



**RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ RATLARDA
FARKLI FLAVONOİD BİLEŞİKLERİN
KORUYUCU ETKİSİNİN
BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Handan UĞUZ

**Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik
Genetik Bilim Dalı
Doç. Dr. Hakan AŞKIN
2018
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ RATLARDA FARKLI
FLAVONOİD BİLEŞİKLERİN KORUYUCU ETKİSİNİN
BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Handan UĞUZ

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
Genetik Bilim Dalı**

**ERZURUM
2018**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ RATLARDA FARKLI FLAVONOİD BİLEŞİKLERİN
KORUYUCU ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Hakan AŞKIN danışmanlığında, Handan UĞUZ tarafından hazırlanan bu çalışma, 23/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Genetik Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.**

Başkan: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Hakan AŞKIN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun **26.07/2018** tarih ve **30...../20.....** nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ RATLARDA FARKLI FLAVONOİD BİLEŞİKLERİN KORUYUCU ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Handan UĞUZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Genetik Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hakan AŞKIN

Fitokimyasallar, sindirim sistemi, karaciğer, göz, beyin, böbrek, üreme sistemi, kemik ve deride radyokoruyucu etkileri göstermektedir. Ayrıca radyasyon kaynaklı mukozal ülserler, organ fibrozisleri (pulmoner fibrozis, karaciğer fibrozu ve renal fibrozis), göz yaralanmaları, kalp-vasküler endotelial hasarlar ve kemik hasarları oluşan reaktif oksijen türlerini temizleme yetenekleri sayesinde bu fitokimyasallar tarafından iyileştirilebilmektedir. Bu fitokimyasallar arasında en yaygın olarak bulunan flavonoidler, birçok bitki ve mantarda sekonder metabolit olarak bulunan ve tedavi edici özelliklere sahip polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidler, antioksidan aktivite, antienflamatuar özellik, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi gibi insan sağlığı için çok yararlı özelliklere sahiptirler. Çalışmamızda naringenin, kuersetin ve hesperidin flavonoidlerinin radyo-koruyucu etkileri çeşitli parametreler (Karbonik anhidraz enzim aktiviteleri (=CA), asetilkolinesteraz enzim aktiviteleri (=AChE), Malondialdehit seviyeleri (=MDA), Süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri (=SOD), Glutasyon peroksidaz enzim aktiviteleri (GPx) ve Toplam antioksidan Kapasite (=TAK)) testi kullanılarak belirlenmeye çalışıldı. Bu amaç için dişi Sprague Dawley fareleri kullanıldı. Kontrol grubunda yedi gün boyunca normal beslenen ratlar kullanıldı. Pozitif kontrol olarak üç ayrı radyoterapi (RT) grubu oluşturuldu. Bu üç grupta yer alan grupta yer alan fareler, sırasıyla 10 Gy, 12 Gy ve 15 Gy radyasyona deney başladıktan yedi gün sonra maruz bırakıldı. Geri kalan altı grup ise (naringenin, kuersetin, hesperidin, naringenin + RT, kuersetin + RT ve hesperidin + RT) yine yedi gün süre ile uygulama bileşikleriyle beslendikten ve/veya RT uygulandıktan sonra anestezik işlem uygulanmıştır. Sonrasında ise uygun koşullar altında beyin ve göz dokuları alınarak gerekli tüm işlemler gerçekleştirilmiştir. Tüm uygulamalar sonucunda elde edilen bulgular, bu üç flavonoidin radyo-koruyucu etkili olduğunu göstermiştir. Bu etkileri, sahip oldukları antioksidan özelliklerinin yanı sıra CA ve AChE inhibisyonunu azaltmalarına bağlanabilir.

2018, 81 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antioksidan kapasite, enzim inhibisyonu, flavonoidler, radyo-koruyucu etki

ABSTRACT

MS Thesis

BİOCHEMICAL INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF DIFFERENT FLAVONOİD COMPOUNDS IN RADIOTHERAPY-THREATED RATS.

Handan UĞUZ

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetics
Department of Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hakan AŞKIN

Phytochemicals exhibit radioprotective effects in the liver, skin, eye, brain, kidney, reproductive system, bone, and digestive system. Moreover, radiation-induced mucosal ulcers, organ fibrosis (pulmonary fibrosis, liver fibrosis, and renal fibrosis), eye injury, bone injury, and heart and vascular endothelial injury are attenuated by ROS scavengers. Among these phytochemicals, the most common flavonoids are polyphenolic compounds with therapeutic properties found as secondary metabolites in many plants and fungi. Flavonoids have very useful properties for human health such as antioxidant activity, antiinflammatory properties, prevention of cardiovascular and neurodegenerative diseases. In our study, the radio-protective effects of naringenin, quercetin and hesperidin flavonoids were determined by various parameters (Carbonic anhydrase enzyme activities (= CA), acetylcholinesterase enzyme activities (= AChE), Malondialdehyde levels (= MDA), Superoxide dismutase enzyme activities (= SOD), Glutathione peroxidase enzyme activities (GPx) and total antioxidant capacity (= TAC) test). Female Sprague Dawley rats were used for this purpose. In the control group, normal-fed rats were used for seven days. Three separate radiotherapy (RT) groups were established as positive controls. Mice in these three groups were exposed to 10 Gy, 12 Gy and 15 Gy radiation, respectively, seven days after starting the experiment. The remaining six groups (naringenin, quercetin, hesperidin, naringenin + RT, quercetin + RT and hesperidin + RT) were anesthetized after being fed with the administration compounds for seven days and / or applying RT. Afterwards, brain and eye tissues were taken under appropriate conditions and all the necessary procedures were carried out. Findings as a result of all applications showed that these three flavonoids are radio-protective. These effects can be attributed to their ability to inhibit AChE and CA inhibition as well as their antioxidant properties.

2018, 81 pages

Keywords: Antioxidant capacity, enzyme inhibition, flavonoids, radio-protective effect

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanan bu araştırma, Atatürk Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde ve Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır.

Başta çalışmalarımı yapmam için imkân tanıyan Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL'e, çalışmalarım süresince görüş ve bilgi birikimlerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hakan AŞKIN'a ve çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerden yararlandığım AraŐ. Gör. Dr. Melike YILDIZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm Hocalarıma, Bölümün Araştırma Laboratuvarlarında çalışan arkadaşlarıma, Yüksek lisans öğrencisi Behiye TAŐER'e ve Doktora öğrencisi Esra PALABIYIK'a her türlü yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca maddi, manevi desteklerini, ilgilerini ve sabırlarını esirgemeyen çok kıymetli canım annem ve babama, tezimi yazarken bilgisayar başında geçirdiğim sayısız hafta sonlarını, günleri ve gece geç saatleri benden dolayı uykusuz kalan kardeşim K. Cansel UŐUZ'a ve ablalarıma sonsuz teşekkür ederim.

Handan UŐUZ

Temmuz, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Flavonoidler	7
1.1.1. Flavonoidlerin yapısı	7
1.1.2. Flavonoidlerin etkileri	9
1.1.3. Çalışmamızda kullanılan flavonoidler	10
1.1.3.a. Hesperidin (=3,5,7-trihidroksi-4-metoksiflavon)	11
1.1.3.b. Naringenin (=4',5,7trihidroksi-flavanon-7-ramnoglukozit)	11
1.1.3.c. Kuersetin (=3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon)	12
1.2. Radyoterapi ve Radyo-koruyucu Ajanların Kullanımı	13
1.3. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi	16
1.3.1. Serbest radikaller	16
1.3.2. Oksidatif Stres	19
1.3.3. Oksidatif stresin biyolojik etkileri	19
1.3.3.a. Oksidatif stresin lipitler üzerine etkisi	20
1.3.3.b. Oksidatif stresin proteinler üzerine etkisi	21
1.3.3.c. Oksidatif stresin karbonhidratlar üzerine etkisi	22
1.3.3.d. Oksidatif stresin nükleik asitler üzerine etkisi	22
1.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	23
1.4.1. Antioksidanların etki mekanizmaları	24
1.4.1.a. Süperoksit dismutaz (SOD)	26
1.4.1.b. Glutatyon peroksidaz (GSHPx)	27
1.5. Enzim Aktivitesinin İnhibisyonu	27
1.5.1. Asetilkolinesteraz enzimi (EC 3.1.1.7,= AChE)	29

1.5.2. Karbonik anhidraz enzimi	30
2. KAYNAK ÖZETLERİ	32
3. MATERYAL ve YÖNTEM	36
3.1. Materyal.....	36
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	36
3.1.2. Kullanılan laboratuvar gereçleri ve cihazlar	36
3.1.3. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması.....	37
3.1.3.a. SOD deneyinde kullanılacak reaktifler.....	37
3.1.3.b. MDA reaktiflerinin hazırlanışı;	38
3.2. Yöntem	41
3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması ve etik kurul.....	41
3.2.2. Organ ve dokuların eldesi.....	43
3.2.3. Doku (Beyin ve göz) homojenizasyonu	44
3.2.4. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi (=SOD).....	45
3.2.5. Malondialdehit (=MDA) miktar tayini.....	46
3.2.6. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi (=GPx)	47
3.2.7. Toplam antioksidan kapasite (TAK) tayini	48
3.2.8. Asetilkolinesteraz (=AChE) enzim aktivitesinin belirlenmesi	49
3.2.9. Karbonik anhidraz (CA) enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	49
3.2.9.1. Hidrataz enzim aktivitesi.....	49
3.2.9.b. Esteraz aktivitesi.....	50
3.3. İstatistiksel Analiz	51
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	52
4.1. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda CA Aktivitesi Üzerine Etkileri	52
4.2. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda CA Aktivitesi Üzerine Etkileri	53
4.3. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda AChE Aktivitesi Üzerine Etkileri	54
4.4. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda AChE Aktivitesi Üzerine Etkileri	55

4.5. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda MDA Üzerine Etkileri	56
4.6. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda MDA Üzerine Etkileri	57
4.7. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda SOD Üzerine Etkileri	57
4.8. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda SOD Üzerine Etkileri	59
4.9. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda GPx Üzerine Etkileri	59
4.10. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda GPx Üzerine Etkileri	60
4.11. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda TAK Üzerine Etkileri	61
4.12. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda TAK Üzerine Etkileri	62
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	82

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

μl	: Mikrolitre
6-PGD	: 6- Fosfoglukonat dehidrogenaz
Abs	: Absorbans
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolin esteraz
AChI	: Asetilkolin iyodür
ACS	: Aromatik katyon bağlayıcı bölge
ALS	: Amiyotrofik lateral skleroz
AS	: Anyonik bölge
ATM	: Ataksi-telenjektazi mutasyonu
ATPaz	: Adenin trifosfat enzimi
BSA	: Bovin serum albümin
Ca	: Kalsiyum
CA	: Karbonik anhidraz
Cu	: Bakır
diTyr	: Ditirozin
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DTNB	: 5,5'-ditiyo-bis (2-nitro-benzoik) asit
e^-	: elektron
EC	: Ekstracellüler
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
FDA	: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç İdaresi
$\text{Fe}^{+2}, \text{Fe}^{+3}$: Demir
G6PD	: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
GR	: Glutatyon redüktaz
gr	: Gram
GR	: Glutatyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSHPx	: Glutatyon peroksidaz

GSSG	: Yükseltgenmiş glutatyon
GST	: Glutatyon S-peroksidaz
H	: Hidrojen
Hsd	: Hesperidin
K _m	: Enzimin substrata ilgisini gösteren sabit
Kst	: Kuersetin
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MAPK	: Protein kinaz
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
Mn	: Mangan
NBT	: Nitroblue tetrazolium klorür
nm	: Nanometre
Nrg	: Naringenin
NT	: Nitrotirozin
PAS	: Periferik anyonik bölge
PCO	: Protein karbonil oluşumu
P-SH	: Protein tiyol grubu
RNA	: Ribonükleik asit
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
RT	: Radyoterapi
S	: Kükürt
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOD	: Süperoksid dismutaz
TAK	: Total antioksidan kapasite
TBA	: Tiobarbutirik asit
TCh	: Tiyokolşine
U	: Enzim ünitesi

V_{\max} : Enzimatik reaksiyonda ulaşılabilecek en yüksek hız



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Fotokimyasalların etkilediği sinyal yolları	6
Şekil 1.2. Flavonoidlerin genel yapısı.....	8
Şekil 1.3. Flavonoid çeşitleri ve diyetteki yeri	9
Şekil 1.4. Hesperidin, naringenin ve kuersetinin kimyasal yapısı	10
Şekil 1.5. Radyoterapinin hücreye etkisi	14
Şekil 1.6. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma mekanizması	17
Şekil 1.7. Serbest radikallerin etkili olduğu doku, organ ve sistemler ile ilişkili bulunduğu hastalıklar	18
Şekil 1.9. AChE'nin şematik gösterimi	29
Şekil.1.10. AChE'nin varlığında asetilkolinin hidrolizasyon reaksiyonu	30
Şekil 3.1. Sprague Dawley ratları ve yaşam alanları	41
Şekil 3.2. Ratlardan beyin ve göz organlarının diseksiyonu.....	44
Şekil 3.3. Bead blaster marka homojenizasyon cihazı ve Eppendorf santrifüj cihazı.....	45
Şekil 4.1. <i>In vivo</i> 'da fare beyin ve göz dokularına ait karbonik anhidraz enzim inhibisyonu sonuçları.....	54
Şekil 4.2. <i>In vivo</i> 'da fare beyin ve göz dokularına ait asetilkolin esteraz enzim inhibisyonu sonuçları.....	55
Şekil 4.3. <i>In vivo</i> 'da fare beyin ve göz dokularına ait MDA sonuçları	57
Şekil 4.4. <i>In vivo</i> 'da fare beyin ve göz dokularına ait SOD sonuçları.....	58
Şekil 4.5. <i>In vivo</i> 'da fare beyin ve göz dokularına ait GPx sonuçları.....	60
Şekil 4.6. <i>In vivo</i> 'da fare beyin ve göz dokularına ait TAK sonuçları.....	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Fitokimyasalların serbest radikal türlerini <i>in vitro</i> 'da temizleyerek radyasyona karşı koruması	3
Çizelge 1.2. Antioksidan kapasiteye sahip bitkisel kaynaklı radyokoruyucu adaylar	5
Çizelge 1.3. Flavonoidlerin iskelet yapı çeşitleri ve flavonoid örnekleri	8
Çizelge 1.4. Anti-oksidanların sınıflandırması	25
Çizelge 3.1. AChE yöntemi ile yapılan çalışmada kap içeriği	49
Çizelge 3.2. Esteraz aktivitesini ölçmek için her 1 mL'lik kuartz küvetinde kullanılan çözeltiler	51
Çizelge 4.1. Beyin ve göz dokularında karbonik anhidraz (CA) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerinin sonuçları.....	53
Çizelge 4.2. Beyin ve göz dokularında TAK sonuçları	62

1. GİRİŞ

Radyasyon hasarı, genellikle elektromanyetik radyasyon (radyo dalgaları, görünür ışık ve ultraviyole) ve iyonize edici radyasyon (α -parçacıklar, β -parçacıklar, protonlar ve diğer yüklü parçacıklar, X-ışınları ve gama ışınları) sonucu oluşan hücre, doku ve vücut yaralanması olarak tanımlanır. İyonize radyasyonun çarpıcı bir özelliği güçlü doku penetrasyonudur; İyonize radyasyon, nükleer silahlar vasıtasıyla oluşabileceği gibi tıbbi teşhis ve tedavi için kullanılan cihazlarca da üretilebilir. Radyasyon hasarı, her ne kadar radyasyondan koruyucu materyaller (fiziksel koruma) kullanılarak önlenbilse de, maruz kalmanın fiziksel olarak engellenemediği beklenmedik nükleer kazalar sonucu da oluşabilir. Ayrıca radyasyon tedavisi gören kanser hastalarında da maruziyet ortaya çıkabilir. Bu sebeplerden dolayı radyasyona karşı koruyucu materyallerin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Biyolojik makro moleküller (proteinler, nükleik asitler, lipitler ve karbonhidratlar) iyonize radyasyon ile zarar görebilir ve hasar sürecinde protein-DNA kompleksleri oluşabilir (Spotheim-Maurizot and Davidkova 2011).

Radyasyonun neden olduğu bu zararlı etkilerden hücreleri ve dolayısıyla canlıyı korumaya yönelik çalışmalar günümüzde çok popüler hale gelmiştir. Amifostin, radyasyona maruz kalmanın yol açtığı yaralanmaların azaltılması için Birleşik Devletler Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanan ilk sentetik radyokoruyucu ajandır. Amifostinin metaboliti olan WR-1065'in, iyonize radyasyonun neden olduğu genomik dengesizliği azalttığı belirlenmiş olsa da uzun vadede göstermiş olduğu yan etkilerden dolayı bu maddenin uzun süre kullanımı uygun görülmemektedir (Dziegielewski *et al.* 2008). Sentetik radyokoruyucu ajanların yan etkilerinin ortaya çıkması, doğal tıbbi kimyasallar üzerinde çalışan biyolog, kimyager ve farmakologların doğal radyokoruyucu ajanları bulmak için çaba sarf etmelerini sağlamıştır (Yun and Wang 2017). Çevresel faktörler ve yaşam tarzındaki değişiklikler popülasyonlarda kanser insidansını yükseltmiştir. Bu hastalığın tedavisinde radyoterapinin yaygın bir şekilde kullanımı söz konusudur. Radyasyon onkologları, tedavi sırasında radyoterapinin neden olduğu sağlıklı dokuya verilen hasarın en aza indirilmesine çalışırlar. Bunu yapabilmek içinse radyasyon koruyucu ajanların kullanımına gereksinim duyarlar. Kanser

hastalarının geri bildirimlerinden elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, bu koruyucu ajanların radyoterapi sırasında kullanımının, süreci olumlu yönde etkilediği görülmüştür (Yun and Wang 2017).

Özetle, doğal radyofarmasötik ajanların araştırılması, hastaların ihtiyaçlarını karşılamak ve tıbbi hizmet etmek için teorikte ve pratikte önem arz etmektedir. Reaktif oksijen türlerini (ROT) temizleme yeteneğine sahip doğal ürünlerin, radyokoruyucu ajanlara geliştirilebilir potansiyelleri bulunmaktadır. Çok sayıda bitki kaynağı da iyonize radyasyona karşı koruyucu materyal olma potansiyeline sahiptir.

Fitokimyasallar iyonize radyasyona karşı 4 farklı mekanizma ile karşı koyarlar. Bunların birincisi; Radyasyonun ürettiği farklı serbest radikal türlerinin süpürülmesidir: Biyolojik makromoleküller, suyun radyolizi sırasında reaktif oksijen türlerinin oluşumu tarafından tetiklenen serbest radikal zincir reaksiyonları ile zarar görebilir. DNA hasar onarım süreçlerinin çoğu enzime bağlı olsa da, polifenoller tarafından DNA hasarı onarım süreci enzimden bağımsızdır (Tan *et al.* 2009). Fitokimyasallar, antioksidan etki ile özellikle çeşitli serbest radikal türlerini *in vitro*'da temizleyerek radyasyona karşı koruma sağlarlar (Çizelge 1.1).

İkincisi demir iyonlarının şelatlanmasıdır: Demir (Fe^{3+}) iyonları indirgeyici maddelerin (C vitamini gibi) varlığında hem grubunun ayrışması sonucu salınır. Fe^{3+} daha sonra Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil ve süperoksit radikallerinin üretimiyle biyolojik makromoleküllere zarar veren Fe^{2+} 'ye dönüştürülebilir. Ancak, α -lipoik asitin, aşırı demir yüklenmesine neden olan radyasyon hasarına karşı koruma sağlayabileceği bildirilmiştir (Ali *et al.* 2015).

Çizelge 1.1. Fitokimyasalların serbest radikal türlerini *in vitro*'da temizleyerek radyasyona karşı koruması

Fitokimyasallar	Radyasyon Dozu	Hedef/hücre/doku	Radyasyon koruma mekanizması	Kaynak
Dehydrozingeron	8-10 Gy	Fare kemik iliği hücreleri/ Dalak hücreleri-Dalak	Elektron sağlayarak/ Reaktif nitrojen türlerini temizleyerek (RNT)	Parihar <i>et al.</i> (2007)
Apigenin	3 Gy	İnsan periferik lenfositleri	Hidroksil (OH.) radikalini temizleme	Begum and Prasad (2012)
Soya izoflavonu	2-10 Gy	Dalak hücreleri ve dalak	Süperoksit (O ₂ ⁻) serbest radikalini temizleme	Dixit <i>et al.</i> (2012)
Diekol	7-10 Gy	Dalak hücreleri ve dalak	Lipit peroksidasyonunu baskılayarak	Park <i>et al.</i> (2010)
Secoisolariciresinol diglucoside	50-200 Gy	Sığır timus DNA	Klorid radikalini temizleyerek	Mishra <i>et al.</i> (2016)

Üçüncüsü; fitokimyasalların *in vivo* antioksidan etkileridir: Birçok fitokimyasalın doğal antioksidan içeriğini arttırdığı bilinmektedir. DNA hasarını önlediği bildirilmiş olan koenzim Q10, birçok bitkinin membranında bulunabilen etkili antioksidanlardan birisidir. Koenzim Q10 içeriğini *in vivo* artıran bitki ekstraktları radyoprotektif aday olarak kabul edilir. (Schmelzer *et al.* 2012). Buna ilaveten, siyah üzüm suyunun, bitkilerde bulunan B6 vitamininin türevidir olan pridoksaminin, vitamin E'nin analogu olan γ -tokotrienolün, melatoninin, serotoninin, skualenin, *Hypericum perforatum* ve *Foeniculum vulgare* gibi birçok bitkiden elde edilen ekstraktların ve folik asitin çeşitli stres faktörlerine karşı farklı hayvan gruplarında *in vivo* olarak radyokoruyucu olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir (Yun and Wang 2017).

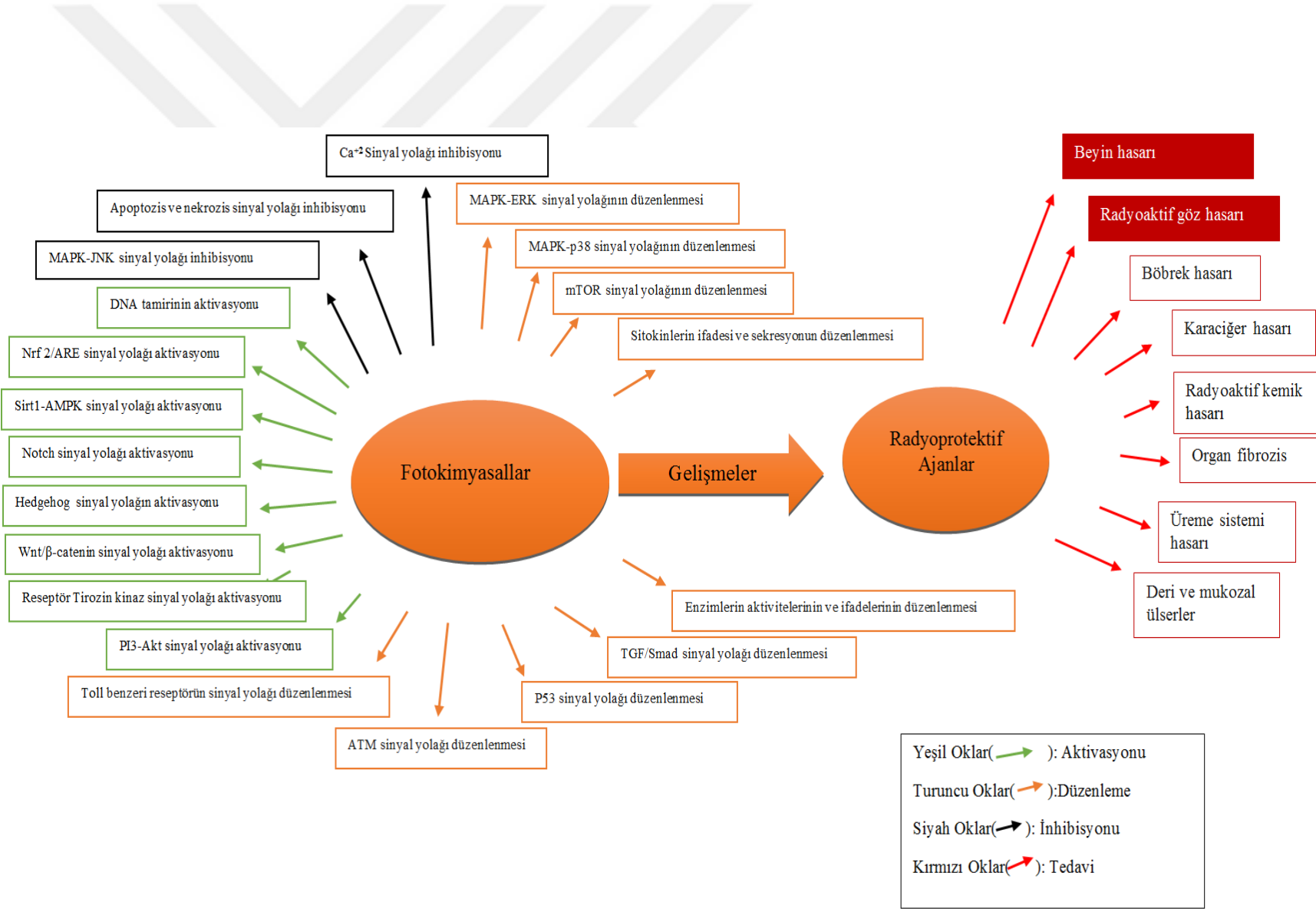
Dördüncüsü; antioksidan kapasiteye sahip bitkisel kaynaklı radyoprotektif adaylar: Bitkisel kaynaklı ekstraktlar veya biyoaktif bileşenler, H₂O₂ ve kuinoketone gibi pro-oksidanların neden olduğu oksidatif stres hasarını azaltabilir. Örneğin, askorbik asit çift

zincirli DNA kırıklarını önleyebilir (Lv *et al.* 2015). Bu aktif bileşenler radyokoruyucu adaylar olarak kabul edilebilir. Bitkilerden elde edilen ve antioksidan kapasiteli radyokoruyucu adaylar Çizelge 1.2'de gösterilmiştir. Bitkisel kaynaklı radyokoruyucu adayları vücudun antioksidan savunma kapasitesini ve radyasyon hasarı direncini arttırabilir; Vücudun antioksidan kapasitesinin arttırılmasının radyasyonun neden olduğu hasarı önlemede faydalı olduğu bildirilmiştir. Örneğin resveratrol, yumurtalıkta oksidatif hasara karşı koruyucu bir maddedir (Özcan *et al.* 2015).

Yaptığımız literatür taramalarına göre fitokimyasallar, sindirim sistemi, karaciğer, göz, beyin, böbrek, üreme sistemi, kemik ve deride radyokoruyucu etkiler göstermektedir. Ayrıca radyasyon kaynaklı mukozal ülserler, organ fibrozisleri (pulmoner fibrozis, karaciğer fibrozu ve renal fibrozis), göz yaralanmaları, kalp-vasküler endotelial ve kemik hasarları gibi durumlar, fitokimyasalların reaktif oksijen türlerini temizleme yetenekleri sayesinde iyileştirilebilmektedir. Bu iyileştirme özelliklerini çeşitli sinyal yollarını (ATM (=ataks-telanjekasi mutasyonu), p53, mitozu aktive eden protein kinaz (MAPK), PI3-Akt, mTOR, TLR ve sitokin reseptör, NF- κ B, Nrf2/ARE, Wnt/ β -katenin, Notch, Hedgehog, sirt1-AMPK, Hippo-YAP, ER stress, Ca²⁺ akışı, TGF/SMAD ve reseptör tirozin kinaz (VEGF, JAK-STAT, and IGF)) düzenleyerek; DNA onarımını teşvik ederek; telomeraz aktivitesini arttırarak; sitokin sekresyonunu düzenleyerek; apoptoz ve nekrozun düzenlenmesini sağlayarak; hücre döngüsünü düzenleyerek; ısı şoku proteinlerinin (HSP27, HSP70, HSP90 ve HSP25) ekspresyonunu düzenleyerek; enzim aktivitesini ve ifadesini düzenleyerek (oksijenazlar, anjiyotensin dönüştürücü enzim ve aromatazlar); geçici reseptör kanallarını inhibe ederek; transplant edilmiş kök hücrelerin aktivitesini düzenleyerek; psikolojik stresin azaltılmasını sağlayarak ve hormon salgısını düzenleyerek gerçekleştirmektedirler (Şekil 1.1). Bu mekanizmalar ile ilgili bilgiler çalışmamızın kaynak özetleri ve tartışma kısmında verilmiştir.

Çizelge 1.2. Antioksidan kapasiteye sahip bitkisel kaynaklı radyokoruyucu adaylar

Fitokimyasallar	Hasar maddesi	Hedef hücre/doku	Tamir etkisi	Tamir yoluğı veya mekanizması	Radyasyondan korunma olasılığı	Kaynak
Tanshone II-A	FeCl ₂ – DTPA	DNA, Protein	Karaciğer hücreleri üzerindeki serbest radikalın (SR) neden olduğı hasarı azaltır.	Serbest radikali (SR) süpürür, lipit peroksidasyonunu azaltır	Radyasyona bağı karaciğer hasarı	Cao <i>et al.</i> 1996.
Altın yağmur ağacı özü	H ₂ O ₂	DNA	H ₂ O ₂ 'ye karşı, pUC18/ timus DNA'sına bağı hasarı tamir eder.	SR'yi süpürür, DNA hasarına karşı korur.	Radyasyona bağı timus hasarı	Kumar <i>et al.</i> 2012.
Biberiye yağı	H ₂ O ₂ DMNQ	DNA, Protein	Testis hasarını korur.	SR'yi süpürür.	Radyasyona bağı testis hasarı	Slamenová <i>et al.</i> 2011.
<i>Pu-erh</i> siyah çay özü	Quinoketon	DNA	Karaciğer ve böbrek hasarını korur.	SR'yi süpürür.	Radyasyona bağı karaciğer ve böbrek hasarı	Wang <i>et al.</i> 2011.
<i>Cyperus rotundus</i> 'un (TOF) fraksiyonu	AAPH	Hücre membran lipitleri	İnsan eritrositlerinin AAPH kaynaklı hemolizine karşı korur.	Anti-lipit peroksidasyonu	Radyasyona bağı hemoliz	Kandikattu <i>et al.</i> 2015.
<i>Ugni molinea turcz</i>	HCIO	Hücre membran lipitleri, DNA	İnsan eritrositlerinin HCIO kaynaklı hemolizine karşı	Anti-lipit peroksidasyonu	Radyasyona bağı hemoliz	Suwalsky <i>et al.</i> 2007.
<i>Rosa laevigata michx</i> meyvesi.	H ₂ O ₂	İnsan göbek bağı endotel hücresi	İnsan umbilikal ven endotel hücrelerinde H ₂ O ₂ kaynaklı yaralanmayı azaltır.	Bcl-2 ifadesini yükseltir; Bak, Bax, Bid ve p53 ifadelerini azaltır.	Radyasyona bağı vasküler inflamasyon ve ateroskleroz hasarı	Jia <i>et al.</i> 2012.
İsocampneoside II	H ₂ O ₂	PC12 hücreleri	PC12 hücrelerinde H ₂ O ₂ kaynaklı yaralanmayı azaltır.	SR'yi süpürür, Anti-lipit peroksidasyonu.	Radyasyon ensefalopati	Si <i>et al.</i> 2013.
Mor havuç özü	ROT	Kolon mukozal hücreleri	Kolon mukozal hücrelerinde ROT hasarını azaltır.	SR'yi süpürür, Anti-lipit peroksidasyonu	Radyasyon kolitis	Olejnik <i>et al.</i> 2016
Dialil disülfid	Sigara içmek	Birincil insan osteoblastı	Birincil insan osteoblastlarını sigara dumanının yol açtığı hasara karşı korur	SR'yi süpürür.	Radyasyona bağı osteoporoz	Ehnert <i>et al.</i> 2012.
Resveratrol	HMGB1	Akciğer endotel hücreleri	Akciğer endotel hücrelerini korur ve kılcal geçirgenliğı azaltır.	HMGB1 salınımının ve HMGB1'in neden olduğı mitokondriyal oksidatif hasarın inhibisyonu, VE-kadherin ifadesini azaltır.	Radyasyona bağı endotelyal hasar	Dong <i>et al.</i> 2015



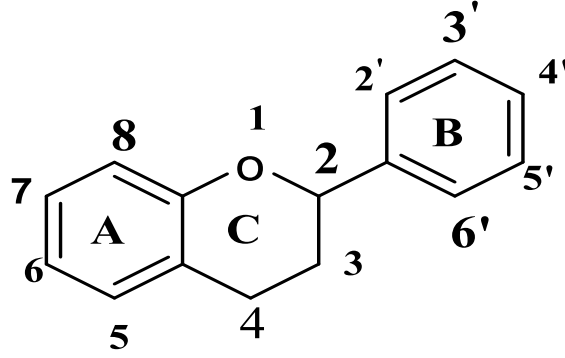
Şekil 1.1. Fotokimyasalların etkilediği sinyal yolları

1.1. Flavonoidler

Flavonoidler, farklı kimyasal yapıları ve özellikleri paylaşan polifenolik moleküllerin bir üyesi olarak hemen hemen her bitkide bulunan pigment bileşikleridir. Flavonoidler hücrede birçok fonksiyon gösterirken en başlıkları arasında kimyasal haberci, fizyolojik düzenleyici ve hücre döngüsünün inhibitörleri olarak görev almaları sayılabilir. Flavonoidlerin yüksek antioksidan etkisinin yanısıra yaşlanma, nörodejenaratif hastalıklar (parkinson, alzheimer), kanser, ateroskleroz gibi kardiyovasküler düzensizlikler, inflamasyon ve iskemik yaralanma gibi hastalıklar ile yakından ilişkili oldukları belirlenmiştir (Sghaiera *et al.* 2011). Flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler, antosiyanidinler, isoflavonlar, dihidroflavonoller ve kalkon'ları içeren ana flavonoid grubu içinde 4.000'den fazla farklı flavonoid tanımlanmıştır. Besleyici özelliğe sahip olmayan bileşikler olmaları sebebiyle vitaminlere benzetilirler (Cook and Samman 1996).

1.1.1. Flavonoidlerin yapısı

Flavonoidler sarı renklidirler. İsimlerini de latince 'sarı' anlamına gelen 'flavus' sözcüğünden almışlardır. Flavonoidler, erime noktaları yüksek, kristal yapılı maddelerdir. Suda, alkolde, seyreltik asitlerde ve bazlarda çözünürler. Asitlerdeki çözünürlük, γ -piran halkasındaki oksijen atomundan ileri gelmektedir (Guliyev and Harmandar 1999). Şekil 1.2'de genel bir flavonoid yapısı verilmiştir.

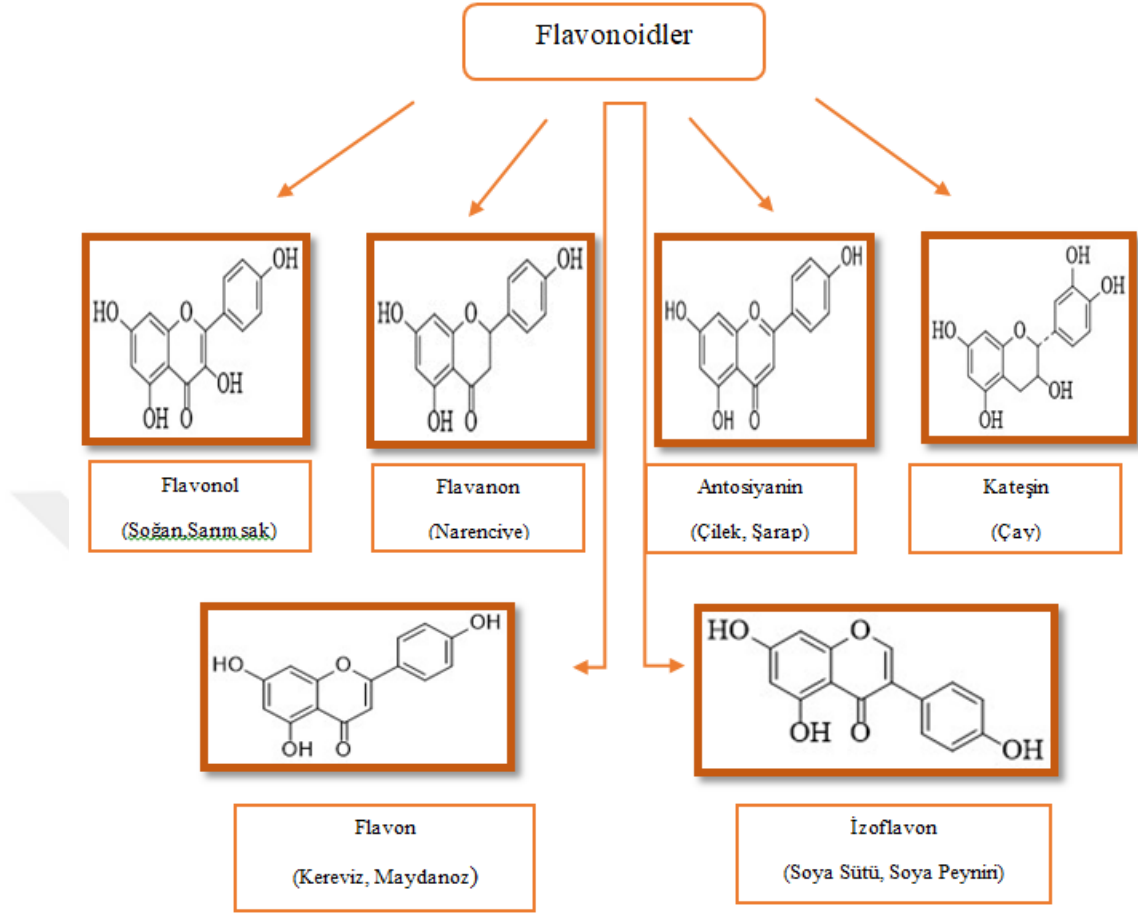


Şekil 1.2. Flavonoidlerin genel yapısı (Fenil benzopiron yapısı)

Flavonoidler, iskelet yapılarına göre 6 farklı kategoriye ayrılırlar.

Çizelge 1.3. Flavonoidlerin iskelet yapı çeşitleri ve flavonoid örnekleri

Flavonoidlerin iskelet yapı çeşitleri ve flavonoid örnekleri			
Flavon	Krisin	Apigenin	Luteolin
Flavonol	Kuersetin	Rutin	Kaempferol
Flavanon	Naringenin	Eriodiktol	Hesperedin
Flavanol	Katekin	Epikatekin	
Dihidroflavol	Taksifolin	Slibin	
Biflavonoid	Amentoflavon		



Şekil 1.3. Flavonoid çeşitleri ve diyetteki yeri

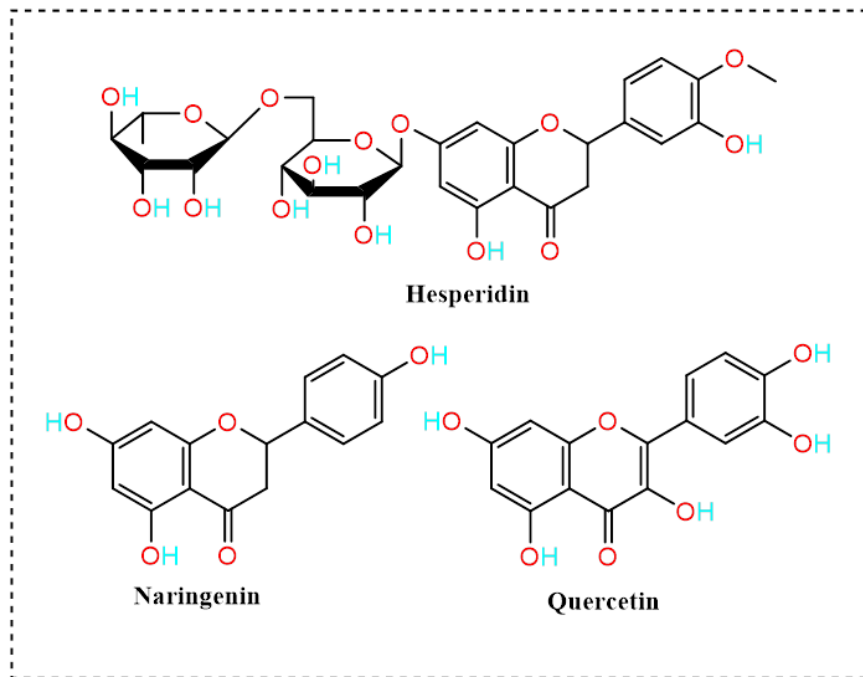
1.1.2. Flavonoidlerin etkileri

Flavonoidler lipofilik antioksidanlardır. İyi bir antioksidan olduğu kabul edilen α -tokoferol, membran fosfolipitlerinin ester karbonil gruplarıyla hidrojen bağı kurarak membranda yerleşirken flavonoidler, membranın polar yüzüne yakın bir bölgeye yerleşmektedir. Böylece flavonoidler, lipit peroksil radikallerine α -tokoferolden daha hızlı bir şekilde etki etmektedirler. Özetle membran içindeki serbest radikaller bu antioksidan mekanizma tarafından temizlenmektedirler (Kahraman *et al.* 2002). Flavonoidlerin lipid peroksit radikallerinin oluşumunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Flavonoidler, bunların dışında metal iyonlarını bağlayarak lipitlerin oksidasyonunu ve serbest radikallerin oluşumunda görev yapan enzim sistemlerini de inhibe edebilir (Fang 2007). Flavonoidler aynı zamanda çok güçlü antitümör ajanlardır. Antioksidan ve

antiproliferatif fonksiyonlarından dolayı apoptozisi indüklemeye, hücre farklılaşmasını ve hücre siklusunu değiştirerek düzenleme özelliklerine de sahiptirler (Sghaiera *et al.* 2011). Bu bileşikler, viral proteinlere bağlanarak onların replikasyonu ve hücre protein sentezini inhibe ederler. Ayrıca antiinflamatuar ve antitrombotik etki gösterirler (Stavric 1994). Flavonoidler, farklı bitki parçalarına renk ve lezzet vermelerinin yanı sıra çeşitli mikrobik patojenlere karşı dirençte önemli bir rol oynarlar. Ayrıca bitkileri radyasyona ve toksinlere karşı korurlar (Iranshahi *et al.* 2015). *In vitro* çalışmaların birçoğunda flavonoidlerin, memeli enzim sistemlerini inhibe ettikleri ya da indükledikleri gösterilmiştir (Hollman and Katan 1999; Erlund *et al.* 2001; Shimoda and Hamada 2008; Nalini *et al.* 2012).

1.1.3. Çalışmamızda kullanılan flavonoidler

Çalışmamızda kullandığımız hesperedin ve naringenin flavonoidlerin flavanon alt grubunda yer alırken kuersetin flavonol alt grubunun bir üyesidir. Şekil 1.4'te bu üç flavonoidin kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 1.4. Hesperidin, naringenin ve kuersetinin kimyasal yapısı

1.1.3.a. Hesperidin (=3,5,7-trihidroksi-4-metoksiflavon)

Hesperidin (Hsd), turunçgillerin başlıca flavonoididir ve ilk kez, 1827 yılında Lebreton tarafından turunçgil kabuğundan izole edilmiştir. Hsd molekülü, bir aglikon birimi, yani hesperetin (Hst) ve bir disakkarit, rutinozdan oluşur. Hsd, flavonoidlerin bir alt grubu olan flavanon bileşikleri içerisinde yer almaktadır. Molekül ağırlığı 610.565 g / mol'dur (Erlund *et al.* 2001). Molekülün kapalı formülü C₁₆H₁₄O₆'dır. Hsd ve Hst, antioksidan, antienflamatuar, antimikrobiyal, antikanserojen ve antialerjik etkiler gibi farklı aktivitelere sahiptir. Hsd ve Hst maddeleri bu geniş etki alanı nedeniyle biyoflavonoidler olarak da adlandırılır. Hsd ve Hst'nin bazı kemoterapi ilaçlarının neden olduğu toksisitelere karşı koruyucu etkileri geniş çapta araştırılmıştır [Roohbakhsh *et al.* 2014; Abdel-Raheem *et al.* 2009]. Bununla birlikte, Hsd ve Hst'nin, radyoterapinin neden olduğu çeşitli toksisitelere karşı koruyucu etkileri hakkında kapsamlı bir rapor bulunmamaktadır. Ancak Hsd'nin kolon, meme ve gastrointestinal sistem kanser türlerine karşı koruyucu etkisinin bulunduğu gösterilmiştir (Choi 2007; Ye *et al.* 2012; Zarebczan *et al.* 2011; Nalini *et al.* 2012).

1.1.3.b. Naringenin (=4',5,7trihidroksi-flavanon-7-ramnoglukozit)

Naringenin (Nrg), greyfurtta bulunan baskın flavanondur. Nrg, farmakolojik özelliklerinden dolayı antioksidan olarak kabul edilmektedir. *Cudrania cochinchinensis* var. *Geronatogea*'nın köklerinde, *Thymus herba barona*'nın toprak üstü kısımlarında, *Poncirus*, *Mabea fistulifera*, *Swartzia polyphylla* ve *Citrus* cinsinin türlerinin (*Citrus paradisi*, *Citrus sinensis*, *Citrus unshiu*, *Citrus nobilis*, *Citrus tachibana*, *Citrus junos*) ise meyvelerinde bolca bulunmaktadır. Çoğu flavonoid gibi, Nrg'nin de metal şelatlama, antioksidan ve serbest radikal süpürücü özellikleri ile mutagenез ve lipid peroksidasyonuna karşı bir koruma sağladığı bildirilmiştir (Jagetia and Reddy 2002). Ayrıca Nrg, antiproliferatif, antimitojenik, antikanserojen, antiaterojenik, antiülser etkilerinin yanı sıra hepatoprotektif ve nefroprotektif etkilere sahip olduğu da gösterilmiştir (Renugadevi and Prabu 2009).

Nrg, en önemli hidroksil radikali (OH.) oluşumu mekanizması olan demir-bağımlı Fenton reaksiyonunu inhibe ederek demir iyonlarını şelatlayabilir. Böylece de hidroksil radikali oluşumunu azaltabilir. Nrg aynı zamanda sahip olmuş olduğu lipofilik doğasından dolayı, hücre zarında serbest radikal oluşumunu indirgeyebilir ve böylece hücre zarını korur. Nrg'nin ratlarda kan-beyin bariyerini geçtiği gösterilmiş ve özellikle merkezi sinir sistemini etkilemek için de kullanılabileceği gösterilmiştir (Yi *et al.* 2010). Ayrıca Nrg'nin protein oksidasyonunu ve DNA hasarını indirgediğine yönelik çalışmalar da mevcuttur (Kannappan *et al.* 2010).

1.1.3.c. Kuersetin (=3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon)

Kuersetin (Kst) 3 halka ve 5 hidroksil grubundan oluşan flavonoidlerin en yaygın bulunanıdır (Kocabaş 2008). Kst, flavonol adı verilen flavonoid sınıfının bir üyesidir ve birçok flavonoidin temel omurgasını oluşturmaktadır. Kst, sarı renkli, tadı acı olan kristalize yapılı katı bir maddedir. Suda çözünmemekle birlikte alkolde kısmen çözünür ve asetik asit ve sulu alkali solüsyonlarda tam olarak çözünmektedir (Uylaş 2015). Greyfurt, soğan, elma, siyah çay, yaban mersini, ahududu, kiraz ve az miktarlarda yapraklı yeşil sebzelerde ve fasulyede bulunmaktadır (Gibellini *et al.* 2011). Flavonoidler içerisinde vücudu ROT lara karşı korumada en güçlü antioksidan özelliği bulunan moleküldür. Kst'nin serbest radikallerle ilgili etki mekanizmaları oldukça çeşitlilik göstermektedir. Kst'nin hidroksil radikali (OH.), peroksil ve süperoksit anyona karşı diğer flavonoidlere karşılaştırıldığında maksimum seviyede anti-radikal özellik sergilemektedir (Chow *et al.* 2005). Bu özelliklerinin yanısıra lipit peroksidazını engelleyerek hücre zarını korur (Groot *et al.* 1998). Demir ve bakır gibi geçiş metallerini şelatlar, laktat transportunu engeller, C vitamini absorpsiyonu artırır (Formica *et al.* 1995). Kst'nin antioksidan aktivitesi dışında, hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi, LDL oksidasyonunun korunması, platelet agregasyonunun engellenmesi ve apoptosisin indüklenmesi gibi çeşitli etkileri de bulunmaktadır (Chow *et al.* 2005). Kst'nin, bazı enzimleri inhibe etme özellikleri de gösterilmiştir. Örneğin, canlılarda kalsiyumu düzenleyen enzimler olan kalmodulin bağımlı ATPazlar veya

fosfolipazları inhibe ederek araziidonik asit metabolitlerinin seviyesinde azalmasına yol aarak membran permeabilitesini etkilemektedir (Yoshimoto 1983).

Hsd, Nrg ve Kst'nin antioksidan, antiproliferatif, antimutajenik, antikanserojen, antiaterojenik, antiülser, hepatoprotektif ve nefroprotektif özelliklerin varlığı, bu flavonoidlerin radyoprotektif potansiyellerini değerlendirmemiz için bizi ratlarda göz ve beyin dokuları için teşvik etti. Bu nedenle, bu çalışmada, tüm vücut 10-15 Gy -ışını farklı dozlarda maruz bırakılmış farelerin göz ve beyin dokularındaki etkileşimleri gerçekleştirilmiştir.

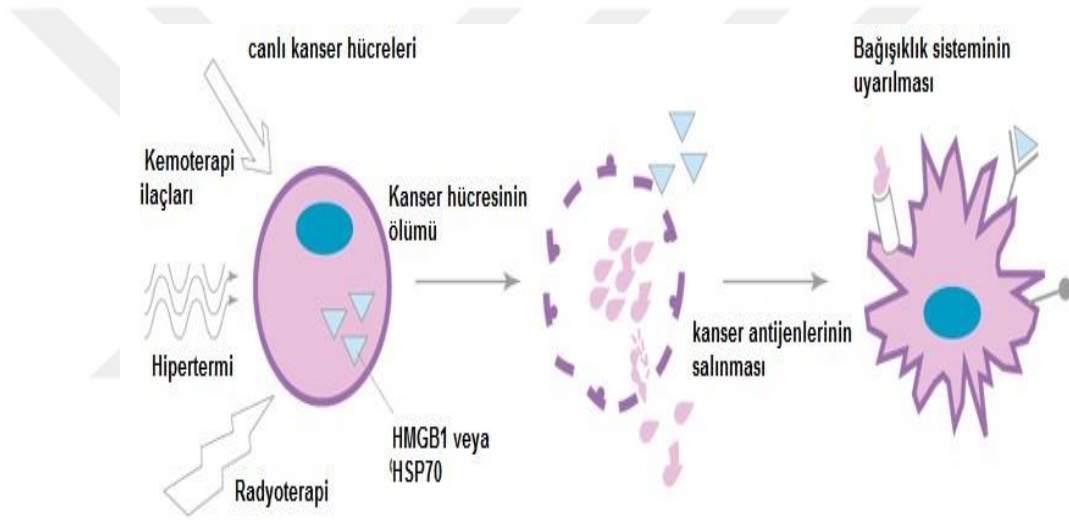
1.2. Radyoterapi ve Radyo-koruyucu Ajanların Kullanımı

İyonlaştırıcı radyasyon (x-ışınları, gama ışınları, elektron veya protonlar gibi yüksek enerji partiküllerin veya dalgaların elektriksel hareketi sonucunda ortaya çıkan akımı) tek başına ya da diğer tedavi yöntemleri (cerrahi, kemoterapi, immunoterapi vs.) ile kombine bir şekilde uygulanarak kanser ve kanser dışında ki birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilir. Radyoterapi, terapötik radyasyonun organizma üzerindeki biyolojik ve fiziksel temelini araştırıldığı bir bilim dalıdır (Dirican 2001). Radyoterapide amaç; organizmada kanserli doku dışında kalan sağlıklı dokuyu yüksek seviyede korumayı sağlamak ve kanserli dokuya yüksek dozda iyonize radyasyon vermektir. Radyoterapide, kanserli dokuya verilen doz seviyesindeki bir miktar artış sağlıklı dokuda bir takım komplikasyon riskini de beraberinde getirir. Bundan dolayı tümörün kontrolü, organizmada radyoterapi verilen sağlıklı dokunun radyoterapiye karşı gösterdiği toleransa (=radyosensitivite) bağlıdır (Hall 2000). Radyosensitivite, hücrelerin iyonize radyasyona maruziyetine karşı verdiği yanıtı göstermektedir. Hücresel yanıt ise klonojenik hücrelerin başlangıçtaki popülasyonun %37'sini öldürmek için gereken doz miktarı olarak tanımlanmaktadır.

Radyoterapide kullanılan radyasyonlar yapılarına göre iki gruba ayrılır; Birincisi, dalga şeklindeki radyasyonlardır. Bunlar, belli bir enerji seviyesine sahip ancak kütlesi olmayan radyasyonlardır. Bu gruptaki radyasyonlar, titreşim hareketi yaparak ilerleyen

elektrik ve manyetik enerji dalgalarıdır. Bunlar x-ışınları, α -ışınları, β -ışınları, γ -ışınları vb. olarak sınıflandırılabilirler. İkincisi, Parçacık şeklindeki radyasyonlardır. Bunlar, belli bir enerji ve kütleyle sahip olan çok hızlı hareket edebilen minik parçacıklardır. Bunlar ise atom altı parçacıklar (proton, elektron ve nötron) olarak isimlendirilirler (Dirican 2001).

İyonlaştırıcı radyasyon iki şekilde etki eder. Bunlardan ilki hücrenin direkt olarak ölümüne sebep olurken diğeri ise hücreye indirekt olarak etki etmektedir.



Şekil 1.5. Radyoterapinin hücreye etkisi (Milani 2006)

İndirekt etki mekanizmasında iyonize radyasyon ortamda bulunan su moleküllerini iyonize ederek serbest radikaller üretilmesine yol açar. Oluşan serbest radikaller, antioksidan sistemleri tarafından etkisiz hale getirilemezlerse organizmada bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi makromoleküllere etki ederler. Bunun sonucunda da lipit peroksidasyonu, monosakkarit oksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı sonucu oluşan ürünlerin miktarı artar (Sezen *et al.* 2008).

γ -radyasyona maruziyet planlı (radyoterapi) veya plansız (nükleer savaş, nükleer kazalar) bir şekilde meydana gelebilir (Parihar *et al.* 2007). Hücresel düzeyde γ -ışınlanması, oksidatif stres veya reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı üretimini

tetikleyebilir ve çeşitli organlarda DNA, proteinler, lipidler ve karbonhidratlar gibi biyolojik olarak önemli makromoleküllere zarar verebilir buda kanser, artheroskleroz, yaşlanma ve diyabet gibi birçok hastalığın etiolojisinde rol oynar (Dixit *et al.* 2012). ROT üretiminin artması durumunda, hücresel bileşenler oksidatif hasara uğrar ve buda vücudun antioksidan savunma mekanizmalarının çökmesiyle sonuçlanır (Weissberg and Fisher 1981). Bazı organlarda hasar erken dönemde gözlenirken, hücre kinetiğine ve dokuların radyasyon toleransına bağlı olarak hasarın ortaya çıkışı farklılık gösterebilir (Jagetia *et al.* 2002).

Teknolojideki gelişmelere rağmen radyoterapinin yan etkilerinden tamamen kurtulmak mümkün olmamıştır. Bu yan etkilerin belirtileri ve düzeyleri, radyoterapi alan organ veya dokuya göre değişiklikler gösterir. Radyoterapinin yan etkileri arasında: Deri ve yumuşak dokuda hasar ve anormaliler, radyoterapi alan organ ve dokuda fonksiyonel bozukluklar, radyoterapi alan organ ve dokuda kalıcı hasarlar, biyokimya, hemogram gibi kan testlerinde bozulma ve yorgunluk, bitkinlik, halsizlik gibi bir takım semptomlar gözlenebilir (Irmey 2005). Bu yan etkileri ve radyasyonun olası etkilerini en aza indirebilmek için radyasyon koruyucu ajanların kullanımı kanser hastalarının sonuçlarını ve radyoterapi sürecini olumlu yönde etkileyebilmektedir.

Son yıllarda, bazı sentetik bileşiklerin (amifostin vb.) radyokoruyucu etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Ancak, bu sentetik bileşiklerin sahip oldukları toksisiteleri nedeniyle tıpta veya tehlikeli radyasyon ortamlarında kullanılmaları sınırlı kalmıştır (Dziegielewski *et al.* 2008). Yine bunların etkili olan dozları oral yoldan verilememektedir (Lata *et al.* 2009). Bu nedenlerle, daha az toksik radyo-koruyucu madde arayışı, özellikle doğal olan farklı bileşiklerin araştırılmasına olan ilgiyi artırmıştır. Aslında, radyasyon hasarına karşı koymak için radyo koruyucu ajanların araştırılması bir zorunluluktur. Bu nedenle, radyasyona maruz kalmadan önce radyo koruyucu kullanım araştırmaları en öncelikli çalışma alanlardan biri olarak tanımlanmıştır. Radyo koruyucu ajanlar, nükleer enerji tesisinin veya radyasyon yayan diğer cihazların neden olduğu radyasyondan korunmak için kullanılabilecekleri gibi güneş ışınlarına maruz kalmanın zararlarını en aza indirmek veya önlemek amacıyla da

kullanılabilirler. Ayrıca, radyo koruyucular, radyasyon tedavisine maruz kalan hastalarda ve radyoterapiyi uygulayan kişilerde koruma sağlamak için kullanılabilir. Yaptığımız literatür taramaları neticesinde, bitki polifenollerinin (özellikle flavonoidler) ve triterpenoidlerin antioksidatif, nöroprotektif, radyoprotektif ve anti-enflamatuar etkiler sergilediklerini göstermiştir (Zhang *et al.* 2008; Dixit *et al.* 2012).

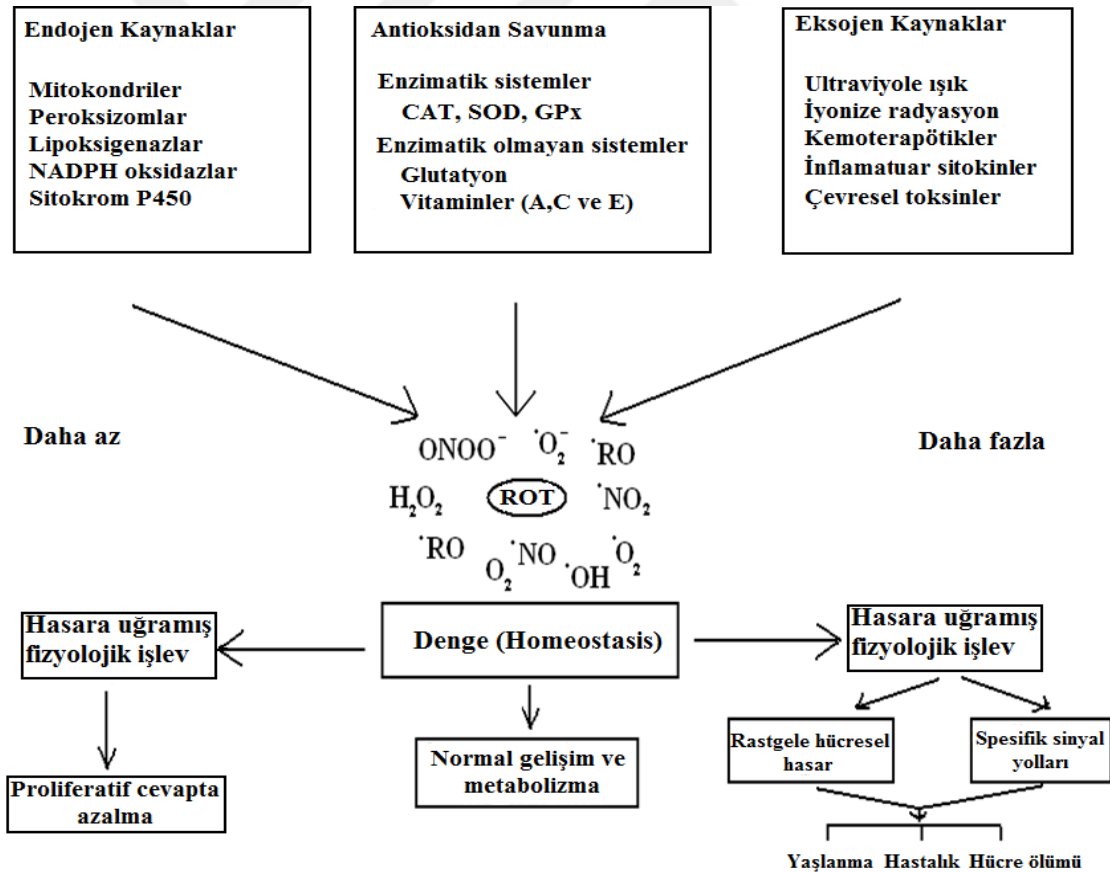
1.3. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi

1.3.1. Serbest radikaller

Yapılarında eşleşmemiş elektron içeren atom ya da moleküller, serbest radikal ya da reaktif metabolit olarak adlandırılmaktadır (Kopáni *et al.* 2006). Oksijenli solunum yapan canlılar yüksek konsantrasyonlarda oksijene maruz kaldıklarında, oksijen bu canlılara toksik etki yapar. Bu toksisitenin asıl nedeni, oksijenin serbest radikallere indirgenmesidir (Frank 1985). Serbest radikaller, vücutta metabolizma sonucu doğal olarak oluşabilen oldukça etkin kimyasal bileşiklerdir. Canlılardaki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir ve bunlara reaktif oksijen türleri (ROT) denir. Eğer bu radikaller nitrojen kaynaklı iseler reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak adlandırılırlar (Gülbahar 2007).

Serbest radikaller hücrelerin normal metabolik yollarının yan ürünü (endojen) olarak meydana geldiği gibi, çeşitli dış faktörler (eksojen) aracılığıyla da meydana gelebilmektedir. Endojen kaynakları, hücrenin kendi mitokondri ve peroksizomları, NADPH oksidazları, lipoksigenazları, ve sitokrom P-450'yi olarak sayabiliriz. Eksojen kaynaklarda ise virüsler, enfeksiyonlar, stres, kaygı, fosil yakıtların yanması sonucu açığa ürünler, parakuat, alloksan gibi maddelere maruz kalma, birçok ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliğine sebep olan maddeler, haşere kontrol ilaçları, sigara dumanı, çözücüler gibi çevresel faktörler, antineoplastik etken maddeler, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler ön plana çıkmaktadır (Özdem ve Sadan 1994).

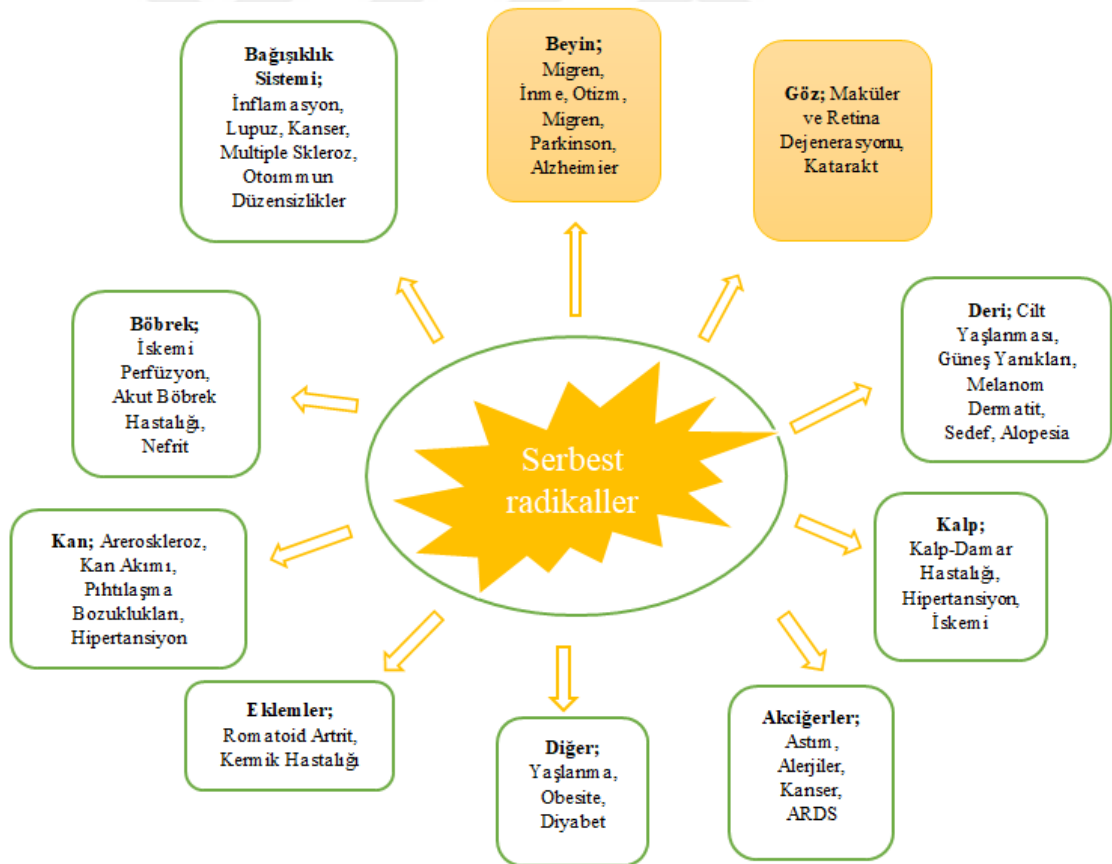
Canlılarda ROT ve RNT'nin meydana gelmesinin temel nedeni ksenobiyotikler ve ksenobiyotiklerin biyoaktivasyonu sonucu oluşan ürünlerdir. Biyolojik sistemlerdeki ROT ve RNT ler arasında süperoksit anyonu ($2O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (HO^{\cdot}), nitrik oksit (NO^{\cdot}), peroksil radikali (ROO^{\cdot}), ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) sayılabilir (Babior 2000). Oksijen molekülü 1 elektron indirgendiğinde süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), 2 elektron indirgendiğinde hidrojen peroksit (H_2O_2), 3 elektron indirgendiğinde ise hidroksil radikali oluşmaktadır (OH^{\cdot}). Süperoksit elektromanyetik radyasyona maruz kaldığında moleküler oksijen ile birleşip singlet oksijeni (1O_2) oluşturmaktadır (Ekici ve Sağdıç 2008). Şekil 1.6'da serbest radikal oluşum mekanizmaları ve bu radikallerin ortadan kaldırılması ile ilişkili antioksidan savunma mekanizması görülmektedir.



Şekil 1.6. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma mekanizması

Serbest radikallerinin, çok farklı doku, organ ve sistem üzerinde etkili olduğu ve birçok hastalık ile ilişkisi tespit edilmiştir. Bu doku/organ/sistem-hastalıkları şu şekilde sıralayabiliriz:

Beyin-alzheimer, parkinson, migren, inme, otizm; Göz-maküler dejenerasyon, retina dejenerasyonu, katarakt; Kalp-hipertansiyon, iskemi, katater arter hastalığı; Akciğerler-astım, alerjiler, kanser; Böbrekler-iskemi reperfüzyon, nefrit, akut böbrek hastalığı; Kan-ateroskleroz, pıhtılaşma bozuklukları, hipertansiyon; Deri-cilt yaşlanması, güneş yanıkları, dermatit, melanom, sedef, vitiligo; Bağışıklık sistemi-inflamasyon, otoimmün sorunlar, multipl skleroz, kanser, pemfigus; Eklemler-romatoidartrit, osteoartrit; Diğer-yaşlanma, obezite, şeker hastalığı.



Şekil 1.7. Serbest radikallerin etkili olduğu doku, organ ve sistemler ile ilişkili bulunduğu hastalıklar

1.3.2. Oksidatif Stres

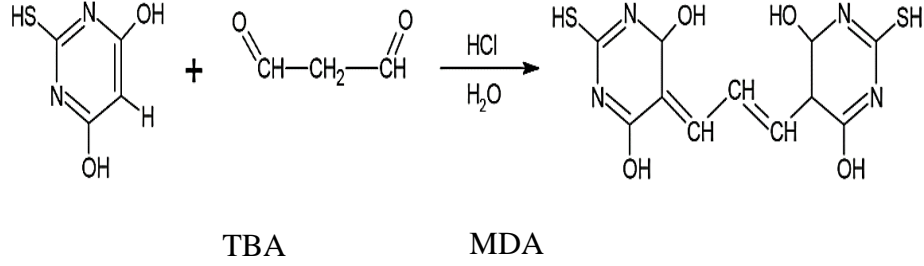
Organizmalar hücre seviyesinde genellikle oksidatif denge halindedir. Yani, serbest radikallerin yapım hızı ile bunların temizlenme hızı bir denge halindedir. Oksidatif denge devam ettikçe organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Hücrede bu serbest radikallerin miktarı arttığında ya da temizlenme hızında bir azalma olması durumunda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi arasındaki denge serbest radikaller lehine kayar. Böylece oksidatif stres oluşur ve sonuçta doku hasarına yol açılır (Mercan 2004). Organizmada özellikle nötrofil ve makrofaj gibi bağışıklık sistemi hücreleri için serbest radikal miktarının artması işlevsel açıdan gerekli ise de genel olarak düşünüldüğünde serbest radikal artışı ve bunların ortadan kaldırılamaması bağışıklık sistemi hücrelerinin dışında kalan hücreler için oldukça tehlikelidir (Halliwell *et al.* 1992).

1.3.3. Oksidatif stresin biyolojik etkileri

Serbest radikaller ortadan kaldırılmaz ise: i) Hücre membranda yer alan lipit ve proteinlerin yıkımına sebep olarak hücre membranının fonksiyonlarını yerine getirememesine yol açar. Buda hücrenin ölümüyle sonuçlanabilir. ii) Çekirdekdeki DNA'ya etki ederek DNA'yı mutasyonlara karşı açık hale getirebilir. iii) İmmünsistem hücrelerini etkisiz hale getirerek bağışıklık sistemin de bir takım düzensizliklere sebep olabilir (Dündar ve Aslan 2000). Oksidatif stres tüm hücre bileşenlerine zarar verir. ROT saldırısına uğrayan en önemli hedef moleküller, hücre zarındaki lipit çift tabakada yerleşmiş bulunan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA; "poly unsaturated fatty acids"), DNA ve proteinlerdir. PUFA'lar OH[·] radikali tarafından etkin bir şekilde hasara uğratılır ve böylece lipit peroksidasyon süreci başlar. Sonuçta hücre zarının iletkenliğinde ve seçiciliğinde bozulma olur ve metabolizma aksar. Hem çekirdek DNA'sı, hem de mitokondriyel DNA, ROT'ların saldırısına uğrar ve sonuçta çoğunlukla baz hidroksilasyonları ve zincir kırıkları meydana gelir. OH[·] radikali DNA'da modifikasyona yol açan başlıca ROT'dur.

1.3.3.a. Oksidatif stresin lipitler üzerine etkisi

Biyomoleküllerin neredeyse tamamı serbest radikallerden etkilenmektedir. Ancak hücre membranı daha çok lipit tabakası (poliansatüre yağ asitlerinde/doymamış yağ asiti) içerdiğinden reaktif oksijen türlerine en fazla hassas olan biyomolekül lipitlerdir (Cheeseman and Slater 1993). ROT'lar membran da bulunan PUFA'lar da oksidasyona sebep olarak lipit peroksidasyonunu (LPO) başlatırlar (Gupta *et al.* 2014). LPO, oldukça zararlıdır çünkü başladıktan sonra zincir reaksiyonu şeklinde devam eder. Bu reaksiyon zinciri; fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterollerin yapısında bulunan poliansature yağ asitlerinin ROT'leri ile etkileşime girmesi sonucunda alkol, aldehit, hidroksi asit, etan ve pentan gibi birçok metabolite dönüşümünü sağlar (Gutteridge and Halliwell 1990). Bu kimyasal etkileşim, organizmada oluşan oksitleyici etkisi olan serbest radikalın poliansature yağ asidinin zincirinde bulunan α -metilen gruplarından H atomunun çıkarılmasıyla başlar (Uysal 1998). H atomunun çıkarılması sonucunda oluşan lipid radikalleri oto-oksidasyona neden olur. Bu da LPO'nun zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemesini sağlamaktadır. LPO sonucunda oluşan hasar geri dönüşümsüzdür. LPO, doğrudan membran yapısını oluşturan bileşenlerine veya dolaylı olarak reaktif aldehitler üreten diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece sayısız hastalıklara, hücrenin fonksiyon bozukluklarına ve doku hasarına sebep olur. LPO'nun son basamağında oluşan Malondialdehit (MDA) en önemli üründür. MDA, üç ya da daha fazla bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşur. MDA; membran bileşenlerinin polimerizasyonu, çapraz bağlanması, iyon transportu, enzim aktivitesi, hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi özelliklerini değiştirebilir. Ayrıca hücre membranından kolayca geçerek DNA'nın azotlu bazları ile tepkimeye girip ve zincir kırıkları oluşturabilir (Akkuş 1995). MDA, yağ asidi oksidasyonun indikatörü değildir. Ancak lipit peroksidasyonu ile iyi bir korelasyon gösterir. Bundan dolayı organizmada oluşan lipit peroksidasyon düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, genellikle kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem MDA ile tiyobarbitürik asitin (TBA) tepkime reaksiyonu vermesi sonucu pembe renkli bir kompleks oluşturur (şekil 1.8). Oluşan bu çözeltinin absorbans değerleri LPO'nun düzeyini belirlemede kullanılır (Yılmaz and Bahçecioğlu 2000).



Şekil 1.8. TBA'nın MDA ile reaksiyonu

1.3.3.b. Oksidatif stresin proteinler üzerine etkisi

Proteinlerde meydana gelen oksidatif hasarlardan bazıları; (i) Yan zincirlerin karbonil bakiyelerinde oksidasyon, (ii) Geri dönüşümsüz peroksiredoksin inaktivasyonu, (iii) Metiyonin sülfoksit oluşumu, (iv) S-nitrolizasyon, (v) Süperoksit radikali tarafından Fe-S kümelerinin bozulması, (vi) Glutatyonilasyon ve nitrasyon gibi olaylardır. Proteinlerdeki hasarlar, bağlanma ve enzim aktivitelerinin inhibisyonu, agregasyon ve proteolize karşı aşırı duyarlılık, madde alış-verişinde değişim, hücre immünogenetiğinin değişimi gibi sonuçlar doğurur. Proteinler, lipitlere göre serbest radikallere karşı daha az hassastır. Zarar verici reaksiyonlar lipitlere göre daha yavaş ilerler. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme derecesi aminoasit (a.a) kompozisyonuna bağlıdır (Akkuş 1995). Oksidatif hasarın hücredeki proteinleri etkilemesiyle başlıca şu hastalıklar ilişkili bulunmuştur. Alzheimer hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz (ALS), diyabet, katarakt, koroner kalp hastalığı, kronik akciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği ve üremi, kronik hepatit C, kistik fibroz, mesane kanseri, parkinson hastalığı, polikistik over hastalığı vb.

Oksidatif hasar, hem protein omurgası hem de aminoasit yan zincirlerinde ve genellikle de birçok noktada meydana gelmektedir (Davies 2012). Aminoasitler, peptitler ve proteinlerden H atomunun çıkarılması, e⁻ transferi, e⁻ eklenmesi, dağılma ve yeniden düzenlenme, dimerizasyon, dismutasyon ve yer değiştirme tepkimeleri gibi çeşitli reaksiyonlar ile ROT'lara maruz kalabilmektedirler (Davies 2012). Bu maruziyet ROT

ile direkt olabileceği gibi oksidatif stresin ikincil metabolitleri ile reaksiyonu sonucu indirekt olarak da meydana gelebilir (Rao and Moller 2011). Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları; (i) enzim aktivitesinde azalma, (ii) proteinlerin yapı ve işlev kaybı, (iii) proteaz inhibitör aktivitesinin kaybı, (iv) protein agregasyonu, (v) proteolize artmış/azalmış yatkınlık, (vi) reseptör aracılı endositozun bozulması, (vii) gen transkripsiyonundaki bir takım bozulmalar, (viii) immünojen aktivitedeki artış şeklinde sıralanabilir (Kalousova *et al.* 2002). Proteinlerin yapısında değişikliklere sebep olan moleküler mekanizmalar; metal katalizli protein oksidasyonu ile karakterize olan protein karbonil (PCO) oluşumu, protein tiyol (P-SH) gruplarındaki kayıp, 3-nitrotirozin (3-NT), ditirozin (diTyr) oluşumu şeklinde sıralanabilir.

1.3.3.c. Oksidatif stresin karbonhidratlar üzerine etkisi

Serbest radikaller, karbonhidratlar üzerine etki ederek organizmada bir takım bozukluklara veya düzensizliklere sebep olurlar. Bu hasara sebep olan mekanizmaya monosakkarit oksidasyonu denilmektedir. Monosakkarit oksidasyonu sonucunda ROOH, H₂O₂ ve okzoaldehytler oluşur (Akkuş 1995). Okzoaldehytler; DNA, RNA, ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme yeteneklerinden ötürü antimitotik etki gösterirerek kanser gelişimi ve yaşlanma sürecinde önemli rol oynamaktadırlar. Karbonhidratlar proteinlere bağlanarak, onları serbest radikal hasarına karşı daha dayanıksız yaparlar. Bundan dolayı da hormonal ve nörotransmitter yanıtlarda rol oynayan hücre reseptör işlev ve aktivitelerinde bir takım değişiklikler meydana gelmektedir (Aybey vd 1996). Karbonhidrat oksidasyonu ile ilişkili olan hastalıklar arasında; Katarakt oluşumu, yaşlanma, ölüm, eklem hastalıkları, kanser oluşumu, alzheimer hastalığı vb. sayılabilir.

1.3.3.d. Oksidatif stresin nükleik asitler üzerine etkisi

Bir insan hücresi günde ortalama 1.5×10^{15} kez serbest radikaller tarafından oksidatif saldırıya maruz kalır. Özellikle hidroksil radikali, DNA molekülü ile reaksiyona girerek hem pürin hem de pirimidin bazları ile deoksiriboz iskeletinde hasarlara neden olur.

Genetik materyalde oluşan bu kalıcı değişimlerin mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmada ilk basamaklar olduğu rapor edilmiştir (Willcox *et al.* 2004). Çeşitli kanser dokularında serbest radikal maruziyeti sonucu oluşmuş DNA hasarları gözlenmiştir. DNA'nın oksidasyonu sonucu oluşmuş olan 100'den fazla ürün tespit edilmiştir. Reaktif oksijen metabolitleri DNA'da tek veya çift zincir kırıklarına, pürin, pirimidin bazlarında ve deoksiriboz şekerde modifikasyonlara ve zincirler arasında çapraz bağlanmalara neden olarak genetik hasar oluşturmaktadır. Genetik hasar sonucu, genomik kararsızlık, replikasyon hataları, transkripsiyon ve haberleşme mekanizmalarında aksamalar gibi kanser oluşumu ile ilgili olan pek çok durum ortaya çıkabilmektedir. Özellikle guanin bazı oksidasyona en yatkın baz çeşididir ve guanin bazı okside olduğunda 8-hydroxy-2'deoxyguanosin (DNA'dan), 8-hydroxyguanosine (RNA'dan) ve 8-hydroxyguanine (hem DNA hem de RNA'dan) formları oluşur. Bu okside formların miktar tayini yapılarak DNA/RNA oksidatif hasar tayini yapılabilmektedir.

Organizmada, serbest radikaller tarafından ortaya çıkan toksisite yine organizmada bulunan antioksidan savunma sistemleriyle etkisiz hale getirilebilirler. Organizmada bulunan bu savunma sistemi oksidatif hasar oluşumuna sebebiyet veren çoğu oksidana karşı savunma oluşturur. Bu savunma sistemi oldukça hızlı ve etkili bir şekilde çalışan koruyucu mekanizmadır (Cihan vd 2011).

1.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu inhibe edebilir. Özellikle serbest radikallerin hücrede meydana getirdiği oksidatif hasarı engellemek ve detoksifikasyonu sağlamak için vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilmektedir (Şener ve Yeğen 2009). İnsanda bulunan antioksidanlar vücut tarafından doğal olarak üretilebildikleri gibi dışarıdan hazır olarak alınabilmektedirler. Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar şeklinde sınıflandırılabilir gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar şeklinde de sınıflandırılabilir (Çizelge 1.4).

Çalışmamızda endojen antioksidan enzim olan Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutatyon peroksidaz (GSHPx) aktivitesi incelenmiştir.

1.4.1. Antioksidanların etki mekanizmaları

Antioksidanların etki mekanizmaları dört başlık altında toplanabilir. Bunlar; toplayıcı, bastırıcı, zincir kırıcı ve onarıcı etkidir.

- (i) Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini şelatlanması (tutuklanması) ya da onların daha zayıf yeni moleküllere çevirerek aktivitesini gösterir. Küçük moleküller, trakeobronşial mukus ve antioksidan enzimler toplayıcı etkiye örnek olarak gösterebilir.
- (ii) Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşime girerek, onlara bir hidrojen atomu ekleyip aktivitelerini azaltabilir ya da onları inaktif hale dönüştürebilirler. Flavonoidler ve vitaminler, antosiyanoidler bastırıcı etkiye sahiptirler.
- (iii) Zincir kırıcı etki: Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini bağlayıp onların bağlarını (zincir) kırarak fonksiyonel özelliklerini inhibe ederler. Hemoglobin, mineraller zincir kırıcı etkiye sahiptirler.
- (iv) Onarıcı etki: Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarın giderilmesi yönünde etki gösterirler.

Çizelge 1.4. Anti-oksidanların sınıflandırması

Endojen Antioksidanlar		Eksojen Antioksidanlar	
Enzim olan endojen antioksidanlar	Enzim olmayan endojen antioksidanlar	Vitamin eksojen antioksidanlar	İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Melatonin	a-tokoferol (vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
Glutasyon peroksidaz (GSHPx)	Seruloplazmin	β-karoten	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
Glutasyon S-Transferaz (GST)	Transferin	Askorbik asit (vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)	Miyogloblin	Folik asit (folat)	Trolox-C (vitamin E analogu)
6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD)	Hemoglobin		Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
Glutasyon redüktaz (GR)	Ferritin		Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
Katalaz	Bilirubin		Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi	Glutasyon		Nötrofil adezyon inhibitörleri
Hidroperoksidaz	Sistein		Sitokinler (TNF ve IL-1)
	Metiyonin		Barbitüratlar
	Ürat		Demir şelatörleri
	Laktoferrin		
	Albümin		

1.4.1.a. Süperoksit dismutaz (SOD)

Bir metalloprotein olan süperoksit dismutaz 1968'de keşfedilmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturan enzimdir (Sen and Chakraborty 2011). Bu enzim, süperoksit serbest radikalının ($O_2\cdot^-$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşüm reaksiyonu katalizleyen antioksidandır (Akkuş 1995).

SOD



Bu reaksiyonda SOD olmasa da nonenzimatik olarak tepki gerçekleşir. Ancak reaksiyon hızında 1/1000 oranında azalma görülmektedir. Belirli bir süre sonra ortamda bulunan H_2O_2 , katalaz ya da glutatyon peroksidaz enzimleri aracılığıyla uzaklaştırılır (Young and Woodside 2001). Ayrıca SOD peroksinitrit oluşumunu inhibe eder. İnsanda SOD'un, Cu-Zn (Bakır-çinko), Mn (mangan) içeren ve ekstrasellüler (EC) olmak üzere 3 formu bulunmaktadır.

Cu-Zn SOD, 32 kDa molekül ağırlığında, iki eşit alt üniteden oluşmaktadır. Bu ünitelerin her biri birer Cu ve Zn atomu içerir (Mruk *et al.* 2002). Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, siyanidle inhibe edilebilir.

Mn-SOD, 80 kDa molekül ağırlığında, mitokondriyal bir enzim olup dört eşit alt birimden oluşmaktadır. Aktif bölgesinde Mn^{+3} bulundurmaktadır. Bu farklılıklara rağmen Cu-Zn SOD ile aynı reaksiyonu katalizlemektedir (Orbea *et al.* 2000). Mn-SOD siyanidle inhibe olmaz.

EC-SOD, 135,000 kDa moleküler ağırlığında enzim organizmalarda homotetramer formda bulunabildiği gibi, tetramer, dimer ya da multimer formlarda da bulunabilmektedir. EC-SOD, her bir alt biriminde Cu ve Zn atomu taşır. Çünkü bu atomlar enzimatik aktivite için son derece önemlidir. EC-SOD plazmada, ekstrasellüler matriks ve hücre yüzeyinde bulunmaktadır. EC-SOD yoğun olarak bulunduğu kısımlar

ekstrasellüler matriks ve hücre yüzeyleridir. Ekstrasellüler düzeyde süperoksit radikallerini inhibe edebilen tek antioksidan enzimdir (Goa *et al.* 2008).

1.4.1.b. Glutasyon peroksidaz (GSHPx)

Glutasyon peroksidaz, dört alt birimden oluşan birimlerinin her birinde selenyum atomu içeren, tetramerik yapılı, sitozolde bulunan antioksidan bir enzimdir. Bu enzim, hücrelerin sitoplazmasında bulunan H_2O_2 (hidrojen peroksit)'in oluşturacağı hasara karşı hücreleri korumak için H_2O_2 in OH. dönüşümünü inhibe eder (Aydemir ve Karadağ 2009). GSHPx, H_2O_2 'i ve organik hidroperoksitleri (lipit ve DNA hidroperoksitler) metabolize edebilen bir enzimdir. Enzimin iki temel tipi bulunmuştur. Bunlardan biri aktif bölgesinde selenyum içeren selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz (Se-GSHPx) diğeri selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST)'dir. Se-GSHPx, H_2O_2 ve organik hiperoksitlere karşı etkiliyken GST daha çok organik hidroperoksitlerin metabolizesinde etki göstermektedir (Deaton and Marlin 2003).

Eritrositlerde oksidatif hasara karşı en etkili antioksidan GSHPx'dir. Eritrositlerdeki GSHPx aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu bireylerde yüksek bulunurken, prematür bebeklerde bu aktivite miktarı düşük bulunmuştur (Dawn *et al.* 1996).

1.5. Enzim Aktivitesinin İnhibisyonu

Enzimli bir reaksiyonun hızını azaltan ya da engelleyen maddelere inhibitör denir. İnhibitörler, genellikle küçük molekül kütlelerine sahip bileşik veya iyonlardır. Enzimatik aktivitenin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde başlı başına bir kontrol mekanizması oluşturur. Birçok ilaç ve zehirli bileşik fonksiyonlarını bu yolla gerçekleştirirler. İnhibitörler hem enzim etki mekanizmalarının, hem de metabolik yolların aydınlatılmasında biyokimyacılar için çok önemlidir (Keha ve Küfrevioğlu 2005).

Enzimatik inhibisyon iki grupta incelenir; i) Dönüşümsüz inhibisyon i) Dönüşümlü inhibisyon.

Dönüşümsüz inhibisyon'da inhibitör enzime ya kovalent olarak bağlanır ya da zor ayrışabilen bir kompleks oluşturur. Sinir uyarılarının iletilmesinde önemli bir rol oynayan asetilkolinesteraz enziminin, sinir gazı zehirleri tarafından inhibisyonu buna güzel bir örnektir. Dönüşümsüz inhibisyonda V_{max} (enzimatik reaksiyonda ulaşılacak maksimum hız) azalırken, K_m (enzimin substrata olan ilgisini gösteren sabit) değişmeden kalır (Keha ve Küfrevioğlu 2005).

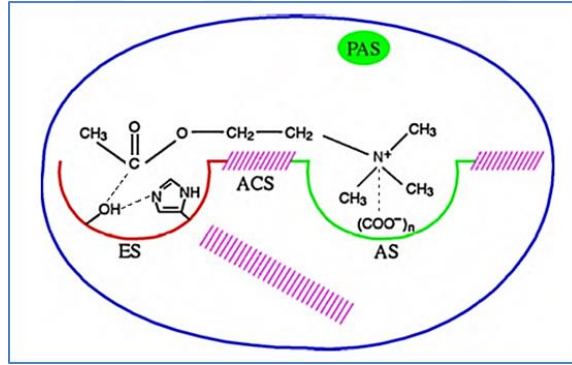
Dönüşümlü inhibisyonda ise enzim ile inhibitör etkileşmesi bir denge reaksiyonu şeklindedir. Dönüşümlü inhibisyon üç grupta incelenir:

- i) Yarışmalı (kompetitif) inhibisyon: Bu inhibisyon tipinde inhibitör, substratın normalde bağlanması gereken aynı bölgeye geri dönüşümlü olarak bağlanır ve böylece substratla o bölge için yarışır.
- ii) Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyon: İnhibitör ve substrat enzimin farklı bölgelerine bağlanınca yarışmasız inhibisyon meydana gelir. Yarışmasız inhibitör ya serbest enzime ya da enzim kompleksine bağlanarak reaksiyonun yürütmesine engel olur.
- iii) Yarı yarışmalı (unkompetitif) inhibisyon: Bu inhibisyon çeşidinde; inhibitör serbest enzime bağlanamaz, sadece Enzim Substrat (ES) kompleksine bağlanır. Bunun için tek substratlı sistemlerde, yarı yarışmalı inhibisyona seyrek rastlanırken birden fazla substratlı enzimlerde bu inhibisyon tipi daha sık gözlenir.

Çalışmamızda ayrıca bu üç flavonoidin asetil kolin esteraz ve karbonik anhidraz enzim aktivitesi üzerine inhibitör etkileri de çalışılmıştır.

1.5.1. Asetilkolinesteraz enzimi (EC 3.1.1.7,= AChE)

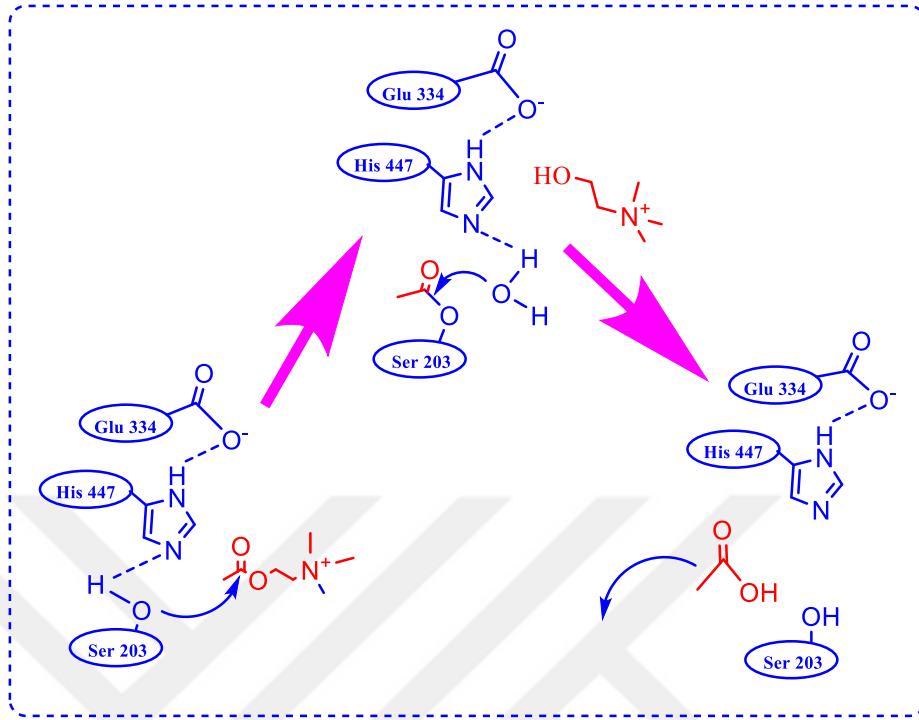
AChE; beyin ve eritrositlerde yüksek konsantrasyonda bulunan temel fonksiyonu kolinerjik nörotransmisyonun sonlandırılması olan bir enzimdir. Asetilkolinesteraz enzimi ‘Periferik Bölge’ ve ‘Aktif Bölge’ olmak üzere iki bağlanma bölgesine sahiptir. AChE’nin aktif bölgesi dar oluk yapının dip kısmıdır ve iki alt üniteden oluşmuştur. Birincisi negatif yüklü veya anyonik bölge, ikincisi katalitik kısmı içeren esteratik bölge ya da katalitik triattır (üçlü: Ser203, Glu334 ve His447). Katalitik triad substratın açıl bölgesine geçici olarak bağlanır. Katalitik triad’a ilave olarak bilinen tüm AChE’lar periferik anyonik bölge (PAS) olarak adlandırılan ikinci bir substrat bağlayıcı bölge içerir (Şekil 1.9). Bu bölge hem katalitik etkinliğin düzenlenmesine (enzim inhibisyonu) hem de AChE’in pekçok inhibitör ile etkileşimine aracılık eder. PAS bölgesi aktif çukurun ağız kısmında (girişinde) bulunmaktadır. Temel olarak Trp279, Tyr70 aromatik aminoasit artığı taşımaktadır (Talesa 2001).



Şekil 1.9. AChE'nin şematik gösterimi

*ES: Esteratik bölge, AS: Anyonik bölge, ACS: Aromatik katyon bağlayıcı bölge, PAS: Periferik anyonik bölge (Dvira *et al.* 2010).

AChE, kolinerjik sinapsta Asetilkolin'in (ACh) asetik asit ve koline dönüşümünü katalizler. AChE tarafından katalizlenen bu tepkime enzimatik olarak iki basamakta gerçekleşir (Şekil 1.10). İlk basamakta enzim güçlü bir nükleofil olarak rol oynar. İkinci basamakta ise; enzim özgül bir serin kalıntısının nükleofilik hidroksil grubu aracılığı ile mükemmel bir parçalayıcı grup işlevi görür (Demir and Türkoğlu 2005).



Şekil.1.10. AChE'nin varlığında asetilkolinin hidrolizasyon reaksiyonu

AChE'nin en önemli inhibitörleri organofosfat yapılı pestisitlerdir. Bu pestisitler AChE enzimini inhibe ederek merkezi ve çevresel sinir sistemi üzerine etki ederler. Organofosfat zehirlenmelerinin tedavisinde asetilkolinesterazın biyotemizleyici olarak kullanımı yeni bir yaklaşımdır. Bu biyotemizleyicide olması gereken özellikler; ön ilaç olarak kullanılmak üzere yeterli miktarlarda elde edilebilmesi, yüksek dönüşüm sayısı, dolaşımda uzun yarı ömür, immunouygunluk olarak belirtilmiştir.

1.5.2. Karbonik anhidraz enzimi

Karbonik anhidraz (CA), neredeyse tüm memeli dokularında bulunan ve yapısında Zn^{+2} içeren metaloenzimdir. CA, bikarbonatın (HCO_3^-) dehidratasyonu ve karbondioksitin (CO_2) hidratasyon reaksiyonlarını tersinir olarak katalizler (Göçer and Gülçin 2013). CA enzimi, tükrük bezleri, kaslar, pankreas, beyin, prostat ve endometriyumda bulunur. Ayrıca böbrek, göz lensi ve gastrik mukoza CA enziminin aktif olduğu dokular arasındadır. Karbonik anhidrazların en yaygın sınıfı olan α -CA, insanlar dahil tüm

memelilerde bulunur (Göçer *et al.* 2016). Bu enzimler ürejenез, glukoneojenez ve lipogenez gibi biyokimyasal faktörlere ve çeşitli metabolik süreçlere katılırlar (Huyut *et al.* 2017). İnsanlarda, şüanda α -CA sınıfı tarafından kodlanan on altı farklı karbonik anhidraz izoformu olduğu bilinmektedir.

CA'lar, solunum, pH ve CO₂ homeostazisi, CO₂ / HCO₃⁻ taşınması, çeşitli organ ve dokularda elektrolit salgılanması, kemik yeniden modellenmesi, biyosentetik reaksiyonlar ve kireçlenme ile ilgili birçok fizyolojik süreçte görev alır. Bu aktivitelere katılan CA'ların inhibisyonu, glokom, ödem, epilepsi, obezite, kanser ve ağrı gibi bir dizi rahatsızlığın tedavisinde kullanım için önemli bir potansiyel barındırmaktadır. Bischalcon, kumarin ve benzensülfonamidler gibi CA'ları inhibe etmek için çok sayıda kimyasal ligand kullanılmıştır (Türkan *et al.* 2018).

Özetle yaptığımız bu çalışmada; naringenin, kuersetin ve hesperedin flavonoidlerinin radyo koruyucu etkilerini belirleyebilmek amacıyla radyasyon uygulaması yapılmadan önce bu maddelere maruz bırakılan ratların göz ve beyin dokularında MDA, SOD, GSHPx, TAK, CA ve AChE değerleri belirlenerek bu 3 maddenin radyo koruyucu etkileri kıyaslanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yaptığımız bu yüksek lisans tez çalışması ile yakından ilişkili çalışmalara 90'lı yılların başında rastlansada çalışmalarda özellikle 2000'li yıllardan sonra önemli bir artış yaşanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız flavonoidler (naringenin, kuersetin ve hesperedin), radyo koruyucu bitkisel kaynaklar, oksidan/antioksidan sistem ve enzim inhibisyonu üzerine yapılan araştırmalardan bazılarının özetleri aşağıda kronolojik olarak verilmiştir.

Chiba *et al.* (2003) tarafından yapılan çalışmada; yumurtalıkları alınan farelerin diyetlerine hesperidin eklenerek farelerin yağ ve kolesterol seviyelerinde azalmanın yanı sıra hesperidin kemik yıkımından sorumlu osteoklast miktarını düşürerek kemik erimesini durdurduğu gösterilmiştir.

Gao *et al.* (2006) tarafından yapılan çalışmada; insan prostat kanseri hücrelerinde oksidatif hasarı takiben naringenin uygulamasının, DNA tamirini uyarıp uyarmadığı araştırılmıştır. Sonuç olarak, naringenin DNA tamir süreçlerinden özellikle baz ekzisyon onarımı işlemini uyarmasıyla, prostat kanseri hücrelerinde mutajenik değişikliklerin önlenmesine neden olabileceği ve anti-kanser etkili bir bileşik olabileceği savunulmuştur.

Kampkötter *et al.* (2007) tarafından yapılan çalışmada ise; çok hücreli bir model organizma *Caenorhabditis elegans*'ta kuersetinin etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak, kuersetin yaşlanma belirteci olan lipofuskin birikimini azaltmış, ayrıca FoxO transkripsiyon faktörü DAF-16'nın sinyalizasyon yolları üzerinde bir modülatör etki oluşturmuştur. Bu da kuersetinin antioksidan özellik gösterdiğini ve aynı zamanda hücrel sinyalleme süreçlerinin bir modülatörü olarak hareket edebileceğini göstermiştir.

Choi (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; hesperidinin farelerin kök hücrelerindeki anjiogenezis mekanizmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu hesperidinin prooksidan etkisine kanıt olarak gösterilmiştir. Sonuç olarak hesperidinin antikanser bir ajan olabileceği bildirilmiştir.

Kamaraj *et al.* (2008) tarafından yapılan çalışmada; ratlar, benzopirene maruz bırakılarak akciğer kanseri modeli oluşturulmuş ve daha sonra bu ratlar hesperidin ile beslenerek hesperidin'in akciğer kanserine karşı kemopreventif etkinliği araştırılmıştır. Yapılan histopatolojik, SOD, MDA, CAT ve GPx gibi analizler sonucunda hesperidinin akciğer kanserinde güçlü bir antikanser ve antikemopreventif potansiyeli olduğu gösterilmiştir.

Kalpana *et al.* (2009) yaptığı çalışmada; oral olarak verilen hesperidinin, 4 Gy X-ışını radyasyonunun hepatosellüler hasarına karşı ratların karaciğerini koruduğu gösterilmiştir.

Bansal *et al.* (2012) tarafından yapılan bir çalışmada; radyasyona maruz bırakılan ratlarda bir flavonoid olan glikozitin kuersetin-3-O-rutinosidini *in vivo* da radyo koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda bu flavonoid radyasyona bağlı DNA hasarını önemli ölçüde inhibe etmiş, antioksidan enzimleri korumuş ve apoptozis mekanizmasını engellemiştir.

Büyükben (2014), tarafından yapılan çalışmada; streptozotosin ile diyabet yapılan ratlarda kuersetinin DNA hasarı ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Zhao *et al.* (2014) tarafından yapılan çalışmada; radyasyona maruz bırakılan ratlarda üzüm kabuğu fenollerini ekstraktının retinal pigment epitelyal hücrelerinde koruyucu olduğu ve radyasyona maruz kalan retina pigment epitelyal hücrelerinin tedavi edilmesi için kullanılabileceği bildirilmiştir.

Uylaş (2015) tarafından yapılan çalışmada; iskemi perfüzyon oluşturulan ratlarda kuersetinin karaciğer hasarına karşı antioksidan ve tedavi edici etkisi araştırılmıştır. Kuersetin verilen grupta kısmi olarak semptomlar giderilmiş ve düzelme gözlenmiştir. Kuersetinin, hem biyokimyasal hemde histolojik açıdan anlamlı düzelmelere yol açtığı görüldüğü için iskemi-perfüzyon hasarında meydana gelen komplikasyonlar ve mortalitede de azalmaya yol açabileceği düşünülmüştür.

Chtourou *et al.* (2015) tarafından yapılan çalışmada; kemoteröpatik bir ajan olan cisplatin ile indüklenen beyin stratum hasarına karşı ratlarda naringinin etkinliği araştırılmıştır. Sonuç olarak, Naringinin P₅₃, NFkB ve TNF-a yolaklarına bağlı inflamasyon ve apoptozu inhibe ettiği ve cisplatin uygulaması neticesinde oluşan histolojik bozuklukları giderdiği görülmüştür.

Lv *et al.* (2015), yaptıkları çalışmada; naringinin, kemikte mekanik transkripsiyonda önemli role sahip olan periostinin ifadesini yükselterek düzenlediği gösterilmiştir. Yani naringinin osteoporozun ilerlemesini engelleyebileceği ifade edilmiştir.

Patel *et al.* (2016) tarafından yapılan çalışmada; bir flavanoid türevi olan *Urtica dioica* (=ısırgan otu) ekstresinin ratlarda bellek fonksiyon bozukluğu üzerinde etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Sonuç olarak bu bitki ekstraktı hipokampüste modüle edilerek Smo-Gli1 yolağını etkilemiş aynı zamanda anti-inflamatuar ve antioksidan etki göstermiştir.

Zhu *et al.* (2016) yapılan çalışmada; kuersetinin bir türevi olan isokuersitrinin (Kuersetin-3-glukozit) insan endotelial hücrelerinin H₂O₂ ile indüklenen apoptozis üzerindeki inhibitör etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, bu bileşiğin anti-apoptotik etkili olduğu değerlendirilmiş ve bu etkinin muhtemelen Akt/GSK3β sinyal yolağı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Hui *et al.* (2017) tarafından yapılan çalışmada; in'de uzun yıllardır iskemik inmeyi tedavi etmede kullanılan bir flavonoid turevi olan Panaksatriol saponinlerinin ratlarda iskemik beyin hasarına karşı iyileştirici etkisi rapor edilmiştir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

- Xantine
- EDTA (Etilendiamin Tetraasetikasit)
- NBT (Nitroblue Tetrazolium)
- Na₂CO₃ (Sodyum Karbonat)
- BSA (Bovine Serum Albumin)
- Ksantine Oksidaz
- (NH₄)₂SO₄ (Amonyum sülfat)
- NaOH (Sodyum hidroksil)
- SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)
- Asetik asit
- TBA (Thiobarbiturik asit)
- Butanol/pridin
- Standart 1,1,3,3 Tetraethoxypropane
- Sıvı Azot
- H₂O₂
- Toplam antioksidan durum kiti
- GSH Redüktaz
- Ester
- Aseton

3.1.2. Kullanılan laboratuvar gereçleri ve cihazlar

- Vorteks
- 48 Kuyucuklu Mikroplate

- Santrifüj Cihazı
- Ultra Saf Su Cihazı
- Analitik Terazı (0,0001)
- Manyetik Karıştırıcı
- Su Banyosu
- Homojenizatör
- Spektrofotometre
- Pipet Ucu 0,1-10 µl, Pipet Ucu 5-100 µl, Pipet Ucu 5-200 µl, Mikropipet 0,1-10 µl
Mikropipet 10-100 µl
- Elisa Okuyucu
- 10 cc'lik Steril Enjektör
- Steril Cerrahi Malzemeler
- Buzdolabı
- pH Metre
- Ependof Tüpleri
- Homojenat Boncukları
- Magnetik Karıştırıcı

3.1.3. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

3.1.3.a. SOD deneyinde kullanılacak reaktifler

0,3 mM Ksantin hazırlanışı;

0,00913gr ksantnn 200 ml distile suya (dH₂O) eklendi, ksantinın çözülebilmesi için 1 M NaOH'den bir damla eklenerek çözelti hazırlandı. +4°C'de saklandı.

0,6 mM EDTA (Etilendiamin Tetraasetikasit)'in hazırlanışı; 0,023 gr EDTA disodyum tuzu 100 ml distile suda çözüldü. +4°C'de saklandı.

NBT (Nitroblue Tetrazolium)'ün hazırlanışı;

0,0123 gr Nitroblue Tetrazolium bir miktar distile suda çözüldü. Son hacim 100 ml olacak şekilde distile su eklendi. +4°C'de saklandı.

0,4 M Na₂CO₃ (Sodyum Karbonat) hazırlanışı;

2,544 gr Na₂CO₃ tartıldı, bir miktar distile su içerisinde çözüldü. Son hacim 60 ml oluncaya kadar distile su eklendi. +4°C'de saklandı.

2 M (NH₄)₂SO₄ (amonyum sülfat)'ın hazırlanışı;

2,643 gr (NH₄)₂SO₄ tartıldı ve bir miktar distile su içerisinde çözüldü. Son hacim 10 ml olacak şekilde distile su eklendi.

Ksantin oksidaz (167 U/L) hazırlanışı;

50 µl Ksantin oksidaz alındı, soğuk ve yeni hazırlanmış 600 µl 2M (NH₄)₂SO₄ içerisinde çözüldü.

Deney reaktifinin hazırlanışı;

20 ml Ksantin, 10 ml EDTA, 10 ml NBT, 6 ml Na₂CO₃, 3 ml BSA ile çalışmadan hemen önce birleştirildi.

3.1.3.b. MDA reaktiflerinin hazırlanışı;**%8,1 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) hazırlanışı;**

8,1 gr SDS alınarak bir miktar distile suda çözerek son hacim 100 ml olacak şekilde distile su eklendi.

%20'lik Asetik asitin hazırlanışı;

500 ml hazırlamak için %100'lük asetik asitten 100 ml alındı ve 400 ml distile su ile karıştırıldı.

%0,9'lik TBA (Thiobarbiturik asit)'in hazırlanışı;

4,5 gr TBA alınarak bir miktar distile suda çözüldü. Son hacim 500 ml olacak şekilde distile su eklendi.

Standart 1,1,3,3 tetraethoxypropane hazırlanışı;

50 µl Standart 1,1,3,3 tetraethoxypropane alınarak son hacim 1000 ml olacak şekilde distile su eklendi.

3.1.3.c. GPx reaktifleri

150 mM GSH (redükte glutatyon) hazırlanışı;

0,200 gr GSH 4 ml modifiye fosfat tamponunda çözümlenerek hazırlandı.

10 mM NADPH hazırlanması;

0,033 gr NADPH alınarak 4 ml'lik fosfat tamponu içerisinde çözümlenerek hazırlandı.

Modifiye GPx fosfat tamponun hazırlanışı;

0,988 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,379 gr KH_2PO_4 , 0,062 gr EDTA disodyum tuz ve 0,011 gr NaN_3 analitik terazide tartıldı. Daha sonra bunların tamamını bir miktar suda çözülerek son hacim 100 ml ye tamamlandı. pH metre aracılığıyla pH 7'ye ayarlandı.

Ko-substrat (GSH + NADPH + glutatyon redüktaz)'ın hazırlanışı;

0,004 gr NADPH, 0,008 gr GSH, 50 μl Glutatyon redüktaz alınıp analitik terazide tartıldı. Sonra hepsi karıştırılıp 5 ml'lik distile su içerisinde çözöldü.

2 mM H_2O_2 hazırlanışı;

%30'luk H_2O_2 'den 30 μl alınarak 5 ml lik distile suda çözöldü. Daha sonra bu tampon çözeltiden 30 μl alındı ve yine 5 ml distile su da çözöldü.

Homojenizasyon tamponun hazırlanması;

0,1 M potasyum fosfat ve 10 mM EDTA alınarak son hacim 5000 ml olacak şekilde hazırlandı ve pH 7'ye ayarlandı.

PNA'nın hazırlanması;

1 ml lik aseton içerisinde 27,2 gr ester katılarak, çözöldü. Üzerine kademeli olarak 49 ml distile su eklenerek, hızlı bir şekilde karıştırıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması ve etik kurul

Bu çalışmada toplam 48 tane dişi Sprague Dawley ratları kullanıldı. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi (22.02.2018, 75296309-050.01.04). Ratlar herhangi bir strese (yüksek ses, yüksek aydınlanma vb.) sebebiyet verebilecek etkenle karşılaştırılmamıştır. Hayvanlar 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü olan bir odada ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) polikarbonatlı kafeslerin içerisinde en fazla beşerli gruplar halinde tutuldular. Ratlar deney süresince şebeke suyu ve standart rat yemi ile beslendi ve standart oda sıcaklığı sağlandı. Rastgele 8 grup oluşturuldu ($n=6$). Hayvan deneyleri ve prosedürleri, laboratuvar hayvanlarının kullanımı ve bakımı için ulusal kılavuzlarda belirtilen kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Sprague Dawley ratları ve yaşam alanları

Grup 1 (kontrol grubu): Herhangi bir tedavi ve radyoterapi (RT) uygulanması yapılmayan gruptur ($n=6$). Bu grupta bulunan ratlara 8. gün solunum yolu aracılığıyla yüksek doz anestezi (ketamin, Xylazine) uygulandıktan sonra sakrifiye edilerek beyin ve göz organları alındı.

Grup 2 (RT grubu): Bu grupta bulunan ratlara (n=2) çalışmanın 7. gününde 10, 12 ve 15 Gy lik tek doz olacak şekilde RT uygulandı ve çalışmanın 8. gününde bu gruptaki ratlara yüksek dozda anesteziyle (ketamin, Xylazine) sakrifiye edilerek beyin ve gözleri alındı.

Grup 3 (naringenin grubu): Bu grupta bulunan ratlara 7 gün boyunca RT indüksiyonu yapılmaksızın %1 Na-CMC (Sodyum-karboksi metil selüloz) naringenin oral yolla 100 mg/kg 2 ml kadar uygulandı. 8. günde bu gruptaki ratlar yüksek dozda anesteziyle (ketamin, Xylazine) sakrifiye edilerek beyin ve gözleri alındı.

Grup 4 (kuersetin grubu): Bu grupta bulunan ratlara 7 gün boyunca RT indüksiyonu yapılmaksızın %1 Na-CMC de çözülmüş kuersetin oral yolla 100 mg/kg 2 ml kadar uygulandı. 8. günde bu gruptaki ratlar yüksek dozda anesteziyle (ketamin, Xylazine) sakrifiye edilerek beyin ve gözleri alındı.

Grup 5 (hesperidin grubu): Bu grupta bulunan ratlara 7 gün boyunca RT indüksiyonu yapılmaksızın %1 Na-CMC de çözülmüş hesperidin oral yolla 100 mg/kg 2 ml kadar uygulandı. 8. günde bu gruptaki ratlar yüksek dozda anesteziyle (ketamin, Xylazine) sakrifiye edilerek beyin ve gözleri alındı.

Grup 6 (naringenin-RT Grubu): Bu gruptaki ratlara 7 gün boyunca %1 Na-CMC'de çözülmüş naringenin oral yolla 100 mg/kg 2 ml kadar uygulandı ve çalışmanın 7. gününde belirlenen miktarda tek doz RT uygulandı. 8. günde bu gruptaki ratlar yüksek dozda anesteziyle (ketamin, Xylazine) sakrifiye edilerek beyin ve gözleri alındı.

Grup 7 (kuersetin-RT Grubu): Bu gruptaki ratlara 7 gün boyunca %1 Na-CMC'de çözülmüş hesperidin oral yolla 100 mg/kg 2 ml olacak şekilde uygulandı ve çalışmanın 7. gününde belirlenen miktarda tek doz RT uygulandı. 8. günde bu gruptaki ratlar yüksek dozda anesteziyle (ketamin, Xylazine) sakrifiye edilerek beyin ve gözleri alındı.

Grup 8 (hesperidin-RT Grubu): Bu gruptaki ratlara 7 gün boyunca %1 Na-CMC'de çözülmüş hesperidin oral yolla 100 mg/kg 2 ml olacak şekilde uygulandı ve çalışmanın 7. gününde belirlenen miktarda tek doz RT uygulandı. 8. günde bu gruptaki ratlar yüksek dozda anesteziyle (ketamin, Xylazine) sakrifiye edilerek beyin ve gözleri alındı.

3.2.2. Organ ve dokuların eldesi

Cerrahi işlem sırasında steril cerrahi malzemeler kullanıldı. Her bir ratın toraksı orta hattı makas ile temizlenip, toraks orta hattından dikey insizyonla açıldı. Sonra kalp doğrudan kanüle edilerek yaklaşık 10 ml'lik enjeksiyonla kan toplandı. Kan alma işlemi bittikten sonra iki ucuda keskin olan cerrahi makasla baş üzerinde bulunan alan tüylerden temizlendi. Daha sonra baş bölgesindeki deri kısım kesilip kaldırıldı. Bir ucu küt bir ucu keskin bıçak alınarak kafatası kesilerek kaldırıldı. Beyin zarı temizlenip, beyin kaşığıyla beyin dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Bir sonraki aşama olan göz küresinin çıkarılması için çevre bağlantılarının, göz kaslarından ve optik sinir ile olan bağlantıları kesilerek dışarı alındı. Sonra göz küresinin gerisinde kalan harderian bezleride çıkarıldı. Gruplar halinde paketlenerek -80°C'de saklandı.

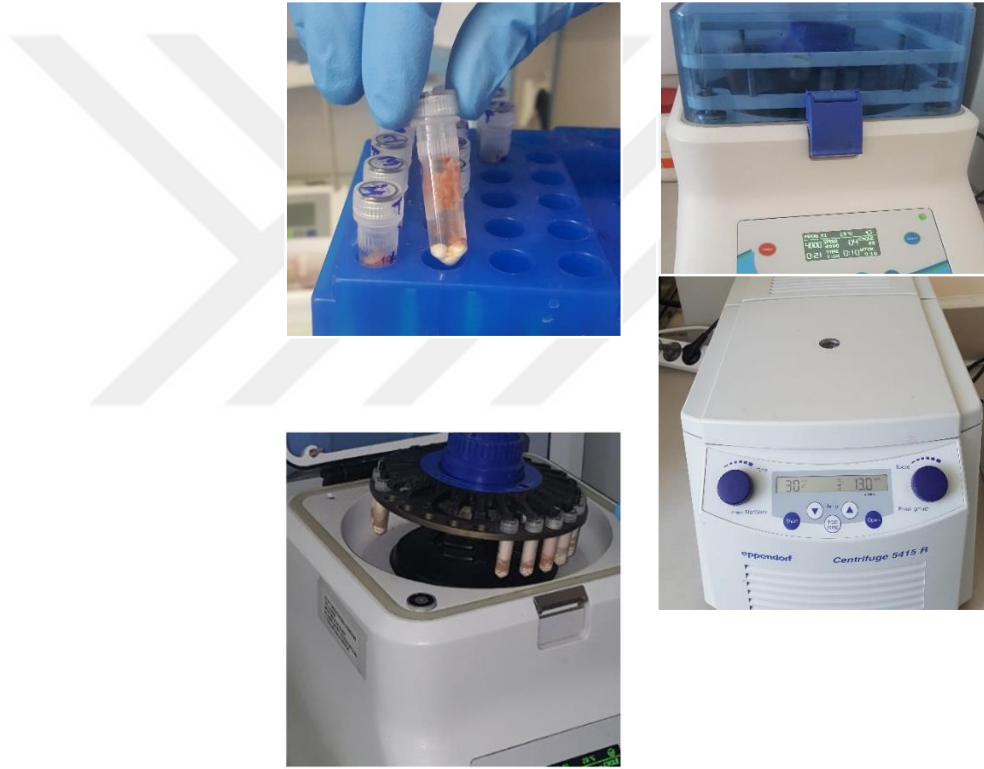


Şekil 3.2. Ratlardan beyin ve göz organlarının diseksiyonu

3.2.3. Doku (Beyin ve göz) homojenizasyonu

Homojenizasyon işlemine başlamadan önce kullanılacak örnekler bir gün önceden -80°C 'den çıkarıp, $+4^{\circ}\text{C}$ yerleştirildi. Her gruptan yaklaşık bir beyin alınarak petri kabı içerisinde ön makroparçalama yapılarak sümüksü bir yapı elde edildi. Bu işlemden sonra analitik terazi yardımıyla 0,2 gr beyinden tartılarak ependorf tüplerine konuldu ve üzerine 5 büyük homojenat boncukları eklendi. Üzerine 1000 ml'lik homojenizasyon tamponu eklendi. Bead Blaster homojenizasyon cihazına konuldu. Homojenizatörde 4000 rpm de 4 cycle, 1 dk çalkalama, 10 sn bekleme yapıldı. Homojenizasyon

işleminde sonra ependorflar buza konuldu. Son olarakta 13.000 rpm de +4°C 30 dk boyunca santrifüj yapıldı. Santrifüj işleminden sonra süpernatant (tüpün üst kısmı) alınarak 2 gruba bölündü. İki grupta bir sonraki çalışmaya kadar -80°C’de saklandı. Beyin için yapılan homojenizasyon işlemi göz içinde yapıldı. Gözün tek farkı önden yapılan makroparçalama sırasında gözün mercek kısmı cerrahi makas yardımıyla parçalandı.



Şekil 3.3. Bead blaster marka homojenizasyon cihazı ve Eppendorf santrifüj cihazı

3.2.4. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi (=SOD)

Ksantin oksidaz enzimi yardımıyla ksantinden ürik asit oluşum reaksiyonunu katalizlenir. Bu sırada oluşan süperoksit (O_2^-) radikali, süperoksit dismutaz enzimi ile oksijen ve hidrojen peroksiti oluşturur. Oluşan süperoksit, SOD enziminin yetmediği

durumda tetrazolyum tuzu ile reaksiyona girerek formazan boyasını oluşturur. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülmektedir (Sun *et al.* 1988).

İlk olarak kör hazırlandı. Kör için hazırlanan deney reaktifinden 200 µl, distile su 50 µl ve 10 µl ksantin oksidaz konularak homojen bir karışım elde etmek amacıyla yavaş bir şekilde karıştırıldı. Daha sonra 25°C’de 20 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. Örneklerin hazırlanmasında da aynı prosedür kullanıldı. Sadece 50 µl distile su yerine 40 µl distile su ve 10 µl örnek konuldu. Enzim 1 dk ara ile tüplere katıldı. Daha sonra 25°C’de 20 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. 20 dk sonunda oluşan renkli kompleksin absorbanslarını ELISA mikropate de 560 nm köre karşı okutuldu ve absorbans değerleri kaydedildi.

Hesaplama;

1 U=%50’lik NBT inhibisyonu

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}})}{A_{\text{kör}}}$$

$$\text{SOD (U/mL)} = \frac{\% \text{ İnhibisyon}}{(50 \times 0,01)}$$

Spesifik aktivite (U/gr Hb)= (U ×100)/ gr Hb

3.2.5. Malondialdehit (=MDA) miktar tayini

MDA ölçümü, TBA’nın 100°C asidik ortamda MDA ile reaksiyona girerek TBA-MDA denilen pembe renkli bir kompleks oluşturması esasına dayalı spektrofotometrik bir yöntemdir. İlk olarak standart hazırlandı. Tüpün içerisine %8,1 SDS’dan 200 µl, %20’lik asetik asitten 1500 µl, %0,9’luk TBA’dan 1500 µl, 1,1,3,3 t tetraetoksipropan dan 100 µl, 700 distile su konuldu. Kör’ün hazırlanmasının, standarttan tek farkı 100 µl

1,1,3,3 tetraethoxypropanedan yerine 100 µl daha distile su konulmasıdır. Yani körü hazırlarken 800 µl distile su konuldu. Örneklerin hazırlanmasında tüplerin içerisine %8,1 SDS'dan 200 µl, %20'lik asetik asitten 1500 µl, %0,9'luk TBA'den 1500 µl, 100 µl örnek ve 700 µl distile su konuldu. Homojen bir karışım olması için hepsi vortekslendi. 95°C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda tüplerin tamamı buz tankına yerleştirilerek soğutuldu. Süpernanttan 600 µl alınarak ependorflara konuldu. Sonra üzerine (örneklerin, standart ve kör'ün) otomatik pipet yardımıyla 150 µl distile su ve 750 µl n-Butanol/piridin konuldu. Tam bir homojen karışım elde etmek için vorteks yapılarak 4000 rpm'de 10 dk santrifüj yapıldı. ELISA mikroplate kuyucuklarına 200 µl konularak 532 nm'de okutuldu ve absorbands değerleri kaydedildi (Ohkawa *et al.* 1979).

Hesaplama;

$$\text{MDA (nmol/gr protein)} = (\text{Abs} \times 320 \times 10) / (\text{gr/ml protein})$$

3.2.6. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi (=GPx)

Ependorf tüpü içerisine 150 µl Modifiye GPx tamponu, 25 µl distile su, 50 µl ko-substrat eklenerek vortekslendi. 37°C'de 5 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 25 µl 2mM'lık H₂O₂ den eklenerek kör hazırlandı. Aynı işlem örneklerin hazırlanması için kullanıldı. Ependorf tüpü alınarak içerisine 150 µl Modifiye GPx tamponu, 25 µl örnek, 50 µl ko-substrat eklenerek vortekslendi. 37°C'de 5 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 25 µl 2mM'lık H₂O₂ den eklenerek örnekler hazırlandı. 96'lık kuyucuklara yükleme yapılarak 340 nm de 8 okuma yapıldı. Maksimum stop değerleri alındı (Donald *et al.* 1967).

Hesaplama;

$$\text{GPx (İU/L)} = \frac{(\Delta\text{Abs}/\text{dk}) \times 10}{6,22 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Spesifik Aktivite (IU/gr Hb)} = \left[\frac{(\Delta \text{Abs}) \times 10 \times 10}{6,22 \times 10^{-3}} \right] / (\text{gr/dL Hb})$$

3.2.7. Toplam antioksidan kapasite (TAK) tayini

Bu metod, 2-2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sülfonat = ABTS+) radikal kationunun oluşumunu inhibe ederek antioksidan kapasitenin oluşumunun tespitinde kullanılmaktadır. Tespit işleminde Rel Assay Diagnostics® firması tarafından satın alınan TAS (Total Antioxidant Status) kitleri kullanıldı.

Kit bileşenleri;

Reaktif 1 Solüsyonu: (Buffer solüsyon) 0,4 mol/L pH:5,8 (Asetat buffer)

Reaktif 2 Solüsyonu: (Prokromojen solüsyonu)

(ABTS) 30 mmol/L

Standart 1 Solüsyonu: Trolox 1 mmol/L

2 ml'lik ependorf tüpü alındı ve içerisine 30 µl CAL standart, örnek 500 µl Reaktif 1 konularak 30 saniye (sn) beklendi. 660 nm'de ilk absorbans değeri okundu ve not edildi. Daha sonra aynı ependorf tüpüne 75 µl'lik reaktif 2 konularak 37°C'de 5 dk bekletildi. Bekleme süresi sonunda 660 nm'de ikinci absorbans değeri okunarak not edildi. Elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde uygun şekilde yerlerine konularak mmol Trolox Equiv./L cinsinden TAK düzeyleri tespit edildi.

Hesaplama;

$$\Delta \text{Abs} = A_2 - A_1 \text{ (absorbans değerleri arasındaki fark)}$$

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{AbsH}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Örnek})]}{[(\Delta\text{AbsH}_2\text{O}) - ((\Delta\text{AbsStandart})]}$$

3.2.8. Asetilkolinesteraz (=AChE) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Bu prosedürün amacı aşağıdaki gibi açıklanabilir; Önceki çalışmalardan gözlemlere (Budak *et al.* 2017) göre, kolinesterazlar, ACh'nin asetaldehit molekülü ve tiyokolşine (TCh) ayrışması reaksiyonu katalizler. Her iki reaksiyonun substratı olarak asetiltiokolin iyodür (AChI) substratı kullanıldı. Bu bölümde AChE aktivitesinin belirlenmesi için 5,5'-ditiyo-bis (2-nitro-benzoik) asit (DTNB) kullanıldı (Taslimi *et al.* 2017). Sarı renkli 5-tio-2-nitrobenzoik asit, ürün olarak elde edilen DTNB molekülünün ve TCh'nin reaksiyonu ile oluşur. Ortaya çıkan renk 5 dakika 412 nm'de ölçülür (Koçyiğit 2018). Bu yöntemde kullanılan malzemeler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. AChE yöntemi ile yapılan çalışmada kap içeriği

Kullanılan malzemeler	Kontrol tüpü (µL)	Örnek tüpü
Tris-HCl	100	100
Distile su	790	780
Örnek	-	10
DTNB	50	50
AChE	10	10
AChI	50	50

3.2.9. Karbonik anhidraz (CA) enzim aktivitesinin belirlenmesi

3.2.9.1. Hidrataz enzim aktivitesi

Hidrataz aktivitesi, Rickli vd. (1964) tarafından son olarak modifiye edilen CA enzim aktivitesini belirlememizde yardımcı olan bir metottur. Brom-Timol mavisi indikatörü ile CO₂'in hidrasyonu sonucu açığa çıkan H⁺ iyonlarını pH değişimine sebep

olmaktadır. Bu metod, pH değişiminin süresini belirleme temeline dayanmaktadır. İlk olarak körün hazırlanmasında; %0,04'lük brom timol mavisinden 0,1 ml, pH=8,6 olan 0,025 M veronal tamponundan 0,6 ml, 0,6 ml distile su ve son olarakta 2,5 ml CO₂ çözeltisinden alındı. Böylece toplam hacim 4,2 ml oldu. CO₂ çözeltisi katıldığı andan itibaren indikatörün renginde değişiklikler gözlemlendi. Başlangıçta mavi renkli olan indikatör sarı-yeşilimsi renk almaya başladı. CO₂ katıldığı anda kronometre çalıştırılarak renk değişimi boyunca geçen süre (t₀) belirlenerek, kaydedildi. Daha sonra numune tüpünden 0,05 ml su azaltılıp aynı seviyeye gelinceye kadar enzim çözeltisi eklendi ve CO₂ çözeltisi eklendi ve yine bir kronometre kullanılarak indikatörün mavi renginin sarı-yeşilimsi renge dönüşümü boyunca geçen süre (t_c) belirlenerek kaydedildi.

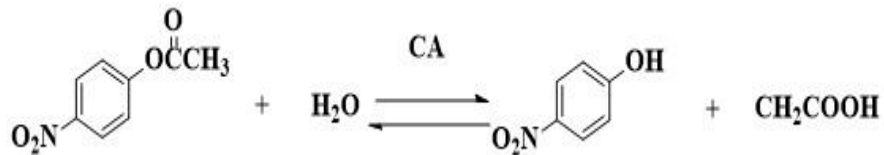
Hesaplama;

Bu metotta bir enzim ünitesi (EU) enzimsiz olarak oluşan CO₂ hidratasyonu zamanını yarıya düşüren enzim miktarı CA aktivitesi olarak tanımlanmıştır.

$$EU = \frac{t_0 - t_c}{t_c}$$

3.2.9.b. Esteraz aktivitesi

Bu yöntem, CA enizimin inhibisyonu ve kinetik çalışmalar için kullanılan bir yöntemdir. Aktivasyonun belirlenmesi için 348 nm bir absorbsiyon dalgası olan CA izoenzimlerinin p-nitrofenilasetatın (PNA) hidrolize edildi. Reaksiyon denklemi;



Fenol grubundaki H⁺ iyonunun ayrılma ya da ayrılmama durumu sonucu etkilemez. P-nitrofenilasetatın absorbsiyonu 348 nm dalga boyunda çok az miktarda emilim

gösterdiği için kör olarak kullanıldı. Aşağıda belirtilen prosedür aktivitenin belirlenmesinde kullanıldı. Reaksiyon karışımlarının oluşturduğu sıraya göre 1 ml'lik kuvarz küvetlerde ölçüm yapıldı. Reaksiyon karışımının hazırlanmasından sonra, her 15 saniyede (sn) absorbans değerleri okutulmuş ve absorbans farkı 3 dk sonra 25°C'de 348 nm absorbans değişimi kullanılarak hesaplandı. Çalışmada kullanılan PNA substratı günlük olarak hazırlandı. 1 ml'lik aseton içerisine 27,2 gr ester katılarak çözüldü. Üzerine kademeli olarak 49 ml distile su eklenerek, hızlı bir şekilde karıştırıldı (Aksu *et al.* 2016). Esteraz aktivitesi için kullanılan materyal Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Esteraz aktivitesini ölçmek için her 1 mL'lik kuartz küvetinde kullanılan çözeltiler

Kullanılan materyaller	Kontrol tüpü (µL)	Örnek tüpü (µL)
Tris-SO₄ (0.05 M; pH:7.4)	400	400
PNA	360	360
Distile su	240	220
Enzim solüsyonu	-	20
Toplam hacim	1000	1000

3.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır. Bunun için SPSS 11.5 programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Flavonoid terimi, sarı anlamına gelen Latince "flavus" kelimesinden gelmektedir. Bitkilerde beslenme durumlarına ve fizyolojik işlevlerine bakılmaksızın flavonoidler insan diyetinin temel bileşenleridir (Salaritabar *et al.* 2017). Flavonoidler, birçok bitki ve mantarda sekonder metabolit olarak bulunan ve tedavi edici özelliklere sahip polifenolik bileşiklerdir (Raffa *et al.* 2017). Flavonoidler, antioksidan aktivite, antienflamatuar özellik, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi gibi insan sağlığı için çok yararlı özelliklere sahiptirler (Heim *et al.* 2002; Kruger *et al.* 2014). Çalışmamızda naringenin, kuersetin ve hesperidin flavonoidlerinin radyasyon koruyucu etkileri çeşitli parametreler (MDA, SOD, GPx, TAK, CA ve AChE) kullanılarak belirlenmeye çalışıldı. Bu amaç için dişi Sprague Dawley ratları kullanıldı. Kontrol grubunda yedi gün boyunca normal beslenen ratlar kullanıldı. Pozitif kontrol olarak üç ayrı radyoterapi (RT) grubu oluşturuldu. Bu üç grupta yer alan sıçanlar, sırasıyla 10 Gy, 12 Gy ve 15 Gy radyasyona deney başladıktan yedi gün sonra maruz bırakıldı. Geri kalan altı grup ise (naringenin, kuersetin, hesperidin, naringenin + RT, kuersetin + RT ve hesperidin + RT) yine yedi gün süre ile uygulama bileşikleriyle beslendikten ve/veya RT uygulandıktan sonra anestezik işlem uygulanmıştır. Sonrasında ise uygun koşullar altında beyin ve göz dokuları alınarak gerekli tüm işlemler gerçekleştirildikten sonra aşağıda verilen sonuçlar elde edilmiştir.

4.1. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda CA Aktivitesi Üzerine Etkileri

Elde ettiğimiz bulgular analiz edildiğinde tüm uygulama gruplarındaki CA enzim aktivitesi kontrol grubu ile kıyaslandığında bir azalış görülmektedir. Sadece radyoterapinin uygulandığı gruplarda CA enzim aktivitesindeki düşüş en bariz 15 Gy uygulama grubunda görülmüştür. Sadece naringenin, kuersetin ve hesperidin uygulamasının yapıldığı gruplar karşılaştırıldığında ise en çok CA inhibisyonuna hesperedin grubu neden olmuştur. O'nu naringenin ve onu da kuersetin grubu takip etmiştir (hesperedin> naringenin>kuersetin). Hesperedin, naringenin ve kuersetinin

radoterapi ile birlikte uygulandığı durumda ise en fazla inhibisyonu, naringenin + RT, daha sonra kuersetin + RT ve en sonda hesperedin + RT gerçekleştirmiştir (naringenin + RT > kuersetin + RT > hesperedin + RT). Yani CA enzim aktivitesi için flavonoidlerin tek başlarına uygulandıkları durum ile RT ile birlikte uygulandıkları durum farklılık göstermiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

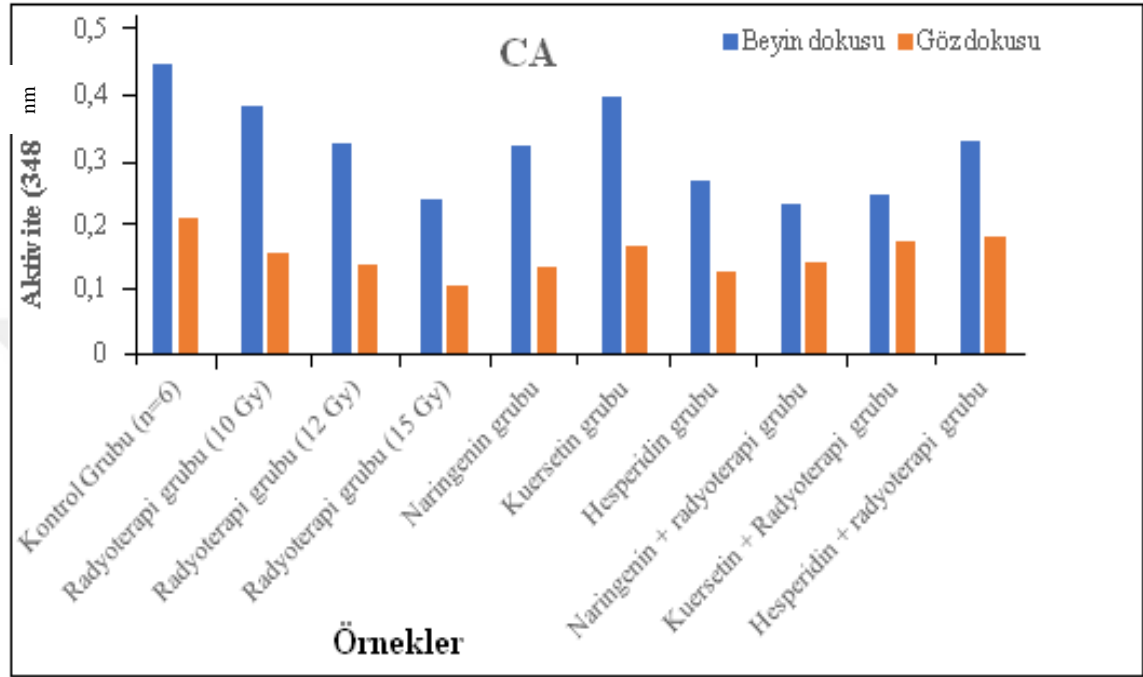
Çizelge 4.1. Beyin ve göz dokularında karbonik anhidraz (CA) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerinin sonuçları.

Deney Grupları	CA		AChE	
	Beyin dokusu	Göz dokusu	Beyin dokusu	Göz dokusu
Kontrol Grubu (n=6)	0.44725 ±0.073309	0.20818 ± 0.059167	1.4721±0.0382	0.6312±0.1043
RT 1 grubu (10 Gy)	0.38148 ±0.018341	0.15762 ±0.032205	1.0272±0.0293	0.4611±0.0954
RT 2 grubu (12 Gy)	0.32370 ±0.013043	0.13714 ±0.009260	0.9273±0.1028	0.3903±0.1044
RT 3 grubu (15 Gy)	0.24044 ±0.040581	0.10571 ±0.040277	0.9034±0.2310	0.3714±0.0845
Naringenin grubu	0.32138 ±0.065882	0.13417 ±0.020221	1.1432±0.2301	0.4815±0.0485
Kuersetin grubu	0.39558 ±0.032300	0.16516 ±0.029644	0.91547±0.1604	0.4425±0.0783
Hesperidin grubu	0.26883 ±0.016697	0.12828 ±0.011226	0.6954±0.0838	0.2818±0.0294
Naringenin + RT grubu	0.23110 ±0.017015	0.14224 ±0.036366	0.5925±0.0783	0.3803±0.1109
Kuersetin + RT grubu	0.24600 ±0.032119	0.17288 ± 0.02828 ^d	0.6514±0.1004	0.4034±0.1088
Hesperidin + RT grubu	0.32696 ± 0.091933	0.18287 ± 0.041844	0.5537±0.0629	0.2715±0.0341

4.2. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda CA Aktivitesi Üzerine Etkileri

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında göz dokusunda da CA enzim aktivitesi tüm uygulama gruplarında inhibisyona uğramıştır. Radyoterapinin tek başına uygulandığı gruplardan 15 Gy grubu yine en fazla inhibisyona yol açmıştır. Naringenin, kuersetin ve hesperedinin tek başlarına uygulandığı durumlarda CA enzim inhibisyon sıralaması hesperidin>naringenin>kuersetin şeklinde olmuştur (tıpkı beyin dokusundaki gibi). Flavonoidlerin RT ile birlikte verilmesinde ise naringenin + RT > kuersetin + RT > hesperidin + RT sıralaması beyin dokusunda olduğu gibi ortaya çıkmıştır. Yani RT

öncesinde naringenin uygulanması CA enzim inhibisyonunu çok daha belirgin olarak görülmüştür (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

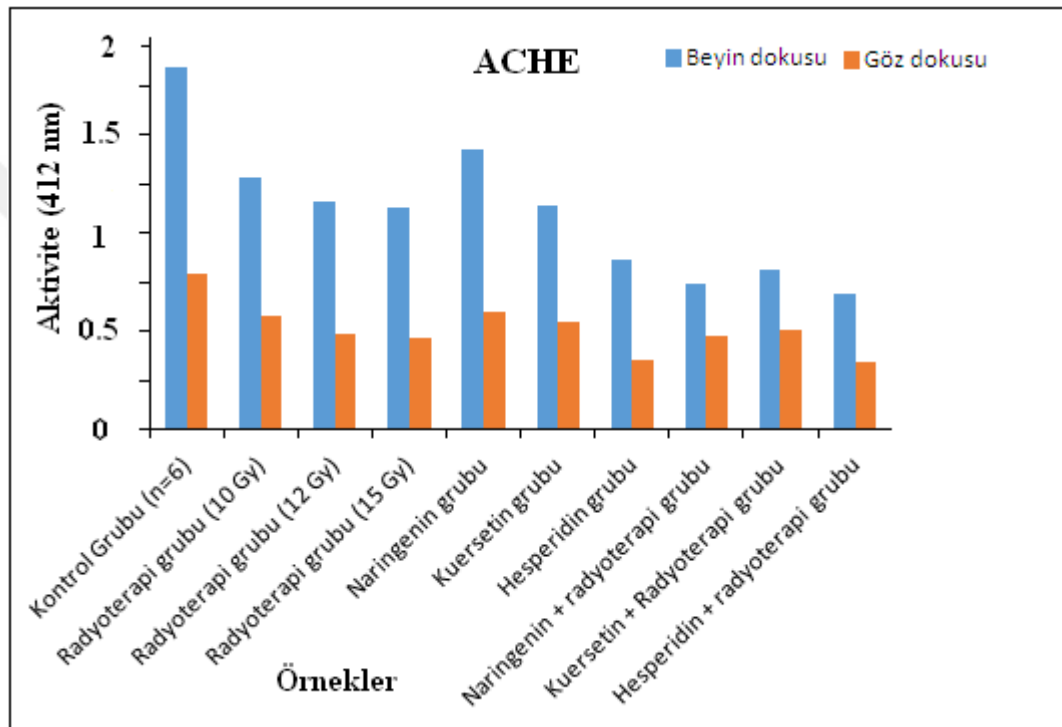


Şekil 4.1. *In vivo*'da fare beyin ve göz dokularına ait karbonik anhidraz enzim inhibisyonu sonuçları

4.3. Naringenin, Kuersetin ve Hesperidin'in Beyin Dokusunda AChE Aktivitesi Üzerine Etkileri

Elde ettiğimiz bulgular incelendiğinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm uygulama gruplarındaki AChE enzim aktivitesi bir azalış göstermiştir. Sadece radyoterapinin uygulandığı gruplarda AChE enzim aktivitesindeki düşüş en bariz 15 Gy uygulama grubunda görülmüştür. Sadece naringenin, kuersetin ve hesperidin uygulamasının yapıldığı gruplar karşılaştırıldığında ise en çok AChE inhibisyonun sırası hesperidin > kuersetin > naringenin şeklinde olmuştur. Hesperidin yapmış olduğu inhibisyon 15 Gy radyoterapi uygulaması sonucu ortaya çıkan AChE inhibisyonundan bile çok daha fazladır. Hesperidin, naringenin ve kuersetinin radyoterapi ile birlikte uygulandığı durumda ise en fazla inhibisyonu, naringenin + RT, daha sonra kuersetin +

RT ve en sonda hesperedin + RT gerçekleştirmiştir (naringenin + RT > kuersetin + RT > hesperedin + RT). Yani CA enzim aktivitesi için flavonoidlerin beyin dokusundaki etkileriyle AChE inhibisyonu benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2). Bu son üç grupta RT'nin tek başına uygulandığı 15 Gy'lik gruptan çok daha iyi inhibisyon sonuçları vermiştir.



Şekil 4.2. *In vivo*'da fare beyin ve göz dokularına ait asetilkolin esteraz enzim inhibisyonu sonuçları

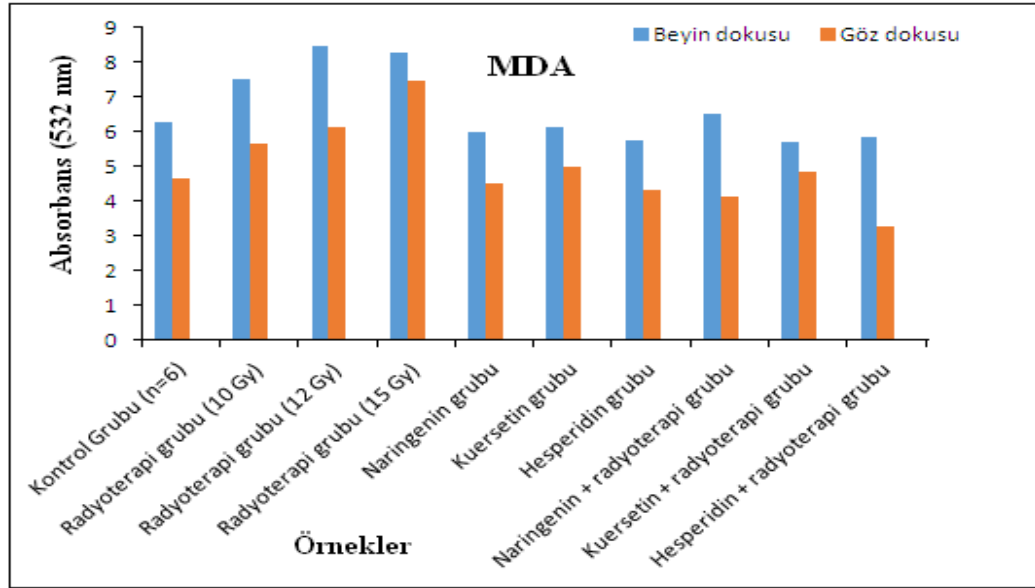
4.4. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda AChE Aktivitesi Üzerine Etkileri

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında göz dokusunda da AChE enzim aktivitesi tüm uygulama gruplarında inhibisyona uğramıştır. Radyoterapinin tek başına uygulandığı gruplar arasında 15 Gy grubu yine en fazla inhibisyona yol açmıştır. Naringenin, kuersetin ve hesperidin tek başlarına uygulandığı durumlarda AChE enzim inhibisyon sıralaması hesperidin > kuersetin > naringenin şeklinde olmuştur. RT ile birlikte

uygulama sonuçları ise hesperidin + RT > naringenin + RT > kuersetin + RT sıralaması ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2).

4.5. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda MDA Üzerine Etkileri

Malondialdehit (=MDA) miktarlarındaki artış hücrede lipid peroksidasyonunun en bariz göstergesidir. Yaptığımız çalışmanın bir parametresi de bu üç flavonoidin lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisini beyin ve göz dokusunda incelemektir. Sadece radyoterapinin uygulandığı farelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında özellikle radyasyon dozunun 12 Gy olduğu uygulama grubunda MDA düzeyi kontrol grubuna göre önemli bir artış göstermiştir. Benzer artışlar 10 ve 15 Gy uygulamasında da oluşmuştur. Üç flavonoidin ayrı ayrı uygulandığı uygulama gruplarına bakıldığında ise MDA düzeylerinin kontrol grubundan da aşağıda olduğu görülür. Flavonoidlerin MDA değerleri birbirine yakın olmakla birlikte MDA düzeyini düşürme sırası hesperedin > naringenin > kuersetin şeklinde oluşmuştur. Radyoterapi uygulanmadan evvel flavonoid uygulamasının (flavonoidler + RT) sonuçları ise bu üç flavonoidin de radyoterapinin tek başına uygulandığı gruplarda artan MDA düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğünü göstermiştir. Özellikle kuersetin + RT uygulamasında MDA düzeyleri kontrol grubundan dahi düşük düzeylerde gerçekleşmiştir. RT ile birlikte uygulama sırası ise kuersetin > hesperidin > naringenin şeklinde olduğu görülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *In vivo*'da fare beyin ve göz dokularına ait MDA sonuçları

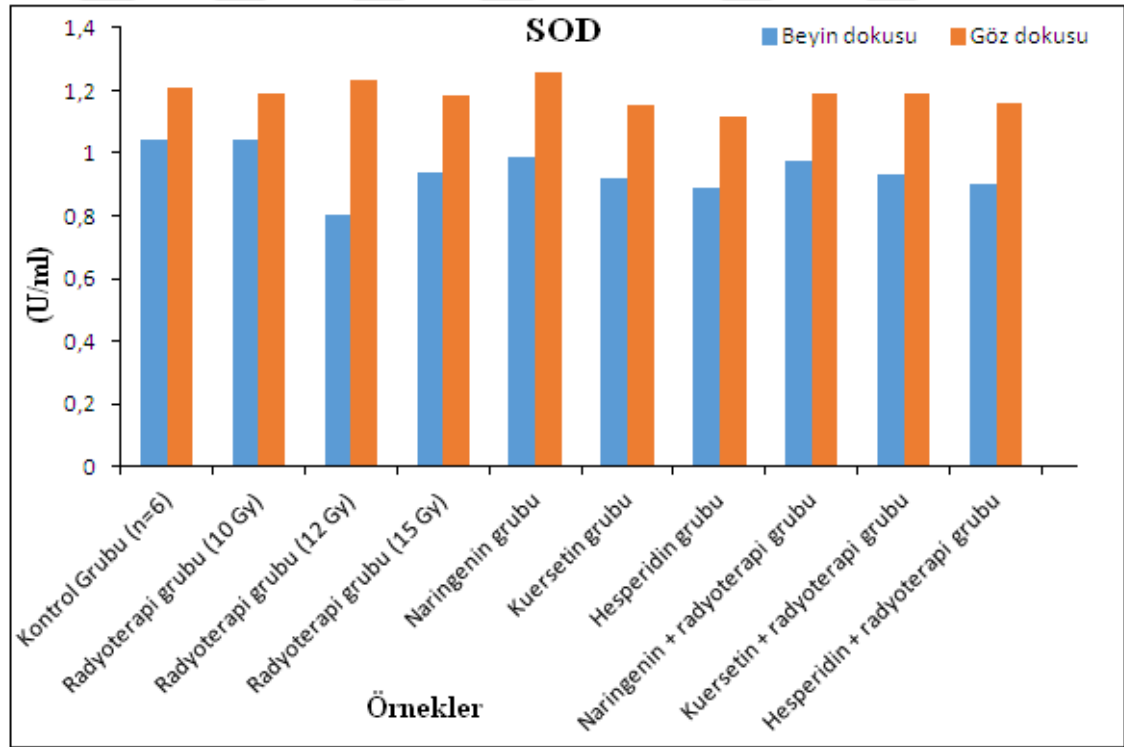
4.6. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda MDA Üzerine Etkileri

Göz dokusu üzerinde yaptığımız analiz sonuçlarına göre; radyoterapi uygulamalarının tek başına yapıldığı gruplarda (10, 12 ve 15 Gy) radyasyon dozunun artışına paralel olarak MDA düzeyleri artmıştır. Lipid peroksidasyonuna karşı göz dokusunda en koruyucu flavonoid hesperidin grubu olmuştur. Özellikle RT ile birlikte hesperidinin verildiği gruptaki MDA düzeyinin kontrol grubuna göre %50 azaldığı tespit edilmiştir. Hem tek başlarına flavonoidlerin verildiği gruplar hem de RT uygulamasıyla birlikte flavonoidlerin uygulandığı grupların MDA düzeylerini azaltma sıraları hesperidin > naringenin > kuersetin şeklinde olmuştur (Şekil 4.3).

4.7. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda SOD Üzerine Etkileri

Süperoksit dismutaz (=SOD) miktarlarındaki artış hücrede lipid peroksidasyonu inhibe eden antioksidan savunma sisteminin miktarını belirlemede kullanılan enzim ailesidir. Yaptığımız çalışmanın diğer parametrelerinden biri de bu üç flavonoidin lipid

peroksidasyon inhibisyonu üzerine olan etkisini beyin ve göz dokusunda incelemektir. Sadece radyoterapinin uygulandığı farelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında 12 Gy'lik radyoterapi uygulama grubunda SOD düzeyinde kontrol grubuna göre önemli bir azalma görülmüştür. Benzer bir şekilde 10 ve 15 Gy radyoterapi uygulamasında da kontrol grubuna göre azalma görülmüş ancak bu azalış sınırlı kalmıştır. Üç flavonoidin ayrı ayrı uygulandığı uygulama gruplarına bakıldığında ise benzer şekilde kontrol grubuna göre aşağıda olduğu görülmüştür. Flavonoidlerin SOD değerleri birbirine yakın olmakla birlikte SOD düzeylerini düşürme sırası hesperidin > kuersetin > naringenin şeklinde olmuştur. Radyoterapi uygulanmadan önceki flavonoid uygulamasının (Flavonoidler + RT) sonuçları da yine aynı şekilde SOD düzeyini önemli bir şekilde azalttığı görülmüştür. RT ile birlikte uygulama sırası ise hesperidin + RT > kuersetin + RT > naringenin + RT şeklinde olduğu görülmüştür (şekil 4.4). Sonuç olarak hiçbir uygulama grubumuz beyin dokusunda SOD miktarı açısından bir artışa neden olmamıştır.



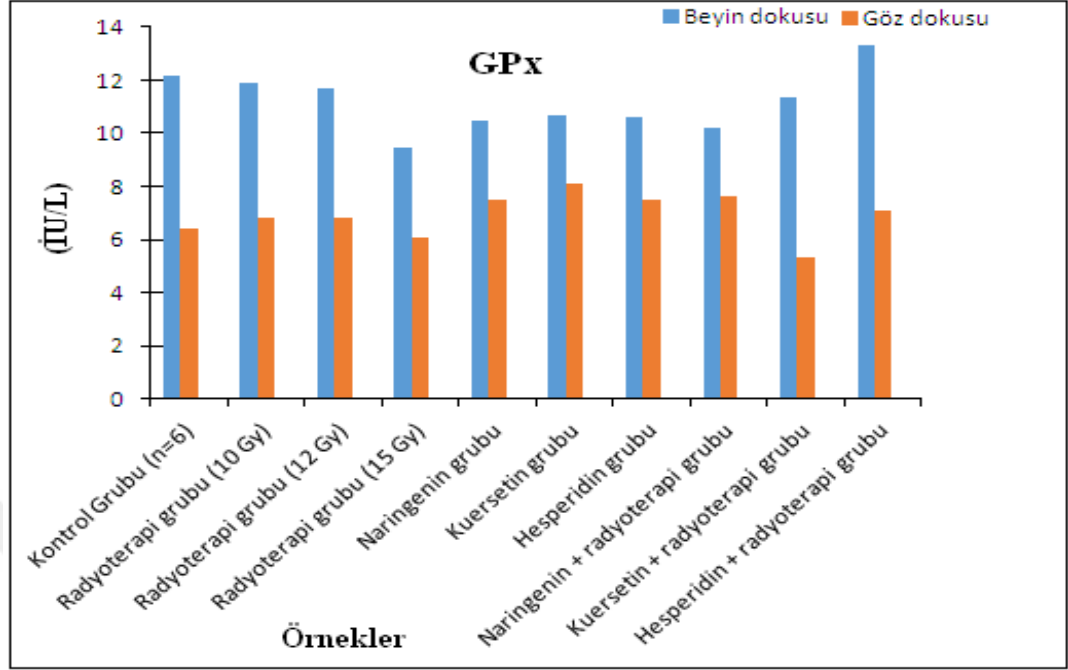
Şekil 4.4. *In vivo*'da fare beyin ve göz dokularına ait SOD sonuçları

4.8. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda SOD Üzerine Etkileri

Göz dokusu üzerine yaptığımız analiz sonuçlarına göre; radyoterapinin tek başına uygulandığı gruplardan elde edilen SOD düzeylerinde hemen hemen kontrole yakın değerler gözlenmiştir. Yani radyoterapinin tek başına uygulandığı gruplarda belirgin bir inhibisyon ya da aktivasyon gözlenmemiştir. Flavonoidlerin tek başına uygulandığı gruplarda ise naringenin diğer flavonoidlerin (kuersetin ve heperidin) aksine SOD miktarını aktive etmiştir. RT ile birlikte uygulama yapılan gruplarda ise kontrol grubuna yakın SOD düzeyleri ölçülmüştür (Şekil 4.4). Elde edilen bulgular beyin dokusundan elde edilen verilere uygun olsa da beyin dokusunda radyoterapinin inhibisyon etkisinin fazla olması ve göz dokusunda naringenin SOD aktivitesini uyarması her iki doku arasındaki temel fark olarak dikkat çekmiştir.

4.9. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda GPx Üzerine Etkileri

Glutasyon peroksidaz (GPx) hücrede oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasında ve hücreyi lipid peroksidasyonundan korumayı sağlayan selenoenzimdir. Yaptığımız çalışmanın bir parametresi de bu üç flavonoidin GPx enzimi üzerine olan etkisini beyin ve gözde incelemektir. Sadece radyoterapinin uygulandığı farelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında özellikle radyoterapi dozunun artışına paralel olarak GPx düzeyi kontrol grubuna göre önemli oranda bir azalma göstermiştir (özellikle 15 Gy uygulamasında). Üç flavonoidin ayrı ayrı uygulandığı uygulama gruplarında da bir inhibisyon söz konusudur ancak bu inhibisyon çok sınırlıdır. Flavonoidlerin GPx değerleri birbirine yakın olmakla beraber GPx düzeyi inhibisyon sırası naringenin > hesperidin > kuersetin şeklinde oluşmuştur. Flavonoidler + RT sonuçları ise naringenin + RT ve kuersetin + RT inhibisyona yol açarken hesperidin + RT uygulaması kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış göstermiştir (Şekil 4.5).



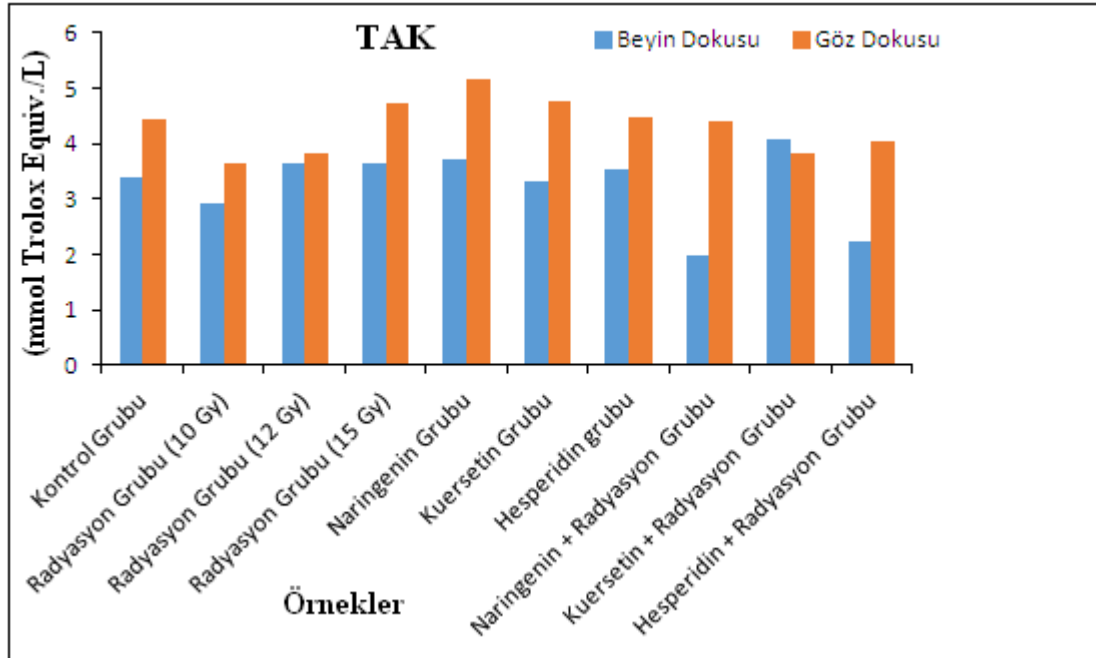
Şekil 4.5. *In vivo*'da fare beyin ve göz dokularına ait GPx sonuçları

4.10. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda GPx Üzerine Etkileri

Göz dokusu üzerinde yaptığımız analiz sonuçlarına göre; radyoterapi uygulamalarının tek başına yapıldığı gruplarda radyoterapi dozunda meydana gelen artışla birlikte GPx düzeylerinde ilk önce bir artış ancak sonrasında dozun 15 Gy olduğu grupta ise bir inhibisyon görülmüştür. Hem tek başlarına flavonoidlerin verildiği gruplar hemde RT uygulamasıyla birlikte flavonoidlerin uygulandığı grupların (kuersetin + RT grubu dışında) GPx düzeylerinde artış görülmüştür. Tek başına flavonoidlerin uygulandığı grupta GPx artırma düzeyleri arasındaki sıralama kuersetin > naringenin > hesperidin şeklinde olmuştur. RT uygulamasıyla birlikte flavonoidlerin uygulandığı kuersetin+ RT grubu GPx düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaltmıştır (Şekil 4.5).

4.11. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Beyin Dokusunda TAK Üzerine Etkileri

Toplam antioksidan kapasitesi (=TAK) miktarındaki artış ve azalışlar organizma da üretilen serbest radikal miktarına bağlı olarak değişmektedir. Yaptığımız çalışmanın parametrelerinden biri de bu üç flavonoidin TAK üzerine olan etkisini beyin ve göz dokusunda incelemektir. Sadece radyoterapinin uygulandığı farelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında özellikle radyasyon dozunun 10 Gy uygulandığı uygulama grubuna bakıldığında TAK düzeyinin kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Bunun tam tersine 12 ve 15 Gy uygulandığı uygulama gruplarında ise TAK düzeylerinde artış görülmüştür. Flavonoid uygulanan gruplara bakıldığında kuersetinin kontrol grubuna göre TAK düzeyini azalttığı görülmüştür. Diğer iki flavonoidinin ise TAK düzeyini artırdığı görülmüştür. RT'nin flavonoidlerle birlikte uygulandığı gruplarda ise kuersetin + RT grubu uygulanan farelerde TAK düzeyi artarken, diğer iki grupta azalmıştır (Şekil 4.6 ve Çizelge 4.2).



Şekil 4.6. *In vivo*'da fare beyin ve göz dokularına ait TAK sonuçları

4.12. Naringenin, Kuersetin ve Hesperedin'in Göz Dokusunda TAK Üzerine Etkileri

Göz dokusu üzerinde yaptığımız analiz sonuçlarına göre, sadece radyoterapinin uygulandığı farelerden elde edilen sonuçlara bakıldığında 15 Gy olduğu uygulama grubunda TAK düzeyi kontrol grubuna göre artış göstermesine rağmen diğer iki radyoterapi (10 ve 12 Gy) grubunda kontrol grubuna göre önemli bir azalma görülmüştür. Üç flavanoidinin ayrı ayrı uygulandığı uygulama gruplarına bakıldığında ise TAK düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Flavonoidlerin TAK düzeyindeki artış sırası naringenin > kuersetin > hesperidin şeklinde olmuştur. Radyoterapi uygulanmadan önceki flavonoid uygulamasının (Flavonoidler + RT) sonuçları ise bu üç flavonoidin tek başına uygulandığı gruplarda artan TAK düzeyini azalttığı görülmüştür. RT ile birlikte uygulama sıralaması ise kuersetin + RT > hesperidin + RT > naringenin + RT şeklinde olduğu bulunmuştur. Göz dokusundan elde edilen veriler beyin dokusundan elde edilen verilere göre çok daha belirgin değişiklikler göstermektedir (Şekil 4.6 ve Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Beyin ve göz dokularında TAK sonuçları

Deney Grupları	TAK	
	Beyin dokusu	Göz dokusu
Kontrol Grubu (n=6)	3,398936	4,420213
RT 1 grubu (10 Gy)	2,909574	3,632979
RT 2 grubu (12 Gy)	3,654255	3,819149
RT 3 grubu (15 Gy)	3,638298	4,728723
Naringenin grubu	3,702128	5,175532
Kuersetin grubu	3,324468	4,776596
Hesperidin grubu	3,542553	4,489362
Naringenin + RT grubu	1,973404	4,409574
Kuersetin + RT grubu	4,079787	3,824468
Hesperidin + RT grubu	2,223404	4,053191

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada Naringenin, kuersetin ve hesperedin flavonoid bileşiklerin *in vivo* radyo-koruyucu etkili olup olmadıkları araştırılmıştır. Tüm uygulamalar sonucunda elde edilen bulgular, bu üç flavonoidin radyo-koruyucu etkili olduğunu göstermiştir. Bu etkiler sahip oldukları antioksidan özelliklerinin yanısıra, özellikle CA ve AChE inhibisyonuna ve lipit peroksidasyonunu azaltmalarına atfedilebilir. Çalışmamızda belirlenen dozlar kullanılarak, tedavi sırasında istenmeyen yan etkiler CA ve AChE aktivitesi üzerinden azaltılabilir.

Radyasyon yaralanmaları sistemiktir; çeşitli hasar türleri, farklı organların özel organlardan gelen radiosensitivitesindeki farklılıklara atfedilebilir. Örneğin, bağışıklık sistemindeki (lenf bezleri, timus, kemik iliği ve dalak) organların yanı sıra gastrointestinal epitel hücreleri radyasyona karşı oldukça duyarlıdır. Bununla birlikte, diğer iç organlar (karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp), lokal radyoterapi alanının neden olduğu radyasyon hasarına karşı hassastır. Tıbbi görüntüleme / tedavide kullanılan radyoaktif nüklitler veya radyo kontrastlı ortamlar iç organlarda radyasyon hasarı oluşturabilir. İyonlaştırıcı radyasyon sistemik, çoklu sinyalleme yolları ile sonuçlanır; Bu nedenle, bir ajan, özel dokulara veya organlara verilen hasara karşı, diğer ajanlardan daha iyi korunmak için daha uygun olabilir. Bu nedenle, radyokoruyucu özelliği bulunan maddelerden karışım hazırlayarak radyasyon hasarına karşı korumada daha etkili ürünler elde edilebilir. Radyo-koruyucu ajanların ve hedef / sinyal yollarının (anti-apoptoz, sağkalımı destekleme, otofajiyi teşvik etme / inhibe etme, DNA onarımını destekleme, hücre döngüsü düzenlemesi, doku spesifik enzimlerin aktivatörleri veya inhibitörleri ve endojen radyasyon koruma faktörü sekresyonunun düzenleyicileri) bir tartışması radyasyona bağlı yaralanma olayını tedavi etmek için antitümör ilaçların desteklenmesinde örnek olarak sunulmuştur.

Fitokimyasallar, sindirim sistemi, karaciğer, beyin, böbrek, üreme sistemi, kemik ve deride radyokoruyucu etkileri gösterir. Ayrıca, radyasyon kaynaklı mukozal ülserler, organ fibrozisi (pulmoner fibroz, karaciğer fibrozu ve renal fibrozis), radyoaktif göz

hasarı, radyoaktif kemik hasarı ve kalp ve vasküler endotelial hasar ROS temizleyicileri tarafından zayıflatılır; ATM'nin düzenlenmesi, p53, MAPK, PI3-Akt, mTOR, TLR ve sitokin reseptörü, NF-κB, Nrf2 / ARE, Wnt / β-katenin, Notch, Hedgehog, sirt1-AMPK, Hippo-YAP, ER stresi, Ca²⁺ akışı TGF / SMAD ve reseptör tirozin kinaz (VEGF, JAK-STAT ve IGF) sinyal yolları; DNA onarımını destekler; telomeraz aktivitesini artırır; sitokin sekresyonunu düzenler; apoptoz ve nekrozu düzenler; hücre döngüsünü düzenler; ısı şoku proteinlerinin (HSP27, HSP70, HSP90 ve HSP25) ekspresyonunu düzenler; enzim aktivitesini ve ifadesini düzenler (yani, oksijenazlar, anjiyotensin dönüştürücü enzim ve aromatazlar); geçici reseptör potansiyel kanallarını inhibe eder; transplant edilmiş kök hücrelerin aktivitesini düzenler; psikolojik stresin azaltılmasını ve hormon salgısını düzenler. Dahası, sirkadiyen ritim vücudun tüm biyokimyasal süreçlerini etkiler ve organizmaların temel bir özelliğidir; bu nedenle, radyasyonun neden olduğu hasarın onarılmasında sirkadiyen ritim önemlidir. Örneğin, zamanlama, en iyi restoratif etkileri elde etmek için doğal radyoprotektif ajanların uygulanması için kritik öneme sahiptir. Fitokimyasalların radyo-koruyucu etki mekanizmalarını şöyle özetleyebiliriz:

Fitokimyasallar ATM sinyal yolağı boyunca radyokoruyucu etki gösterirler; kalkon, epikatekin, myrisetin, sakuranetin ve arbutin flavonoidleri ve genistein isoflavonu üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar DNA tamir enzimlerinin ve post-transkripsiyon değişimleri regüle ederek radyo koruyucu etki gösterebilirler; Naringenin, gallik asit, genistein, wogonin, *Hypericum* (sarı kantaron) bitkisinden elde edilen ekstraktı, *Rhamnus alaternus* (geyik dikenini) bitki ekstraktı, Ginsenoside protopanaxatriol, *Myrtus communis* (mersin bitkisi), bitkisinden izole edilen myrisetin, *Podophyllum hexandrum* (kadın tuzluğu) bitki ekstraktı, bitkisel kaynaklardan elde edilen klorofilin, blueberry, ellagik asid, astaksantin ve theaphenon DNA tamir enzimlerinin aktivitelerini arttırmıştır. Plumbagin ve kurkuminin ise telomeraz enzimi üzerine etkileri gösterilmiştir (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar p53 sinyal yolağını regüle ederek radyokoruyucu etki gösterirler. Kurkuminin gama radyasyonuna karşı koruyucu etkili olduğu periferel monoklonal kan hücrelerinde gösterilmiştir. Genistein de benzer etkiler gösterdiği insan deri fibroblast hücreleri için gösterilmiştir. Naringinin, siplatin ile indüklenmiş beyin striatum hasarına karşı koruyucu etkileri bu yolak üzerinden gösterilmiştir. Yine sliymarin p53 inhibasyonuna yol açarak doksorubisinin karaciğerde yol açtığı hasarı azaltmıştır. Siyanidin, paeonol, epigallokatektin gallat ve kukoamin ise bu mekanizmaya sahip diğer bitkisel kaynaklar arasında sayılabilir (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar radyasyon tarafından etkilenen mitozu aktive eden protein kinaz (MAPK) sinyal proteinlerini modüle ederek radyo-koruyucu etki gösterebilirler. Bu proteinler arasında ERK, p38 ve JNK sayılabilir. Fitokimyasallar ERK'nın ekspresyonunu regüle ederek hücrenin hayatta kalımını arttırlar. Fitokimyasallar radyasyon maruziyetinden sonra ERK'nın düzenlenmesini sağlarlar. Quersetin-3-O-rutinoside ERK'nın ekspresyonunu azaltıp Bax (proapoptozis proteini)'in ekspresyonunu arttırır. Böylece radyasyona karşı organlar korunmuş olur (Bansal *et al.* 2012). Fitokimyasallar p38'in ekspresyonunu azaltarak radyasyona karşı koruma sağlayabilirler. Kafeik asit fenetil esterinin p38'in baskılanması ve hücreler arası adhezyon molekülü 1 (ICAM-1)'in ekspresyonunu arttırarak iyonize radyasyonun sebep olduğu hasarı giderebileceği gösterilmiştir (Jin *et al.* 1983). Fitokimyasallar c-Jun N-terminal kinaz (JNK)'nin ekspresyonunu azaltarak radyasyon hasarını azaltabilirler. Paeoniflorin JNK, p38 ve ERK'nın ekspresyonlarını azaltarak timus hücrelerinde radyasyonun etkilerini azaltmışlardır (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar fosfoinosit 3 (PI3)-Akt sinyal yolağını aktive ederek etkilerini gösterebilirler. 4-hidroksi-3, 5-dimethoksybezadehit insan lenfoblastoid AHH-1 hücrelerinde PI3-Akt sinyalini aktive ederek radyokoruyucu etki sağlarlar. Survivin ve genistein benzer etki gösterirler (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar NF-kB sinyal yolunu inhibe ederek hücre sel hayatta kalmayı arttırabilir. *Vaccinium vitis* (=ayı üzümü), *Oxycoccus* (=turna yemişi) ve *Ribes nigrum* (=siyah

frenk üzümü) suyu radyasyonun sebep olduğu herotrombotik hastalığının oluşmasını azaltabilir. Kafeik asit apoptozisi indükleyen NF-KB'nin aktivitesini engeller (Yun and Wang 2017). NF-kB yolunu aktive ederek radyomimetik ajanlar veya hücre hasar verici maddelerden etkilenen hücrelerde koruyucu etkiler üreten radyasyon koruyucu aday gibi davranan fitokimyasallar geliştirilebilir. Naringinin bu yolaktaki etkileri daha önce yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Chtourou *et al.* 2015).

Fitokimyasallar mTOR sinyal yolağını düzenleyerek radyokoruyucu etki gösterebilirler. Otofaji, hücrenin hayatını devam ettirmesini ya da ölümünü belirlemede önemli bir rol oynar. Fitokimyasallar hasarlı dokunun rejenerasyonu hızlandırarak otofajiyi destekledikleri için radyo koruyucu olarak nitelendirilebilirler. Otofaji, hücrelerin stres hasarından sonra apoptozdan veya ölümden kaçınmasını sağlayan hücrenin kendi kendini koruması için bir mekanizmadır. Fitokimyasallar apoptozu bastırmak ve hayatta kalmayı iyileştirmek için otofajiyi destekleyebilir. 6-gingerol ve ursolik asidin mTOR yolağında etki göstererek radyo koruyucu etkili oldukları gösterilmiştir (Yun and Wang 2017). Radyasyonun, otofajiyile ilişkili 26, oksidatif stresle ilişkili 17 genin ekspresyonunu değiştirerek hücrelerdeki otofajik süreçleri değiştirdiği önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Moore *et al.* 2015). Ayrıca otofaji, radyasyona maruz kalma sonucu ortaya çıkan oksidatif biyolojik makromoleküllerden üretilen lipofusinin atılmasına da katkıda bulunur. Kuersetinin *Caenorhabditis elegans*'ta lipofusinin birikimini azalttığı bildirilmiştir (Datta *et al.* 2014).

Radyo-koruyucu ajan olarak Wnt / β -katenin agonistleri gösterilebilir. Doğal Wnt / β -katenin inhibitörlerinin antitümör etkili olarak bildirilmişlerdir (*Ginkgo biloba* ekzokarp ekstraktlarında). Doğal Wnt / β -katenin agonistlerinin ise radyokoruyucu ajanlar olduğu farzedilmektedir. İndirubin bu sinyal yolağının bir agonistidir. Radyasyona maruz kalmanın en kaçınılmaz yan etkilerinden birisi kemik kaybıdır. Soya fasüyesinin radyo koruyucu etkili olduğu daha önceleri rapor edilmiştir. Bunu Wnt / β -katenin yolağının aktivasyonu yoluyla osteoblastların farklılaşması ve proliferasyonunu indükleyerek başarırlar. Sonuç olarak, radyasyonun neden olduğu kemik kaybını önlemek için Wnt / β -katenin agonistleri olarak hareket eden soya fasulyesi izoflavonları kullanılabilir (Yun

and Wang 2017). Deneylerimizde kullandığımız naringinin de radyasyona maruz kaldıktan sonra fare kemik iliği hücrelerinde koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir (Jagetia and Reddy 2002). Aynı şekilde naringinin Wnt / β -katenin yolağını aktive ederek kemik kaybını azalttığı da gösterilmiştir (Lv *et al.* 2015).

Notch (çentik) yolağının aktivasyonu ile radyasyon hasarı azaltılabilir. Notch1 ve Notch2, glioma kök hücrelerinin radyo-direncini düzenlemede kritik bir rol oynar. Notch sinyalinin inhibisyonu, gliomanın tedavisinde radyoterapinin etkinliğinin artırılmasında umut vermektedir (Yun and Wang 2017). Soya izoflavonları, serebral kortekste Notch1 ve Hes5 ekspresyonunu düzenleyerek radyasyon kaynaklı apoptozu önleyebilir. Ayrıca, peonidin, syanidin, pelargonidin klorid ve *Ajuga turkestanica* ekstraktının bu yolağı etkileyerek koruyucu etkili oldukları gösterilmiştir (Yun and Wang 2017).

Hedgehog (kirpi) yolağının aktivasyonu ile radyasyon hasarı azaltılabilir. Hedgehog sinyal yolunun düzenlenmesi, radyasyona maruz kalan insan hepatosellüler karsinom hücrelerinde radyo-koruyucu etkilere neden olmuştur (Chen *et al.* 2011). Panaksatriol saponinlerinin, *Urtica dioica* ekstraktının ve *Scutellaria baicalensis* ten izole edilen bir flavonoid olan Baisalinin radyo koruyucu etkileri bu yolak üzerindeki etkinlikleriyle gösterilmiştir (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar SIRT1-AMPK yolağını aktivite ederek radyo koruyucu etkili olabilirler. SIRT1, inflamasyon ve yaşlanmanın, enerji metabolizmasının, mitokondriyal biyojenezin, stres regülasyonunun, hücre yaşlanmasının, apoptozun, otofajinin, endotel fonksiyonunun, sirkadyen ritim ve histon deasetilaz aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. SIRT1 düzeyleri ve aktivitesi kronik inflamasyon ve yaşlanma koşulları altında azalır. Bu nedenle, SIRT1 aktivasyonu radyasyonun neden olduğu inflamasyon ve yaşlanmayı azaltma sürecinde önemli bir rol oynayabilir. Ek olarak, radyasyona bağlı ROS üretimi, hücreler üzerinde büyük bir yük oluşturabilir. ROS birikimi, SIRT1 nakavt farelerinde teşvik edilir. SIRT1'in yükseltilmesinin, radyasyona maruz kaldıktan sonra oluşan ROS'un atılması için uygun olduğunu düşündürmektedir

(Xie *et al.* 2015). Vitamin D, resveratrol ve *Panax japonicus* den elde edilen saponinlerin radyo koruyucu etkileri bu yolak üzerindeki etkinliklerine bağlanmıştır (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar, kalsiyum girişini engelleyerek radyo koruması sağlayabilirler. Ca²⁺ sinyal yolağı, apoptozun, hücre büyümesinin ve farklılaşmasının düzenlenmesi de dahil birçok hücrel aktivitede önemli bir rol oynar. Kalsiyum kanal blokerleri, radyoterapi ile tedavi edilen kolon kanseri hastalarında rektal kanamayı önler. STW5 (çok bileşenli bir bitkisel preparasyon) ve *Cratoxylum cochinchinense* ekstraktlarının ROT ve kalsiyum salınımını azaltıp radyo-koruyucu adaylar olarak geliştirilebilecekleri bildirilmiştir (Khayyal *et al.* 2014).

Fitokimyasallar, TGF / SMAD yolağını inhibe ederek radyo koruyucu etki oluşturabilirler. Organ fibrozisi, hücre dışı matriks (ECM) elemanlarının sentezi ve yıkımı arasındaki dengesizlikten kaynaklanan ve sonuçta bu elemanların birikimi sonucu oluşur. Bu fenomen ayrıca radyasyon kaynaklı pulmoner fibrozisi, renal fibrozisi ve karaciğer fibrozunu da açıklar. TGFβ1 radyasyon kaynaklı fibroziste önemli bir rol oynar. SMAD proteinleri ise TGF / SMAD yolağında yer alan önemli habercilerdir. TGFβ1'nin ekspresyonu radyasyon maruziyeti sonrası arttırılır. Bu nedenle, TGFβ1'in ekspresyonunun azaltılması, radyasyon kaynaklı organ fibrozisini hafifletmeye yardımcı olabilir. Pentoksifyllin ve tokoferol kombinasyonlarının, *Aloe vera* bitki ekstraktlarının ve kaempferol inhibitörlerin bu yolak üzerindeki etkileri gösterilmiştir (Yun and Wank 2017).

Fitokimyasalların radyasyona bağlı apoptosise ve hücre nekrozuna karşı koruyucu etkileri vardır. Bcl-2, Bax, p53 ve Mcl-1 (Miyeloid lösemi hücresi farklılaşma geni) genleri apoptosis ve nekroz ile ilişkili başlıca genlerdir. Mcl-1, bir antiapoptotik faktör olup insan CD34⁺ hücrelerinde isokuersetin muameliyle ekspresyonun azaltılarak hastalığın tedavi edildiği rapor edilmiştir (Li *et al.* 2016).

Fitokimyasallar, hücre döngüsünü düzenleyerek radyasyon hasarlı hücreleri koruyabilirler. Radyasyon, hücre döngüsünün G1 ve G2'nin durdurulmasına veya S fazının gecikmesine neden olabilir. Farklı fitokimyasalların hücre döngüsünün önlenmesi üzerine farklı etkileri mevcuttur. Fitokimyasallar G0 / G1 fazı sırasında hücre döngüsünün bloke edilmesini düzenleyerek radyasyon hasarlı hücreleri korurlar. *Hohenbuehelia serotina*'dan elde edilen polisakkaritler dalak hücrelerinde G0 / G1 blokajını azaltır (Yun *et al.* 2017). Ayrıca, *Lactobacillus brevis* fermente edilmiş *Ecklonia cava*'dan izole edilen polisakkaritler, sub-G1 fazı sırasında radyasyonla indüklenen hücre döngüsü tutulumunu azaltırlar (Lee *et al.* 2013). Fitokimyasallar G2 / M fazı sırasında hücre döngüsünün bloke edilmesini düzenleyerek radyasyon hasarlı hücreleri korurlar. *Podophyllum hexandrum* ekstraksiyonu insan periferik kan kültüründe hücre döngüsünün G2/M fazının blokesini azaltmıştır (Dutta *et al.* 2016). Benzer şekilde *Cnidium officinale makino* ve *Ligusticum chuanxiong hort* dan elde edilen esansiyel yağlar, p21'in ifadesini azaltarak, siklin D1'in ekspresyonunu yükselterek ve hücre döngüsünün blokajını azaltarak hücreleri UV B-kaynaklı hasardan koruduğu bildirilmiştir (Yun and Wang 2017).

Fitokimyasallar, HSP'lerin ekspresyonunu yükselterek radyasyon hasarlı hücreleri korurlar. HSP'ler (HSP27, HSP70 ve HSP90), kemoterapide dahil olmak üzere, fizyolojik ve çevresel stresörlere yanıt olarak uyarılır ve böylece hücrenin, ölümcül koşullara rağmen hayatta kalmasına izin veren ısı şok proteinleridir. Koniferil aldehit, *Podophyllum hexandrum* ve *Arnica montana* ekstraktları farklı HSP'leri aktivite ederek radyasyona karşı koruyucu etkiler göstermiştir (Yun *et al.* 2017).

Son olarak fitokimyasallar, immünomodülatörler olarak işlev görerek radyasyon hasarlı hücreleri ve / veya organları korurlar. Fitokimyasallar enzim aktivitesini düzenleyerek radyasyondan zarar görmüş hücreleri ve / veya organları korurlar. Psoralidin, COX-2 ve 5-lipoksijenaz aktivitesini inhibe ederek ve TGF- β 'nin ekspresyonunu azaltarak akciğer dokusunda radyo-koruyucu etkiler sağladığı ve böylece radyasyonun neden olduğu pulmoner fibrozu azalttığı rapor edilmiştir (Yang *et al.* 2011).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, klinik uygulamalarda az yan etkisi olan bir antihipertansif ilaç sınıfıdır. Captopril, genistein ile kombine edildiğinde radyasyonun neden olduğu kalp ve damar hasarlarına karşı pro-inflamatuar sitokinlerin TNF- α ve IL-10 üretimini ve böylece oksidatif stresin azaltılmasını içeren bir mekanizma ile koruma sağlayan bir ilaçtır. Benzer etkiyi ramipril de gösterir. *Ficus exasperata* yapraklarından elde edilen fenolik bileşikler (Oboh *et al.* 2014) ve üzüm kabukları (Ademosun *et al.* 2015) doğal anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri olarak radyokoruyucu etkiler gösterebilir.

Kandaki lipit düzeyini düşürücü ajan olarak kullanılan statinler (HMG-CoA redüktaz inhibitörleri) radyo koruyucu maddeler olarak kullanılabilir. Bir *Amaranthus viridis* yaprak ekstraktının antihiperkolesterolemi ajan olarak potansiyeli vardır. Antioksidan kapasitesinin varlığı ve anti-HMG-CoA redüktaz özelliklerinden dolayı bir radyoprotektif aday olarak kabul edilebilir (Fritz *et al.* 2011).

Bir anti-tümör ajanı olan fenilbutiratın, bir fare modelinde radyo-koruyucu etki ile bir histon deasetilaz inhibitörü olarak etki ettiği gösterilmiştir (Yun and Wang 2017).

Glikoz 6-fosfat dehidrojenaz aktivitesi dalakta radyasyona maruz kalmak suretiyle azaltılabilir. Chrysin, glikoz 6-fosfat dehidrojenaz aktivitesini artırarak bağırsak hasarına karşı koruyucu etkili olduğu gösterilmiştir (Khan *et al.* 2012).

Yukarıda özetlemeye çalıştığımız fitokimyasal maddelerin radyo-koruyucu etki mekanizmalarından en önemlisi belki de enzim aktivitesini düzenleyerek radyasyondan zarar görmüş hücreleri ve / veya organları korumalarıdır. Yaptığımız bu çalışmada özellikle CA ve AChE enzim aktivitelerini modüle eden naringenin, kuersetin ve hesperidinin ilk kez bu iki enzim üzerindeki etki mekanizmaları aydınlatılmıştır.

Karbonik anhidraz enzimleri, solunum, pH ve CO₂ homeostazisi, CO₂ / HCO₃⁻ taşınması, çeşitli organ ve dokularda elektrolit salgılanması, kemiğin yeniden modellenmesi, biyosentetik reaksiyonlar ve kireçlenme ile ilgili birçok fizyolojik süreçte

rol oynarlar (Bulut *et al.* 2018). Bu aktivitelere katılan CA'ların inhibisyonu, glokom, ödem, epilepsi, obezite, kanser ve ağrı gibi bir dizi rahatsızlığın tedavisinde önemli bir potansiyel barındırmaktadır. CA'ları inhibe etmek için biskalkon, kumarin ve benzensülfonamidler gibi çok sayıda kimyasal ligand kullanılmıştır (Cağlayan and Gülçin 2018). CA üzerine yapılan bir çalışmada, solunum yolu enfeksiyonu antibiyotiklerinin ve çeşitli bronkodilatör ilaçların insan eritrosit CA enzim aktivitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. CA I ve CA II aktiviteleri, çeşitli seviyelerde ilaç bileşikleri tarafından inhibe edilmiştir (Koçyiğit *et al.* 2018). Başka bir araştırmada ise bazı sülfonamid moleküllerinin balıklarda solungaç CA'sı üzerindeki inhibitör etkileri belirlenmiştir (Yamali *et al.* 2018). Bu çalışmaların sonuçları yaptığımız çalışmanın sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, tamamen örtüşen durumlarda benzer etkilerin tespit edildiği sonucuna varılabilir.

AChE'nin insan beyin hücreleri içindeki asetilkolin (ACh) hidrolizinden sorumlu olduğu iyi bilinmektedir (Türkan *et al.* 2018). Bu nedenle, bu enzimin inhibitörünün uygulanması, özellikle Alzheimer hastalarının beyinlerindeki asetil kolin konsantrasyonunu arttırarak tedavilerine avantaj sağlayacaktır (Türkan *et al.* 2018). Sonuç olarak bu enzimin inhibitörlerinin birçok hastalık için tedavi edici yaklaşımlar sunacağına inanılmaktadır. Gerçekten de, spesifik asetilkolinesteraz enzim inhibitörlerinin keşfi, ilaç geliştiricilerin ilgisini çekmektedir. Son zamanlarda, klinikte dört kolinesteraz inhibitörü kullanılmıştır. Bunların arasında galantamin, takrine ve donepezil selektif asetilkolinesteraz inhibitörü iken, rivastigmin çift AChE-BChE inhibe edici bir bileşik olduğu bildirilmiştir (Rezai 2018). Başka bir çalışmada, timol ve karvakrolün inhibitör etkileri, *Drosophila melanogaster*'in asetilkolinesteraz enzimi üzerinde in vivo ve in vitro olarak araştırılmıştır. İnhibitör etki gösteren maddeler için IC₅₀ değerleri Ki sabitleri ve inhibisyon tipleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, karvakrolün timolden daha etkili bir inhibitör olduğu sonucuna varılmıştır (Aşkın *et al.* 2017).

Sonuç olarak, genomik, fitokimya, farmakoloji, proteomik, mikrobiyoloji, ilaç mühendisliği ve diğer ilgili çalışma alanlarını derinleştirerek, bitki kaynaklı radyoprotif

adayların tespiti ve çeşitli preparasyonların hazırlanarak tedavi amaçlı kullanılmaları insan sağlığı için büyük önem taşımaktadır. Yaptığımız bu çalışma ile literatüre değerli bir katkı sağladığımızı umuyoruz.



KAYNAKLAR

- Abdel-Raheem, I.T., and Abdel-Ghany, 2009. Hesperidin Alleviates Doxorubicin Induced Cardiotoxicity in Rats. *J. Egypt. Natl. Canc. Inst.* 21: 175-184.
- Ademosun, A.O., Oboh, G., Passamonti, S., Tramer, F., Ziberna, L., Boligonc, A.A., Athaydec, M.L., 2015. Phenolics from Grapefruit Peels Inhibit HMG-CoA Reductase and Angiotensin-I Converting Enzyme and Show Antioxidative Properties in Endothelial EA. Hy 926 Cells, *Food Sci. Hu. Wellness* 4 (2): 80–85.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları. Konya.
- Aksu, K., Özgeriş, B., Taslimi, P., Naderi, A., Gülçin, I., Göksu, S., 2016. *Archiv der Pharmazie.* 349(12), 944-954.
- Ali, Y.F., Desouky, O.S., Selim, N.S., Ereiba, K.M., 2015. Assessment of the Role of α -Lipoic Acid Against the Oxidative Stress of Induced Iron over Load, *J. Radiat. Res.Appl. Sci.* 8 (1): 26–35.
- Aşkın, H., Yıldız, M., Ayar, A., 2017. Effects of Thymol and Carvacrol on Acetylcholinesterase from *Drosophila Melanogaster*. *Acta Physica Polonica A.* 132 (3): 720-722.
- Aybey, B., Tufan, H., Ergenekon, G., 1996. Serbest Radikaller. *Türkderm*, 30: 116-122.
- Aydemir, B., ve Karadağ S.E., 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. Kocatepe Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Afyon.
- Babior, B.M., 2000. Phagocytes and Oxidative Stress. *The American Journal of Medicine.* 109 (1): 33-44.
- Bansal, P., Paul, P., Kunwar, A., Jayakumar, S., Nayak, P.G., Priyadarsini, K.I., Unnikrishnan, M.K., 2012. Radioprotection by Kuersetin-3-O-Rutinoside, A Flavonoid Glycoside – A Cellular and Mechanistic Approach. *Journal Of Functional Foods.* 4:924-932
- Begum, N., and Prasad, R., 2012. Apigenin, A Dietary Antioxidant, Modulates Gamma Radiation-Induced Oxidative Damages In Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Biomedicine and Preventive Nutrition.* 2 (1): 16-24
- Booth, A.N., Murray, C.W., Jones, F.T., Deeds, F.,1956. The Metabolic Fate of Rutin And Kuersetin in The Animal Body. *Federation Pro C.* 18:251-257.
- Bors, W., Heller, W., Michel, C., Saran, M., 1990. Flavonoid as Antioxidants: Determination of Radical-Scavenging Efficiencies Methods in *Enzimology*, 186:343-355.
- Budak, Y., Koçyigit, U. M., Gurdere, M. B., Özcan, K., Taslimi, P. Gülçin, İ., Ceylan, M., 2017. *Synth. Commun.* 47: 2313-2323.
- Bulut, N., Koçyiğit, U. M., Gecibesler, I. H., Daştan, Karci, T., H., Taslimi, P., Dastan, S. D., Gülçin, I., Cetin, A., 2018. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*
- Büyükben, A., 2014. Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Protein ve DNA Hasarı Üzerine Kuersetinin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın Üniversitesi.

- Cao, E.H., Liu, X.Q., Wang, J.J., Xu, N.F., 1996. Effect of natural antioxidant tanshinone II-A on DNA damage by lipid peroxidation in liver cells, *Free Radic. Biol. Med.* 20: 801–806.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F., 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull.* 49(3), 481-93.
- Chen, Y.J., Lin, C.P., Hsu, M.L., Shieh, H.R., Chao, N.K., Chao, K.S., 2011. Sonic Hedgehog Signaling Protects Human Hepatocellular Carcinoma Cells Against Ionizing Radiation in an Autocrine Manner, *Int. J. Radiat. Oncol.* 80 (3): 851–859.
- Chiba, H., Uehara, M., Wu, J., Wang, X., Masuyama, R., Suzuki, K., Kanazawa, K., Ishimi, Y., 2003. Hesperidin, a Citrus Flavonoid, Inhibits Bone Loss and Decreases Serum And Hepatic Lipids in Ovariectomized Mice. *J of Nutr.* 133(6): 1892–189.
- Choi, E.J., 2007. Hesperetin Induced G1-Phase Cell Cycle Arrest in Human Breast Cancer MCF-7 Cells: Involvement of CDK4 and p21. *Nutrition and Cancer.*
- Chow, J., Shen, S., Huan, S.K., Lin, H., Chen, Y., 2005. Kuersetin, But not Rutin and Quercitrin, Prevention Of H₂O₂ – Induced Apoptosis via Anti-Oksidant Activity and Heme Oxigenase 1 Gene Expression in Macrophages. *Biochemical Pharmacology*; 69, 1839-185.
- Chtourou, Y., Aouey, B., Kebieche, M., Fetoui, H., 2015. Protective Role of Naringin Against Cisplatin Induced Oxidative Stress, Inflammatory Response and Apoptosis in Rat Striatum via Suppressing ROS-Mediated NF-Kb and P53 Signaling Pathways. *Chemico-Biological Interactions.* 239:76-86.
- Cihan, Y.B., Arsav, V., Göçen E., 2011. Radyasyonun İndüklediği Beyin Hasarına Karşı Arı Sütünün Koruyucu Etkisi. *Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Bölümü, Kayseri.* 475-486.
- Cook, N.C., and Samman, S., 1996. Flavonoids. Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects and Dietary Sources. *J Nutr Bioche.* 7: 66–76.
- Datta, K., Suman, S., Fornace Jr., A., 2014. Radiation Persistently Promoted Oxidative Stress, Activated Mtor via PI3K/Akt, and Down regulated Autophagy Pathway in Mouse İntestine, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 57: 167–176.
- Davies, M., 2012. Free Radicals, Oxidant and Protein Damage. *Australian Biochemist.* 43: 8-12.
- Dawn, B.M., Allan, D.M., Colleen, M.S., 1996. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Deaton, C.M., and Marlin, D.J., 2003. Exercise Associated Oxidative Stress. *Clinical Techniques Equine Practice.* 2(3): 278-291.
- Demir, H., and Türkoğlu, V., 2005. Effects of Neostigmine Methylsulphate on Enzyme Activity of Acetylcholinesterase in Rat Serum, Plazma, Muscle and Liver *İn-Vivo.* *Scandinavian Journal Of Laboratory Animal Science.* 32, 1, 25-30.
- Dirican, B., 2001. Radyoterapi Teknikleri, TAEK: 1.Ulusal Parçacık Hızlandırıcı ve Uygulamaları Kongresi, Ankara.
- Dixit, A.K., Bhatnagar, D., Kumar, V., Chawla, D., Fakhrudin, K., 2012. Antioxidant Potential and Radioprotective Effect of Soy İsoflavone Against Gamma İrradiation İnduced Oxidative Stress, *J. Funct. Foods* 4 (1): 197–206.

- Donald, E., Valentina, W.N., Valentina, P., 1967. Studies on the Quantitative Characterization of Erythrocyte Glutathione Peroxidase. *J. Lab & Clin Med.* 70: 158-169.
- Dong, W.W., Liu, Y.J., Lv, Z., Mao, Y.F. Wang, Y.W., Zhu, X.Y., Jiang, L., 2015. Lungendothelial Barrier Protection by Resveratrol Involves Inhibition of HMGB1 Release And HMGB1-Induced Mitochondrial Oxidative Damage via an Nrf2- Dependent Mechanism, *Free Radic. Biol. Med.* 88 (Part B) :404–416.
- Dutta, S., Yashavardhan, M.H., Srivastava, N.N., Ranjan, R., Bajaj, S., Kalita, B., Singh, A., Flora, S.J., Gupta, M.L., 2016. Countering Effects of a Combination of Podophyllotoxin, Podophyllotoxin B-D-Glucoside and Rutin Hydrate in Minimizing Radiation Induced Chromosomal Damage, ROS and Apoptosis in Human Blood Lymphocytes, *Food Chem. Toxicol.* 91: 141–150.
- Dündar, Y., ve Aslan, R., 2000. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları.* 29 : 95-101.
- Dziegielewska, J., Baulch, J.E., Goetz, W., Coleman, M.C., Spitz, D.R., Murley, J.S., Grdina, D.J., Morgan, W.F., 2008. WR-1065, The Active Metabolite of Amifostine, Mitigates Radiation-Induced Delayed Genomic Instability, *Free Radic. Biol. Med.* 45 (12) :1674–1681.
- Ehnert, S., Braun, K.F., Buchholz, A., Freude, T., Egaña, J.T., Schenck, T.L., Schyschka, L., Neumaier, M., Döbele, S., Stöckle, U., Nussler, A.K., 2012. Diallyl-Disulphide is the Effective Ingredient of Garlic Oil That Protects Primary Human Osteoblasts From Damage Due to Cigarette Smoke, *Food Chem.* 132: 724–729.
- Ekici, L., ve Sağdıç, O. 2008. Serbest Radikaller ve Antioksidan Gıdalarla İnhibisyonu. *Gıda Dergisi*, Vol. 33 (5): 251-260.
- Erlund, I., Meririnne, E., Alfthan, G., Aro, A., 2001. Plasma Kinetics and Urinary Excretion of the Flavanones Naringenin and Hesperetin in Humans After Ingestion of Orange Juice and Grapefruit Juice. *The Journal of Nutrition.* 131;235-24.
- Evans, P., Lyras, L., Halliwell, B., 1999. Measurement of Protein Carbonyls in Human Brain Tissue. *Methods Enzymol.* 300: 145-156.
- Fang, C., 2007. Characterization of Polyphenol Oxidase and Antioxidants From Pawpaw (*Asimina Tribola*) Fruit.
- Formica, J.V., Regelson, W., 1995. Review of the Biology of Quercetin and Related Bioflavonoids. *Fd. Chem. Toxic.* 33 (12):1061-1080.
- Frank, L., 1985. Oxygen Toxicity in Eukaryotes. In: *Superoxide Dismutase, Pathological States.* Ed. Oberly, L.W. Boca Raton, CRC Pres. 3: 1-43.
- Fritz, G., Henninger, C., Huelsenbeck, J., 2011. Potential Use of HMG-CoA Reductase Inhibitors (Statins) as Radioprotective Agents, *Br. Med. Bull.* 97 (2011) 17–26.
- Gao, K., Henning, S.M., Niu, Y., Youssefian, A.A., Seeram, N.P., Xu, A., Heber, D., 2006. The Citrus Flavonoid Naringenin Stimulates DNA Repair in Prostate Cancer Cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 17 (2): 89-95.
- Gibellini, L., Pinti, M., Nasi, M., Montagna, J.P., Biasi, S.D., Roat, E., Bertoncelli, L., Cooper, E.L., Cossarizza, A., 2011. Quercetin and Cancer Chemoprevention. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*

- Göçer, H., and Gülçin İ., 2013. Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE): A Potent Carbonic Anhydrase Isoenzymes Inhibitor. *International Journal of Academic Research*.
- Göçer, H., Topal, T., Topal, M., Küçük, M., Teke, D., Gülçin, I., Alwasel, S. H., Supuran, C. T., 2016. *J Enzyme Inhib Med Chem*.
- Groot, H., Rauen, U., 1998. Tissue Injury by Reactive Oxygen Species and the Protective Effects Of Flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol*. 12: 249-55.
- Guliyev, V.B., ve Harmandar M., 1999. Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık, İstanbul.
- Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., 2014. Oxidative Stress and Antioxidants in Disease and Cancer: A Review. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:4405-4409.
- Gutteridge, J.M., and Halliwell, B., 1990. Role of Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: an Overview. *Methods Enzymol*, 186: 1-85.
- Gülbahar, Ö., 2007. Protein Oksidasyonunun Mekanizması, Önemi ve Yaşlılıkla İlişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*. 10 (1): 43-48.
- Hall, E.J., 2000. Acute Effect of Total Body Irradiation. In: *Radiobiology for the Radiologist*. 130– 131.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., Cross, C.E., 1992. Free Radicals, Antioxidants and Human Disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 119 (6): 598-620.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. *J Nutr Biochem*. 13 (10): 572-584.
- Hollman, P.C., and Katan M.B., 1999. Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. *Food Chem Toxicol*, 37 (9-10): 937-942.
- Hui, Z., Sha, D.J., Wang, S.L., Li, C.S., Qian, J., Wang, J.Q., Zhao, Y., Zhang, J.H., Cheng, H.Y., Yang, H., Yu, L.J., Xu, Y., 2017. Panaxatriol Saponins Promotes Angiogenesis and Enhances Cerebral Perfusion After Ischemic Stroke in Rats, *BMC Complement. Altern. Med*.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş., Gülçin, I., 2017. *J Biochem Mol Toxicol*.
- Iranshahi, M., Rezaee, R., Parhiz, H., Roohbakhsh, A., Soltani, F., 2015. Protective Effects of Flavonoids Against Microbes and Toxins: The Cases of Hesperidin and Hesperetin. *Life Science*.
- Irmey, G., 2005. 110 Wirksame Behandlungsmöglichkeiten bei. *Almanya*.
- Jagetia, G.C. and Reddy, T.K., 2002. The Grapefruit Flavanone Naringin Protects Against the Radiation Induced Genomic Instability in the Mice Bone Marrow: A Micronucleus Study, *Mutat. Res.–Genet. Toxicol. Environ*. 519 (1–2): 37–48.
- Jia, Y., Ji, L., Zhang, S., Xu, L., Yin, L., Li, L., Zhao, Y., Peng, J., 2012. Total Flavonoids from *Rosa Laevigata Michx Fruit* Attenuates Hydrogen Peroxide Induced Injury in Human Umbilical Vein Endothelial Cells, *Food Chem. Toxicol*. 50: 3133–3141.
- Jin, L.G., Chu, J.J., Pang, Q.F., Zhang, F.Z., Wu, G., Zhou, L.Y., Zhang, X.J., Xing, C.G., 1983. Caffeic Acid Phenethyl Ester Attenuates Ionize Radiation-Induced Intestinal Injury Through Modulation of Oxidative Stress, Apoptosis and p38MAPK in Rats. *Birkh Auser*. 40 (1): 359-366.
- Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T., 2002. Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 3: 1-8.

- Kalousova, M., Skrha, J., Zima, T., 2002. Advanced Glycation End-Products and Advanced Oxidation Protein Products in Patients With Diabetes Mellitus. *Physiol Res.* 51: 597604.
- Kalpana, K.B., Devipriya, N., Srinivasan, M., Menon, V.P., 2009 Investigation of the Radioprotective Efficacy of Hesperidin Against Gamma-Radiation Induced Cellular Damage in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes, *Mutat. Res.* 676; 54–61.
- Kamaraj, S., Ramakrishnan, G., Anandakumar, P., Jagan, S., 2008. Antioxidant and Anticancer Efficacy of Hesperidin in Benzo(A)Pyrene Induced Lung Carcinogenesis in Mice. *Invest New Drugs, Hindistan.*
- Kampkötter, A., Nkwonkam, C.G., Zurawski, R.F., Timpel, C., Chovolou, Y., Watjen, W., Kahl, R., 2007. Investigations of Protective Effects of The Flavonoids Quercetin and Rutin on Stress Resistance in the Model Organism *Caenorhabditis elegans*. *Toxicology.* 234: 113–123.
- Kandikattu, H.K., Rachitha, P., Krupashree, K., Jayashree, G.V., Abhishek, V., Khanum, F., 2015. LC-ESI-MS/MS Analysis of Total Oligomeric Flavonoid Fraction of *Cyperus Rotundus* And Its Antioxidant, Macromolecule Damage Protective And Antihemolytic Effects LC-ESI-MS/MS, *Pathophysiology* 22: 165–173.
- Kannappan, S., Palanisamy, N., Anuradha, CV. 2010. Suppression of hepatic oxidative events and regulation of eNOS expression in the liver by naringenin in fructose administered rats. *European Journal of Pharmacology*, 645(1-3), 177-184.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2005. *Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum.*
- Khan, R., Khan, A.Q., Qamar, W., Lateef, A., Tahir, M., Rehman, M.U., Ali, F., Sultana, S., 2012. Chrysin Protects Against Cisplatin-Induced Colon. Toxicity via Amelioration of Oxidative Stress And Apoptosis: Probable Role of p38MAPK and p53, *Toxicol. Appl. Pharm.* 258 (3): 315–329.
- Khayyal, M.T., Abdelnaby, D.H., Abdelazi, H., Elghazaly, M.A., 2014. A Multi-Component Herbal Preparation, STW5, Shows Anti-Apoptotic Effects in Radiation Induced Intestinal Mucositis in Rats, *Phytomedicine* 21 (12): 1390–1399.
- Kocabaş, N., 2008. Homosisteinin İndüklediği Oksidatif Stres Üzerinde Kuersetinin Koruyucu Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, *Biyokimya A.B.D. Afyonkarahisar.*
- Koçyiğit, U.M., 2018. Inhibitory Effects of Some Drugs on Carbonic Anhydrase Enzyme Purified From Kangal Akkaraman Sheep in Sivas, Turkey. *Journal Of Biochemical And Molecular Toxicology*, 32 (1).
- Kopáni, M., Celec, P., Danisovic, L., Michalka, P., Biró, C., 2006. Oxidative Stress and Electron Spin Resonance. *Clin Chim Acta.* 364: 61-66.
- Kruger, M.J., Davies, N., Myburgh, K.H, Lecour, S., 2014. Proanthocyanidins, Anthocyanins and Cardiovascular Disease. *Food Research International.* 59: 41-52.
- Kumar, M., Chandel, M., Sharma, N., Kumar, S., Kaur, S., 2012. Efficacy of Golden Rain Tree Against Free Radicals And H₂O₂ Induced Damage to Puc18/Calf Thymus DNA, *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2: 781–787.

- Lata, M., Prasad, J., Singh, S., Kumar, R., Singh, L., Chaudhary, P., 2009. Whole Body Protection Against Lethal Ionizing Radiation in Mice by REC-2001: A Semi Purified Fraction of *Podophyllum Hexandrum*. *Phytomedicine*. 16: 47–55.
- Lee, W., Ahn, G., Lee, B.J., Wijesinghe, W.A., Kim, D., Yang, H., Kim, Y.M., Park, S.J., Jee, Y., Jeon, Y.J., 2013. Radio-Protective Effect of Polysaccharides Isolated from *Lactobacillus Brevis*-Fermented *Ecklonia Cava*, *Int. J. Biol. Macromol.* 52:260–266.
- Li, X.H., Ha, C.T., Xiao, M., 2016. MicroRNA-30 Inhibits Antiapoptotic Factor Mcl-1 in Mouse and Human Hematopoietic Cells After Radiation Exposure, *Apoptosis* 21 (6): 708–720.
- Lv, J., Sun, X., Ma, J., Xing, G., Wang, Y., Sun, L., Wang J., Li F., Li, Y., 2015. Involvement of Periostin Sclerostin Wnt/B-Catenin Signaling Pathway in The Prevention of Neurectomy-Induced Bone Loss by Naringin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 468:587-593.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*: 15 (1-2): 91-96.
- Milani, V., 2006. Effects of Thermal Stress on Tumor Antigenicity and Recognition by Immune Effector Cells. *Cancer Immunol Immunother.* 55(3): 312-9.
- Mishra, O.P., Popov, A.V., Pietrofesa, R.A., Christofidou-Solomidou, M., 2016. Gamma-Irradiation Produces Active Chlorine Species (ACS) in Physiological Solutions: Secoisolariciresinol Diglucoside (SDG) Scavenges ACS – a Novel Mechanism of DNA Radioprotection u, *BBA-Gen. Subj.* 1860 (9): 1884–1897.
- Moore, M.N., Shaw, J.P., Ferrar Adams, D.R., Viarengo, A., 2015. Anti-Oxidative Cellular Protection Effect of Fasting-Induced Autophagy as a Mechanism for Hormesis, *Mar. Environ. Res.* 107:35–44.
- Mruk, D.D., Silvestrini, B., Meng-Yun, M.O., Cheng, C.Y., 2002. Antioxidant Superoxide Dismutase. A Review: Its Function, Regulation in the Testis, and Role in Male Fertility. *Contraception*. 65(4): 305-311.
- Nalini, N., Aranganathan, S., Kabalimurthy, J., 2012. Chemopreventive Efficacy of Hesperetin (Citrus Flavonone) Against 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Rat Colon Carcinogenesis. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 22(5): 397-408.
- Oboh, G., Akinyemi, A.J., Osanyinlusi, F.R., Ademiluyi, A.O., Boligon, A.A., Athayde, M.L., 2014. Phenolic Compounds From Sandpaper (*Ficus Exasperata*) Leaf Inhibits Angiotensin 1 Converting Enzyme in High Cholesterol Diet Fed Rats, *J. Ethnopharmacol.* 157: 119–125
- Ohkawa, H., Ohishi N., Yagi, K., 1979. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbutic Acid Reaction. *Anal Biochem.* 95: 351-358.
- Olejnik, A., Rychlik, J., Kidon, M., Czapski, J., Kowalska, K., Juzwa, W., Olkowicz, M., Dembczynski, R., Moyer, M.P., 2016. Antioxidant Effects of Gastrointestinal Digested Purple Carrot Extract on the Human Cells Of Colonic Mucos, *Food Chem.* 190: 1069–1077.
- Orbea, A., Fahimi, H.D., Cajaraville, M.P., 2000. Immunolocalization of Four Antioxidant Enzymes in Digestive Glands of Molluscs and Crustaceans and Fish Liver. *Histochem Cell Biol.* 114(5): 393-404.
- Özcan, P., Fıçıcıoğlu, C., Yıldırım, K. Ö., Özkan, F., Akkaya, H., Aslan, I., 2015. Protective Effect of Resveratrol Against Oxidative Damage to Ovarian Reserve in Female Sprague–Dawley Rats, *Reprod. Biomed. Online* 31 (3) :404–410.

- Özdem, S.S. ve Sadan, G., 1994. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu ve Klinik Açısından Önemi. *Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak. Derg.*, 11, 63-71.
- Parihar, V.K., Dhawan, J., Kumar, S., Manjula, S.N., Subramanian, G., Unnikrishnan, M.K, Rao, C.M., 2007. Free Radical Scavenging and Radioprotective Activity of Dehydrozingerone Against Whole Body Gamma Irradiation in Swiss Albino Mice, *Chem.–Biol. Interact.* 170 (1): 49–58.
- Park, E., Ahn, G., Yun, J.S., Kim, M.J., Bing, S.J., Kim, D.S., Lee, J., Lee, N.H., Park, J.W., Jee, Y., 2010. Dieckol Rescues Mice From Lethal Irradiation by Accelerating Hemopoiesis and Curtailing Immunosuppression, *Int. J. Radiat Biol.* 86 (10): 848–859.
- Patel, S.S., Mahindroo, N., Udayabanu, M., 2016. *Urtica Dioica* Leaves Modulates Hippocampal Smoothed-Glioma Associated Oncogene-1 Pathway And Cognitive Dysfunction in Chronically Stressed Mice, *Biomed. Pharmacother.* 83; 676-686.
- Raffa, D., Maggio, B., Raimondi, M.V., Plescia, F., Daidone, G., 2017. Recent Discoveries of Anti-cancer Flavonoids. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 142: 213-228.
- Rao, R.S., and Moller, I.M., 2011. Pattern of Occurrence and Occupancy of Carbonylation Sites in Proteins. *Proteomics.* 11:4166-4173.
- Renugadevi, J., Prabu, S.M., 2009. Naringenin Protects Against Cadmium-Induced Oxidative Renal Dysfunction in Rats, *Toxicology.* 256: 128-134.
- Rezai, M., 2018. The First Synthesis and Antioxidant and Anticholinergic Activities of 1-(4,5-Dihydroxybenzyl) Pyrrolidin-2-One Derivative Bromophenols Including Natural Products. *Turkish Journal Of Chemistry,* 42, 808-825.
- Rickli, E.E., Ghazanfar, S.A.S., Gibbons, B.H. and Edsall, J.T., 1964. Carbonic Anhydrases from Human Erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry.* 239: 1065-1078.
- Roohbakhsh, A., Parhiz, H., Soltani, F., Rezaee, R, Iranshahi, M., 2014. Neuropharmacological Properties and Pharmacokinetics of the Citrus Flavonoids Hesperidin and Hesperetin- α Mini-Review. *Life Sciences* 113: 1-6.
- Salaritabar, A., Darvishi, B., Hadjiakhoondi, F., Manayi, A., Sureda, A., Nabavi, S.F., Fitzpatrick, L.R., Nabavi, S.M., Bishayee, A., 2017. Therapeutic Potential of Flavonoids in Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. *World J Gastroenterol.* 23 (28): 5097-5114.
- Schmelzer, C., Döring, F., Döringb, F., 2012. Micronutrient Special Issue: Coenzyme Q10 Requirements for DNA Damage Prevention, *Mutat. Res.–Genet. Toxicol. Environ.* 733 (1–2): 61–68.
- Sen, S., and Chakraborty, R., 2011. The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy.* Chapter 1: 1-37.
- Sezen, O., Ertekin, M.V., Demircan, B., Karşlıoğlu, İ., Erdoğan, F., Koçer, İ., Çalık, İ., Gepdiremen, V., 2008. Vitamin E and L-Carnitine, Separately or in Combination, in The Prevention of Radiation-Induced Brain and Retinal Damages. *Neurosurgica Review.* 31:205-213.
- Sghaiera, M.B., Skandrani, I., Nasra, N., Francac, M.G.D., Chekir-Ghediraa, L., Ghediraa, K., 2011. Flavonoids and Sesquiterpenes From *Teucrium Ramosissimum* Promote Antiproliferation of Human Cancer Cells and Enhance

- Antioxidant Activity: A Structure–Activity Relationship Study. *Environmental Toxicology and Pharmacology, AAPS.* 32: 336–348.
- Shimoda, K., and Hamada, H., 2008. Glycosylation of Hesperetin by Plant Cell Cultures. *Phytochemistry.* 69: 1135–1140.
- Si, C.L., Shen, T., Jiang, Y.Y., Wu, L., Yu, G.J., Ren, X.D., Xu, G.H., Hu, W.C., 2013. Antioxidant Properties And Neuroprotective Effects of Isocampneoside II on Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Injury in PC12 Cells, *Food Chem. Toxicol.* 59: 145–152.
- Slamenová, D., Horváthová, E., Kováčiková, Z., Kozics, K. , 2011. Lubica Hunáková, Essential Rosemary Oil Protects Testicular Cells Against DNA-Damaging Effects of H₂O₂ and DMNQ, *Food Chem.* 129: 64–70.
- Spotheim-Maurizot, M., and Davidková, M., 2011. Radiation Damage to DNA in DNA-Protein Complexes, *Mutat.Res.–Genet.Toxicol. Environ.* 711 (1–2): 41–48.
- Stavric, B., 1994. Role of Chemopreventers in Human Diet. *Clin. Biochem.* 27(5) :319-332.
- Sun, Y., Larry, W.O., Ying L., 1988. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin Chem.* 3413: 497-500.
- Suwalsky, M., Orellana, P., Avello, M., Villena, F., 2007. Protective Effect of Ugni Molinae Turcz Against Oxidative Damage of Human Erythrocytes, *Food Chem. Toxicol.* 45:130–135.
- Şener, G., ve Yeğen, B.Ç., 2009. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi.* 22: 5-13.
- Talesa, V.N., 2001, Acetylcholinesterase in Alzheimer’s Disease. *Mechanisms of Ageing and Development.* 122: 1961-1969.
- Tan, X., Zhao, C., Pan, J., Shi, Y., Liu, G., Zhou, B., Zheng, R., 2009. In-vivo Non-Enzymatic Repair of DNA Oxidative Damage by Polyphenols, *Cell Biol. Int.* 33 (6): 690–696.
- Taslimi, P., Sujayev, A., Mamedova, S., Kalın, P., Gülçin, İ., Sadeghian, N., Beydemir, S., Küfrevioğlu, Ö.I., Alwasel, S. H., Farzaliyev, V., Mamedov, S., 2017. J. Enzyme Inhib. *Med.Chem.* 32: 137-145.
- Türkan, F., Huyut, Z., Taslimi, P., Gülçin, İ., 2018. The in Vivo Effects of Cefazolin, Cefuroxime and Cefoperazon on the Carbonic Anhydrase in Different Rat Tissues. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology.*
- Uylaş, M.U., 2015. İskemi ve Reperfüzyonda Kuersetin’in Koruyucu Etkisi. *Tıpta Uzmanlık Tezi. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Eskişehir.*
- Uysal, M., 1998. Serbest Radikaller, Lipid Peroksidleri ve Organizmada Prooksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. *Klinik Gelişim.* 11: 336-341.
- Wang, D., Zhong, Y., Luo, X., Wu, S., Xiao, R., Bao, W., Yang, W., Yan, H., Yao, P., Liu,, 2011. L. Puerh Black Tea Supplementation Decreases Quinocetone Induced Ros Generation and Oxidative Dna Damage İn Balb/C Mice, *Food Chem. Toxicol.* 49: 477–484.
- Weissberg, J.B., and Fischer, J.J., 1981. Effect of Purine Nucleosides and Nucleotides On The *In Vivo* Radiation Response of Normal Tissue in The Rat, *Int. J. Radiat. Oncol.* 7 (3):365–369.
- Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L., 2004. Antioxidants and Prevention of Chronic Disease. Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 44, 275–295.

- Xie, Y., Tu, W., Zhang, J., He, M., Ye, S., Dong, C., Shao, C., 2015. Sir T1 Knockdown Potentiates Radiation-Induced Bystander Effect Through Promoting C-Myc Activity and Thus Facilitating ROS Accumulation, *Mutat. Res.–Fundam. Mol. Mech.* 772: 23–29.
- Yamali, C., 2018. Synthesis, Molecular Modeling, and Biological Evaluation Of 4-[5-Aryl-3-(Thiophen-2-Yl)-4,5-Dihydro-1H-Pyrazol-1-Yl] Benzenesulfonamides Toward Acetylcholinesterase, Carbonic Anhydrase I and II Enzymes. *Chemical Biology & Drug Design.* 91 (4): 854-866.
- Yang, H.J., Youn, H., Seong, K.M., Yun, Y.J., Kim, W., Kim, Y.H., Lee, J.Y., Kim, C.S., Jin, Y.W., Youn, B., 2011. Psoralidin, a Dual Inhibitor Of COX-2 and LOX, Regulates Ionizing Radiation (IR)-Induced Pulmonary Inflammation, *Biochem. Pharmacol.* 82: 524–534.
- Ye, L., Chan, F.L., Chen, S., Leung, L.K., 2012. The Citrus Flavonone Hesperetin Inhibits Growth of Aromatase-Expressing MCF-7 Tumor in Ovariectomized Athymic Mice. *J Nutr Biochem.* 23(10): 1230-1237.
- Yılmaz, S., and Bahçecioglu, İ.H., 2000. Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes and Pyruvate Kinase Activity in Rats With Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhosis. *Turk J Vet Anim Sci.* 24: 25-28.
- Yi, L.T., Li, C.F., Zhan, X., Cui, C.C., Xiao, F., Zhou, L.P., Xie Y., 2010. Involvement of Monoaminergic System in the antidepressant-Like Effect Of The Flavonoid Naringenin in Mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 34(7), 1223-1228.
- Yoshimoto, T., 1983. Flavonoids: Potent Inhibitors of Arachidonate 5- Lipoxygenase. *Biochem Biophys Res Commun,* 1983. 116(2): p. 612-8.
- Young, I.S., and Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* 54(3): 176-186.
- Yun, K.L., and Wang, Z.H., 2017. Target/signalling Pathways of Natural Plant-Derived Radioprotective Agents from Treatment to Potential Candidates: A Reverse Thought on Anti-tumour Drugs. *Science Direct.*
- Zarebczan, B., Pinchot, S.N., Kunnimalaiyaan, M., Chen, H., 2011. Hesperetin, a Potential Therapy for Carcinoid Cancer. *The American Journal of Surgery.* 201: 329–333.
- Zhang, R., Kang, K.A., Mei, J.P., Dong, O.K., Zhi, H.W., Lee, I.K., Kim, B.J., Jeong, I.Y., Shin, T., Park, J.W., Lee, N.H., Hyun, J.W., 2008. Eckol Protects V79-4 Lung Fibroblast Cells Against γ -Ray Radiation-Induced Apoptosis Via The Scavenging of Reactive Oxygen Species and Inhibiting of The C-Jun NH2-Terminal Kinase Pathway, *Eur. J. Pharmacol.* 591 (1–3): 114–123.
- Zhao, Z., Sun, T., Jiang, Y., Wu, L., Cai, X., Sun, X., 2014. Photooxidative Damage in Retinal Pigment Epithelial Cells via GRP78 and the Protective Role of Grape Skin Polyphenols. *Food And Chemical Toxicology.*
- Zhu, M., Li, J., Wang, K., Hao, X., Ge, R, Li, Q., 2016. Isoquercitrin Inhibits Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis of EA.hy926 Cells via the PI3K/Akt/GSK3 β Signaling Pathway. *Molecules.*

ÖZGEÇMİŞ

1994 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2012 yılında girdiği üniversite sınavında Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü kazandı. 2012-2016 yılları arasında Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde Lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl içerisinde Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2016-2018 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Genetik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimini tamamladı.