



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TOTAL KAFA IŞINLAMASI YAPILAN SIÇANLARIN BEYİN
DOKUSUNDA OKSİDAN/ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE KAFEİK
ASİT FENETİL ESTERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nesrin KHAYYO
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Seyithan TAYSI
GAZİANTEP

2017



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TOTAL KAFA IŞINLAMASI YAPILAN SIÇANLARIN BEYİN
DOKUSUNDA OKSİDAN/ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE KAFEİK
ASİT FENETİL ESTERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nesrin KHAYYO

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. Seyithan TAYSI

GAZİANTEP

2017

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TOTAL KAFA IŞINLAMASI YAPILAN SIÇANLARIN BEYİN
DOKUSUNDA OKSİDAN/ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE KAFEİK
ASİT FENETİL ESTERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nesrin KHAYYO

Tez Savunma Tarihi: 19.07.2017

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Seyithan TAYSI
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Prof.Dr. Seyithan TAYSI

Yrd.Doç.Dr. Elif DEMİR

Yrd.Doç.Dr. Mustafa ÖRKMEZ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Bu çalışmada Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF. YLT.17.20 proje numarası ile desteklenmiştir.

19.07.2017

Nesrin KHAYYO

TEŞEKKÜRLER

Bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Prof. Dr. Seyithan Taysı'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIĞLU'na, Prof. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENÇİ'ye, Prof. Dr. Binnur ERBAĞCI'ya, Prof. Dr. Maher ALMOKDAD'a, Doç. Dr. Hülya ÇİÇEK'e, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÖRKMEZ'e ve Yrd. Doç. Dr. Elif İŞBİLEN'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezimdeki deneysel çalışmaları, analizleri yapan ve sonuçların değerlendirilmesinde gerekli yardımlarını benden esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Elif DEMİR'e teşekkür ederim.

Ve bana her konuda destek olan annem, babam ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Eşim Abdulkarem'e teşekkür ve minnettarlığımı sunarım.

Nesrin KHAYYO

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGE VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	ix
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Radyasyon.....	5
2.2. Fiziksel Etkileşim	6
2.3. Kimyasal Etkileşim.....	6
2.4. Biyolojik Etkileşim	7
2.5. Radyasyonun Normal Doku ve Organ Sistemleri ile Etkileşimi	7
2.6. Radyasyonun Zararlarından Korunma Yolları	8
2.7. Merkezi Sinir Sistemi ve Radyasyon.....	8
2.8. Serbest Oksijen Radikalleri	9
2.8.1. Süperoksit anyon radikali	11
2.8.2. Singlet oksijen.....	11
2.8.3. Hidrojen peroksit	11
2.8.4. Hidroksil radikali	12
2.8.5. Reaktif nitrojen türleri	12
2.8.6. Peroksinitrit.....	13
2.9. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri.....	13
2.9.1. Membran lipidlerine etkileri	13

2.9.2. Karbohidratlara etkileri.....	14
2.9.3. Proteinlere etkileri.....	14
2.9.4. Nükleik asit ve DNA'ya etkileri.....	14
2.9.5. Vücuttaki antioksidan savunma mekanizmaları	14
2.10. Enzimatik Antioksidanlar	15
2.10.1. Süperoksit dismutaz.....	15
2.10.2. Katalaz	16
2.10.3. Glutasyon peroksidaz	16
2.10.4. Glutasyon -S-transferaz.....	16
2.10.5. Paraoksonaz/Arilesteraz.....	16
2.11. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	17
2.11.1. Serüloplazmin	17
2.12. Radyoprotektörler	17
2.13. Kafeik Asit Fenetil Esteri	17
2.13.1. Yapı ve kimyasal özellikleri	18
2.13.2. Kafeik asit fenetil ester'in işlevsel özellikleri.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Antioksidan Parametrelerin Ölçümü	21
3.1.1. Total antioksidan seviye düzeyi ölçümü.....	21
3.1.2. Total tiyol ölçümü.....	21
3.1.3. Paraoksonaz enzim aktivitesi ölçümü.....	21
3.1.4. Arilesteraz aktivitesi ölçümü	22
3.1.5. Seruloplazmin düzeyinin ölçümü	22
3.2. Oksidan Parametrelerin Ölçümü.....	22
3.2.1. Lipit hidroperoksit düzeyi ölçümü.....	22
3.2.2. Total oksidan seviye düzeyi ölçümü.....	22
3.2.3. Oksidatif stres indeksi hesaplanması	23

3.3. Protein Tayini	23
3.4. İstatistiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	24
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
7. KAYNAKLAR	36
8. ÖZGEÇMİŞ	46
EKLER.....	47



SİMGE VE KISALTMALAR

ARE	Arilesteraz
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
Zn-Cu-SOD	Zn-Cu- Süperoksit Dismutaz
DTNB	5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoate)
Fe	Demir
Fe ⁺²	Ferro Demir
Fe ⁺³	Ferri Demir
EC-SOD	Ekstraselüler Süperoksit Dismutaz
ER	Endoplazmik Retikulum
GST	Glutasyon-S-Transferaz
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
Gy	Gray
H [•]	Hidrojen radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₃ PO ₄	Fosforik asit
HOCl	Hipokloröz asit
KBB	Kan Beyin Bariyeri
KAFE	Kafeik Asit Fenetil Ester
LOOH	Lipit Hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
Mn-SOD	Mn- Süperoksit Dismutaz
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa Beta
NO [•]	Nitrik Oksit
NO ₂	Azot dioksit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
O ₂ ^{•-}	Süperoksit Anyon Radikali
¹ O ₂	Singlet oksijen
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
OH [•]	Hidroksil radikali
PAYA	Poliansatüre Yağ Asiti

PON	Paraoksonaz
PON1	Paraoksonaz-1
PSS	Periferik Sinir Sistemi
R ⁻	Organik Radikaller
R-NH-X	N-halojenli aminler
RCOO [•]	Organik Peroksit Radikali
ROO [•]	Peroksil Radikali
RO [•]	Alkoksil Radikali
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SER	Seruloplazmin
SH	Sülfidril
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
TAS	Total Antioksidan Seviye
TOS	Total Oksidan Seviye
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kafeik asit fenetil ester'in moleküler yapısı .	18
Şekil 2. Grupların beyin dokusu TAS düzeyleri.	25
Şekil 3. Grupların beyin dokusu TOS düzeyleri.	25
Şekil 4. Grupların beyin dokusu OSI düzeyleri.	26
Şekil 5. Grupların beyin dokusu LOOH düzeyleri.	26
Şekil 6. Grupların beyin dokusu PON aktiviteleri.	27
Şekil 7. Grupların beyin dokusu ARE aktiviteleri.	28
Şekil 8. Grupların beyin dokusu SER düzeyleri.	28
Şekil 9. Grupların beyin dokusu Total SH düzeyleri.	29



TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Serbest Reaktif Oksijen Türleri.	10
Tablo 2: Vücutta etki gösteren Antioksidan Sistemler.	15
Tablo 3: Grupların ortalama TAS, TOS, OSI ve LOOH değerleri.	24
Tablo 4: Grupların ortalama TAS, PON, ARE, SER ve Total SH değerleri.	24



ÖZET

TOTAL KAFA İŞINLAMASI YAPILAN SIÇANLARIN BEYİN DOKUSUNDA OKSİDAN/ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nesrin KHAYYO

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez danışmanı: Prof.Dr. Seyithan TAYSI

Haziran 2017, 59 sayfa

Bu çalışmada kafeik asit fenetil esterinin (KAFE) iyonize radyasyon hasarını önleyici etkileri olabileceğini düşünerek, sıçanlara uygulanan γ radyasyonun, beyin dokusunda meydana getirdiği hasarda koruyucu etkisinin olup olmadığını değerlendirmektir. Bu amaçla, çalışmamızda 36 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Çalışma gruplarımız 2 tane kontrol, radyoterapi (R), KAFE+R olmak üzere 4 alt gruptan oluştu. Kontrol grupları dışındaki grupların hepsine ilk gün 5 Gray'lık tek doz radyoterapi uygulandı. 11. günde bütün sıçanların beyin dokuları çıkarıldı ve fosfat tamponu içerisinde homojenize edildi ve KAFE'nin koruyucu etkilerinin olup olmadığını tespit etmek için beyin dokusunda total antioksidan status (TAS), total oksidan status (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI), paraoksanaz (PON), arilesteraz (ARE), seruloplazmin (SER) ve total sülfidril (SH) parametreleri ölçüldü. Sonuç olarak ARE, PON aktiviteleri ve total SH seviyeleri R grubu ile karşılaştırıldığında, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu ve ayrıca LOOH, TOS ve OSI seviyeleri ise anlamlı olarak düştüğü gözlemlendi. Elde ettiğimiz bulgular sıçanlarda radyasyona bağlı beyinde oluşabilecek oksidatif hasara karşı KAFE'nin antioksidan etkisinin olduğunu göstermektedir. Ancak, bu bulguların doğrulanması için destekleyici farmakolojik ve toksikolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Arilesteraz, kafeik asit fenetil ester, paraoksanaz, radyoterapi, ceruloplazmin, total SH.

ABSTRACT

**INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CAFFEINE ACID
PHENETHYL ESTER ON OXIDANT / ANTIOXIDANT SYSTEM IN
THE BRAIN OF TOTAL HEAD IRRADIATED RATS**

Nesrin KHAYYO

Master Thesis, Department of Medical Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. Seyithan TAYSI

June 2017, 59 pages

In this study, we evaluated if caffeic acid phenethyl ester (CAFE) has protective effect on the damage in brain tissue induced by gamma radiation applied to rats, considering that may have inhibitory effects on ionizing radiation damage. To this end, 36 Male Wistar-Albino rats were used in our study. Our study groups are consisted of 4 subgroups: 2 control, radiotherapy (R), and KAFE + R. All of the groups except the control received a single dose of 5 Gy of radiotherapy on the first day. On day 11, brain tissues of all rats were removed and homogenized in phosphate buffer, and Total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), oxidative stress index (OSI), paraoxanase (PON), arylesterase (ARE), ceruloplasmin (SER) and total sulfhydryl (SH) parameters were measured to determine if CAFE has protective effect. In conclusion, ARE, PON activities and total SH levels were statistically increased compared to the group R and LOOH, TOS and OSI levels significantly decreased. Our findings show that CAFE might be having antioxidative effects to oxidative damage induced by radiation in brain of rats. However, to be confirmed these findings, it is needed to be supported by Pharmacological and toxicological studies.

Keywords: Arylesterase, caffeic acid phenethyl ester, paraoxanase, radiotherapy, ceruloplasmin, total SH.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beyin tümörleri bilinen en malign tümörlerden biridir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporuna göre derece IV diffüz tipte tümörler olup yüksek mortalite oranına sahiptir (1,2). Buna karşın, yürütülen tedavi yaklaşımları oldukça sınırlı olup; radikal cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiden ibarettir.

Tümöral gliomlar beyin dokusu lenf akım sistemine infiltre olarak tüm beyine yayılabilmektedir. Tüm beyinde etkili olan radyoterapi, gliomalar gibi diffüz tümörlerde daha çok tercih edilmektedir (3,4). Buna karşın, kan beyin bariyerinin (KBB) seçici geçirgen yapıda olması, kematerapötik ajanların tüm beyine diffüze olan tümöral hücrelere yeterince ulaşmasını engeller.

Radyoterapi, kanserin tedavi ve kontrolünde ilk başvurulacak yöntemlerinden biri olup, bütün kanser türlerinde kullanılabilmektedir. Kliniğe başvuran hastaların yaklaşık 2/3'ünde radyoterapi kullanımı tercih edilmektedir. Bununla birlikte, kanser hücrelerine karşı etkin kontrol sağlamak için gereken radyoterapi dozu normalden fazla olup, uygulandığında, normal dokularda hasara yol açmaktadır. Normal dokularda radyoterapiye bağlı gelişen hasar dokunun radyasyon duyarlılığına bağlı olarak değişmekle birlikte, tüm vücut ışınlaması yapılan çalışmalarda kanser riskinde sekiz kata varan artış olduğu bildirilmektedir.

Baş-boyun, beyin ya da göze yerleşmiş tümörlere radyoterapi uygulandığında, diğer yakın dokularda radyoterapiye bağlı yıkıcı etkiler gözlenmektedir. Radyoterapiyle birlikte kendini gösteren bu yıkıcı etkilere biriken serbest oksijen radikallerinin (SOR) ve DNA'da meydana gelen kırıkların yol açtığı bilinmektedir. Biriken SOR'lar endoplazmik retikulum (ER) ve mitokondri zarında yıkıma neden olarak yakın dokulardaki radyoterapiye bağlı gelişen hasarı arttırmaktadır. Reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı literatürlerde ifade edilmektedir (5-7). Yine araştırmalarda radyoterapi sonucu oluşan serbest radikallerin sistemik dolaşımıyla diğer doku ve organlara da zarar verdiği gösterilmiştir (8).

Çalışmamızda antioksidan etki göstermesi beklenen kafeik asit fenetil ester (KAFE) kullanılmıştır. Beyin dokusuna uygulanan lokal radyoterapinin Wistar- Albino cinsi sıçanlarda neden olduğu oksidatif hasara karşı KAFE'nin koruyucu etkisinin

belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, lokal uygulanan radyoterapinin oksidan/antioksidan sistem üzerindeki etkisini önlemede antitümöral, antiinflamatuvar, antioksidan etkileri olan KAFE'nin koruyucu etkilerinin olup olmadığını tespit etmek için beyin dokusunda total antioksidan status (TAS), total oksidan status (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI), paraoksanaz (PON), arilesteraz (ARE), seruloplazmin (SER) ve sülfidril (SH) parametreleri ölçülerek araştırmayı amaçlamaktayız.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Radyasyon

İnsanoğlu var oluşundan bu yana sürekli olarak radyasyona maruz kalmaktadır. Günün her saatinde radyasyon seli dünya ve üzerindeki canlıları yıkamaktadır. Radyasyonun varlığı bilimsel olarak 1800'lerin sonlarında gösterilmiştir ve bu konuda günümüze kadar radyasyon ve radyoaktivite üzerine birçok kullanım alanı geliştirilmiştir. Başta fizik olmak üzere birçok bilim dalının ilgisini çekmeyi başaran radyasyonun nüfuz edici özelliğinden yararlanan ilk bilim dallarından biri de Tıp bilimi olmuştur. Şüphesiz, nüfuz edici özelliği sayesinde radyasyonun hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılması Tıp biliminde önemli bir kilometre taşı olmuştur. Ancak, radyasyonla ilgili yapılan daha ilk çalışmalarda dahi radyasyonun beraberinde bazı riskleri de barındırdığı anlaşılmış ve insanların radyasyonun zararlı etkilerine karşı korunması gerektiğine karar verilmiştir. Bu zararlı etkiler 1895 yılında X ışınlarının keşfinden hemen sonra tespit edilmiştir. Daha sonraki yıllarda yürütülen gözlemsel çalışmalarda uzun süre X ışınlarına maruz kalan insanların derilerinde çeşitli reaksiyonlar olduğu gözlenmiş ve böylelikle radyasyonun zararlı etkileri olduğu doğrulanmıştır. Ancak, dokuda X ışınlarıyla birebir aynı hasara neden olan radyasyonun zararlı etkileri uzun yıllar dikkat çekmemiştir (9). Bununla birlikte, günümüzde her geçen gün radyasyonun etkilerini araştıran çalışmaların sayısı artmaktadır ve bu çalışmalardaki birincil hedef radyasyonun neden olduğu fayda ve risklerin dengelenmesi olmuştur (10,11).

Radyasyon; bir kaynaktan “elektromanyetik dalgalar” ve/veya “elektron parçacıkları” şeklinde uzayda ve maddede enerji yayılımıdır (12) ve etki ettiği dokuda birim kütle başına düşen enerji miktarında absorbe olur. Absorbe olan dozun birimi Joule'dir. Bunun için Gy (gray) terimi kullanılmaktadır.

Absorbe olan radyasyon yeterli enerjiye sahip ise etkileşime girdiği atomlardaki ilgili elektronu yerinden çıkarabilir ve böylelikle atomu yüklü (iyonize) hale getirir (11). Bu tür radyasyona “iyonize radyasyon” denmektedir. Bunun aksine, etkileşime girdiği atomdan elektron koparacak yeterli enerjiye sahip olmayan radyasyona iyonize olmayan radyasyonlar denir. Radyasyonun canlı hücresinde neden olduğu hasarın iyonize hale gelmiş atomlardan kaynaklandığı gösterilmiştir (11). İyonlaştırıcı radyasyonun hücrelere penetre olma özelliği, atomlar arasında enerjinin random olarak birikimini

sağladığı için biyolojik harabiyete neden olan serbest radikaller ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi toksik materyal birikimine yol açabilmektedir (13). İyonizan radyasyonun etkisi altında kalan dokudaki en önemli hedef ise DNA'dır. Sarmal harabiyeti önemli etkiler oluşturmaktadır (13). DNA sarmalında hasar iki şekilde oluşur; radyasyon direk DNA molekülünü iyonize ederek ya da hücre çekirdeği ve sitoplazmadaki suyun iyonizasyonu ile ortamda serbest radikaller oluşturarak (14,15).

Radyasyonun hücreyle olan etkileşimi üç basamakta özetlenebilir:

- Fiziksel Etkileşim
- Kimyasal Etkileşim
- Biyolojik Etkileşim

2.2. Fiziksel Etkileşim

İyonize radyasyonun canlı dokularla ilk etkileşimi fizikseldir. Radyasyonun enerjisi dokuya aktarıldığında etkileşime girdiği moleküllerde uyarılma meydana gelir. Fotoelektrik ve Compton etkileşimleri ile buradaki atomlar iyonize olurlar ve radyasyonla absorbe edilen enerjinin büyüklüğüne göre DNA'da tek veya çift bağ kırıkları oluşur. İyonlaşma ile hücre içinde oluşan serbest elektronlar diğer atomlarda da iyonlaşmaya neden olurlar ve zincirleme bir kaskat başlatırlar (16,17).

2.3. Kimyasal Etkileşim

Fiziksel etkileşimi atlatan hücrede kimyasal değişikliklerin gerçekleştiği kimyasal kademe başlar. Bu aşamada, fiziksel kademede etkilenen, hasar gören atom ve moleküllerin reaksiyona girerek reaktif serbest radikaller oluşturduğu görülür (16,17). Kimyasal etkileşime vücutta en fazla bulunan su molekülleri maruz kalmaktadır. Kısaca, iyonize radyasyon su molekülü ile etkileşime girip, onu uyardığında bir pozitif yüklü iyon bir de negatif yüklü serbest elektron salınır (18,19). Bunlardan pozitif yüklü iyon ayrılarak hidrojen (H^+) ve hidroksil radikali ($OH^\bullet$) oluştururken, serbest elektron hücre içinde birçok reaksiyona girerek sekonder iyonlaşmaya neden olarak enerjisini kaybeder ve nihayet bir su molekülüyle birleşip hidrat elektron formunu oluşturur. Diğer taraftan pozitif yüklü iyon oldukça reaktif olan H^+ ve $OH^\bullet$ oluşturur. Oluşan SOR'lar diğer su molekülleriyle ve oksijen molekülleriyle reaksiyona girerek hücre içerisinde aşırı hidrojen peroksit (H_2O_2) birikimi ile sonuçlanan kaskat başlatırlar (16,18,20).

2.4. Biyolojik Etkileşim

Radyasyonla başlayan hücre içindeki SOR birikimi bu aşamada DNA molekülünde hasar oluşturur. Oldukça etkili olan DNA tamir mekanizmaları SOR'un neden olduğu hasarları engellemeye çalışmaktadır. Ancak, hücre özellikle bölünme evresinde (S evresi) meydana gelebilecek her türlü hasara karşı oldukça duyarlı olup radyasyonla başlatılan DNA kırıkları onarılamaz ve programlı hücre ölümü başlatılır (16,18,21,22). Radyasyonun neden olduğu bu hasarın boyutu maruz kalınan radyasyonun türüne ve fraksiyon dozuna, ilgili dokudaki oksijen konsantrasyonuna, radyasyonun neden olduğu pH ve ısı değişikliğine göre değişmektedir. Ayrıca, bu etkiler radyasyon uygulaması sırasında kullanılan koruyucu ya da duyarlılaştırıcı ilaçların varlığına göre değişebilmektedir (23).

2.5. Radyasyonun Normal Doku ve Organ Sistemleri ile Etkileşimi

Radyasyonun neden olabileceği hasarlar akut, subakut ve geç olmak üzere üç grupta ele alınabilir (24). Bu etkilerin oluşumunda radyasyonla birlikte SOR üretimindeki artışın ve akut ve kronik oksidatif stresin etkili olduğunu gösteren literatür çalışmaları gittikçe artmaktadır (25-27). Hücreler radyasyona maruz kaldıktan birkaç saat sonra akut etkiler görülmeye başlar. Bu etkiler maruz kalan bütün dokularda görülmekle birlikte en belirgin şekilde görüldüğü dokular, oral mukoza, kemik iliği, larenks, gastrointestinal sistem mukozası, mesane mukozası, over, tükrük bezleri, lenf nodları, testis olarak sayılabilir (23). Radyoterapiden birkaç hafta sonra ise Subakut hasar görülmeye başlar. Subakut hasar çoğunlukla merkezi sinir sistemi (MSS), karaciğer, akciğer ve kalp doku ve organ sistemlerini etkiler (23). Uygulanan radyasyonun dozuna bağlı olarak, subakut hasarı geç etkiler izler. Geç etkiler yeterli dozda radyasyon uygulandığında bütün dokularda görülebilir, ancak bazı dokularda geç hasarın ortaya çıkması için uygulanması gereken radyasyon duyarlılık eşiği daha düşüktür (23).

SOR'un hücrede neden olduğu hasarlar şöyle sıralanabilir;

- DNA kırıkları
- Protein ve Lipitlere güçlü kovalent bağlarla bağlanması
- Nükleotit tabiattaki koenzim yıkımı
- Lipit metabolizmasında değişiklikler

- Hücre ortamındaki Tiyol/Disülfid oranında değişime neden olarak tiyol bağımlı enzimlerde fonksiyon kaybı.
- Protein yıkımı
- Mukopolisakkarit yıkımı
- Kollajen ve elastin proteinlerindeki bozukluğa bağlı olarak atrofibratik değişikliklerin oluşması
- Hücre zarı proteinlerindeki tahribat, ve dolayısıyla taşıma sistemi bozukluğu (28).

2.6. Radyasyonun Zararlarından Korunma Yolları

Radyasyonun neden olduğu zararlı etkilerden korunmak için radyoaktif ortam ile maksimum izolasyon sağlanmalı. Bu kapsamda, radyasyonlu ortamın duvar beton kalınlığı ve kurşun alaşımı yeterli olmalıdır. Ayrıca, bu ortamlarda kurşun önlük, kurşun eldiven, kurşun enjektör ve kurşun cam kullanımı sağlanmalıdır. Radyoaktif kaynaklardan mümkün olduğunca uzak mesafede yaşam alanı oluşturulmalıdır çünkü maruz kalınan doz, radyoaktif kaynağa olan uzaklığın karesiyle ters orantılıdır (29).

2.7. Merkezi Sinir Sistemi ve Radyasyon

Merkesi sinir sistemi (MSS) kanser metastazlarının en sık görüldüğü sistemlerden biridir. Bütün kanser vakalarının yaklaşık %25-35'inde MSS metastazı raporlanmaktadır. Özellikle intrakranial metastazlar yaşam kalitesini ve süresini en alt düzeye indiren tipte metastazlar olup, tedavi açısından en sorunlu metastazlardan biridir (30). Bazı kanser tiplerinde tümörlü dokuda tek bir metastaz görülürken, bazılarında birden fazla metastaz gözlenebilmektedir. Kanser dokusunun primer histolojik tipi ve metastazın yerleştiği anatomik bölge dikkate alınarak, tek metastazlarda cerrahi tercih edilirken, çoklu metastazlarda klinik durum değerlendirilip radyoterapi ve kemoterapi tercih edilmektedir.

Serebral metastazlar tümöral hücrelerin kan yoluyla taşınımı sonucunda gelişir, dolayısıyla visseral organ (karaciğer, akciğer) metastazlarından sonra gözlenir. Bu metastazlardaki klinik semptomlar, hemostatik mekanizmaların bozulmasıyla görülmeye başlar. Başlıca fizyopatolojik değişiklikler; artmış intrakranial basınç ile

azalmış kan akımı, vazojenik ödem oluşumu, herniasyon ve azalan kan akımına bağlı mekanik bozukluklardır (30).

Başta beyin olmak üzere MSS ve Periferik Sinir Sistemi (PSS) organları fonksiyonlarını devam ettirebilmeleri için hemostatik bir ortama ihtiyaç duyarlar. Bu sebeple, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve sinir sistemi vücudun geri kalanı ve dolaşım sistemiyle seçici geçirgen zarlar yardımıyla izole edilmiştir. Albumin gibi bazı proteinler ve kandaki ilaçlar KBB geçememektedir (31-33).

Kemoterapi için doz sınırlayıcı faktör olan KBB'ye ek olarak, MSS, tükettiği yüksek oksijen miktarıyla yüksek SOR oluşturma potansiyeliyle (total oksijenin %20'si) radyasyon için de doz sınırlayıcıdır. Özellikle MSS orjinli tümörlerde radyasyon ciddi yan etkilere neden olduğundan tedavi için sınırlayıcıdır (34). Son yıllarda yürütülen çalışmalarda, radyasyonun sinir hücrelerinde kronik oksidatif stres başlatarak inflamasyona neden olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca nitrojen ve reaktif oksijen türlerinin de bu süreçte rol aldığı gösterilmiştir (35). Beyin dokusunun SOR üretim potansiyeli diğer organlara göre daha fazladır. Bunun nedenlerinin, beyin dokusunda yüksek miktarda demir bulunması, yapısının doymamış yağ asitleri içeren lipitten zengin olması ve çok miktarda oksijen tüketimine sahip olması olduğu düşünülmektedir (36,37).

2.8. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller dış yörüngesinde, bir veya birden fazla çiftlenmemiş elektron bulunduran organik ya da inorganik moleküllerdir. Bu moleküller yüksek derecede kararsızlık ve reaktiflik göstermeleriyle karakterizedir. Yakınında bulunan herhangi bir molekül ile reaksiyona girerek yapısını bozarlar (38). Vücuttaki en önemli serbest radikal kaynağı dış yörüngesinde 2 tane eşleşmemiş elektron bulunduran oksijendir. Ayrıca, oksijen ile reaksiyona giren diğer moleküllerde biyolojik sistemlerde yıkıcı etkileri olan serbest radikaller oluşturmaktadır (39) (Tablo 1).

Tablo 1: Serbest Reaktif Oksijen Türleri.

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Peroksil Radikali (ROO [•])	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Hidroksil Radikali (OH [•])	Ozon (O ₃)
Alkoksil Radikali (RO [•])	Hipokloröz asit (HOCl)
Hemoproteine Bağlı Serbest Radikaller	Azot dioksit (NO ₂)
Organik Radikaller (R [•])	N-halojenli aminler (R-NH-X)
Organik Peroksit Radikali (RCOO [•])	Hipohalöz asit (HOX)
Süperoksit Anyon Radikali (O ₂ ^{•-})	Singlet oksijen (¹ O ₂)
Semikinon Radikali (HQ [•])	Lipit Hidroperoksit (LOOH)

SOR'lar nükleik asitlerde, proteinlerde, yağlarda ve karbohidratlarda hasara yol açabilir ve hücrel enzimlerin yapısını bozup işlevsiz bırakabilirler (40). Çalışmalarda, oluşan bu hasarın yaşa bağlı immün yetmezlik, Parkinson, Diabet, Romatoid artrit ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklara neden olduğu ifade edilmektedir. Hatta günümüzde hemen her hastalığın bir dereceye kadar oksidatif strese bağlı olduğu kabul edilmektedir (40). Çünkü hücre içinde biriken serbest radikaller organellere ve membranlara saldırır, reaksiyon başlatır ve tahrip eder. Böylelikle, hücre içerisinde kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlar. Biriken SOR'lar hücre zarındaki yağlar ile reaksiyona girdiğinde, yağ moleküllerinin yapısı değişmeye başlar ve oksijen su ve atık taşınımı durur. Tahribatın devamında hücre zarının yapısında bulunan yağlar parçalanır, membran yırtılır ve hücre bileşenleri dağılır. Bu olay “oksidatif hasar” olarak adlandırılır (41,42). Bununla birlikte, vücutta üretilen SOR'lar her zaman tehlikeli değildir. Eikozanoid ve steroid yapıdaki bileşiklerin molekül sentezi yapımına katılırlar ve ayrıca ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda aktif rol oynarlar.

Doku travmaları ve enfeksiyonları gibi çevresel faktörler ve çeşitli kimyasallar SOR yapımını artırmaktadır. Artan SOR biyolojik ihtiyaç seviyesinin üzerine çıkarsa toksik etkiler görülmeye başlar (43,44). Çevresel faktörlere ek olarak, metabolizma endojen olarak da SOR üretebilir. Endojen radikal üreten kaynakların başında ER, redoks döngüsü, araşidonik asit metabolizması, mitokondrial elektron transport zinciri, lökositler ve makrofajlar ve NADPH ve ksantin oksidaz gibi enzimler gelmektedir (45).

2.8.1. Süperoksit Anyon Radikali

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda zayıf bir reaktif olan süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) oluşturur. Bu indirgenme reaksiyonu özellikle mitokondri iç zarındaki solunum zincirinde spontan olarak meydana gelir. Oluşum sırasında aktif rol oynayan enzimler lipooksijenaz ve siklooksijenazdır. Fagositik hücrelerin NADPH bağımlı oksidaz enzim kompleksi fazla miktarda süperoksit radikali oluşturmaktadır. İki $O_2^{\bullet-}$ molekülü süperoksit dismutaz tarafından hızla H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştür (46).

Oluşum iki reaksiyon basamağından ibarettir;

$O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 ile tepkimeye girer ve $OH^{\bullet}$ ile singlet oksijen (1O_2) oluşturur.



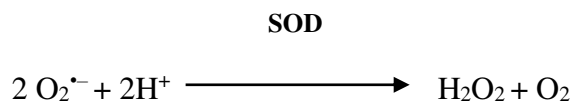
Serbest radikallere karşı organizmanın uzun süreli korumasız kalması bu maddelerin düşük konsantrasyonları bile önemli molekülleri tahrip edebilir ve sonuçta DNA'da mutasyon ve doku tahribatı meydana gelir.

2.8.2. Singlet Oksijen

Oksijen molekülünün dış orbitasındaki elektron enerji absorbe ettiğinde, yer değiştirerek farklı bir yörüngeye geçer. Böylelikle oksijen uyarılır ve bu oksijene singlet (1O_2) denir. 1O_2 , DNA, RNA, lipit, sterol ve proteinleri kapsayan çok sayıda biyolojik hedeflerle reaksiyona girererek hücrede zararlı etkilere sebep olur (47,48).

2.8.3. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit molekülü eşleşmemiş elektron taşımaz ve bu yüzden de radikal değildir. H_2O_2 oksijen molekülünün başka bir molekülden iki elektron alarak peroksit oluşturmamasından ve peroksit molekülünün de iki hidrojen molekülü ile birleşmesiyle oluşur ancak Biyolojik sistemlerde H_2O_2 asıl üretimi $O_2^{\bullet-}$ radikallerinin süperoksit dismutaz (SOD) enzimi yardımıyla H_2O_2 'ta dismutasyonu ile olur. İki $O_2^{\bullet-}$ iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştur.



Hidrojen peroksit nötrofil fagozomlarında bulunan myeloperoksidaz enzimiyle çok reaktif serbest oksijen radikali olan HOCl oluşumuna sebep olur.

Hidrojen peroksit geçiş metallerinin varlığında en önemli SOR olan OH[•] radikalının oluşumunu sağlar. H₂O₂'nin diğer önemli bir görevi de hücre içi sinyal molekülü olarak rol almasıdır. H₂O₂ oluşuktan sonra katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-P_X) ve peroksiredoksinler adında üç enzim sistemi tarafından uzaklaştırılır (49).

2.8.4. Hidroksil Radikali

Hidroksil (OH[•]) radikali, diğer SOR'den daha güçlü bir radikal olup, biyomoleküllerle reaksiyona girerek hücreye daha fazla hasar verir. Hücre içinde birikmesi için ortamda demir (Fe) gibi geçiş metalleri olması gerekmektedir (49). Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretebilen OH[•] canlılarda iki mekanizma ile oluşabilir

- 1- Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.
- 2- Hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir.

Hidroksil radikali, lipit, polipeptid, protein, DNA ve diğer moleküllerle reaksiyona girer. Özellikle nükleik asitlerdeki timin ve guanin bazlarıyla reaksiyona girerek başka radikaller oluşturmaktadır. OH[•] lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olabilir ve hemen her organik molekülü, ayırım yapmadan okside edebilir (46,50).

2.8.5. Reaktif Nitrojen Türleri

Nitrik oksit (NO[•]), tek bir eşlenmemiş elektrona sahip serbest radikaldir. Hücre içerisindeki NO[•] kaynağı L-arjinin olup, nitrik oksit sentazın (NOS) katalizlemesiyle oluşur. Hücrede katıldığı fizyolojik süreçler; sinir iletimi, savunma mekanizması, kan basıncı düzenlenmesi, bağışıklığın düzenlenmesi ve kas gevşemesidir. NO[•], hem sulu hem de yağlı ortamda çözülebilir olduğu için sitoplazma ve plazma zarlarından kolayca geçebilen ender radikallerden biridir (51-53). Hücre içerisindeki oksidan seviyesine bağlı olarak, bir antioksidan gibi davranabilir ve lipid peroksidasyonunda koruyucu rol oynar. Ancak, O₂^{•-} düzeylerinin arttığı durumlarda O₂^{•-} ile reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturur (54).

2.8.6. Peroksinitrit

Peroksinitrit diğer SOR'lar ile kıyaslandığında oldukça kısa yarılanma ömrü vardır. Hücre içerisinde birikmeye başladığında DNA bölünmesini ve lipid oksidasyonunu başlatır ve son derece reaktiftir (53).

2.9. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

SOR'lar hücre içerisinde birçok hasara neden olup, dört başlık altında toplamak mümkündür.

2.9.1. Membran Lipidlerine Etkileri

Hücre içerisinde biriken SOR hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi (PAYA) ile reaksiyona girerek lipid hidroperoksitlerini oluşturur. Bu peroksidasyonun şiddeti lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılıdır.

PAYA'ların oksitlenmesi ile yağ asidi radikali oluşur. Buna oksijenin eklenmesi ile lipid peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. Eğer E vitamini ve/veya erdostein gibi bir antioksidan tarafından önlenmezse komşu PAYA moleküllerini okside eder (55).

Lipid peroksidasyonu membran yapısına ve diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Membran geçirgenliği ve membran akışkanlığı ciddi şekilde etkilenir. Lipidler yıkıldığında hücre içerisinde biriken bileşiklerden birisi de malondialdehittir (MDA). MDA fosfolipid ve proteinlerle çapraz bağlar oluşturarak yapılarını bozar. Bunun dışında, iyon transportunu, enzim aktivitelerini ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsek membran özelliklerini bozar. Hücrenin her tarafına dağılarak, özellikle sülfidril (SH) içeren enzimlerin yapısını bozarak inaktive eder. Son olarak, genetik şifrede mutasyona yol açar (56).

Özetle hücre içerisinde biriken SOR'lar membran lipidlerini perokside ederek:

- Membrandaki taşıma sistemlerini bozar,
- Hücre içi ve hücre dışı iyon dengesini bozar,
- Hücre içi proteazları aktive ederek hücreyi apoptoza yönlendirir.

2.9.2. Karbohidratlara Etkileri

Tüketilen karbohidratlardan özellikle monosakkaritler vücutta okside olduklarında, H_2O_2 ve okzoaldehit gibi DNA ve RNA için oksidatif özellik gösteren bileşikler üretirler. Glikozil karbohidrat oksidasyonu ile oluşan bir okzoaldehit olup, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturur. Bu özelliğiyle antimitotik etki eder. Bunun dışında, karbohidratla birlikte oluşan oksidatif bileşiklerin in vitro ortamda önemli kıkırdak bileşiklerinden olan hyaluronik asidi parçaladıkları raporlanmıştır (57).

2.9.3. Proteinlere Etkileri

Hücre içerisindeki SOR'lar proteinlerde hasara neden olur. Bu hasarın derecesi protein yapısında bulunan aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikallerle kolay reaksiyona girerler. Bu nedenle, triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, sistein gibi aminoasitler kolaylıkla etkilenirler. Bu etkileşimler proteinlerin spesifik bölgeleri üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığını olumsuz yönde etkileyebilir.

2.9.4. Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

Radyasyon terapisinde hücre içerisinde biriken SOR DNA'da mutasyona neden olabilir. DNA yapısında bulunan $OH^\bullet$, deoksiriboz ve diğer bazlar SOR'lardan kolayca etkilenebilir (46).

2.9.5. Vücuttaki Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Vücutta birçok savunma sistemi olup, oksidatif sistem için önemli olanlardan biri de SOR'ların oksidatif özelliklerine karşı koruyan antioksidan savunma sistemleridir. Antioksidan mekanizma iki şekilde çalışır; radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak SOR oluşumunu engeller ve oluşan SOR'ların hücre içi zararlı etkilerinden etkilenen hücre yapısını onararak (46). (Tablo 2.)

Tablo 2: Vücutta Etki Gösteren Antioksidan Sistemler.

Antioksidan Enzimler	Enzimatik Olamayan Antioksidanlar
Süperoksit Dismutaz	Flavonoidler
Glutasyon Peroksidaz	Vitamin E
Glutasyon Transferaz	Vitamin C
Katalaz	Bütillenmiş Hidroksianizol
NADPH Kinon Oksido Redüktaz	Bütillenmiş Hidroksitoluen
Glutasyon S Transferaz	Ebselen
Epoksithidrolaz	P Karoten
Glukronil Transferaz	Ürat
Sulfonil Transferaz	Seruloplazmin
Glutasyon Redüktaz	Albumin
Glutasyon-6- Fosfat Dehidrogenaz	Ubikinon
Okside Glutasyon ve Konjuge Taşıyıcıları	Likopen
İzositrat Dehidrogenaz	Heptogloblin
6- Fosfoglukonat Dehidrogenaz	Melatonin

2.10. Enzimatik Antioksidanlar

2.10.1. Süperoksid Dismutaz

Süperoksid dismutaz, hücre içerisinde biriken süperoksit radikalının H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizleyerek, hücreyi $O_2^{\cdot-}$ zararlı etkilerine karşı hücreyi korur. Ayrıca lipid peroksidasyonunu da inhibe eder (58).

Süperoksid dismutaz enzimi çoğunlukla hücre içerisinde bulunurken, %10 kadarı hücre dışına salınır (53).

Hücre içerisinde üç tip süperoksid dismutaz bulunur:

- Mitokondride bulunan manganez içeren (Mn- süperoksid dismutaz) dismutaz
- Ekstrasellüler süperoksid dismutaz (EC- süperoksid dismutaz) (58).
- Bakır ve çinko içeren (Cu-Zn süperoksid dismutaz) dismutaz.

2.10.2. Katalaz

Katalaz (CAT), 4 tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Hücre içerisinde peroksizom olarak adlandırılan bir hücre organelinde bulunur ve H_2O_2 su ve moleküler oksijene dönüşünde rol oynar (44,53).

2.10.3. Glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz, düşük derecede oksidatif hasara karşı koruma sağlar. Bu enzimin iki substratı vardır, bunlardan biri H_2O_2 suya, diğer substratı organik hidroperoksit alkole indirgenir. Bu enzim reaksiyonu sırasında koenzim olan redükte glutasyon (GSH) yükseltgenir. Yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG), glutasyon redüktaz enzimi tekrar indirger ve glutatyonla dönüştürür (59).

2.10.4. Glutasyon -S-transferaz

Glutasyon -S- transferazlar (GST) toksinlerin biotransformasyonu katalizler (59). GST'ler özellikle lipid peroksitlere karşı koruma mekanizması oluştururlar. Lineolat hidroperoksitlerin neden olduğu hasarı önlemede etkilidirler.

2.10.5. Paraoksonaz/Arilesteraz

Paraoksonaz-1 (PON1), 354 aminoasitli glikoprotein yapısında ve paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonaz olmak üzere üç farklı aktiviteye bir enzimdir (60). PON1, serum enzimi olup Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL) ile ilişkilidir, ayrıca antioksidan fonksiyona sahip olduğu raporlanmıştır. Paraoksonaz gen ailesi PON1, PON2 ve PON3'den oluşmaktadır. Bu aileden PON2 ve PON3 105. pozisyonda lizin rezidüsüne sahip olmadığından paraoksonu hidroliz edemezler (61). Literatür çalışmalarında paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak ele alınsa da, yapılan ileri moleküler çalışmalar insan serumundaki paraoksonaz enziminin hem arilesteraz, hem de paraoksonaz aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (62). Bu iki enzim oksidan birikintilere karşı rol oynayan enzimatik antioksidan sistemin bileşenleridir.

2.11. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.11.1. Serüloplazmin

Seruloplazmin'in etki mekanizması süperoksit dismutaza benzemektedir. Organizmada meydana getirdiği en önemli fizyolojik görev Ferro demiri (Fe^{2+}), Ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgemektir. Bu sayede hücre içerisinde Fenton reaksiyonunu durdurarak hidroksil radikali oluşumunu engeller (63).

2.12. Radyoprotektörler

Radyoterapinin dozu arttıkça normal doku hasarı artar. Bu nedenle artan radyoterapi dozu normal dokularda ciddi yan etkilere yol açar ve bu tedavide dozu sınırlandırmak mümkündür. Günümüzde radyoterapi sırasında normal dokuda meydana gelen bu hasarın önüne geçmek için radyoprotektif ajanlar kullanılmaktadır (64,65). Radyoprotektörler, canlıyı radyasyona karşı koruyan ve daha dirençli hale getiren maddelerdir. Radyoprotektif etki ile serbest radikal ürünleri etkisiz hale getirilmeye çalışılır.

Genel olarak radyoprotektif ajanlar 4 grupta incelenir:

- SH içeren bileşikler,
- Analjezikler ve trankilizanlar gibi farmakolojik ajanlar,
- Tiyol bileşikler (amifostin),
- Diğer radyoprotektif etkili bileşikler (WR-1065, vitamin C ve E ve glutatyon gibi) (66).

2.13. Kafeik Asit Fenetil Ester

Kafeik Asit Fenetil Esteri (KAFE) uzun yıllar Anadolu'da tüketilmekte olan şifalı bitkidir ve fenolik bir antioksidandır (67). Günümüzde ise çeşitli hastalıkların tedavisinde halk hekimleri tarafından kullanılagelen alternatif tıp ilaçlarından biri durumundadır. KAFE ile ilgili literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, KAFE'nin antiinflamatuvar, immunomodulator, antioksidan ve antitumoral etkisinin olduğu raporlanmıştır. Bunun yanında, renal dokuda, spinal kord ve beyinde iskemi/reperfüzyona bağlı gelişen lipid peroksidasyonunu önlediği gösterilmiştir (68).

KAFE, arı kovanlarından elde edilen propolisin aktif bileşenlerinden biridir. Propolis, çeşitli bitkilerin yaprak, gövde ve tomurcuklarından arılar tarafından toplanıp kovanda

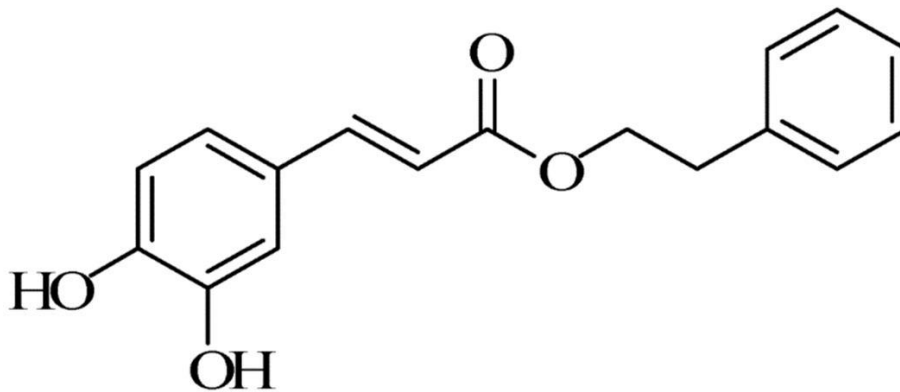
biriktirilen özüte verilen isimdir. Farklı bölgelerden toplanan propolis örneklerinde 160'tan fazla bileşik tanımlanmıştır. Bunlar arasında önemli olanlar kısaca; fenolik aldehytler, polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, alkoller ve ketonlar, kumarinler, stereoidler, seskuiterpen kinonlar, ve çeşitli aminoasitler ve inorganik bileşiklerdir.

Propolisin içeriği, arılar tarafından toplanan bitki türüne göre değişmektedir. Arılar propolisi, kovan'ın dezenfeksiyonunda, mikroorganizmalardan korunmada ve yarıkların kapatılmasında kullanırlar (69). Yine arıların beslendiği bitki türüne göre, Propolis'in içeriğinde KAFE bulunabildiği gibi bulunmama durumu da olabilir.

Son dönemlerde yapılan çalışmalar KAFE'nin, e kromozom sağlamlığı üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (70). Kromozom sağlamlığı en önemli kanser belirteçlerinden biri olup, en sık görülen patolojidir. Bu nedenle kromozom sağlamlığını arttıracak ilaçlar ve/veya aktif bileşikler kanser tedavisinde çok büyük bir öneme sahiptir. KAFE'nin kromozom sağlamlığını arttırdığı birçok çalışma ile doğrulansa dahi, bu etkinin genetik ve moleküler seviyedeki etki mekanizması henüz aydınlatılamamıştır.

2.13.1. Yapı ve Kimyasal Özellikleri

Kafeik Asit Fenetil Ester, propolisin aktif maddesi olup yapıca flavonoidlere benzeyen ve iki halkasal yapı içeren aktif kimyasal bir bileşendir. Halkalardan bir tanesi daha aktiftir ve iki adet -OH grubu taşır. Bu özelliğiyle hemen hemen molekülün bütün kimyasal özelliklerini gösterir. Diğeri ise nibeten daha pasiftir (Şekil 1). Aktif halkadaki söz konusu hidroksil grupları, elektron alıp vererek oksitleyici ve redükleyici özellik gösterir.



Şekil 1. Kafeik asit fenetil ester'in moleküler yapısı (71).

Bunun yanında, KAFE çok uzun aromatik ve alifatik özellik gösteren C grupları taşımaktadır, bu nedenle lipofilik özellik gösterip hücre zarlarını kolaylıkla geçebilir. Çalışmalar, KAFE'nin zardan geçiş katsayısının 13,82 olduğu raporlanmıştır. Bu nedenle, ilgili hücre veya vücut bölgesine ulaşımının kolay olduğu savunulmaktadır ve böylece deney hayvanı araştırmalarında her türlü yoldan kolaylıkla verilebilmektedir.

2.13.2. Kafeik asit fenetil ester'in işlevsel özellikleri

Geçmiş yıllarda propolis halk tıbbi çerçevesinde antioksidan, enflamasyon giderici, antimutajenik, bağışıklık sistemi düzenleyici ve antimikrobik gibi birçok sebeple tedavi amaçlı olarak kullanılmış, iyileştirici rolünün olduğu gösterilmiştir (72,73).

KAFE, hasar mekanizmalarını önlemek için kullanılabilecek güçlü bir antiinflamatuvar bileşiktir. Ayrıca, Ornitin karboksilaz 5-alfa redüktaz, proteaz, lipooksigenaz, human immunodeficiency virüs-1 integras gibi bazı enzimlerin potansiyel engelleyicisidir. Bunun yanında, nükleer transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör Kappa-B (NF-KB)'nin aktivasyonunu inhibe eden etkili ve spesifik bir inhibitör olduğundan oksidatif hasarla meydana gelen nekrozu engeller ve hücreleri ölümden korur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada ortalama vücut ağırlıkları 200 ± 20 gr arasında olan 36 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar; Negatif kontrol (n=8), Pozitif Kontrol (n=8), Radyoterapi (n=10), ve Radyoterapi+ KAFE (n=10) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deney protokolü boyunca bütün cerrahi işlemler öncesinde kontrol gruplarındaki sıçanlar hariç diğer gruptakiler 50 mg/kg/ip ketamin uygulandı ve radyoterapi uygulamasına geçildi. Radyoterapi uygulaması 1. günde Co 60 teleterapi cihazı ile sıçanların baş bölgesine SSD 80 cm olacak şekilde 5x5 cm'lik bir alana 5 Gy'lik fraksiyonda tek doz uygulandı. Kontrol grubundaki sıçanlara radyoterapi uygulaması yerine, eşit volümde serum fizyolojik verildi. 11. günde bütün sıçanlar 50 mg/kg/ip. ketamin ile anestezi uygulandı. Daha sonra beyin dokuları çıkarıldı ve fosfat tamponu (bir hacim doku örneği ile 9 hacim buz gibi soğuk fosfat tamponu) içerisinde homojenize edildi. Homejenizasyon sonrasında elde edilen süpernatant 5 adet ependorf tüpe alındı ve olası deformasyonlardan korumak için biyokimyasal değerlendirmenin yapılacağı zamana kadar -80°C 'de saklandı. Bu çalışmada KAFE'nin antioksidan etkinliğini değerlendirmek için seçilen TAS, TOS, OSI, LOOH, PON, ARE, SER ve total SH gibi biyokimyasal parametreler spektrofotometrik yöntemlerle analiz edildi.

Grup bilgileri aşağıdaki gibidir;

- 1. Grup (Negatif Kontrol Grubu (NK)):** Bu kontrol grubuna hiçbir cerrahi ve/veya ilaç uygulaması yapılmadı. 10 gün boyunca hayvanlara normal yem ve su verildi.
- 2. Grup (Pozitif Kontrol Grubu (PK)):** Bu kontrol grubu 4. grubun pozitif kontrolü olup bu gruptaki sıçanlara intraperitoneal (IP) yolla 10 gün boyunca 0.25 ml dimetil sülfoksit (DMSO) enjekte edildi. Bu süre boyunca hayvanlar normal yem ve su ile beslendi.
- 3. Grup (Radyoterapi Grubu (R)):** Bu gruptaki sıçanların baş bölgelerine 1. gün 5 Gray (Gy) tek doz radyoterapi uygulandı. Bu uygulamadan 30 dakika önce ve takip eden 10 gün boyunca, 0.25 ml serum fizyolojik IP yolu ile sıçanlara verildi ve normal yem ve su ile beslendi.
- 4. Grup (Kafeik Asit Fenetil Esteri + Radyoterapi Grubu (KAFE+R)):** Bu gruptaki sıçanlara 1. gün 5 Gy tek doz radyoterapi uygulandı. Bu uygulamadan 30

dakika önce ve bunu takip eden 10 gün boyunca DMSO'da çözündürülmüş, 10 µmol/kg/gün KAFE IP yolla sıçanlara verildi. Sıçanlar 10 gün boyunca normal yem ve su ile beslendi. Deney sonunda tüm gruplar dekapite edildi ve tüm grupların beyin dokuları çıkarılarak biyokimyasal analizlerde kullanıldı.

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan onay alındıktan sonra, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi (Etik kurul numarası: 2017/2).

3.1. Antioksidan Parametrelerin Ölçümü

3.1.1. Total antioksidan status düzeyi ölçümü

Örneklerin TAS düzeyi ölçüm yöntemi şu şekildedir; örnekteki tüm antioksidan molekülleri renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesiyle bu molekül dekolorize olur. Dekolorizasyonun şiddeti antioksidan moleküllerinin toplam konsantrasyonu ile orantılıdır (74). Bu işlem sırasında kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Sonuçlar mmol Trolox equivalent/ gr protein olarak ifade edildi.

3.1.2. Total tiyol ölçümü

Örneklerdeki total tiyol grubu ölçülürken, SH gruplarının toplam miktarı olarak ölçüldü. Bu ölçümün temel prensibi şu şekildedir; Ölçüm sırasında –SH grubunun Ellman reaktifi 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoate) (DTNB) kullanılır ve oluşan renkli ürünün absorbansı 412 nm de ölçülür (75). Sonuçlar mmol/gr protein olarak ifade edildi.

3.1.3. Paraoksonaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Paraoksonaz HDL-Kolesterole bağlı lipofilik, hidrofobik yapıli antioksidan bir enzimdir. Bu enzimin aktivitesi Rel Assay marka kit kullanılarak ölçüldü. Kısaca bu yöntemde, PON enzimi paraoxon (O, O-diethyl-O-pnitrophenylphosphate), substratı ile reaksiyona girerek hidroliz eder. Bu hidrolizleme işlemi sonucunda renkli *p*-nitrophenol ürünü oluşur. Oluşan ürünün absorbansı 412 nm de kinetik modda izlenerek enzim aktivitesi U/g protein olarak ifade edilir (76).

3.1.4. Arilesteraz Aktivitesi Ölçümü

Antioksidan bir enzim olan PON enziminin ARE aktivitesi de ticari Rel Assay marka kit kullanılarak ölçüldü. Bu testin çalışma yöntemi şu şekildedir; ölçüm yapılacak örneğin içerdiği enzim, kullanılan kitteki fenilasetat substratıyla enzimatik bir reaksiyon başlatır ve böylelikle fenol oluşur. Oluşan fenol kolorimetrik olarak ölçülür ve aktivite tayini yapılır (6). Sonuçlar enzim aktivitesi çok yüksek düzeylerde olduğu için U/g protein olarak ifade edilir.

3.1.5. Seruloplazmin Düzeyinin Ölçümü

Seruloplazmin düzeyi Erel (74) tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Bu metot kolorimetrik bir metot olup, Ferro demirin (Fe^{2+}), Ferri demire (Fe^{3+}) enzimatik oksidasyonu ölçer. Sonuçlar enzim aktivitesi U/ gr protein olarak ifade edilir.

3.2. Oksidan Parametrelerin Ölçümü

3.2.1. Lipit Hidroperoksit Düzeyi Ölçümü

Lipit hidroperoksit seviyesi, modifiye FOX2 Assay yöntemi kullanılarak ölçüldü (76). Bu yöntemde, reaksiyon ortamında bulunan ferröz iyonları lipid hidroperoksitler tarafından ferrik iyonla oksitlenirler. Oluşan ferik iyon kromojenleri xylenol orange, ferrik iyonla renkli mega kompleks molekül oluştururlar ve oluşan bu renkli molekülün absorbansı 560 nm'de end point modda ölçülür. Bu ölçüm sırasında kalibratör olarak taze hazırlanmış *t*-butylhydroperoxide standardı kullanılır. Sonuçlar $\mu\text{mol/gr}$ protein olarak ifade edildi.

3.2.2. Total oksidan status düzeyi ölçümü

Örneklerin TOS düzeylerini ölçerken, içerdikleri oksidan moleküllerinin ferroz iyonunu ferrik iyonla oksitlemesiyle meydana gelen renk değişimini değerlendirildi. Bu yöntem daha önce literatüre kabul görmüş kolorimetrik TOS ölçüm yöntemidir (77). Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/gr protein olarak ifade edildi.

3.2.3. Oksidatif Stres İndeksi Hesaplanması

Örneklerin OSİ hesaplanması için öncelikle TOS ve TAS'ın birimleri μmol şeklinde hesaplandı. Daha sonra, $\text{OSİ (AU)} = [(\text{TOS } \mu\text{mol/L})/(\text{TAS } \mu\text{mol/L})] \times 100$ formülüne göre OSİ hesaplandı.

3.3. Protein Tayini

Bu çalışmada gerçekleştirilen protein tayini sırasında Bradford yöntemi kullanıldı (78). Standart eğri için sığır serum albumini ihtiva eden 25-300 μg 'lık seri çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan çözeltiden 0.1 ml alınarak 5 ml Coomassie Blue boya reaktifine ilave edildi. Karışım oluşturulduktan 5 dakika sonra, 595 nm'de absorbansı ölçüldü. Hesaplamalar standart eğriye göre yapıldı.

5 ml Coomassie Blue boya reaktifi

5 ml'lik boya reaktifi hazırlanırken, 50 ml %95'lik etil alkol içerisinde 100 mg Coomassie Blue G eklendi ve çözüldü. Bu karışıma, 100 ml (%85'lik) fosforik asit (H_3PO_4) ilave edildi ve toplam hacim distile su 1000 ml'ye tamamlandı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. Normal dağılıma sahip değişkenlerin 3 bağımsız grup karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile test edildi. Değerler ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak verildi. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 22 paket programı kullanıldı ve $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 4 grubun ortalama TAS, TOS, OSI, LOOH, PON, ARE, SER ve total SH değerleri Tablo 3 ve Tablo 4’de verilmiştir.

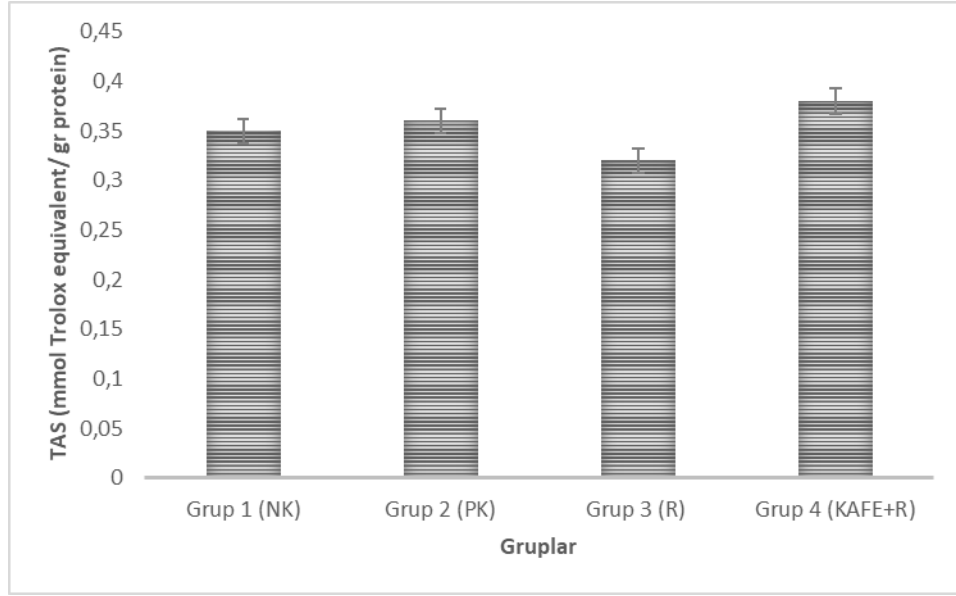
Tablo 3: Grupların ortalama TAS, TOS, OSI ve LOOH değerleri.

	TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/gr protein)	OSI	LOOH ($\mu\text{mol/gr}$ protein)
1.Grup (NK)	25.33 ± 2.76	7.92 ± 2.47	1.31 ± 0.076
2.Grup (PK)	28.16 ± 3.69	7.42 ± 2.43	1.27 ± 0.043
3.Grup (R)	35.16 ± 3.84	11.97 ± 3.54	1.46 ± 0.093
4.Grup (KAFE+R)	27.39 ± 2.35	7.24 ± 1.14	1.17 ± 0.169

Tablo 4: Grupların ortalama TAS, PON, ARE, SER ve Total SH değerleri.

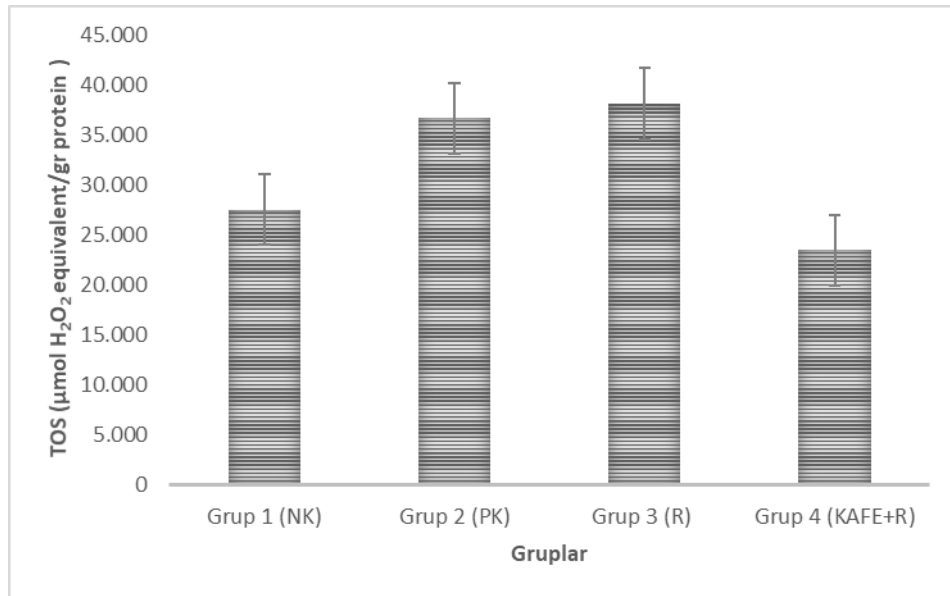
	TAS (mmol Trolox equivalent/ gr protein)	PON (U/g protein)	ARE (U/g protein)	SER (U/ gr protein)	Total -SH (mmol/gr protein)
1.Grup (NK)	0.35 ± 0.09	0.571 ± 0.09	10.30 ± 0.46	56.91 ± 3.32	0.067 ± 0.003
2.Grup (PK)	0.36 ± 0.078	0.921 ± 0.28	10.59 ± 0.69	57.28 ± 3.99	0.066 ± 0.002
3.Grup (R)	0.32 ± 0.103	0.351 ± 0.06	9.48 ± 0.74	53.37 ± 7.48	0.060 ± 0.008
4.Grup (KAFE+R)	0.38 ± 0.043	0.551 ± 0.06	10.68 ± 0.65	58.61 ± 5.77	0.071 ± 0.005

Gruplar TAS seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, hiçbir grupta kontrol gruplarına göre anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Beyin dokusu TAS düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 2’de gösterilmiştir.



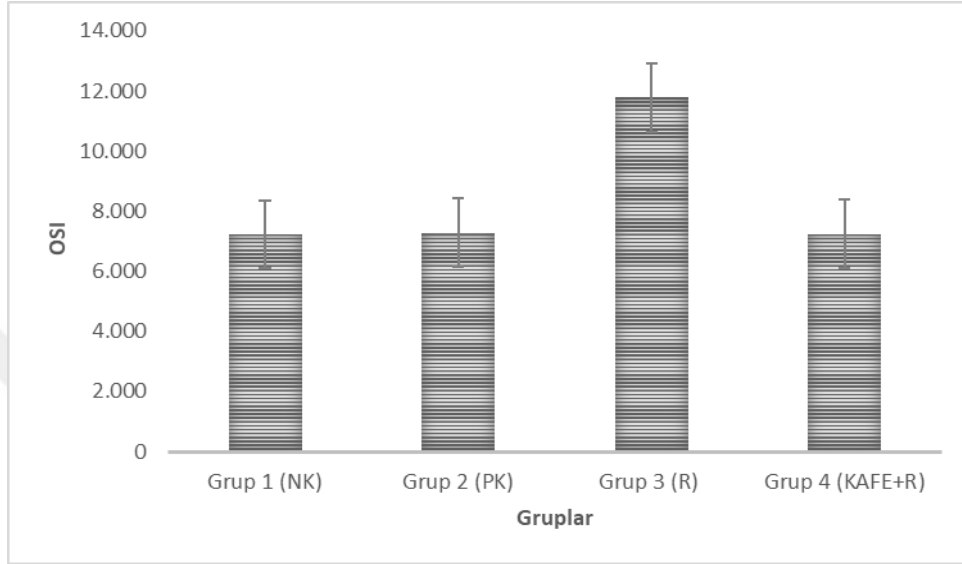
Şekil 2. Grupların beyin dokusu TAS düzeyleri.

Gruplar TOS seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler saptandı. Grup 3'ün TOS seviyesi diğer bütün gruplar ile kıyaslandığında ileri düzeyde anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p < 0.0001$). Beyin dokusu TOS düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 3'de gösterilmiştir.



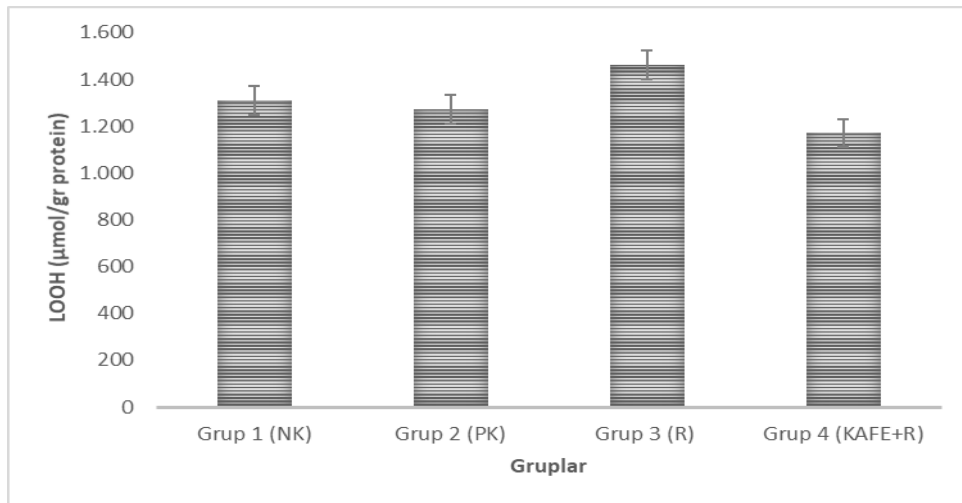
Şekil 3. Grupların beyin dokusu TOS düzeyleri.

Gruplar OSI seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel farklılıklar saptandı. Grup 3'deki OSI seviyesi Grup 1, Grup 2 ve Grup 4'e göre anlamlı derecede artmış bulundu ($p<0.05$). Bununla birlikte, Grup 1, Grup 2 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.05$). Beyin dokusu OSI düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4'de gösterilmiştir.



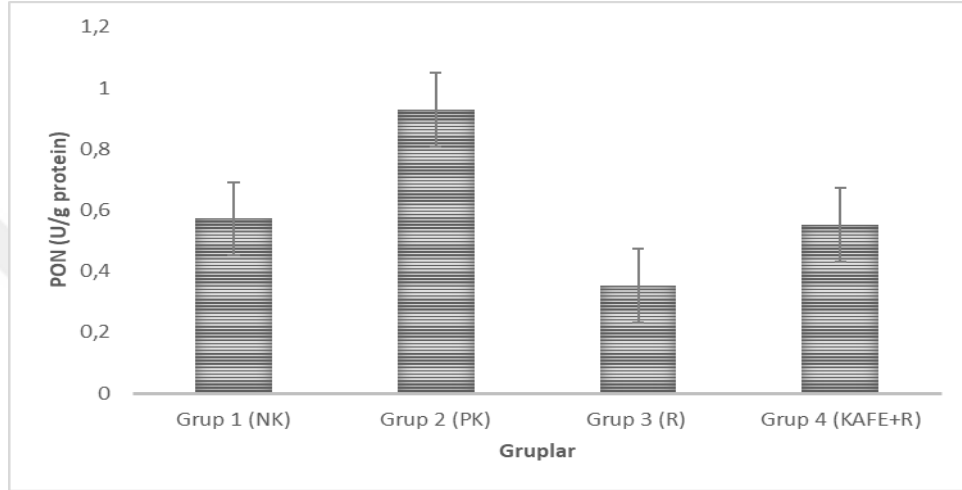
Şekil 4. Grupların beyin dokusu OSI düzeyleri.

Gruplar LOOH seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Grup 3'ün LOOH seviyesinde Grup 4 ve Grup 2'ye göre anlamlı artış kaydedildi ($p<0.05$). Bununla birlikte Grup 3 ve Grup 1 arasındaki değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. Beyin dokusu LOOH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 5'de gösterilmiştir.



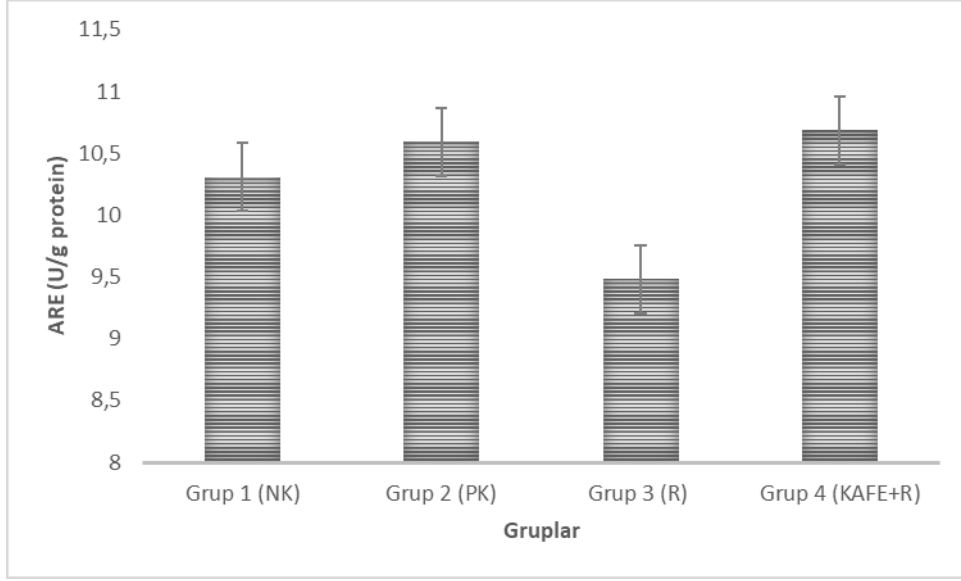
Şekil 5. Grupların beyin dokusu LOOH düzeyleri.

Gruplar PON seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Grup 2'nin PON seviyesi ile Grup 1'in PON aktivitesi arasında anlamlı bir farklılık olup, Grup 2'de daha yüksektir ($p<0.05$). Grup 2'deki bu artış yalnızca Grup 1 ile anlamlı değişiklik göstermeyip, diğer bütün gruplara göre anlamlı derecede artmıştır ($p>0.001$). Bununla birlikte, Grup 3'de PON aktivitesi Grup 1'e göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$). Beyin dokusu PON aktivitesi gruplara göre dağılımı Şekil 6'de gösterilmiştir.



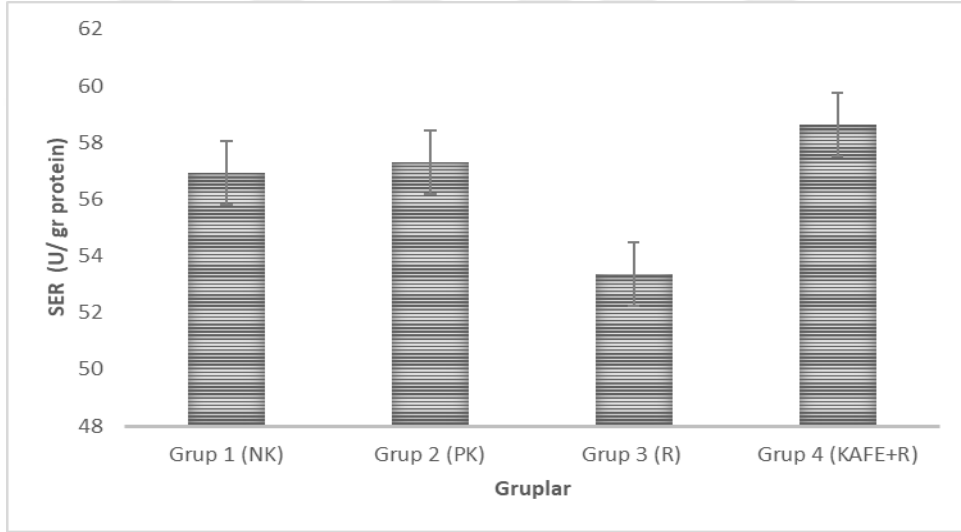
Şekil 6. Grupların beyin dokusu PON aktiviteleri.

Gruplar ARE aktivitesi açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Grup 3'deki Arilesteraz seviyesi anlamlı olarak Grup 2 ve Grup 4'e göre düşük bulundu ($p<0.05$). Bununla birlikte, Grup 3 ile Grup 1 arasında anlamlı değişiklik saptanmadı ($p>0.05$). Beyin dokusu ARE aktivitesi gruplara göre dağılımı Şekil 7'de gösterilmiştir.



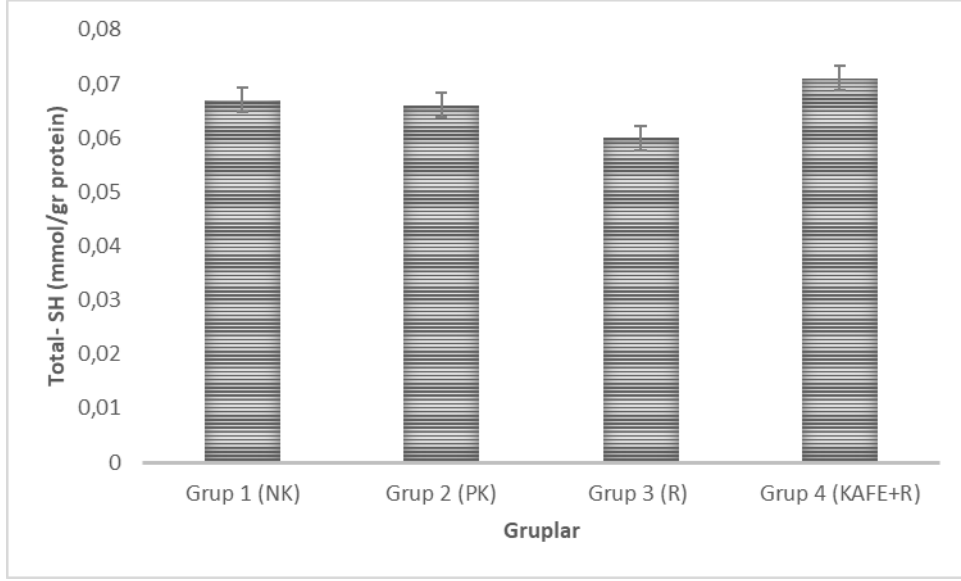
Şekil 7. Grupların beyin dokusu ARE aktiviteleri.

Gruplar SER seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0.05$). Beyin dokusu SER düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 8’de gösterilmiştir.



Şekil 8. Grupların beyin dokusu SER düzeyleri.

Gruplar total SH seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi ($p<0.05$). Grup 4’deki total SH seviyesi, Grup 3’e göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Beyin dokusu SH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 9’de gösterilmiştir.



Şekil 9. Grupların beyin dokusu Total SH düzeyleri.

5. TARTIŞMA

İyonize radyasyon, özellikle radyoloji, radyoterapi ve nükleer tıp bölümlerinde çalışanlar için önemli bir risk faktörüdür. Bu riskin kaynağı ise doğal radyoaktif maddeler olan radyum, uranyum ve toryumun kullanılan radyoaktif izotoplarıdır (79). Radyasyonun bu zararlı etkilerinin yanında, radyoterapi, kanser tedavisinde kullanılan önemli derecede etkinlik gösteren tedavi yöntemlerinden birisidir. Bu nedenle hemen hemen kanser hastalarının yarısından fazlasının tedavisi radyoterapi kullanımı ile olmaktadır. Radyasyon tedavisi sırasında, kanser hücreleri üzerindeki toksisiteyi en üst düzeye çıkarmak için etkin doz belirlenir, ancak etkin doz radyoterapi uygulama sahası içerisinde kalan sağlam dokular üzerinde de toksik etki gösterebilmektedir. Her dokunun radyasyona duyarlılığı eşit seviyede değildir. Bu nedenle radyasyona maruz kalmış bir dokuda meydana gelen hasar o dokunun radyasyona olan duyarlılığına göre değişmektedir. Bütün bu nedenler iyonize radyasyonun dokular ve hücreler üzerine akut ve geç etkilerinin araştırılmasının önemini arttırmaktadır (17,18). Bu kapsamda yapılan radyoterapi çalışmalarından, radyasyona bağlı oksidatif stres oluşumunu ve bunun neticesinde meydana gelen serbest radikal oluşumunu araştıran ve ayrıca antioksidanların bu oksidatif mekanizma ile etkileşimini aydınlatan çalışmalar önem arz etmektedir.

Hücre içerisinde biriken ROT'un hücre bileşenlerini hasarladığı ve böylece birçok hastalığa davetiye çıkardığı rapolanmıştır (80,81). Radyoterapinin hücrede oluşturduğu hasarlardan biri de lipid peroksidasyonu ve dolayısıyla hücre zarı lipid yapısında bozulmadır. Zar yapısı ve işlevi bozulması serbest radikallerin kontrolsüz hücre içerisine girip çıkmasına ve hücre hasarına yol açar.

Hücre ve doku radyasyona maruz kaldığında, hücre içinde oksidatif hasar başlar. Bu hasarın büyüklüğü hücredeki antioksidan savunma sistemi ile ROT seviyesi arasındaki dengeye göre değişmektedir. Söz konusu denge ROT tarafına kaydığında hücre içerisinde hasar artar (82). Hücre içerisindeki temel antioksidanlar etki tiplerine göre nonenzimatik ve enzimatik olarak iki ana gruba ayrılırlar. Enzimatik olan antioksidanlar hücre içerisindeki enzimleri aktive ederek etki gösterirler. Bunlar kısaca süperoksid dismutaz, GSH-Px, GST ve GR olarak özetlenebilir. Bununla birlikte nonenzimatik olanlar ROT üretimini engelleyerek etki gösterirler, bunlar GSH, C vitamini, E vitamini, karotenler olarak örneklendirilebilir (83).

Merkezi sinir sisteminde endojen antioksidan miktarı diğer dokulara göre nispeten daha düşüktür, bu nedenle sinir hücreleri artabilecek oksidatif hasarlara karşı daha hassastır (84). Bununla birlikte, bütün doku tiplerinde olduğu gibi beyinde de SOR temizleyici enzimler bulunmaktadır. Bunlar arasındaki en önemli enzimler süperoksid dismutaz ve GSH-Px dir. süperoksid dismutaz, hücre içerisinde biriken $O_2^{\cdot-}$ 'i H_2O_2 'e dönüştürür. GSH-Px ve CAT ise bir diğer önemli enzimatik antioksidanlar olup, H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye dönüştürerek zararsızlaştırır.

Literatür çalışmaları süperoksid dismutazın hücreyi içerisinde biriken SOR'ların neden olduğu hasardan koruyabildiğini raporlamaktadır (85,86). Ayrıca yapılan hücre kültürü çalışmaları süperoksid dismutazın, hücrelerde tümör nekroz faktör ve interlökin 1'in, ve iyonize radyasyonun neden olduğu SOR'lara karşı koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir (87). Birçok çalışmada radyasyonun beyin dokusunda oluşturduğu hasarı gösteren parametreler incelemiştir (88-91). Bu çalışmalar arasında önemli kilometre taşı olan çalışmalardan biri de Kojima ve ark. tarafından yürütülen çalışma olmuştur (91). Söz konusu çalışmada farklı yaş grubundaki sıçanlar (1 haftalık, 4 haftalık, 12 haftalık ve 1 yaşında) tüm vücut radyoterapisi uygulanmış ve bu uygulamanın sıçan beyin dokusundaki lipid peroksidasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu yaklaşımla 1 haftalık sıçanlar, insanlarda yenidoğana, 4 haftalık sıçanlar ergene, 12 haftalık sıçanlar erişkine ve 1 yaşındaki sıçanlar yaşlılara denk kabul edilmiştir. Sonuç olarak ise radyoterapi verilen erişkin (12 haftalık) sıçanların beyin dokusunda, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, süperoksid dismutaz, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinde ve MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı rapor edilmiştir (92,93).

Bir diğer önemli çalışma Collins-Underwood ve ark. (88) tarafından yürütülmüştür. Bu çalışmada sıçanlarda beyin ışınlaması yapıp, beyin dokusundan primer nöron kültür ekilmiştir. Kültürdeki hücreler yeterli sayıya ulaştığında, moleküler oksijeni oksidatif bir tür olan süperoksit anyona dönüştüren NADPH-oksidad'ın seviyesi çalışılmış ve bunun sonunda bir azalma olduğu görülmüştür. Bu bulguyu doğrulamak için ışınlama öncesinde sıçanlara i.p. yolla NADPH oksidad inhibitörü verildiğinde radyasyonla indüklenen hücre içerisindeki ROT artışının önemli ölçüde engellendiği gösterilmiş. Bununla birlikte, Kojima ve ark. (91) fare beyinlerini düşük dozda (50 cGy) gama-ışını ile ışınlamanın endojen antioksidan potansiyeli indüklediğini göstermiştir. Bu bulgu doğrultusunda, düşük dozda ışınlama yapmanın sinir hücrelerinde biriken ROT ile

indüklenen nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği de düşünülmektedir. Bu konu yeni bir araştırma sorusu olarak durmaktadır.

Literatür çalışmalarında beyin dokusundaki oksidatif düzeyi ve lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için bazı parametreler belirlenmiştir. Bunlardan lipid peroksidasyonu için MDA düzeyi ölçülürken, oksidatif hasar değerlendirilmesinde ise süperoksid dismutaz ve GSH-Px enzim aktiviteleri geçerli parametre olarak kabul edilmiştir. Bu kapsamda, çalışmamızda lokal uygulanan radyoterapinin oksidan/antioksidan sistem üzerindeki etkisini önlemede antitümöral, antiinflamatuvar, antioksidan etkileri olan KAFE'nin koruyucu etkilerinin olup olmadığını tespit etmek için beyin dokusunda TAS, TOS, OSI, PON, ARE, SER ve SH parametreleri ölçülerek değerlendirildi.

İlhan ve ark. (94) tavşanlarda gerçekleştirdikleri bir çalışmada, KAFE'nin ve metil prednizolonun ışınlama yapılan omurilikteki koruyucu etkisini araştırdılar. Bu kapsamda çalışmada ışınlama sonrası omurilik MDA seviyesi, SOD, CAT enzim aktiviteleri ve histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. MDA seviyelerinin KAFE verilen grupta metil prednizolon grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu ve doku hasarının KAFE grubunda kontrol grubuyla kıyaslandığında görülmediği rapor edilmiş. KAFE'nin etkisini araştıran bir diğer çalışma Yılmaz ve ark. (95) tarafından yürütülmüştür. Bu çalışmada, streptozotosinle indüklenen sıçan diabet modelinde karaciğerdeki MDA seviyeleri, süperoksid dismutaz ve CAT enzim aktiviteleri araştırılmış. Bu araştırmanın sonucunda ise MDA seviyelerinin, diabetik sıçanlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artmış olduğu ve KAFE verilen grupta kontrol grubunun düzeyinde kaldığı yani anlamlı bir değişiklik gözlenmediği rapor edilmiştir. Bunun yanında, KAFE'nin bu sıçanlarda süperoksid dismutaz ve CAT aktivitelerini azaldığı tespit edilmiş. Bunun nedeni ise KAFE'nin SOR'ları temizleyip süperoksid dismutaz ve CAT aktivitesini baskılamasına bağlanmıştır.

Bizim bilgimize göre, iyonize radyasyon uygulanan sıçanlardaki beyin dokusunda TAS, TOS, OSI, PON, ARE, SER, LOOH ve SH parametrelerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu parametrelerin total kafa ışınlaması yapılan sıçanlarda ilk kez değerlendirildiği bu çalışmada, sıçan grupları arasında TAS seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Mevcut literatür ile aynı doğrultuda radyoterapinin beyin dokusundaki antioksidatif mekanizmayı etkilemediği doğrulandı. Bunun yanında, radyoterapi uygulanan sıçan grubunda radyoterapinin oksidatif hasar oluşturduğu TOS seviyesindeki anlamlı artış ile doğrulandı ($p<0.05$).

Serbest oksijen radikalleri dokulara yönelik olarak meydana getirecekleri hasar ve bunların en önemli sonuçlarından biri lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu son yıllarda üzerinde durulan önemli bir konu olmuştur. Lipid peroksidasyon olayının zincir aşamasında ortaya çıkan LOOH'ler son derece dayanıksız ürünlerdir ve özellikle zincirde kırılma ve açılma meydana gelerek aldehitler, ketonlar, karboksilik asitler, alkanlar, alkenler ve çeşitli polimerizasyon ürünleri oluştururlar. Bu reaksiyon neticesinde MDA gibi ürünler ortaya çıkar ve peoksidasyonun şiddetini belirlerler (96). Çalışma gruplarımızı LOOH seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, KAFE verilen Grup 4 ile radyoterapi uygulanan Grup 3 arasında LOOH seviyesi açısından anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Grup 4'deki LOOH düzeyi daha düşüktü. Elde ettiğimiz bu bulgu KAFE'nin total kafa ışınlaması yapılan sıçanlarda radyoterapiyle indüklenen oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynadığını göstermektedir. Grup 3'de yükselen MDA düzeyinin, KAFE+R ve grubunda anlamlı şekilde düşmesi KAFE'nin antioksidan özelliğini desteklemektedir.

PON, serum enzimi olup HDL ile ilişkilidir, ayrıca antioksidan fonksiyona sahip olduğu raporlanmıştır (61). Literatür çalışmalarında paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak ele alınsa da, yapılan ileri moleküler çalışmalar insan serumundaki PON enziminin hem ARE, hem de PON aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (62). Bu iki enzim oksidan birikintilere karşı rol oynayan enzimatik antioksidan sistemin bileşenleridir. Dolayısıyla oksidatif hasar arttığında yani denge SOR yönünde hareket ettiğinde PON ve ARE aktivitelerinde düşme beklenmektedir. Biz çalışmamızda KAFE'nin koruyucu etkisi olup olmadığını KAFE+R grubunda, R grubuna göre anlamlı artış olup olmadığını değerlendirerek saptamayı hedefledik. Bu kapsamda Şekil 6 ve 7 incelendiğinde, PON aktivitesinin Grup 3'te kontrol grubuna göre (Grup 1) anlamlı bir şekilde düştüğü görülmektedir. Beklenenin aksine, her ne kadar KAFE+R grubunda dramatik artış görülsede, KAFE+R ve R grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bununla birlikte gruplar ARE aktivitesi açısından değerlendirildiğinde, R grubundaki ARE aktivitesi PK grubuna göre anlamlı olarak azalırken ($p<0.05$), KAFE+R grubundaki ARE aktivitesi grup 3'e göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). ARE bulgusu KAFE'nin radyoterapiyle indüklenen SOR'ne karşı koruyucu olduğunu göstermektedir.

Son olarak, KAFE'nin total kafa ışınlaması ile indüklenen SOR birikimi karşısında koruyucu olup olmadığını incelemek için SER ve total SH seviyeleri çalışıldı. SER önemli bir antioksidan olup, etki mekanizması bakımından süperoksid dismutaz'a

benzemektedir. Özetle organizmada meydana getirdiği en önemli fizyolojik görev Ferro demiri (Fe^{2+}), Ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgemektir. Bu sayede hücre içerisinde Fenton reaksiyonunu durdurarak hidroksil radikali oluşumunu engeller (63). Bu nedenle, SER seviyesinde azalma, serbest OH salınımını arttırır. Bu çalışmada gruplar arasında SER bakımından anlamlı bir değişilik saptanamazken, KAFE+R grubundaki total SH seviyesi, R grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$).

Normal dokuda iyonize radyasyonun hücrel toksisitesini azaltan birçok ajan beyin, kalp, mesane ve böbrek gibi organlarda iyonize radyasyonun oluşturduğu erken ve geç dönem komplikasyonlarını önlemek için uygulamadan önce kullanılmıştır (97). Bu çalışmalarda iyonize radyasyona bağlı beyin dokusunda serbest radikallerin üretiminin bir sonucu olarak enzimatik ve non enzimatik antioksidanların azaldığını rapor edilmiştir. Bu nedenle radyoterapi alan hastalarda gözlenen oksidatif stres artışının önlenmesi için, iyonize radyasyon alan doku veya organların antioksidan aktivitesini artırmak amacıyla tedaviye ya antioksidan ilave edilmesinin ya da antioksidan enzim aktivitesini artıran ajanların kullanılması çalışmalarda önerilmektedir (98).

Radyoterapide doku ya da organ hasarını önleyici ya da azaltıcı rolü olabileceği düşünülen birçok antioksidan madde ile çalışmalar yapılmıştır. KAFE'nin doku ve organ hasar gelişimini önleyici rolü antioksidan etkisinden olabilir. KAFE'nin beyin dokusunda iyonize radyasyonla oluşturulan hasarda koruyucu etki mekanizmasını daha iyi açıklayabilmek için oksidatif DNA hasarı ve moleküler düzeyde daha ileri araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, KAFE'nin koruyucu etkilerinin olup olmadığını tespit etmek için beyin dokusunda TAS, TOS, OSI, PON, ARE, SER ve SH parametreleri ölçülerek araştırmayı amaçladık. Ölçülen parametrelerden ARE, PON aktiviteleri ve total SH seviyeleri KAFE+R grubunda, R grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu ve ayrıca LOOH, TOS ve OSI seviyeleri ise KAFE+R grubundan anlamlı olarak düştüğü tespit edildi. Elde ettiğimiz bulgular sıçanlarda radyasyona bağlı beyinde oluşabilecek oksidatif hasara karşı KAFE'nin antioksidan etkisinin olduğunu göstermektedir. Yaptığımız çalışma, KAFE'nin radyoprotektif ajan olarak etkisinin olabileceğini düşündürmektedir, ancak bu bulguların doğrulanması için destekleyici farmakolojik ve toksikolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Joseph JV, Balasubramaniyan V, Walenkamp A, Kruyt FA. TGF-beta as a therapeutic target in high grade gliomas - promises and challenges. *Biochem Pharmacol.* 2013;85:478-485.
2. Yan YR, Xie Q, Li F, Zhang Y, Ma JW, Xie SM, Li HY, Zhong XY. Epithelial-to-mesenchymal transition is involved in BCNU resistance in human glioma cells. *Neuropathology.* 2014;34:128-134.
3. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro Oncol.* 2012;14:1-49.
4. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114:97-109.
5. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006;141:312-322.
6. Halliwell B. Free radicals and antioxidants - quo vadis? *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32:125-130.
7. Ustun K, Taysi S, Sezer U, Demir E, Baysal E, Demir T, Saricicek E, Alkis H, Senyurt SZ, Tarakcioglu M, Aksoy N. Radio-protective effects of *Nigella sativa* oil on oxidative stress in tongue tissue of rats. *Oral Dis.* 2014;20:109-113.
8. Taysi S, Abdulrahman ZK, Okumus S, Demir E, Demir T, Akan M, Saricicek E, Saricicek V, Aksoy A, Tarakcioglu M. The radioprotective effect of *Nigella sativa* on nitrosative stress in lens tissue in radiation-induced cataract in rat. *Cutan Ocul Toxicol.* 2015;34:101-106.

9. Methot Y, Faribault C, Mathieu R, Deslauriers G, Fortier C, Latour G, Maltais R, Rivest SP. [Radiation protection]. Union Med Can. 1958;87:1521-1531.
10. Seçilmiş İ. Radyasyon hakkında bilmek istedikleriniz. Ankara: Türkiye Sağlık İşçileri Sendikası Yayınları, 2001.
11. TC Milli Eğitim Bakanlığı. Biyomedikal cihaz teknolojileri - tıbbi cihazlarda güvenli çalışma. Ankara: Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, 2008.
12. Peterson J, MacDonell M, Haroun L, Monette F. Radiological and chemical fact sheets to support health risk analyses for contaminated areas. US Department of Energy: Argonne National Laboratory Environmental Science Division, 2007:
13. Atakan Y. İyonlayıcı radyasyon. Bilim ve Teknik Dergisi. 2006;2-17.
14. Perez Carlos A. Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology: Lippincott Williams & Wilkins, 2008:
15. Smith H, Stather J. Biological effects of ionising radiation. Berlin: Springer, 2006:
16. Uzal C. Kanserde ışınlama teknikleri. Ankara: Öncü Limited, 1995: 211.
17. Tubiana M, Dutreix J. Intoduction to radiobiology. Paris: Taylor&Francis, 1990: 24-99.
18. Günalp B.İyonize Radyasyonun biyolojik etkileri.2003,Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, 80, Ankara,
19. Kelle İ. Radyoprotektif etkili ajanlar. Dicle Tıp Dergisi. 2008;35:69-76.
20. Serhatlıoğlu S, Oğur E, Ozan A, Gürsu F, Gödekmerdan A, Ayar A. İyonizan radyasyonun radyoloji çalışanlarının bağışıklık düzeyleri ve kan biyokimyası üzerine etkileri. Tanısal ve girişimsel radyoloji. 2004;10:94-102.

21. Ayala M, Strid H, Jacobsson U, Soderberg PG. p53 expression and apoptosis in the lens after ultraviolet radiation exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:4187-4191.
22. Bolus NE. Review of common occupational hazards and safety concerns for nuclear medicine technologists. *J Nucl Med Technol.* 2008;36:11-17.
23. Hall E, Cox J. *Physical and Biologic Basis of Radiation Therapy. Radiation Oncology: Rationale, Technique, Results.* USA: Mosby-Year Book; 1994: 3-66.
24. Withers R, McBride W. *Biologic Basis of Radiation Therapy.* In: Perez C, Brady L. *Principles and Practice of Radiation Oncology.* Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997: 79.
25. Fike JR, Rosi S, Limoli CL. Neural precursor cells and central nervous system radiation sensitivity. *Semin Radiat Oncol.* 2009;19:122-132.
26. Robbins ME, Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review. *Int J Radiat Biol.* 2004;80:251-259.
27. Tofilon PJ, Fike JR. The radioresponse of the central nervous system: a dynamic process. *Radiat Res.* 2000;153:357-370.
28. Yerer MB, Aydoğan S. *Oxidative Stress and Antioxidants.* EU Journal of Health Enstitute. 2000;9:49-53.
29. *Radyasyon Güvenliği El Kitabı.* Edirne: Tırakya Üniversitesi Hastanesi, 2009:
30. Vincent T, Devita J, Samuel H, Steve A. DeVita, Hellman, and Rosenberg's *Cancer: Principles and Practice of Oncology.* Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 1993:
31. Al-Ayadhi LY. Oxidative stress and neurodegenerative disease. *Neurosciences (Riyadh).* 2004;9:19-23.

32. Dere F. Nöroanatomi ve Fonksiyonel Nöroloji. Adana: Okullar Pazarı Kitabevi, 1990.
33. Levine S, Wetzel D. Analysis of brain tissue by FT-IR microspectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*. 1993;28:385-412.
34. 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. *Br J Radiol*. 1999;72:1196-1201.
35. Zhao W, Diz DI, Robbins ME. Oxidative damage pathways in relation to normal tissue injury. *Br J Radiol*. 2007;80 Spec No 1:S23-S31.
36. Gerlach M, Ben-Shachar D, Riederer P, Youdim MB. Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases? *J Neurochem*. 1994;63:793-807.
37. 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.
38. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve Antioksidan savunma. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*. 1997;3:92-95.
39. Johnson MH, Lee SH. Computed tomography of acute cerebral trauma. *Radiol Clin North Am*. 1992;30:325-352.
40. Çakatay U, Kayalı R. Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelisimi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 2006;37:162-167.
41. Floyd RA. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J*. 1990;4:2587-2597.
42. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*. 1985;312:159-163.

43. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. Cerrahpaşa Tıp Dergisi. 2004;35:159-169.
44. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi. 2002;33:110-118.
45. Gümüştas MK, Atukeren P. Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. Türkiye’de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar sempozyumu dizisi. İstanbul: Cerrahpaşa, 2008: 329-340.
46. Zhang Y, Irwin MG, Wong TM. Remifentanyl preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. Anesthesiology. 2004;101:918-923.
47. Kukreja RC, Hess ML. The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. Cardiovasc Res. 1992;26:641-655.
48. Lopez-Neblina F, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH. Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. J Invest Surg. 2005;18:335-350.
49. Benedek A, Moricz K, Juranyi Z, Gigler G, Levay G, Harsing LG, Jr., Matyus P, Szenasi G, Albert M. Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. Brain Res. 2006;1116:159-165.
50. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R, Koziol JA, del Zoppo GJ. Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. Stroke. 1994;25:1847-1853; discussion 1853-1844.
51. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci. 2008;4:89-96.
52. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Dicle Tıp Fakültesi Dergisi. 2005;3:30-39.

53. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160:1-40.
54. K. K, A. K. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2002;33:110-118.
55. Herscher LL, Cook JA, Pacelli R, Pass HI, Russo A, Mitchell JB. Principles of chemoradiation: theoretical and practical considerations. *Oncology (Williston Park).* 1999;13:11-22.
56. Akyol S, Armutçu F, Yiğitoğlu M. ropolisin aktif bileşenlerinden kafeik asit fenetil ester'in (cape) bazı nörolojik hastalık ve acillerde kullanılması. *Spatula DD.* 2011;1:37-42.
57. Xiong LZ. Neuroanesthesia and neuroprotection: where are we now? *Chin Med J (Engl).* 2006;119:883-886.
58. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999;32:595-603.
59. Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem.* 2000;267:4904-4911.
60. Canales A, Sánchez-Muniz F. Paraoxonase, something more than an enzyme? *Med Clin (Barc).* 2003;121:537-548.
61. Suchocka Z, Swatowska J, Pachecka J, Suchocki P. RP-HPLC determination of paraoxonase 3 activity in human blood serum. *J Pharm Biomed Anal.* 2006;42:113-119.
62. Aslan M, Kosecik M, Horoz M, Selek S, Celik H, Erel O. Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *Atherosclerosis.* 2007;191:397-402.
63. Türkanoglu A. Human serum arylesterase and glutathione s-transferase activities in patients with ischemic stroke compared to healthy controls. 2007, Ortadoğu Teknik

Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans, 121, Ankara, (Prof. Dr. Orhan ADALI).

64. 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.
65. Dunne-Daly CF. Principles of radiotherapy and radiobiology. *Semin Oncol Nurs.* 1999;15:250-259.
66. Kelle İ. Radyoprotektif etkili ajanlar. *Dicle Tıp Fakültesi Dergisi.* 2008;35:69-76.
67. Chen MF, Keng PC, Lin PY, Yang CT, Liao SK, Chen WC. Caffeic acid phenethyl ester decreases acute pneumonitis after irradiation in vitro and in vivo. *BMC Cancer.* 2005;5:158.
68. Jung WK, Qian ZJ, Lee SH, Choi SY, Sung NJ, Byun HG, Kim SK. Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide isolated from in vitro gastrointestinal digests of *Mytilus coruscus*. *J Med Food.* 2007;10:197-202.
69. Hepşen İ, Tilgen F, Er H. Propolis:Tıbbi özellikleri ve ofitalmolojik kullanımı. *T Özal Tıp Dergisi.* 1996;3:386-393.
70. Thompson SL, Compton DA. Chromosomes and cancer cells. *Chromosome Res.* 2011;19:433-444.
71. Zhang P, Tang Y, Li NG, Zhu Y, Duan JA. Bioactivity and chemical synthesis of caffeic acid phenethyl ester and its derivatives. *Molecules.* 2014;19:16458-16476.
72. Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol.* 1991;35:77-82.
73. Zewail A, Xie MW, Xing Y, Lin L, Zhang PF, Zou W, Saxe JP, Huang J. Novel functions of the phosphatidylinositol metabolic pathway discovered by a chemical genomics screen with wortmannin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:3345-3350.

74. Erel O. Automated measurement of serum ferroxidase activity. *Clin Chem* 1998; 44: 2313-2319.
75. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70–77.
76. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet.* 1983;35:1126-1138.
77. Arab K, Steghens JP. Plasma lipid hydroperoxides measurement by an automated xylenol orange method. *Anal Biochem.* 2004;325:158-163.
78. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38:1103-1111.
79. 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;72:248-254.
80. Cardozo-Pelaez F, Brooks PJ, Stedeford T, Song S, Sanchez-Ramos J. DNA damage, repair, and antioxidant systems in brain regions: a correlative study. *Free Radic Biol Med.* 2000;28:779-785.
81. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991;91:31S-38S.
82. Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *FASEB J.* 1995;9:1173-1182.
83. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000;408:239-247.
84. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem.* 1983;52:711-760.
85. 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.

86. 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;88:195-203.
87. Panz T, Wojcik R, Krukar-Baster K. Activity of superoxide dismutase obtained from senile cataract lens - effect of diabetes mellitus. *Acta Biochim Pol.* 2008;55:821-823.
88. 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.
89. Collins-Underwood JR, Zhao W, Sharpe JG, Robbins ME. NADPH oxidase mediates radiation-induced oxidative stress in rat brain microvascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2008;45:929-938.
90. Fishman K, Baure J, Zou Y, Huang TT, Andres-Mach M, Rola R, Suarez T, Acharya M, Limoli CL, Lamborn KR, Fike JR. Radiation-induced reductions in neurogenesis are ameliorated in mice deficient in CuZnSOD or MnSOD. *Free Radic Biol Med.* 2009;47:1459-1467.
91. Gisone P, Robello E, Sanjurjo J, Dubner D, Perez Mdel R, Michelin S, Puntarulo S. Reactive species and apoptosis of neural precursor cells after gamma-irradiation. *Neurotoxicology.* 2006;27:253-259.
92. Kojima S, Matsuki O, Nomura T, Yamaoka K, Takahashi M, 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 Radic Biol Med.* 1999;26:388-395.

93. Uyumlu AB. Tüm vücut radyoterapisinin farklı yaş gruplarındaki ratlarda beyin dokusu lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem parametreleri üzerine etkileri. 2007, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans, 76, Malatya, (Doç. Dr. Kadir Batçioğlu),
94. Sivonova M, Tatarkova Z, Durackova Z, Dobrota D, Lehotsky J, Matakova T, Kaplan P. Relationship between antioxidant potential and oxidative damage to lipids, proteins and DNA in aged rats. *Physiol Res*. 2007;56:757-764.
95. 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;16:458-463.
96. Yılmaz HR, Uz E, Yücel N, Altıntaş I, Özcelik N. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol*. 2004;18:234-238.
97. A E. Lipid Peroksidasyon Olayı ve Önlenmesine Yönelik Uygulamalar. *Y Y U Vet Fak Derg*. 1998;9:89-95.
98. Links M, Lewis C. Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1999;57:293-308.
99. Belkacemi Y, Rat P, Piel G, Christen MO, Touboul E, Warnet JM. Lens epithelial cell protection by aminothiols WR-1065 and anetholethiolethione from ionizing radiation. *Int J Cancer*. 2001;96 Suppl:15-26.

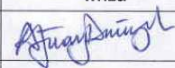
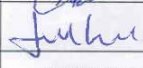
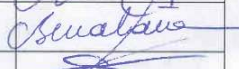
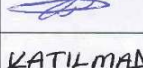
8. ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Halep/Suriye'de doğdum. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Halep'te tamamladıktan sonra 2013 yılında Halep Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden Biyokimya ana bilim dalından mezun oldum. 2013 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında Yüksek Lisansa başladım.



EKLER

Ek-1: Etik Kurul Onay Formu

T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ UNIVERSITY OF GAZİANTEP HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI LOCAL ETHICS COMMITTEE OF ANIMAL EXPERIMENTS ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI RESEARCH APPLICATION CONSENT				
				
TOPLANTI TARİHİ (Meeting Date)	TOPLANTI SAYISI (Meeting No)	TOPLANTI YERİ (Meeting Place)		
02.01.2017	1	Temel Tıp Bilimleri		
BAŞVURU BİLGİLERİ Application Information	Araştırmanın Başlığı Research Title	Total kafa ısınlaması yapılan sıçanlarda oksidatif, nitrosatif ve antioksidan sistem üzerine propolis ve kafeik asit fenetil esterinin etkisinin araştırılması		
	Başvuru Tarihi Application Date	14.12.2016		
	Protokol no Protocol no	2		
KARAR BİLGİLERİ Decision	Karar No: 2017/2 Decision No: 2017/2 ☒ Kabul (Accepted) ☐ Red (Not Accepted) Prof. Dr. Seyithan TAYSI'nın yürütücüsü olduğu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, 05.2010-25 nolu Etik Kurul onayı ile yapılan çalışmanın dokularının kullanılması ve yeni canlı materyali kullanılmaması şartıyla başvurunun "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.			
Yürütücü Coordinator	Prof. Dr. Seyithan TAYSI Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
ETİK KURUL BİLGİLERİ				
ÇALIŞMA ESASI	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ			
Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek (Başkan)	GAÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan (Başkan Yardımcısı)	GAÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	E	E	
Prof. Dr. Behçet Al (Üye)	GAÜ Tıp Fakültesi Acil Tıp AD.	H	E	
Doç. Dr. İbrahim Halil Kılıç (Üye)	GAÜ Fen Edebiyat F. Biyoloji	H	E	
Doç. Dr. Mehmet Kahraman (Üye)	GAÜ Fen Edebiyat F. Kimya	H	H	KATILMADI
Yrd. Doç. Dr. Ebru Deniz Karlı (Üye)	GAÜ Diş Hekimliği F. Çene Cerrahisi AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Berna Kaya Uğur (Üye)	GAÜ Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD	H	E	
Öğr. Gör. Ahmet Sarper Bozkurt (Üye)	GAÜ Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim	H	E	
Veteriner Hekim Celal Özsoyler (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	#	KATILMADI
Tekniker Ahmet Özkul (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	E	

E: Evet, H: Hayır