



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**İYONİZE RADYASYON UYGULANAN
SIÇANLARDA BEYİN DOKUSUNDAKİ
OKSİDAN/ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
PROPOLİS VE KAFEİK ASİT FENETİL
ESTERİNİN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Hilal Alkış
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ahmet Dirier**

ARALIK-2012

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**İYONİZE RADYASYON UYGULANAN
SIÇANLARDA BEYİN DOKUSUNDAKİ
OKSİDAN/ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
PROPOLİS VE KAFEİK ASİT FENETİL
ESTERİNİN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Hilal ALKIŞ
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ahmet DİRİER**

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi tarafından
proje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

İYONİZE RADYASYON UYGULANAN SIÇANLARDA BEYİN DOKUSUNDAKİ OKSİDAN/ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE PROPOLİS VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİNİN ETKİLERİ

Dr. Hilal ALKIŞ

08. 02. 2013

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....
Prof. Dr. Abdurrahman Kadayıfçı
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

.....
Yrd.Doç. Dr. Abdurrahman KUZHAN
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....
Doç. Dr. Ahmet DİRİER
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1.
2.
3.
4.
5.

I. ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimin hazırlanmasında çok değerli yardımlarını gördüğüm tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ahmet DİRİER'e;

Bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim anabilim dalı başkanımız Sayın Doç. Dr. Mustafa ADLI'ya,

Uzmanlık eğitimime değerli katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Sevil KILÇIKSIZ'a,

Başta istatistik analizlerinde olmak üzere emeğini ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman KUZHAN'a

Tezimi hazırlama aşamasında önemli katkılarından dolayı Biyokimya AD öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Seyithan TAYSI'ya ve Fizyoloji AD öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Tuncer DEMİR'e,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum kıymetli arkadaşlarım Uzm. Dr. Zeliha GÜZELÖZ ÇAPAR, Dr. Derya ÇAĞLAYAN ve Uzm. Dr. Eda Bengi YILMAZ'a ve tez hazırlama sürecindeki değerli yardımlarından dolayı Dr. Elif DEMİR ve Halit DİRİL'e,

Asistanlığım boyunca destek ve yardımlarıyla yanımda olan değerli fizik mühendisi arkadaşlarım Şule BAZ ÇİFCİ, Ali DEMİRCİ ve Adem AHLATCI'ya,

Tez çalışmamın ışınlama aşamasındaki yardımlarından dolayı tekniker arkadaşlarım Mustafa ÇİLOĞLU ile Ramazan USLU'ya ve birlikte çalıştığım kliniğimizin diğer kıymetli tekniker, sekreter, hemşire ve personeline,

Her zaman olduğu gibi bu süreçte de sabır ve sevgisini, maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen eşim Ender ALKIŞ'a, sabrından dolayı kızım Zülal'e ve her türlü fedakarlıklarından dolayı aileme sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

II. İÇİNDEKİLER

Sayfa No

I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III. ÖZET	IV
IV. ABSRACT	V
V. KISALTMALAR	VI
VI. TABLO LİSTESİ	VIII
VII. ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Radyasyon	3
2.1.1. Radyasyon Hasarını değiştiren Faktörler	5
2.1.2. Radyasyon Normal Dokular Üzerine Olan Etkileri	5
2.1.3. Radyasyona Bağlı Normal Doku Hasarı	5
2.2. Beyin ve Radyasyonun Beyne Olan Etkileri	6
2.3. Serbest Radikaller	7
2.3.1. Süperoksit Radikali	8
2.3.2. Hidrojen Peroksit	8
2.3.3. Hidroksil Radikali	8
2.3.4. Singlet Oksijen	9
2.3.5. Reaktif Nitrojen Türleri	9
2.3.6. Peroksinitrit	9
2.3.7. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	9
2.3.7.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri	9
2.3.7.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	10
2.3.7.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	10
2.3.7.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri	10
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	11
2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	11
2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz	11
2.4.1.2. Katalaz	11
2.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz	12
2.4.1.4. Glutasyon-S-Transferaz	12
2.5. Radyoprotektörler	12
2.6. Propolis	13
2.7. Kafeik Asit Fenetil esteri	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1. Çalışma Tasarımı	14
3.2. Hayvanlar ve Bakımı	15
3.3. Radyasyonun Uygulanması	15
3.4. Beyin Dokusunun Elde Edilmesi ve Süpernatantın Hazırlanması	16
3.5. Protein Tayini	16
3.6. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini	17
3.7. Malondialdehit Miktar Tayini	18

3.8. Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini	19
3.9. İstatistiksel Analiz	21
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	25
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	29
7. KAYNAKLAR	30



III. ÖZET

İYONİZE RADYASYON UYGULANAN SIÇANLARDA BEYİN DOKUSUNDAKİ OKSİDAN/ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE PROPOLİS VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİNİN ETKİLERİ

Dr. Hilal Alkış

Uzmanlık Tezi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Ahmet Dirier

Aralık 2012, 42 sayfa

Propolis ve onun biyolojik olarak aktif komponenti olan kafeik asit fenetil esteri (CAPE), antibakteriyal, antiinflamatuvar, antifungal amaçlarla çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Propolisin oksijen radikallerini temizleyerek etki ettiği, CAPE'nin lipid peroksidasyonunu önleyerek antioksidan aktivite gösterdiği ve ornitin dekarboksilaz, protein tirozin kinaz ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada amaç, tüm kranyum ışınlaması yapılan sıçanlarda beyinde oluşan oksidatif stres üzerine propolis ve CAPE'nin antioksidan etkisini araştırmaktır.

Çalışma grupları; standart kontrol grubu (SC), CAPE için kontrol grubu (CC), propolis için kontrol grubu (PC), ışınlanan grup (R), CAPE+ışınlanan grup (C+R) ve propolis+ışınlanan grup (P+R) olmak üzere toplam 6 gruptan oluşturuldu. Kontrol grupları dışındaki grupların hepsine tüm kranyuma ilk gün 5 Gy tek doz iyonize radyasyon uygulandı. Propolis, ilk dozu ışınlamadan 1 saat önce olmak üzere 10 gün boyunca sıçanlara gavaj yoluyla verildi. CAPE'nin ise ilk dozu ışınlamadan 30 dk. önce olmak üzere 10 gün boyunca intraperitoneal olarak verildi. Çalışma sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek beyin dokusu örnekleri alındı. Alınan doku örneklerinden malondialdehit (MDA) düzeyi, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri gibi oksidan/antioksidan parametreler çalışıldı. R grubundaki beyin dokusu MDA düzeylerinin, SC grubu, P+R ve C+R gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu tespit edildi. Bunun yanı sıra, R grubundaki SOD enzim aktivitesinin, PC ve C+R gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu tespit edildi. GSH-Px enzim aktivitesi açısından ise gruplar arasında fark gözlenmedi.

Sonuç olarak; biyokimyasal açıdan baktığımızda oksidan parametrelerin ışınlanan grupta diğer gruplardan daha yüksek ve antioksidan parametrelerin daha düşük çıkması radyasyonun radikal aracılığıyla yaptığı hasarı göstermektedir. Buna karşılık ise propolis ve CAPE'nin antioksidan etkisinin olduğu biyokimyasal parametrelerle anlaşılmıştır. Radyasyona bağlı beyinde oluşabilecek hasara karşı propolis ve CAPE'nin radyoprotektif ajan olarak kullanılabilmesi için farmakolojik ve toksikolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Radyasyon, Beyin, Antioksidan, Propolis, Kafeik asit fenetil esteri.

IV. ABSTRACT

EFFECTS OF PROPOLIS AND CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER ON THE OXIDATIVE/ANTIOXIDATIVE STATUS IN RAT BRAIN EXPOSED TO IONISING RADIATION

Dr. Hilal Alkış

Department of Radiation Oncology

Mentor: Dr. Ahmet Dirier, Associate Professor

December 2012, 42 pages

Propolis and its active component, caffeic acid phenethyl ester (CAPE), were used as antibacterial, antiinflammatory and antifungal for treatment of several diseases. Oxygen radical scavenging effects of propolis and antioxidant effects of CAPE by protecting from lipid peroxidation, and inhibiting ornithine decarboxylase, protein tyrosine kinase, lipooxygenase activities were reported. The purpose of this study was to search antioxidant effects of propolis and CAPE on the oxidative stress in rat brain exposed to total cranium irradiation.

In this study, rats were divided into 6 groups: standart control (SC), control group of CAPE (CC), control group of propolis (PC), irradiated group (R), CAPE plus irradiation (C+R) and propolis plus irradiation (P+R) groups. Rats in control groups were unirradiated. Rats in R, C+R and P+R groups were exposed to total cranium irradiation of 5 Gy by single fraction. Propolis was administrated to the rats orally for ten days and first dose was given 1 hour before irradiation. CAPE was administrated to the rats intraperitoneally for ten days and first dose was given 30 minutes before irradiation. Rats were sacrificed after 10 days and oxidant/antioxidant parameters such as malondialdehyde (MDA) concentrations, glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) activities in rat brain tissues were determined. MDA levels in the R group were found to be higher than SC, P+R and C+R groups and were statistically significant. SOD levels in R group were found to be lower than PC and C+R group and were statistically significant. No difference was found between groups for GSH-Px activities.

As results were evaluated biochemically, compared to the other groups increased oxidant and decreased antioxidant parameters in the irradiated group indicated damage of radiation by radicals. In addition, biochemical parameters showed antioxidant effects of propolis and CAPE. However, pharmacologic and toxicologic researches are needed for using propolis and CAPE as radioprotective agents against radiation-induced damage in brain.

Keywords: Radiation, Brain, Antioxidant, Propolis, Caffeic acid phenethyl ester.

V. KISALTMALAR

BOS:	Beyin omurilik sıvısı
CAPE :	Kafeik asit fenetil esteri
CAT :	Katalaz
⁶⁰Co :	Kobalt 60
Cu-Zn SOD :	Bakır ve çinko içeren dismutazlar
DMSO :	Dimetilsülfoksit
DNA :	Deoksiribonükleik asit
EcSOD :	Ekstrasellüler süperoksit dismutaz
Fe-SOD :	Demir içeren dismutaz
GR :	Glutasyon redüktaz
GST :	Glutasyon-S-transferaz
GSH-Px :	Glutasyon peroksidaz
GSH :	Glutasyon
GSSG :	Redükte glutasyon
Gy :	Gray
H[•] :	Hidrojen radikali
H₂O₂ :	Hidrojen peroksit
HOCl :	Hipokloröz asit
HMP :	Hekzos mono fosfat
i.p :	İntraperitoneal
i.v :	İntravenöz
LPO :	Lipid peroksidasyonu
MDA :	Malondialdehit
MIP :	Major intrinsik protein
MnSOD :	Mangan bağımlı süperoksit dismutaz
MSS :	Merkezi sinir sistemi

NADH :	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH :	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NBT :	Nitro blue tetrazolium
NF-κB :	Nükleer faktör-kappa B
NO[•] :	Nitrik oksit
NOS :	Nitrik oksit sentaz
OH[•] :	Hidroksil radikali
¹O₂ :	Singlet oksijen
O₂^{•-} :	Süperoksit anyonu
OONO⁻ :	Peroksinitrit
PUFA :	Poliansatüre yağ asitleri
RNA :	Ribonükleik asit
RNT :	Reaktif nitrojen türleri
RO[•] :	Alkoksi radikali
ROO[•] :	Peroksil radikali
ROT :	Reaktif oksijen türleri
SOD :	Süper oksit dismutaz
TBA :	Tiyobarbitürik asit
TCA :	Triklor asetik asit
TNF- α :	Tümör nekrozis faktör alfa
UV :	Ultraviyole
XO :	Ksantin oksidaz

VI. TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. SOD çalışma şeması	18
Tablo 2. MDA çalışma şeması	19
Tablo 3. GSH-Px çalışma şeması	20
Tablo 4. Grupların ortalama SOD, GSH-Px ve MDA değerleri	22



VII. RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1. Sıçanları ışınlama düzeneği	15
Resim 2. Sıçanların Co 60 cihazında ışınlanması	16



VIII. ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Grupların beyin dokusu SOD düzeyleri	23
Şekil 2. Grupların beyin dokusu MDA düzeyleri	23
Şekil 3. Grupların beyin dokusu GSH-Px düzeyleri	24



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Radyoterapi, kanser tedavisinde kullanılan yöntemlerden biridir. Radyoterapide kullanılan radyasyon partiküler ve elektromanyetik radyasyon olarak ikiye ayrılmaktadır. Radyasyonunun etkileri direk ve indirek etkiler olarak sınıflandırılabilir. Direk etki DNA'da iyonizasyonla ve indirek etki de ortamdaki suyun iyonizasyonu ile oluşan kimyasal radikallerle meydana gelir (1,2). Radyasyona bağlı hücresel oksidatif durumdaki değişiklikler proliferasyon, differansiyasyon ve irreversibl hücre hasarının başlaması ile sonuçlanır (3). Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidatif işlemlerdeki dengenin ROT oluşumu lehine etkilenmesi sonucu meydana gelir. ROT'a bağlı oluşan protein modifikasyonu, lipid peroksidasyonu ve DNA zincir kırıkları gibi hasarları önlemek için ROT'u yok edecek ve ROT oluşumunu engelleyecek mekanizmalar ortaya çıkar (4,5). Bu koruma mekanizmaları katalaz, superoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik mekanizmalar olabildiği gibi GSH, tioredoksin ve Vitamin C ve E gibi non-enzimatik mekanizmalarla da savunma meydana gelebilir (6).

Radyasyon, tümör hücrelerine de sağlıklı dokulara da toksik olduğundan radyasyon dozu arttıkça normal doku hasarı da artabilmektedir. Bu nedenle sağlıklı hücrelerin radyasyona olan tepkileri kanser hastalarında ciddi yan etkilere neden olabilmekte ve tedavide dozu sınırlayabilmektedir. Normal dokuda radyasyona bağlı hasarı azaltmak için radyoprotektif ajanların kullanımı gündeme gelmiştir (7-9). Radyoprotektörler, canlıyı radyasyona karşı koruyan ve daha dirençli hale getiren maddelerdir. Radyoprotektif etki ile serbest radikal ürünleri etkisiz hale getirilmeye çalışılır (10-13).

Propolis, bal arılarının bitkilerden topladığı reçine maddesinin adıdır ve çok eski yıllardan beri halk hekimleri tarafından antibakteriyal, antiinflamatuvar, antifungal amaçlarla çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Propolis; polifenoller, flavanoid aglikonlar, fenolik asit ve esterleri, fenolik aldehytler ve ketonlar, terpenler, steroller, vitaminler, şeker, mineral elementlerden ve aminoasitlerin karışımından meydana gelen zengin biyokimyasal öğelerden oluşur. En fazla flavanoidler, kafeik asit

ve esterleri bulunur ve propolisin biyolojik aktif bileşenleridir. Kafeik asit fenetil ester (CAPE) propolisin aktif antiinflamatuvar komponenti olan fenolik bir antioksidandır. Propolisin oksijen radikallerini temizleyerek etki ettiği, CAPE'nin lipid peroksidasyonunu önleyerek antioksidan aktivite gösterdiği ve ornitin dekarboksilaz, protein tirozin kinaz ve lipooksijenaz aktivitelerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (14-24).

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda iyonize radyasyona bağlı beyin dokusunda oluşabilecek muhtemel oksidatif hasar ve bu hasarın önlenmesinde propolis ve CAPE'nin antioksidan etkisini araştırmaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Radyasyon

Radyasyon bir kaynaktan çevreye enerji taşınımıdır. Yüksek enerjili radyasyon, iyonize radyasyon olarak da tanımlanır ve atomdan elektron koparabilen dolayısıyla atomu iyonize edebilen radyasyon türüdür. İyonize radyasyonun biyolojik etkileri büyük miktarda DNA hasarıyla sonuçlanır. Bu etkiler, ya direk olarak DNA molekülünde iyonizasyonla veya indirek olarak ortamdaki suyun iyonizasyonu ile oluşan kimyasal radikallerle meydana gelir (2,25,26).

Radyasyonun direk etkilerinde, hedef dokudaki DNA molekülleri radyasyon tarafından direk etkilenir. Fotoelektrik ve Compton etkileşimleri ile enerjinin absorpsiyonu sonucu DNA molekülündeki atomlar direk iyonize olurlar. Moleküldeki elektronu uzaklaştırmak için yeterli miktarda enerji absorbe edilmişse bağ kırıkları oluşur. Tek veya çift bağ kırığı olmak üzere iki tür bağ kırığı oluşabilir. Tek bağ kırıkları genellikle hücre tarafından tamir edilebilir, ancak çift bağ kırıkları çoğunlukla hücrenin ölümüne neden olur (1).

İndirek etkide ise radyasyona bağlı enerji transferi sonucu serbest radikallerin oluşması ve bu serbest radikallerin DNA'yı etkilemesi sonucu molekülün hasarı meydana gelir. Bu etki büyük ihtimalle su molekülleri üzerinden olmaktadır (1).

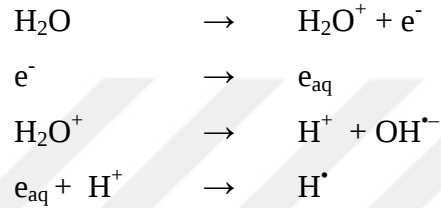
Radyasyon başlıca üç kademedeki etki gösterir (27).

- Fiziksel Kademe
- Kimyasal Kademe
- Biyolojik Kademe

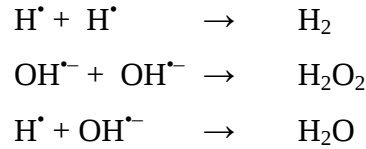
Fiziksel kademe: Canlı dokulardaki atom ve moleküller ile iyonize radyasyon arasındaki ilk etkileşimdir. Radyasyon enerjisi ile maddenin moleküllerinde uyarılma ya da iyonlaşma meydana gelir. İyonlaşma ile meydana gelen serbest elektronlar diğer komşu atomlarda da iyonlaşmaya neden olur ve bu şekilde zincirleme bir reaksiyon oluşur. Ancak bu ilk reaksiyonlar ile ortaya çıkan ürünler son derece kararsız olduğundan kısa sürede sekonder reaksiyonların oluşmasına yol açarlar (27-29).

Kimyasal kademe: Hasar gören atom ve moleküller reaksiyona girer ve serbest radikaller oluşur. Bu serbest radikaller çok reaktiftirler, hem kendileri ile hem de ortamdaki diğer moleküllerle reaksiyona girerler (27-29).

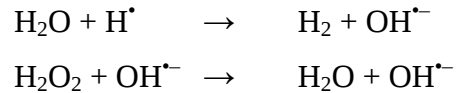
Vücuttaki su oranı fazla olduğundan, iyonize radyasyondan en çok su molekülleri etkilenir. Radyasyon etkisi ile su moleküllerinin uyarılması sonucu pozitif yüklü bir iyon ve bir serbest elektron oluşur (11,28,30). Serbest elektron kısa sürede birçok sekonder iyonlaşma olayına yol açarak enerjisini kaybeder, sonunda da ortamdaki su molekülleri tarafından sarılarak hidrat elektron haline dönüşür. Pozitif yüklü iyon ise, hidroksil ($\text{OH}^{\bullet-}$) ve hidrojen radikali ($\text{H}^{\bullet}$) ' ni oluşturur.



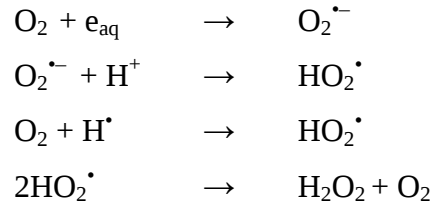
$\text{OH}^{\bullet-}$ ve $\text{H}^{\bullet}$ radikalleri sadece suyun iyonlaşması ile gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda değil aynı zamanda su moleküllerinin uyarılması ve uyarılmış molekülün ayrılması ile de oluşabilirler. Çok reaktif olan $\text{OH}^{\bullet-}$ ve $\text{H}^{\bullet}$ radikallerinin aralarında radikal-radikal reaksiyonları meydana gelir. Sonuçta hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülleri oluşur.



Oluşan serbest radikaller diğer su molekülleri ile de reaksiyona girebilirler. Bunun yanı sıra kendi aralarındaki reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan ürünlerle de tekrar reaksiyona girebilirler.



Radyasyonun canlıdaki etkinlik derecesi ışınlama sırasındaki ortamdaki oksijen ile de artar, bunun nedeni ise serbest radikallerin oksijen molekülleri ile reaksiyona girerek H₂O₂ oluşturmalarıdır (28,30,31).



Biyolojik kademe: Bu kademede oluşan enzim reaksiyonları DNA molekülünde hasarlar oluşturur. Bu hasarların bir kısmı onarılabılır ancak bir kısmı da onarılamaz ve hücrenin ölümüne yol açar. Işınlanmış hücrelerdeki asıl hedef DNA'dır ve hücre, özellikle bölünme sırasında radyasyona en duyarlı evrededir (10,28,30,32,33).

2.1.1 Radyasyon Hasarını Değiştiren Faktörler

Radyasyonun biyolojik etkisi ve yaptığı hasar, radyasyonun türüne, fraksiyon dozuna, hücre ve biyolojik sistemin türüne, ısıya, PH değişikliğine, oksijen konsantrasyonuna ve hedef molekül konsantrasyonuna göre değişir. Bunların yanı sıra radyoprotektif ve radyoduyarlılaştırıcı ilaçlar da radyasyon hasarını etkileyebilirler (34).

2.1.2 Radyasyonun Normal Dokular Üzerine Olan Etkileri

Dokular kendini yenileyebilme yeteneklerine göre ikiye ayrılır:

Hızlı Turnovera sahip (Tip-H) Dokular: Bu tür dokularda radyasyon sonrası olgun hücre kaybı hızlı olur, bundan dolayı radyasyona erken cevap verirler. Bu da radyasyonun akut yan etkilerinin ortaya çıkmasına neden olur. Bu tip dokulara örnek olarak hematopoetik hücreler, derinin epidermisi, gastrointestinal sistem mukozası ve testis epiteli verilebilir (35).

Yavaş Turnovera Sahip (Tip-F) Dokular: Bu tür dokularda radyasyonun geç yan etkileri görülür. Örnek olarak karaciğer, böbrek, akciğer, bağ doku, vasküler endotel, mezotel, glial doku, kalp ve endokrin bezler örnek olarak verilebilir (35).

2.1.3 Radyasyona Bağlı Normal Doku Hasarı

Radyasyona bağlı ROT üretimindeki artışın yaygın doku hasarına yol açabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte radyasyona bağlı geç etkilerin oluşmasında ve

ilerlemesinde akut ve kronik oksidatif stresin kısmen de olsa etkili olduğunu gösteren deliller gittikçe artmaktadır (36-38).

Radyasyona bağlı normal doku hasarı üç grupta ele alınır; akut, subakut ve geç etkiler (39).

Akut etkiler: Birkaç saat ile birkaç gün içerisinde görülebilir. En belirgin şekilde bu etkilerin görüldüğü dokular, kemik iliği, oral mukoza, gastrointestinal sistem mukozası, larenks, deri, arterioller ve kapillerler, tükürük bezleri, lenf nodları, mesane mukozası, over, testis olarak sayılabilir (34).

Subakut etkiler: Klinik olarak radyoterapiden birkaç hafta sonra görülür. Subakut hasardan etkilenen dokular; akciğer, karaciğer, böbrek, kalp, medulla spinalis, beyin olarak sayılabilir (34,39).

Geç etkiler: Yeterli dozda radyasyon verildiğinde tüm dokularda görülebilir. Ancak bazı dokularda çok düşük radyasyon dozuna rağmen geç etkiler görülebilir. Bu dokulara örnek olarak, tiroid, meme, hipofiz, kemik, lenf damarları, endokrin pankreas gösterilebilir (34).

2.2. Beyin ve Radyasyonun Beyne Olan Etkileri

Beyin, merkezi sinir sisteminin (MSS) önemli bir parçasıdır ve hem yapısal hem de biyokimyasal farklılıklara sahip kompleks bir organdır. MSS'nin fonksiyonlarını normal bir şekilde sürdürebilmesi için kararlı bir fizyolojik ortama ihtiyacı vardır. Bu sebeple, beyin omurilik sıvısıyla kan ve kanla sinir sistemi arasında seçici bariyer mekanizmaları vardır. Su, gazlar, glikoz, elektrolitler ve aminoasitler kandan beyne serbest olarak geçebilirken, albumin kan beyin bariyerinden geçememektedir (40-42).

Birçok kanser için uygulanan radyoterapide MSS doz sınırlayıcı faktör olarak önemli bir yere sahiptir. Özellikle MSS orjinli primer beyin tümörlerinin tedavisinde radyasyonun yan etkileri ve normal beyin dokusunda yol açtığı hasar tedaviyi güçleştirmektedir (43).

Yeni bulgular radyasyona bağlı beyin hasarının oluşumunda kronik oksidatif stres/inflamasyon ve reaktif oksijen/nitrojen türlerinin primer rolü olduğunu göstermektedir (44).

Beyin diğer organlarla karşılaştırıldığında ROT oluşumu ve detoksifikasyonu açısından bazı dezavantajlara sahiptir. Bunun nedenleri şu şekilde sıralanabilir:

-Beyin vücut ağırlığının % 2 sini oluşturmalarına rağmen, beyin hücrelerinin tükettiği oksijen tüm vücudun harcadığının % 20 si kadardır, bu da beyindeki oksidatif fosforilasyon boyunca yüksek miktarda ROT oluşma potansiyelini gösterir.

-Beynin bazı bölgelerinin yüksek miktarda demir içerdiği bildirilmiştir, bu da ROT oluşumunu katalizleyebilir.

-Beyin doymamış yağ asitleri içeren lipidden zengindir ve lipid peroksidasyonu için hedef oluşturmaktadır.

-Beyin, karaciğer ve böbrekle kıyaslandığında düşük-orta derecede SOD, GSH-Px, katalaz aktivitesine sahiptir (45-49).

2.3. Serbest Radikaller

Dış yörüngelerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküllere serbest radikaller denir. Serbest radikallerin temel kaynağı oksijendir (50). Serbest radikaller başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girerler ve oksidan moleküller olarak tanımlanırlar (51,52). Oksidan moleküller; reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNT), sülfür merkezli radikaller olarak sayılabilir (53). Reaktif oksijen türlerinin oluşum sürecinde solunum, iskemi/reperfüzyon, yağ asitlerinin oksidasyonu gibi metabolik işlemler rol oynayabilir. Büyük oranda toksiktirler ve DNA, lipid ve enzimleri hasara uğratırlar. Hücrelerin hiperoksi, kimyasallar, radyasyon ve lokal doku inflamasyonuna maruz kalması intrasellüler ve ekstrasellüler boşluklarda aşırı ROT üretimiyle sonuçlanır. Bu da prooksidan-antioksidan dengesizliğine yol açarak oksidatif strese neden olur. ROT oluşumu hücresel antioksidan kapasiteyi aştığında hücre hasarı veya ölümü meydana gelebilir (54,55).

Reaktif oksijen türleri, süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($HO^{\bullet}$), alkoksil radikali ($RO^{\bullet}$) ve peroksil radikali ($ROO^{\bullet}$) gibi oksijen merkezli radikaller ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijenden (1O_2) oluşan oksijen merkezli non-radikaller olmak üzere iki grupta sınıflandırılabilir (56, 57). Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit ($NO^{\bullet}$), nitrik dioksit ($NO_2^{\bullet}$) ve peroksinitrit ($OONO^{\bullet}$) türevlerinden oluşmaktadır (4).

Vücutta üretilen radikallerin her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemesi gerekir. Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıda bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi için radikal yapımı şarttır. Biyolojik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller toksik etkilere neden olurlar. Çevresel faktörler, çeşitli kimyasal bileşikler, çeşitli enfeksiyonlar, doku

travmaları ve birçok diğer patolojik durumlar vücutta radikal yapımında artışa neden olurlar (58,59).

Serbest radikal kaynakları başlıca endojen ve eksojen kaynaklar olarak sınıflandırılabilir:

-Endojen kaynaklar; mitokondrial elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum, redoks döngüsü, araşidonik asit metabolizması, fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar vs.) ve endotel hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz vb.enzimler, otooksidasyon reaksiyonları olarak sayılabilir.

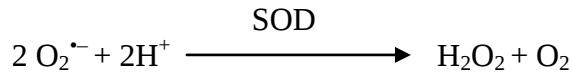
-Ekzojen kaynaklar ise diyet faktörleri, çevresel faktörler, ilaçlar, ksenobiyotikler ve ultraviyole ile X-ışını şeklinde sayılabilir (60).

2.3.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir (52,58). Ayrıca süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali veya singlet oksijen gibi diğer reaktif oksijen türlerinin oluşmasında önemlidir (56). Süperoksit, ortamın pH'ına bağlı olarak protonlanarak katyon şeklinde dönüşebilir ve perhidroksi radikali ($HO_2^{\cdot}$) ismini alır (61). Bu radikal de çok reaktiftir ve hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir (58).

2.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit molekülü eşleşmemiş bir elektron taşımaz ve bu nedenle radikal bir tür değildir. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur (52, 62).



Hidrojen peroksit; süperoksit anyonu, hipokloröz asit (HOCl) veya kloraminlerle reaksiyona girerek singlet oksijen üretebilir (63).

2.3.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$)

Hidroksil radikali canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir. Bunlardan birisi suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucu ve diğeri de hidrojen peroksitin geçiş metalleriyle indirgenmesi ile meydana gelir (58).

Hidroksil radikalleri; lipid, polipeptidler, proteinler, DNA ve özellikle Tiamin ve Guanozin ile reaksiyona girer. Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)' in sebep olduğu en

karakteristik biyolojik hasar lipid peroksidasyonudur. $\text{OH}^{\bullet}$ 'in başlıca hedefi yağ asitleridir. Hücre zarı lipidlerinin peroksidasyonu ile zarın yapısını bozar. Hücre zarının geçirgenliğini arttırması sonucu hücre ölümüne neden olabilir. Hidroksil radikali DNA molekülünün tüm bileşenleriyle tepkimeye girebilir. Hem pürin ve pirimidin bazlarına, hem de deoksiriboz temeline zarar verebilir. (4,56,58,62).

2.3.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen bir non radikaldır. Diğer reaktif oksijen türlerine kıyasla daha az toksiktir. Singlet oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır ve hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (56,63-66).

2.3.5. Reaktif Nitrojen Türleri ($\text{NO}^{\bullet}$, NO_2 , NO^+) (RNT)

Nitrik oksit ($\text{NO}^{\bullet}$), tek bir eşlenmemiş elektronu olan bir serbest radikaldır. Nitrik oksit, L-arjininden NO sentaz yardımıyla meydana gelir. Sinir iletimi, kan basıncı düzenlenmesi, savunma mekanizması, kas gevşemesi ve bağışıklık düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak hareket eden bir radikaldır. Nitrik oksit, hem sulu hem de yağlı ortamda çözülebilir olduğu için sitoplazma ve plazma zarlarından kolayca geçebilir (61,62,67). Bazı durumlarda da $\text{NO}^{\bullet}$ bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Ancak süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitriti oluşturur (58).

2.3.6. Peroksinitrit ($\text{OONO}^{\bullet}$)

Peroksinitrit, çok kısa yarı ömürlü olmasına rağmen oksidatif doku hasarına neden olan son derece reaktif bir moleküldür. DNA bölünmesi ve lipid oksidasyonuna neden olabilen oksitleyici serbest bir radikaldır (62,68).

2.3.7 Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

2.3.7.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Serbest radikallere en hassas olan biyomoleküller lipidlerdir. Poliunsature yağ asitlerinin serbest radikal oksidasyonu, lipid peroksidasyonu (LPO) olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlar ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzar. LPO ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür. LPO, $\text{OH}^{\bullet}$ radikali ile oluşabilir. Hidroksil radikali fosfolipaz

A2'yi uyararak araşidonic asit salınımına neden olmaktadır ve araşidonic asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (4,52,60,64).

Lipid yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Bunula birlikte, membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonuyla malondialdehit (MDA) meydana gelir ve MDA tiyobarbiturik asit ile ölçülebilir. Bu, lipid peroksid seviyelerin ölçülmesinde sıklıkla kullanılan bir metottur. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir (61).

2.3.7.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinlerin, serbest radikal hasarında etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Serbest radikallerle etkileşim, doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerde daha yüksektir (4). Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerin agregasyonu ile proteinlerde fragmentasyon ve çapraz bağlanmalar meydana gelir. Temel yapıdaki değişimse proteinin antijenitesindeki değişmeye ve proteolize yol açabilir (52).

2.3.7.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin etkileri sonucu monosakkaritlerin otooksidasyonu ile hidrojen peroksid ve okzoaldehitler meydana gelirler. Okzoaldehidler de DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliğine sahiptir, dolayısıyla antimitotik etki gösterirler. Böylelikle, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (52).

2.3.7.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikaller DNA'ya etkilerini mutasyona ve hücre ölümüne yol açarak oluştururlar. Farklı ROT, DNA hasarlarına farklı yollarla neden olurlar. $\text{OH}^{\bullet}$ radikalleri DNA'da hasar oluşturur. $\text{O}_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 direk DNA hasarı yapmazlar. $\text{OH}^{\bullet}$ radikalinin reaktivitesi yüksek olduğundan hücre içinde diffüze olarak nükleusa geçme ihtimali azdır. $\text{OH}^{\bullet}$ radikalinin DNA'ya etki edebilmesi için ya DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Muhtemel mekanizma membranı kolayca geçebilen H_2O_2 'in nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) hidroksil radikallerini oluşturmasıdır. Singlet oksijen ise guanine spesifik olarak bağlanarak hasar meydana getirir. Oksidatif DNA hasarını belirlemek için 8-

hidroksiguanin ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin ölçümü sıklıkla kullanılmaktadır (52,56,59,69,70).

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar, lipid peroksidasyonunu, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini toplayarak inhibe ederler. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayanlar ise tokoferol, b karoten, askorbik asit, ürat, sistein, seruloplazmin, transferin, bilirubin, melatonin ve albumindir (4,52).

2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD süperoksit radikalının H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizler ve süperoksit radikalının zararlı etkilerine karşı hücreyi korur. Ayrıca lipid peroksidasyonunu da inhibe eder (52, 71, 72).



SOD enzimi esas olarak hücre içi yerleşimlidir, %10 kadarı hücre dışında bulunur (4).

SOD üçe ayrılır:

- Bakır ve çinko içeren (Cu-Zn SOD) dismutazlar (sitozolik SOD)
- Mitokondride bulunan manganez içeren (Mn-SOD) dismutazlar (mitokondrial SOD)
- Ekstrasellüler SOD (EC-SOD) (52, 71, 72).

SOD, Fe içeren bir izomere daha sahiptir (Fe-SOD) ve bu da prokaryotlarda bulunur (4). Mn-SOD enziminin endojen $O_2^{\bullet-}$ radikallerine karşı, Fe-SOD enziminin ise eksojen radikallere karşı koruyucu etki gösterdiği literatürlerde ifade edilmektedir (52,73,74).

2.4.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, 4 tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Peroksizom olarak adlandırılan bir hücre organelinde yer alır ve hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü etkili şekilde sağlar (52,62).

2.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), iki substratından biri olan H_2O_2 suya, diğer substratı organik hidroperoksit alkole indirgenir ve bu sırada da koenzim olan redükte glutasyon (GSH) yükseltgenir. Yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatona dönüşür (75). Bununla birlikte GSH-Px, substratı olan H_2O_2 için katalazla rekabet eder ve düşük derecedeki oksidatif strese karşı korumada önemlidir (62).

2.4.1.4. Glutasyon -S-Transferaz (GST)

GST'ler toksinlerin biotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar (76). Başta araşidonik asit ve lineolathidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı GST'lar savunma mekanizması oluştururlar (52).

2.5. Radyoprotektörler

Radyoterapi tümör hücrelerine de sağlıklı dokulara da toksik olduğundan radyasyon dozu arttıkça normal doku hasarı da artabilmektedir. Bu nedenle sağlıklı hücrelerin radyoterapiye tepkileri kanser hastalarında ciddi yan etkilere neden olabilmekte ve tedavide dozu sınırlayabilmektedir. Normal dokuda radyasyona bağlı hasarı azaltmak için radyoprotektif ajanların kullanımı gündeme gelmiştir (7-9).

Radyoprotektörler, canlıyı radyasyona karşı koruyan ve daha dirençli hale getiren maddelerdir. Radyoprotektif etki ile serbest radikal ürünleri etkisiz hale getirilmeye çalışılır. Bu süreçte bazı eksojen ya da endojen ajanların okside edilerek diğer hücre içi yapılarla etkileşime girmesi engellenir ve kararlı bileşikler oluşturulur. Serbest radikale hidrojen atomu bağlanması da diğer bir radyoprotektif etki mekanizmasıdır. Radyasyon etkisiyle R-H şeklinde sembolize edilen bir molekül radikal R metabolitine dönüşür. Koruyucu etkili ajan ise R radikalinin yapısına bir hidrojen atomu ekleyerek kararlı yapıdaki R-H formunun yeniden oluşmasını sağlar. Karışık disülfid bileşiklerin oluşması, hücre bölünmesinin yavaşlatılması ve dokularda hipoksi gelişiminin uyarılması ise diğer mekanizmalardır. Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda, ortamın hipoksik hale getirilmesinin radyoprotektif etkili olabileceği, tiyol bileşikleri gibi ajanların koruyucu etkilerine fayda sağlayabileceği gösterilmiştir (10-13,30,77,78).

İdeal bir radyoprotektif ajanın birtakım özellikleri olmalıdır; radyasyonun etkilerine karşı anlamlı bir etki sağlamalıdır, tümörü korumamalıdır (normal dokuyu seçici olarak korumalıdır), organların çoğunda genel bir koruma sağlamalıdır, kabul edilebilir bir

toksosite profili sergilemelidir ve kabul edilebilir bir uygulama yoluna sahip olmalıdır (oral/intramuskuler) (8,79,80)

Radyoprotektif ajanlar 4 grupta incelenir:

Tiyol bileşikleri (amifostin),

Sülfhidril içeren bileşikler,

Analjezikler ve tranklizanlar gibi farmakolojik ajanlar

Diğer radyoprotektif etkili bileşikler (WR-1065, vitamin C ve E ve glutatyon gibi) (11,30).

2.6. Propolis

Propolis, bal arılarının çeşitli bitkilerden topladığı reçine maddesinin jenerik ismidir. Bu madde arılar tarafından peteklerindeki boşlukları kapatmak, iç duvarları düzeltmek ve içeri girişi engellemek için kullanılır. Polifenoller, flavanoid aglikonlar, fenolik asit ve esterleri ile fenolik aldehitler ve ketonlar, terpenler, steroller, vitaminler, aminoasitlerin karışımından oluşan zengin biyokimyasal öğelerden oluşur. Propolis ve onun aktif maddelerinin sitostatik, antikarsinojenik ve antitümöral etkisi hem ‘in vitro’ hem de ‘in vivo’ olarak ispatlanmıştır. Propolisin immunomodulator etkileri de gösterilmiştir (81-91). Propolisin lipid peroksidasyonu üzerine olan inhibitör etkileri ve radikal temizleyici aktiviteleri antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (92,93). Son zamanlarda propolisin siklooksijenaz aktivitesini inhibe ettiğini, kokainle benzer etkiye sahip olduğunu ve biyolojik dokularda rejeneratif etki gösterip kanser hücrelerine karşı da antineoplastik aktivitesi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (94-97).

2.7. Kafeik Asit Fenetil Esteri (CAPE)

Kafeik asit fenetil ester (CAPE) halk arasında tüketilen ve yıllardan beri sağlık için faydalı olduğu bilinen bir bileşiktir. CAPE, propolisin aktif antiinflamatuvar komponenti olan fenolik bir antioksidandır (98,99). Yapılan çalışmalarda CAPE nin antiinflamatuvar, immunomodulator ve antioksidan etkisinin olduğu gösterilmiştir (100-102). CAPE’nin kanserden koruyucu etkileri olduğu ‘in vitro’ ve ‘in vivo’ olarak gösterilmiştir (99,103,104). Ayrıca CAPE’nin renal dokuda, spinal kord ve beyinde iskemi-reperfüzyona bağlı lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (105).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18.05.2010 tarih ve 05.2010-25 numaralı onayı alındıktan sonra Gaziantep Üniversitesi Hayvan Laboratuvarı, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ve Radyasyon Onkolojisi Anabilimdalı'nda yapıldı.

3.1. Çalışma Tasarımı:

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 220 ± 25 g arasında olan 54 adet albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Standart kontrol ve diğer kontrol gruplarında 8'er, diğer gruplarda 10'ar adet sıçandan oluşan toplam 6 grup oluşturuldu.

1) Standart Kontrol Grubu (SC): Bu gruptaki sıçanlar 10 gün boyunca sadece standart yem ve su ile beslendi.

2) I. Kontrol Grubu (CC): Bu kontrol grubu kafeik asit fenetil ester (CAPE) verilen grubun kontrol grubu olarak kabul edildi ve bu gruptaki sıçanlara 10 gün boyunca 0.25 ml dimetil sülfoksit (DMSO) intraperitoneal (i.p) olarak enjekte edildi. 10 gün boyunca normal yem ve su verildi.

3) II. Kontrol Grubu (PC): Bu kontrol grubu propolis verilen grupların kontrol grubu olarak kabul edildi. Bu gruptaki sıçanlara 10 gün boyunca 0.25 ml serum fizyolojik gavaj yolu ile verildi. 10 gün boyunca normal yem ve su ile beslendi.

4) Işınlama Grubu (R): Bu gruptaki sıçanlara 1. gün 5 Gray (Gy) tek doz ışınlama ile birlikte 10 gün süre ile ve ilk dozu ışınlamadan 30 dakika önce olmak üzere 0.25 ml serum fizyolojik i.p yapıldı.

5) Kafeik Asit Fenetil Esteri + Işınlama Grubu (C+R): Kafeik Asit Fenetil Esteri DMSO'da çözülürldükten sonra bu gruptaki sıçanlara 1. gün 5 Gy tek doz ışınlama ile birlikte 10 gün süre ile ve ilk dozu ışınlamadan 30 dakika önce olmak üzere 10 $\mu\text{mol/kg/gün}$ CAPE i.p olarak verildi.

6) Propolis + Işınlama Grubu (P+R): Propolis DMSO'da çözdürüldükten sonra bu gruptaki sıçanlara 1. gün 5 Gy tek doz ışınlama ile birlikte 10 gün süre ile ve ilk dozu ışınlamadan 1 saat önce olmak üzere 80 mg/kg/gün propolis gavaj yolu ile verildi.

3.2. Hayvanlar ve Bakımı

Sıçanlar ışınlamadan en az bir hafta önce karantinaya alındı. Çalışmaya alınan hayvanlar 21°C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık siklusu olan bir ortamda tutuldu. Hayvanların ağırlığı 220 ± 25 g arasında olup standart sıçan yemi ile beslendi. Çalışmaya başlamadan önce yapılan muayenede sağlık durumu elverişli olmayan sıçanlar çalışmanın dışında bırakıldı.

3.3. Radyasyonun Uygulanması

Kontrol grubundaki sıçanlar hariç diğer gruptakilere 50 mg/kg i.p ketamin ile anestezi uygulandı ve sıçanlar yüzüstü pozisyonda ışınlama düzeneği üzerine Resim 1' de görüldüğü şekilde yerleştirildi.



Resim 1. Sıçanları ışınlama düzeneği

Sıçanların kafa bölgesine Theratron Equinox marka 1000 model Co 60 teleterapi cihazı ile tek fraksiyonda 5 Gy ışınlama yapıldı (Resim 2).



Resim 2. Sıçanların Co 60 cihazında ışınlanması

3.4. Beyin Dokularının Elde Edilmesi ve Süpernatantın Hazırlanması

Sıçanlara 11. günde 50 mg/kg i.p ketamin ile anestezi yapıldı. Toraks açılarak kalpten kan örneği alındı. Sakrifiye edilen sıçanların beyinleri çıkarıldı.

1 gr beyin dokusu tartıldı ve üzerine 9 hacim %0.9 NaCl ilave ederek 1:10 sulandırıldı (w/v) ve homojenizatör yardımıyla doku 1 dakika boyunca buz içerisinde homojenize edildi. Daha sonra +4 °C’de 10.000 g’de 60 dakika santrifüj edildi. Hazırlanan süpernatant başka bir tüpe alındı. Biyokimyasal değerlendirmenin yapılacağı zamana kadar -80 °C’de derin dondurucuda saklandı. Oksidan/Antioksidan parametreleri (MDA, SOD, GSH-Px) hazırlanan bu süpernatanttan spektrofotometre ile çalışıldı.

3.5. Protein Tayini

Beyin dokusu için protein tayini Bradford yöntemiyle yapıldı (106). Standart eğri için sığır serum albumini ihtiva eden 25-300 µg’lık seri çözeltiler hazırlandı. 0.1 ml çözelti, 5 ml Coomassie Blue boya reaktifine katıldı. 5 dk sonra 595 nm’de absorbansı ölçüldü. Hesaplamalar standart eğriye göre yapıldı.

5 ml Coomassie Blue boya reaktifi

100 mg Coomassie Blue G alındı, 50 ml %95’lik etil alkol içinde çözüldü. Bu solüsyona 100 ml (%85’lik) fosforik asit (H₃PO₄) ilave edildi ve toplam hacim distile su 1000 ml’ye tamamlandı.

3.6. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

Kullanılan Reaktifler

1. 0.3 mmol/L ksantin: 9.13 mg ksantin bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim 200 mL'ye tamamlandı.
2. 0.6 mmol/L etilendiamin tetraasetik asit-2 Na tuzu (EDTA): 25 mg EDTA bir miktar distile suda çözüldü ve sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.
3. 150 µmol/L nitrobluetetrazolyum (NBT): 12.3 mg NBT bir miktar distile suda çözüldü ve sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.
4. 400 mmol/L Na₂CO₃: 2.54 gr Na₂CO₃ bir miktar distile suda çözüldü ve sonra son hacim 60 mL'ye tamamlandı.
5. 1 gr/L bovin serum albumin (BSA): 30 mg BSA üzerine yaklaşık 15 mL distile su ilave edildi. Köpürtmeden alt üst edilerek karıştırıldı. Son hacim distile su ile 30 mL'ye tamamlandı. Işık geçirmeyen şişede +4° C' de saklandı. İlk beş çözeltinin yukarda belirlenen miktarları karıştırılarak ölçüm reaktifi hazırlandı. Koyu renkli şişede, +4 °C' de saklandı.
6. 2 mol/L (NH₄)₂SO₄: 2.64 gr (NH₄)₂SO₄ alınıp 10 mL distile suda çözüldü.
7. 167 U/L ksantin oksidaz (XO): Enzim çözeltisi çalışma esnasında hazırlandı. Bunun içinden 10 µL XO alınıp üzerine, 2 mol/L'lik (NH₄)₂SO₄ çözeltisinden 1 mL eklendi. Tüp birkaç kez altüst edilerek karıştırıldı.

Testin prensibi: SOD aktivitesi, Sun ve ark. (107) tarafından tanımlanan NBT indirgenmesi yöntemiyle çalışıldı. Reaktif içerisinde bulunan ksantin, ksantin oksidaz tarafından hipoksantine oksitlenirken ortaya çıkan süperoksit radikali numunede mevcut SOD için substrat görevi görür. Ortamda bulunan süperoksit radikali NBT'yi indirgeyerek mavi renkli formazan oluşur. Oluşan bu formazanın 560 nm'de absorbansı ölçüldü. SOD çalışma şeması Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1. SOD çalışma şeması

	Kör (mL)	Numune (mL)
Substrat solüsyonu	2.45	2.45
Süpernatant		0.5
Distile su	0.5	
XO	0.05	0.05
Tüpler oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilir		

SOD aktivitesinin hesaplanması

Bir SOD Ünitesi; NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(Akör - Anumune) / Akör] \times 100$$

Akör: Körün absorbansı

Anumune: Numunenin absorbansı

$$\text{Aktivite (U/mL)} = [(\% \text{ inhibisyon} / 50 \times 0,5) \times \text{Dilüsyon Faktörü}]$$

$$\text{Spesifik Aktivite (U/mg protein)} = [(U/mL) / (mg/mL \text{ protein})]$$

$$\text{SOD aktivitesi (U /mg Hb)} = [\text{SOD aktivitesi (U /mL)} / \text{Hb değeri (mg/mL)}]$$

3.7. Malondialdehid (MDA) Miktar Tayini

Ohkawa ve ark. (108) tarafından tanımlanan metoda göre çalışılmıştır. Bu metot, MDA'nın tiyobarbitürik asitle (TBA) reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermesi prensibine dayanır.

Kullanılan Reaktifler

1. %8.1'lik SDS: Sodyum dodesil sülfat (SDS) 8.1 gr tartılıp, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
2. %20'lik Asetik asit: Asetik asit 20 ml alınıp, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
3. %0.8'lik TBA: Tiyobarbitürik asit 0.8 gr gr tartılıp, distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Doymuş NaOH ile pH: 3.5'e ayarlandı.
4. n-bütanol / pridin (nB / Pri) Çözeltisi (v/v; 15/1)

MDA çalışma şeması Tablo 2' de gösterilmiştir.

Tablo 2. MDA çalışma şeması

Çözelti	Tüpler (ml)
Doku homojenatı	0.2
Sodyum dodesil sülfat	0.2
Asetik asit	1.5
Tiyobarbitürik asit	1.5

Bu reaksiyon karışımı distile su ile 4 mL'ye tamamlandı. 95 °C'de 60 dk inkübe edildi. Tüpler soğutuldu ve her tüpe 1 ml distile su ilave edildi. Her tüpe 5 ml butanol-*pridin* çözeltisi kondu. Karışım vortekslendi ve 3000 g'de 10 dk santrifüj yapılarak tüpün üst kısmında bulunan süpernatant spektrofometrik ölçüm için kullanıldı. Kör tüp için doku homojenatı yerine su ilave edildi. Her örneğin absorbansı 532 nm dalga boyunda ölçüldü.

Hesaplama

Elde edilen absorbans değerleri molar ekstinksiyon katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Değerler nmol/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.8. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivite Tayini

Testin Prensipleri: GSH-Px, Paglia ve Valentina metoduna uygun olarak ölçüldü (109). Bu metotta, ortamda bulunan GSH-Px enziminin kataliziyle H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'e çevrilmesi ve bunun da redükte GSH'ı okside GSH'a (GSSG) çevirmesi prensibine dayanmaktadır. GSSG'nin oluşum hızı deney ortamındaki NADPH'nin NADP'ye yükseltgenmesi ile absorbansta meydana gelen azalmanın 340 nm'de takibiyle hesaplanır.

Enzim ünitesi: Birim zamanda okside olan NADPH'nin mikromol miktarıdır.

GSH-Px Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. GSH (150 mM): 50 mg GSH 1 ml tamponda çözüldü.
2. NaN_3 (1 mM): 65 mg NaN_3 1ml tamponda çözüldü.
3. NADPH (3 mM): 5 mg NADPH alındı, 1ml tamponda çözüldü.
4. GR (100/ml): 30 mg enzim 1 ml 3.2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ile çözülerek kullanıldı.
5. H_2O_2 (50 mM): 15 μL H_2O_2 alınıp, 5 ml tampona konuldu.
6. Tampon (pH 7.50 mM fosfat tamponu):

A: Na_2HPO_4 :50 mM, 7.1 gr/L

B: KH_2PO_4 :50 mM, 6.8 gr/L

600 ml A + 400 ml B + 2.08 gr Na₂EDTA şeklinde hazırlandı.

GSH-Px çalışma şeması Tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo 3. GSH-Px çalışma şeması

Reaktifler	Tüpler (mL)
Fosfat Tamponu	2.65
Redükte GSH	0.1
NADPH	0.1
GRD	0.01
NaN ₃	0.01
Numune	0.02
Karıştırılıp 37 °C sıcaklıkta 30 dk inkübe edildi.	
H ₂ O ₂	0.1

5 dk boyunca 340 nm'de meydana gelen absorbands azalması takip edilerek kaydedildi.

Hesaplama

1 Ünite: Bir dakikada okside edilen NADPH'in mikromol cinsinden miktarıdır.

$$U/L(\text{mikromol/dk/L}) = \frac{A/t \times V_t \times 10^6}{E \times V_s \times L} \times Df$$

E = NADPH'in ekstinksiyon sabiti (6.22x 10³ L. mol⁻¹ . cm⁻¹)

V_t = Total reaksiyon hacmi (ml)

V_s = Total reaksiyon içindeki numune hacmi (ml)

L=Küvet çapı cm

A/t = Dakikadaki absorbands değişimi

10⁶ = Molün mikromole çevrim sabiti

Df=dilüsyon faktörü

Spesifik aktivite (U /gr protein) = (U /L) / (gr/L protein)

3.9. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip değişkenlerin grup karşılaştırılmasında one way ANOVA testi kullanılmıştır. Gruplar arasındaki analizler için Post Hoc Bonferroni testi kullanılmıştır. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve ortalama $\pm$ std. sapma değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 11.5 paket programı kullanılmış ve $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



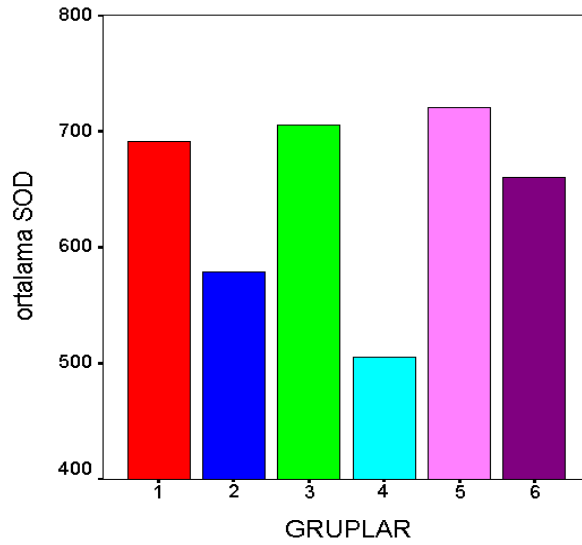
4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 6 grubun ortalama SOD, GSH-Px ve MDA değerleri Tablo 4’ de verilmiştir.

Tablo 4. Grupların ortalama SOD, GSH-Px ve MDA değerleri

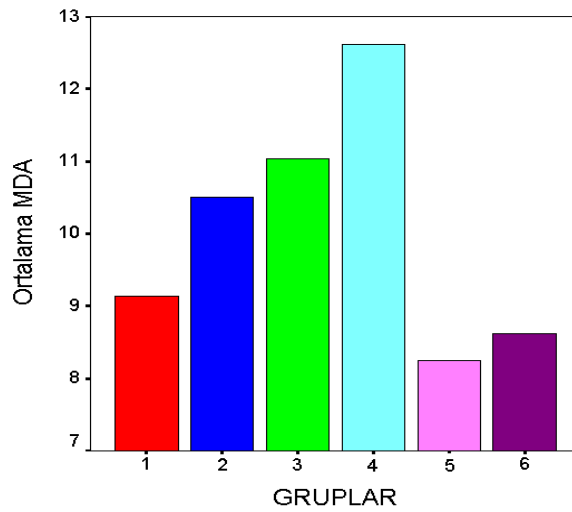
	SOD mean±SD (U/mg protein)	GSH-Px mean±SD (U/mg protein)	MDA mean±SD (μMol/mg protein)
1. Grup (SC)	691.26±149.78	990.05±85.96	9.13±1.11
2. Grup (CC)	579.12±105.69	1099.05±335.85	10.49±1.78
3. Grup (PC)	705.54±147.44	910.86±94.55	11.03±0.60
4. Grup (R)	504.93±115.76	929.69±192.68	12.60±1.25
5. Grup (C+R)	720.70±142.01	956.51±149.31	8.24±2.28
6. Grup (P+R)	659.98±137.27	871.47±130.56	8.61±1.80

SOD enzim aktivitesi açısından yapılan karşılaştırmalarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0.006$). Işınlanan (R) gruptaki sıçanlarda diğer gruplarla kıyaslandığında ortalama SOD enzim aktivitesi en düşüktü. R grubu ile PC ($p=0.04$) ve C+R ($p=0.01$) grupları arasında istatistiksel anlamlı fark vardı. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Beyin dokusu SOD düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 1’de gösterilmiştir.



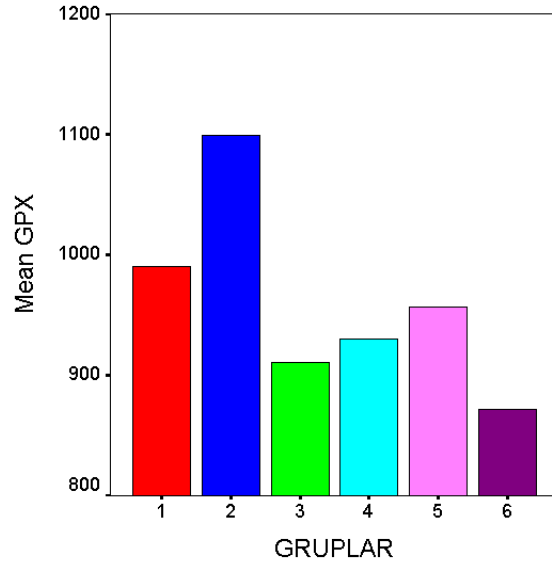
Şekil 1. Grupların beyin dokusu SOD düzeyleri

MDA düzeyi açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p < 0.0001$). Işınlanan (R) grupta MDA düzeyi en yüksekti. R grubu ile SC ($p = 0.001$), C+R ($p < 0.0001$) ve P+R ($p < 0.0001$) grupları arasında anlamlı fark vardı. PC grubu ile C+R ($p = 0.009$) ve P+R ($p = 0.039$) grupları arasında anlamlı fark vardı. PC grubunda MDA düzeyi C+R ve P+R gruplarından daha yüksekti. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$). Beyin dokusu MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Grupların beyin dokusu MDA düzeyleri

GSH-Px enzim aktivitesi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.17$). Beyin dokusu GSH-Px düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 3’ de gösterilmiştir.



Şekil 3. Grupların beyin dokusu GSH-Px düzeyleri.

5. TARTIŞMA

Radyoterapi, kanser tedavisinde kullanılan önemli tedavi yöntemlerinden biridir ve kanser hastalarının yarısından fazlasına radyoterapi uygulanmaktadır. Radyasyon tedavisi ile etkin doza çıkarken radyoterapi sahası içerisinde kalan sağlam dokular da etkilenebilmektedir. Normal dokuda meydana gelen hasar o dokunun radyasyona olan duyarlılığına göre değiştiğinden radyasyonun biyolojik sistem ve organlara olan etkilerini bilmek önemlidir. Bu nedenle iyonize radyasyonun dokular ve hücreler üzerine akut ve geç etkilerinin araştırılması önemlidir (29,30).

Radyasyona bağlı oksidatif stres oluşumu ve bunun neticesinde meydana gelen serbest radikal oluşumuna antioksidanların etkileri üzerine yapılan çalışmalar önemlidir. ROT'un hücre içi seviyesinin yükselmesinin hücresel yapıları hasarlayabileceği ve bu hasarın da birçok hastalıklara yol açabileceği bildirilmiştir (110,111). Radyasyonun hücreye verdiği hasar tiplerinden biri olan lipid peroksidasyonu ile hücre zarının lipid yapısında değişiklikler meydana gelir. Sonuçta zarın işlevinin bozulmasıyla oluşan serbest radikallerin hücre hasarına yol açtığı düşünülmektedir. Oluşan bu serbest oksijen radikali türlerinin doğrudan ölçülmesi değişken yapıları nedeniyle çok güçtür. Esas olarak, çalışmalarda okside ürünlerin oluşumundaki artışları gösteren ölçümler kullanılmaktadır. Örneğin MDA miktarı TBA testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (10).

Radyasyona maruz kalma anındaki oksidatif hasarın büyüklüğü hücredeki antioksidan savunma sistemi ile ROT arasındaki dengeye dayanır. Dengenin ROT tarafına kaydırılması demek hasarın artması demektir (112). Temel antioksidanlar nonenzimatik ve enzimatik olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Enzimatik olanlar SOD, GSH-Px, GST, GR, CAT ve nonenzimatik olanlar GSH, C vitamini, E vitamini, karotenler olarak örneklendirilebilir (6). Santral sinir sisteminde endojen antioksidan miktarı nispeten düşük seviyede olduğundan oksidatif hasara karşı hassastır (113,114). Beyindeki major serbest radikal temizleyici enzimler SOD ve GSH-Px dir. Süperoksit dismutaz $O_2^{\cdot-}$ 'i, H_2O_2 'e dönüştürür. Glutatyon peroksidaz ise H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye

dönüştürür ve detoksifiye eder. SOD'un serbest radikallere bağlı hasardan hücreleri koruyabildiği bildirilmiştir (115, 116). Ayrıca SOD'un, hücre kültürlerinde iyonize radyasyon, tümör nekroz faktör ve interlökin1'in oluşturduğu serbest radikallere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (117).

Beyinde radyasyona bağlı oluşan oksidasyon durumunda değişen parametreleri araştıran birçok çalışma vardır (118-122). Tüm vücut radyoterapisinin farklı yaş grubundaki ratlarda beyin dokusu lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem parametreleri üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada 1 haftalık, 4 haftalık, 12 haftalık ve 1 yaşındaki ratlara radyoterapi uygulanmış. Bu yaklaşım, 1 haftalık ratların, insanlarda yenidoğana, 4 haftalık ratların ergene, 12 haftalık ratların erişkine ve 1 yaşındaki ratların yaşlıya tekabül edebileceği varsayımına dayandırılmış. Radyoterapi verilen erişkin (12 haftalık) ratlarda beyin dokusunda, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinde ve MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı rapor edilmiş (118).

Collins-Underwood ve ark. (122) tarafından yapılan çalışmada moleküler oksijeni superoksit anyonuna dönüştüren bir enzim olan NADPH-oksidaz'ın beyin ışınlanması yapılan ratların 'in vitro' kültürlerinde azaldığı gösterilmiş. Işınlama öncesi NADPH oksidaz inhibitörleriyle tedavi edilen ratlarda radyasyonla indüklenen hücre içi ROT artışının önemli ölçüde engellendiği rapor edilmiş.

Kojima ve ark. (119) tarafından yapılmış olan bir çalışmada, düşük doz (50 cGy) gamma-ışını ile ışınlamanın fare beynindeki endojen antioksidan potansiyeli indüklediği gösterilmiş. Bu nedenle düşük doz ışınlamanın ROT'lara bağlı oluşan Parkinson ve Alzheimer hastalığı gibi birçok nörodejeneratif hastalıklardan korumada veya tedavisinde etkili olabileceği rapor edilmiş.

Araştırmalarda, beyin dokusunda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak MDA düzeyi, antioksidan etkinliği belirlemede ise SOD, GSH-Px, CAT ve XO enzim aktiviteleri ölçü olarak alınmıştır. Çalışmamızda, iyonize radyasyona bağlı beyin dokusunda SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri ve MDA düzeyindeki değişiklikler ölçülerek oksidan/antioksidan sistem değerlendirildi ve sıçanlara verilen propolis ile CAPE'nin antioksidan etkinliğinin olup olmadığı araştırıldı.

Beyin dokusunda, radyasyona bağlı oluşabilecek oksidatif hasara karşı radyoprotektif etkinliği değerlendirmek için amifostin (123), edaravone (124),

melatonin (125), NO (126) gibi maddelerle yapılmış birçok çalışmaya literatürde rastlamak mümkündür.

Neonatal ratlarda yapılmış bir çalışmada amifostinin, ROT temizleyici etki gösterdiği ve radyasyona bağlı hasarı önlediği gösterilmiş, dolayısıyla ROT oluşumu nedeniyle oluşan beyin hasarlarında kullanılabileceği rapor edilmiş (123). Bir diğer çalışmada da tüm vücut ışınlaması yapılan ratlara ışınlama öncesi benzer şekilde amifostin uygulanmış ve beyin gri ve beyaz cevherindeki değişiklikler FTIRM and SR-FTIRM kullanılarak değerlendirilmiş. Sonuçta beynin her iki bölgesinde de radyasyona bağlı hasardan amifostinin önemli ölçüde koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiş (127).

İlhan ve ark. (128) tarafından tavşanlar üzerinde yapılan çalışmada spinal kordda CAPE ve metil prednizolonun iyonize radyasyon hasarına karşı koruyucu etkisi araştırılmış. Spinal kordda MDA seviyeleri, SOD, CAT enzim aktiviteleri ve histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiş. MDA seviyelerinin CAPE verilen grupta metil prednizolon grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu ve doku hasarının CAPE grubunda kontrol grubuyla kıyaslandığında görülmediği rapor edilmiş.

Yılmaz ve ark. (129) tarafından CAPE ile yapılan bir çalışmada streptozosinle diabetik olan sıçanların karaciğerinde MDA seviyeleri, SOD ve CAT enzim aktiviteleri araştırılmış. Karaciğerdeki MDA seviyelerinin, diabetik sıçanlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artmış olduğu ve CAPE verilen grupta kontrol grubunun düzeyinde kaldığı rapor edilmiş. CAPE verilen sıçanlarda SOD ve CAT aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiş. Bunun nedeni ise CAPE'nin serbest oksijen radikallerini temizleyici etkisinden dolayı diabetik sıçan karaciğerinde SOD ve CAT aktivitelerinde artışı engellemesi olarak açıklanmış.

Literatürde, iyonize radyasyon uygulanan sıçanlarda beyin dokusundaki oksidan/antioksidan sistem üzerine propolis ve CAPE'nin etkilerinin araştırılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda, beyin dokusunda ışınlamaya bağlı SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri ve MDA düzeylerindeki değişime propolis ve CAPE'nin etkisinin olup olmadığını araştırdık.

Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve oksidatif stresin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan önemli markırlardandır. Oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonu sonucu MDA düzeylerini arttıracakını destekleyen

literatürde çok sayıda çalışmaya rastlanabilir (130-133). Bizim çalışmamızda, ışınlama yapılan sıçanlarda (R), beyin dokusu MDA düzeyi kontrol grubundaki sıçanlarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi ($p<0.05$). Işınlama yapılan sıçanlarda (R) ölçülen MDA düzeyi, CAPE+ışınlama (C+R) ve propolis+ışınlama (P+R) yapılan gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$). R grubunda yükselen MDA düzeyinin, P+R ve C+R gruplarında anlamlı şekilde düşmesi propolis ve CAPE'nin antioksidan özelliğini desteklemektedir. P+R ve C+R gruplarında MDA düzeyi kontrol gruplarıyla karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir, bu durum da propolis ve CAPE'nin antioksidan özelliğini desteklemektedir.

İyonize radyasyon nedeniyle oluşan serbest oksijen radikallerinin dismutasyonu SOD enzimi tarafından yapılırken bir taraftan da bu radikaller SOD enziminin protein yapısı üzerinde hasarlar oluşturmaktadır. Zamanla bu hasarlar enzimin üç boyutlu yapısında değişimlere neden olabilir ve enzimi aktivite kaybına uğratabilirler. SOD enziminin aktivite kaybı organizma tarafından gen düzeyinde up-regulasyon mekanizması ile kompanse edilebilir (134,135). Çalışmamızda, SOD enzim aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, ışınlanan sıçanlarda (R) SOD enzim aktivitesi, propolis kontrol grubu (PC) ve CAPE+ışınlama grubuna (C+R) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.05$). R grubunda azalan SOD enzim aktivitesinin, C+R grubunda anlamlı şekilde yükselmesi CAPE'nin antioksidan özelliğini desteklemektedir.

GSH-Px enzim aktivitesi açısından değerlendirildiğinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durumda iyonize radyasyon maruziyeti sonrası GSH-Px için ya hasarlanan proteinler tamir edilmiştir ya da aktivite kaybı enzim sentezinin arttırılması yoluyla yerine konmuştur diyebiliriz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmamızda, sıçanlarda radyasyona bağlı beyinde oluşabilecek oksidatif hasara karşı propolis ve CAPE'nin antioksidan etkisinin olduğu biyokimyasal parametrelerle gösterildi. Yaptığımız çalışma, propolis ve CAPE'nin radyoprotektif ajan olarak etkisinin olabileceğini düşündürmektedir ve destekleyici farmakolojik ve toksikolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.



7. KAYNAKLAR

1. Beyzadeoğlu M. Basic Radiation Oncology, Springer-Verlag Berlin Heidenberg. 2010; 3-5,83-88.
2. Perez Carlos A. Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology, 5th Edition, Lippincott Williams & Wilkins. 2008;13.
3. Przedborski S, Jackson Lewis V, Yokohama R, Shibata T, Dawson VL, Dawson TM. Role of neuronal nitric oxide in MPTP-induced dopaminergic neurotoxicity. Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93:4565–71.
4. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine (3rd ed).Oxford, Oxford University, 1999:30–90.
5. Sies H. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. Academic Press, New York. 1991.
6. Meister A, Anderson ME. Glutathione. Ann. Rev. Biochem. 1983;52:611-660.
7. Grdina DJ, Murley JS and Kataoka Y. Radioprotectants: Current status and new directions. Oncology. 2002;63:2–10.
8. Andreassen CN, Grau C, Lindegaard JC. Chemical radioprotection: A critical review of amifostine as a cytoprotector in radiotherapy. Semin. Radiat. Oncol. 2003;13: 62–72.
9. Dunne-Daly CF. Principles of radiotherapy and radiobiology. Seminars in Oncology Nursing. 1999;15:250-259.
10. Özgen Çimen S. İyonizan radyasyonla oluşturulan deneysel katarakt modelinde curcuminin rolü. 2010, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 77 sayfa, Edirne, (Prof. Dr. Dikmen Dökmeci).
11. Kelle İ. Radyoprotektif etkili ajanlar. Dicle Tıp Derg 2008;35(1):69-76.

12. Prasad KN. Rationale for using multiple antioxidants in protecting humans against low doses of ionizing radiation. *Br J Radiol.* 2005;78(930):485-92.
13. Prasad KN. Rationale for using high-dose multiple dietary antioxidants as an adjunct to radiation therapy and chemotherapy. *J Nutr.* 2004;134(11):3182-3.
14. Bankova VS, De Castro SL, Marcucci MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie.* 2000;31:3-15.
15. Orsolich N, Basic I. Antitumor, hematostimulative and radioprotective action of water-soluble derivative of propolis (WSDP). *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2005;59:561–570.
16. Hepşen Fİ, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımları. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi.* 1996;4:3.
17. Lotfy M. Biological activity of bee propolis in health and disease. Review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2006;7:22-31.
18. Tosi B, Donini A, Romagnoli C, Bruni A. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother Res.* 1996;10:335–336.
19. Özen S, Oral H, Özbek H. Hepatoprotective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on carbon tetrachloride (CCl₄) induced acute hepatotoxicity in rats. *Eur J Basic Med Sci.* 2011;1(1):7-12.
20. Gupta S, Kundabala M, Acharya SR, Ballal V. A comparative evaluation of Antibacterial Efficacy of Propolis, 3.0% Sodium Hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate against enterococcus faecalis An in vitro study. *Endodontology.* 2007; 9(2):31-38.
21. Park EH, and Kahng JH. Suppressive Effects of Propolis in Rat Adjuvant Arthritis. *Arch Pharm Res.* 1999;22(6):554-558.
22. Benkovic V, Horvat Knezevic A, Dikica D, Lisicic D, Orsolich N, Basic I et al. Radioprotective effects of propolis and quercetin in c-irradiated mice evaluated by the alkaline comet assay. *Phytomedicine.* 2008;15:851–858.

23. Orsollic N, Benkovic V, Knezevic AH, Kopjarc N, Koselac I, Bakmaz M et al. Assessment by Survival Analysis of the Radioprotective Properties of Propolis and Its Polyphenolic Compounds. *Biol. Pharm Bull.* 2007;30(5):946-951.
24. Akyol S, Armutçu F, Yiğitoğlu MR. Propolisin aktif bileşenlerinden kafeik asit fenetil ester'in (cape) bazı nörolojik hastalık ve acillerde kullanılması. *Spatula DD.* 2011;1(1):37-42.
25. Khan Faiz M. *Physics of Radiation Therapy*, The 3th Ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2003;3-4.
26. Smith H and Stather J. Biological effects of ionising radiation. In: Kaul A, Becker D (eds) *Landolt-Börnstein- Group VIII Advanced Materials and Technologies, Radiological Protection*. Springer, Berlin 2006.
27. Mercantepe T. Gamma radyasyonun neden olduğu mide mukozası hasarına karşı curcumin ve amifostinin koruyucu etkilerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi. 2008, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 66 sayfa, Edirne.
28. Mazon J, Locoche T, Maugis A. *Kanserde ışınlama teknikleri*. Uzal C. Öncü Limited, Ankara, 1995;7-60.
29. Tubiana M, Dutreix J. *Intoduction to radiobiology*. Taylor&Francis, 1990.
30. Günalp B. *İyonize Radyasyonun biyolojik etkileri*. Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, 2003.
31. Serhatlıoğlu S, Oğur E, Ozan AT, Gürsu F, Gödekmerdan A and Ayar A. İyonizan radyasyonun radyoloji çalışanlarının bağışıklık düzeyleri ve kan biyokimyası üzerine etkileri. *Tanısal ve girişimsel radyoloji*. 2004;10(2):97-102.
32. Ayala M, Strid H, Jacobsson U, Söderberg G. p53 expression and apoptosis in the lens after ultraviolet radiation exposure. *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* 2007;48:4187-419.
33. Bolus NE. Review of common occupational hazards and safety concerns for nuclear medicine technologists. *J Nucl Med Technol.* 2008;36:11-17.

34. Hall EJ, Cox JD. Physical and Biologic Basis of Radiation Therapy: In: Moss, William T. Moss, James D. Cox, eds. Radiation Oncology: Rationale, Technique, Results. 7th Edition. St. Louis. Mosby-Year Book, Inc., USA, 1994 Chapter:1, pp: 3-66.
35. Awwad HK. Radiation Effects on Normal Tissues: General Principles, In: Radiation Oncology: Radiobiological and Physiological Perspectives, Kluwer Academic Publishers, 1990, Dordrecht/Boston/London, Chapter III.1, pp:109-127.
36. Tofilon PJ, Fike JR. The radioresponse of the central nervous system: a dynamic process. Radiat. Res. 2000;153:357–370.
37. Fike JR, Rosi S, Limoli CL. Neural precursor cells and central nervous system radiation sensitivity. Semin. Radiat. Oncol. 2009;19:122–132.
38. Robbins MEC, Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review. Int. J. Radiat. Biol. 2004;80:251–259.
39. Withers RH, McBride WH. Biologic Basis of Radiation Therapy, In: Principles and Practice of Radiation Oncology. 3rd Edition; edited by Perez CA, Brady LW. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia Copyright 1997 Chapter 2, pp:79-118.
40. Levine SM, Wetzel DLB. Analysis of brain tissue by FT-IR microspectroscopy. Appl. Spectrosc. 1993;28:385-412.
41. Dere F. Nöroanatomi ve Fonksiyonel Nöroloji. Adana: Okullar Pazarı Kitabevi 1990;356.
42. Emerit J, Edeas M, Bricaire F. Neurodegenerative disease and oxidativestress. Biomedicine&Pharmacotherapy, 2004;58,39-46.
43. Yoneoka Y, Satoh M, Akiyama K, Sano K, Fujii Y, Tanaka R. An experimental study of radiation-induced cognitive dysfunction in an adult rat model. Brit. J. Radiol. 1999;72:1196-1201.
44. Zhao W, Diz D I, Robbins ME. Oxidative damage pathways in relation to normal tissue injury. Br. J. Radiol. 2007;80:S23–S31.

45. Clarke DD, Sokoloff L. Circulation and energy metabolism of the brain. In: Sigel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD. (Eds.), *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. Lippincott-Raven, Philadelphia. 1999;637-669.
46. Gerlach M, Ben-Shachar D, Riederer P, Youdim MBH. Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases? *J. Neurochem.* 1994;63, 793-807.
47. Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* 1984;105, 273-282.
48. Cooper AJL. Glutathione in the brain: disorders of glutathione metabolism. In: Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL, Kunk LM (Eds.). *The Molecular and Genetic Basis of Neurological Disease*. Butterworth-Heinemann, Boston. 1997; 1195-1230.
49. Ho YS, Magnenat JL, Bronson RT, Cao J, Gargano M, Sugawara M, Funk CD. Mice deficient in cellular glutathione peroxidase develop normally and show no increased sensitivity to hyperoxia. *J. Biol. Chem.* 1997;272,16644-16651.
50. Halliwell B, Cross CE, Gutteridge JMC. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med*, 1992;598-620.
51. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 1997;34:92–95.
52. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları*, Kuzucular ofset, 1995:3–25.
53. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta*. 2001;306:1–17.
54. Oberly LW, Oberly TD. Free radicals, cancer and aging, In: Johnson JE. Jr, Miquel J. eds. *Free radicals, aging and degenerative diseases*. New York: Alan R Liss, Inc. 1986;325-371.
55. Hui Z, Naikun Z, Rong Z, Xiumin L, Huifang C. Effect of ionising radiation on bio-oxidase activities in cytoplasm of mouse blood and liver cells. *Chin. J. Radiol. Med. Prot.* 1996;16, 179–182.

56. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals comprehensive. In Food Science And Food Safety. 2004;3:37-47.
57. Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in the apoptosis induction. Apoptosis. 2000;5:415–418.
58. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi. 2002;33:110–118.
59. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi. 2004;35:159–169.
60. Gümüştas MK, Atukeren P. Oksidatif ve nitroztatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. Türkiye’de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar sempozyumu dizisi. İstanbul: Cerrahpaşa; 2008;329–340.
61. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Dicle Tıp Fakültesi Dergisi. 2005;3:30–39.
62. Valko M, Rhodes C J, Moncola J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interac. 2006;160:1–40.
63. Stief TW. The physiology and pharmacology of singlet oxygen. Med Hypoth. 2003;60:567–572.
64. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chemistry. 1995;41(12):1819-1828.
65. Garg R, Kumbkarni Y, Aljada A. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leukocytes and lipid peroxidation and improves flow mediated vasodilatation in obese subjects. Hypertension. 2000;36:430-5.
66. McCord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem. 1993;26:351-357.
67. Huy LAP, He H, Huy CP. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci. 2008;4:89–96.

68. Ünal MT, Tufan H. Biyolojik sistemlerde peroksinitritin rolü. Türkiye Klinikleri Kardiyoloji. 2003;16:110–118.
69. Pelaez FP, Brooks PJ, Stedeford T, Song S, Ramos SJ. DNA damage, repair, and antioxidant systems in brain regions: a correlative study. *Free Radic Biol Med*. 2000;28:779–785.
70. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:7915–22.
71. Mates JM, Gomez CP, Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 1999;32:595–603.
72. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. 2004;44:381–386.
73. Li Y. Antioxidants in Biology and Medicine. Nova Science Publishers, Inc. New York. 2011;31-35.
74. Bandyopadhyay U, Das D and Banerjee RK. Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*. 1999;77(5):658-666.
75. Murray RK, Granner DK, Mayes Pa. Harper's Biochemistry. In: Mayes A. Part Lange Medical Publication, London. 1993;126-350.
76. Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem*. 2000;267:4904–4911.
77. Varanda EA, Tavares DC. Radioprotection mechanisms and radioprotective agents including honeybee venom. *J. Venom Anim Toxins*. 1998;4:5-21.
78. Rouhiainen P, Rouhiainen H, Salonen JT. Association between low plasma vitamin E concentration and progression of early cortical lens opacities. *Am J Epidemiol*. 1996;144(5):496-500.
79. Hosseinimehr SJ. Foundation review: Trends in the development of radioprotective agents. *Drug Discovery Today*. 2007;12.

80. Herscher LL, Cook JA, Pacelli R, Pass HI, Russo A, Mitchell JB. Principles of chemoradiation: Theoretical and practical considerations. *Oncology*. 1999;13:11-22.
81. Ghisalberti E. Propolis: a review. *BeeWorld* 1979;60:59–84.
82. Walker P, Crane E. Constituents of propolis. *Apidologie (Celle)*. 1987;18:327–34.
83. Ban J, Popovic' Š, Maysinger D. Cytostatic effect of propolis in vitro. *Acta Pharm Jugosl*. 1983;33:245–55.
84. Scheller S, Krol W, Swiacik J, Owczarek S, Gabrys J, Shani J. Antitumoral property of ethanolic extract of propolis in mice bearing Ehrlich carcinoma, as compared to bleomycin. *Z Naturforsch*. 1989; 44c:1063–5.
85. Chiao C, Carothers AM, Grunberger D, Solomon G, Preston AG, Barrett CJ. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Res*. 1995;55:3576–83.
86. Rao CV, Desai D, Rivenson A, Simi B, Amin S, Reddy SB. Chemoprevention of colon carcinogenesis by phenylethyl-3-methylcaffeate. *Cancer Res*. 1995;55:2310–5.
87. Bašić' I, Oršolic' N, Tadić' Z, Macedo Fereire Alcici N, Brbot Šaranović' A, Bendelja K, et al. Antimetastatic effect of propolis, caffeic acid phenethyl ester and caffeic acid on mammary carcinoma of CBA mouse. 17th International Cancer Congress, Rio de Janeiro, Brazil, (ed.) M. Moraes, R. Brentani and R. Bevilaqua. 1988;63–75.
88. Manolova N, Maximova V, Manolova Z, Stoilova I, Korczak E, Denis A. Immunobiological effect of propolis. I. Effect on cellular immunity. *Acta Microbiol Bulg*. 1987;21:76–81.
89. Neychev H, Dimov V, Vuleva V, Shirova L, Slavcheva E, Gegova G, et al. Immunomodulatory action of propolis. II. Effect of watersoluble fraction on influenza infection in mice. *Acta Microbiol Bulg*. 1988;23:58–62.
90. Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Popov S. Immunomodulatory action of propolis. IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivate. *Vaccine*. 1992; 10:817–23.

91. Dimov V, Ivanovska N, Manolova N, Bankova V, Nikolov N, Popov S. Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function. *Apidologie (Celle)*. 1991;22:155–62.
92. Scheller S, Wilczok T, Imielski S, Krol W, Gabrys J and Shani J. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990;57, 461-465.
93. Volpert R and Elstner EE. Biochemical activities of propolis extracts. I. Standardization and antioxidative properties of ethanolic and aqueous derivatives. *Z. Naturforsch.* 1993;48C, 851-857.
94. Gülşen MT. Deneysel karaciğer sirozunda “caffeic acid phenethyl ester” (cape)’in etkileri. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yan dal uzmanlık tezi, 96 sayfa, Gaziantep, (Doç.Dr.Mehmet Koruk) 2006.
95. Rossi A, Longo R, Russo A, Borrelli F, Sautebin L. The role of the phenethyl ester of caffeic acid (CAPE) in the inhibition of rat lung cyclooxygenase activity by propolis. *Fitoterapia*. 2002 Nov;73 Suppl 1:30-7.
96. Kimoto T, Arai S, Kohguchi M, Aga M, Nomura Y, Micallef MJ et al. Apoptosis and suppression of tumor growth by artemisinin C extracted from Brazilian propolis. *Cancer Detect Prev.* 1998;22(6):506-515.
97. Russo A, Izzo AA, Cardile V, Borrelli F, Vanella A. Indian medicinal plants as antiradicals and DNA cleavage protectors. *Phytomedicine*. 2001 Mar;8(2):125-132.
98. Serarslan G, Altuğ ME, Konaş T. Kafeik asid fenetil ester'in insizyonel yara modelinde plazma lipid peroksidasyonu, antioksidan durum ve nitrik oksit seviyesi üzerine etkisi. *Türkderm.* 2007;41:11-4.
99. Chen MF, Keng PC, Lin PY, Yang CT, Liao SK and Chen WC. Caffeic acid phenethyl ester decreases acute pneumonitis after irradiation in vitro and in vivo. *BMC Cancer*. 2005;5:158.
100. Khayyal MT, el-Ghazaly MA, el-Khatib AS. Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Drugs Exp Clin Res.* 1993;19:197-203.

101. Natarajan K, Gingham S, Burke TR, Grunberger D, Aggarwal BB. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription NF- κ B. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:9090-5.
102. Pascual C, Gonzalez R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol*. 1994;41:9-13.
103. Tseng T, Lee Y. Evaluation of natural and synthetic compounds from East Asiatic folk medicinal plants on the mediation of cancer. *Anticancer Agents Med. Chem*. 2006;6:347–365.
104. Borrelli F, Izzo A, Carlo G et al. Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon. *Fitoterapia*. 2002;73: S38–S43.
105. Wu WM, Lu L, Long Y, Wang T, Liu L, Chen Q and Wang R. Free radical scavenging and antioxidative activities of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and its related compounds in solution and membranes: A Structure–activity insight. *Food Chemistry*. 2007;105:107-115.
106. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.
107. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 1988;34:497-500.
108. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. *J Lipid Res*. 1978;19:1053-7.
109. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70:158-69.
110. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*. 1991;91(3C):31-38.

111. Spector A. Oxidative stres induced cataract mechanism of actions. *Faseb.* 1995;9:1173-1182.
112. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000;408:239-247.
113. Peuchen S, Bolanos JP, Heales SJ, Almeida A, Duchen MR, Clark JB. Interrelationships between astrocyte function, oxidative stress and antioxidant status within the central nervous system. *Prog. Neurobiol.* 1997;52:261–281.
114. Smith KJ, Kapoor R, Felts PA. Demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species. *Brain Pathol.* 1999;9:69–92.
115. Brennan LA, Kantorow M. Mitochondrial function and redox control in the aging eye: Role of MsrA and other repair systems in cataract and macular degenerations. *Exp Eye Res.* 2009; 88(2):195-203.
116. Panz T, Wojcik R, Krukar-Baster K. Activity of superoxide dismutase obtained from senile cataract lens-effect of diabetes mellitus. *Acta Bioch. Polonica.* 2008;55(4):821-823.
117. Hirose K, Longo DL, Oppenheim JJ, Matsushima K. Overexpression of mitochondrial manganese superoxide dismutase promotes the survival of tumor cells exposed to interleukin-1, tumor necrosis factor, selected anticancer drugs, and ionizing radiation. *Faseb J.* 1993;7:361-368.
118. Uyumlu AB. Tüm vücut radyoterapisinin farklı yaş gruplarındaki ratlarda beyin dokusu lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem parametreleri üzerine etkileri. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 76 sayfa, Malatya, (Doç. Dr. Kadir Batçioğlu) 2007.
119. Kojima S, Matsuki O, Nomura T, Yamaoka K, Takahashi M, and Niki E. Elevation of antioxidant potency in the brain of mice by Low-dose gamma-ray irradiation and its effect on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced brain damage. *Free Radical Biology & Medicine.* 1999;26:388–395.
120. Gisone P, Robello E, Sanjurjo J, Dubner D et al. Reactive species and apoptosis of neural precursor cells after gamma-irradiation. *NeuroToxicology.* 2006;27:253–259.

121. Fishman K, Baure J, Zou Y, Huang T-T, Andres-Mach M, Rola R et al. Radiation-induced reductions in neurogenesis are ameliorated in mice deficient in CuZnSOD or MnSOD. *Free Radical Biology & Medicine*. 2009;47:1459–1467.
122. Collins-Underwood JR, Zhao W, Sharpe JG, Robbins ME. NADPH oxidase mediates radiation-induced oxidative stress in rat brain microvascular endothelial cells. *Free Radical Biology & Medicine*. 2008;45:929–938.
123. Guelman LR, Zorrilla Zubilete MA, Rios H, Zieher LM. WR-2721 (amifostine, ethiol®) prevents motor and morphological changes induced by neonatal X-irradiation. *Neurochemistry International*. 2003;42:385–391.
124. Ishii J, Natsume A, Wakabayashi T, Takeuchi H, Hasegawa H. The free-radical scavenger edaravone restores the differentiation of human neural precursor cells after radiation-induced oxidative stress. *Neuroscience Letters*. 2007;423:225–230.
125. Manda K, Reiter RJ. Melatonin maintains adult hippocampal neurogenesis and cognitive functions after irradiation. *Progress in Neurobiology*. 2010;90:60–68.
126. Gisone P, Boveris AD, Dubner D, Perez MR, Robello E, Puntarulo S. Early neuroprotective effect of nitric oxide in developing rat brain irradiated in utero. *NeuroToxicology*. 2003;24:245–253.
127. Çakmak G. The effects of radioprotectant amifostine on irradiated rat brain and liver tissues. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Biology Department, 156 pages, Ankara, (Prof. Dr. Feride Severcan) 2010.
128. İlhan A, Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Ciralik H, Akyol O. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1999;16(4):458-463.
129. Yılmaz HR, Uz E, Yucel N, Altuntas I and Özcelik N. Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Molecular Toxicology*. 2004;8(4):234-238.

130. Claeson K, Aberg F, Karlberg B. Free malondialdehyde determination in rat brain tissue by capillary zone electrophoresis: evaluation of two protein removal procedures. *Journal of Chromatography B*. 2000;740:87-92.
131. Ray G, Batra S, Shukla NK, Deo S, Raina V, Ashok S, Husain SA. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2000;59:163-170.
132. Doganay S, Borozan M, Iraz M, Cigremis Y. The effect of resveratrol in experimental cataract model formed by sodium selenite. *Current Eye Research*. 2006;31:147-153.
133. Ilhan N, Halifeoglu I, Ozercan HI, Ilhan N. Tissue malondialdehyde and adenosine triphosphatase level after experimental liver ischaemia-reperfusion damage. *Cell Biochem Funct*, 2001;19:207-212.
134. Pahlavani MA, Haris MD. Effect of in vitro generation of oxygen free radicals on T cell function in young and old rats. *Free Radic Biol Med*. 1998;25:903–13.
135. Dalton TP, Shertzer HG, Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annu Rev Toxicol*. 1999;39:67–101.