



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TOTAL VÜCUT IŞINLAMASINA MARUZ KALAN SIÇANLARDA
KALP VE BÖBREK DOKUSUNDA OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Kenan ERCAN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Seyithan TAYSI

Gaziantep

2025



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TOTAL VÜCUT IŞINLAMASINA MARUZ KALAN SIÇANLARDA
KALP VE BÖBREK DOKUSUNDA OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Kenan ERCAN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Seyithan TAYSI

Gaziantep

2025

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

**TOTAL VÜCUT IŞINLAMASINA MARUZ KALAN SIÇANLARDA
KALP VE BÖBREK DOKUSUNDA OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Kenan ERCAN

Tez Savunma Tarihi: 19.06.2025

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Davut Sinan KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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

Prof. Dr. Hülya ÇİÇEK
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Seyithan TAYSI
Tez Danışmanı

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

Tez Jürisi

Prof. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENÇİ

Prof. Dr. Seyithan TAYSI

Doç. Dr. Ömer ERDOĞAN

Dr. Öğr. Üyesi Nadide ÖZKUL DOĞRU

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet GÖL

İmzası

.....

.....

.....

.....

.....

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 edilmeyen 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 olmadığı beyan ederim.

19.06.2025

Kenan ERCAN

TEŞEKKÜR

Öncelikle, akademik yolculuğum boyunca bilgi, deneyim ve desteğiyle her zaman yanımda olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Seyithan TAYSI'ya en derin minnet ve şükranlarımı sunarım. Kendisi, yalnızca bir akademik danışman değil, aynı zamanda yol gösterici bir rehber olmuştur. İlmî birikimi, vizyonu ve sabrı, bu çalışmanın şekillenmesinde büyük rol oynamıştır.

Doktora çalışmalarım boyunca bilgi birikimlerini benimle paylaşan ve her durumda yardımlarını esirgemeyen kıymetli hocalarım Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU, Prof. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENÇİ ve Prof. Dr. Hülya ÇİÇEK'e teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca çalışma sürecinde bilgi ve katkılarıyla bana destek olan değerli arkadaşım Öğr. Gör. Melek Sena TARAKÇIOĞLU'na, özveri ve fedakarlığıyla zor zamanlarda çalışmamıza destek veren kıymetli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gülbin KAVAK ve Dr. Öğr. Üyesi Hasan ULUSAL'a ve tüm akademik hayatım boyunca bilgileriyle yolumu aydınlatan saygıdeğer akademisyen hocalarıma teşekkür ederim.

Bu süreçte varlıklarıyla bana güç veren, sabırlarıyla her anımda yanımda olan sevgili eşime ve çocuklarıma kalpten teşekkür ediyorum. Her başarı, onların sessizce sunduğu büyük desteklerin bir eseridir. Ayrıca, sevgili annemin duaları ve sonsuz desteği, rahmetli babamın yaşamım boyunca rehberliği ve yol göstericiliği için onlara sonsuz minnet duyuyorum. Onların sevgisi, bu yolculuğun görünmeyen ama en güçlü destekçisi olmuştur.

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyon Başkanlığı tarafından GÜ BAYBP- TF.DT.24.15 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR ve SEMBOLLER	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
RESİMLER LİSTESİ	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
1 GİRİŞ ve AMAÇ	3
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1 Radyoterapi.....	5
2.1.1 Radyoterapi Etki Mekanizması.....	5
2.1.2 Radyoterapi Yan Etkileri	6
2.1.3 Radyoprotektif Ajanlar	7
2.2 Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	8
2.2.1 Serbest Radikaller	9
2.2.2 Antioksidan Sistemler.....	11
2.2.3 Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2 (Nrf2) / Kelch Benzeri ECH ile İlişkili Protein 1 (Keap1) Yolağı	12
2.3 Moringa Oleifera.....	13
2.3.1 <i>Moringa Oleifera</i> Lam. Kimyasal Bileşenleri	14
2.3.2 <i>Moringa Oleifera</i> Fizyolojik Etkileri.....	15

2.4	Kardiyovasküler ve Renal Sistemde Oksidatif Denge ve Moringa Oleifera Lam.	15
3	GEREÇ ve YÖNTEM	18
3.1	Çalışma Grupları:	19
3.2	Moringa Oleifera Analizi	20
3.3	Radyoterapi:	20
3.4	Dokuların Alınması	22
3.5	Biyokimyasal Analizler	22
3.6	İstatistiksel Yöntem	23
4	BULGULAR	25
4.1	Kalp Dokusu	26
4.1.1	Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2	27
4.1.2	Kelch Benzeri ECH ile İlişkili Protein 1	28
4.1.3	Glikojen Sentaz Kinaz - 3 Beta	29
4.1.4	Total Antioksidan Seviye	30
4.1.5	Total Oksidan Seviyeleri	31
4.1.6	Oksidatif Stres İndeksi	32
4.1.7	8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin	33
4.1.8	Reaktif Oksijen Türleri	34
4.1.9	Korelasyon Analizi	35
4.2	Böbrek Dokusu	38

4.2.1	Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2	39
4.2.2	Kelch Benzeri ECH ile İlişkili Protein 1	40
4.2.3	Glikojen Sentaz Kinaz – 3 Beta	41
4.2.4	Total Antioksidan Seviyeleri	42
4.2.5	Total Oksidan Seviyeleri	43
4.2.6	Oksidatif Stres İndeksi	44
4.2.7	8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin	45
4.2.8	Reaktif Oksijen Türleri	46
4.2.9	Korelasyon Analizi	47
4.3	Moringa Oleifera Analizi	49
5	TARTIŞMA ve SONUÇ	51
	KAYNAKLAR	57
	EKLER	62
	EK 1. Etik Kurul Kararı	62
	ÖZGEÇMİŞ	63

KISALTMALAR ve SEMBOLLER

DNA	Deoksiriboz nükleik asit
Nrf2	Nükleer faktör 2 ile ilişkili faktör 2
Keap1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
GSK-3 β	Glikojen sentaz kinaz 3 beta
8-OHdG	8-hidroksideoksiguanozin
ARE	Antioksidan yanıt elemanı
TAS	Total antioksidan seviyeleri
TOS	Total oksidan seviyeleri
OSI	Oksidatif stres indeksi
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNS	Reaktif nitrojen türleri
MO	<i>Moringa oleifera</i> Lam.
MOYE	<i>Moringa oleifera</i> Lam. yaprak ekstraktı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Serbest radikallerin hücre/doku hasarına etki yolları	10
Şekil 2. Serbest radikallerin endojen ve eksojen başlıca kaynakları	11
Şekil 3. Başlıca antioksidan kaynakları	11
Şekil 4. Serbest radikallerin ilişkili olduğu kariyovasküler ve renal sistemde ortaya çıkan bozukluklar	16
Şekil 5. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Nrf2 düzeyleri.	28
Şekil 6. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Keap1 düzeyleri.	29
Şekil 7. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların GSK-3 β düzeyleri.	30
Şekil 8. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TAS düzeyleri.	31
Şekil 9. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TOS düzeyleri.	32
Şekil 10. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların OSI düzeyleri.	33
Şekil 11. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların 8-OHdG düzeyleri.....	34
Şekil 12. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların ROT düzeyleri.....	35
Şekil 13a. Kalp dokusunda analizleri yapılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi.....	36

Şekil 13b. Kalp dokusunda analizleri yapılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi (devamı).	37
Şekil 14. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Nrf2 düzeyleri.	39
Şekil 15. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Keap1 düzeyleri.	40
Şekil 16. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların GSK-3 β düzeyleri.	42
Şekil 17. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TAS düzeyleri.	43
Şekil 18. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TOS düzeyleri.	44
Şekil 19. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların OSI düzeyleri.	45
Şekil 20. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların 8-OHdG düzeyleri.....	46
Şekil 21. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların ROT düzeyleri.....	47
Şekil 22. Böbrek dokusunda analizleri yapılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi.....	48

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Moringa oleifera bitkisi.....	14
Resim 2. Moringa oleifera yetiştirilen arazi	14
Resim 3. Sıçanların düzenli olarak tartımı.	18
Resim 4. Sıçanların tomoterapi cihazına yerleştirilmesi öncesi restrainerda sabitlenmesi.	21
Resim 5. Sıçanlara tomoterapi cihazı kullanılarak gerçekleştirilen tüm vücut ışınlama uygulaması.	21
Resim 6. Işınlama esnasında tomoterapi cihazında sıçanların görünümü.	22

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. MO yapraklarının içerdiği fizyolojik etkiye sahip başlıca bileşenler	15
Tablo 2. Kalp dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelerin gruplara göre ortalama ve standart sapma değerleri ile sıra ortalama değerleri.....	25
Tablo 3. Böbrek dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelerin gruplara göre ortalama ve standart sapma değerleri ile sıra ortalama değerleri.....	26
Tablo 4. Kalp dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelere uygulanan Shapiro-Wilk normal dağılım testi.	27
Tablo 5. Kalp dokusunda normal dağılım gösteren değişkenlerin Levene ve ANOVA testleri.....	27
Tablo 6. Kalp dokusunda Nrf2 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	28
Tablo 7. Kalp dokusunda Keap1 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	29
Tablo 8. Kalp dokusunda GSK-3 β düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.	30
Tablo 9. Kalp dokusunda TAS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	31
Tablo 10. Kalp dokusunda TOS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	32
Tablo 11. Kalp dokusunda OSI düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	33
Tablo 12. Kalp dokusunda 8-OHdG düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.	34
Tablo 13. Kalp dokusunda ROT düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.	35
Tablo 14. Kalp dokusunda araştırılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi	36
Tablo 15. Böbrek dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelere uygulanan Shapiro-Wilk normal dağılım testi.	38

Tablo 16. Böbrek dokusunda normal dağılım gösteren değişkenlerin Levene ve ANOVA testleri.....	38
Tablo 17. Böbrek dokusunda Nrf2 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	39
Tablo 18. Böbrek dokusunda Keap1 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	40
Tablo 19. Böbrek dokusunda GSK-3 β düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	41
Tablo 20. Böbrek dokusunda TAS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	42
Tablo 21. Böbrek dokusunda TOS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	43
Tablo 22. Böbrek dokusunda OSI düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.....	44
Tablo 23. Böbrek dokusunda 8-OHdG düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.	45
Tablo 24. Böbrek dokusunda ROT düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.	46
Tablo 25. Böbrek dokusunda araştırılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi	49
Tablo 26. <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktı fenolik/flavonoid bileşen içeriği.	49
Tablo 27. <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktı toplam fenolik ve toplam flavonoid analiz sonuçları.....	50

ÖZET

TOTAL VÜCUT IŞINLAMASINA MARUZ KALAN SIÇANLARDA KALP VE BÖBREK DOKUSUNDA OKSİDATİF STRES ÜZERİNE MORİNGA OLEİFERA'NIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Kenan ERCAN

Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Seyithan TAYSI

19.06.2025 / 63 sayfa

Radyoterapide kullanılan radyasyonun sağlıklı dokular üzerindeki yan etkileri, tedavinin etkinliğini sınırlayan önemli bir faktördür. Bu yan etkiler, özellikle kalp ve böbrek gibi organlarda ciddi hasarlara yol açabilmektedir. Bu nedenle, radyoterapi sırasında normal dokuları korumak amacıyla radyoprotektif ajanların kullanımı büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, radyoterapinin etki mekanizmaları, yan etkileri ve radyoprotektif ajanların rolü incelenmiş, ayrıca serbest radikaller ile antioksidan sistemler arasındaki dengenin radyoterapi sürecindeki önemi vurgulanmıştır. Doğal bir antioksidan kaynağı olan *Moringa oleifera* Lam. bitkisinin radyoprotektif etkileri ile kardiyovasküler ve renal sistem üzerindeki oksidatif dengeyi sağlama potansiyeli araştırılmıştır. Deneysel çalışmada, sıçanların kalp ve böbrek dokularında radyasyonun neden olduğu oksidatif stres parametreleri analiz edilmiştir. Bulgular, radyasyonun bu dokularda oksidatif stresi artırdığını, ancak bitki ekstraktının uygulanmasıyla bu etkilerin azaltılabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak, *Moringa oleifera* bitkisinin radyoterapi sırasında normal dokuları koruyucu potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur. Bu bulgular, radyoterapinin yan etkilerini azaltmaya yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, *Moringa oleifera*, Nükleer faktör eritroit 2 ile ilişkili faktör 2, Oksidatif stres, Radyoterapi.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MORINGA OLEIFERA ON OXIDATIVE STRESS IN HEART AND KIDNEY TISSUES IN RATS EXPOSED TO TOTAL BODY IRRADIATION

Kenan ERCAN

Department of Medical Biochemistry

Supervisor Prof. Dr. Seyithan TAYSI

19.06.2025, 63 pages

The side effects of radiation used in radiotherapy on healthy tissues are an important factor that limits the effectiveness of the treatment. These side effects can cause serious damage, especially in organs such as the heart and kidney. Therefore, the use of radioprotective agents is of great importance in order to protect normal tissues during radiotherapy. In this study, the mechanisms of action of radiotherapy, its side effects and the role of radioprotective agents were examined, and the importance of the balance between free radicals and antioxidant systems in the radiotherapy process was emphasized. The radioprotective effects of *Moringa oleifera* Lam., a natural antioxidant source, and its potential to provide oxidative balance on the cardiovascular and renal systems were investigated. In the experimental study, oxidative stress parameters caused by radiation in the heart and kidney tissues of rats were analyzed. The findings showed that radiation increased oxidative stress in these tissues, but these effects could be reduced by applying plant extract. As a result, it was revealed that *Moringa oleifera* plant can be used as a potential agent to protect normal tissues during radiotherapy. It is thought that these findings may contribute to the development of new strategies to reduce the side effects of radiotherapy.

Keywords: Antioxidant, *Moringa oleifera*, Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Oxidative stress, Radiotherapy.

1 GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser, dünya genelinde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmekte ve tedavi yöntemleri arasında radyoterapi, özellikle lokalize tümörlerin kontrolünde kritik bir rol oynamaktadır. Batı ülkelerinde kanser tedavilerinin en az üçte birinde kullanılan radyoterapi, teknolojik gelişmelerle birlikte daha etkili ve hedefe yönelik bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Son yıllarda gelişen yeni radyoterapi tedavi yöntemleri, tümörlere yüksek dozda radyasyon uygularken çevre dokulara zararı en aza indirmeyi başarmıştır. Bu gelişmeler, tümör biyolojisinin moleküler ve hücresel düzeyde daha iyi anlaşılmasıyla birleşerek radyoterapinin etkinliğini artırmıştır (1).

Radyoterapinin temel amacı, kanser hücrelerini yok ederken sağlıklı dokulara verilen zararı en aza indirmektir. Ancak, radyasyonun normal dokular üzerindeki yan etkileri, tedavinin etkinliğini sınırlandıran önemli bir faktördür. Bu yan etkiler, akut ve geç olmak üzere iki kategoriye ayrılır ve özellikle kalp gibi organlarda düşük dozlarda bile ciddi hasarlara yol açabilir. Bu nedenle, radyoterapi sırasında normal dokuları korumak amacıyla radyoprotektif ajanların kullanımı büyük önem taşımaktadır. Ancak, günümüze kadar ideal radyoprotektif özelliklere sahip bir ajan geliştirilememiştir (1-3).

Serbest radikaller, radyoterapinin hem tümör hücrelerinde hem de normal dokularda neden olduğu hasarın temelinde yer alır. Radyasyon, deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına neden olarak hücre ölümüne yol açarken, aynı zamanda reaktif oksijen türleri (ROT) üretimini artırarak oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve böbrek hastalıkları gibi birçok patolojik durumun temelinde yer alan önemli bir mekanizmadır. Bu nedenle, antioksidan sistemler ve serbest radikallerin kontrol altına alınması, radyoterapinin yan etkilerini azaltmada ve tedavi etkinliğini artırmada kritik bir rol oynayabilir (4-7).

Bu çalışmanın amacı, radyoterapinin etki mekanizmalarını, yan etkilerini ve radyoprotektif ajanların rolünü incelemek, ayrıca serbest radikaller ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin radyoterapi sürecindeki önemini vurgulamaktır. Özellikle, doğal bir antioksidan kaynağı olan *Moringa oleifera* Lam (MO) bitkisinin radyoprotektif etkileri ve kardiyovasküler ve renal sistem üzerindeki oksidatif dengeyi sağlama

potansiyeli araştırılacaktır. Bu sayede, radyoterapi sırasında normal dokuların korunmasına yönelik yeni stratejiler geliştirilmesi hedeflenmektedir.



2 GENEL BİLGİLER

2.1 Radyoterapi

Radyoterapi, Batı ülkelerindeki kanser tedavi yöntemlerinin en az üçte birinde kullanılmakta ve komplikasyonsuz bölgesel tümörler için önemli bir seçenek olmaya devam etmektedir. Son yıllarda, stereotaktik vücut radyoterapisi ve yoğunluk ayarlı radyoterapi gibi 3D konformal tedavilerdeki teknolojik gelişmeler, tümörlere hassas doz uygularken çevre dokulara radyasyon maruziyetini azaltmıştır. Bu ilerlemeler, moleküler ve hücresel düzeyde tümör biyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla birleşerek radyoterapinin etkinliğini artırmıştır (1).

Radyoterapinin amacı, normal hücrelere mümkün olduğunca az zarar vererek kanser hücrelerini yok etmektir (2). Radyasyon tedavisi, lokalize solid kanserlerin tedavisi için mevcut en etkili sitotoksik tedavidir (3). Geleneksel olarak kanser radyoterapisi, çevresindeki sağlıklı dokuların tolere edebileceği maksimum doz ile sınırlıdır. Bu yüzden, etkili radyoterapi; kanser hücrelerini öldürme kapasitesini, sağlıklı dokuların radyasyon hasarını tolere edebileceği kabul edilebilir doz sınırları içinde en üst düzeye çıkarmak olarak değerlendirilir. Kanser genetik, yapısal, metabolik, patofizyolojik ve immünolojik karmaşıklıklarla dolu heterojen bir hastalık olması nedeniyle, doğal ve kazanılmış radyo dirençle ilişkili biyobelirteçleri belirlemek için büyük çabalar harcanmıştır. Son yirmi yılda birçok radyasyon hassaslaştırıcı ve koruyucu ajan geliştirilmiş, bu da radyoterapinin tek tip hasta yaklaşımından daha dinamik ve kişiye özel bir tedavi yöntemine dönüşmesini sağlamıştır (1).

2.1.1 Radyoterapi Etki Mekanizması

Radyasyon, hücrelerin DNA'sına zarar verir; radyoterapinin temel prensibi, kanser hücrelerini öldürmek için yeterli hasara neden olmaktır (2). Esas olarak ışınlanmış dokulardaki molekülleri iyonize ederek DNA hasarında rol oynar. Radyasyon enerjisi, DNA, organeller ve zarlar dahil olmak üzere kritik hücresel yapılara doğrudan veya sulu sitozolde yüksek reaktif serbest radikallerin indüksiyonu yoluyla dolaylı olarak emilir. Geçici serbest radikaller tarafından moleküler hasara neden olma olasılığı, biyokimyasal hasarın stabilizasyonunu destekleyen moleküler oksijen varlığında artar (8).

İyonlaştırıcı radyasyon, hücrelerin içinde su radyoliz ürünlerini hızla indükler ve bu da ROT üretimini tetikler (4). ROT, özellikle hidroksil radikalleri ($\cdot\text{OH}$), DNA hasarlarına ve diğer radyasyon kaynaklı hasarlara neden olmada önemli roller oynar (1). DNA hasarının onarımı genomik bütünlük için çok önemlidir ve onarımdaki eksikliklerin iyonlaştırıcı radyasyondan sonra hücresel sağkalım üzerinde büyük bir etkisi olduğu bilinmektedir (9). Radyasyon hasarı için en önemli hücresel hedef nükleer DNA'dır. Her bir grey (1 Gy) emilen radyasyonun hücre başına yaklaşık 10^5 iyonizasyon oluşturduğu tahmin edilmektedir (10). Bu iyonizasyonlar sonucunda DNA'da yaklaşık olarak 2000 tek zincirli ve 40 çift zincirli kırılma meydana gelir. Ayrıca, nükleotid bazlarına zarar, DNA-DNA ve DNA-protein çapraz bağlarının oluşumu gibi diğer DNA hasarı türleri de ortaya çıkar. Özellikle DNA çift zincirli kırılmaları, hücre için genellikle ölümcül olaylar olarak kabul edilir. Bu durum, radyasyonun biyolojik etkilerinin temelini oluşturur ve hücresel onarım mekanizmalarının önemini vurgular (8).

Işınlamanın ardından, DNA lezyonlarının çoğu, çift zincir kırıklarıyla başa çıkmak için bir dizi karmaşık onarım mekanizması kullanılarak etkili bir şekilde onarılır. Homolog rekombinasyon onarımı ve homolog olmayan uç birleştirme, başlıca çift zincir kırık onarım mekanizmalarıdır (11).

2.1.2 Radyoterapi Yan Etkileri

Radyasyon, normal dokularda bir hasar onarım kaskadını aktive eder. Bu süreç, DNA hasarına verilen yanıt ile başlar ve apoptoz, mitotik hücre ölümü ve hücresel yaşlanma gibi mekanizmaları içerir (12). Bu ilk yanıt, inflamasyonu ve aşırı ekstraselüler matris ile kolajen birikimini tetikleyen sürekli bir sitokin kaskadı izler. Bu süreçler, büyük ölçüde ROT ve reaktif nitrojen türleri (RNT) arasındaki dengesizlik ile doku hipoksisi tarafından modüle edilir (13). Hücreler DNA'larını onaramazsa, büyüyemez veya çoğalamazlar. Ancak radyasyon normal hücrelere zarar verir ve dolayısıyla olumsuz yan etkilere neden olabilir. Bu tür istenmeyen yan etkilerin niteliği ve derecesi, iyonlaştırıcı radyasyonun dozuna ve ışınlanan organların duyarlılığına bağlıdır (2).

Normal dokularda radyoterapinin yan etkileri, çoğunlukla dokuların yenilenme süresine ve yara iyileşmesi tepkisini taklit eden süreçlerle şekillenir. Bu etkiler, akut ve geç olmak üzere iki kategoriye ayrılır (13). Akut yan etkiler, radyoterapi sırasında, hemen sonrasında veya birkaç hafta içinde ortaya çıkar. Doz sınırlı olduğunda ve doku değişim hızı yüksek

olduğunda bu etkiler genellikle geri dönüşümlüdür. Örneğin, ağız mukozasında, bağırsakta veya akciğerlerde (pnömonit), ciltte ve beyinde (hafıza kaybı ve yorgunluk gibi) görülen erken yan etkiler, kısmen geri dönüşümlü olabilmektedir (14).

Geçmişte, kalbin radyasyon etkilerine karşı nispeten dirençli olduğu ve yalnızca ≥ 30 Gy'lik dozlarda hasar gördüğü düşünülmekteydi. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar, daha düşük dozların da kalp üzerinde risk oluşturabileceğini ortaya koymuştur. Bağımsız kaynaklardan elde edilen daha yeni veriler, ≤ 20 Gy ve hatta ≤ 5 Gy'lik ortalama kalp dozlarının bile kardiyak riskleri artırabileceğine dair önemli kanıtlar sunmaktadır (15).

2.1.3 Radyoprotektif Ajanlar

Radyoprotektif ajanlar, iyonlaştırıcı radyasyonun neden olduğu yaralanmaları azaltmak amacıyla, genellikle ışınlama öncesinde uygulanan sentetik bileşikler veya doğal ürünlerdir. Son 60 yılda, radyasyon kaynaklı hasarları önlemek için etkili radyoprotektif ajanlara olan büyük klinik ihtiyaç nedeniyle, daha etkili ve daha az toksik ilaçların geliştirilmesi amacıyla çok sayıda ilaç hazırlanmış ve test edilmiştir. İlk çalışmalar, genellikle sentetik tiyol bileşiklerine odaklanmıştır. Bu bileşikler, radyasyonun neden olduğu ölümcül etkileri azaltmada oldukça etkili olmuştur. Bu sınıftan bir bileşik olan amifostin, radyoterapi gören hastalarda yan etkileri, özellikle kserostomi, azaltmak amacıyla ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından klinik kullanım için onaylanan tek radyoprotektif ajandır (2). Amifostin etkili bir koruma sağlamasına rağmen, kullanımına bulantı, kusma ve hipotansiyon gibi yan etkiler eşlik ettiği için nispeten toksik bir ajan olarak kabul edilmektedir (16).

Radyoterapi sırasında ışınlamaya maruz kalma ya da radyasyona kazara maruz kalma, önemli ve istenmeyen yan etkilere yol açabilir. Bu tür etkilerin azaltılması, radyoprotektif ilaçların kullanımıyla mümkün olabilir (17). Ancak, ideal bir radyoprotektif ajanın belirli kriterleri karşılaması gerekmektedir:

- a) Radyasyonun etkilerine karşı anlamlı koruma sağlamalıdır.
- b) Çeşitli organlarda genel bir koruyucu etkiye sahip olmalıdır.
- c) Kabul edilebilir bir uygulama yoluna sahip olmalıdır (tercihen oral, alternatif olarak intramüsküler).

- d) Kabul edilebilir bir toksisite profiline ve koruma sağlayan bir zaman penceresine sahip olmalıdır.
- e) Hem aktif ürün hem de formüle edilmiş bileşik açısından stabil bir profile sahip olmalıdır.
- f) Hastalar ya da personele sunulan diğer ilaçların geniş yelpazesıyla uyumlu olmalıdır.

Ne yazık ki, günümüze kadar bu kriterlerin tamamını karşılayan bir radyoprotektif ajan geliştirilememiştir. Radyoprotektif ajanların ilk geliştirilme süreçleri, etkili sentetik tiyol bileşiklerinin keşfi ile sonuçlanmıştır. Ancak, bu ajanların yan etki profili ve uygulama zorluğu, daha etkili, daha az toksik ve uygulama yolu ile sıklığı açısından daha kabul edilebilir özelliklere sahip ikinci nesil ilaçların araştırılmasını zorunlu kılmıştır (2).

2.2 Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Radikaller, dış yörüngelerinde eşlenmemiş bir elektrona sahip bileşikler olarak tanımlanır. Serbest radikaller ise çözeltide veya lipit ortamında bağımsız halde bulunabilen radikal moleküllerdir (18). Eşleşmemiş bir elektrona sahip olan serbest radikaller, anyonik, katyonik veya nötr yapıda olabilirler. Bu moleküller, yüksek reaktiviteye sahip olmalarıyla dikkat çeker ve hem normal hücre metabolizmasının bir yan ürünü olarak hem de UV ışığı, sigara, çevre kirliliği ve gama radyasyonu gibi çevresel faktörlere maruz kalma sonucu ortaya çıkan biyokimyasal redoks reaksiyonları ile üretilirler. İnsan vücudu sürekli olarak serbest radikallerin etkisi altındadır ve bazı toksik bileşikler, antikanser ilaçları, anestezikler ve analjezikler gibi maddeler de serbest radikal üretimini tetikleyebilir. Başlıca serbest radikaller; süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($\cdot OH$), alkoksil ($RO^{\cdot}$), nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve peroksil ($ROO^{\cdot}$) radikalleri olarak sıralanabilir (19). Bunun yanında peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2), molekülleri de serbest radikallerle yakından ilişkili olduğu için oksidatif stres kaynağı olarak sayılabilirler (20).

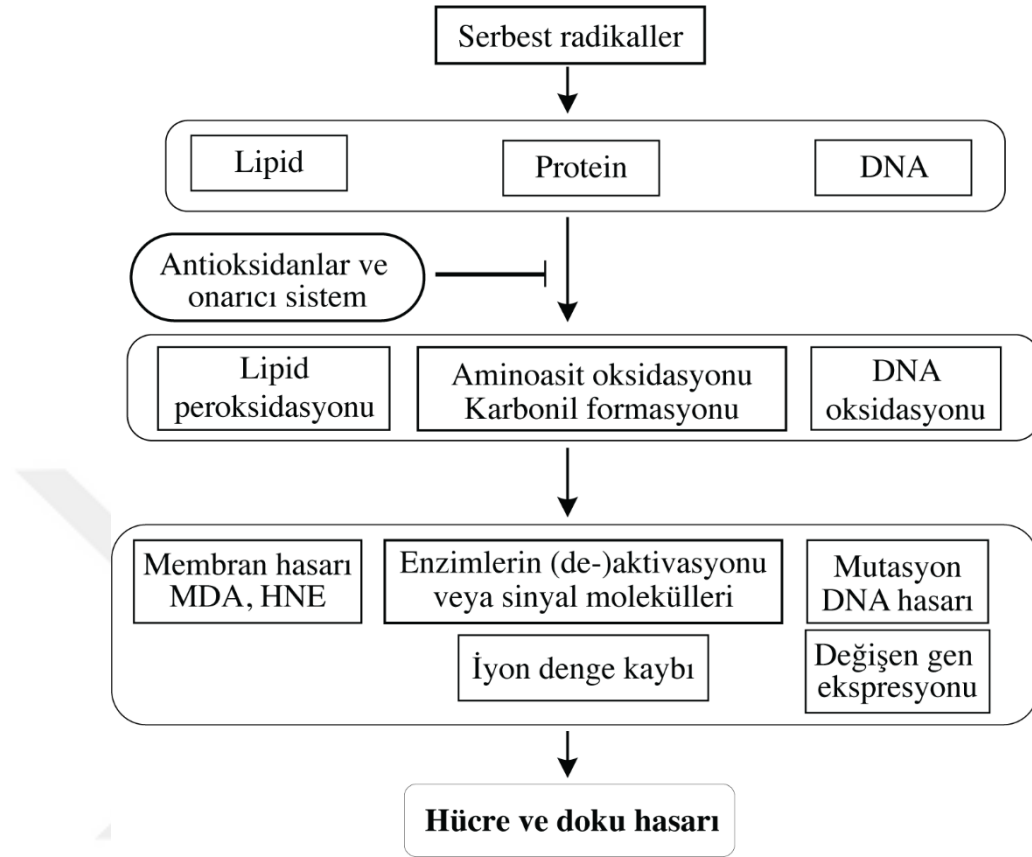
"Antioksidan" terimi, hücrelerde hasara neden olabilecek serbest radikalleri stabilize eden veya etkisiz hale getiren molekülleri ifade eder. Serbest radikallerin dengesiz yapıları, onları çevrelerindeki diğer moleküllerle hızla reaksiyona girme eğiliminde yapar; bu da hücre zarları, proteinler ve DNA gibi hücresel yapıların zarar görmesine yol açabilir (21).

2.2.1 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, eşlenmemiş bir elektrona sahip oldukları için yüksek reaktivite gösteren moleküler türlerdir. Çok kısa ömürlüdürler (10^{-9} ila 10^{-12} saniye) ve stabilite kazanmak için çevrelerindeki moleküllerden elektron alır veya verirler. Bu süreç, yeni serbest radikallerin oluşmasına ve zincirleme reaksiyonlara yol açar. Serbest radikallerin söndürülmesi, iki radikalın birleşerek stabil bir yapı oluşturmalarıyla mümkündür. Ancak, radikallerin kısa ömürleri ve dokularda düşük konsantrasyonlarda bulunmaları nedeniyle bu durum nadirdir (22).

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşlenmemiş bir elektrona sahip olan ve bu nedenle yüksek reaktivite gösteren moleküller veya atomlardır. Bu moleküller, biyolojik sistemlerde hem normal metabolik süreçlerin bir parçası olarak hem de çevresel faktörlere maruz kalma sonucu oluşabilir. Serbest radikaller, ROT, RNT, sülfür merkezli radikaller ve diğer reaktif türlerden oluşur. Bu moleküller, hücresel düzeyde önemli biyokimyasal reaksiyonlarda rol oynarken, aşırı üretimleri durumunda hücre zarı, proteinler, lipitler ve DNA gibi kritik yapılara zarar verebilir (6, 23). Normal aerobik metabolizma sırasında ROT, tek elektron transferi sonucunda istenmeyen yan ürünler olarak düşük seviyelerde oluşur. Oksijen serbest radikalleri ve radikal olmayan türevlerini içeren ROT, pek çok hayati fizyolojik işlevin devamında ve düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Son yıllarda, ROT'un hücresel dengeyi koruyan hücre içi sinyalleme ve redoks düzenlenmesinde kritik bir aracı olduğu daha iyi anlaşılmıştır (5). Bazı büyüme faktörleri, sitokinler, hormonlar ve nörotransmitterler ise normal fizyolojik süreçlerin sürdürülmesinde ROT'u ikincil haberciler olarak kullanır (24). Ancak, eksojen redoks kimyasalları, ultraviyole ve iyonlaştırıcı radyasyon gibi fiziksel ajanlar, bakteriyel veya viral enfeksiyonlar ya da oksijen eksikliği (hipoksi) gibi anormal patofizyolojik koşullarda aşırı ROT üretimi zararlı olabilir. ROT DNA, proteinler, hücre zarları ve karbonhidratlar gibi temel biyomoleküllere doğrudan zarar verebilir, aynı zamanda hücresel sinyal süreçlerini dolaylı olarak bozabilir. Bu tür oksidatif hasarın sonuçları arasında kanser, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet ve romatoid artrit gibi patolojik durumlar yer alır. Laboratuvar ve klinik araştırmalar, ROT'un birçok hastalıkta hücresel hasarın ana nedenlerinden biri olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle ROT, geniş bir toksikolojik ve fizyolojik tepki yelpazesine yol açar (5). Serbest radikallerin hücrede

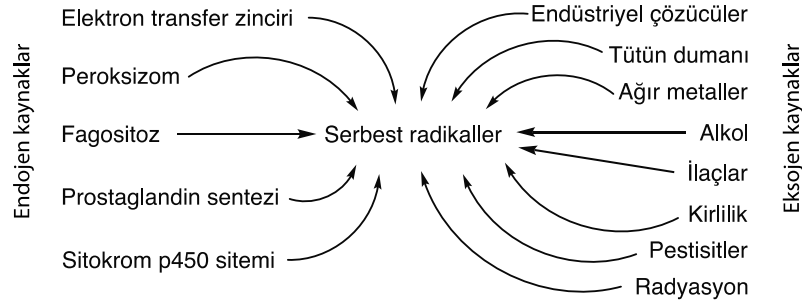
başlıca etki ettiği moleküller lipidler, proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar olarak sıralanabilir (6, 7).



Şekil 1. Serbest radikallerin hücre/doku hasarına etki yolları (25).

Serbest radikaller mitokondri, endoplazmik retikulum, fagositik hücreler gibi endojen kaynaklardan oluşabileceği gibi kirlilik, alkol, tütün dumanı, ağır metaller, endüstriyel çözücüler, pestisitler, bazı ilaçlar ve radyasyon gibi eksojen kaynaklardan da meydana gelebilir (Şekil 2.) (7). ROT ve RNT oluşumu hücrelerde iki şekilde gerçekleşebilir: enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar. Serbest radikaller üreten enzimatik reaksiyonlar, solunum zinciri, fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom P450 sisteminde yer alanları içerir (6). Bazı serbest radikaller, toksik oksiradikal türlerinden $\cdot\text{OH}$ veya reaktif $\text{O}_2^{\cdot-}$ gibi moleküller, mitokondriyal oksidatif metabolizma sırasında doğal olarak oluşmaktadır. Bunun yanı sıra, vücudun bağışıklık sistemi, hücreleri, virüsleri ve bakterileri nötralize etmek amacıyla serbest radikaller üretmektedir. Çevresel faktörler, örneğin kirlilik, radyasyon, sigara dumanı ve herbisitler, serbest radikal oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Dolayısıyla biyolojik sistemler, metabolik

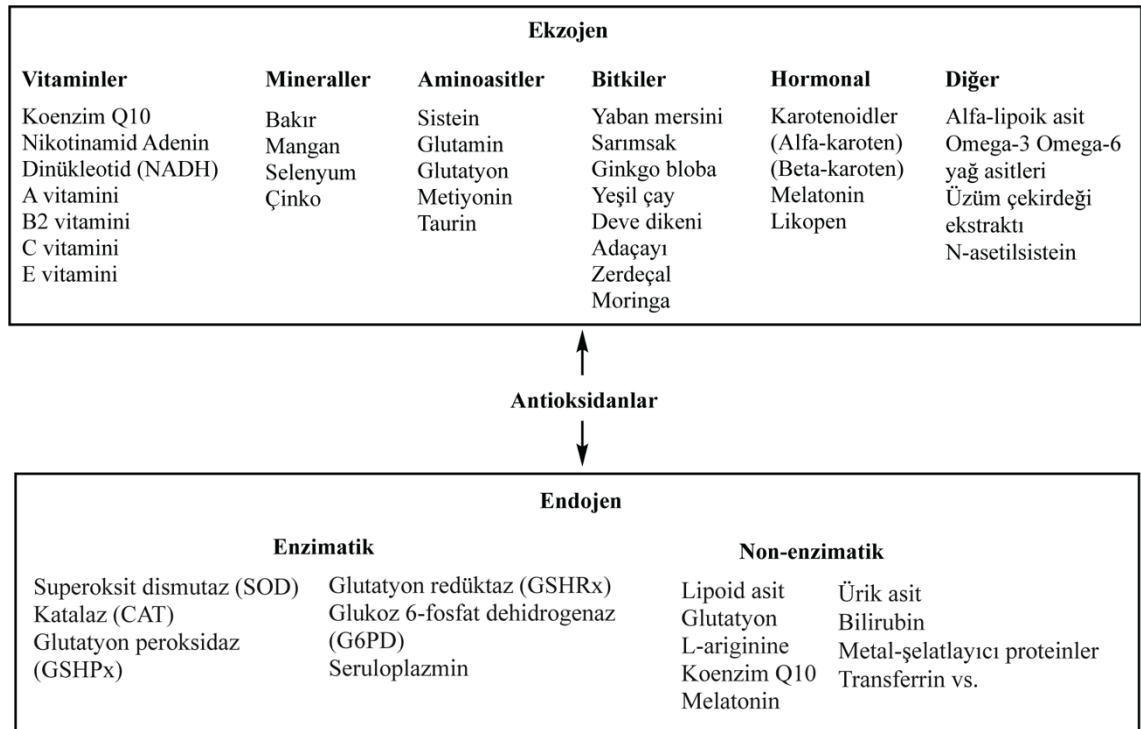
süreçler veya çevresel kaynaklardan meydana gelen serbest radikallerle sürekli olarak etkileşim halindedir; bu süreç ise oksidasyon olarak adlandırılmaktadır (5).



Şekil 2. Serbest radikallerin endojen ve ekzojen başlıca kaynakları (5-7)

2.2.2 Antioksidan Sistemler

Antioksidanlar, vücutta doğal olarak üretilbildiği gibi (endojen antioksidanlar) dış kaynaklardan da (ekzojen antioksidanlar) elde edilebilirler (Şekil 3.). İnsan vücudu, serbest radikalleri etkisiz hale getirmek için sinerjik çalışan karmaşık bir antioksidan savunma sistemi geliştirmiştir. Bu sistem enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşur.



Şekil 3. Başlıca antioksidan kaynakları (6, 7, 26-28).

Besinler yoluyla alınan antioksidanlar, endojen antioksidan sistemleri destekleyerek veya doğrudan serbest radikallerle reaksiyona girerek oksidatif stresi azaltabilir. Ek olarak, bazı diyet bileşikleri serbest radikalleri doğrudan nötralize etmez ancak endojen antioksidan sistemlerin aktivitesini artırarak dolaylı yoldan koruma sağlayabilir. Bu nedenle, diyet bileşikleri de antioksidan etkileri bakımından değerlendirilebilir ve oksidatif strese karşı vücut savunmasında önemli bir rol oynar (21).

2.2.3 Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2 (Nrf2) / Kelch Benzeri ECH ile İlişkili Protein 1 (Keap1) Yolağı

Moi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, beta-globin genlerinin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörü keşfedilmiş ve bu faktöre Nrf2 adı verilmiştir (29, 30). Nrf2, başlangıçta beta-globin genlerinin ekspresyonunu kontrol eden bir düzenleyici olarak tanımlanmıştır (30) Daha sonra Venugopal ve Jaiswal, Nrf2'nin NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz 1 (NQO1) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu sağlayan antioksidan yanıt elementi (ARE) üzerinde pozitif bir düzenleyici rol oynadığını ortaya koymuştur (31). Literatürde, Nrf2'nin bir transkripsiyon faktörü olarak görev yaptığı, çeşitli proteinlerin sentezinde rol aldığı ve özellikle endojen antioksidanların seviyelerini artırdığı belirtilmektedir (32).

Stresle indüklenebilen bir transkripsiyon faktörü olan Nrf2, başlıca Keap1-Cullin3-Ringbox1 (Keap1-Cul3-Rbx1) kompleksi tarafından düzenlenmektedir (33). Normal hücrel koşullarda Nrf2, negatif düzenleyici Keap1 ile inaktif halde bulunur. Sistein açısından zengin bir protein olan Keap1, ROT varlığında oksitlenerek konformasyonel değişikliğe uğrar ve aktif hale gelen Nrf2, çekirdeğe translokasyon gerçekleştirir. Daha sonra Nrf2, hedef genlerin promotör bölgesindeki ARE veya elektrofıl yanıt elementine (EpRE) bağlanarak antioksidan, antiapoptotik, metabolik ve detoksifikasyon proteinlerinin koordineli ekspresyonunu ve aktivasyonunu sağlar (34, 35). Nrf2 tarafından düzenlenen antioksidan aktiviteye sahip proteinler arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (36), hem-oksijenaz 1 (HO-1), glutatyon peroksidaz-1 (GSH-Px-1) ve NQO1 sıralanabilir (35).

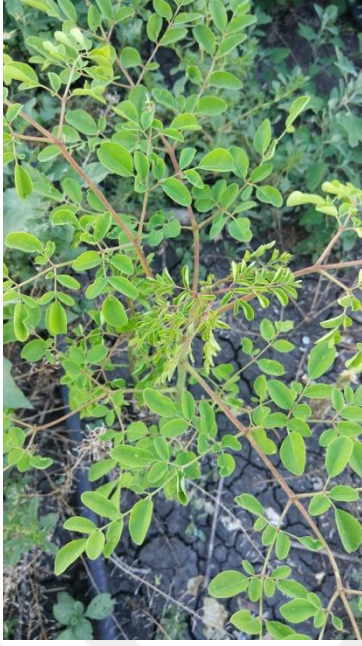
Nrf2/Keap1 yolağının, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, felç, kronik böbrek hastalığı, ateroskleroz, diyabet, inflamatuvar, nörodejeneratif, kardiyovasküler hastalıklar ve romatoid artrit gibi çeşitli hastalıklardan korunmada önemli bir rol oynadığı literatürde

vurgulanmaktadır (37). Nrf2, antioksidan üretimi, oksidatif hasara ve detoksifikasyona karşı savunmanın düzenlenmesi ve koruyucu in vivo sistemin genel yönetiminde kilit bir rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (38, 39). Nrf2 aktivasyonu, oksidatif, elektrofilik veya inflamatuvar stres koşullarında gerçekleşir. Nrf2'nin en önemli özelliklerinden biri indüklenebilir olmasıdır ve çalışmalarda birçok indükleyici tarafından aktive edilerek endojen antioksidan seviyelerini artırdığı belirtilmektedir (32).

2.3 Moringa Oleifera

Moringa oleifera Lam, Moringaceae ailesinin en bilinen türü olup, yüksek besin değeri ve geniş tıbbi kullanımıyla öne çıkar. Asya ve Güneydoğu Asya'da yaygın olarak tüketilen bu bitki, antioksidan ve antikanser özellikler dahil birçok sağlık yararına sahiptir. Geleneksel tıpta ağacın hemen her kısmı iltihaplanma, kardiyovasküler, gastrointestinal, ve enfeksiyon gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır. Ayrıca, cilt hastalıkları, diyabet, hipertansiyon ve kanser tedavisinde de faydalı olup su arıtımında ve besin kaynağı olarak tüketimi teşvik edilmektedir. MO yaprakları, askorbik asit, flavonoidler ve karotenoidler gibi antioksidanlar açısından zengindir ve araştırmalarda radyasyona karşı koruyucu bir besin bileşeni olarak öne çıkmaktadır. Bitkinin yaprak, kök, tohum ve diğer kısımları, antitümör, antiinflamatuvar, antihipertansif, antioksidan, antibakteriyel ve antifungal dahil birçok farmakolojik etkiye sahiptir ve bu nedenle geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (7).

Gaziantep Üniversitesi uygulama arazisinde yetiştirilen MO bitkisi resim 1 ve resim 2'de gösterilmiştir.



Resim 1. Moringa oleifera bitkisi



Resim 2. Moringa oleifera yetiştirilen arazi

2.3.1 Moringa Oleifera Lam. Kimyasal Bileşenleri

Yapılan analizlerde, MO'nın yaprak örneklerinde toplam 35 element tespit edilmiştir; bunlar 14 makro ve 21 mikro elementi kapsamakta olup, demir, potasyum ve kalsiyum gibi mineraller özellikle ne çıkmaktadır. MO'nın bu zengin mineral içeriği, bitkinin yüksek besleyici değerini desteklemekte ve günlük mineral ihtiyaının karşılanmasında önemli bir katkı sağlamaktadır (40). Ayrıca, MO'nın tüm türlerinde insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler sağlayan fitokimyasallar olduğu belirtilmiş ve bu bitkinin insan sağlığını koruma potansiyelinin önemine dikkat çekilmiştir. Özellikle MO yaprak tozunun tüketiminin, insan vücudunun işlevselliği için gerekli olan bazı temel mineralleri sağladığı rapor edilmiştir. MO yapraklarındaki selenyum seviyelerinin tavsiye edilen günlük sınırlar içinde olduğu ve sağlıklı bireylerin beslenme ihtiyaçlarını karşılamak için yeterli olduğu belirtilmiştir (7).

Tablo 1. MO yapraklarının içerdiği fizyolojik etkiye sahip başlıca bileşenler (7, 41, 42) .

Vitaminler	Fenolik asitler	Flavonoidler	Glukozinolatlar	Diğer
α -Tokoferol	Kafeik asit	Rutin	Niazirin	β -karoten
γ -Tokoferol	Klorojenik asit	Kaempferol	Niazirinin	Lutein
A vitamini	Kumarik asit	Epikateşin	Niazimisin	4-[(4'-O-asetil-
C vitamini	Elajik asit	İzoramnetin	Niaziminin A	alfa-L-
B1-Tiamin	Ferulik asit	Mirisetin	Niaziminin B	ramnoziloksi)
B2-Riboflavin	Gallik asit	Kersetin-3-O-	4-(alfa-L-	benzil
B3-Niasin		glukozit	ramnopiranozilok	izotiyosiyanat
		Kersetin-3-O-(6"-	si) benzil	
		malonil-glukozit)	glukozinat	

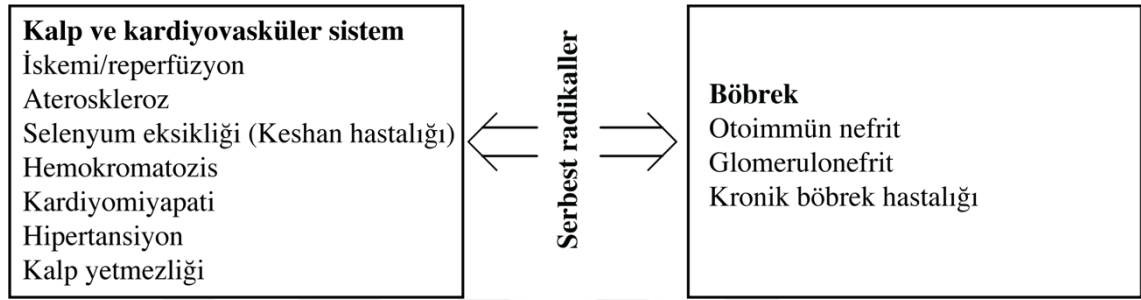
2.3.2 *Moringa Oleifera* Fizyolojik Etkileri

Moringa oleifera Lam'da bulunan çeşitli fitokimyasallar, bitkinin biyolojik aktivitesinde önemli bir rol oynamaktadır. MO yaprakları, yüksek oranda biyoyararlanıma sahip biyoaktif bileşikler içermesi nedeniyle hem beslenme hem de fizyolojik etkiler açısından oldukça önemli bir role sahiptir. Bu yapraklar, vitaminler (A, C, E), mineraller (kalsiyum, potasyum, demir), antioksidanlar (flavonoidler, polifenoller) ve esansiyel amino asitler gibi zengin bir besin profili sunmaktadır. Bu bileşenler, MO yapraklarının gıda takviyesi olarak kullanılmasını desteklemekte ve insan sağlığı üzerinde çeşitli terapötik etkiler göstermesine katkıda bulunmaktadır. Özellikle antioksidan, antienflamatuar, antimikrobiyal ve antidiabetik özellikleriyle öne çıkan MO yaprakları, kronik hastalıkların önlenmesi ve yönetiminde potansiyel bir kaynak olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, yüksek biyoyararlanım oranı, bu bileşiklerin vücut tarafından etkin bir şekilde emilmesini ve kullanılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle, MO yaprakları, hem beslenme açısından zengin bir kaynak hem de sağlık üzerinde olumlu etkileri olan fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilmektedir. (7, 43).

2.4 Kardiyovasküler ve Renal Sistemde Oksidatif Denge ve *Moringa Oleifera* Lam.

Oksidatif dengenin serbest radikaller lehine bozulması, hücresel düzeyde oksidatif stresin artmasına neden olmakta ve bu durum birçok dokuda olduğu gibi kardiyovasküler ve renal sistemde de önemli değişikliklere yol açmaktadır. Serbest radikallerin aşırı üretimi,

antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kalmasına bağlı olarak lipid, protein ve DNA gibi hücrel bileşenlerde hasara neden olmaktadır. Bu hasar, kardiyovasküler sistemde endotel disfonksiyonu, ateroskleroz, hipertansiyon ve miyokardiyal hasar gibi patolojik durumlara yol açabilmektedir. Benzer şekilde, renal sistemde oksidatif stres, glomerüler filtrasyon hızının bozulması, tubulointerstisyel fibrozis ve böbrek yetmezliği gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir (Şekil 4.) (25).



Şekil 4. Serbest radikallerin ilişkili olduğu kardiyovasküler ve renal sistemde ortaya çıkan bozukluklar (25, 44).

Yapılan bilimsel çalışmalar, ateroskleroz, iskemi, hipertansiyon, kardiyomiyopati, kardiyak hipertrofi ve konjestif kalp yetmezliği gibi bir dizi kardiyovasküler hastalıkta (KVH) oksidatif stresin patofizyolojik süreçlerdeki kritik rolünü ortaya koyan önemli kanıtlar sunmuştur. Bu çalışmalar, oksidatif stresin, ROT aşırı üretimi ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kalması sonucu ortaya çıkan hücrel hasarın, kardiyovasküler sistemdeki yapısal ve fonksiyonel bozuklukların temelinde yer aldığını göstermektedir. Özellikle endotel disfonksiyonu, inflamasyon, lipid peroksidasyonu ve hücre apoptozu gibi mekanizmalar üzerinden oksidatif stres, kardiyovasküler hastalıkların ilerlemesinde önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (6).

Oksidatif stres, glomerulonefrit, tubulointerstisyel nefrit, kronik böbrek yetmezliği, proteinüri ve üremi gibi çeşitli böbrek hastalıklarının patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle siklosporin, takrolimus (FK506), gentamisin, bleomisin ve vinblastin gibi bazı farmakolojik ajanların nefrotoksitesi, büyük ölçüde lipid peroksidasyonu mekanizması üzerinden oksidatif stresin artışına bağlı olarak

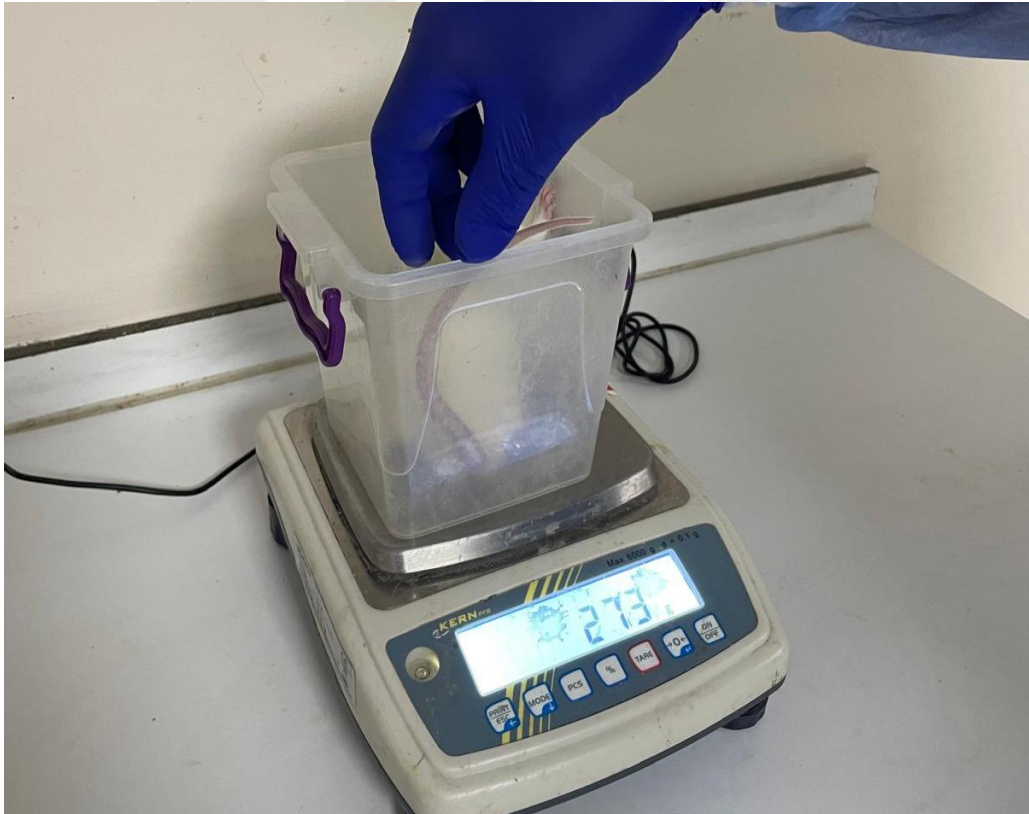
gelişmektedir. Bununla birlikte, kadmiyum (Cd), cıva (Hg), kurşun (Pb), arsenik (As) gibi ağır metaller ile demir (Fe), bakır (Cu), kobalt (Co) ve krom (Cr) gibi geçiş metallerinin neden olduğu farklı nefropati ve kanserojenlik formları, vücutta güçlü serbest radikal üretimini tetikleyerek oksidatif hasara yol açmaktadır. Bu süreçler, böbrek dokusunda meydana gelen hücresel ve moleküler düzeydeki bozulmaların temelini oluşturmaktadır (6).



3 GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GAÜNDAM), Fitoterapi ve Tıbbi Aromatik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Radyasyon Onkolojisi, Patoloji ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalları laboratuvarları ile TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi (MAM) laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Bu çalışmada, ortalama ağırlıkları 270 ± 50 g arasında değişen 45 adet Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney, sham, radyasyon, iki farklı dozda sadece MO alan ve iki farklı dozda MO ile birlikte radyasyon alan grup olmak üzere toplam altı farklı gruptan oluşturuldu. Sıçanlar, ortam ışığının 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olarak ayarlandığı, 25 ± 1 °C’de sabitlenmiş odalardaki tel kafeslerde barındırıldı. Deney süresi boyunca tüm sıçanların standart yem ile beslenmeleri sağlandı.



Resim 3. Sıçanların düzenli olarak tartımı.

Çalışmanın başlangıcından bitişine kadar tüm sıçanların ağırlıkları düzenli olarak tartılarak kayıt altına alındı. Çalışmaya başlamadan önce yapılan muayenede sağlık durumu elverişli olmayan sıçanlar, çalışmadan çıkarıldı.

3.1 Çalışma Grupları:

Sham grubu (n=7) 10 gün öncesinden gavajla serum fizyolojik verildi. Radyoterapi gruplarına yapıldığı gibi restrainer içine yerleştirilerek bir süre bekletildi. Işın verilmeden restrainer içinden çıkarıldı. Sonraki 10 gün boyunca gavajla serum fizyolojik verilmeye devam edildi.

R gurubuna (n=8) 10 gün öncesinden gavajla serum fizyolojik verildi. Sıçanlar radyoterapi için 11. gün hazırlandı. Işınlama esnasında sıçanlar ayrı ayrı restrainer içine alınarak tüm vücut ışıması için uygun şekilde cihaza yerleştirildi. Guruptaki tüm sıçanlara 6 Gy radyasyon (Tomoterapi x ışını) verildi. Işıktan sonraki 10 gün gavajla serum fizyolojik verilmeye devam edildi.

M1 gurubu (n=7) 10 gün öncesinden gavajla 2,5 mL MOYE (250 mg/kg) verildi. Radyoterapi gruplarına yapıldığı gibi restrainer içine yerleştirilerek bir süre bekletildi. Işın verilmeden restrainer içinden çıkarıldı. Sonraki 10 gün boyunca gavajla 2,5 mL *Moriga oleifera* yaprak ekstraktı (MOYE) (250 mg/kg) verilmeye devam edildi.

M2 gurubu (n=7) 10 gün öncesinden gavajla 2,5 mL MOYE (500 mg/kg) verildi. Radyoterapi gruplarına yapıldığı gibi restrainer içine yerleştirilerek bir süre bekletildi. Işın verilmeden restrainer içinden çıkarıldı. Sonraki 10 gün boyunca gavajla 2,5 mL MOYE (500 mg/kg) verilmeye devam edildi.

MR1 gurubuna (n=8) 10 gün öncesinden gavajla 2,5 mL MOYE (250 mg/kg) verildi. 11. Gün 6 Gy radyasyon (Tomoterapi x ışını) verildi. Işıktan sonraki 10 gün gavajla 2,5 mL MOYE (250 mg/kg) verilmeye devam edildi.

MR2 gurubuna (n=8) 10 gün öncesinden gavajla 2,5 mL MOYE (500 mg/kg) verildi. 11. Gün 6 Gy radyasyon (Tomoterapi x ışını) verildi. Işıktan sonraki 10 gün gavajla 2,5 mL MOYE (500 mg/kg) verilmeye devam edildi.

3.2 Moringa Oleifera Analizi

Gaziantep Üniversitesi Nurdağı Meslek Yüksekokulu Uygulama Arazisi'nde 2023 Ağustos ayında hasat edilen MO bitkilerinin kurutulmuş yaprakları, analiz zamanına kadar kuru ve serin bir ortamda muhafaza edildi. Bitki yaprakları, bir öğütücü kullanılarak toz haline getirildi.

MO yaprak tozu (30 mg), 1:5 oranında 150 mL saf su ile karıştırıldı. Bu karışım, 50 °C'de Branson Sonifier 150D ultrason cihazında 10 dakika boyunca ekstrakte edildi. Daha sonra, aynı karışım 5500 RPM'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlemten sonra elde edilen süpernatant, hayvanlara gavajla verilmek ve analize gönderilmek üzere +4 °C'de muhafaza edildi.

MR2 grubuna, elde edilen MOYE her hayvana 2,5 mL olacak şekilde gavajla verildi. MR1 grubuna ise MOYE, yarı yarıya saf su ile seyreltilerek aynı uygulama gerçekleştirildi.

Sıçanlara verilmek üzere hazırlanan MOYE'nin toplam fenol ve toplam flavonoid ile bu bileşenlerin içeriği analiz edilmek üzere TÜBİTAK MAM'a gönderildi. Analiz Agilent 6460 Jetstream LC-MSMS cihazıyla ve Agilent Eclipse Plus Phenyl Hexyl 4.6x150 mm 3.5 µm kolonu kullanılarak yapıldı.

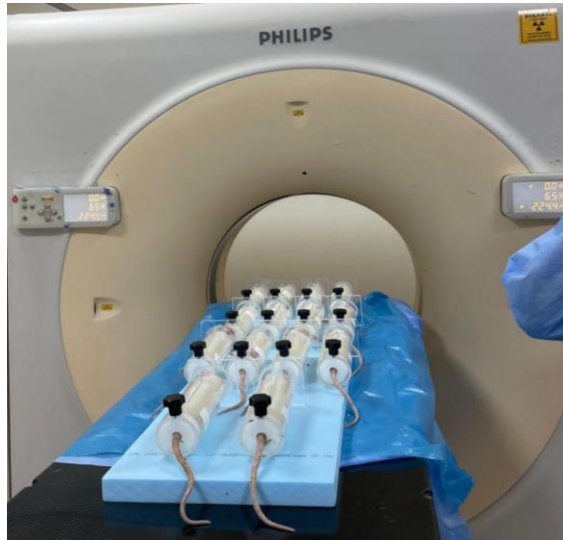
3.3 Radyoterapi:

Deneyin 11. günü, sıçanlar radyoterapi ışını verilmek üzere hazırlandı. Gaziantep Üniversitesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'ndaki yüksek enerjili hızlandırıcı cihaz (Tomoterapi) kullanılarak, 6 MV x-ışını ile tüm vücuda tek bir fraksiyonda 6 Gy radyasyon dozu uygulandı. Radyasyon verilmeden önce, bir sıçanın hacmini simüle etmek amacıyla uygun şekilde kalın bolus malzemesine sarılmış kalibre edilmiş bir iyon odası kullanıldı. Bu, düzgün bir doz dağılımını doğrulamak için önemliydi.

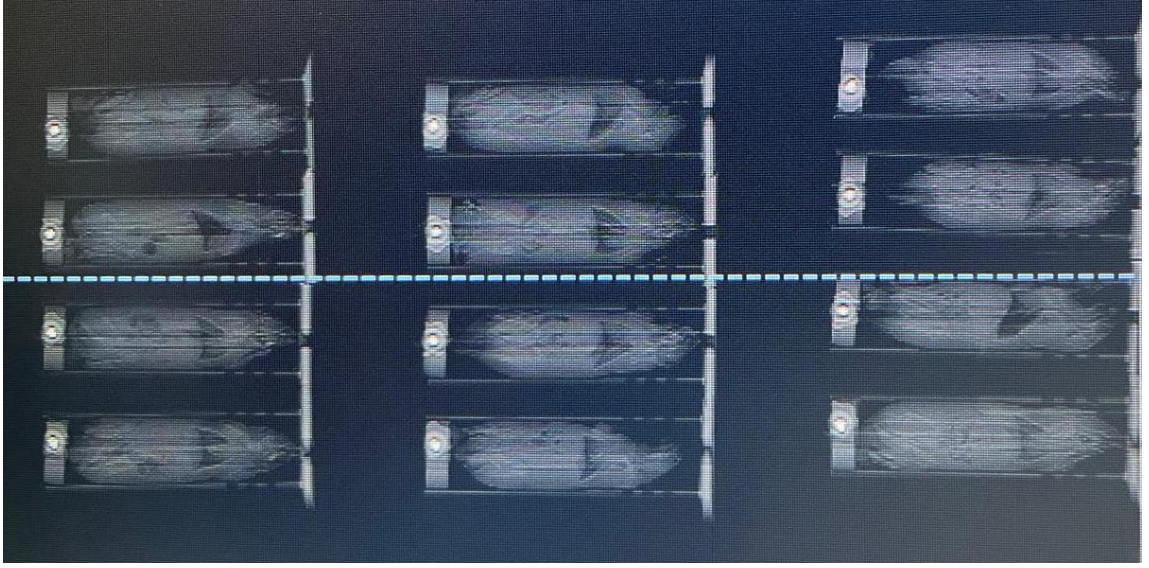


Resim 4. Sıçanların tomoterapi cihazına yerleştirilmesi öncesi restrainerda sabitlenmesi.

Sıçanlar, suya eşdeğer fantom düzeneği üzerine yerleştirildi ve zemindeki metal plakanın geri saçılımını en aza indirmek için fantomun altına 5 cm kalınlığında suya eşdeğer katı malzeme yerleştirildi. Sıçanların boyutuna ve kalınlığına göre 6 Gy'ye karşılık gelen monitör unit değeri hesaplandı. Işınlama sırasında, sıçanlar ayrı ayrı restrainer içine alınarak tüm vücut ışıması için uygun şekilde cihaza yerleştirildi. Daha sonra, lineer hızlandırıcı cihazıyla hesaplanan monitör unit değeri sıçanlara uygulandı. Radyasyon onkolojisi uzmanı tarafından sham, M1 ve M2 grupları dışındaki tüm sıçanlara (MR1, MR2, R) bu uygulama gerçekleştirildi.



Resim 5. Sıçanlara tomoterapi cihazı kullanılarak gerçekleştirilen tüm vücut ışıması uygulaması.



Resim 6. Işınlama esnasında tomoterapi cihazında sıçanların görünümü.

3.4 Dokuların Alınması

Sıçanlar, 10 gün gavajla beslendikten sonra ışınıldı ve ardından 10 gün daha gavajla beslenerek eksanguinasyon ile kan örnekleri alındı. Alınan kanlar, 4000 RPM’de 10 dakika santrifüjlenerek serumlarına ayrıldı ve elde edilen serumlar biyokimyasal analizler için -80 °C’de saklandı.

Sıçanların kalp ve böbrek dokuları histopatolojik ve biyokimyasal analizler için toplandı. Patolojik inceleme için doku örnekleri hemen %10'luk formaldehit çözeltisine yerleştirildi ve histomorfolojik inceleme için patoloji kliniğine gönderildi. Biyokimyasal analiz için alınan kalp ve böbrek dokuları ependorf tüplere konularak analiz zamanına kadar -80 °C’de saklandı.

3.5 Biyokimyasal Analizler

Kalp ve böbrek dokularından bir hacim doku ve 9 hacim serum fizyolojik karşılık gelecek şekilde mekanik homojenizatör cihazı kullanılarak buz içinde homojenize edildi. Daha sonra 4 °C’de 10 000 x g’de 60 dakika santrifüj edildi. Hazırlanan süpernatanttan Nrf2 (ng / g protein), Keap1 (ng / g protein), Glikojen sentaz kinaz - 3 beta (GSK-3 β) (ng / g protein), 8-hidroksi-2'-deoksiganosin (8-OHdG) (ng / g yaş doku) ve ROT (U / g yaş doku) parametreleri, ELISA yöntemi kullanılarak analiz edildi. Total antioksidan status (TAS) ve total oksidan status (TOS) ise spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Sonuçlar

sırasıyla $\mu\text{mol/ gr yaş doku}$ ve nmol/gr yaş doku olarak ifade edildi. Oksidatif stres indeksi (OSI) aşağıda gösterilen formül yardımıyla TAS ve TOS değerleri kullanılarak hesaplandı.

$$OSI = \frac{\text{TOS (nmol/g yaş doku)}}{\text{TAS (}\mu\text{mol/g yaş doku)} \times 1000} \times 100$$

ELISA yöntemi ile ölçülen parametreler, BTLAB (Jiaxing Korain Biotech, Zhejiang, Çin) ticari kitlerinin protokollerine uygun olarak renk yoğunluğu ELISA okuyucu (BioTek ELx800, ABD) ile 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Bu işlem için tüm reaktifler, standart çözelti ve örnekler oda sıcaklığına getirildi ve çalışma, oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

Her parametrenin standart konsantrasyonları, deney protokolünde belirtildiği gibi mikro plaka üzerindeki kuyucuklara 50 μL standart çözeltileri eklenerek hazırlandı. Standart seyreltme çözeltisi, kör numune olarak kabul edilerek 50 μL boş kuyucuklara ilave edildi. Örnek çözeltilerden 40 μL sırasıyla kalan boş kuyucuklara konuldu. Her bir örnek numunesinin üzerine 10 μL biyotinlenmiş antikor eklendi. Daha sonra, kör kuyucukları hariç diğer kuyucuklara 50 μL streptavidin-HRP çözeltisi eklendi.

Mikro plakalar, 37 °C’de 1 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, BioTek mikro plaka yıkayıcı kullanılarak tüm kuyucuklar 5 kez yıkandı. Bu yıkama işleminin ardından, sırasıyla A ve B solüsyonları tüm kuyucuklara ilave edildi ve mikro plakalar tekrar 37 °C’de karanlıkta 10 dakika inkübe edildi. Son olarak, durdurma çözeltisi eklenerek ELISA okuyucu (BioTek ELx800, ABD) cihazında 450 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ilgili parametrelerin birimleri cinsinden kaydedildi.

3.6 İstatistiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen verilerin analizinde SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) for Windows, sürüm 22.0 yazılımı kullanıldı. Tüm bağımsız değişkenler için öncelikle normallik dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Varyansların homojenliğini test etmek amacıyla ise Levene testi uygulandı.

Normallik varsayımını karşılayan değişkenlerde, gruplar arası farkı belirlemek için tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. Varyansların homojen olduğu

durumlarda Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi; varyans homojenliğinin sağlanmadığı durumlarda ise Welch ANOVA ile birlikte Games-Howell post-hoc testi tercih edildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis testi uygulanarak gruplar arası istatistiksel farklar tespit edildi.

Son olarak, değişkenler arasındaki doğrusal ilişkileri belirlemek amacıyla, değişkenlerin dağılım özelliklerine bağlı olarak Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.



4 BULGULAR

Bu çalışmada, sıçanların kalp ve böbrek dokularında ölçülen biyokimyasal parametrelere ilişkin veriler istatistiksel olarak değerlendirildi; gruplar arasında anlamlı farklılıkların olup olmadığı normal dağılım ve varyans homojenliği testleri sonrasında uygun parametrik veya nonparametrik yöntemler ile analiz edildi. Kalp ve böbrek dokularına ait bulgular, her biri kendi içerisinde bağımsız olarak incelendi ve elde edilen sonuçlar aşağıda sistematik biçimde sunuldu.

Tablo 2. Kalp dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelerin gruplara göre ortalama ve standart sapma değerleri ile sıra ortalama değerleri.

	MR1	MR2	M1	M2	R	S
<i>Nrf2</i> (ng/g protein)	3.54 ±0.49	3.62 ±0.73	3.20 ±0.41	3.49 ±0.65	1.58 ±0.36	2.95 ±0.66
<i>Keap1</i> (ng/g protein)	0.19 ±0.04	0.18 ±0.01	0.17 ±0.02	0.15 ±0.02	0.22 ±0.02	0.13 ±0.01
<i>GSK-3β</i> (ng/g protein)	2.87 ±0.66	2.97 ±0.32	2.75 ±0.45	2.60 ±0.52	3.75 ±0.64	2.45 ±0.46
<i>8-OHdG</i> (ng/g yaşdoku)	144.30 ±19.73	143.68 ±11.01	148.44 ±15.32	145.23 ±20.85	164.97 ±6.56	106.82 ±9.98
<i>ROT</i> (U/g yaşdoku)	4796.50 ±567.65	4738.40 ±649.37	4415.13 ±568.47	4039.17 ±737.55	6152.50 ±1435.88	3989.71 ±118.03
<i>TAS</i> (μmol/g yaşdoku)	15.84 ±0.94	15.80 ±1.45	15.87 ±1.24	16.28 ±1.57	13.01 ±1.17	15.51 ±2.15
<i>TOS</i> (nmol/g yaşdoku)	183.59 ±12.25	202.97 ±42.49	191.47 ±25.81	162.91 ±45.34	198.83 ±19.94	148.62 ±32.16
<i>OSI</i>	1.16 ±0.11	1.31 ±0.35	1.21 ±0.19	1.00 ±0.28	1.54 ±0.22	0.98 ±0.27

Tablo 3. Böbrek dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelerin gruplara göre ortalama ve standart sapma değerleri ile sıra ortalama değerleri.

	MR1	MR2	M1	M2	R	S
<i>Nrf2</i> (ng/g protein)	648.70 ±139.34	650.42 ±74.98	462.78 ±47.64	572.96 ±95.52	609.08 ±125.53	508.69 ±65.34
<i>Keap1</i> (ng/g protein)	45.60 ±13.86	47.60 ±18.82	40.17 ±5.73	45.28 ±4.63	56.54 ±8.30	42.45 ±4.89
<i>GSK-3β</i> (ng/g protein)	1079.65 ±132.97	1034.12 ±121.34	808.48 ±74.84	832.70 ±141.86	1115.06 ±89.97	822.11 ±72.23
<i>8-OHdG</i> (ng/g yaşıdoku)	129.24 ±25.12	133.67 ±22.58	142.81 ±28.19	139.06 ±17.32	223.86 ±33.05	121.19 ±20.43
<i>ROT</i> (U/g yaşıdoku)	4374.12 ±742.52	4019.93 ±589.21	3774.43 ±577.22	3815.53 ±590.60	6824.48 ±794.28	4214.92 ±361.18
<i>TAS</i> (μmol/g yaşıdoku)	29.10 ±4.48	28.29 ±3.12	32.92 ±0.44	40.26 ±1.40	24.86 ±3.90	30.52 ±3.35
<i>TOS</i> (nmol/g yaşıdoku)	163.58 ±18.86	167.83 ±18.17	158.83 ±12.18	174.88 ±11.03	190.19 ±8.03	157.98 ±16.16
<i>OSI</i>	0.58 ±0.13	0.60 ±0.07	0.48 ±0.04	0.44 ±0.04	0.79 ±0.16	0.52 ±0.07

4.1 Kalp Dokusu

Normallik varsayımını değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi (n = 45) uygulandı. ROT, TOS ve 8-OHdG düzeyleri normal dağılımdan anlamlı sapma gösterdiğinden bu değişkenler için parametrik olmayan yöntemler kullanıldı. Nrf2, Keap1, GSK-3β, TAS ve OSI normal dağılım gösterdiği için (p > .05) parametrik testler tercih edildi.

Tablo 4. Kalp dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelere uygulanan Shapiro-Wilk normal dağılım testi.

	Shapiro-Wilk W	p	Normal Dağılım
Nrf2	.953	.064	Evet
Keap1	.957	.096	Evet
GSK-3β	.950	.051*	Evet
8-OHdG	.940	.022	Hayır
ROT	.846	<.001	Hayır
TAS	.991	.982	Evet
TOS	.947	.038	Hayır
OSI	.966	.200	Evet

*p = .051, normallik sınır değeri ($\alpha = .05$) ile çok yakın olduğu için dikkatli yorumlanmalıdır. p < .05 olan değişkenler normal dağılımdan anlamlı sapma göstermiştir.

Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1 düzeylerinde varyans homojenliği ihlal edildiği için (Levene $p = .029$) Welch ANOVA sonuçları rapor edildi (Welch $F(5, 17.75) = 30.93$, $p < .001$). Diğer değişkenlerde (Nrf2, GSK-3 β , TAS, OSI) varsayımlar sağlandığından klasik ANOVA kullanıldı. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi $\alpha = .05$ olarak belirlendi.

Tablo 5. Kalp dokusunda normal dağılım gösteren değişkenlerin Levene ve ANOVA testleri.

	Levene Testi (p)	Normallik (Shapiro-Wilk p)	ANOVA F(df1, df2)	p
Nrf2	.626	.064	14.64 (5, 39)	< .001
Keap1	.029	.096	14.09 (5, 39)	< .001*
GSK-3β	.794	.051	5.82 (5, 39)	.011*
TAS	.294	.982	5.27 (5, 39)	< .001
OSI	.304	.200	5.44 (5, 39)	< .001

* Welch testi raporlanmıştır.

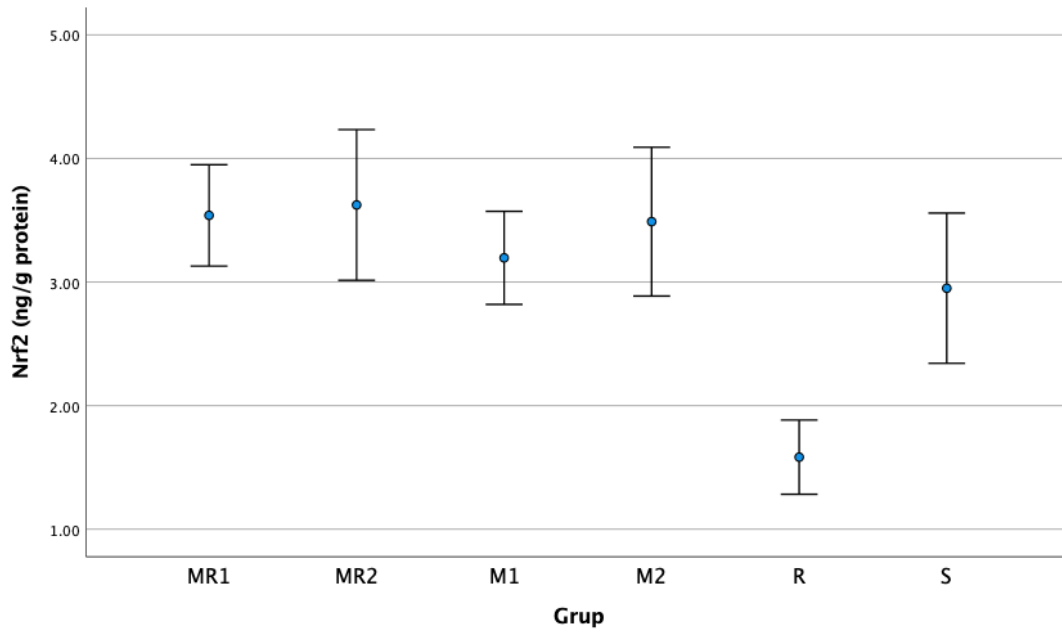
4.1.1 Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2

Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($F(5, 39) = 14.64$, $p < .001$). Tukey HSD testine göre, R grubu diğer tüm gruplardan anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi ($p < .01$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı (tüm $p > .05$).

Tablo 6. Kalp dokusunda Nrf2 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	3.54	0.49	5-39	14.64	<0.01	0.65	MR1-R*
MR2	8	3.62	0.73					MR2-R*
M1	7	3.20	0.41					M1-R*
M2	7	3.49	0.65					M2-R*
R	8	1.58	0.36					S-R*
S	7	2.95	0.66					

*p<0.05



Şekil 5. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Nrf2 düzeyleri.

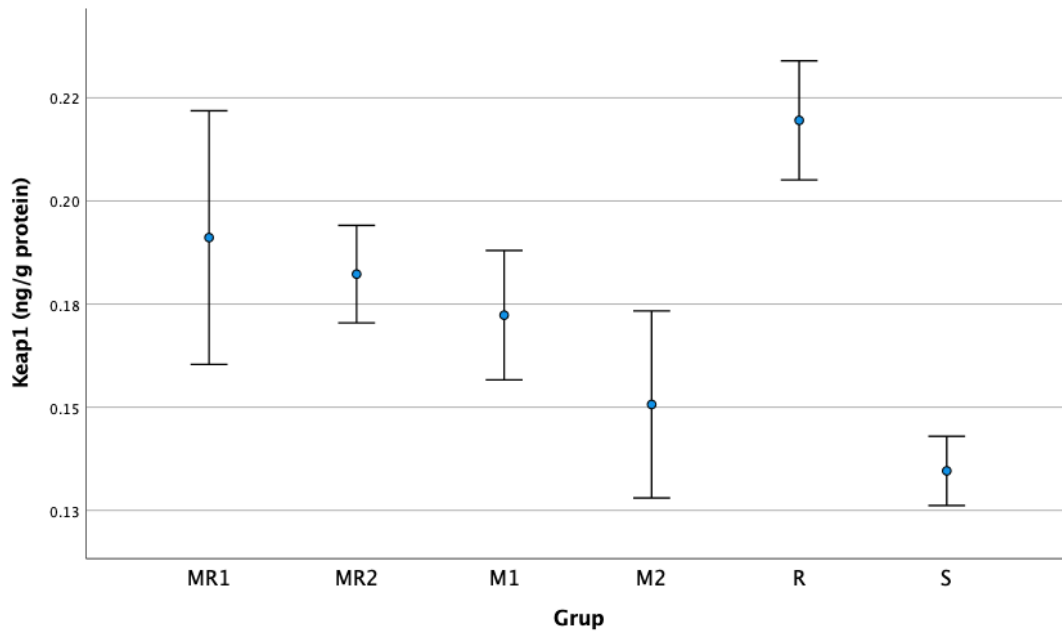
4.1.2 Kelch Benzeri ECH ile İlişkili Protein 1

Gruplar arasında Keap1 değişkeninin istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi ($F(5, 39) = 14.09$, $p < .001$). Varyans homojenliği ihlal edildiği için (Levene $p = .029$) Games-Howell post-hoc testi uygulandı ve Welch testi raporlandı. Yapılan analizlerde, R grubunun MR2, M1, M2 ve S gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu, S grubunun ise MR1, MR2 ve M1 gruplarından anlamlı derecede düşük olduğu rapor edildi (tüm $p < .05$).

Tablo 7. Kalp dokusunda Keap1 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	0.19	0.04	5-39	14.09	<0.01	0.64	MR1-S*
MR2	8	0.18	0.01					MR2-R*
M1	7	0.17	0.02					M1-R*
M2	7	0.15	0.02					M1-S*
R	8	0.22	0.02					M2-R*
S	7	0.13	0.01					S-R*

*p<0.05



Şekil 6. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Keap1 düzeyleri.

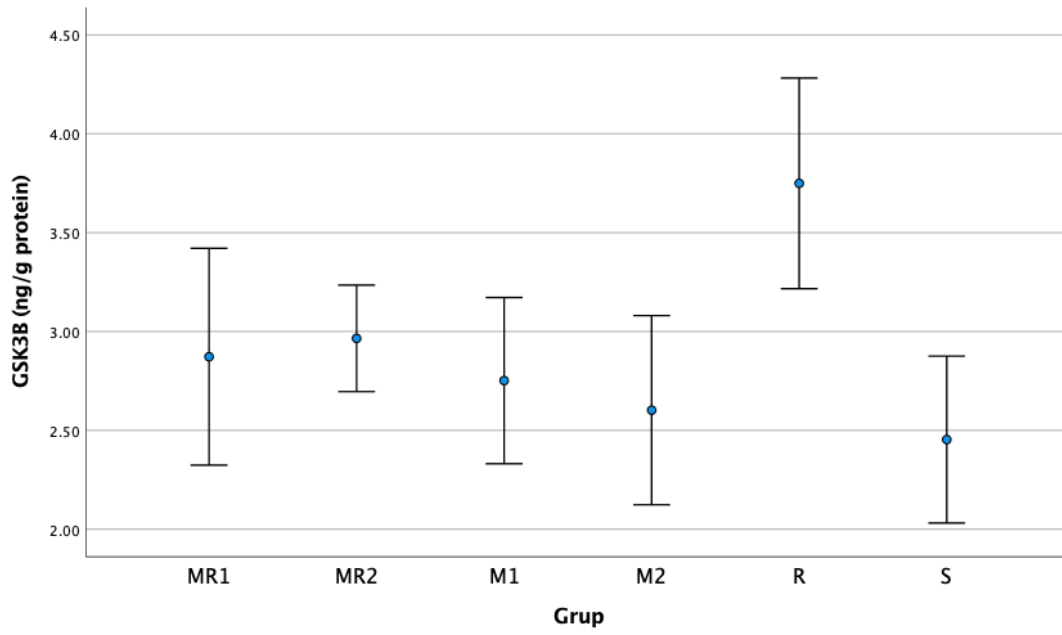
4.1.3 Glikojen Sentaz Kinaz - 3 Beta

Glikojen sentaz kinaz -3 β düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($F(5, 39) = 5.82$, $p < .001$). Varyans homojenliği sağlandığı için (Levene $p = .794$) Tukey HSD post-hoc testi uygulandı. Analizlerde, R grubunun MR1, M1, M2 ve S gruplarından anlamlı derecede yüksek olduğu ($p < .05$), MR2 grubunun ise R grubundan sınırdan anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p = .05$).

Tablo 8. Kalp dokusunda GSK-3 β düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	2.87	0.66	5-39	5.82	<0.01	0.43	MR1-R*
MR2	8	2.97	0.32					MR2-R*
M1	7	2.75	0.45					MR3-R*
M2	7	2.60	0.52					M1-R*
R	8	3.75	0.64					M2-R*
S	7	2.45	0.46					

*p<0.05



Şekil 7. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların GSK-3 β düzeyleri.

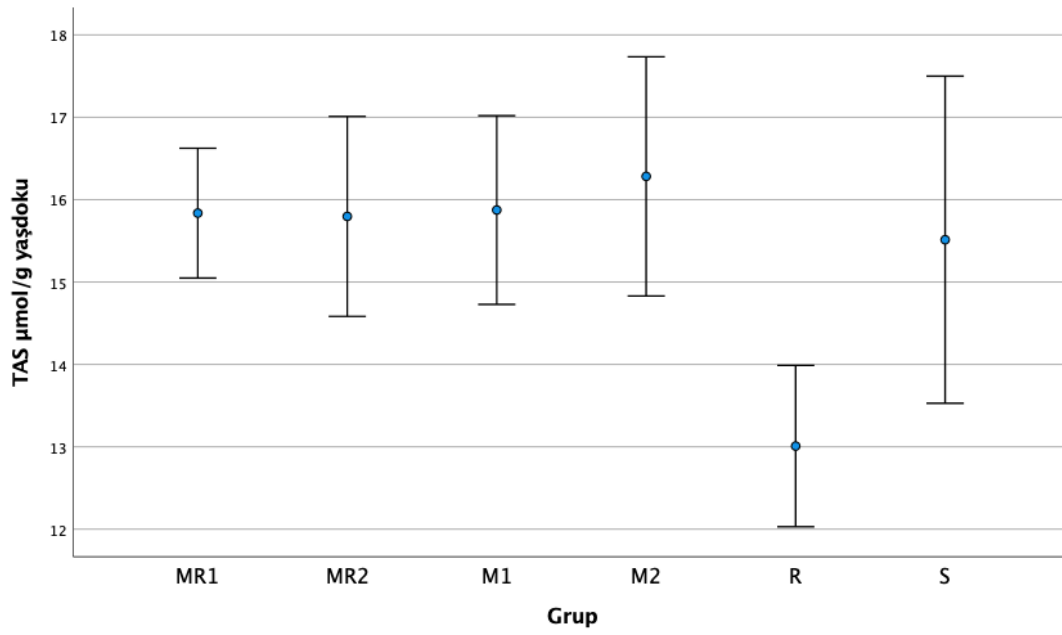
4.1.4 Total Antioksidan Status

Total antioksidan seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlendi ($F(5, 39) = 5.27$, $p < .001$). Varyans homojenliği sağlandığı için (Levene $p = .294$) Tukey HSD post-hoc testi uygulandı. Analizlerde, R grubunun diğer tüm gruplardan anlamlı derecede düşük olduğu saptandı ($p < .05$).

Tablo 9. Kalp dokusunda TAS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	15.84	0.94	5-39	5.27	<0.01	0.40	MR1-R*
MR2	8	15.80	1.45					MR2-R*
M1	7	15.87	1.24					M1-R*
M2	7	16.28	1.57					M2-R*
R	8	13.01	1.17					S-R*
S	7	15.51	2.15					

*p<0.05



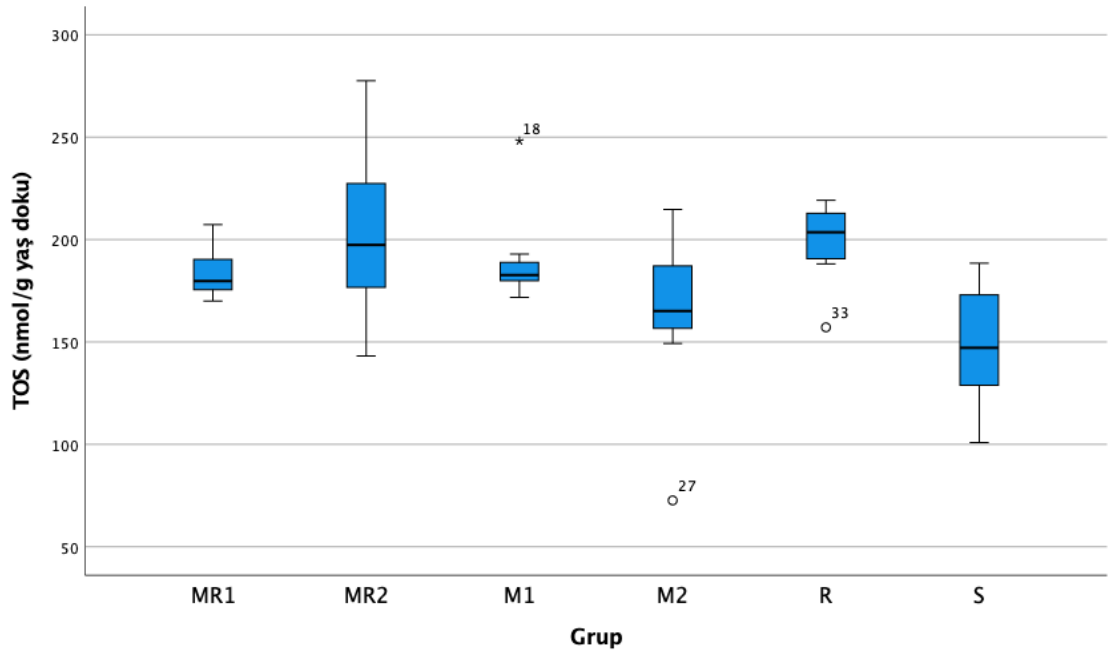
Şekil 8. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TAS düzeyleri.

4.1.5 Total Oksidan Status

Total oksidan seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği saptandı ($H(5) = 13.49, p < .001$). Kruskal-Wallis testine göre bu farkın R ve S grupları arasında olduğu görüldü ($p < .05$).

Tablo 10. Kalp dokusunda TOS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Sıra ortalaması	X ²	p	Anlamlı farklılık
MR1	8	22.13	13.49	<.001	S-R (p = .023)
MR2	8	29.25			
M1	7	24.71			
M2	7	17.14			
R	8	32.13			
S	7	10.57			



Şekil 9. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TOS düzeyleri.

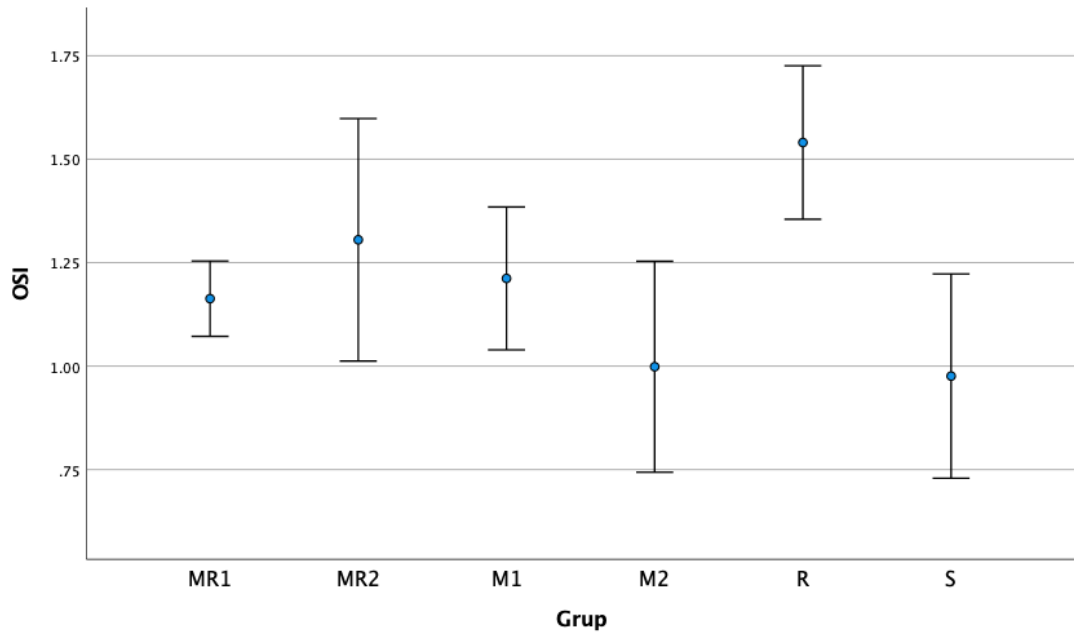
4.1.6 Oksidatif Stres İndeksi

Oksidatif stres indeksi üzerine yapılan analizde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($F(5, 39) = 5.44, p < .001$). Varyans homojenliği sağlandığı için (Levene $p = .304$) Tukey HSD post-hoc testi uygulandı. Analiz sonucunda, R grubunun MR1, M2 ve S gruplarından anlamlı derecede yüksek ($p < .05$), M2 grubunun ise R grubundan anlamlı derecede düşük olduğu ($p < .01$) belirlendi.

Tablo 11. Kalp dokusunda OSI düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	1.16	0.11	5-39	5.44	<0.01	0.41	MR1-R*
MR2	8	1.31	0.35					M2-R*
M1	7	1.21	0.19					S-R*
M2	7	1.00	0.28					
R	8	1.54	0.22					
S	7	0.98	0.27					

*p<0.05



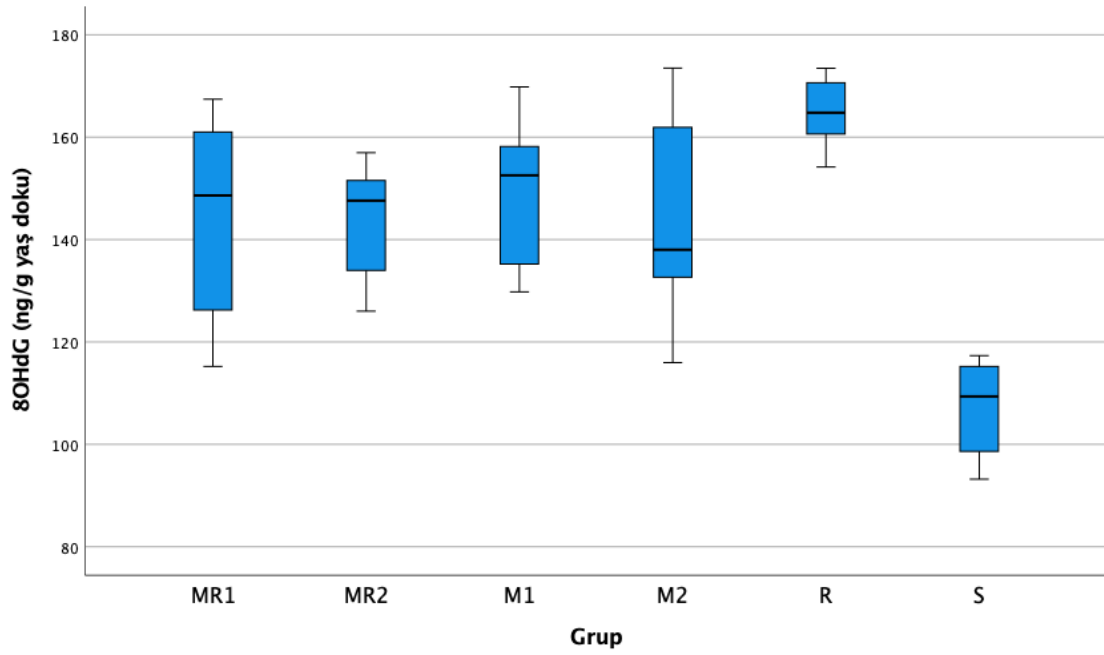
Şekil 10. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların OSI düzeyleri.

4.1.7 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin

Grupların 8-OHdG düzeyleri arasında anlamlı farklılık gözlemlendi (Kruskal-Wallis $H(5) = 23.89$, $p < .001$). Bonferroni düzeltmeli post-hoc analizler, S grubunun R grubundan anlamlı derecede düşük olduğunu ortaya koydu ($p < .01$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo 12. Kalp dokusunda 8-OHdG düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Sıra ortalaması	X ²	p	Anlamlı farklılık
MR1	8	23.25	23.89	<0.01	S-R (p < .001)
MR2	8	21.00			
M1	7	25.14			
M2	7	24.86			
R	8	37.38			
S	7	4.57			



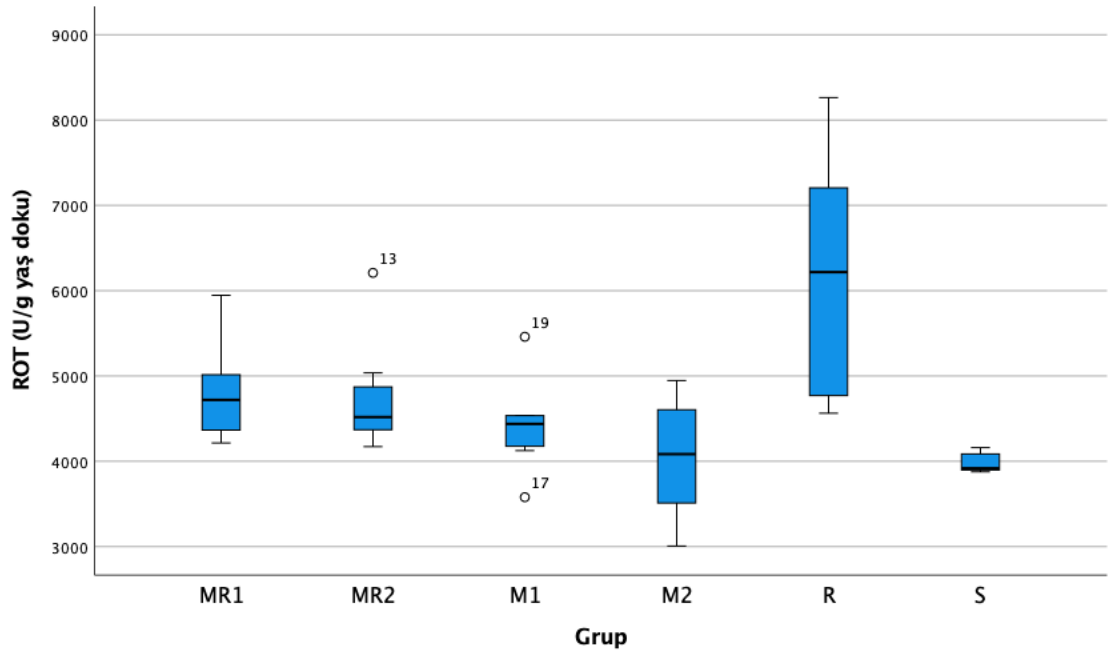
Şekil 11. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların 8-OHdG düzeyleri.

4.1.8 Reaktif Oksijen Türleri

Gruplar arasında ROT düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($H(5) = 22.67$, $p < .001$). R grubunun: S ($p < .01$) ve M2 ($p < .05$) gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek ROT düzeylerine sahip olduğu tespit edildi. Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Tablo 13. Kalp dokusunda ROT düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Sıra ortalaması	X ²	p	Anlamlı farklılık
MR1	8	27.44	22.67	<0.01	S-R (p = .000)
MR2	8	26.06			M2-R (p = .015)
M1	7	20.00			
M2	7	15.29			
R	8	37.63			
S	7	8.43			



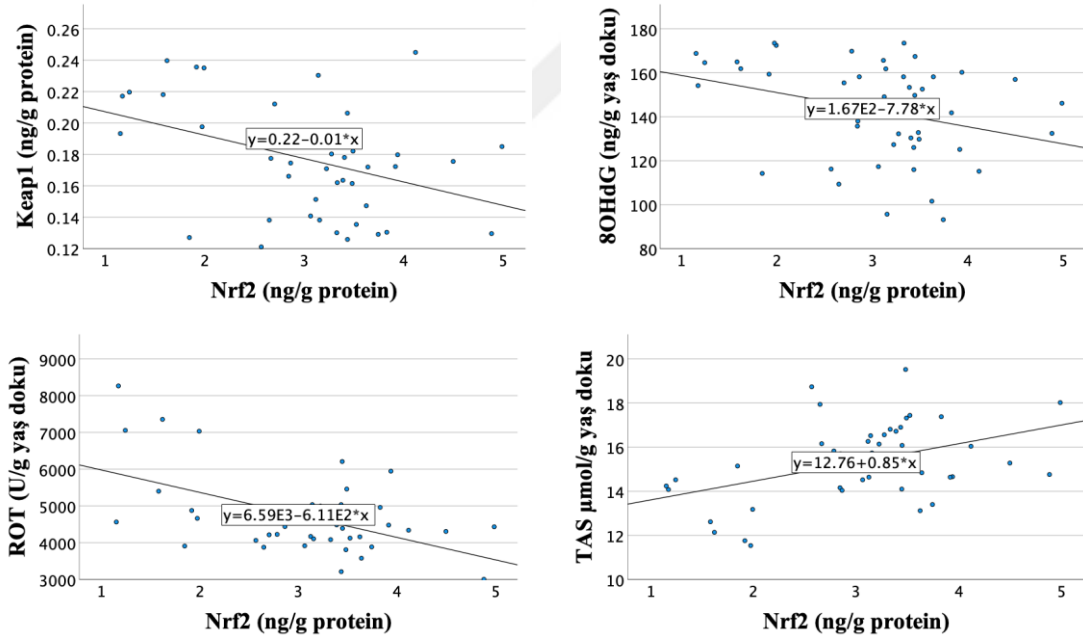
Şekil 12. Kalp dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların ROT düzeyleri.

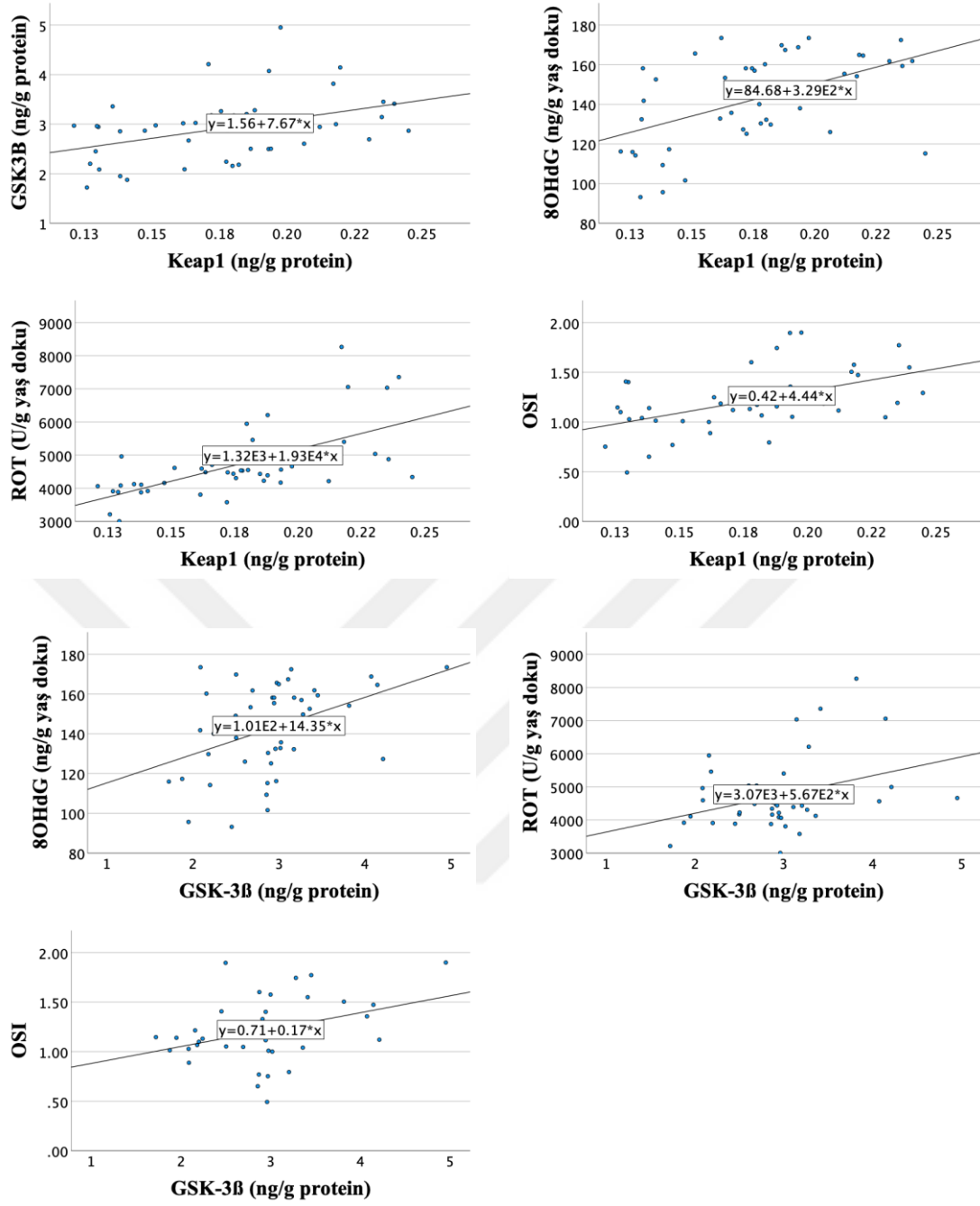
4.1.9 Korelasyon Analizi

Değişkenlerden en az biri normal dağılım göstermediğinden bağımsız değişkenler arasındaki ilişki düzeyini ölçmek için Spearman rank korelasyon analizi uygulandı. Nrf2 ile TAS, Keap1 ile GSK-3 β , 8-OHdG, ROT, TOS ve OSI, ayrıca GSK-3 β ile 8-OHdG, ROT ve OSI arasında pozitif yönde; Nrf2 ile Keap1, 8-OHdG ve ROT, ayrıca Keap1 ile TAS arasında ise negatif yönde anlamlı ilişkiler tespit edildi.

Tablo 14. Kalp dokusunda araştırılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi

		Keap1	GSK-3β	8-OHdG	ROT	TAS	TOS	OSI
Nrf2	r	-.337	-.251	-.330	-.322	.351	-.100	-.269
	p	.023	.097	.027	.031	.018	.512	.074
Keap1	r	—	.399	.507	.680	-.340	.422	.529
	p		.007	< .001	< .001	.022	.004	< .001
GSK-3β	r		—	.420	.300	-.288	.279	.320
	p			.004	.045	.055	.064	.032
8-OHdG	r			—	.466	-.245	.186	.331
	p				.001	.104	.221	.026
ROT	r				—	-.234	.285	.376
	p					.122	.058	.011
TAS	r					—	-.218	-.637
	p						.150	< .001
TOS	r						—	.828
	p							< .001

**Şekil 13a.** Kalp dokusunda analizleri yapılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi.



Şekil 13b. Kalp dokusunda analizleri yapılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi (devamı).

4.2 Böbrek Dokusu

Normal dağılım varsayımı, örneklem sayısı az olduğundan Shapiro–Wilk testi ile değerlendirildi. Analiz sonuçlarına göre; Nrf2 ($p = .098$), Keap1 ($p = .098$), GSK-3 β ($p = .738$), TAS ($p = .106$) ve TOS ($p = .135$) parametrelerinin normal dağılıma uyduğu ($p > .05$), buna karşın 8-OHdG, ROT ve OSI değişkenlerinin normal dağılımdan anlamlı düzeyde sapma gösterdiği tespit edildi ($p < .05$).

Tablo 15. Böbrek dokusunda analizi yapılan biyokimyasal parametrelere uygulanan Shapiro-Wilk normal dağılım testi.

	Shapiro-Wilk W	p	Normal Dağılım
Nrf2	.958	.098	Evet
Keap1	.957	.098	Evet
GSK-3 β	.983	.738	Evet
8-OHdG	.872	< .001	Hayır
ROT	.877	< .001	Hayır
TAS	.958	.106	Evet
TOS	.961	.135	Evet
OSI	.854	< .001	Hayır

Levene testi sonuçlarına göre Nrf2, GSK-3 β , TAS ve TOS değişkenleri için varyans homojenliği varsayımı sağlanırken (Levene $p > .05$), Keap1 için homojenlik varsayımı sağlanmadığı rapor edildi (Levene $p < .05$).

Tablo 16. Böbrek dokusunda normal dağılım gösteren değişkenlerin Levene ve ANOVA testleri.

	Levene Testi (p)	Normallik (Shapiro-Wilk p)	ANOVA F(df1, df2)	p
Nrf2	.073	.098	4.45 (5, 39)	.003
Keap1	<.001	.098	2.01 (5, 39)	.014*
GSK-3 β	.678	.738	12.59 (5, 39)	<.001*
TAS	.092	.106	20.02 (5, 39)	< .001
TOS	.119	.135	5.23 (5, 39)	< .001

* Welch testi raporlanmıştır.

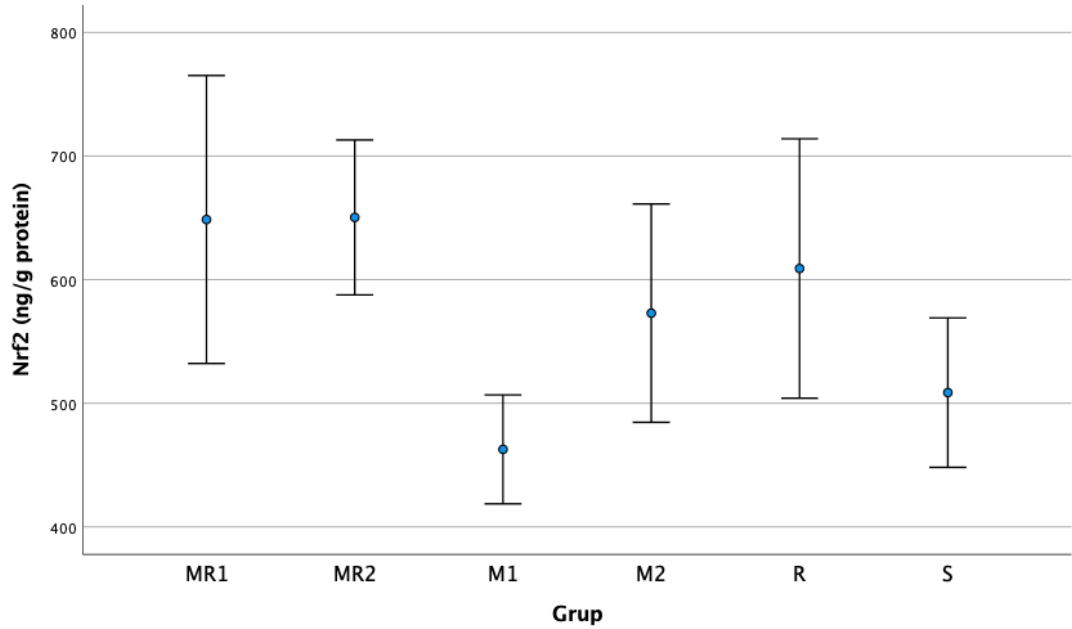
4.2.1 Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2

ANOVA sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($F(5,39) = 4.45$, $p = .003$, $\eta^2 = 0.36$). Tukey HSD testi sonucu M1 grubu ile MR1 ve MR2 grupları arasında Nrf2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunurken ($p < .01$), diğer tüm karşılaştırmaların anlamlılık düzeyini karşılamadığı tespit edildi ($p > .05$).

Tablo 17. Böbrek dokusunda Nrf2 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	648.70	139.34	5-39	4.45	.003	0.36	MR1-M1*
MR2	8	650.42	74.98					MR2-M1*
M1	7	462.78	47.64					
M2	7	572.96	95.52					
R	8	609.08	125.53					
S	7	508.69	65.34					

* $p < 0.01$



Şekil 14. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Nrf2 düzeyleri.

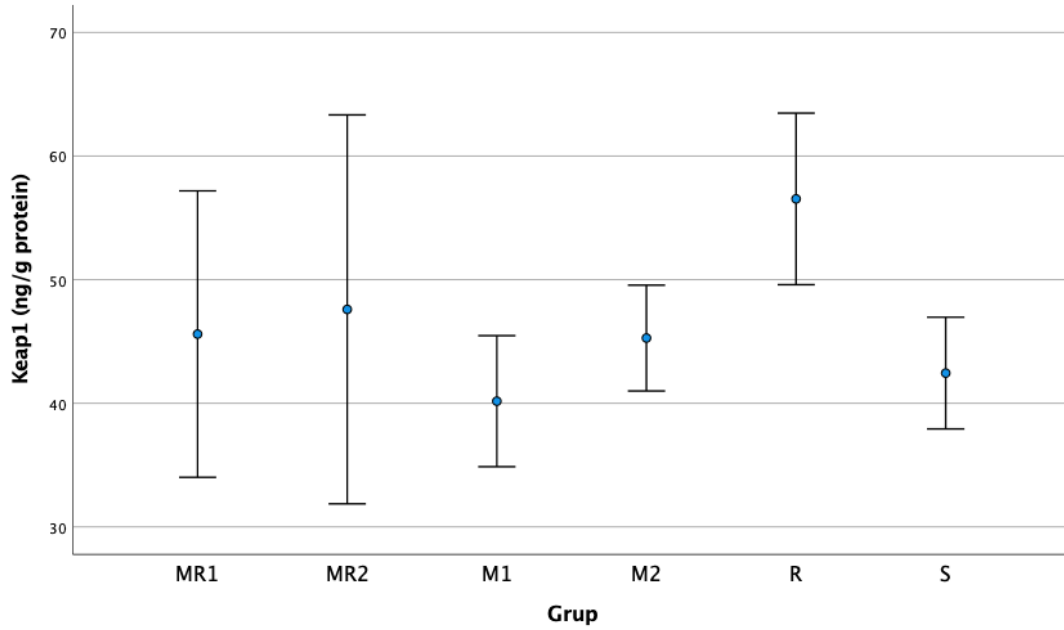
4.2.2 Kelch Benzeri ECH ile İlişkili Protein 1

Varyanslar homojen dağılım göstermediğinden uygulanan Welch testi sonucu gruplar arasında anlamlılık olduğu raporlandı ($F(5,18.10) = 3.92$, $p = .014$). Buna göre yapılan Games-Howell post-hoc testine göre R grubu ile M1 ve S grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < .05$); M2 grubu arasında ise sınırda anlamlı farklar olduğu tespit edildi ($p = .059$). Diğer tüm karşılaştırmaların anlamlılık düzeyini karşılamadığı görüldü ($p > .05$).

Tablo 18. Böbrek dokusunda Keap1 düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	45.60	13.86	5-39	2.006	.014†	0.20	M1-R*
MR2	8	47.60	18.82					S-R*
M1	7	40.17	5.73					
M2	7	45.28	4.63					
R	8	56.54	8.30					
S	7	42.45	4.89					

* $p < 0.05$



Şekil 15. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların Keap1 düzeyleri.

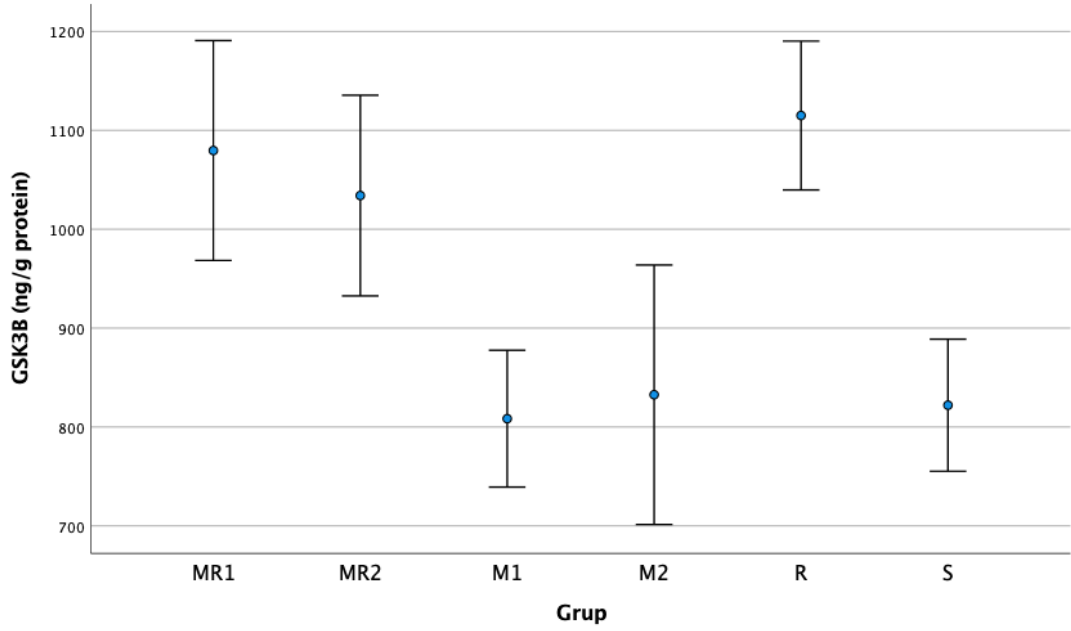
4.2.3 Glikojen Sentaz Kinaz – 3 Beta

ANOVA analizi sonuçlarına göre gruplar arasında GSK-3 β değişkeni açısından yüksek düzeyde anlamlı fark saptandı ($F(5,39) = 12.60$, $p < .001$, $\eta^2 = 0.62$). Farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; MR1 grubu ile M1, M2 ve S grupları arasında; MR2 grubu ile M1, M2 ve S grupları arasında; R grubu ile M1, M2 ve S grupları arasında anlamlı farklar olduğu rapor edildi ($p < .01$).

Tablo 19. Böbrek dokusunda GSK-3 β düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	1079.65	132.97	5-39	12.60	<.001	0.62	MR1-M1*
MR2	8	1034.12	121.34					MR1-M2*
M1	7	808.48	74.84					MR1-S*
M2	7	832.70	141.86					MR2-M1*
R	8	1115.06	89.97					MR2-M2*
S	7	822.11	72.23					MR2-S*
								M1-R*
								M2-R*
								R-S*

* $p < 0.05$



Şekil 16. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların GSK-3 β düzeyleri.

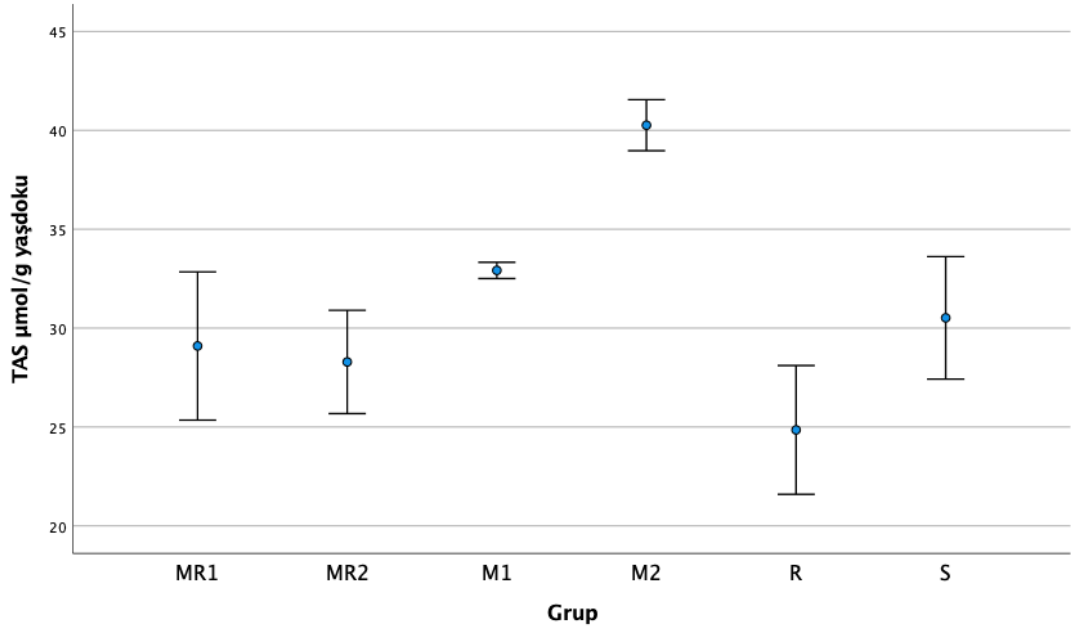
4.2.4 Total Antioksidan Seviyeleri

Tek yönlü ANOVA sonuçları TAS grupları arasında anlamlı farklar olduğunu ortaya çıkardı [$F(5,39) = 20.02$, $p < .001$, $\eta^2 = 0.72$]. Tukey HSD testine göre M2 grubunun tüm gruplarla anlamlı derecede yüksek seviyelerde olduğu ($p \leq .01$), R grubunun ise en düşük değerlerde olduğu belirlendi ($M = 24.86$).

Tablo 20. Böbrek dokusunda TAS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	29.10	4.48	5-39	20.02	<.001	0.72	MR1-M2*
MR2	8	28.29	3.12					MR2-M2*
M1	7	32.92	0.44					M1-M2*
M2	7	40.26	1.40					M1-R*
R	8	24.86	3.90					M2-S*
S	7	30.52	3.35					R-S*
								M2-R*

* $p < 0.01$



Şekil 17. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TAS düzeyleri.

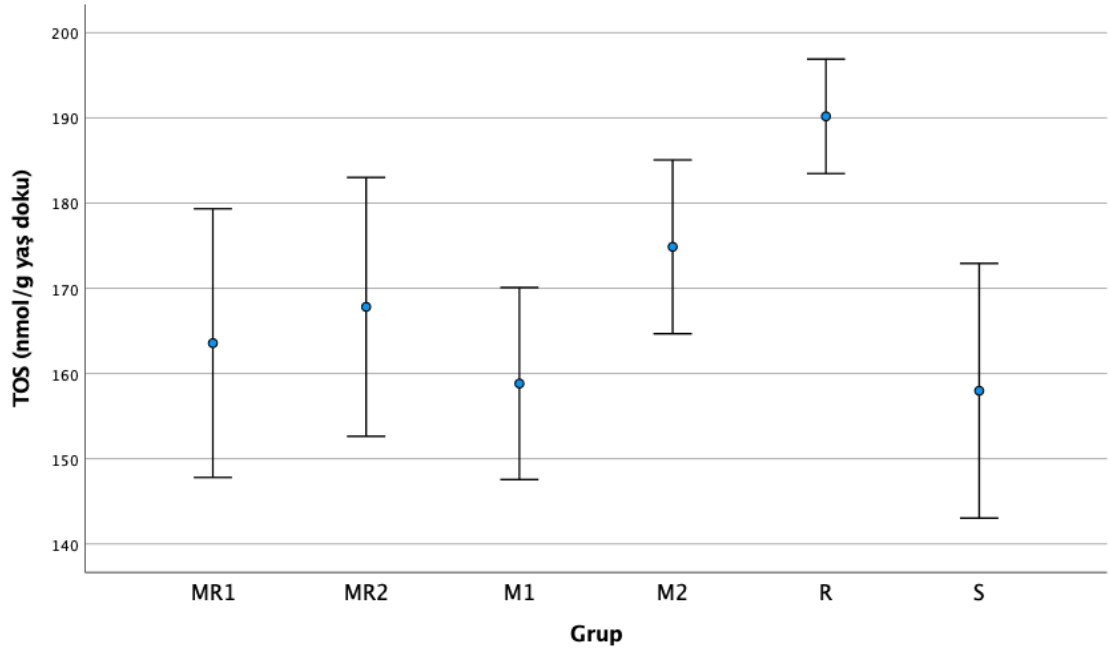
4.2.5 Total Oksidan Seviyeleri

Yapılan tek yönlü ANOVA testi sonuçları, gruplar arasında anlamlı farklar olduğunu ortaya çıkardı ($F(5,39) = 5.23$, $p < .001$, $\eta^2 = 0.43$). Tukey HSD testine göre R grubunun MR1, MR2, M1 ve S gruplarıyla anlamlı derecede yüksek TOS seviyelerine sahip olduğu tespit edildi ($p \leq .05$).

Tablo 21. Böbrek dokusunda TOS düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Ortalama	Std. Sapma	Serbestlik derecesi	F	p	η^2	Anlamlı farklılık
MR1	8	163.58	18.88	5-39	5.23	<.001	0.43	MR1-R*
MR2	8	167.83	18.17					MR2-R*
M1	7	158.83	12.18					M1-R*
M2	7	174.88	11.03					S-R*
R	8	190.19	8.03					
S	7	157.98	16.16					

* $p < 0.05$



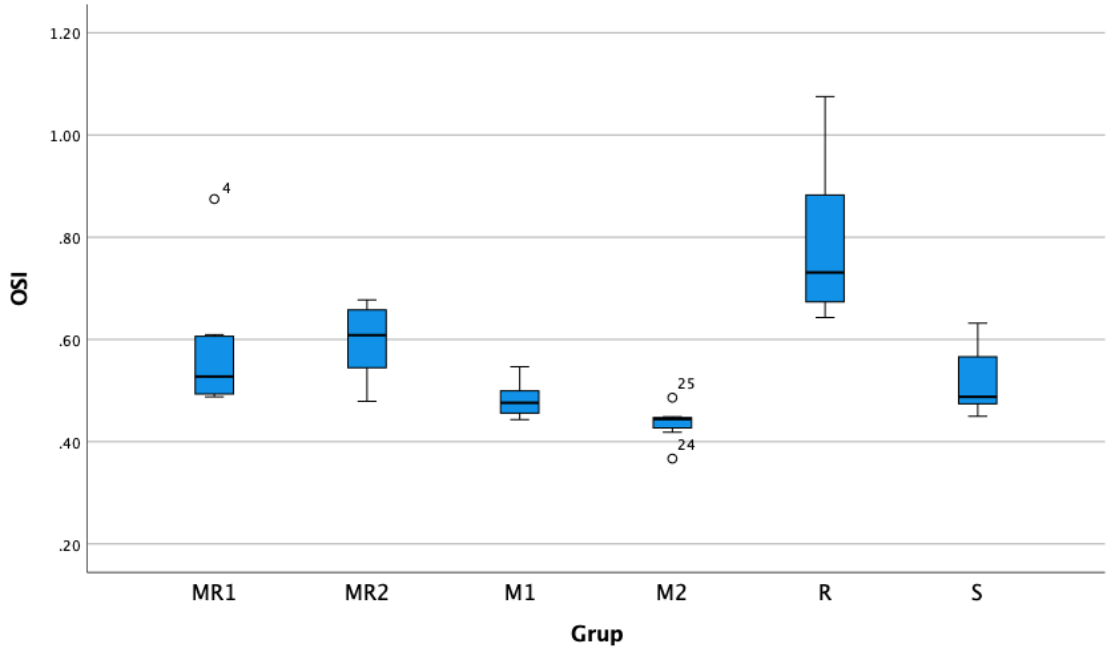
Şekil 18. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların TOS düzeyleri.

4.2.6 Oksidatif Stres İndeksi

Kruskal-Wallis testi uygulanan OSI düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($H(5) = 31.62$, $p < .001$). Bonferroni düzeltmeli ikili karşılaştırmalar, R grubunun M1, M2 ve S gruplarına göre anlamlı derecede yüksek OSI seviyelerine sahip olduğunu ($p < .05$), aynı zamanda MR2 ve M2 grupları arasında da anlamlı farklılık bulunduğunu gösterdi ($p < .01$).

Tablo 22. Böbrek dokusunda OSI düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Sıra ortalaması	X ²	p	Anlamlı farklılık
MR1	8	25.50	31.615	<.001	M2-MR2 ($p < .01$)
MR2	8	29.13			M1-R ($p < .01$)
M1	7	14.14			M2-R ($p < .01$)
M2	7	5.71			S-R ($p < .05$)
R	8	40.25			
S	7	19.57			



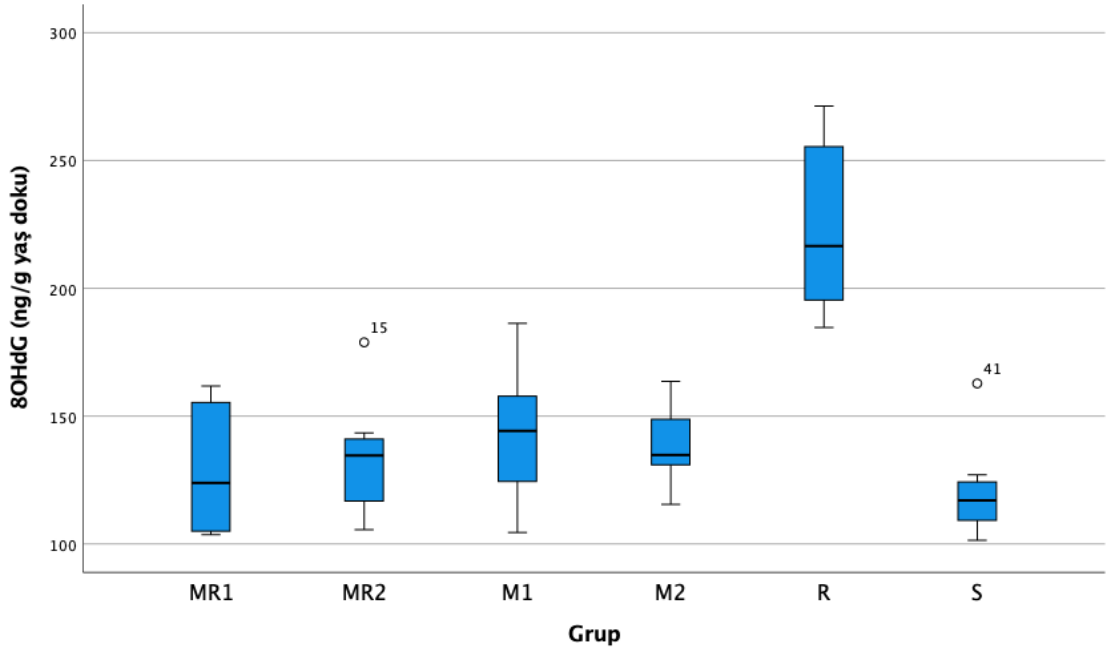
Şekil 19. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların OSI düzeyleri.

4.2.7 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin

Kruskal-Wallis testi, 8-OHdG düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gösterdi ($p < .01$). Bonferroni düzeltmeli ikili karşılaştırmalara göre, R grubunun S ($p < .001$), MR1 ($p = .003$) ve MR2 ($p = .017$) gruplarıyla anlamlı derecede yüksek 8-OHdG seviyelerine sahip olduğu saptandı. Diğer tüm karşılaştırmaların anlamlılık düzeyini karşılamadığı tespit edildi ($p > .05$).

Tablo 23. Böbrek dokusunda 8-OHdG düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

	N	Sıra ortalaması	X ²	p	Anlamlı farklılık
MR1	8	16.88	22.487	<.001	S-R ($p < .01$)
MR2	8	20.00			MR1-R ($p < .01$)
M1	7	23.43			MR2-R ($p < .05$)
M2	7	22.71			
R	8	41.38			
S	7	12.29			



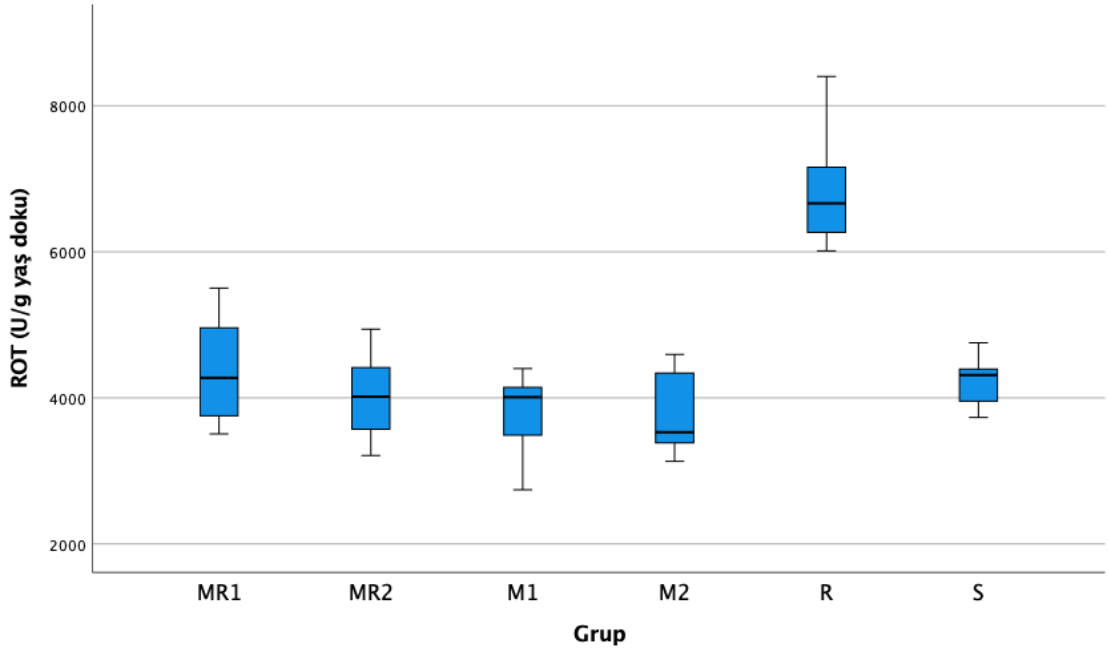
Şekil 20. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların 8-OHdG düzeyleri.

4.2.8 Reaktif Oksijen Türleri

Gruplar arasında Kruskal-Wallis testine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($H(5) = 22.58$, $p < .001$). Bonferroni düzeltmeli ikili karşılaştırmalar sonucu R grubunun M1, M2 ve MR2 gruplarına göre anlamlı derecede yüksek ROT seviyelerine sahip olduğu ($p < .01$), diğer tüm karşılaştırmaların anlamlılık düzeyini karşılamadığı görüldü ($p > .05$).

Tablo 24. Böbrek dokusunda ROT düzeyleri istatistiksel analiz sonuçları.

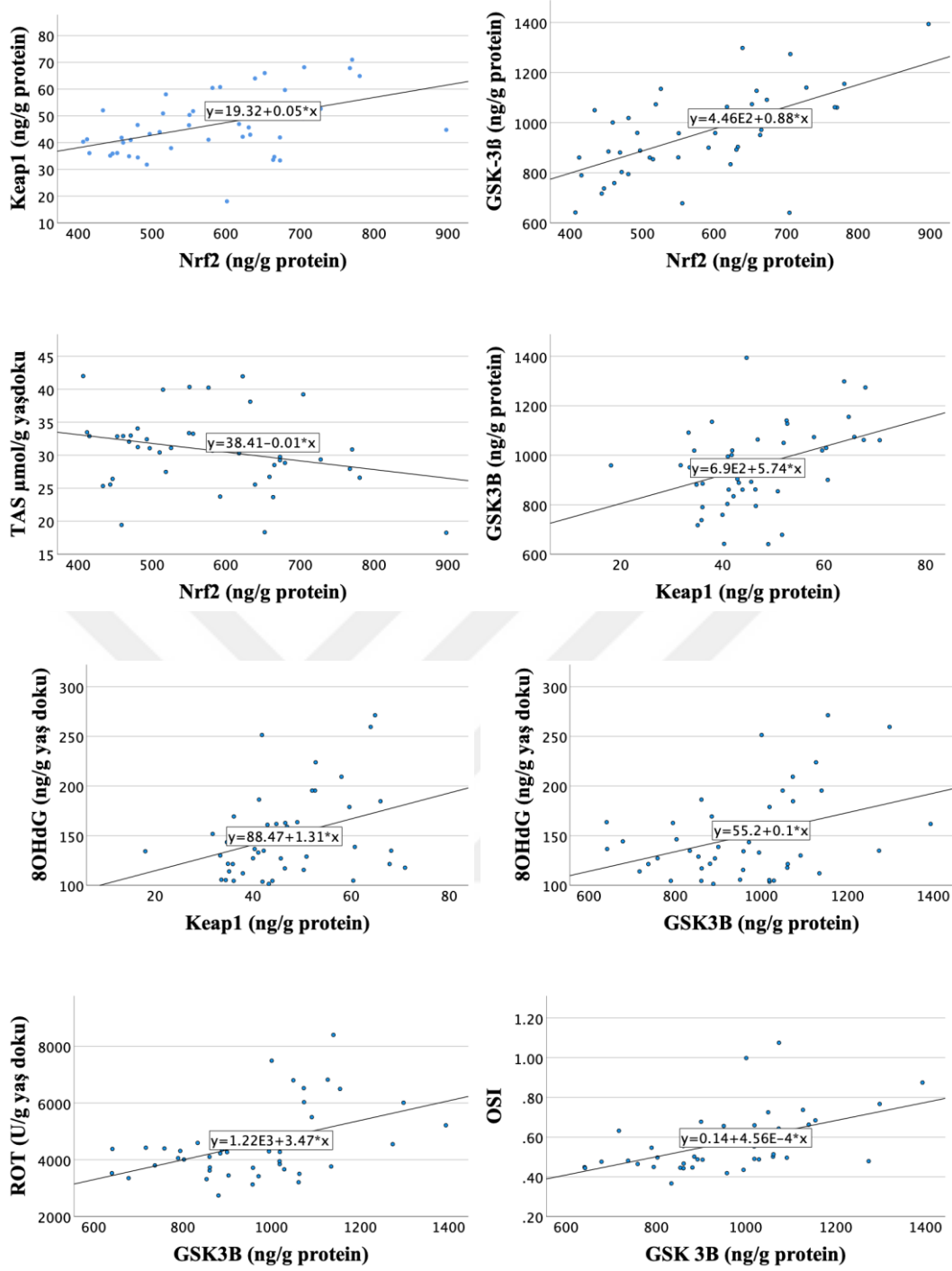
	N	Sıra ortalaması	X ²	p	Anlamlı farklılık
MR1	8	23.75	22.58	<.001	M1-R ($p < .001$)
MR2	8	18.13			M2-R ($p < .001$)
M1	7	14.57			MR2-R ($p < .001$)
M2	7	14.86			
R	8	41.50			
S	7	23.14			



Şekil 21. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile yalnızca radyasyon uygulanan grup ve radyasyonla birlikte MOYE alan grupların ROT düzeyleri.

4.2.9 Korelasyon Analizi

Değişkenlerden en az biri normal dağılım göstermediğinden bağımsız değişkenler arasındaki ilişki düzeyini ölçmek için Spearman rank korelasyon analizi uygulandı. Yapılan analiz sonucu, Nrf2 ile Keap1 ve GSK-3 β , Keap1 ile GSK-3 β ve 8-OHdG, GSK-3 β ile 8-OHdG, ROT ve OSI arasında pozitif; Nrf2 ve GSK-3 β ile TAS arasında negatif ilişkiler olduğu tespit edildi.



Şekil 22. Böbrek dokusunda analizleri yapılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi.

Tablo 25. Böbrek dokusunda araştırılan biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi

		Keap1	GSK-3β	8-OHdG	ROT	TAS	TOS	OSI
Nrf2	r	.473	.611	.150	.150	-.297	.010	.255
	p	.001	.000	.326	.326	.047	.948	.091
Keap1	r	—	.406	.342	.176	-.208	.126	.193
	p		.007	.022	.247	.170	.410	.204
GSK-3β	r		—	.305	.425	-.568	.284	.597
	p			.042	.004	.000	.058	.000
8-OHdG	r			—	.425	-.203	.476	.367
	p				.004	.181	.001	.013
ROT	r				—	-.492	.340	.567
	p					.001	.022	.000
TAS	r					—	-.143	-.865
	p						.350	.000
TOS	r						—	.546
	p							.000

4.3 Moringa Oleifera Analizi

Moringa oleifera yaprağı ekstraktı numunesinde fenolik/flavanoid bileşiklerin analizi LC-MSMS analiz sisteminde yapılmıştır ve analiz sonuçları Tablo 26’da verilmiştir.

Tablo 26. *Moringa oleifera* yaprak ekstraktı fenolik/flavonoid bileşen içeriği.

<i>Konsantrasyon</i>		<i>Konsantrasyon</i>	
<i>Bileşik adı</i>	<i>(mg/kg)</i>	<i>Bileşik adı</i>	<i>(mg/kg)</i>
Kersetin 3β D Glikozit	441.942	Gallik asit	1.997
Klorojenik asit	359.806	Salisilik asit	1.337
Kamferol	38.587	Ferrulik asit	0.873
Luteolin	38.587	Siyanin klorür	0.800
Pelargonin klorür	23.496	Pelargondin klorür	0.654
Elajik asit	14.651	Apigenin	0.470
Okzalik asit	11.372	Vanilik asit	0.439
Süksinik asit	7.509	4-Hidroksibenzoik asit	0.396
Kersetin dihidrat	3.698	Rutin	0.288
Kafeik asit	3.343	Siyanidin klorür	0.258
Gentisik asit	3.276	Sinamik asit	0.174

Sıçanlara verilen MOYE numunelerindeki toplam fenol ve toplam flavonoid analizi TÜBİTAK MAM'da yapılmış ve sonuçları Tablo 27'de verilmiştir.

Tablo 27. *Moringa oleifera* yaprak ekstraktı toplam fenolik ve toplam flavonoid analiz sonuçları (45, 46).

Bileşen	Sonuç
Toplam fenol içeriği	0.26 g GAE / 100 g
Toplam flavonoid içeriği	0.67 mg QE / 100 g

*GAE: Gallik Asit Eşdeğeri, QE: Kersetin Eşdeğeri

5 TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, total vücut ışınlamasının sıçanların kalp ve böbrek dokularında oluşturduğu oksidatif stresin biyokimyasal parametreler üzerinden değerlendirilmesi ve MOYE'nin potansiyel koruyucu etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bulgular, ışınlama sonucu sıçanlarda belirgin oksidatif hasar oluştuğunu ve MOYE uygulamasının bu hasarı anlamlı şekilde azalttığını kanıtlamaktadır.

Radyasyon, hücre içi su moleküllerinin iyonizasyonu sonucu ROT üretimini artırmakta ve bu da DNA, protein ve lipidler gibi hücresel yapılarda hasara yol açmaktadır (31). Kalp dokusunda yapılan çalışmada R grubundaki ROT, TOS ve OSI düzeylerinin anlamlı şekilde artmış olması, iyonlaştırıcı radyasyonun bu klasik etkilerini doğrulamaktadır. Ayrıca, oksidatif stres göstergesi olarak bilinen ve DNA hasar belirteci olan 8-OHdG düzeylerinin R grubunda yüksek olması, DNA hasarının radyasyon etkisiyle belirginleştiğini ifade etmektedir. Bu bulgu, radyasyonun özellikle çift sarmallı DNA kırıkları gibi ciddi moleküler hasarlara yol açtığını belirten literatürle uyum göstermektedir (8, 9, 11). Nrf2 düzeyinin R grubunda düşmesi, oksidatif hasarın doğal savunma sistemleri üzerindeki baskılayıcı etkisini işaret etmektedir. Keap1 düzeyinin ise aynı grupta artmış olması, literatürde Keap1'in Nrf2'yi inaktive ederek hücresel stres yanıtını engellediği yönündeki bilgilerle örtüşmektedir (32-35). Drishya ve arkadaşları (47), total vücut ışınlamasına maruz bırakılan fareler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında, polifenol içeriği yüksek *Amomum subulatum* bitki ekstraktının Nrf2 düzeylerini artırarak radyasyon kaynaklı bağırsak hücrelerinin apoptotik ölümünü azalttığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, Liang ve ark.(48), *Nigella sativa* tohum ekstraktının Nrf2 aracılı antioksidan savunma mekanizmasını indükleyerek oksidatif ve inflamatuvar yanıtları ile mitokondriyal apoptozu azalttığını bildirmiştir. Sinha ve arkadaşlarının (49) yürüttüğü bir diğer çalışmada ise, İsviçre albino farelere 5 Gy dozunda tek seferlik ⁶⁰Co γ -ışını uygulanmadan önce 15 gün boyunca 300 mg/kg dozunda MOYE verilmiş; bu uygulamanın enzimatik antioksidan düzeylerinde anlamlı bir artışa yol açtığı ve MOYE'nin radyasyon kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda, yürüttüğümüz çalışmada da benzer bir mekanizmanın etkin olduğu gözlemlenmiş ve radyasyona maruz bırakılan gruplarda Keap1/Nrf2 dengesinin bozulduğu ortaya konmuştur. Öte yandan, MOYE uygulanan gruplarda Nrf2 düzeylerinde anlamlı artış, Keap1 düzeylerinde ise azalma olduğu tespit

edildi. Bu durum, MO'nun antioksidan savunma mekanizmalarını indüklediğini ve muhtemelen Keap1/Nrf2 yolağını aktive ettiğini ifade etmektedir. Elde edilen sonuçlar, MO'nun fenolik bileşenlerinin (örneğin kersetin, klorojenik asit, kamferol) bu etkide rol oynadığını göstermektedir (7, 40-42). TAS düzeylerinin R grubunda anlamlı olarak düşük iken, özellikle MO gruplarında artış göstermesi MO'nun endojen antioksidan kapasiteyi artırdığını desteklemektedir. Bu etki, literatürde de bildirildiği üzere, bitkinin yüksek fenolik ve flavonoid içeriğine atfedilebilir (7).

Kalp dokusunda yapılan Spearman korelasyon analizi, bazı parametreler arasında anlamlı ilişkiler bulundu. Nrf2, Keap1 ($r = -0.337$), 8-OHdG ($r = -0.330$) ve ROT ($r = -0.322$) ile negatif yönde anlamlı ilişkili vardı. Bu durum, Nrf2 düzeyi azaldıkça oksidatif stresin ve DNA hasarının arttığına; yani düşük Nrf2'nin kalp dokusunda hasarı artırdığına işaret etmektedir. Nrf2 ile TAS arasında pozitif korelasyonun ($r = 0.351$) olması, Nrf2'nin aktifleştiği durumlarda, endojen antioksidanların transkripsiyonunun arttığını ifade etmektedir (50, 51). Keap1 ile GSK-3 β ($r = 0.399$), 8-OHdG ($r = 0.507$), ROT ($r = 0.680$), TOS ($r = 0.422$) ve OSI ($r = 0.529$) arasında pozitif ilişkili vardı. Bu durum, Keap1'in artışıyla oksidatif stresin de arttığını ve Nrf2'nin baskılandığını düşündürmektedir. GSK-3 β ile 8-OHdG ($r = 0.420$), ROT ($r = 0.300$) ve OSI ($r = 0.320$) arasında pozitif bir korelasyon ve TAS ile negatif bir korelasyonu ($r = -0.288$) olduğu tespit edildi. GSK-3 β , stres yanıtı ve apoptozla ilişkili bir kinazdır. Bu nedenle oksidatif hasarla birlikte yükselmesi beklenir. MO uygulamaları bu parametre düzeylerini anlamlı derecede azaltmıştır. TAS ile ROT ($r = -0.492$) ve OSI ($r = -0.637$) arasında negatif bir korelasyon mevcuttu. Antioksidan kapasite arttıkça, ROT düzeylerinin azaldığı ve dolayısıyla oksidatif hasarın da azaldığı anlamına gelmektedir. Bu, MO'nun antioksidan kapasiteyi artırdığı ve oksidan stresi de önlediğini göstermektedir.

Böbrek dokusunda da kalp dokusuna benzer şekilde R grubunda 8-OHdG, ROT ve OSI düzeyleri yüksek, TAS seviyesi ise anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Bu durum, böbreklerin radyasyona karşı hassas yapısını ve oksidatif stresin bu dokudaki belirgin etkisini ifade etmektedir. Literatürde de böbrek hasarının ROT ve lipid peroksidasyonu yoluyla geliştiği ve glomerüler disfonksiyonla sonuçlandığı belirtilmektedir (6, 25). Nrf2 seviyelerinin radyasyon alan gruplarda diğerlerine göre yüksek düzeylerde olduğu görülmektedir. Radyasyonla birlikte MO alan gruplarda ise bu düzey daha belirgin olarak artış göstermektedir. Bu bulgular, MO'nun uygulanan doza bağlı olarak antioksidan

kapasiteyi artırdığını (Şekil 17), oksidatif stres göstergelerini azalttığını (Şekil 18–21) ve radyasyonun neden olduğu hücrel stresle birlikte Nrf2 ekspresyonunu artırarak ilave bir savunma yanıtı oluşturduğunu ortaya koymaktadır. M1 ve M2 gruplarında Nrf2 düzeylerinin göreceli düşük bulunması, MO'nun antioksidan savunma sistemini endojen olarak aktive etmeye ihtiyaç duymaksızın oksidatif stresle mücadele edebildiğini ve bu sayede Nrf2 yollarını ikincil bir koruyucu mekanizma olarak devreye sokmadığını düşündürmektedir. Mohan ve Gupta'nın radyasyon alan fareler üzerine yaptığı araştırmaya göre böbrek epitel hücrelerinde *Inula racemosa* bitkisinin Nrf2 düzeylerini arttırdığı görülmüştür (52). Bu sonuç yaptığımız çalışmada MOYE'nin Nrf2 düzeylerini artırıcı etkisi ile örtüşmektedir. Keap1 düzeyleri R grubunda artarken, MOYE uygulanan gruplarda düşmüştür. GSK-3 β düzeylerinin R grubunda en yüksek, MOYE uygulanan gruplarda ise düşük olması, radyasyonun inflamatuvar yanıtı artırdığı, MO'nun ise bu etkiyi baskıladığına işaret etmektedir. GSK-3 β 'nin oksidatif stres ve apoptoz yollarında rol oynadığı literatürce desteklenmektedir (53, 54). TAS'ın en yüksek olduğu grup M2 olup, bu grubun aynı zamanda OSI düzeyinde en düşük ortalama sahip olması, MOYE'nin özellikle yüksek dozlarda böbrek dokusunda antioksidan etkiyi artırdığını ortaya koymaktadır.

Korelasyon analizi sonucuna göre böbrek dokusunda Nrf2 ile Keap1 ($r = 0.473$) ve GSK-3 β ($r = 0.611$) arasında pozitif bir korelasyon, TAS ile negatif ($r = -0.297$) ilişkili vardı. GSK-3 β ile pozitif ilişki, strese karşı Nrf2 aktivasyonunu da desteklediği düşünülebilir. GSK-3 β , ROT ($r = 0.425$), 8-OHdG ($r = 0.305$) ve OSI ($r = 0.597$) ile pozitif ilişkili, TAS ile ise güçlü negatif ($r = -0.568$) ilişkili bulunmuştur. Bu durum GSK-3 β 'nin oksidatif hasarın şiddetiyle doğrudan bağlantılı olduğuna ve MO'nun bu hasarı baskılayarak GSK-3 β seviyelerini azalttığına işaret etmektedir. 8-OHdG'in ROT ($r = 0.425$), TOS ($r = 0.476$) ve OSI ($r = 0.367$) ile pozitif ilişki göstermesi, DNA hasarının doğrudan oksidatif stres şiddetiyle bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır.

Korelasyon analizleri, böbrek ve kalp dokularında Nrf2 yollarının farklı düzenleyici profillere sahip olduğunu göstermektedir. Böbrek dokusunda Nrf2, Keap1 ve GSK-3 β gibi hücrel regülatörlerle pozitif yönde korelasyon sergilerken; kalp dokusunda Nrf2 düzeyleri, oksidatif stres ve hücrel hasar belirteçleri olan 8-OHdG ve ROT ile anlamlı negatif ilişkiler göstermektedir. Ayrıca kalpte Nrf2'nin TAS ile anlamlı pozitif, TOS ve OSI ile ise negatif eğilimli korelasyonları, bu dokuda Nrf2'nin daha belirgin bir

antioksidan yanıt mekanizması rolü üstlendiğine işaret etmektedir. Keap1 düzeyleri ise kalp dokusunda oksidatif stres göstergeleri ile daha güçlü korelasyonlar sergileyerek, bu protein aracılığıyla Nrf2'nin baskılanmasının kalpte oksidatif yanıtla daha yakın ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmanın genel bulguları, literatürdeki bilgilerle büyük oranda uyumludur. Total vücut ışınlaması hem kalp hem de böbrek dokusunda belirgin oksidatif hasar oluştururken, MOYE, bu hasarı anlamlı düzeyde azaltmış, antioksidan savunma sistemini aktive etmiş ve DNA hasarını azaltmıştır. Bu etkiler, MO'nun yüksek biyoyararlanımlı fenolik/flavonoid içeriğine ve Nrf2/Keap1 yolağını düzenleyici rolüne bağlanabilir.

Bu tez çalışmasında, total vücut ışınlamasının sıçanların kalp ve böbrek dokularında oluşturduğu oksidatif stresin biyokimyasal etkileri üzerine MOYE'nin potansiyel koruyucu rolü araştırılmıştır. Radyasyon uygulaması, Nrf2 düzeylerini azaltarak ve Keap1 ile GSK-3 β düzeylerini artırarak antioksidan savunma mekanizmasını baskılamış; aynı zamanda ROT, TOS, OSI ve 8-OHdG gibi oksidatif stres ve DNA hasar belirteçlerinde anlamlı artışa yol açmıştır. MOYE, bu zararlı etkileri anlamlı düzeyde azaltmış; özellikle MR2 ve M2 gruplarında Nrf2 düzeyleri artmış, Keap1 ve GSK-3 β düzeyleri azalmış, TAS seviyeleri yükselmiş ve ROT, OSI, TOS, 8-OHdG gibi oksidatif hasar belirteçlerinin düzeyleri düşmüştür. Yüksek doz MOYE (500 mg/kg) uygulamasının hem kalp hem de böbrek dokusunda en belirgin koruyucu etkiyi sağladığı tespit edildi. Korelasyon analizinde, Nrf2'nin oksidatif stres belirteçleriyle ters, Keap1 ve GSK-3 β 'nin ise doğrudan ilişkili olduğu, Nrf2/Keap1 yolağının ve antioksidan kapasitenin bu süreçte önemli bir rol oynadığı bulundu. Bu sonuçlar, MO'nun, özellikle radyasyona bağlı oksidatif hasarın azaltılmasında doğal ve etkili bir radyoprotektif ajan olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada iyonize radyasyonun sıçanların kalp ve böbrek dokularında oluşturduğu oksidatif stres ve doku hasarı parametreleri üzerindeki etkisi araştırılmış, MOYE bu etkileri önleyici potansiyele sahip olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, iyonize radyasyonun hem kalp hem de böbrek dokularında oksidatif stres yükünü anlamlı şekilde artırdığını ve bu durumun serbest radikal düzeylerinin (ROT, TOS), oksidatif stres indeksinin (OSI) ve DNA hasarının (8-OHdG) artışı ile kendini gösterdiğini açıkça ortaya koymuştur. Bu etkiler literatürde bildirilen iyonize radyasyonun moleküler düzeydeki zararlı etkileriyle tamamen uyumluydu (4, 5, 8). Özellikle Nrf2/Keap1 yolak düzeyinde

gözlemlenen değışiklikler, oksidatif stresin antioksidan yanıt mekanizmalarını baskılayarak Nrf2 düzeylerini azalttığını ve Keap1 düzeylerini artırdığını göstermiştir. Bu bulgular, literatürde bildirilen Keap1 aracılı Nrf2 baskılanmasının oksidatif yük altında güçlendiğı yönündeki bilgilerle tutarlıydı (32, 37).

MOYE uygulaması hem kalp hem de böbrek dokularında serbest radikal üretimini azaltarak oksidatif stresi önemli ölçüde baskılamış, TAS düzeylerinde anlamlı bir artışa neden olmuştur. Ayrıca, Nrf2 düzeylerinin artması ve Keap1 düzeylerinin azalması, MOYE'nin endojen antioksidan sistemlerin aktivasyonuna katkı sunduğunu göstermektedir. Mevcut çalışmada GSK-3β aktivitesi açısından dikkat çekici bir farklılık tespit edildi. Literatürde genellikle oksidatif stres altında GSK-3β'nın inhibe edildiğı bildirilmiş olmasına rağmen (6, 55), bu çalışmada radyasyon sonrası GSK-3β aktivitesinde artış izlenmiştir. Bu bulgu, dokuya özgü, radyasyon dozuna veya inflamatuvar yanıtın şiddetine bağılı farklı moleküler mekanizmaların devreye girmiş olabileceğini düşündürmektedir. Bu farklılık, mevcut bilgi birikimine katkı sağlayarak yeni araştırma alanları açmaktadır. Diğer taraftan, MOYE'nin koruyucu etkisi kalp dokusunda oldukça belirgin olmasına rağmen, böbrek dokusunda Nrf2 aktivasyonu ve antioksidan yanıt açısından kalp dokusuna göre daha sınırlı bir etki gözlenmiştir. Bu durum, MOYE'nin organların spesifik biyoyararlanım farklılıklarını işaret edebilir ve gelecekte doku-spesifik koruma mekanizmalarının detaylı bir şekilde incelenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Klinik öncesi aşamalarda elde edilen bu veriler, MO'nın radyasyona maruz kalan bireylerde destekleyici bir fitoterapötik ajan olarak kullanılabileceğine dair önemli bir temel oluşturmaktadır. MOYE'nin farklı dozlarda ve farklı uygulama sürelerinde daha uzun dönemli çalışmalarda değerlendirilmesi, potansiyel etkinlik ve güvenlik açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmada Nrf2/Keap1 yolağı incelenmiş olmakla birlikte, MO'nun diğer antiinflamatuvar ve apoptotik yolaklardaki etkileri de moleküler düzeyde araştırılmalıdır. Klinik çalışmalara geçiş için, insanlarda güvenli doz aralığı, biyoyararlanım, metabolizma ve toksisite açısından daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır. MO'nun farmasötik formülasyonlar (ekstrakt, kapsül, tablet) şeklinde stabilize edilerek kullanımı, uygulama kolaylığı ve standardizasyon açısından araştırılmalıdır.

Çalışma sonuçlarının bilimsel katkılarını, özgünlüğünü, limitlerini ve önerileri özetleyecek olursak:

- MOYE'nın, radyasyon kaynaklı oksidatif stresin azaltılmasında etkili bir biyolojik ajan olduğu, bu da özellikle radyoterapi alan hastalarda potansiyel bir koruyucu ajan olabileceğini işaret etmektedir.
- İlk kez ve özgün olarak hem kalp hem de böbrek dokusunda iyonize radyasyonun Nrf2/Keap1 yolağı üzerine etkisi ve sıçanlara MOYE verilmesiyle koruyucu etkisinin olup olmadığı birlikte araştırılmıştır.

Son olarak MO bitkisinin etkilerinin kapsamlı değerdendirmesi için;

- MOYE'nın farklı dozaj ve uygulama süresiyle etkilerinin araştırılması,
- Farklı çözücülerle diğder kimyasal türlerin elde edilerek benzer çalışmaların yapılması,
- Spesifik biyoaktif bileşiklerinin izolasyonu ve bireysel etkilerinin değerdendirilmesi için daha ileri moleküler araştırmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Chen HH, Kuo MT. Improving radiotherapy in cancer treatment: Promises and challenges. *Oncotarget*. 2017;8(37):62742.
2. Hosseinimehr SJ. Trends in the development of radioprotective agents. *Drug discovery today*. 2007;12(19-20):794-805.
3. Schaue D, McBride WH. Opportunities and challenges of radiotherapy for treating cancer. *Nature reviews Clinical oncology*. 2015;12(9):527-540.
4. Azzam EI, Jay-Gerin J-P, Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer letters*. 2012;327(1-2):48-60.
5. Surh Y-J. *Oxidative stress, inflammation, and health*. CRC press, 2005.
6. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*. 2008;4(2):89.
7. Ercan K, Geceseffa OF, Taysi ME, Ali Ali OA, Taysi S. *Moringa oleifera*: a review of its occurrence, pharmacological importance and oxidative stress. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2021;21(3):380-396.
8. Minniti G, Goldsmith C, Brada M. Radiotherapy. *Handbook of clinical neurology*. 2012;104:215-228.
9. Begg AC, Stewart FA, Vens C. Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs. *Nature Reviews Cancer*. 2011;11(4):239-253.
10. Steel GG. Clonogenic cells and the concept of cell survival. *Basic clinical radiobiology*. 1993;2:40-51.
11. Ma Y, Lu H, Schwarz K, Lieber MR. Repair of double-strand DNA breaks by the human nonhomologous DNA end joining pathway: the iterative processing model. *Cell cycle*. 2005;4(9):1193-1200.
12. Nguyen HQ, To NH, Zadigue P, Kerbrat S, De La Taille A, Le Gouvello S, Belkacemi Y. Ionizing radiation-induced cellular senescence promotes tissue fibrosis after radiotherapy. A review. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2018;129:13-26.
13. Bentzen SM. Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6(9):702-713.
14. Barazzuol L, Coppes RP, van Luijk P. Prevention and treatment of radiotherapy-induced side effects. *Molecular oncology*. 2020;14(7):1538-1554.

15. Cutter DJ, Darby SC, Yusuf SW. Risks of heart disease after radiotherapy. *Texas Heart Institute Journal*. 2011;38(3):257.
16. Koukourakis MI, Kyrias G, Kakolyris S, Kouroussis C, Frangiadaki C, Giatromanolaki A, Retalis G, Georgoulas V. Subcutaneous administration of amifostine during fractionated radiotherapy: a randomized phase II study. *Journal of Clinical Oncology*. 2000;18(11):2226-2233.
17. Maisin J-R. Bacq and Alexander award lecture chemical radioprotection: past, present and future prospects. *International journal of radiation biology*. 1998;73(4):443-450.
18. Marks DB, Marks AD, Smith CM. *Basic medical biochemistry: a clinical approach*. (No Title). 1996.
19. Malhotra V. *Biochemistry for students*. JP Medical Ltd, 2011.
20. Beneš L, Ďuračková Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life sciences*. 1999;65(18-19):1865-1874.
21. Sisein EA. Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*. 2014;2(2):110-118.
22. Rodwell VW, Bender D, Botham KM. *Harper's illustrated biochemistry*. McGraw-Hill, 2018.
23. Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals, other reactive species and disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;3:617-783.
24. Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2000;279(6):L1005-L1028.
25. Kehrer JP, Klotz L-O. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health. *Critical reviews in toxicology*. 2015;45(9):765-798.
26. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *The Journal of nutrition*. 2003;133(3):933S-940S.
27. Thiagarajan R, Manikandan R. Antioxidants and cataract. *Free radical research*. 2013;47(5):337-345.
28. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*. 2001;54(3):176-186.
29. Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the

- tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91(21):9926-9930.
30. Hybertson BM, Gao B, Bose SK, McCord JM. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular aspects of medicine*. 2011;32(4-6):234-246.
 31. Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD (P) H: quinone oxidoreductase1 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996;93(25):14960-14965.
 32. Li R, Jia Z, Zhu H. Regulation of Nrf2 signaling. *Reactive oxygen species (Apex, NC)*. 2019;8(24):312.
 33. Dodson M, Castro-Portuguez R, Zhang DD. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis. *Redox biology*. 2019;23:101107.
 34. Zhang L, Yang J, Jin C, Wu S, Lu X, Hu X, Sun Y, Cai Y. The effect of nuclear factor erythroid 2-related factor/antioxidant response element signalling pathway in the lanthanum chloride-induced impairment of learning and memory in rats. *Journal of neurochemistry*. 2017;140(3):463-475.
 35. da Costa RM, Rodrigues D, Pereira CA, Silva JF, Alves JV, Lobato NS, Tostes RC. Nrf2 as a potential mediator of cardiovascular risk in metabolic diseases. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;10:382.
 36. Branch KR, O'Brien KD, Otto CM. Aortic valve sclerosis as a marker of active atherosclerosis. *Current Cardiology Reports*. 2002;4(2):111-117.
 37. Tu W, Wang H, Li S, Liu Q, Sha H. The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging and disease*. 2019;10(3):637.
 38. Maher J, Yamamoto M. The rise of antioxidant signaling—the evolution and hormetic actions of Nrf2. *Toxicology and applied pharmacology*. 2010;244(1):4-15.
 39. Kume T. Therapeutic potential of the activators of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2–antioxidant response element pathway in brain disorders. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2017;40(5):553-556.
 40. Asiedu-Gyekye IJ, Frimpong-Manso S, Awortwe C, Antwi D, Nyarko A. Micro- and macroelemental composition and safety evaluation of the nutraceutical *Moringa oleifera* leaves. *Journal of Toxicology*. 2014;2014(1):786979.
 41. Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(6):12791-12835.

42. Lin M, Zhang J, Chen X. Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health-promoting properties. *Journal of functional foods*. 2018;47:469-479.
43. Abdull Razis AF, Ibrahim MD, Kntayya SB. Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(20):8571-8576.
44. Kehrer JP. Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Critical Reviews in Toxicology*. 1993;23(1):21-48.
45. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 1965;16(3):144-158.
46. Asokkumar K, Umamaheswari M, Baharudeen A, Sivashanmugam AT, Subhadradevi V, Ravi TK. Antioxidant and hepatoprotective activities of the fractions of *Ficus microcarpa* using in vitro and ex vivo models. *Funct Plant Sci Biotechnol*. 2010;4(Spl Issue 1):17-27.
47. Drishya S, Dhanisha SS, Raghukumar P, Guruvayoorappan C. *Amomum subulatum* mitigates total body irradiation-induced oxidative stress and its associated inflammatory response by enhancing the antioxidant status and regulating the pro-inflammatory cytokines. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2022;107:109064.
48. Liang J, Lian L, Wang X, Li L. Thymoquinone, extract from *Nigella sativa* seeds, protects human skin keratinocytes against UVA-irradiated oxidative stress, inflammation and mitochondrial dysfunction. *Molecular Immunology*. 2021;135:21-27.
49. Sinha M, Das DK, Bhattacharjee S, Majumdar S, Dey S. Leaf extract of *Moringa oleifera* prevents ionizing radiation-induced oxidative stress in mice. *J Med Food*. 2011;14(10):1167-1172.
50. Vargas-Mendoza N, Morales-Gonzalez A, Madrigal-Santillan EO, Madrigal-Bujaidar E, Alvarez-Gonzalez I, Garcia-Melo LF, Anguiano-Robledo L, Fregoso-Aguilar T, Morales-Gonzalez JA. Antioxidant and Adaptative Response Mediated by Nrf2 during Physical Exercise. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(6).
51. Francisqueti-Ferron FV, Ferron AJT, Garcia JL, Silva C, Costa MR, Gregolin CS, Moreto F, Ferreira ALA, Minatel IO, Correa CR. Basic Concepts on the Role of Nuclear Factor Erythroid-Derived 2-Like 2 (Nrf2) in Age-Related Diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13).
52. Mohan S, Gupta D. Role of Nrf2-antioxidant in radioprotection by root extract of *Inula racemosa*. *International Journal of Radiation Biology*. 2019;95(8):1122-1134.
53. Rojo AI, Sagarra MRd, Cuadrado A. GSK-3 β down-regulates the transcription factor Nrf2 after oxidant damage: relevance to exposure of neuronal cells to oxidative stress. *Journal of neurochemistry*. 2008;105(1):192-202.

54. Wang Z, Havasi A, Gall J, Bonegio R, Li Z, Mao H, Schwartz JH, Borkan SC. GSK3 β promotes apoptosis after renal ischemic injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010;21(2):284-294.
55. Dal-Pont GC, Resende WR, Varela RB, Menegas S, Trajano KS, Peterle BR, Quevedo J, Valvassori SS. Inhibition of GSK-3 β on behavioral changes and oxidative stress in an animal model of mania. *Molecular neurobiology*. 2019;56:2379-2393.



EKLER

EK 1. Etik Kurul Kararı



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI**



TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	TOPLANTI YERİ
14.12.2023	10	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı (Türkçe ve İngilizce)	Total Vücut Işınlamasına Maruz Kalan Sıçanlarda Oksidatif, Nitrosatif ve Antioksidan Sistem Üzerine Moringa Oleifera'nın Etkisinin Araştırılması Investigation of the Effect of Moringa Oleifera on the Oxidative, Nitrosative and Antioxidant Systems in Rats Exposed to Total Body Irradiation
	Başvuru Tarihi	07.12.2023
	Protokol no	349
	Kullanılacak deney hayvanı (tür/ırk/cinsiyet/sayı)	Sıçan / Wistar Albino / Erkek / 72

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2023/55
	☒ Kabul ☐ Red 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, başvurunun Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesince "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.

Yürütücü	Prof. Dr. Seyithan TAYSI Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Araştırmacılar	Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN, Dr. Öğr. Üyesi Ömer ERONAT, Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gülbın KAVAK, Öğr. Gör. Melek Sena TARAKÇIOĞLU, Öğr. Gör. Kenan ERCAN (Doktora Öğrencisi)

ETİK KURUL ÜYELERİ			
Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım
Prof. Dr. Piraye KERVANCIOĞLU (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Anatomi AD.	H	E
Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	E	H
Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	H
Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.	H	E
Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.	H	H
Prof. Dr. Emine Elçin EMRE (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	H	E
Prof. Dr. Can DEMİREL (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	H	E
Doç. Dr. Haluk ŞEN (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Üroloji AD.	H	E
Doç. Dr. Merve GÖYMEN (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD.	H	E
Dr. Öğr. Üyesi A. Sarper BOZKURT (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E
Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gülbın KAVAK (Üye)	GAÜN Tıp F. Radyasyon Onkolojisi AD.	E	H
Veteriner Hekim Filiz BİÇİCİ (Üye)	GAÜN Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GAÜNDAM)	H	E
Veteriner Hekim Celal ÖZSÖYLER (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	E
Avukat Orhan BEYAZ (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	E

E: Evet, H: Hayır