruplarının giderilmesinde aldehit reduktaz, alkol dehidrogenaz ve glutatyon transferaz büyük rol oynarlar.

Radikallerin üretimi, ortamda bulunan demir miktarının artmasıyla artar. Demir indirgeme özelliği olan bir kataliz olup birçok radikal, fazla miktarda reaktif ve zararlı

bileşikler meydana getirir. Yaşlanmanın metabolizma hızı ile ters orantılı olduğu düşünülmektedir. Hızlı metabolizmada oksijen tüketimi ve bunun neticesinde serbest radikal üretimi artar. Bu radikaller de yaşlanmayı hızlandırırlar. Bu görüş son yıllarda yapılan çalışmalar sonucu büyük ilgi toplamıştır. 1969 yılında Harman (Harman 1969) tarafından ortaya atılan bu teoriye göre yaşlanma, normal hayat süresince meydana gelen serbest radikallerin sebep olduğu yıkımların bir sonucudur. Buna göre, metabolizması hızlı ve fazla oksijen tüketen ve böylece serbest radikal üretimi fazla olan canlılar daha kısa ömürlü olacaklardır. Şüphesiz burada antioksidan savunma sistemleri de önemli rol oynarlar. Memeliler arasında en uzun ömre sahip olan insanlarda antioksidan bir enzim olan SOD aktivitesi en yüksek ve en kısa ömürlü olan farelerde ise en düşüktür.

Serbest radikal oluşumunu arttıran iyonize radyasyon, yaşlanmada benzer bir tablo meydana getirir ve yaşama süresini kısılmasına neden olur.

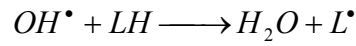
2.1.3.1 Membran lipitlerine etkileri ve lipit peroksidasyonu

Serbest radikaller biomoleküllerin çoğunu etkiler, ancak lipitler en hassas olanlarıdır (Igari vd. 1982). Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu-doymamış yağ asitleri (PUFA)'nın oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlerler. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle son bulur. Bu ürünlerden başlıcaları olan hidroksinonenal (HNE) ve MDA, proteinlere ve DNA'ya bağlanarak kalıcı değişiklikler oluşturur. Lipit peroksitlerinin hücre yaşamı için en önemli etkileri, membran yapısında ve hücre bölünmesinde meydana getirdikleri değişimlerdir (Erden 1992).

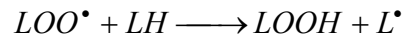
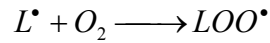
Lipitlerdeki doymamış yağ asitleri, otooksidasyona emilimlidirler. Otooksidasyon iki çift bağ arasındaki metilen grubunun çevresinden kolayca etkilenecek, hidrojen

atomunun birini kaybetmesi ile oluşan serbest radikalden kaynaklanmaktadır. Hidrojen ayrılmasının ilk nedeni serbest oksijen radikallerinin (SOR) hareketidir. SOR direkt hasara neden olabildikleri gibi birbirlerini etkileyerek, en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturmakta ve doymamış yağ asitlerine (PUFA) etki ederek dolaylı yoldan de etki etmektedir (Wood ve Simith 1991). Lipit peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Akkuş 1995). Lipit peroksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonları olmak üzere üç ayrı bölümde incelenebilmektedir.

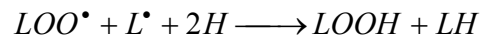
Başlama safhası: OH radikali, bir yağ asitinin (LH) metilen molekülünden bir hidrojen atomu (H+) kopararak bir lipit radikali (L-) oluşturur. Bu reaksiyon hem membran lipitleri hem de besinsel yağlar için geçerlidir.



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



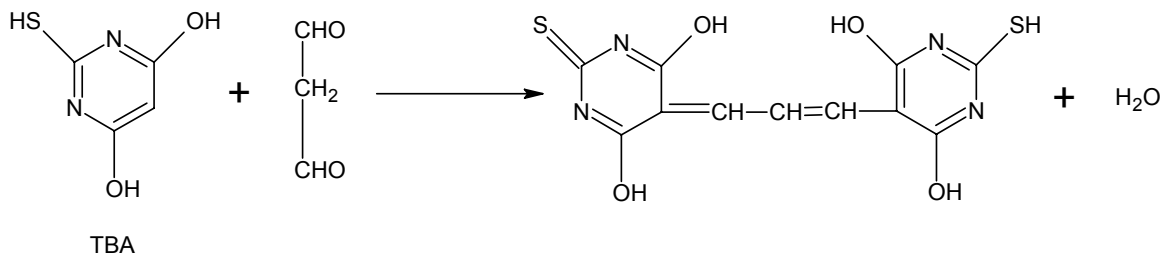
Sonlanma safhası: Zincir reaksiyonu antioksidanlar (likopen gibi) tarafından sonlandırılabilir.



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 lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir. Molekül içi konjuge dien bağlarının farklı pozisyonlara gelmesi ile değişikliğe uğrayabilen kararsız lipid radikalının moleküler oksijenle tepkimesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir (Spiteller 2001). Peroksidasyon bir defa başladıktan sonra yüzlerce yağ asidi zinciri lipid hidroperoksitlerine dönüştürülmekte, böylelikle olay kendi kendine katalizlenerek devam etmektedir. LPO'nda yayılma zincirinin uzunluğu; membrandaki lipidprotein oranı, doymamış yağ asidi içeriğinin artması, oksijen konsantrasyonu ve vitamin E benzeri zincir reaksiyonlarını kesen antioksidanların varlığı gibi pek çok faktöre bağlıdır (Köylü 2003). LPO demir ve bakır iyonları ya da bu iyonların oluşturduğu fosfat esterleriyle oluşturduğu basit şelatları (Fe^{+2} -ADP), hemoglobin ve myoglobin de içeren bazı demir proteinleri, lipid hidroperoksitlerini bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadırlar (Köylü 2003). Bu kompleks bozunma ürünleri de etan, pentan, aldehit, peroksitler, alkoller, hidroksi yağ asitleri ve diğer karbonil bileşikleridir. Lipid 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.

MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü değildir. Fakat lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir. Bu sebeple organizma da oluşan LPO düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu metot Şekil 1.1 de gösterilen MDA ile tiobarbitürik asitin (TBA) reaksiyonu temeline dayanmaktadır. MDA, tiobarbitürik asit ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve oluşan bu çözeltinin absorbans değerlerinden LPO'nun derecesi saptanmaktadır.



Şekil 1.1 MDA ile TBA arasında oluşan reaksiyon.

Peroksidasyonla oluşan ve son aldehit ürünlerinden olan MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanarak polimerizasyonuna yol açmaktadır. Bununda, hücre membranının Şekil değiştirebilme, iyon geçirgenliği, enzim aktivitesi, hücre yüzey bileşenlerinin btnlğinin korunması gibi intrinsik özellikleri değiştirdiği, protein sentezini baskıladığı, makrofaj hareketlerini durdurduğu ve kemotoksiteye neden olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca MDA'nın difüzyon özelliğine sahip olduğu için DNA'nın azot bazları ile de reaksiyon verdiği ve bütün bu özelliklerinden dolayı lipit peroksidasyonun göstergesi olarak MDA'nın ölçümünün biyolojik olarak önemli olduğu bilinmektedir (Akkuş 1995). Ortamda metal iyonlarının ve özellikle geçiş metallerin varlığı LPO'nun derecesini artıracak yönde etki etmektedir. Geçiş metalleri LPO'nu başlatmaktan ziyade, sentezlenmiş olan lipit hidroperoksitlerinin parçalanmalarını ve lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederler. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirmektedirler (Akkuş 1995).

LPO ve kükürt içeren proteinlerin oksidasyonu sonucu membran geçirgenliği ve kırılabilirliğinin artması ile membran enzimlerinin aktivitesi azalmakta hücreye Ca^{+2} girişi artmaktadır (Onat vd. 2002). Serbest radikallerin hücresel yapıyı etkilemesi ve LPO aracılığı ile oluşan hücre hasarı hücre içi serbest Ca^{+2} artışına bağlı olarak artan fosforilaz aktivitesi fosfolipit kaybının artmasına neden olur. Ayrıca membran geçirgenliğinde değişiklik ve potansiyel kayba bağlı toksik etkide artışa, proteaz aktivasyonu ile proteolitik etkinin Őiddetlenmesine, katabolik enzimlerin aktivitesinde artışa ve endonükleaz aktivitesi ile DNA kırılmalarına yol açmaktadır (Onat vd. 2002).

Lipit peroksidasyonu, biyolojik zarların özelliklerinde ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparak hastalık patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Yaşlanma, kronik kalp hastalıkları ve kanser başta olmak üzere birçok hastalıkta lipit peroksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir. LPO sırasında oluşan; lipit hidroperoksitleri doğrudan DNA zincirlerini kırabilmekte, lipit peroksil ve alkoksil radikalleri ise DNA'da oksidasyona sebep olabilmektedirler (Yılmaz ve Ozan 2003).

Lipit peroksidasyonunun önlenmesinde vitamin E'nin selenyum ile de ilişkisi vardır. Selenyum, glutatyon peroksidaz (GPx) enziminin ayrılmaz bir parçasıdır. Çünkü GPx

hücre membranında peroksidasyon olayını önler, böylece lezyon hücre duvarındaki yapılarda görülen bozukluklar engellenmiş olur (Dündar ve Aslan 2000).

2.1.3.2 Proteinlere etkileri

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein oksidasyonu, özellikle histidin, tirozin, fenilalanin gibi amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklindedir. Proteinlerde parçalanmalar ve çapraz bağlanmalar meydana gelir. Protein fonksiyonlarında (kataliz, transport, reseptör gibi) bozulmalar ve savunma sistemi uyaraabilecek antijenik değişiklikler oluşabilir (Simonian ve Coyle 1996). Serbest radikal hasarı proteinler üzerinde birikmişse veya proteinlerin belirli bölgesi üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığı bakımından zararlı etki yapar. (Erden 1992, Cheeseman ve Slater 1993)

2.1.3.3 Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

DNA yapısında oksidatif hasara sebep olan pek çok faktör vardır. İyonize radyasyon, artmış oksijen konsantrasyonu, ksantin oksidaz ve çeşitli kimyasallar aşırı radikal oluşumuna neden olarak direkt hasara yol açarlar. Bazı serbest radikaller de 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 bazlarında 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).

2.2 Antioksidanlar

Organizma serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak amacı ile vücutta reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerini enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların

aktivasyonu ile dengeleyip uzaklaştırabilirler. 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). Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında vitaminler (vitamin E, vitamin C, karotenoidler), tiyol antioksidanlar (glutatyon, tiyoredoksin, lipoik asit), doğal flavonoidler, melatonin ve diğer bazı moleküller bulunur (McCall ve Frei 1999). Bir antioksidan diğer antioksidanları tetikleyebilir. Bu işlem antioksidan bağış olarak adlandırılır. Örneğin vitamin E ve vitamin C kendi aralarında antioksidan ağ sistemi oluşturur (Sies vd. 2005). Böylece, organizmada oksidan ajanlara karşı güçlü bir savunma sistemi kurulmuş olur.

2.2.1 Doğal Antioksidanlar

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

- 1- **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.
- 2- **Bastırıcı etki:** Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlarla bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme olayıdır. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3- **Zincir kırıcı etki:** Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterir
- 4- **Onarıcı etki:** Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması.

Eksojen antioksidanlar ise vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. (Akkuş 1995). Aşağıda Çizelge 1.1 ve 1.2 de Antioksidanların sınıflandırılması yer almaktadır.

Çizelge 1.1 Endojen Kaynaklı Antioksidanlar

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

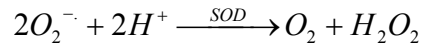
Çizelge 1.2 Eksojen Kaynaklı Antioksidanlar

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

2.2.1.1 Enzimatik antioksidanlar

2.2.1.2.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

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



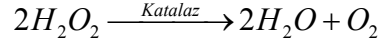
Bu reaksiyon kendiliğinden de meydana gelebilir. Fakat SOD ile katalizlendiğinde reaksiyon hızı 4000 kat artar. İnsanda SOD'un iki tipi bulunmaktadır. Bunlar sitoplazmada bulunan Cu ve Zn içeren SOD ve mitokondride bulunan Mn içeren SOD'dur. Süperoksit, oksijeni metabolize eden hücreleri serbest radikallerinin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

2.2.1.2.2 Glutatyon peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GPx'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlar birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Eritrosit GPx aktivitesi yaşlılarda yüksek bulunmuştur (Guemouri vd. 1991, Akkuş 1995).

2.2.1.2.3 Katalaz

Katalaz aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. Görevi hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır (Shimizu vd. 1984).



Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak bu enzim, bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir madde olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil, etil, hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşı etkilidir. Büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerine ise etki etmez (Akkuş 1995).

2.2.1.3 Enzimatik olmayan antioksidanlar

2.2.1.3.1 C Vitamini

C vitamini (askorbik asit), kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Suda çözünebilir vitaminlerden olan C vitamini, özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. İnce bağırsaklardan kolayca emilir. Isıtılmaya dayanıksız, dondurulmaya ise dayanıklıdır (Akkuş 1995).

Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali (O_2^*) ve hidroksil radikali (OH^*) ile reaksiyona girerek bu radikallerin fonksiyonel özelliklerini engeller. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak veya doğrudan ferri demiri indirgeyerek ferro demire dönüştürür. Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye giren ferro demirde sonunda hidroksil radikali (OH^*) oluşturur. Bu özelliğinden dolayı askorbik asit bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisi antioksidan etkisinin yanında çok düşük konsantrasyonda kalmaktadır.(Akkuş 1995).

C vitaminin diğer bir özelliği, antioksidan etkisi yanında oksidan etki de göstermesidir. C vitamini, Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek hücresel ajandır. C vitamini süperoksit üretimine katkıda bulunur. Bu özelliğinden dolayı C vitamini, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya pro-oksidan olarak değerlendirilir.

Oksidatif patlama sırasında, reaktif moleküller çevreye yayılarak mutasyonlara, hücre hasarına, koruyucu enzimlerin inaktivasyonuna sebep olurlar. C vitamini oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar verici etkilerini engeller (Aydın vd. 2001).

2.2.1.3.2 E Vitamini

E vitamini tokoferol yapısında olup ilk olarak 1922 yılında izole edilmiştir. Bu vitamin α , β , γ , δ olmak üzere 4 farklı tipin karışımı şeklinde bulunabilir ve yağda çözünür. Vitamin E'nin en aktif formu olan α -tokoferol çok kuvvetli bir antioksidandır ve hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden korur. Vitamin E O_2^- , HO^- , singlet $\cdot O_2$, lipid peroksil (LOO) radikallerini ve diğer radikallere bir elektron vererek zararsız formların dönüşümünü sağlar. Lipid peroksil radikallerini yıkarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinir (Pryor 2000). Yapısında bulunan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (Burton ve Ingold 1989).

GPx ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. GPx, teşekkül etmiş peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksitlerin sentezini engeller. Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve E vitamini ile diğer antioksidanların antikanserojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün gelişmesini önlediği bildirilmiştir (Aydın vd. 2001).

2.2.1.3.3 Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH) çok önemli bir antioksidan olup karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptittir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarın oluşmasını durdurur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan girişini sağlar. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgemiş halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engellemiş olur (Onat vd. 2002).

Yukarıda sayılan antioksidan bileşiklere ilaveten karotenoidlerin örneğin vitamin A'nın ön maddesi olan β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır (Akkuş 1995). Ürat, Normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipit radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır. Bilirubin ve sistein süperoksit ve hidroksil radikali; albümin LOOH ve HOCl toplayıcısıdır. Seruloplazmin SOD'a benzer mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu bastırır. Laktoferrin ve transferrin dolaşımdaki serbest demiri ve ferritin dokudaki demiri bağlar. Ebselen selenyumlu bir bileşik olup glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesini güçlendirir ve lipoksijenaz yolunu inhibe eder. Sitokinler başta katalaz olmak üzere antioksidan enzimleri aktive ederler. Ancak proteolitik enzimleri aktive ettiklerinden dolayı zararlı da olabilirler. 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 allopürinölün metabolitidir, doğrudan hidroksil radikali ve hipokloriti azaltıcı yönde etki gösterir. Mannitol hidroksil radikalini toplayıcı etki gösterir. Probukol kan kolesterolünü düşürmede kullanılır. Ayrıca lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonunu kırıcı etkisi vardır (Akkuş 1995, Burtis ve Ashwood 1999).

2.2.1.3.4 Karotenoidler

Karotenoidler tetraterpen ailesinden olup 600'den fazla doğal çeşidi bulunur. Hayvan ve insanlarda sentezlenmeyip dışarıdan besinler ile alınır. Bitki, bakteri, alg ve mantarlar tarafından sentezlenebilir. Karotenoidler yapısal olarak iki sınıfa ayrılır: yalnız hidrojen ve karbon atomu içeren karotenoidler ve yapılarında en az bir oksijen atomu taşıyan oksokarotenoidlerdir. Çift bağ numaralarına göre; belirli moleküller için birkaç *cis-trans* konfigürasyonu olabilir. Örneğin bakterilerde çift bağ *trans* konfigürasyonunda iken bitkilerde ve mantarlarda *cis* yapısındadırlar. İnsan ve hayvanlarda, özellikle likopen ve β -karoten olmak üzere karotenoidler, diğer antioksidanlarla beraber veya onları tetikleyerek peroksil ve singlet oksijen radikallerinin etkisi ile oluşan fotooksidatif sürece karşı koruyucu rol oynarlar.

Karotenoidlerin, yapılan hayvan denemeleri ve insanlarda *in vitro* kanser hücrelerinin inhibisyonunda (Pastori vd. 1998) rol oynadığı saptanmıştır. Likopenin akciğer, kolon, göğüs ve prostat kanserlerinin oluşumunu engelleyen besinlerden olduğu birçok araştırmacı tarafından kabul edilmiştir (Giovannucci 1999).

2.3 Radyasyon ve Çeşitleri

Radyasyon (ışınım, elektromanyetik dalgalar veya parçacıklar biçimindeki enerji emisyonu (yayımı) ya da aktarımı veya bir kaynaktan çevreye parçacık akışı ya da dalga biçiminde enerji salınımı olarak tanımlanabilir. Kararsız durumda olan bir atom çekirdeğinin çeşitli tipte radyasyonlar yayınlarken 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.

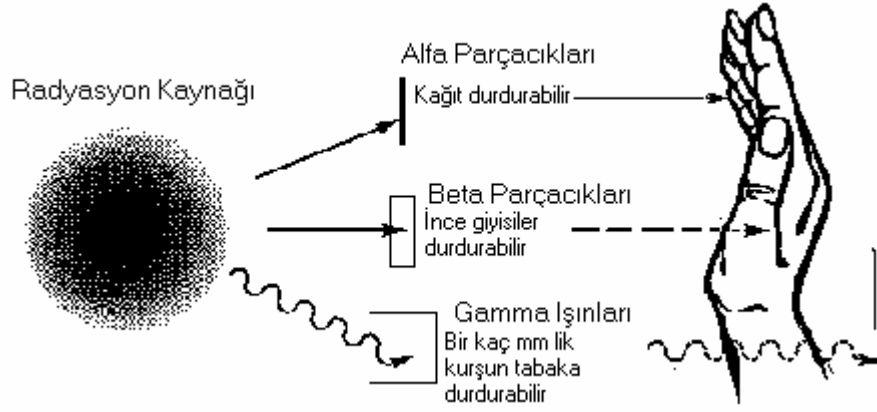
Alfa radyasyonu, ağır pozitif yüklü iki proton ve iki nötrondan oluşmuş paketler halindedirler. Uranyum, plutonyum, radyum, radon gibi ağır elementlerden yayınlanırlar. Havada birkaç cm den uzağa gidemeyen alfa radyasyonunu bir kâğıt kalınlığı veya derinin en dışındaki ölü tabaka bile durdurabilir. Ancak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

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

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 ışınlara karşı korunmada kullanılır.

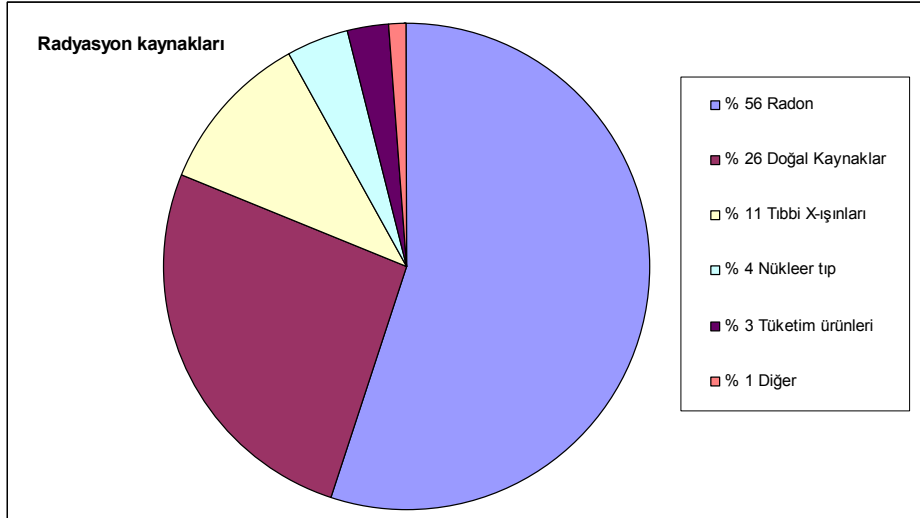
X-ışınları, X-ışını tüplerinden yapay olarak elde edilen ışınlardır. Gama ışınlarına benzer fiziksel özellik gösterirler (Erdik 1998).

Nötron radyasyonu, nükleer güç elde edilirken oluşur, kendileri iyonize değildir. 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 2.2 Alfa, beta ve gama ışınlarının giriş güçleri.

Yaşamış olduğumuz dünya doğal ve yapay radyasyonların etkisi altında bulunmaktadır. Dünyadaki radyasyon kaynakları şekil 2.3 de belirtilmektedir.



Şekil 2.3. Radyasyon kaynakları.

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 potasyum-40 ve karbon-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 ışıklardan alınan doz oranı da artar.

Yapay radyasyon insan aktiviteleri sonucu çevreye ilave olan 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

Herhangi bir radyasyon etkilemiş olduğu atom veya molekülün bağ elektronlarını yerinden kopartarak atom veya molekülden uzaklaştırabiliyorsa bu radyasyona iyonize radyasyon denir.

İyonize radyasyonun biyolojik etkileri şu şekilde sınıflandırılabilir:

- a. **Erken etkiler:** Büyük bir radyasyon dozuna bir kerede maruz kalma sonucu ortaya çıkan biyolojik etkiler kişiden kişiye önemli ölçüde değişmekle birlikte 4 Sv kadar olan dozlarda genel mide bulantısı, kusma saç dökülmesi, isal ve nadiren ölüm olayı ve 4 Sv üzerindeki dozlarda ise yukarıdaki özelliklerle birlikte birkaç ay içinde ölüm gerçekleşir.
- b. **Geç etkiler:** Genel olarak bir tümör, normal vücut dokularında meydana gelen değişikliklerden hasıl olan anormal bir doku külesidir. Tümör etrafındaki dokulardan bağımsız büyür. Bir tümör kanser ya da habis olması için yanındaki dokulara tecavüz etmesi ve onları tahrip etmesi gerekir.

c. **Genetik etkiler:** Doğadaki tüm canlı organizmaların en önemli özelliklerinden bir, kendilerine anne-babaları tarafından aktarılan ve kendilerinden sonra da sürecek olan genetik özellikleridir. Kuşaktan kuşağa aktarılan bu genetik bilgiler, hücrelerdeki kromozomlar üzerinde bulunan genlerde toplanırlar. Hücrelerin bölünmesi sırasında öncelikle kromozomların ve dolayısıyla genlerin birer kopyalarının oluşması, aynı genetik bilgileri taşıyan bir hücrenin meydana gelmesi ile sonuçlanır. Çeşitli fiziksel veya kimyasal ajanlarla (örn: radyasyon) genlerde veya kromozomlarda yapısal değişiklikler ortaya çıkabilir. Mutasyon adı verilen, bu olay herjür hücrede görülebilir. Eğer değişiklik organizmada üreme (germ) hücrelerinde, ortaya çıkmışsa buna genetik mutasyon denir ve sonraki kuşaklara taşınmaya başlar.

2.3.2 Radyasyonun Etki Mekanizması

İyonize radyasyonun canlıda biyolojik etki oluşturması, radyasyonun enerjisini canlı hücreye aktarması ile gerçekleşir. Radyasyonların canlı hücreye etki mekanizması iki teori ile açıklanır. Bu teorilerden bir tanesi radyasyonun hücreyi doğrudan etkilediğini kabul eden direkt etki teorisi, diğeri radyasyonun iyonlaşma yapması sonucunda meydana gelen radikaller yolu ile oluşan etkisini öngören dolaylı etki teorisidir (United 1998).

Direkt etki teorisine göre DNA ile hücre içindeki enzimatik ve yapısal proteinlerin, RNA nın atom ve molekülleri radyasyonun direkt hedefidir. Herhangi bir radyasyon ister X- veya gamma ışınları, isterse yüklü veya yüksüz parçacıklar şeklinde olsun biyolojik maddede soğurulduğunda hücre içi kritik hedef yapı atomlarını doğrudan iyonlaştırabilir veya uyarabilir ve böylece biyolojik değişikliklere neden olacak olaylar zinciri başlatılmış olur.

Hücreler % 70–90 oranında su içerdiğinden radyasyona maruz kalındığında radyasyon enerjisi su molekülleri ile etkileşir ve serbest radikaller meydana gelir. Oluşan serbest radikaller hücre organelleri özellikle DNA ile etkileşir ve zararlı etkiler ortaya çıkar. Bu da radyasyonun dolaylı etkisi olarak tanımlanır.

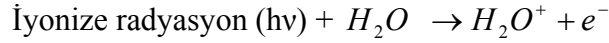
İyonlaştırıcı radyasyonun hücrelerle etkileşmesi ile biyolojik hasarın görülmesi sürecinde birbirini takip eden dört farklı olay meydana gelir. Bunlar; Fiziksel olay, fizikokimyasal olay, kimyasal olay ve biyolojik olaydır.

2.3.2.1 Fiziksel olay

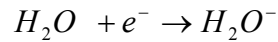
Radyasyon, enerjisini fotoelektrik etki ve compton etkileşimi ile hücrenin atom ve moleküllerine aktarır, atomda uyarılma ya da iyonlaşma meydana gelir. Ortalama 10^{-16} saniye ile en kısa süren olaydır.

2.3.2.2 Fizikokimyasal olay

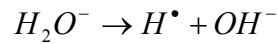
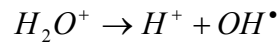
Hücrelerde en fazla bulunan molekül olan suyun radyasyon etkisiyle parçalanması yani suyun radyolizidir.



Meydana gelen elektronlar su molekülü ile birleşir.



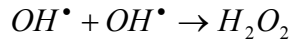
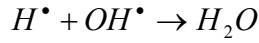
Oluşan H_2O^+ ile H_2O^- iyonları kararlı değildir. Kimyasal olarak çok reaktif olan bu ikincil ürünler hücrenin moleküllerinde parçalanmalara yol açabilir. Kararsız olan bu ürünler bozunarak H^+ ve OH^- iyonları ile H^\bullet ve OH^\bullet (radikalleri) meydana gelir.



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

Fizikokimyasal kademedede ortaya çıkan reaktifler hem kendi aralarında hem de hücrenin daha önceden etkileşmeye girmemiş molekülleri arasında kimyasal reaksiyonlara yol açarak biyomoleküler bozukluklara neden olurlar.

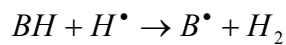


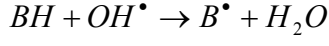
Kimyasal aşamada meydana gelen hidrojen peroksit de oldukça reaktif bir maddedir. Kimyasal kademedeki olaylar saniyeler veya saatler mertebesinde gelişir.

2.3.2.4 Biyolojik olay

Organizmada radyasyon etkisiyle oluşan olaylar biyolojik hasarların ortaya çıkmasına yol açar. Bu biyolojik etki hücrenin organizmadaki önemine ve hasarın niteliğine göre çok az veya öldürücü olabilir. Reaktifler biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek biyolojik hasarların gelişmesine yol açarlar. Biyolojik kademedeki olayların görünür hale gelmesi günlerin hatta yılların geçmesini gerektirebilir (Yülek 1992).

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





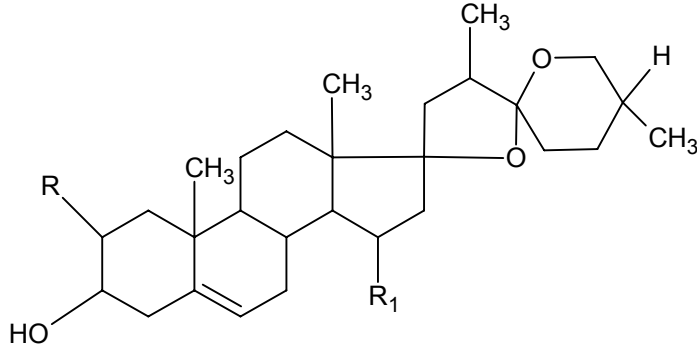
Bu olaylarda biyolojik moleküllerde hasarın meydana gelmesi radikaller aracılığı ile olduğundan bu etkiye radyasyonun dolaylı etkisi denir. Radyasyon, enerjisini doğrudan biyolojik hedefe verebilir. Yani hedef moleküllerle doğrudan etkileşmeye girebilir. Enerjisini doğrudan DNA veya enzim gibi biyolojik moleküllerle aktararak, bunlarla da hasar meydana getirir bu etkiye de radyasyonun doğrudan etkisi denir.

2.4 Saponinler

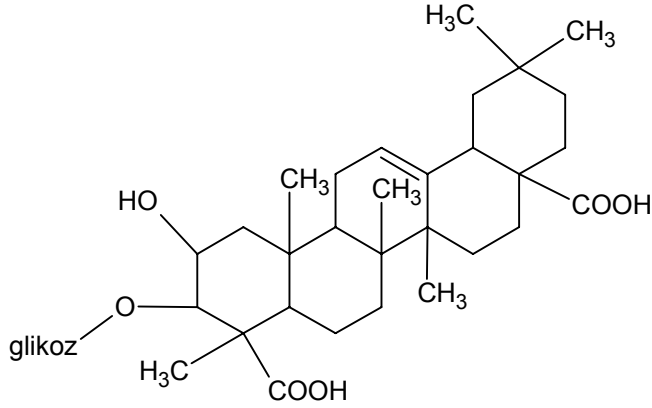
Saponin kelimesi sapo- sabun dan kaynaklanmaktadır. Bu madde saponin bitkisi olarak isimlendirilen bitkilerde bulunmakta fakat kimyasal yapısının sabunla bir ilişkisi bulunmamaktadır. Buna karşılık bol köpük oluşturduğundan bu ismi almıştır. Saponin yüksek molekül ağırlıklı maddelerdir. Yapılarında büyük bir aglikagon (saponin) molekülü ile şeker ve üronik asit moleküllerinden oluşur. Sapogenin yapısına bağlı olarak saponinler iki ana grupta toplanır (steroit (şekil 2.4) ve triterpenler (şekil 2.5)) (Oleszek 2002).

Saponinler, insan ve hayvan beslenmesinde önemli yeri olan birçok biyolojik özelliklere sahip maddelerdir. Bunların membran geçirgenliği (Plock vd. 2001), savunma sistemini uyarması (Southon vd. 1988), antikanserojenik (Cheeke 1999) özelliklere sahip oldukları ve ayrıca hayvanlarda büyümeyi, besleme ve üremeyi (Chen vd. 1998) etkilediği saptanmıştır. Yapılarının değişik oluşu, protozoan öldürdüğü, antioksidan (Dündar ve Aslan 2000) özelliğinin olduğu, sindirimde proteinleri, midede vitamin ve mineralleri bozduğu, hypoglisemi, antifungal ve antiviral etki gösterdiği bilinmektedir (Öztaşan vd. 2004).

Steroid saponinler doğada triterpen yapısındakilere oranla daha az bulunur. Örneğin yüksük otu türlerinde kalp uyarıcı glikozitlerin yanısıra steroid saponinlere de rastlanır. Bazı yan türlerinde bulunan diosgenin, steroid hormonlarının üretiminde başlangıç maddesi olarak kullanılan değerli bir steroid saponin bileşiğidir.



Şekil 2.4 Steroidal yapıdaki saponinlerin yapısı.



Şekil 2.5 Triterpenoid saponinlerin yapısı.

Steroid saponinler genel olarak eşey hormonları, kortizon ve durtamini gibi maddelerin bileşiminde başlangıç maddesi olarak kullanılırlar. Bu yüzden de sanayide değerli bileşiklerdir. Doğada pek çok bitkide (Örneğin çöven otu) bolca bulunur.

Saponinler, su ve alkol (metanol, etanol) gibi polar çözücülerde çözünen, fakat oksijensiz çözücülerde çözünmeyen nötral yada asidik karakterli bileşiklerdir. Sudaki çözeltileri çalkalandığında kalıcı bir köpük meydana getirir. Saponin tiplerinin büyük çoğunluğu yüksek bitkilerde bulunmakta iken, bazı deniz hayvanlarında, örneğin, deniz salyangozunda ve deniz yıldızında da bulunmaktadır.

Saponinlerin saflaştırılmasındaki güçlükler nedeniyle, 1960'lı yıllarda ancak birkaç saponinin kimyasal yapısı bilinebilirken son zamanlarda kromatografik tekniklerdeki önemli gelişmelerle, saflaştırılabilen her iki grubun saponinlerinin yapıları büyük ölçüde aydınlatılmıştır.

Aglikon kısmı steroid türevi olan saponinlerin aglikonu şekil 2.4'de gösterilen spirostan halkası(27 karbon) yapısındadır. Halkaya bağlı karboksil grubu bulunmadığı için, bu tip saponinlere nötral saponinler adı da verilmektedir.

Aglikon kısmı triterpen türevi olan saponinlerin aglikonu, β -amyirin halkası (30 karbon) yapısındadır. Büyük çoğunluğunda 17 numaralı karbona bağlı bir karboksil grubu bulunduğu için, bu tip saponinlere asit saponinler adı verilmektedir.

Saponinler soya, nohut, bakla, bezelye, mercimek, kuru fasulye, yeşil fasulye, yulaf, ıspanak ve atkestanesinde bol miktarda bulunurlar.

2.4.1 Saponinlerin Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanımı

2.4.1.1 Hücre membranlarındaki etkileri

Saponinlerin biyolojik etkilerinin büyük bir kısmı membranlar üzerindeki rollerine bağlanmaktadır. Saponinlerin membranlarda gözenek oluşturması fizyolojik araştırmalarda yaygın bir şekilde kullanılmalarına sebep olmuştur (Plock vd. 2001). Saponinlerin eritrosit membranları üzerinde litik bir role sahip oldukları uzun bir zamandır bilinmektedir ve bu özellikleri onların tanınmasında kullanılır. Saponinlerin hemolitik aktivitesi membran sterollerine özellikle kolesterole aglikonların affinite göstermelerinden kaynaklanır ve böylece çözünmeyen kompleksler oluşur. Geçirgenlik için gerekli glikozitlerin miktarı kolesterolden zengin membranlarda kolesterolsüz membranlara göre daha düşüktür. Vitamin A gibi maddelerin sebep olduğu geçici perforasyonlarla karşılaştırıldığında saponinlerin neden olduğu membranlardaki gözenekler ya da hasarlar uzun sürelidir ve böylece ferritin gibi büyük moleküller

membrandan uzunca bir süre geçebilirler (Seeman 1974). Saponinlerin neden olduğu lezyonlar membran yüzeyindeki saponinler ve kolesterolün oluşturduğu misel benzeri yapılar olarak düşünülmektedir. Saponin molekülleri kolesterolle birleşerek membranın dış yüzeyi hidrofobik kısımlarla çevrenir (Brain vd. 1990). Oleanolik aglikonun 3. ve 28. karbonları glikozillendiğinde saponinler kolesterolsüz lipozomal membranlarda geçirgenliğin değişmesine neden olmuştur.

2.4.1.2 Saponinlerin lipid metabolizması üzerine etkisi

Hem yağda hem de suda çözünebilme özelliğine sahip olan saponinlerin yüzey gerilimini düşürücü etkiye ve deterjan özelliğine sahip olmaları nedeniyle, safra asitleri, yağ asitleri, digliseritler ve yağda eriyen vitaminleri içeren misellerin oluşumu da dahil olmak üzere sindirim sisteminde yağda çözünen maddelerin emulsifikasyonunu etkilediği bildirilmektedir. Yüzlerce safra asiti ve saponin molekülleri, hidrofobik çekirdek kısmı içe, hidrofilik karbonhidrat kısmı dışa gelecek şekilde kompleksler oluştururlar.

Saponin içeren bitkilerin yedirildiği veya saponin ekstraktı verilen insan ve çeşitli hayvanlarda lipid metabolizmasının etkilendiği gösterilmiştir. Ratlarda, tavşanlarda, piliçlerde, yumurtacı tavuklarda, eşeklerde 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.

2.4.1.3 Antioksidan etkileri

Dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküller serbest radikal olarak, enzimatik ve enzimsel olmayan yapılardan oluşan, radikaller ve reaksiyonlarını önlemeye çalışan maddeler ise antioksidan olarak tanımlanmaktadır (Dündar ve Aslan 2000). Antioksidanlar oksidatif zincir reaksiyonlarının başlamasını ve devam etmesini engelleyen lipidlerin oksidasyonunu durduran ya da geciktiren

bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri redoks özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bunlar serbest radikallerin, singlet ve triplet oksijenin nötralize edilmesinde veya peroksidazların dekompozisyonunda önemli rol oynarlar.

Çay saponinleri ile ratlarda yapılan çalışmada ise antioksidan etkinin ksantin, ksantin oksidaz sistem üzerinden oluştuğu bildirilmiştir (Sur vd. 2001). Siyah ve yeşil çayın insanlar üzerindeki antioksidan etkileri de polifenolik bileşiklere bağlanmaktadır. *Panax ginseng*'in metanollü ekstaktındaki saponinlerin de antioksidatif özelliklerinin bulunduğu bildirilmektedir.

2.4.1.4 Saponinlerin antihipertansif etkisi

Yapılan araştırmalarda saponinlerin kan basıncı üzerine etkilerini bildirmiş ve çeşitli bitkilerden elde edilen saponin ekstraktlarının hipertansif ratlarda kalp atım sayısını ve arteriyel kan basıncını önemli bir şekilde azalttığını göstermektedir. Saponinlerin kan basıncını düşürücü etkisi diüretik (Zaoui vd. 2000), NO üretiminin uyarılması ve anjiyogerilim döndürme enzminin baskısı tarafından oluştuğu ileri sürülmektedir. Öztaşan ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada deneysel hipertansiyon oluşturulan ratlarda *Yucca schidigera* ekstraktının antihipertansif etki gösterdiğini, kalp atım sayısı ve arteriyel kan basıncını azalttığını bildirmektedirler. Diğer taraftan hipertansif ratlara 30 gün boyunca oral olarak verilen *Heniaria glabra* saponinlerinin arteriyel basıncı azalttığı fakat kalp atım sayısını değiştirmede bulunmuştur.

2.4.1.5 Antikarsinojenik etkisi

Saponinlerin, safra asitleri ile etkileşimine bağlı olarak kolon kanseri riskinin önlenmesinde rol oynayabilecekleri açıklanmıştır. Sitotoksik etkiye sahip olan sekonder safra asitleri, primer safra asitlerinin mikrobiyel metabolizması sonucu oluşmaktadır. Örneğin primer safra asiti olan kolik asit, kalın bağırsakta mikrobiyel fermentasyonla deoksikolik asite çevrilmektedir. Saponinler, primer safra asitlerini bağlayarak sekonder safra asitlerinin oluşumunu engellediklerinden, kolon kanseri riskinin önlenmesinde saponinlerin önem taşıyabileceği ileri sürülmüştür. Farelerde yapılan bir araştırmada

saponinler preneoplastik kolon lezyonlarının sayısını azaltmıştır. Farelerde yapılan bir başka araştırmada ise kırmızı ginsengten elde edilen ginsenoside-Rb2 ve ginsenoside-Rg3 saponinlerinin tümör metastazlarını inhibe edici etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Mochizuki vd. 1995). Ayrıca *Panax ginseng*'in metanollü ekstaktındaki saponinlerin sitotoksik ve sitostatik etkileri ile cilt kanserini önlediği saptanmıştır.

2.3.1.6 Mineraller üzerine etkileri

Gypsophila saponini ile beslenen ratlarda demir emiliminin azaldığı, ancak femur çinko düzeyinin etkilenmediği tespit edilmiştir. Saponinlerle mineraller arasındaki bu etkileşimin saponinlerin büyümeyi azaltmasında etkili olabileceği bildirilmektedir. Bununla birlikte rasyonlarına farklı oranlarda *Yucca schidigera* tozu ilave edilen yumurtacı bıldırcınlarda serum kalsiyum düzeyinin yüksek olması, bu bitkinin sindirim kanalında mineral emilimini arttırıcı etkisi olabileceğin bağlanmıştır (Erdoğan vd. 2001). Ayrıca yemin yağ içeriği ile saponin içeriği arasında bir etkileşim bulunduğu, bağırsak ortamında yağların bağlanmasıyla sindirilmeyen mineral (kalsiyum) sabunları oluşumunu azaltarak minerallerin bağırsaktan emiliminin artabileceğini bildirmektedir. Çoğu bitkilerin yapısında bulunan saponinlerin mikronutrientlerin emilimini engellediği belirtilmiş olmasına rağmen bu etkisinin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan çalışmalarda diyetdeki Gypsophila saponinlerinin barsaktaki demir emilimini bozarak karaciğerdeki demir miktarını azalttığı belirtilirken, Lecurne saponinlerinin ratlarda demir ve magnezyum atılımını artırdığı, domuzlarda ise plazma kalsiyum ve çinko düzeyini düşürdüğu bulunmuştur. Bu etkinin saponinlerin çinko ve demir ile kompleks oluşturması ve barsak emilimini bozması sonucu olduğu düşünülmektedir. Sindirilmiş saponinler barsakta safra asitleri, kolesterol, mukozal hücrelerin membran sterolleri ve diyetdeki nutrisyonel ve antinutrisyonel faktörler ile güçlü bağ kurmakta ve bunların etkilerini arttırmakta yada azaltmaktadır (Güçlü 2003).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1 Hayvan Materyali

Deney sırasında kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta ve Merck firmasına aittir.

Bu çalışmada, ağırlıkları 130-160 g olan 110 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, ratların canlı ağırlık tartımları deneye başlamadan önce 4 başladıktan sonra ise üç defa yapılmıştır. Gruplar oluşturulurken hayvan seçimleri rasgele seçilerek 15 gruba bölünmüştür. Serum fizyolojik ve bitki ekstraktları ratlara intra peritoneal (i.p.) olarak verilmiştir.

Deneysel hayvan grupları ise şu şekilde oluşturulmuştur.

- Kontrol: Kontrol grubu olarak kullanıldı ve deneyler süresince herhangi bir ektre veya radyasyon verilmedi.
1. Grup: Kontrol grubu olarak düzenlendi, bir gün 1 ml serum fizyolojik intra peritoneal (i.p.) ve diğer gün 1 Gy XR verildi (radyasyon ilk on günde verildi).
2. Grup: Kontrol grubu olarak düzenlendi, bir gün 1 ml serum fizyolojik ve diğer gün 1 Gy XR verildi.

3. Grup: Ratlara bir gün 25mg/kg atkestanesi ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi (radyasyon ilk on günde verildi).
4. Grup: Ratlara bir gün 25mg/kg atkestanesi ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi.
5. Grup: Ratlara bir gün 50mg/kg atkestanesi ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi (radyasyon ilk on günde verildi).
6. Grup: Ratlara bir gün 50mg/kg atkestanesi ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi.
7. Grup: Ratlara bir gün 25mg/kg yonca ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi (radyasyon ilk on günde verildi).
8. Grup: Ratlara bir gün 25mg/kg yonca ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi.
9. Grup: Ratlara bir gün 50mg/kg yonca ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi (radyasyon ilk on günde verildi).
10. Grup: Ratlara bir gün 50mg/kg yonca ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi.
11. Grup: Ratlara bir gün 25mg/kg ıspanak ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi (radyasyon ilk on günde verildi).
12. Grup: Ratlara bir gün 25mg/kg ıspanak ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi.
13. Grup: Ratlara bir gün 50mg/kg ıspanak ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi (radyasyon ilk on günde verildi).
14. Grup: Ratlara bir gün 50mg/kg ıspanak ekstresi, diğer gün 1 Gy XR verildi.

3.1.2 Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

2006 yılının Eylül-Ekim aylarında Afyonkarahisar'daki Atatürk stadyumunun bahçesinde yetişen atkestanesi ağaçlarından toplanan atkestanesi tohumları bir hafta gölgede durduruldu. Bir hafta sonunda atkestanesinin dış ve iç kabukları soyularak 2-3 mm boyunda olacak şekilde rendeden geçirildi. Her bir poşette 50 gr olacak şekilde poşetlere doldurularak derin dondurucuda saklandı. 25 gr atkestanesi derindondurucudan çıkarılıp 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 süzöldü ve özelti döner kurutucuda vakum altında 50°C de etil asetat ortamadan tamamen uzaklaştırıldı. Kalan kuru madde üzerine 20 ml metanol ilavesi yapılarak kuru madde içerisindeki saponinler asılı maddeler olarak ortamdan çekildi. Daha sonra ekstre içindeki özöcö tamamen uzaklaştırıldı. Toplanan ekstre ağız kapalı cam kapta derin dondurucuda saklandı.

Afyonkarahisar yöresinde bahar aylarında yetişen ıspanaklardan iki kg alındı. Alınan ıspanaklar yıkanıp ayıklanarak 1 cm boyutunda küçük parçalara ayrıldı. 25 gr ıspanak havanda ezilerek üzerine 250 ml etil asetat eklenerek sıcaklık 40 °C'ye getirilip döner buharlaştırıcıda 50 devir / dakika 8 saat döndüröldü. Bu süre sonunda ekstrakt süzöldü. Özelti 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 çekildi. Sonra ekstredeki özöcö ortamdan tamamen uzaklaştırıldı. Toplanan ekstre ağız kapalı cam kapta derin dondurucuda saklandı.

Sandıklı yöresinde yeni ekimi yapılmış yoncanın ilk hasat zamanında biçilerek gölgede 2 hafta kurutuldu. Kurutulmuş olan yonca çekilerek toz haline getirildi ve 50 gr tartılıp üzerine 500 ml % 100 lük metanol eklenerek sıcaklık 40°C 'ye getirilip döner buharlaştırıcıda 50 devir/dakika 4 saat döndüröldü. Özelti 1 gün bekletilerek süzöldü. Özöcö döner kurutucuda vakum altında 40°C ortamdan uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre derin dondurucuda ileride kullanılmak üzere saklandı.

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 Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Ketamin (10 mg/kg i.p.) ve ksilazin (50 mg/kg i.p.) anestezisi altında kan örnekleri özenle alındı. Alınan kanlar EDTA'lı cam tüplere konularak gerekli ölçümler laboratuvarında aynı gün içinde yapıldı.

3.2.3 Biyokimyasal Analizler

Tüm kandan distile su ilavesi ile hazırlanan hemolizatın içindeki SH (sülhidril) taşıyan bütün proteinler, presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile proteinler çöktürülüp, süzülerek ayrıldı. Redükte glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda SH gruplarının DTNB (5,5'-2-dithiobis nitrobenzoik asit) ile tepkime sonucu oluşan sarı renkli çözelti 412 nm dalga boyunda absorbanansı ile Jenway 6305 UV/vis. spektrofotometrede ölçüldü (Buetler vd. 1963). Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). MDA, TBA (tiobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boylarında Jenway 6305 UV/vis. Spektrofotometrede absorbanansı ölçülerek lipid peroksidasyonu tayini yapıldı (Jain vd. 1989). Vitamin-C (askorbik asit) seviyesi, serum 2,4-dinitrofenilhidrazin muamele edilerek Omaye ve arkadaşlarının kullandığı yöntemle ölçüldü (Omaye vd. 1979). β -karoten ve vitamin-A (retinol) Suzuki and Katoh metodu kullanılıp serum: etanol: hekzan oranları 1: 1: 3 oranında (v/v/v) reaksiyona sokularak β -karoten 425 nm ve retinol 325 nm dalga boyunda Jenway 6305 UV/vis. Spektrofotometrede absorban değerleri ölçülerek hesaplandı (Suzuki ve Katoh 1990).

3.2.4 İstatistik Analizler

Deneylerden elde edilen verilerin (rat ağırlık değişimleri, 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 değerlendirmede one-way ANOVA ile gerçekleştirildi. Eğer ANOVA da önemli farklılıklar ortaya çıkmışsa

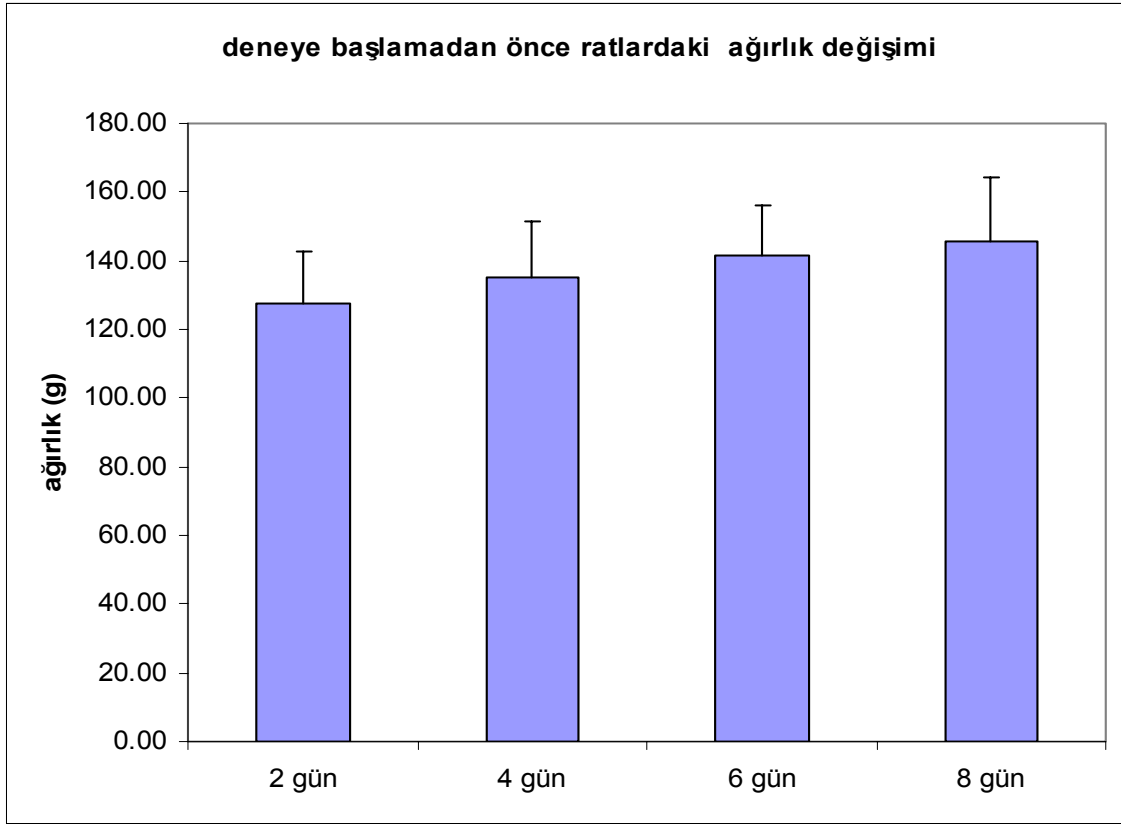
Duncan's multiple range testi kullanılarak post-hoc değerlendirilmesi yapıldı. $P < 0.05$ den küçükse değerler anlamlı bulundu. Bulgulardan elde edilen sonuçlar tablolarda ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde verildi.

3.2.5 Hayvan Etik Kurulu

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

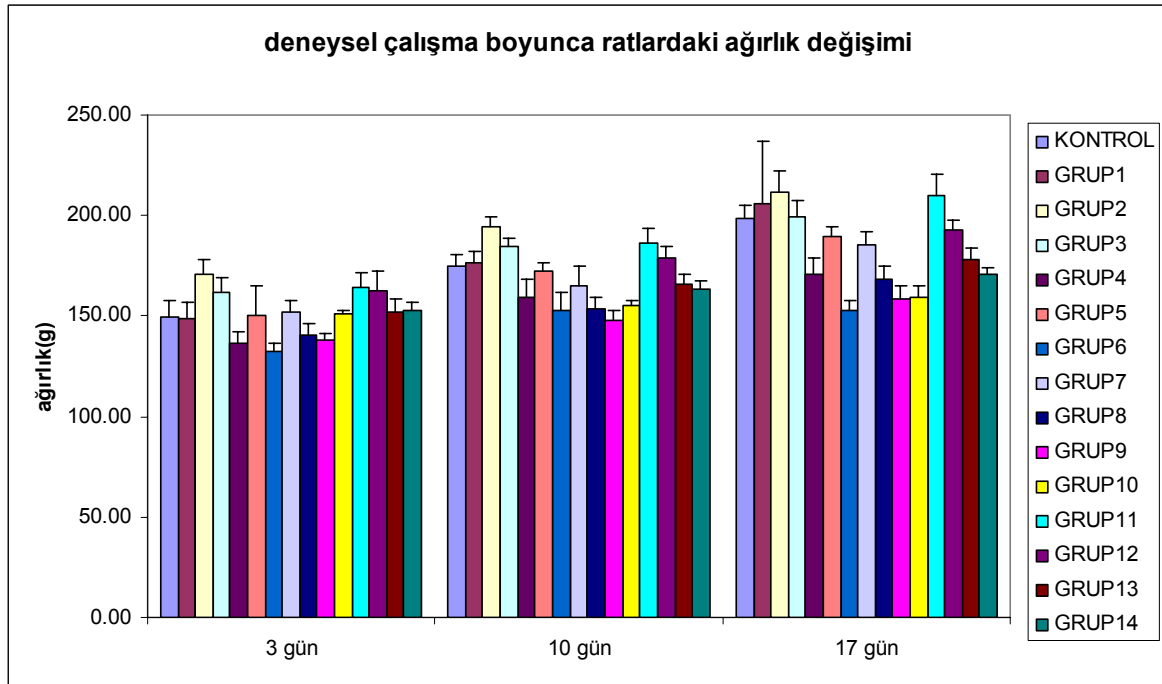
4. BULGULAR

Ratlar laboratuvar ortamına alıştıktan sonra ağırlık ölçümleri 2 gün arayla 4 kez yapıldı. Ağırlık ölçümleri deneye başlandıktan sonra da devam etti. Bu ölçümler 3. 10. ve 17. günlerde gerçekleştirildi. Elde edilen ağırlık verileri deneyden öncekiler Şekil 4.1 ve deneyden sonrakiler ise Şekil 4.2 görülmektedir.



Şekil 4.1 Deneye başlamadan önce ratlardaki ağırlık değişimi.

Deneye başlamadan önceki süreçte ratlar yedi gün içerisinde % 14,5 luk bir kilo artışı yapmışlardır.



Şekil 4.2 Deneye başladıktan sonraki ratlardaki ağırlık değişimi (**GRUP 1:** 5 Gy XR + Serum; **GRUP 2:** 10 Gy XR + Serum; **GRUP 3:** 5 Gy XR + 25mg/kg AKE; **GRUP 4:** 10 Gy XR + 25mg/kg AKE; **GRUP 5:** 5 Gy XR + 50 mg/kg AKE; **GRUP 6:** 10 Gy XR + 50 mg/kg AKE; **GRUP 7:** 5 Gy XR + 25mg/kg YE; **GRUP 8:** 10 Gy XR + 25mg/kg YE; **GRUP 9:** 5 Gy XR + 50 mg/kg YE; **GRUP 10:** 10 Gy XR + 50 mg/kg YE; **GRUP 11:** 5 Gy XR + 25mg/kg IE; **GRUP 12:** 10 Gy XR + 25mg/kg IE; **GRUP 13:** 5 Gy XR + 50 mg/kg IE; **GRUP 14:** 10 Gy XR + 50 mg/kg IE,

Kontrol grubunun $149,14 \pm 8,4$ gr olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $174,05 \pm 60$ g ve 17. gün $198,19 \pm 7,2$ g olarak ölçülmüştür. Yani bu gruptaki ratlar deney süresi boyunca kilo almaya devam etmişlerdir. Deney süresince kontrol grubundaki ağırlık artışı % 33 olarak gerçekleşmiştir.

1 nolu grupta ise $148,57 \pm 8,6$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $176,72 \pm 5,7$ g ve 17. gün ise $206,28 \pm 30$ g olarak ölçülmüştür. Radyasyona maruz kalma süresince % 20 ve radyasyon kesildikten sonra ise % 16,7 ve toplam deney süresince ağırlık artışı % 39 olmuştur.

2 nolu grupta ise $170,11 \pm 7,4$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $194,57 \pm 50$ g ve 17. gün ise $211,59 \pm 10$ g olarak ölçülmüştür. Tüm deney süresince ağırlık artışı % 24 olarak gerçekleşmiştir.

3 nolu grupta ise $161,85 \pm 6,9$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $184,62 \pm 3,9$ g ve 17. gün ise $199,7 \pm 7,9$ g olarak ölçülmüştür. Rasyasyona maruz kalma süresince % 14 ve radyasyon kesildikten sonra ise % 8 ve bütün deney boyunca ağırlık artışı % 23 olmuştur.

4 nolu grupta ise $136,43 \pm 6,1$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $159,42 \pm 8,5$ g ve 17. gün ise $171,43 \pm 7,4$ g olarak ölçülmüştür. Çalışma süresi boyunca ağırlık artışı % 25 oranında artış göstermiştir.

5 nolu grupta ise $150,71 \pm 14,4$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $172,00 \pm 4,2$ g ve 17. gün ise $189,14 \pm 5,6$ g olarak ölçülmüştür. Radyasyon verilmesi süresince % 14 ve radyasyon kesildikten sonra ise % 9 ve toplam deney süresince ağırlık artışı % 25,4 olmuştur.

6 nolu grupta ise $132,93 \pm 3,7$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $152,44 \pm 9,2$ g ve 17. gün ise $153,00 \pm 4,6$ g olarak ölçülmüştür. Tüm deney süresince ağırlık artış miktarı % 15 oranında artmıştır.

7 nolu grupta ise $152,00 \pm 5,9$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $165,28 \pm 9,7$ g ve 17. gün ise $185,47 \pm 6,5$ g olarak ölçülmüştür. Rasyasyona maruz kalma süresince % 8,7 ve radyasyon kesildikten sonra ise % 12,2 ve toplam deney süresince ağırlık artışı % 22 olmuştur.

8 nolu grupta ise $140,57 \pm 5,4$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $153,94 \pm 5,5$ g ve 17. gün ise $168,29 \pm 6,3$ g olarak ölçülmüştür. Toplam ağırlık artışı % 19,7 olarak gerçekleşmiştir.

9 nolu grupta ise $138,28 \pm 3,1$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $148,14 \pm 4,5$ g ve 17. gün ise $158,86 \pm 6,1$ g olarak ölçülmüştür. Rasyasyon ile yapılan çalışma süresince % 7,1 ve radyasyon kesildikten sonra ise % 7,2 ve toplam deney süresince ağırlık artışı % 14,8 olmuştur.

10 nolu grupta ise $151,00 \pm 20$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $154,86 \pm 30$ g ve 17. gün ise $159,43 \pm 5,3$ g olarak ölçülmüştür. Deney süresince ağırlık artışı % 5,6 olarak gerçekleşmiştir.

11 nolu grupta ise $164,14 \pm 7,6$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $186,00 \pm 80$ g ve 17. gün ise $206,28 \pm 30$ g olarak ölçülmüştür. Rasyasyona maruz kalma süresince % 13 ve radyasyon kesildikten sonra ise % 11 ve deney süresince ağırlık artışı toplam % 25,6 olmuştur.

12 nolu grupta ise $162,57 \pm 9,5$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $179,14 \pm 5,4$ g ve 17. gün ise $192,41 \pm 5,1$ g olarak ölçülmüştür. Üçüncü günden on yedinci güne kadar ağırlık artışı % 18,3 olarak gerçekleşmiştir.

13 nolu grupta ise $151,78 \pm 6,8$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $165,85 \pm 4,6$ g ve 17. gün ise $178,55 \pm 5,2$ g olarak ölçülmüştür. Radyasyon ile yapılan çalışma süresince % 9,2 ve radyasyon kesildikten sonra ise % 7,6 ve toplam deney süresince ağırlık artışı % 17,6 olmuştur.

14 nolu grupta ise $153,00 \pm 3,7$ g olan 3. gün ağırlık ortalaması, 10. gün $163,29 \pm 4,5$ g ve 17. gün ise $170,61 \pm 3,7$ g olarak ölçülmüştür. Çalışma süresince ağırlık artışı % 11,5 olarak gerçekleşmiştir.

Yaptığımız çalışmalarda ratlar deney ortamına alıştıktan sonra kontrol grubu hariç diğer gruplara tedavi uygulandı, Tüm gruplardan alınan kan numunelerinden GSH, MDA, β -karoten, retinol ve vitamin-C değerleri ölçüldü, Bulunan değerler Tabo 1-3 te verilmiştir.

Çalışmanın sonunda atkestanesi ile beslenen ratlarda GSH değeri kontrol grubu için $44,07 \pm 4,35$, GRUP 1 için $39,54 \pm 2,9$, GRUP 2 için $36,58 \pm 1,73$, GRUP 5 için $40,11 \pm 4,24$, GRUP 4 için $37,84 \pm 5,01$, GRUP 5 için $40,99 \pm 3,87$, GRUP 6 için $38,65 \pm 3,90$ değerler bulunurken aralarındaki istatistiksel anlam değeri p ise 0,01

olarak bulunmuştur. Radyasyon verilen gruplarda GSH değeri radyasyon dozuyla azalmış olmasına rağmen AKE ektreleriyle beslenen gruplarda ise be değer artmıştır.

GSH değerleri yonca grubunda ise; kontrol, GRUP 1 ve GRUP 2 değerleri atkestanesiyle aynı olup GRUP 7 için $40,54 \pm 4,46$, GRUP 8 için $38,15 \pm 4,54$, GRUP 9 için $43,48 \pm 3,55$, GRUP10 için $39,45 \pm 4,50$ bulunurken p değeri ise 0,003 olarak hesaplanmıştır. Yonca grubundaki GSH değerlerin değişimi atkestanesi grubununkine benzese de yonca ektresinin GSH katkısı atkestanesinden daha fazla olmuştur.

GSH değerleri ıspanak ekstresi ile beslenen grupta ise; GRUP 11 için $42,75 \pm 2,96$, GRUP 12 için $37,47 \pm 5,41$, GRUP 13 için $43,16 \pm 5,01$, GRUP 14 için $38,11 \pm 4,76$ değerleri bulundu, P değeri ise 0,001 olarak hesaplanmıştır. Ispanak ektresinin GSH katkısı diğer iki ektreye göre daha az olmuştur.

MDA değerleri kontrol, 5 Gy ve 10 Gy radyasyon dozu için sırasıyla $1,45 \pm 0,13$, $1,57 \pm 0,18$, $1,64 \pm 0,11$ olarak ölçülmüş olup atkestanesiyle beslenen ve radyasyona maruz kalan grup için MDA değerleri GRUP 3 için $0,76 \pm 0,08$, GRUP 4 için $0,84 \pm 0,16$, GRUP 5 için $0,71 \pm 0,20$ ve GRUP 6 için $0,75 \pm 0,09$ hesaplandı. Bu grup için p değeri ise 0,001 dir.

Yonca ile beslenen ve radyasyon verilen grup için MDA değerleri GRUP 7, GRUP 8, GRUP 9 ve GRUP 10 için sırasıyla $1,32 \pm 0,26$, $1,43 \pm 0,41$, $1,18 \pm 0,18$ ve $1,40 \pm 0,26$ olarak çıkmıştır. Bu grup arasındaki istatistikî ilişki olan p değeri ise 0,01 dir.

Ispanak ekstresi ve değişik dozlarda radyasyon verilen ratlardaki MDA değerleri GRUP 11, GRUP 12, GRUP 13 ve GRUP 14 için sırasıyla $1,33 \pm 0,23$, $1,39 \pm 0,18$, $1,31 \pm 0,18$ ve $1,35 \pm 0,19$ olarak bulunmuştur. Aralarındaki anlamlılık ise 0,01 dir.

Radyasyon dozu artarken MDA değerleride artmıştır. Bu da radyasyonun lipid peroksidasyonuna neden olduğunu açık bir göstergesidir. Estre verilen tüm gruplarda ise MDA değerinin sadece radyasyon verilen gruplara göre azaldığı görülmektedir. Bu

bulgu ise tüm ekstrelerin lipit peroksidasyonunu üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

Kontrol grubu, 5 Gy ve 10 Gy radyasyon dozu uygulanan grupları için β -karoten değerleri sırasıyla $17,41 \pm 1,75$, $16,98 \pm 2,17$, $16,66 \pm 1,39$ olarak hesaplanmış olup atkestanesiyle beslenen ve radyasyona maruz kalan grup için β -karoten değerleri GRUP 3 için $18,54 \pm 1,37$ GRUP 4 için $17,53 \pm 1,77$ GRUP 5 için $20,09 \pm 1,05$ ve GRUP 6 için $19,37 \pm 1,52$ olarak hesaplandı. Bu grup için p değeri ise 0,001 dir.

Yonca ile beslenen ve radyasyon verilen grup için β -karoten değerleri GRUP 7, GRUP 8, GRUP 9 ve GRUP 10 için sırasıyla $20,61 \pm 1,18$, $19,73 \pm 3,28$, $23,21 \pm 2,56$ ve $20,88 \pm 3,42$ olarak çıkmıştır. Bu grup arasındaki istatistikî ilişki olan p değeri 0,001 dir.

Ispanak ekstresi ve değişik dozlarda radyasyon verilen ratlardaki β -Karoten değerleri GRUP 11, GRUP 12, GRUP 13 ve GRUP 14 için sırasıyla $23,76 \pm 2,30$, $22,42 \pm 3,17$, $26,21 \pm 2,26$ ve $24,19 \pm 2,51$ olarak çıkmıştır. Aralarındaki anlamlılık ise 0,001 dir.

Retinol değerleri kontrol, 5 Gy ve 10 Gy radyasyon dozu uygulanan gruplar için sırasıyla $155,05 \pm 9,55$, $154,67 \pm 8,68$, $150,64 \pm 8,24$ olarak hesaplanmış olup atkestanesiyle beslenen ve radyasyona maruz kalan grup için retinol değerleri GRUP 3 için $158,94 \pm 10,92$ GRUP 4 için $157,69 \pm 8,48$ GRUP 5 için $159,58 \pm 6,13$ ve GRUP 6 için $156,37 \pm 8,08$ olarak hesaplandı.

Yonca ile beslenen ve radyasyon verilen grup için retinol değerleri GRUP 7, GRUP 8, GRUP 9 ve GRUP 10 için sırasıyla $157,05 \pm 11,45$, $157,69 \pm 8,48$, $159,58 \pm 6,13$ ve $156,37 \pm 8,08$ olarak çıkmıştır, Bu grup arasındaki istatistikî ilişki olan p değeri 0,02 dir.

Ispanak ekstresi ve değişik dozlarda radyasyon verilen ratlardaki retinol değerleri GRUP 11, GRUP 12, GRUP 13 ve GRUP 14 için sırasıyla $156,77 \pm 7,85$, $155,05 \pm 12,04$, $156,81 \pm 14,16$, $135,87 \pm 4,88$ olarak çıkmıştır. Aralarındaki anlamlılık ise 0,01 dir.

Kontrol grubu, 5 Gy ve 10 Gy radyasyon dozu uygulanan grupları için vitamin-C değerleri sırasıyla $2,04 \pm 0,24$, $1,91 \pm 0,36$, $1,86 \pm 0,28$ olarak hesaplanmış olup atkestanesiyle beslenen ve radyasyona maruz kalan grup için vitamin-C değerleri GRUP 3 için $2,16 \pm 0,13$ GRUP 4 için $1,99 \pm 0,12$ GRUP 5 için $3,04 \pm 0,50$ ve GRUP 6 için $2,91 \pm 0,25$ olarak hesaplandı. Bu grup için p değeri ise 0,001 dir.

Yonca ile beslenen ve radyasyon verilen gruplar için vitamin-C değerleri GRUP 7, GRUP 8, GRUP 9 ve GRUP 10 için sırasıyla $3,64 \pm 0,29$, $3,51 \pm 0,29$, $4,09 \pm 0,52$ ve $3,81 \pm 0,36$ olarak çıkmıştır. Bu grup arasındaki istatistikî ilişki olan p değeri 0,001 dir.

İspanak ekstresi ve değişik dozlarda radyasyon verilen ratlardaki vitamin-C değerleri GRUP 11, GRUP 12, GRUP 13 ve GRUP 14 için sırasıyla $2,91 \pm 0,28$, $2,82 \pm 0,43$, $3,57 \pm 0,38$ ve $3,37 \pm 0,38$ olarak çıkmıştır. Aralarındaki anlamlılık ise 0,001 dir.

Çizelge 4.1 Değişik Dozlarda X-Radyasyonu ve Atkestanesi Ekstresi Verilen Gruplardaki GSH, MDA, β -Karoten, Retinol ve Vitamin-C Değerleri

	Kontrol	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	GRUP 5	GRUP 6	P değerleri
GSH (mg/dl)	$44,07 \pm 4,35^a$	$39,54 \pm 2,91^{bc}$	$36,58 \pm 1,73^c$	$40,11 \pm 4,24^{abc}$	$37,84 \pm 5,01^{bc}$	$40,99 \pm 3,87^{ab}$	$38,65 \pm 3,90^{bc}$	0,01
MDA (nmol/ml)	$1,45 \pm 0,13^b$	$1,57 \pm 0,18^{ab}$	$1,64 \pm 0,11^a$	$0,76 \pm 0,08^c$	$0,84 \pm 0,16^c$	$0,71 \pm 0,20^c$	$0,75 \pm 0,09^c$	0,001
β -Carotene (μ g/dl)	$17,41 \pm 1,75^{bc}$	$16,98 \pm 2,17^{bc}$	$16,66 \pm 1,39^c$	$18,54 \pm 1,37^{ab}$	$17,53 \pm 1,77^{bc}$	$20,09 \pm 1,05^a$	$19,37 \pm 1,52^a$	0,001
Retinol (μ g/dl)	$155,05 \pm 9,55$	$154,67 \pm 8,68$	$150,64 \pm 8,24$	$158,94 \pm 10,92$	$157,69 \pm 8,48$	$159,58 \pm 6,13$	$156,37 \pm 8,08$	
Ascorbic acid (mg/dl)	$2,04 \pm 0,24^b$	$1,91 \pm 0,36^b$	$1,86 \pm 0,28^b$	$2,16 \pm 0,13^b$	$1,99 \pm 0,12^b$	$3,04 \pm 0,50^a$	$2,91 \pm 0,25^a$	0,001

GRUP 1: 5 Gy XR + Serum; **GRUP 2:** 10 Gy XR + Serum; **GRUP 3:** 5 Gy XR + 25mg/kg AKE; **GRUP 4:** 10 Gy XR + 25mg/kg AKE; **GRUP 5:** 5 Gy XR + 50 mg/kg AKE; **GRUP 6:** 10 Gy XR + 50 mg/kg AKE

Çizelge 4.2 Değişik Dozlarda X-Radyasyonu ve Yonca Ekstresi Verilen Gruplardaki GSH, MDA, β -Karoten, Retinol ve Vitamin-C Değerleri

	Kontrol	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 7	GRUP 8	GRUP 9	GRUP 10	P değerleri
GSH (mg/dl)	44,07 \pm 4,35 ^a	39,54 \pm 2,91 ^{bc}	36,58 \pm 1,73 ^c	40,54 \pm 4,46 ^{abc}	38,15 \pm 4,54 ^c	43,48 \pm 3,55 ^{ab}	39,45 \pm 4,50 ^{bc}	0,003
MDA (nmol/ml)	1,45 \pm 0,13 ^{abc}	1,57 \pm 0,18 ^{ab}	1,64 \pm 0,11 ^a	1,32 \pm 0,26 ^{bc}	1,43 \pm 0,41 ^{abc}	1,18 \pm 0,18 ^c	1,40 \pm 0,26 ^{abc}	0,01
β -Carotene (μ g/dl)	17,41 \pm 1,75 ^{cd}	16,98 \pm 2,17 ^d	16,66 \pm 1,39 ^d	20,61 \pm 1,18 ^b	19,73 \pm 3,28 ^{bc}	23,21 \pm 2,56 ^a	20,88 \pm 3,42 ^{ab}	0,001
Retinol (μ g/dl)	155,05 \pm 9,55 ^{ab}	154,67 \pm 8,68 ^{ab}	150,64 \pm 8,24 ^{ab}	157,05 \pm 11,45 ^{ab}	156,06 \pm 12,63 ^{ab}	162,98 \pm 11,94 ^a	161,68 \pm 7,27 ^{ab}	0,02
Ascorbic acid (mg/dl)	2,04 \pm 0,24 ^c	1,91 \pm 0,36 ^c	1,86 \pm 0,28 ^c	3,64 \pm 0,29 ^b	3,51 \pm 0,29 ^b	4,09 \pm 0,52 ^a	3,81 \pm 0,36 ^{ab}	0,001

GRUP 1: 5 Gy XR + Serum; **GRUP 2:** 10 Gy XR + Serum; **GRUP 7:** 5 Gy XR + 25mg/kg YE; **GRUP 8:** 10 Gy XR + 25mg/kg YE; **GRUP 9:** 5 Gy XR + 50 mg/kg YE; **GRUP 10:** 10 Gy XR + 50 mg/kg YE

Çizelge 4.3 Değişik Dozlarda X-Radyasyonu ve Ispanak Ekstresi Verilen Gruplardaki GSH, MDA , β -Karoten, Retinol ve Vitamin-C Değerleri

	Kontrol	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 11	GRUP 12	GRUP 13	GRUP 14	P değerleri
GSH (mg/dl)	44,07 \pm 4,35 ^a	39,54 \pm 2,91 ^{bc}	36,58 \pm 1,73 ^c	42,75 \pm 2,96 ^{ab}	37,47 \pm 5,41 ^c	43,16 \pm 5,01 ^{ab}	38,11 \pm 4,76 ^c	0,001
MDA (nmol/ml)	1,44 \pm 0,14 ^{bc}	1,57 \pm 0,18 ^{ab}	1,64 \pm 0,11 ^a	1,33 \pm 0,23 ^c	1,39 \pm 0,18 ^{bc}	1,31 \pm 0,18 ^c	1,35 \pm 0,19 ^c	0,02
β -Carotene (μ g/dl)	17,41 \pm 1,75 ^a	16,98 \pm 2,17 ^a	16,66 \pm 1,39 ^a	23,76 \pm 2,30 ^b	22,42 \pm 3,17 ^b	26,21 \pm 2,26 ^a	24,19 \pm 2,51 ^{ab}	0,001
Retinol (μ g/dl)	155,05 \pm 9,55 ^a	154,67 \pm 8,68 ^a	150,64 \pm 8,24 ^a	156,77 \pm 7,85 ^a	155,05 \pm 12,04 ^a	156,81 \pm 14,16 ^a	135,87 \pm 4,88 ^b	0,01
Ascorbic acid (mg/dl)	2,04 \pm 0,24 ^c	1,91 \pm 0,36 ^c	1,86 \pm 0,28 ^b	2,91 \pm 0,28 ^b	2,82 \pm 0,43 ^b	3,57 \pm 0,38 ^a	3,37 \pm 0,38 ^a	0,001

GRUP 1: 5 Gy XR + Serum; **GRUP 2:** 10 Gy XR + Serum; **GRUP 11:** 5 Gy XR + 25mg/kg IE; **GRUP 12:** 10 Gy XR + 25mg/kg IE; **GRUP 13:** 5 Gy XR + 50 mg/kg IE; **GRUP 14:** 10 Gy XR + 50 mg/kg IE

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Canlı doku tarafından absorbe edilen iyonize radyasyon, hücre içerisinde atom veya molekülleri doğrudan etkiler. Uyarılmış olan hedefteki atomların biyolojik değişikliğe neden olacak reaksiyonlar zincirini başlatması radyasyonun direkt etkisi ve radyasyonun hücre içinde diğer atomlarla ya da moleküllerle (özellikle su ile) etkileşerek hasar oluşturacak serbest radikaller meydana getirmesi ise dolaylı etkisi olarak bilinir (Hall 1998). Radyasyon sonucu oluşan serbest radikallerin en önemlisi OH^{\bullet} radikalidir. Diğer hücre bileşenleriyle reaksiyona giren OH^{\bullet} radikali organik radikaller oluşturur. Oluşan bu radikaller membran lipitleriyle etkileşerek, membran moleküllerinin geçirgenliğini, akışkanlığını ve yapısını bozan bir zincir reaksiyonu başlatırlar (Archer ve Wills, 1973). İyonize radyasyon, canlı sistemlerde OH^{\bullet} radikali, $O_2^{\bullet-}$ radikali ve H_2O_2 oluşturarak meydana gelen serbest radikal reaksiyonlarıyla çeşitli doku hasarlarına yol açarlar (Kawai vd. 1989). Deneysel çalışmalar, serbest radikaller, lipit peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile kanserojenler arasında bir ilişki bulunduğunu göstermiştir. Birçok kanserojen maddenin hücre etrafındaki oksidan stresi artırarak kansere sebep olduğu anlaşılmıştır. Bu maddeler SOD, GPx ve CAT aktiviteleri dâhil hücrenin antioksidan savunmasında ani ve sürekli bir azalmaya sebep olurlar. Serbest radikal üreten birçok bileşiğin, in vivo tümörleri ilerlettikleri gösterilmiştir. Radyasyon da serbest radikal üretimi ile kansere sebep olur (Akkuş 1995). Hücrelere zarar veren iyonize radyasyon oksidatif strese neden olur (Wallace 1998). Hidroksil radikalinin OH^{\bullet} , organizmada üretilen tüm serbest radikallerin en zararlısı olduğu kabul edilmektedir. 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. Reaktif oksijen radikalleri (ROS) ve serbest radikaller nükleik asitler, lipitler, proteinler ve karbonhidratlar gibi hücresel makromoleküllere zarar verirler. İyonize radyasyonun canlı hücrelerle etkileşimi, çeşitli reaksiyon ürünlerine ve kompleks zincir reaksiyonlarına neden olur (Sies 1986). Fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalar iyonize radyasyonun membran üzerinde, hasar etkisini göstermiştir. Sprague-Dawley türü erkek fareler 800 cGy radyasyonla tüm vücutları ışınıldıktan sonra oksidasyonun

arttığı gözlenmiştir (Karbownik ve Reiter 2000). Scott ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada iyonize radyasyon hasarından korunmada antioksidan enzimler oldukça önemli olduğunu göstermişlerdir (Scott vd. 1989). 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 ve Reiter 2000). Düşük dozdaki iyonize radyasyonun antioksidan özelliklerini araştırmak için yüksek dozun hasar etkisine karşı, yüksek doz verilmeden önce koruyucu etki olarak düşük dozda iyonize radyasyon verilmiştir. Oksidatif hasarın farklı parametrelerini kullanarak yapılan çalışmalarda düşük dozdaki iyonize radyasyonun antioksidan kadar iyi 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). X-radyasyonu ile ratları ışınlamışlar ve oluşan OH^{\bullet} radikallerini spin yakalama tekniğiyle gözlemlemişlerdir (Takeshita vd. 2004).

Kaya ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Wistar türü dişi farelere 12 saat aralıkla iki kez 360 cGy lik radyasyonla 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). İlhan ve grubunun yapmış olduğu bir çalışmada, mobil telefonlarının yaymış olduğu elektromanyetik radyasyonunun oksidatif stresi araştırılmış ve bu radyasyonun kandaki MDA düzeylerini düşürdüğünü gözlemlemişlerdir (İlhan vd. 2004).

Yucca schidigera ekstratıyla beslenen tavşanlardaki γ -radyasyonunun antioksidan sistemi ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi araştırılmış, bu çalışmada düşük radyasyonun dahi vücutta lipit peroksidasyonuna neden olduğu, saponinlerin lipit

peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (Enginar vd. 2006). Radyasyonun neden olduğu oksidatif strese karşı çörekotu yağının etkisine bakılmış, MDA değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Buradan da radyasyonun oksidatif stres yaptığı ve çörekotu yağının lipit peroksidasyonuna karşı etkili olduğu bulunmuştur (Cemek vd. 2007).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise verilen her iki radyasyon dozunda da lipit peroksidasyonun olduğu ve radyasyon dozuyla bu değer arttığı görülmüştür (Tablo 1). Serbest radikaller, ateroskleroz, hücre hasarı, kanser, myokard infarktüsü, hemolitik hastalıklar ve immün hastalıklar gibi birçok hastalığın patogenezinin sorumlusu tutulmaktadır. Serbest radikallerin lipitler üzerine yaptığı etki lipid peroksidasyonu (LPO) olarak adlandırılır. İyonlayıcı radyasyon, serbest radikal oluşumuna ve antioksidan sistemin yetersiz kalmasına yol açarak oksidatif stresi artırmaktadır. Geçiş elementlerinin varlığında glikoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit üzerinden hidroksil radikali oluşturması ile sonuçlanır (Altan vd. 2006). LPO doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır (Niki 1987). Hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali, moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Oluşan peroksit radikali başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde hızla reaksiyona girer. Oluşan bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile birleşir bir hidrojen atomunun daha ayrılmasını sağlar. Başlayan bu zincir reaksiyonları oluşan yeni radikallerin etkisiyle artarak devam eder (Burton 1989). Lipit peroksidasyonu sonucu, hücre zarı akışkanlığı ve geçirgenliği zayıflar ve hücre bütünlüğü bozulabilir. Lizozomal membranların yıkılması hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur (Burton 1989). Daha sonra bu ürünler, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipid peroksidasyonunu artırır (Altan vd. 2006). Ratlara verilen bitki ekstraktları lipit peroksidasyonu baskıladığı Tablo 1-3 görülmektedir. X-radyasyonun oluşturduğu lipit peroksidasyonu üzerinde en etkili olan bitki ekstresi ise Tablo 1 de görüldüğü gibi atkestanesi olmuştur. Elde edilen bulgulara göre saponinlerin,

lipid peroksidasyonunu önlemede güçlü bir antioksidan potansiyele sahip olduğu görülmektedir.

Glutasyon proteinlerdeki R-SH gruplarını indirgemiş halde tutar ve bu gruplar oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engellemiş olur. Her ne kadar hidroksil radikallerinden daha zayıf olsalar da tiyol radikalleri bazı biyolojik sorunlara neden olurlar. Bunlar sülfür merkezli radikaller (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfid bağı oluşturur. Bu da proteinlerin konfigürasyonlarını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engeller. Çünkü çok önemli bir antioksidan olan GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarın oluşmasını engellemektedir. Bununla birlikte eritrosit zarını H₂O₂'ten, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan koruyarak, yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlamaktadır (Akkuş 1995).

Antioksidatif sistemlerin en yoğun çalıştığı yerler hücrelerdeki enerji üretim merkezleri yani mitokondrilerdir. Ratlarda, karaciğer mitokondrilerinde LPO ve fonksiyonel hasara karşı korunmada antioksidanların rolü ile ilgili yapılan bir araştırmada, demir ve bazı metallerin GSH ve NADPH seviyelerini düşürdüğü, deneklerde LPO derecesini azaltmak amacı ile α -tokoferol (vitamin E) uygulandığında ise mitokondrilerde MDA oluşumunun azaldığı görülmüştür. Bunlara bağlı olarak mitokondrinin enerjiyle ilgili fonksiyonlarında düşüş gözlenmiş, bu düşüş ile antioksidanların tükenme zamanlarının birbirine paralellik gösterdiği saptanmıştır. Aslında mitokondrilerin enerjisi, ya glutasyon ya da α -tokoferolün indirgenmesi için hidrojen sağlayan solunum substratlarının uygunluğuna bağlıdır. Çünkü GSH, koenzim Q tarafından indirgenen α -tokoferol radikali ve NADPH maddesi ile glutasyon redüktaz (GRx) tarafından yeniden üretilmektedir. Böylelikle, oksidan dengenin korunması amacıyla LPO'nun başlangıç, hızlanma ve sonlanma basamaklarında, ilk olarak ubikinonlarca gerçekleştirilen, daha sonra diğer enzimatik reaksiyonlar ve α -tokoferol gibi vitaminlerin oluşturduğu, oldukça yoğun bir direnç gözlenebilmektedir (Augustin vd. 1997).

Çalışmamızda GSH değerleri Tablo 1-3 gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre kontrol grubuna göre, radyasyon verilen gruplarda GSH seviyelerin radyasyon dozuyla azaldığı belirlenmiştir. Verilen radyasyon fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin aktif hale getirmiştir. Eğer bir sistemde lipid peroksidasyonu başladığı zaman enzimsel savunma sistemi yeterli gelmediği durumlarda düşük molekül ağırlıklı 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 5 Gy gibi radyasyona maruz kaldığı zaman, vücudun savunma oluşan lipid peroksidasyonu engellemeye yetmemektedir.

Sur ve arkadaşları (2001) saponinlerin antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, saponin içeren *Yucca schidigera* tozu katılması kan GSH düzeylerini ve total antioksidan kapasiteyi artırdığı bulunmuştur. Bu bulgu, saponin içeren bitkilerin rasyona katılmasının hücrelerde doğal oksidasyon reaksiyonlarının yıkıcı etkilerine karşı koruyucu etki sağlayan antioksidan gücü artırdığını göstermektedir. Çalışmamızda bitki ekstereleri verildiği zaman GSH değerlerinde, ekstre konsantrasyonlarıyla orantılı olarak bir artış olduğu Tablo 1-3 görülmektedir. Saponinler serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarın oluşmasını engellemişlerdir.

Canlı organizmalarda enzimatik antioksidanların yanı sıra vitaminler de serbest radikallerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında önemlidir. Vitaminler non-enzimatik antioksidanlar kısmında yer alır. İnsan ve hayvanlarda, β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır (Akkuş 1995).

Vitamin C, serbest peroksil radikallerinin zararlı etkilerine karşı organizmayı koruyan doğal antioksidanlardır. Serum lipid peroksidleri üzerine askorbik asit ve α -tokoferol arasındaki sinerjistik etki iyi bilinmektedir. Askorbik asit, tokoferol ile membran iç yüzeyinde veya dış yüzeyinde etkileşmektedir (Negre vd. 1991). Bizim yapmış olduğumuz çalışmalarda enzimatik olmayan antioksidanların (AA, retinol ve β -karoten değerlerinin radyasyon dozuyla azaldığı (Tablo 1-3) görülmektedir. Bu sonuçlar X-

radasyonu sonucu oluşan serbest peroksit radikallerinin antioksidan vitaminleriyle reaksiyona girdiğinin gstermektedir.

Askorbik asidin dűřuk kan konsantrasyonlarında antioksidan etkisinin azalıp, prooksidan etkisinin ortaya çıktıđı gsterilmiřtir (Rees 1987). *İn vitro* incelemelerde reaksiyon; sistemde endojen peroksid, oksijen ve demir gibi metal iyonları varlıđında, dűřuk askorbat konsantrasyonlarında lipid peroksidasyonu ile sonlanırken yűksek konsantrasyonlarda ise antioksidan uezellik gstermiřtir (Negre vd. 1991). Askorbik asidin antioksidan etkisinin konsantrasyona bađımlı olduđu rapor edilmiřtir (Wayner vd. 1986). Girotti ve arkadařları (1985), oksidasyon sırasında řayet lipid hidroperoksidleri membranda mevcutsa askorbik asidin membranda lipid peroksidasyonunu tetikleyebileceđini ve bu etkinin 10 mM dan daha az idirgen konsantrasyonlarda bařladıđını bildirmiřlerdir. *İn vivo* kořullarda askorbik asidin prooksidan etkisinin ɵnemsiz olduđu gsterilmiřtir (Niki 1991). Bűtűn bu bilgiler ıřıđında, askorbik asit yűksek konsantrasyonlarda aköz radikalleri kolayca yakalayarak, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve α -tokoferol ile sinerjistik etki gstererek, eritrosit yařam sűresini olumlu etkileyebilir. Ařırı demir, askorbat oksidatif katabolizmasını hızlandırabilmektedir. Demir, membran lipid peroksidasyonu ile dokuda hasar yapabilmektedir. Askorbat varlıđında bu etki artmaktadır (Roeser 1983). Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonu reaksiyonlarının bařlamasında demirin rolű, çeřitli sistemlerde arařtırılmıřtır. Ferrik demir veya ferik kelatlar, ferrik demiri ferröz demire indirgeyen indirgeyici bir ajan varlıđında lipid peroksidasyonunu bařlatabilirler. Braughler ve arkadařları sıçan beyin sinaptozomal membranlarında bu etkiyi incelemiřlerdir (Braughler 1986). H_2O_2 ve askorbat dűřuk konsantrasyonlarda, sırasıyla Fe^{+3} veya Fe^{+2} ile lipid peroksidasyonunu arttırmasına rađmen H_2O_2 veya askorbat (ařın demir varlıđında) yűksek konsantrasyonlarda, lipid peroksidasyonunu inhibe etmiřlerdir. Bu veriye gűre, Fe^{+3}/Fe^{+2} mutlak oranı lipid peroksidasyonunu bařlatmada primer tayin edici bir faktűr olabilir. *İn vitro* bir çalıřmada, askorbik asidin kuprik iyonu kuprűz iyonuna indirgeyerek prooksidan uezellik gsterdiđi bildirilmiřtir (Stadtman 1991). Bu sonuçlar, ortamda askorbat varlıđında metal iyonlarının (demir, bakır gibi) lipid peroksidasyonunu bařlatabileceđini dűřűndűrmektedir. Vitamin C'nin beklenen antioksidan etkisi, prooksidan etkisiyle dengelenebilir.

Sonuç olarak uygulanan her iki radyasyon dozunun oksidatif stresi artırarak lipid peroksidasyonunun oluştuğu, bu değerin dozun artmasıyla arttığı görülmüştür. Saponin içeren bitkilerden elde edilen ekstreler lipid peroksidasyonu üzerinde etkili olmuşlardır. Lipid peroksidasyonu üzerinde en etkili ekstre ise AKE olmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Akkuş İ., 1995, “Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri. Mimoza yayınları” 134s. Konya.
- Altan N., Dinçel A.S., Koca, C., 2006, ” Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres”. Türk Biyokimya Dergisi 31(2), 51–56.
- Archer, J.F., Wills, E.D., 1973, Effects of Ionizing Radiation on Sulphydryl and Disulphide Components of Cultured Mammalian Cells. *Int. Journal Radiation Biology*, 23, 571-581.
- Augustin W., Wiswedel I., Noack H., Reinheckel T., Reichelt O., 1997, “Role of endogenous antioxidants in the defence against functional damage and lipid peroxidation in rat liver mitochondria”, *Molecular and cellular biochemistry*, 174, 199-205
- Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A., 2001, “Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi”. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Basımevi No: 20, 75s. Ankara.
- Barber, D.A., Haris, S.R., 1994, “Oxygen Free Radicals and Antioxidants: A review”. *Am. Pharmavy.* 34(9), 26-35.
- Basaga, H.S., 1990, “Biochemical Aspects of Free Radicals. *Biochem*”. *Cell Biol.*, 68, 989-998.
- Brain, K., Hadgraft, J., Al-Shatalebi, M., 1990, “Membrane modification in activity of plant molluscicides”. *Planta Medica.* 56, 663.
- Braugher, J.M., Duncan, L.A., Chase, R.L., 1986, “The involvement of iron in lipid peroxidation importance of ferric to ferrous ratios in initiation”. *J Biol Chem*, 261 (22), 10282–9.
- Brunori, M., Rotilio, G., 1984, “Biochemistry of Oxygen Radical Species”. *Method. Enzymol.*, 105, 22-35.
- Buetler E., Dubon O., Kelly B.M., 1963, “Improved method for the determination of blood glutathione”, *J.Lab.Clin.Med.*, 61, 882-888.
- Burtis, C.A., 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, 109-111.
- Burton, G.W., Ingold, K.U., 1989, "Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant". *Ann NY Acad Sci*, 570, 7-22.
- Cadenas, E., 1989, "Biochemistry of oxygen toxicity". *Ann Rev Biochem.*, 58, 79- 110.
- Carr, A.C., McCall, M.R., 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* Page 1-10.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993, "An Introduction to Free Radical Biochemistry". *Br. Med. Bull.*, 49(3), 479-480.
- Chen, J.C., Xu, M.X., Chen, L.D., Chen, Y.N., Chiu, T.H. 1998, "Effect of Panax notoginseng saponins on sperm motility and progression in vitro". *Phytomedicine*. 5, 289-292.
- Constantinou A., Metha R.G., Vaughan, A., 1996, "Inhibition of N-nitroso-N-methylurea-induced mammary tumors in rats by soybean isoflavens, Antican". *Res.*, 16, 3293-3298.
- Demir, M., 2000, "Nükleer Tıp Fiziği". İstanbul Üniversitesi Yayını, No: 4252. İstanbul.
- Desideri, A., Falconi, M., 2003, " Prokaryotic Cu, Zn superoxidies dismutases". *Biochem Soc Trans*, 31,1322-1325.
- Diazini H., 1982, "Aldehydic products of lipid peroxidation. Lipid peroxidation end cancer, in free redicals" 800s, Academic Pres, London.
- Dündar, Y., 2001, " Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam". *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2, 131-138.

- Dündar, Y., Aslan, R., 2000. "Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar". T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. 1. Basım. 4-6s. Uyum Ajans, Ankara.
- Enginar, H., Eryavuz A., Gülcan A., Kaya, E., Küçükkurt İ., 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.
- Erden, M., 1992, "Serbest radikaller" . T. Klin. Tıp Bilimleri Dergisi, 12, 201-207.
- Erdik, E., 1998, "Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler". Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, 82- 94 s. Gazi Kitabevi, Ankara.
- Erdoğan Z., Erdoğan, S., Kaya, Ş., 2001, "Yucca ekstraktının Bıldırcınlarda Besi Performansı ile Bazı Biyokimyasal ve Hematolojik Parametreleri Üzerine Etkisi". A.Ü. Veteriner Fak. Derg.
- Freeman, A., 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.
- Giovannucci, E., 1999, "Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer, review of the epidemiologic literature". *J Natl Cancer Inst.*, 91, 317–331.
- Girotti, A.W., Thomas, I.P., Jordan, I.E., 1985, "Prooxidant and antioxidant effects of ascorbate on photosensitized peroxidation of lipids in erythrocyte membranes". *Photochem Photobiol*, 41 (3), 267–276.
- Göksel, S., 1973, "Radyasyonların Biyolojik Etkileri ve Radyasyon Koruması". İTÜ Nükleer Enerji Enstitüsü Yayınları, İstanbul.
- Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Siest, G., 1991, "Biological variability of superoxide dismutase, glutathine peroxidase and catalase in blood". *Clin. Chem.*, 37(11), 1932-1937.
- Güçlü, K.B., 2003, "Bıldırcın rasyonlarına katılan Yucca ekstraktının yumurta verimi ve yumurta kalitesi ile bazı kan parametrelerine etkisi". *Türk J. Vet. Anim. Sci.*, 27, 567-574.
- Hall, J.E., 1998, *Radiobiology for the Radiobiologist*. 3 rd edition, J.B. Lippincott Comp., Philadelphia.

- Halliwell B, Gutteridge J.M.C., 1999, "Free Radicals in Biology and Medicine", 3rd ed, Oxford University Press.
- Halliwell, B., 1994, Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*. 344, 721–24.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Cross, C.E., 1993, "Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now?" *J Lab Clin Med.*, 119(6), 598–613.
- Harman D., 1969. "Prolongation of life: role of free radical reactions in aging". *J. Am. Geriatr. Soc.*, 17, 721-732.
- Igari, T., Kaneda, H., Hourichi, S., Onu, S., 1982, "A remarkable increase of superoxide dismutase activity in synovial fluid of patient with rheumatoid arthritis". *Clin Orthop and Related Research*, 162, 282–287.
- İlhan, A., Şahin, D.A., Armutçu, F., Gürel A, 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.
- Jain S.K., McVie R., Duett J., Herbst J.J., 1989, "Erythrocyte membrane lipid peroxidase and glycolylated hemoglobin in diabetes", *Diabetes*, 38, 1539-1543.
- Kajihara, J., Enomoto, M., Katoh, K., Mitsuta, K., Konho, M., 1990, "Relationship between the ligand structure of copper and stability of superoxide dismutase". *Agric. Biol. Chem.*, 54(2), 495-499.
- Karbownik, M., Reiter, R.J., 2000, "Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation". *Experimental Biology and Medicine*. 225, 9–22.
- Kawai S., Kasashima K., Tomita, M., 1989, High Performance Liquid Chromatographic Determination of Malonaldehyde in Serum. *Journal Chromatogr*, 27 (495), 235-238.
- 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.
- Kojima, S., Matsuki, O., Nomura, T, Kubodera, A., Honda, Y., Honda, S., Tanooka, H., Wakasugi, H., 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.

Köylü, A.A., 2003, "Çeşitli Kanser Türlerinde Lipid Peroksidasyonu, Antioksidan Enzimler ve Bunlar'ın Tümör Belirteçleri ile Olan ilişkileri". Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Şanlıurfa

Liochev, S.I., Fridovich, I., 2002, "The Haber-Weiss cycle — 70 years later: an alternative view". *Redox report*, 7, 55–57.

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., De Castro, I.N., 1999, "Antioxidant enzymes and human diseases", *Clin Biochem*, 32, 595–603.

McCall, MR., Frei, B., 1999, "Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans?" *Free Rad Biol Med*, 26, 1034–1105.

Mccord, J.M., 1985, "Oxygen Derived Free Radicals in Postischemic Tissue Injury". *New Engl. J. Med.*, 17, 159-163.

Mccord, J.M., 1993, "Human Disease, Free Radicals, and The Oxidant/Antioxidant Balance". *Clin. Biochem.*, 26, 351- 357.

Mccord, J.M., Day, E.D., 1978, "Superoxide- dependent production of hydroxyl radical catalyzed by iron – EDTA complex". *FEBS Letters*, 86(1), 139–142.

Mochizuki, M., Yoo, Y.C., Matsuzawa, K., Sato, K., Saiki, I., Tono-oka, S., Samukawa K., Azuma, I., 1995, "Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S)-ginsenoside-Rg3, of red ginseng". *Biol.Pharm.Bull.*, 18(9), 1197-1202.

Negre-Salvayre, A., Affany, A., Hariton, C., 1991, "Additional antilipoperoxidant activities of alphas-tocopherol and ascorbic acid on membrane-like systems are potentiated by rutin". *Pharmacology*, 42: 262- 272.

Niki, E., 1991, "Vitamin C as an antioxidant". *World Rev Nutr Diet*, 64, 1–30.

Oleszek, W., 2002, Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatography A*. 967, 147–162.

- Omaye S.T., Turnbull J.D., Savberlich H.E., 1979, Ascorbic acid analysis. II. Determination after derivatisation with 2,2-dinitrophenylhydrazine. Selected methods for determination 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. Health Sci.* 45 (5), 251–255.
- Öztaşan, N., Eryavuz, A., Bülbül, A., Avcı, G., Küçükkurt, İ., 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. Sözlü bildiri.
- Pastori, M., Pfander, H., Boscoboinik, D., Azzi, A., 1998, “Lycopene in association with α -tocopherol inhibits at physiological concentrations proliferation of prostate carcinoma cells”. *Biochem Biophys Res Commun*, 250, 582–585.
- Plock, A., Sokolowska-Kohler, W., Presber, W. 2001, “Application of flow cytometry and microscopical methods to characterize the effect of herbal drugs on *Leishmania* spp”. *Experimental Parasitology*, 97, 141–153.
- Poli G., Diananzani M.U., Cheeseman K.H., Staler T.F., Long J., Esterbauer H., 1985 “Separation and characterization of the aldehydic product of lipid peroxidation by carbon tetrachloride or ADP-iron in isolated rat hepatocytes and rat liver microsomal suspension”. *J Biochem*, 227, 629-638.
- Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F., Chiarotto, E., 2004, “Oxidative stress and cell signalling”. *Curr Med Chem.*, 11, 1163–1182.
- Pryor, W.A., 2000, “Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trial”. *Free Rad Biol Med*, 28,141–164.
- Rees S., 1987, “Ascorbic acid and lipid peroxidation”. The crossover effect. *Acta Biochim Biophys Hung*, 22, 241–249.
- Reiter, R.J., 1998, “Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin”. *Progress in Neurobiology*, 56, 359-384.

- Roeser, H.P., 1983, "The role of ascorbic acid in the turnover of storage iron". *Semin Hematol*, 20 (2), 91-8.
- Scott, M.D., Meshnick, S.R., Eaton, J.W., 1989, "Superoxide Dismutase Amplifies Organismal Sensitivity to Ionizing Radiation". *J. Biol.*, 264, 2498-2501.
- Seeman, P., 1974, "Ultrastructure of membrane lesions in immune lysis, osmotic lysis and drug-induced lysis". *Federation Proceeding*, 33, 2116–2124.
- Serhatlıoğlu S., Gürsu F.M., Gulcü F., Canatan H., Gökmerdan A., 2003, "Levels of paraoxonase and arylesterase activities and malondialdehyde in workers exposed to ionizing radiation". *Cell Biochem Function*, 21, 371–375.
- Shimizu, N., Kobayashi, K., Hayashi, K., 1984, "The reaction of superoxide radical with catalase". *J. Biological Chemistry*, 259(7), 4414–4418.
- Sies, H., Stahl, W., Sevanian, A., 2005, "Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress". *J Nutr*, 135, 969–972.
- Simonian, N.A., Coyle, J.T., 1996, "Oxidative stress in neurodegenerative diseases". *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 36, 83–106.
- Southon, S., Johnson I.T., Gee, J.M., Price, K.R., 1988, "The effect of gypsophila saponins in the diet on mineral status and plasma cholesterol concentration in the rat". *Br. J. Nutr*, 59, 49–55.
- Spiteller G., 2001, "Peroxidation of lineoleic acid and its relation to aging and age dependent diseases", *Mechanisms of Ageing and Development*, 122, 617-657.
- Stadtman, E.R., 1991, "Ascorbic acid and oxidative in activation of proteins". *Am J Clin Nutr*, 54 (Suppl.), 1125- 1128.
- Sur, P., Chaudhuri, T., Vedasiromoni, J.R., Gomes, A., 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.
- United Nations Environment Program, 1998, "Radiation doses, effects, risks". Blackwell, Oxford.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J., 2004, "Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence". *Mol Cell Biochem*, 266, 37–56.
- Vegamania, L., 1995, "Scientists tout the health benefits of saponin". *Science News*. 148 (9), 392.
- Wallace S.S., 1998, Enzymatic processing of radiation-induced free radical damage in DNA. *Radiation Res.*, 150, 60-79.
- Wayner, D.D.M., Burton, G.W., Ingold, K.V., 1986, "The Antioxidant efficiency of vitamin C is concentration dependent". *Biochim Biophys Acta*, 884, 119–123.
- Weiss, S.J., 1986, "Oxygen, Ischemia and Inflammation". *Acta Physiol. Scand*, 548, 9–13.
- Whitehead, C.C., McNab, J.M., 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., Simith C.A., 1991, "Molecular and Cell Biochemistry", Chapman & Hall, Hong Kong.
- Yılmaz S., Ozan T.S., 2003, "Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki", *Türk Biyokimya Dergisi*, 28, 252–256.
- Yülek, G., 1992, "Radyasyon Fiziği ve Radyasyondan Korunma". Sek Yayınları No: 14, 198s. Ankara.
- Zaoui, A., Cherrah, Y., Lacaille-Dubois, M.A., Settaf, A., Amarouch, H., Hassar, M., 2000, "Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat". *Therapie*, 55, 379-382.

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Malatya' da doğdu. İlk ve orta öğretimini memleketi Malatya'da tamamladı. 1995 yılında eğitime başladığı Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 1999 yılında mezun oldu. İki yıl kadar özel bir dershanede kimya öğretmenliğine devam etti. 2001 yılından beri Milli Eğitim Bakanlığı bünyesindeki bir lisede kimya öğretmeni olarak görev yapmaktadır. Şu an Antalya ili Kumluca ilçesinde Anadolu Meslek Lisesinde görevini sürdürmektedir.