

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**DENEYSEL ÜLSERATİF KOLİT MODELİNDE,
LYCIUM BARBARUM'UN (GOJİ BERRY)
APOPTOZİS VE OTOFAJİDEKİ ROLÜ**

Büşra ÇİMEN

Yüksek Lisans Tezi

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ARALIK 2021

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**DENEYSEL ÜLSERATİF KOLİT MODELİNDE,
LYCIUM BARBARUM'UN (GOJİ BERRY)
APOPTOZİS VE OTOFAJİDEKİ ROLÜ**

Tez Yazarı
Büşra ÇİMEN

Danışman
Doç. Dr. Abdullah ASLAN

ARALIK 2021
ELAZIĞ

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Başlığı:	Deneysel Ülseratif Kolit Modelinde, <i>Lycium barbarum</i> 'un (Goji Berry) Apoptozis ve Otofajideki Rolü
Yazarı:	Büşra ÇİMEN
İlk Teslim Tarih:	23.11.2021
Savunma Tarih:	23.12.2021

TEZ ONAYI

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

İmza

Danışman:	Doç. Dr. Abdullah ASLAN Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
-----------	--	-----------

Başkan:	Prof. Dr. Orhan ERMAN Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
---------	--	-----------

Üye:	Doç. Dr. Can Ali AĞCA Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi	Onayladım
------	--	-----------

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun/...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

İmza

Prof. Dr. Kürşat Esat ALYAMAÇ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “Deneysel Ülseratif Kolit Modelinde, *Lycium barbarum*’un (Goji Berry) Apoptozis ve Otofajideki Rolü” Başlıklı Yüksek Lisans Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

23.12.2021

Büşra ÇİMEN





Canımın Annem, Babam ve Kardeşlerime İthafen ...

ÖNSÖZ

Tez çalışması ile ülseratif kolit oluşturulan ratlarda *Lycium barbarum*'un kolon dokusunda apoptotik-otofajik mekanizmanın moleküler biyolojik yönden aydınlatılması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda p53, TIGAR, Beclin 1 protein ekspresyon seviyeleri, MDA ve GSH düzeyleri, katalaz aktivitesi araştırılmış, kolorektal doku histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

Tez dönemi boyunca bana rehber olan, yardımlarını ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmalarında bana sabırla yol gösteren, öğrencisi olmaktan mutluluk ve onur duyduğum çok kıymetli ve değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Abdullah ASLAN**'a,

Yüksek öğrenim eğitimim her aşamasında bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, tezime değerli yorumları ile katkıda bulunan, öğrencisi olmaktan mutluluk ve onur duyduğum çok kıymetli ve değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Can Ali AĞCA**'ya,

Tez çalışmama değerli yorumları ile katkıda bulunan jüri üyesi Sayın **Prof. Dr. Orhan ERMAN**'a,

Tez çalışmamın histopatolojik analizlerinin incelenmesi ve değerlendirilmesinde katkıda bulunan Sayın **Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN**'a,

Bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocalarım Sayın **Dr. Seda BEYAZ**, **Arş. Gör. Özlem GÖK** ve bugüne kadar eğitim sürecime katkı sağlayan tüm **Hocalarıma**,

Projemi desteklediği için 'FF/20/13' proje koduyla sağlayan **FÜBAP**'a,

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü müdürü Sayın **Prof. Dr. Kürşat Esat ALYAMAÇ**'a, Sayın **Doç. Dr. Emrah YILMAZ**'a, Sayın **Uzm.Biyolog Selahattin GÖNAY**'a, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün değerli **Çalışanlarına** ve Fırat Üniversitesi **Biyoloji Bölümü** değerli hocalarıma,

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, fedakarlıkları ve bana duydukları güven ile yaşamımın her döneminde yanımda olan **Canım Ailem**'e ve ilk göz ağrımız Diyetisyen **Nurcan BAŞ**'a,

Saygı ve Teşekkürlerimi Sunarım...

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından **FF/20/13** protokol numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışmalar Fırat Üniversitesi Etik Kurulunu 30/19/2019 tarih ve 369133 sayılı izni ile gerçekleştirmiştir.

Büşra ÇİMEN

ELAZIĞ, 2021

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VII
ABSTRACT	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
TABLolar LİSTESİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. Bağırsak Yapısı	1
1.1.1. İnce Bağırsak	1
1.1.2. Kalın Bağırsak	1
1.1.3. Kolon Fizyolojisi	2
1.2. Ülseratif Kolit.....	2
1.2.1. Tanım.....	2
1.2.2. Etyoloji	3
1.2.3. Genetik Faktörler.....	3
1.2.4. İmmünolojik Faktörler.....	3
1.2.5. Çevresel Faktörler.....	3
1.2.6. Psikojenik Faktörler.....	4
1.2.7. İlaçlar	4
1.2.8. Klinik Bulgular	4
1.2.9. Deneysel Ülseratif Kolit Modelleri.....	4
1.3. Dekstran Sodyum Sülfat (DSS).....	5
1.4. <i>Lycium barbarum</i>	6
1.4.1. Kimyasal Bileşenleri.....	6
1.4.2. Metabolizmaya Etkisi	7
1.4.3. Antioksidan Etkisi	7
1.5. Apoptozis.....	8
1.5.1. Apoptozisin İndüklenmesi	9
1.5.2. p53 Proteini	10
1.5.3. TIGAR (TP53 İle İndüklenen Glikoliz ve Apoptozis Düzenleyici) Proteini	11
1.6. Otofaji.....	12
1.6.1. Otofajinin Regülasyonunda Görevli Olan Moleküler Mekanizmalar	13
1.6.2. Beclin 1 Proteini	16
1.6.3. Otofajinin Başlatılmasında Beclin 1'in Rolü	17
1.7. Apoptozis-Otofaji Bağlantısı	18
1.8. Malondialdehit (MDA).....	19
1.9. Glutasyon (GSH)	19
1.10. Katalaz (CAT)	20
1.11. Patoloji.....	20
1.12. Amaç.....	21
2. MATERYAL VE METOT	22
2.1. Hayvan Materyali	22
2.2. Araştırma Grupları.....	22

2.3. Laboratuvar Analizleri	24
2.3.1. p53, TIGAR ve Beclin 1 Proteinlerin Western Blot İle Analizi	24
2.3.2. Western Blot İçin Doku Homojenizasyonu	24
2.3.3. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi	24
2.3.4. Jellerin Hazırlanması (SDS-PAGE).....	25
2.3.5. Western Blot Analizi	27
2.3.6. Kolon Dokusu Malondialdehit (MDA) Analizi	29
2.3.7. Plazma Malondialdehit (MDA) Analizi	29
2.3.8. Malondialdehit (MDA) Ölçümü Standart Eğri Çizimi	30
2.3.9. Kolon Dokusu Glutasyon (GSH) Analizi.....	30
2.3.10. Kolon Dokusu Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Analizi	30
2.3.11. Histopatolojik Analizler.....	30
2.3.12. İstatistiksel Analizler	30
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
3.1. Canlı Ağırlık Değişimleri	31
3.2. p53 Protein Ekspresyon Düzeyleri	32
3.3. TIGAR Protein Ekspresyon Düzeyleri	32
3.4. Beclin 1 Protein Ekspresyon Düzeyleri	33
3.5. Kolon Dokusu ve Plazma Malondialdehit (MDA) Düzeyleri	33
3.6. Kolon Dokusu Glutasyon (GSH) Düzeyleri.....	36
3.7. Kolon Dokusu Katalaz (CAT) Aktivite Düzeyleri	37
3.8. Histopatolojik Görüntüler	39
4. SONUÇLAR.....	41
KAYNAKLAR.....	48
EKLER	58
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Deneyisel Ülseratif Kolit Modelinde, *Lycium barbarum*'un (Goji Berry) Apoptozis ve Otofajideki Rolü

Büşra ÇİMEN

Yüksek Lisans Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Aralık 2021, Sayfa: x + 58

Ülseratif kolit dünyada sıklıkla görülen bağırsak hastalıkları içerisinde yer almaktadır. *Lycium barbarum* (Goji Berry) antioksidan, antimikrobiyal, antiaging, antiinflamatuvar etkileri olan, alternatif tıpta sıklıkla kullanılan bir meyve türüdür. *Lycium barbarum*'un (LB) bağırsak hastalıklarına etkisi kapsamlı olarak araştırılmasına rağmen ülseratif kolit modelinde, apoptozis ve otofajik yolak üzerindeki etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada; ülseratif kolit modeli üzerinde LB'un apoptozis ve otofaji yolağına etkisi araştırılmıştır. Araştırmada Wistar albino cinsi erkek sıçanlar, ülseratif kolit modeli oluşturmak için DSS kimyasalı, kolit oluşumunu engellemek amacıyla LB kullanılmıştır. Çalışmamızda DSS grubuna kıyasla LB+DSS grubunda; p53 ve Beclin 1 protein ekspresyon seviyelerinin arttığı, TIGAR protein ekspresyon seviyesinin azaldığı, MDA düzeyinin azaldığı, GSH düzeyinde ve katalaz aktivitesinde ise artış olduğu, ayrıca histopatolojik sonuçlarda ise LB+DSS grubunda ülseratif kolitin oluşmadığı belirlenmiştir. Genel olarak bulgularımız LB'un ülseratif kolit oluşumunu engellediği, oluşan hasarı azalttığı, savunma ve apoptozis/otofaji mekanizmalarını aktivelediğini göstermektedir. Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar, bir bütün olarak değerlendirildiğinde LB'un ülseratif kolit oluşumunu engelleyen umut verici potansiyele sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Ülseratif Kolit, DSS, *Lycium barbarum* (Goji Berry), Apoptozis, Otofaji

ABSTRACT

The Role of *Lycium barbarum* (Goji Berry) in Apoptosis and Autophagy in the Experimental Ulcerative Colitis Model

Büşra ÇİMEN

Master's Thesis

FIRAT UNIVERSITY

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

December 2021, Pages: x + 58

Ulcerative colitis is one of the most common intestinal diseases in the world. *Lycium barbarum* (Goji Berry) is a type of fruit that is frequently used in alternative medicine, with antioxidant, antimicrobial, antiaging, antiinflammatory effects. Although the effect of *Lycium barbarum* (LB) on intestinal diseases has been extensively studied, the mechanism of action on apoptosis and autophagic pathway in the ulcerative colitis model has not yet been fully elucidated. In this study; the effect of LB on the apoptosis and autophagy pathway on the ulcerative colitis model was investigated. Wistar albino male rat was used in the study. DSS chemical was used to create ulcerative colitis model and LB was used to prevent colitis formation. In our study, in the LB+DSS group compared to the DSS group; It was determined that p53 and Beclin 1 protein levels increased, TIGAR protein level decreased, MDA levels decreased, GSH level and catalase activity increased. Also, in the histopathological results, ulcerative colitis did not occur in the LB+DSS group. In general, our findings show that LB prevents the formation of ulcerative colitis, reduces the damage, and activates the defense and apoptosis/autophagy mechanisms. When the results of our study are evaluated as a whole, we can say that LB has a promising potential to prevent ulcerative colitis.

Keywords: Ulcerative Colitis, DSS, *Lycium barbarum* (Goji Berry), Apoptosis, Autophagy

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Bağırsak yapısı	2
Şekil 1.2. DSS maddesinin etkisi.	6
Şekil 1.3. Apoptozisin aktifleştirilmesinde görevli yollar	10
Şekil 1.4. Otofajinin düzenlenmesinde rol oynayan temel moleküler mekanizmalar.....	16
Şekil 1.5. Beclin 1 proteini oluşturan yapılar	17
Şekil 2.1. Kaset-jel sistemi hazırlık aşamaları.....	26
Şekil 2.2. Elektroforezde kaset sistemi hazırlık aşamaları	26
Şekil 2.3. Blotlama sistemi.....	29
Şekil 3.1. Dört farklı deney grubunun bitiş canlı ağırlık (gr) değişimi.....	31
Şekil 3.2. Deneyde kullanılan hayvanların tartımı, grupları ve DSS'nin LB içerisinde çözündürülmesi.....	31
Şekil 3.3. p53 protein ekspresyon düzeyleri	32
Şekil 3.4. TIGAR protein ekspresyon düzeyleri.....	32
Şekil 3.5. Beclin 1 protein ekspresyon düzeyleri	33
Şekil 3.6. Kolon dokusu MDA standart grafiği.....	34
Şekil 3.7. Plazma MDA standart grafiği.....	34
Şekil 3.8. Dört farklı deney grubunda kolon dokusu MDA düzeyi karşılaştırılması.....	35
Şekil 3.9. Dört farklı deney grubunda plazma MDA düzeyi karşılaştırılması.....	35
Şekil.3.10. BSA standart grafiği (GSH)	36
Şekil 3.11. Dört farklı deney grubunun, kolon dokusu GSH düzeyinin karşılaştırılması.....	37
Şekil 3.12. BSA standart grafiği (CAT)	38
Şekil 3.13. Dört farklı deney grubunun kolon dokusu katalaz aktivite düzeyinin karşılaştırılması.....	38
Şekil 3.14. Deney gruplarının kolon mukozası histopatolojik görüntüleri	39

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1.1. Deneyisel ülseratif kolit modelleri.....	5
Tablo 2.1. Deney hayvanlarında kullanılan standart pelet yem bileşimi.....	22
Tablo 2.2. Araştırma grupları.....	23
Tablo 2.3. Deneyde kullanılan tampon/çözeltilerin hazırlanması	24
Tablo 3.1. Dört farklı deney grubunun başlangıç-bitiş canlı ağırlık değişimi.....	31
Tablo 3.2. Kolon doku Malondialdehit (MDA) düzeyi.....	33
Tablo 3.3. Plazma Malondialdehit (MDA) düzeyi.....	34
Tablo 3.4. Kolon dokusu Glutasyon (GSH) düzeyi.....	36
Tablo 3.5. Kolon dokusu katalaz (CAT) aktivite düzeyi	37
Tablo 3.6. Gruplar arası histopatolojik parametreler	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

mA	: Miliamper
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
°C	: Santigrat
rpm	: Revolutions Per Minute
µl	: Mikrolitre

Kısaltmalar

APS	: Amonyum Per Sülfat
BSA	: Bovine Serum Albumin
CAT	: Katalaz
CTX	: Siklofosamid
DAP	: 3,3'-Diaminobenzidin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSS	: Dekstran Sodyum Sülfat
ER	: Endoplazmik Retikulum
GSH	: Glutasyon
İBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları
KCI	: Potasyum Klorür
LB	: <i>Lycium barbarum</i>
LBP	: <i>Lycium barbarum</i> Polisakkaritleri
MAPK	: Mitojen-Aktivite Protein Kinaz
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
TBA	: 2-Thiobarbituric Asid
TIGAR	: TP53 İle İndüklenen Glikoliz ve Apoptozis Düzenleyici
TNBS	: Trinitrobenzen Sülfonik Asit
TNRF-1	: Tümör Nekroz Faktör Reseptörü-1
ÜK	: Ülseratif Kolit

1. GİRİŞ

1.1. Bağırsak Yapısı

Bağırsak kelimesi Latince'den türetilmiş 'iç' anlama gelmektedir. Bağırsaklar iki gruba ayrılır;

- İnce bağırsak,
- Kalın bağırsak (Şekil 1.1).

1.1.1. İnce Bağırsak

Sindirim ve emilim işleminin gerçekleştiği ince bağırsak beslenme kanalının en uzun kısmını oluşturmaktadır, insanda yaklaşık olarak 3,5 metre uzunluğundadır. İnce bağırsak sarmal tüp benzeri üç kısma ayrılmıştır, bunlar proksimalden (mideden) distal bölgeye doğru; duodenum (onikiparmak bağırsağı), jejunum (ince bağırsağın üst kısmı), ileumdur (ince bağırsağın alt kısmı). Duodenum; 25,4 cm uzunluğuna sahip plorik sfinkterden başlayan en kısa bölgedir. Jejunum; duodenumun devamıdır ancak farkı ince bağırsak mezenterinin serbest kenarları ile tutunan, karın boşluğunda hareket eden sindirim kanalının bir parçasıdır. İleum ise 1,8 metre uzunluğuna sahip, ince bağırsağın en uzun kısmını meydana getirir, kalın bağırsağın ilk bölümünü oluşturan çekumla birleşerek, ince bağırsağın son kısmını oluşturmaktadır (Çakır, 2019).

1.1.2. Kalın Bağırsak

Besinlerin ve sıvıların emilimini sağlayarak, eliminasyon için dışkıının oluşması başlıca görevidir. Kolon; içerisinde yer alan sıvıların yaklaşık olarak %90'ını emmektedir. İnce bağırsağı üç taraflı saran, 7,62 cm uzunluğunda olan kolon dört bölgeden oluşmaktadır. Bunlar;

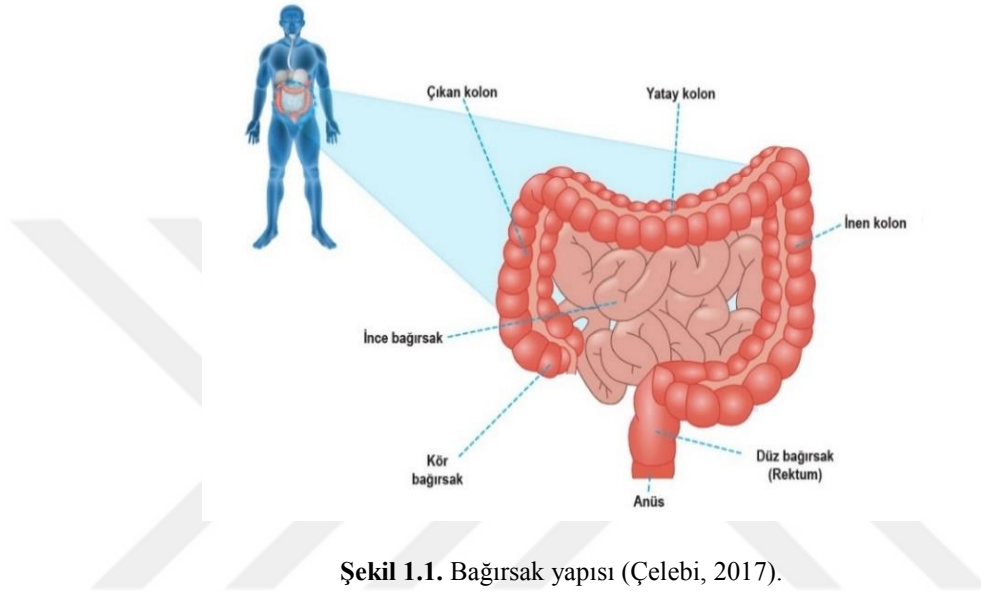
- Çekum,
- Kolon,
- Rektum,
- Anüs

Çekum: 6 cm uzunluğuna sahip olan çekum, kalın bağırsağın ilk kısmını oluşturmaktadır. Çekumun ileum ile birleştiği bölge ostium ileocaecale olarak adlandırılır. Çekumun bulunduğu bölgede *valva ileocaecalis* (bauchini kapağı) bulunmaktadır. *Valva ileocaecalis* görevi ise; kalın bağırsakta bulunan besinlerin ince bağırsağa doğru geçmesini engellemektir.

Kolon: Kalın bağırsağın ikinci kısmını oluşturmaktadır. Yiyecek atıkları kolona geldiğinde ilk olarak karının sağ tarafında bulunan yükselen kolona geçer. Karaciğerin alt kısmında, kolon sağ kolik bükülmeyi meydana getirmek için eğilir, enine kolonu oluşturur ve buradan geçen gıda atıkları sol kolik bükülmeye karın bölgesinin sol tarafına aktarılır. Yiyecek atıkları, arka karın duvarının sol kısmından aşağıya doğru gelen kolondan geçer. Pelvis aşağıya doğru geldiğinde S benzeri sigmoid kolonu meydana getirir.

Rektum: Sigmoid kanaldan çıkan yiyecek kalıntıları, pelvisden rektuma geçer. Rektum yaklaşık olarak 20,3 cm'lik beslenme kanalının son kısmını oluşturur ve sakrum, kuyruk sokumu kemiğinin önüne doğru gelmektedir (Çakır, 2019).

Anüs: Gıda kalıntıları bağırsağın son bölümünü oluşturan anal kanala gelir. Genel olarak 3,8-5 cm uzunluğuna sahip kanal, anüs gövdesinin dış bölgesine doğru açılır. İki sfinkter bulundurur anal kanal, bunlar iç ve dış anal kanal sfinkterdir. İç anal sfinkter düz kas katmanından meydana gelmektedir ve buradaki kasılmalar istemsizce gerçekleşmektedir. Dış anal sfinkter ise gönüllü kontrol altında bulunan iskelet kasından meydana gelmektedir. Dışkılama haricinde iç ve dış anal sfinkter genel olarak kapalı kalmaktadır (Çakır, 2019).



Şekil 1.1. Bağırsak yapısı (Çelebi, 2017).

1.1.3. Kolon Fizyolojisi

Kolonun başlıca fizyolojik özellikleri şunlardır; emilim, taşıma, depolama ve salgılamadır. Su emiliminin tamamı çıkan kolon ve çekumda oluşmaktadır. Kolon içerisinde sıklıkla görülen bakteri türü *Bacteroides fragilis*'dir, bu bakterinin görevi ise üreyi parçalamak, patolojik mikroorganizmaların çoğalmasını önlemek, ince bağırsakta sindirimi gerçekleşmeyen protein ve karbonhidratları sindirmek, enterohepatik fonksiyonlarda yer almaktır (Alkan, 2017). K ve D vitaminlerinin üretimi kolonda gerçekleşmektedir. Kolonda yer alan bakterilerin üre ve proteini parçalaması sonucu meydana gelen gaz amonyaktır. Kokudan sorumlu olan gazlar ise dimetilsülfid ve metanetioldür (Çelebi, 2017).

1.2. Ülseratif Kolit

1.2.1. Tanım

Ülseratif kolit; kolon bölümünde inflamasyon ve ülserasyonlarla ilerleyen inflamatuvar kronik hastalık türlerinden biridir, kolonun bir kısmına ya da tamamına yayılarak tutunabilir, genellikle bu hastalığı alan kişilerin kolon muhtevastaki gıda, bakteri vb. ile kolonun tahriş

olması neticesinde immün sistemleri aktif hale gelmektedir. Ülseratif kolit belirtileri tahriş neticesinde alevlenmektedir. Alevlenmeler esnasında genellikle hastalarda mukuslu ve kanlı gayta, karın ağrıları, şişkinlik, diyare ve kramp gibi semptomlar görülmektedir (Uğurlu, 2020). Kuzey Amerika, Kanada, Britanya, İskandinavya gibi ülkeler yüksek insidansa sahiptir. Ülseratif kolit hastalığının etiyolojisi kesinleşmemiş ve tedavi konusunda mükemmel yöntemlere halen ulaşamamıştır. Son zamanlarda farklı tedavi yöntemleriyle ilgili araştırmalar devam etmektedir. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki; ülseratif kolit hastalığının teşhisi sonrası, hastaların yaklaşık %21'i klasik ilaç tedavi yöntemlerini bırakarak, alternatif tedavi yöntemlerini tercih etmektedir. Tedavi sürecindeki yetersizlik, farklı ve etkili yöntemlere ihtiyacı kanıtlamaktadır (Ağaoğlu, 2020).

1.2.2. Etiyoloji

Ülseratif kolit hastalığının patogeneğinde mikrobiyolojik, immünolojik, genetik, çevresel faktörler neden olarak gösterilse de, etiyolojik sebebi henüz kesinleşmemiştir (Kılınç, 2019).

1.2.3. Genetik Faktörler

Ülseratif kolit hastalığıyla ilgili yapılan genom araştırmaları sonucunda 163 tane genetik lokus belirlenmiştir, lokusların yaklaşık 113 adeti psöriazin, ankiroz an spondilit, primer immün yetmezliği ve mikrobiyal enfeksiyonlarla ilişkisi gözlemlenmiştir. Bu tablo iltihabi bağırsak rahatsızlıklarının otoimmün kökenli olduğu konusunu desteklemektedir. Yapılan farklı araştırmalar sonucunda HLA-B52, HLA-DR1, HLA-B27, HLA-DR2, HLA-B5, HLA-B35 alelleri, ülseratif kolit hastalığının görülme potansiyeliyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. En iyi bilinen bağlantısı 16. kromozomun perisentromerik bölümdeki nükleotit binding oligomerization domain 2 (NOD 2) geni ve proteindir (Yaman, 2020).

1.2.4. İmmünolojik Faktörler

Bağırsağın, içerik ve mukozal olarak immünolojik dengesi bulunmaktadır. Endojen etkenlere ve bakteriyel ürünlere bağırsağın fizyolojik cevabı; düşük seviyede intestinal mukozal inflamasyon oluşturmaktır. Bu yanıt kontrolü sağlayan mekanizma ile baskılanarak, bağırsağın zarar görmemesine neden olmaktadır. Ülseratif kolit hastalarının ise kontrol mekanizmaları baskılanmıştır. Hücresel, humoral immün sistem ülseratif kolit hastalığının patogeneğinde rol oynamaktadır (Kadifeci, 2017). Ülseratif kolit diyetindeki bakteriyel veya endojen antijenlerin oluşturduğu uyarı poliklonal immünoglobulin G (IgG) cevabına sebep olur. En iyi tanımlanmış otoantijen 'epitejyan' antijenidir (40 kilo dalton- KD). Bu antijenler eklem, deri, göz, safra dokusu gibi alanlarda da bulunmaktadır ve antijenik bu yanıt ülseratif kolit için özgüldür (Kılınç, 2019).

1.2.5. Çevresel Faktörler

Sigara içen kişilerde, sigara içmeyen kişilere kıyasla yaklaşık 2-6 kat ülseratif kolit hastalığının görülme sıklığı daha fazladır. Yapılan araştırmalar neticesinde; probiyotik verilmesi, antibiyotik tedavisi, ileal diversiyon ile bağırsak pasajının dışarıya alınması bağırsağın mikrobiyotasını değiştirmektedir, bu müdahale yöntemlerinin intestinal inflamasyonu azaltmada

etkili olduğu belirlenmiştir. Çevresel faktörler içerisinde; buğday, sebze, alkol, meyve, rafine şeker ve farklı birçok gıdalara ilave edilen silikon dioksit benzeri maddeler araştırılmıştır, fakat hiçbirinin ülseratif kolitle ilişkisi net olarak belirlenmemiştir (Yaman, 2020). Başlangıçta hastalığın sebebi farklı mikroorganizmalar olduğu gösterilse de bakteriyel, fungal ve viral gibi mikroorganizmaların inflamatuvar bağırsak hastalığına neden olduğu henüz kesin olarak belirlenmemiştir (Zelka, 2020).

1.2.6. Psikojenik Faktörler

İnflamatuvar bağırsak hastalığı psikosomatik hastalığın bir grubu olarak kabul görmüştür. Psikojenik faktörlerin, inflamatuvar bağırsak hastalığıyla ilişkilendirilmesi ilk olarak 1930’lu yıllarda psikiyatristlerin ve gastroenterologların duygusal anlamda, muhtemel bağırsak semptomlarıyla ilgili olabileceği düşüncesiyle başlamıştır. Stres faktörünün duygusal, motor ve gastrointestinal salgı fonksiyonundaki farklılıklar, bağırsağın geçirgenliğini fazlalaştırması gibi etkenlerin bu hastalığın belirtilerine çevrilebileceği açıklanmıştır (Kılınç, 2019).

1.2.7. İlaçlar

Son yıllarda yapılan farklı araştırmalarda, klinikte sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin ülseratif kolit üzerinde herhangi bir etkisi belirlenmemiştir. Risk artışının gözlemlendiği non-steroid antiinflamatuvar ve oral kontraseptik ilaç grubudur. Akne tedavisinde tercih edilen isotretinoin ilacı için de çeşitli araştırmalar ve sonuçlara ulaşılmıştır. Fransa’da isotretinoin ilaç kullanımında, hastalar üzerinde yapılan araştırma sonucu hiçbir risk faktörü saptanmamışken; ABD’de yapılan çalışmalarda ise ülseratif kolit oluşturma riskinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Dişli, 2020).

1.2.8. Klinik Bulgular

Ülseratif kolitte sıklıkla görülen belirtileri mukussuz ve mukuslu kanlı ishal, kilo kaybı, ateş, şiddetli karın ağrısı, halsizliktir (Metin, 2020). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarından biri olan ülseratif kolit, kolorektal kanser ihtimalini arttırmaktadır. 14 yıl süre ile takip edilen ülseratif kolit hastalığına yakalanan kişiler üzerinde yapılan araştırma neticesinde, hastaların birçoğunda kolorektal kanser olduğu bildirilmiştir, sonuç olarak ülseratif kolit kolorektal kanser riskinin artmasına sebep olmaktadır (Altun, 2019).

1.2.9. Deneysel Ülseratif Kolit Modelleri

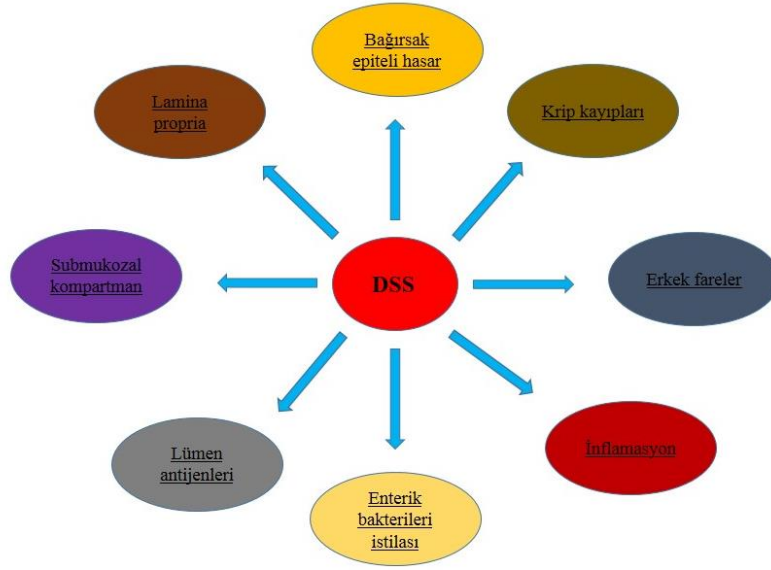
Otuz yıldan fazla bir süredir deneysel ülseratif kolit modelleri kullanılmaktadır. Modellerin oluşması; laboratuvarında deney hayvanlarının deniz yosunu ekstraktını tüketmesi neticesinde, insanlarda oluşan ülseratif kolit hastalığındaki semptomların gözlemlenmesi ile başlamıştır. Sonraki süreçlerde ise immün transfer, farklı kimyasallar ile indüklenen, genetik tabanlı ve bakteriyel örnek modelleri oluşturulmuştur (Tablo 1.1) (Küçük, 2020).

Tablo 1.1. Deneysel ülseratif kolit modelleri (DSS: Dekstran Sodyum Sülfat; TNBS: Trinitrobenzen Sülfonik Asit) (Küçük, 2020).

Kimyasallarla oluşturulan modeller	DSS, TNBS, Oksazon, Asetik asit ile oluşturulan modeller
Bakteriyel Modeller	<i>Salmonella</i> ile indüklenen ve Adherent İnvaziv <i>Escherichia coli</i> (AIEC) ile oluşturulan modeller
İmmün transfer modeller	Adaptif hücre transfer kolit modeli
Genetik modeller	“Knock out” ve transjenik modeller

1.3. Dekstran Sodyum Sülfat (DSS)

(C₆H₇Na₃O₁₄S₃)’n kimyasal formülü olan, suda çözünme özelliğine sahip, negatif yüklü sülfatlanmış polisakkarit türlerinden biridir. Deneysel kolit oluşturmak amacıyla 40-50 kDa molekül ağırlığındaki DSS tercih edilmektedir. Sıçan ve farelerde intestinal kolit tetiklemek amacıyla, bilimsel çalışmalarda çoğunlukla kullanılmaktadır. Ülseratif kolit hastalığında bağırsak epitel bariyerindeki farklılaşma, bu şekilde lümeninde bulunan bakteri ya da bakteri antijenlerinin mukozaya doğru ilerlemesi ve kolonik inflamasyonu tetiklemesi hastalığın sistemi olarak ileri sürülmektedir. Benzer olaylar DSS ile meydana gelmiş kolit modellerinde de görülmektedir. DSS’nin bağırsak iltihabına neden olan mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, DSS epitel hücrede bozulmalara neden olmaktadır, hasar sonucunda oluşan immün tepkiler, kolonik epitelde mukozal bariyer boyunca farklılaşmalara sebep olur. Bu nedenle DSS’nin kısa süre içerisinde fare ya da sıçanların içme sularına eklenmesiyle, kolonla sınırlı olarak; ülserler/erezyonlar, karakterize akut inflamasyonu ve kript kayıpları meydana gelmesiyle neticelenmektedir (Şekil 1.2). Oluşturulan modelin; insanlarda görülen ülseratif kolit hastalığından farkı ise kolit oluşumu için T hücresine ihtiyaç yoktur. Adaptif immünitinin bir bileşeni olan T hücrelerinin olmamasında da bağırsak inflamasyonu oluşabilmektedir, bu nedenle doğal bağışıklık hücrelerinin oluşturduğu efekter sitokinlerin inflamasyona sebep olmak konusunda yeterli olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir araştırmada bağırsaktaki inflamasyon ‘SCID (*Severe combined immunodeficient*) ve Rag1-/- (*Recombinase-activating gene-2 knockout mice*)’ farelerde DSS ile oluşabileceği sonucuna varılmıştır. Yapılan farklı bir araştırma sonucunda ise; DSS’nin kullanılması hayvanlarda doğrudan bağırsak inflamasyonuna sebebiyet vermeyip, bağırsak epitelinde kimyasal hasar oluşturmaktadır. Oluşturulan hasar sonrası, lamina propria ve submukozal kompartman, lümen antijenleri ve enterik bakterilerin istilasına uğramakta ve inflamasyon meydana gelmesine neden olmaktadır. DSS’nin tetiklediği kolitin etkisi; dozaj olarak % 3 veya 5, süresi ise akut ya da kroniktir. DSS; C3H/HeJ ve Balb/c fare soylarında daha hassasiyet göstermektedir, erkek farelerin dişi farelere kıyasla daha duyarlı oldukları belirlenmiştir. Ülseratif kolit çalışmalarında; uygulama sırasındaki hızlılığı ve kolaylığı (içme suyu ile), tekrar edilmesi, dozajını kontrol etme olanağı sebebiyle DSS kolit modeli sıklıkla tercih edilmektedir. DSS uygulama sıklığı ve dozajında farklılıklar oluşturularak kronik ve akut inflamasyon modelleri oluşturulabilir (Küçük, 2020).



Şekil 1.2. DSS maddesinin etkisi (Küçük, 2020).

1.4. *Lycium barbarum*

Kurt üzümü ya da Goji Berry (*Solanaceae* familyasında) olarak da bilinen *Lycium barbarum* (LB); Tibet, Çin ve farklı Asya ülkelerinde oluşan, genellikle 1-2 cm uzunluğuna sahip, kırmızı-turuncu renkte bir meyve türüdür. Yaygın olarak geleneksel Çin tıbbında kullanılmaktadır (Uçar, 2018). LB'un ömrü uzatıcı etkisinin olduğu inancı sebebiyle, Çin halkı tarafından 'mutluluk meyvesi' olarak tanımlanmış ve yüzyıllarca kullanılmıştır (Ma vd., 2019). Yapılan farklı araştırmalarda bu meyvenin insan sağlığı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Örneğin; kan şekeri ve lipit seviyesinde azalmalara neden olması, yaşlanma karşıtı, stresi azaltması gibi (Oğuz, 2019).

1.4.1. Kimyasal Bileşenleri

LB'un kimyasal bileşenlerinde en çok dikkat çeken polisakkarit kompleksleridir. Bu kompleksler ise polipeptit ve asidik heteropolisakkaritten meydana gelen komplekslerdir, miktarlarında farklılıklar olsa da polisakkaritler esasen 6 tane monosakkaritten meydana gelmiştir. Monosakkaritler şunlardır; ramnoz, galaktoz, glikoz, mannoz, arabinoz, ksilozdur. LB meyvesinin polisakkaritlerinde, 18 tane aminoasit ve galakturonik asit bulundurmaktadır. LB'un turuncu-kırmızı renkli olmasına sebep olan, içeriğindeki karotenoidlerdir. Ekstraktı ile ilgili yapılan çalışmalarda LB, 7 tane karotenoid esteri ve 11 tane serbest karotenoid içermektedir (Yılmaz, 2017).

Karotenoidler içerisinde zeaksantin maddesi çokça bulunmaktadır. Bu madde genellikle göz sağlığına karşı koruyucu etkisiyle dikkat çekmektedir. LB’da karotenoid ve polisakkaritlerden farklı olarak içeriğinde; beta-sitosterol, betain, serebrosit, p-kumarik asit gibi yararlı bileşikler ve Co, Fe, K, Ca, Zn, Se, Mn, Mg gibi faydalı minerallerde bulunmaktadır (Yıldız, 2018).

1.4.2. Metabolizmaya Etkisi

6 farklı monosakkarit içeriğine sahip olan LB metabolizma hızını, içeriğindeki polisakkaritleri sayesinde ise detoksifikasyon ve protein sentezini arttırmaktadır (Çatav, 2019). LB karaciğer rejenerasyonunda ve karaciğer hücrelerinin fonksiyonlarını gerçekleştirmesinde etkilidir (Özdemir, 2017).

1.4.3. Antioksidan Etkisi

Yapılan farklı araştırmalarda LB’un antioksidan özellikte organizmayı koruyucu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca CAT, GSH-Px ve SOD düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir (Samar, 2019; Şengün, 2019). ‘Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi’ (ORAC) besinlerde bulunan antioksidan içeriğini belirtmektedir. Besinlerin içerdiği ORAC seviyesi yüksekse, hücre ve hücre bileşenlerini oksidatif hasarlar karşısında korumaktadır (Ergür, 2019). LB’un çok sayıda sebze ve meyveyle karşılaştırıldığında ORAC değerinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (nar, yaban mersini, böğürtlen, çilek, ıspanak, brüksel lahanası, pancar, portakal, soğan, havuç vb. kıyaslanmış ve en yüksek ORAC seviyesi LB meyvesinde olduğu belirlenmiştir). LB’un cildi canlandırdığı ve elastikiyetini arttırdığı gibi sebeplerden dolayı farklı kozmetik ürünlerinde kullanılmaya başlanmıştır. İçeriğindeki vitamin ve antioksidan özelliğiyle; yara izleri, güneş ve sivilce lekelerine iyi geldiği yapılan araştırmalar sonucunda belirlenmiştir (Çetin, 2019). Cerulein kimyasalı ile oluşturulan deneysel akut pankreatite bağlı olarak geliştirilen böbrek hasarına LB ekstraktının etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada, LB ekstraktının oksidatif stresi azalttığı açıklanmıştır (Doğan, 2016). Yapılan başka bir araştırmada hidrojen peroksit ile indüklenen insan endometrial stromal hücrelerine verilen hasar üzerine LBP’nin (*Lycium barbarum* polisakkaritleri) etkisi değerlendirilmiş, çalışma sonucu LBP’nin oluşan oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin olduğu belirlenmiştir (Shan vd., 2017). Ultraviyole radyasyon oksidatif hasarı indükleyen, fotokarsinojeneze neden olan cilt hasarında önemli bir rolü bulunmaktadır. Ultraviyole radyasyon ile insan keratinositlerinde oluşturulan hasara karşı LBP’nin etkisinin araştırıldığı farklı bir çalışmada, LBP’nin ROS seviyesini azalttığı, hücre canlılığında ultraviyole kaynaklı azalma karşısında koruyucu etkisinin olduğu açıklanmıştır (Peng vd., 2017). Siklofosfamid (CTX) sıklıkla kanser tedavilerinde kullanılan ilaçlar içerisinde, ancak CTX tedavisi kadın yumurtalığında hasara sebebiyet vermektedir. Dişi sıçanlarda CTX ile oluşturulan yumurtalık hasarına karşı LBP’nin etkisi araştırılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda CTX’nin neden olduğu yan etkileri azalttığı ve yumurtalık hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir (Yang vd., 2017). Alloksan kimyasalı ile diyabetik nefropatili tavşanlarda böbrek dokusundaki hasar ve inflamatuvar reaksiyona karşı LBP’nin önleyici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada LBP’nin böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiği, böbreklerdeki inflamatuvar reaksiyonu hafiflettiği belirtilmiştir, ayrıca bu çalışma sonuçlarına göre LBP’nin hastalığı önleyici etkisi, tedavi edici etkisinden dahi iyi

olduğu düşünülmektedir (Zhao vd., 2016). Yapılan farklı bir araştırmada retina ganglion hücreleri CoCl_2 kimyasalı kullanılarak hasara uğratılmıştır, hücreler LBP'leri ile 24 saat tedavi edilmiştir. Çalışma sonucunda LBP'leri retina ganglion hücrelerinde hasar nedeniyle hücre canlılığındaki azalmaya karşı koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir (Liu vd., 2020). *Lycium barbarum*'ün içeriğinde solavetivon maddesi bulunmaktadır, solavetivon çok güçlü antibakteriyel etkiye sahiptir (Wang vd., 2015). Yapılan bir araştırmada LB'un mikroorganizmalara karşı güçlü bir antimikrobiyal etkisinin olduğu açıklanmıştır (Kalkan vd., 2019). LB'un içeriğinde, göz sağlığına iyi gelen zeaksantin maddesi bulunmaktadır, erkek farelerde LB'un kuru göz hastalığı üzerindeki etkisi araştırılmış, çalışma sonucunda LB'un kuru göz hastalığı semptomlarını iyileştirdiği belirtilmiştir (Chien vd., 2018). Kadınlar menopoz sonrası östrojen seviyelerindeki azalma sebebiyle, yaşlandıkça bilişsel gerileme sorunu yaşarlar. 45 dişi fare ile oluşturulan menopoz hayvan modelinde LBP'nin öğrenme ve hafıza bozukluğu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre LBP'nin öğrenme ve hafıza bozukluğunun önlenmesi amacıyla potansiyel bir ajan olabileceği belirtilmiştir (Zheng vd., 2021). Orta dereceli egzersizler sağlığa yararlıdır, fakat yapılan egzersizin miktar ve yoğunluğu belli bir sınırın üzerinde olursa vücuttaki oksidatif stres miktarı artar. LBP'nin erkek ratlar üzerinde yorucu egzersiz programının neden olduğu oksidatif stres azalttığı belirtilmiştir (Hu vd., 2021). Yapılan bir araştırmada dişi farelerde 'tekrarlanan süperovülasyonun' sebep olduğu yumurtalık yaralanmalarına karşı LBP'nin onarıcı etkilerinin olduğu açıklanmıştır (Wang vd., 2020). Dekstrometorfan (DXM) kimyasalı yüksek oranda kullanıldığı zaman halüsinasyon ve depresyona neden olmaktadır. DXM'nin neden olduğu depresif hastalık üzerinde LBP'nin etkisinin değerlendirildiği bir araştırma sonucunda LBP'nin depresif hastalığı hafifletmek için uygun bir ek tedavi olabileceği belirtilmiştir (Po vd., 2017). Kurşun çevredeki yaygın metal kirleticilerdendir, uzun bir süre maruz kalındığında böbreklerde iltihaplanma ve hasara neden olmaktadır. Farelerde kurşun kaynaklı böbrek hasarında LBP'nin etkisinin araştırıldığı çalışma sonuçlarına göre; LBP'nin patolojik hasarı azalttığı ve kandaki üre miktarında azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Xie vd., 2021). Yenilenebilir bitki kaynaklı nanopartiküller birçok hastalığın tedavisi için ilgi çekicidir. LB'un lipit bazlı yenilenebilir nanopartikülleri oluşturularak ülseratif kolit hastalığına karşı etkisinin araştırıldığı çalışma sonuçlarına göre; nanopartiküller ülseratif kolitte sıklıkla görülen kilo kaybı-kolon kısalması-iltihaplaşma gibi semptomları hafiflettiği ve ülseratif kolit hastalığını iyileştirdiği belirtilmiştir (Zu vd., 2020).

1.5. Apoptozis

Apoptozis hücresel dengeyi korumakla görevli, inflamasyon olmadan hücre ölümlerini düzenleyen programlanmış bir mekanizmadır (Aktaş, 2017). Programlı bu mekanizmanın ana görevi, organizmanın normal işleyişine zararlı olacak hücreleri uzaklaştırıp, hasara uğramış hücreleri ortamdan kaldırıp homeostazın devamlılığını sağlamaktır (Çolpan, 2020). Apoptozis aşamasında hücredeki farklılıklar; büzülme ve komşu hücre ile olan temasın yok olmasıyla karakterizedir. Bu büzülme sebebi ise Ca^{2+} , K^{+} ve Na^{+} gibi taşıyıcı sistemlerin durması sonucu hücre içi ve dışındaki sıvı hareketinin gerçekleşmemesidir. Apoptozisin gerçekleşmesi için sinyal alan hücrenin hacmi yarıya düşer, çevresiyle olan iletişimi kesilir ve mikrovillusları yok olur. Elektron mikroskobunda dikkat çeken değişiklikler ise; plazma membranda şekilsel farklılıklar sonucu

kabarcık oluşumu gözlemlenir, oluşan bu yapıya ‘zeiozis’ adı verilmektedir (Kapancık, 2020; Erkoç, 2018).

1.5.1. Apoptozisin İndüklenmesi

Apoptozis aşamasında hücre ölüm reseptörleri olarak adlandırılan Tümör Nekroz Faktör Reseptörü-1 (TNRF-1) ve Fas (ya da APO-1, CD95)’in görevli ligandlarıyla uyarılır. Hücre yüzeyinde bulunan reseptörler, hücre membranında yer alır ve Tümör Nekroz Faktör Reseptör ailesinin üyelerinden birisidir. Ölüm reseptöründeki ligandlar, reseptörün oligomerizasyonuna sebep olarak aktif hale gelir (Şirin, 2018). Reseptör oligomerizasyonunun aktifleşmesinden sonra özgün olan adaptör proteinler (FADD, TRADD) reseptörlere bağlanmaktadır. Bu olay kaspazların aktif hale gelmesine sebep olmaktadır (Kapancık, 2020). Kaspazlar programlanmış olan hücre ölümünü arttıran hücre içerisindeki sistein proteazlardır ve peptid bağı aspartik asitten sonra kırarlar. Programlı hücre ölümünde kaspazların etkili olduğuna dair ilk çalışma Nematod solucanlarından *Caenorhabditis elegans* üzerinde gerçekleştirilmiştir. CED-3 hücre ölümünde bozuk gendir ve bu genin programlı hücre ölümünde önemli görevleri olduğu belirlenmiştir. Yapılan benzer araştırmalar, apoptoze sebep olan yollarda proteazların da görev aldığı sonucunu göstermiştir. Kaspaz ailesi kendi içerisinde iki gruptan oluşmaktadır. Bunlar; apoptozis aşaması gerçekleşirken aktifleşen (kaspaz-2, -3, -6, -7, -8, 9, -10), inflamatuvar cevapların uyarılmasında görevli ICE/kaspaz-1’le etkileşim halinde olan (kaspaz-1, -4, -5, -6) kaspazlardır. Kaspazlar sinyal ulaşınca kadar zimojen haldedir, sinyal ulaşınca kırılıp aktif hale gelirler ve dimerize olurlar. Kaspaz dimerizasyonu iki şekilde gerçekleşmektedir; hücre yüzey reseptörünün aktivasyonu veya kaspaz-9 bağlayıcı proteini Apaf-1’in uyarımı ile oluşmaktadır. Sonuç olarak aktif hale gelen kaspaz-9, kaspaz-3’ü aktifleştirir. Kaspaz aktivasyon kaskadının başlaması için kaspaz-2, -8, -9 ve -10 görev alırken, kaspaz-8 ve -10 ise adaptör proteinlerle iletişimi sağlayan öldürücü efektör bölgeyi (DED) bulundurmaktadır. Kaspaz-2 ve kaspaz-9 ise efektör kaspazların aktif hale gelmesinde, adaptör molekülün bağlanmasında etkilidir. Apoptozisin gerçekleştiği sırada hücre yıkımından görevli olan kaspaz-3, -6 ve -7 efektör kaspazlardır (Muratoğlu, 2020; Aykan, 2018). Ayrıca CAD (caspase activated DNase) endonükleaz proteininin aktivasyonu ve enzimin DNA’yı parçalamasına yardımcı olmaktadır. DNA fregmantasyonu sonrasında hücre morfolojisinde farklılıklar oluşur ve apoptotik cisimcikler meydana gelir (Öncül, 2017). Çok hücreli organizmalarda apoptozis, genetik kontrol ve yüksek koruma olarak bilinmektedir. Hücre içerisinde bir sorun tesbit edilirse hücre mitokondrilerin önemli etkisinin bulunduğu intrinsik yol (içsel) ve apoptotik reseptörlerin başladığı alana membran reseptörlerinin hareket ettiği ekstrinsik yol (dışsal) aktifleştirilir. Bunların dışında apoptozisin aktifleşmesinde görevli diğer sinyal yolağı ise granzim yolağıdır (Şekil 1.3).

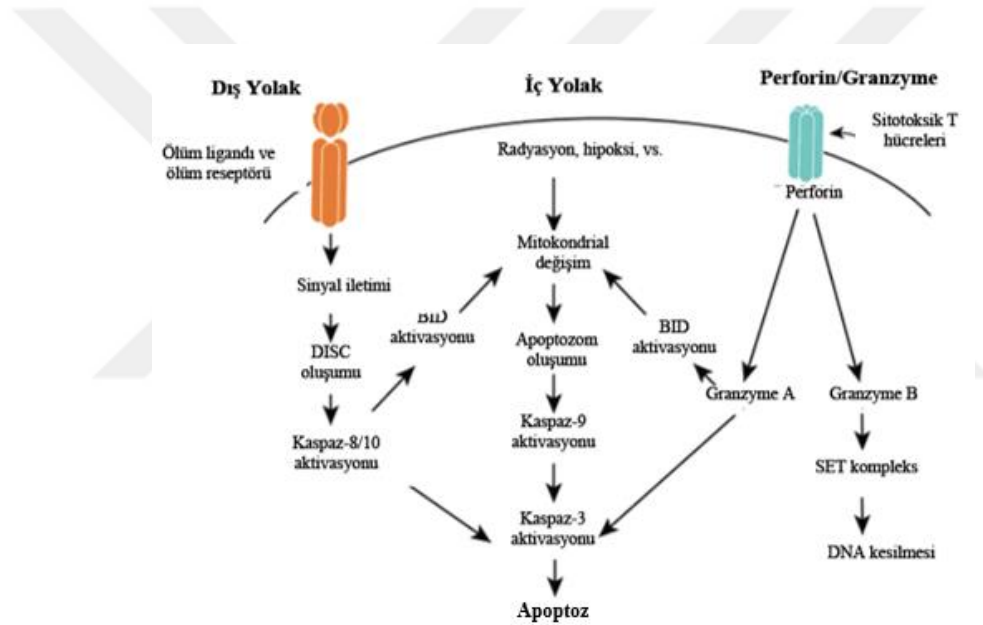
Ekstrinsik (dışsal) yolağı; FAS, TNFR ve DR5 gibi hücre zarı reseptörleridir, bu reseptörlerle ilişkili ölüm ligandlarının Fas-L, TNF-alfa, TROİL bağlanması ile ekstrinsik yolağı başlatılır ve bu şekilde apoptozis indüklenir (Karabekir, 2017).

Intrinsik (içsel) yolağı; inflamasyon, stres, toksik reaktiflerle tetiklenebilir. Mitokondri zar potansiyelinde gerçekleşen farklılıklarla aktif hale gelir. Mitokondri zar potansiyelindeki farklılıklar mPTP’lerin açılması ve mitokondri iç zarında yer alan sitokrom c’nin sitozole translokasyonu ile tamamlanmaktadır. Sitokrom c Apoptozis Proteaz Aktifleştirici Faktör 1 (APAF-

1) ATP enerjisini kullanarak kaspaz-9'u keser aktifleştirir. Kaspaz-9'da, kaspaz-3'ü aktif hale getirerek hücrede apoptozis olayının gerçekleşmesini sağlar. İntrinsik yolak dış mitokondriyal zarda bulunan Bcl-2 aracılığıyla düzenlenmektedir. Bcl-2 aile üyelerinden olan Bax ve Bad pro-apoptotik, Bcl-W ve Bcl-X ise anti apoptotik özelliğe sahiptir (Çolak, 2020; Ünsal, 2018).

Granzim yolak; sitotoksik T hücresi, enfekte olan hücre zarından por oluşumuna sebep olarak (oluşan por perforin olarak adlandırılır) granzim A ve B enziminin hücre içerisine girişini sağlamaktadır. Oluşan bu enzimler kaspazların aktif hale gelmesiyle (Kaspaz-9 ve Kaspaz-3 aktivasyonu) apoptozis oluşumunu sağlamaktadır, ya da set kompleksini aktif hale getirerek DNA'nın kesilmesine sebep olurlar (Tomruk, 2017).

Apoptozisin hücrede kısmi yetersizliği ya da aşırı gerçekleşmesi hastalık sebebidir. Örneğin yeterli düzeyde gerçekleşmeyen apoptozis sonucunda kanser, aşırı düzeyde gerçekleşen apoptozis sonucunda ise miyelodisplastik sendrom, AIDS, nörodejeneratif rahatsızlıklar ve İ/R hasarı (miyokard infarktı ve serebrovasküler inme-atak) görülmektedir (Çolak, 2020).



Şekil 1.3. Apoptozisin aktifleştirilmesinde görevli yollar (Değerli, 2019).

1.5.2. p53 Proteini

İnsan genomunda 17. kromozomun p kolunda (17P13.1) yer alan p53 geni, tümör baskılayıcı genler içerisinde önemli görevleri bulunan genlerden biridir. p53 geni, p53 proteinini kodlamakla görevlidir (Sabapathy vd., 2019). 53 Kda moleküler ağırlığa sahip olan bu protein; stres oluşturan durumlar, telomerez yokluğu, dNTP eksikliği, DNA hasarı gibi koşullarda seviyesi çok fazla artan proteinler içerisinde bulunmaktadır (Marcus vd., 2019). Oksidatif stres, DNA hasarı gibi durumlarda p53 proteini uyarılır, uyarım sonrası hücre siklusu durdurulur ve hasar onarım mekanizması aktifleştirilir, hasar tamir edilemeyecek bir seviyede ise p53 proteini hücreyi apoptozise sürükler. p53 proteini, uyarıldığı zaman konsantrasyon seviyesinde artış olur ve spesifik

olarak DNA'ya bağlanarak, birçok farklı genin faaliyetini olumlu-olumsuz yönden etkilemektedir (Kanamathipillai, 2018; Stein vd., 2019). p53, 100'den fazla genin aktivitesini düzenlediği ve biyoinformatik analizler sonucunda p53'ün genom üzerinde 4000'den fazla bağlanma konumuna sahip olduğu bilinmektedir. p53 proteini, 393 aminoasitten meydana gelen fosfoprotein kodlar ve 10 intron 11 ekzondan meydana gelen bir gen aracılığıyla kodlanır. Yapı-işlev olarak araştırıldığı zaman p53 proteini beş farklı alandan meydana gelmiştir, bu alanlar sırasıyla şöyledir;

Transkripsiyondan aşamalarda görevli olan N terminal alanı (1. ile 43. aminoasit arasındaki kısım), prolince zengin olan kısım (64. ile 92. aminoasit arasında), p53 mutasyonlarının olduğu DNA bağlanma bölgesi ya da merkezi kor alanı (100. ile 300. aminoasit arasında), protein tetramerizasyon alanı (320. ile 360. aminoasit arasında), zengin bir lizin aminoasite sahip C-terminal alanıdır (360. ile 393. aminoasit arasında). p53 proteinin apoptotik aktivitesi ve stabilitesi için, prolin bakımından zengin bölge büyük önem arz etmektedir. Tetramerizasyon bölgesi p53'ün aktive olması için çok önemlidir. p53'ün DNA bölgesine bağlanması için büyük önem taşıyan ise DNA bağlanma alanıdır. Yapılan araştırmalar sonucunda p53 mutasyonlarının %95 oranında bağlanma alanında olduğu gözlemlenmiştir (Pilley vd., 2021).

p53 proteini birçok farklı hücrel uyarılar sonucunda aktifleşmektedir ve yine birçok biyolojik sinyal ağında önemli görevleri bulunmaktadır. Transkripsiyon faktörü olarak da görevleri bulunan p53 proteini, DNA onarımında, apoptozis sırasında hücrel yanıt için beklemekte olan genlerin transkripsiyonunda da görev üstlenmektedir. p53 proteini; kaspaz 3, 7, 8 ve 9 enzimlerini aktif hale getirerek, apoptozis mekanizmasını uyarır. Bu şekilde malignan oluşumunu engellemiş olur. Hücrede ya da DNA'da hasar mevcut ise p53, bazı genlerin aktif hale gelmesine (Fas, BAX, Apaf-1 gibi), bazı genlerin ise baskılanmasına (Bcl-2, Bcl-XL gibi) neden olarak apoptozis sistemini etkilemektedir. Yapılan araştırmalarda apoptozisin belirlenmesi amacı ile bazı metotlar geliştirilmiştir, örneğin; giemsa boyama, elektron mikroskopi, floresan mikroskopi, TUNEL yöntemi, kaspaz 3-7 yöntemi, faz kontrast mikroskopi, agaroz jel elektroforezi, ELIZA yöntemi, western blot, hematoksilen-eozin boyama ve flow sitometridir (Felekoğlu, 2021).

1.5.3. TIGAR (TP53 İle İndüklenen Glikoliz ve Apoptozis Düzenleyici) Proteini

Normal hücreler oksidatif fosforilasyon ile glikoz, aminoasit ya da yağ asitlerinden ATP üretmektedir. Kansereleşen hücreler çok hızlı çoğalıp, bölünmeleri nedeni ile çok fazla enerjiye ihtiyaç duymaktadır, yoğun bir şekilde glikoliz kullanmaktadır (Geng vd., 2018).

Reaktif oksijen türleri (ROS) moleküler oksijen oluşumunu sağlayan (O₂) yüksek miktarda reaktif iyon ve moleküllerin heterojen bir grubu olarak tanımlanmaktadır, hücre ölümünde ve sinyal yollarında önemli görevleri bulunmaktadır. ROS, DNA hasarını uyararak kendine özgü bir şekilde apoptozis mekanizmasını harekete geçirebilir (Ağca vd., 2020).

p53'ün kontrolünde yer alan C12orf5 geni ürünü olan TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) aracılığı ile pentoz fosfat yolağından faydalanarak glikoliz metabolizmasını denetlemektedir (Tank vd., 2019). p53'ün kontrolünde yer alan TIGAR'ın glikoliz gelişiminin engellenmesine sebep olan hücrel fruktoz-2,6-bifosfat (Fru-2,6-P₂) seviyesini azalttığı, pentoz fosfat yolağı aracılığı ile Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (NADPH) seviyesini artırarak ROS düzeyini kontrol ettiği ve oksidatif fosforilasyon aracılı apoptozisi önlediği belirlenmiştir (Shen vd., 2018). Yapılan bilimsel çalışmalar neticesinde Won ve arkadaşları (2012), TIGAR'ın

ekspresyon seviyesinin invazif kanser hücrelerinde yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Buradaki en önemli soru şudur; ‘kanserleşmiş olan hücrelerin sağ kalımı için glikolize bu kadar bağlı iken neden daha çok TIGAR’a gereksinim duymaktadır?’ Bensaad ve arkadaşlarının (2009), yapmış oldukları çalışma sonucunda TIGAR’ın ROS ile uyarılan hücre ölümü karşısında hücreyi koruduğu belirlenmiştir, bu sonuç aslında kanser hücrelerinin TIGAR’a neden bu kadar ihtiyaç duyduklarının göstergesidir. Yapılan araştırma sonuçları incelendiğinde artan TIGAR seviyesi, hücrede ROS ile tetiklenen programlı hücre ölümünün aktif hale gelmesini önlemede, hücreyi ikna edici rol oynadığı düşünülmektedir (Ağca vd., 2019a).

1.6. Otofaji

Yunanca’dan türetilmiş olan otofaji terimi ‘kendi kendini (oto), yemek (faji)’ olarak tanımlanmaktadır. 2016 yılında Yoshinori Ohsumi’nin Fizyoloji ve Tıp alanında, otofaji mekanizmasıyla ilgili yaptığı çalışmaların Nobel ödülüne layık görülmesi, bilim dünyasının otofaji mekanizması üzerine ilgisinin artmasına sebep olmuştur. Otofaji sisteminin aydınlatılması ile ilgili gerçekleştirilen ilk çalışma mayalardaki (*Saccharomyces cerevisiae*) otofajiden sorumlu olan genlerin belirlenmesiyle gerçekleşmiştir. Yapılan çalışmada genetik tarama testleri sonucunda otofajiyle alakalı 32 genin farklı olduğu (Atg’ler) belirlenmiş bunların birçoğu sineklerde, solucanlarda, mantarlarda, bitki, memeli hücrelerinde muazzam bir seviyede değişime uğramadığı belirtilmiştir. Otofajiyle ilgili ilk olarak besin eksikliğiyle aktifleşen, lizozom ile makromolekülün hücre içerisinde yıkımını gerçekleştirerek, sonraki aşamada ürünlerin tekrar elde edilmesiyle hücrede oluşan stres koşullarına alışması amacıyla ona yardımcı olan bir sistem olduğu belirlenmiştir (Aybek, 2021; Alvur, 2020). Fakat son yıllarda otofajiyle ilgili yapılan çalışmalarda bu görevinin dışında metabolizmayı düzenlemek, hücre ölümü, hücre yaşlanması-farklılaşması, doğal ve adaptif immün sistemde görev aldığı belirtilmiştir (Acar, 2020). Otofaji sisteminde meydana gelen bozukluklar nörodejeneratif ve kardiyovasküler gibi birçok patolojik hastalıklara sebep olduğu belirlenmiştir (Erfidan, 2020).

Otofaji üç şekilde gerçekleşir; Mikrootofaji; lizozoma ait membranın iç tarafa doğru çökmesi sonucunda lizozom tarafından stoplazmanın alınması ve sindirilmesidir. Makrootofaji; hasara uğramış büyük organellerin sindirilmesinde görevlidir. Şaperon kaynaklı otofaji ise; seçici bir şekilde lizozom zarına ‘KFERQ’ tekrarlı proteinlerin taşınmasında görevli bir otofaji çeşididir (Ülgenalp vd., 2018).

Otofaji uygun koşulda olması gerekenden fazla yaşayan ve hatalı katlanan proteinin bozulmasına sebep olarak hücre içeriğinin kalitesini kontrol eder, hücresel dengenin korunmasını sağlar. Bu kontroller hastalıkların oluşmaması açısından büyük önem arz etmektedir (Alvur, 2020).

Örneğin; otofaji sisteminde meydana gelen aksaklıklar sebebiyle nöronlardaki protein topluluklarının ve hasara uğramış organellerin birikmesi nedeniyle HD, Alzheimer, Parkinson ve ALS vb. birçok farklı ‘nörodejeneratif’ (JPND) hastalıklar oluşmaktadır.

Otofaji hücre stres şartlarında; oksidatif hipoksi, stres ve enfeksiyonda hücreyi korumakla görevlidir (Turhan, 2017).

Açlık (starvasyon) süreci boyunca otofaji DNA, RNA, karbonhidratlar, protein, trigliserid benzeri makromoleküllerin yıkımını sağlar. Bu şekilde aminoasitler, serbest yağ asitleri, nükleozidler, şekerler sonradan tekrar oluşacak hücresel, biyomolekül fonksiyonlarda olması gereken ATP emisyonunda kullanmak için hücre içerisinde bulunacaktır.

Otofajinin mekanizması, oksijen düzeyinin az olmasının sebebiyet verdiği stres koşullarını düşürmek amacıyla uyarılabilir. Oksijen yokluğunda uyarılan ilk faktör 'HIF1a', Beclin 1/Bcl 2 kompleksinin bozulmasına neden olarak, otofajiyi uyaran 'BNIP3' ekspresyon seviyesini arttırarak bu yanıtı yardımcı olur.

Otofaji hücrede iç dengenin korunmasının dışında, intraselüler mikrobiyal enfeksiyonlarda da etkin rol almaktadır. *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium tuberculosis* ve Grup A *Streptococcus* benzeri istilacı patojenler otofajik mekanizma yardımıyla yakalanarak, degradasyon için lizozomlara aktarılır.

Hücrede serbest radikalın fazla miktarda olması birçok organel ve moleküle hasar vermektedir. CHOP-PERK-eIF2a-ATF4 yolağıyla oksidatif stres indüklenerek, otofajik mekanizmaları aktif hale getirir. Hücrede ROS miktarının artması JNK1 örneğinde olduğu gibi Bcl-2'yi fosforize ederek otofajik mekanizmayı aktifleştiren MAPK'yı indükleyebilir. Fosforillenmiş 'Bcl-2' Beclin 1'le bir kompleks meydana getiremez ve Vps34'ün oluşturduğu komplekse katılarak, otofagozomun oluşumuna sebep olmaktadır (Turhan, 2017).

1.6.1. Otofajinin Regülasyonunda Görevli Olan Moleküler Mekanizmalar

Otofaji uygun koşulda, olması gerekenden fazla yaşayan proteinin yıkımına sebep olur, kısa ömürlü olan proteinin ise proteozomal yıkımına yardımcı olan bir mekanizmadır. Otofaji stres koşullarında aktif hale geldiği zaman uzun ömürlü olan protein veya içerisinde organelleri bulunduran stoplazma içeriği 'izolasyon membran' ismiyle de adlandırılan sisternal zar özelliğine sahip fagoforla çevreleyerek içine alır (Alvur, 2020). 'Fagoforların memelilerde orjinlendiği yapı nedir?' konusunda farklı görüşler ileri sürülse de ER, trans- golgi ve endozomlardan köken alan, çift katlı lipit yapısına sahiptir. Fagofor sonrası aşamada 'otofagozom' olarak adlandırılan çift katlı membran vakuollerini meydana getirmek için uzar, genişler ve ribozom, organel ve protein agregatlarını da alarak kapanmaktadır. Otofagozomlar, stoplazmik kargo ile yüklüdür ve dinein motorlar ile mikrotübül üstünde mikrotübül organize edici merkeze ilerleyerek, lizozomla bir araya gelir ve oluşan bu yapı ise 'otolizozom' olarak adlandırılır.

Otofagozomun içerisindeki maddeler lizozomal asit proteazlar ile parçalanır. Lizozomal membranda yer alan permeazlar ve proteazlar yardımıyla ise, parçalanmış ürünleri, aminoasitleri tekrar stoplazmaya aktarılarak yeniden makromolekül sentezi ve metabolizma için kullanıma hazır hale getirilir (Turhan, 2017). Bu süreçler dört aşamada incelenebilir; başlama, nükleasyon, olgunlaşma, lizozomla birleşme ve degradasyon aşaması. Otofajinin bu aşamalarında 40 tane farklı ATG geni etkin rol almaktadır (Kocatürk vd., 2019).

Başlama aşaması; otofagozomların meydana gelmesi için ilk olarak başlama basamağında, memeli hücresinde güçlü uyarı (örneğin aminoasitin olmaması) sonucu endoplazmik retikulumu ait membrandan orjinlenen omegozomun oluşmasıyla başlamaktadır. Target of rapamycin (TOR) proteini (memelilerde ise mTOR olarak bilinmektedir) serin-treonin kinazdır (serin-treonin kinaz otofajinin majör regülatörüdür) (Tok, 2019). mTOR proteini otofaji ile alakalı farklı iki kompleks

içerisinde bulunmaktadır. Bunlar, ‘mTORC1 - mTORC2’ dir. ‘mTORC1 kompleksi’ meydana getiren protein grubu şunlardır; Atg13, Atg101, RAPTOR, FIP200, ULK1/2’dir. mTORC2’yi ise meydana getiren protein grubu şunlardır; PROTOR, mLST8, mSIN1, RICTOR’dur. ‘mTORC1 kompleksi’ genellikle besin ilişkili sinyal karşısında çok duyarlılık göstermektedir, otofaji çoğunlukla ‘mTORC1-bağımlı’ bir şekilde mTORC1’i durdurarak uyarır (Ravanan vd., 2017). AMPK, ATP seviyesinin azalması sonrasında artış gösteren AMP’le etkileşim sonucu konformasyonel olarak farklılaşarak, aktif hale gelen heterotrimerik enzim grubundadır. AMPK aktivasyonu, TSC2’nin oluşturduğu kompleksi aktif hale getirerek, ‘RAPTOR’u ise durdurarak ‘mTORC1’ in aktivitesini önler. Bununla birlikte AMPK, ULK1’i fosforize ederek aktif hale getirir ve ULK1’in mTOR1 kompleksinden kopmasına sebep olmaktadır (Altınoluk, 2019). Bazal büyüme şartlarında lizozom membranı ile alakalı olan FIP200-Atg13-ULK1/2, mTORC1 kompleksiyle beraberdir, oluşan beraberlik ‘RAPTOR, ULK1/2’ arasında kurulan bağlantı ile gerçekleşmektedir. Aktifleşmiş mTOR, ‘Ag13 ve ULK1/2’ fosforize ederek ‘ULK1/2’ nin kinaz aktivitesine engel olur. Fakat kimyasal ile muamele edilmesi ya da besinin olmaması neticesinde mTOR’un baskılanması ile ULK1/2, mTORC1 kompleksinden ayrılarak otofosforize olur. Aktif hale gelen ULK1/2, FIP200 ve Atg13’ü ve fosforize ederek kompleks oluşturur (Atg13-Atg101-ULK1/2-FIP200) ve preotofagozomal membran ile transloke olarak, burada Atg-9’la birleşerek PI3K (Sınıf III fosfotidil inositol 3 kinaz) kompleksi membrana getirilerek aktifleştirilir. Atg9 birçok geçişe sahip transmembran proteinlerden biridir ve golgi komplekslerinde yer alan membran yapılarını, meydana gelecek otofagozom bölümüne taşır, tüm bu aşamalar neticesinde otofaji uyarılmış olur (Kocatürk vd., 2019; Yu vd., 2018).

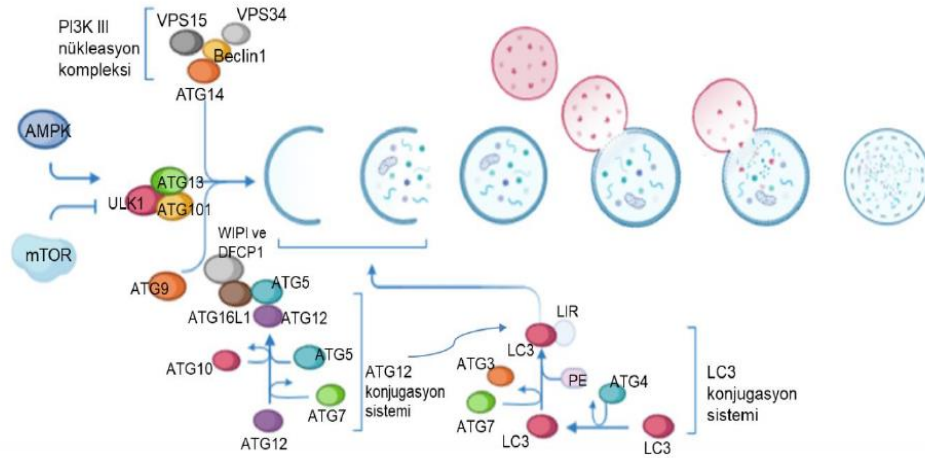
Nükleasyon aşaması; izolasyon membranı veya fagofor olarak isimlendirilen ‘C’ benzeri yapıların meydana gelmesi olarak tanımlanan otofajinin ‘nükleasyon’ aşamasında öncelikle Sınıf III PI3K kompleksi görev alır. Bu komplekste bulunan proteinler şunlardır; Beclin 1, Atg14, p150, Vps34 (vesicular protein sortin 34), AMBRA1, Atg9’dur. Subsrat olarak Vps34’ün kullanmakta olduğu ‘fosfotidilinositol lipitleri’, ‘fosfotidil inositol trifosfat’a dönüşmesini sağlamaktadır. PI3P’ler fagofor uzamasına, farklı Atg proteinin de fagofora dahil edilmesinde gereklidir. Beclin 1, ‘BH3 domaini’ sebebiyle Bcl-2’le bağlantı halindedir (Bcl-2 antiapoptotik proteindir) ve bu bağlantı otofajiyi engellemektedir. Fakat açlık uyarı sinyali sonrasında ise Bcl-2’nin ‘Jnk’ yardımı ile fosforilasyonu neticesinde Beclin 1’in Bcl-2 proteininden ayrılarak ‘Vps34’ le etkileşime girer ve membran nükleasyonuna destek olur. AMBRA1, ULK1 aracılığıyla fosforillenip dinein motor kompleksinden uzaklaşır ve fagofor oluşumu sırasında Beclin 1’e bağlanabilmek amacıyla endoplazmik retikulum ile transloke oluşturur. Vps34-Beclin 1 kompleksinin aktif hale gelmesi için Beclin 1-bağımlı olarak Bcl 2 ve RUBICON (negatif regülatör), BIF1, VMP1, Atg14L (Barkor), UVRAG, proteinler yardımı ile düzenlenir. Oluşan kompleksin üyelerinden biri olan p150 (mayalarda Vps15’e benzemektedir) Vps34’ü düzenler, PI3K’12 etkileşmesi lipit kinaz özgül sonucunda ise aktiviteyi arttırmakla görevlidir. Vps34-aracılı PI3P’nin enzimatik üretimi, PI3P bağlayıcı bir domain bulunduran otofajik proteinler (DFCP, WIPI1-4) gereken yerleşme için alanını elde eder, aşamalar membran olgunlaşma sürecinde bu şekilde gerçekleşerek ilerlemektedir (Ünsal, 2018; Vurgun, 2020).

Olgunlaşma aşaması; olgunlaşma veya uzama olarak isimlendirilen ve izolasyon membranının otofagozom sürecinin tamamlanmasına kadar genişleyip, degrade olacak içeriğin etrafında uç kısımlardan bir araya gelerek kapanma süreci olarak tanımlanmaktadır, sürecin

ilerlemesi için 2 ubikutin benzeri konjugasyon sisteminden Atg12-Atg5 konjugasyon sistemleri, PE-LC3 sistemleri görevlendirilir (Eroğlu, 2018). Atg12-Atg5 konjugasyon sistemi, Atg10, Atg7, Atg16L1 benzeri üyelerde bulunmaktadır (Atg10 E2, Atg7 ise E1 benzeri enzimdir). Atg7, Atg12'yi aktifleştirerek E2-benzeri ubikitin taşıyan proteinlerden Atg10'a aktarılır. Atg10, Atg12'nin Atg5'e lizin 130 (K130) rezidüsünden kovalent konjugasyonu kalatiz eder. Atg12-Atg5 konjugasyonunun devamında Atg16L1'de bu konjugasyona eklenir, E3-benzeri fonksiyona sahip olan Atg16L1-Atg12-Atg5 kompleksi (kDa 800'dür) meydana gelir. Kompleks ikinci konjugasyonun oluşması amacıyla E3-benzeri enzim aktivitesi görevindedir, fagora ise en uygun büyük yapısının oluşmasını sağlar. İkinci sistem, LC3 proteinine lipit molekülü olan PE konjugasyonunu bulundurmaktadır. Öncül LC3 proteini Atg4 aracılığıyla kesilmektedir ve LC3-I olarak isimlendirilen serbest sitozolik protein meydana gelir. Kesilmesi neticesinde ise oluşan karboksi ucunda yer alan glisin rezidülerine PE konjugasyonu Atg3, Atg7 aracılığı ile oluşturulur (Alvur, 2020; Yılmaz, 2020). Meydana gelen PE takılı LC3 proteini LC3-II ile isimlendirilir, çift katmana sahip otofagozom membranının her iki tarafında da yer almaktadır (Şekil 1.4). Bu nedenle otofagozomların ve otofajinin tespit edilmesi noktasında belirteç görevi görmektedir (Güçlü, 2020).

Lizozomla birleşme ve degradasyon aşaması; otofagozom meydana gelme sürecinin tamamlanmasının ardından parçalanacak içeriği sınırlandıran otofagozomların, degradasyon aşamasının oluşmasını sağlayacak lizozomlar ile birleşmelidir ve oluşan yapı 'otolizozom' olarak isimlendirilir. Bunun oluşması için de otofagozom ve lizozomlar birbirlerine yaklaşmalıdır, sonraki süreçte ise SNARE yardımıyla birleşme meydana gelir. Otofagozom ve lizozom birleşiminin ilk aşamasında, 'otofagozomal zar' lizozomla birleşir. İç otofagozomal membran, lizozomal hidrolazlar aracılığı ile bozulmasıyla ve otofagozom içeriğinin lizozom lümenine etkileşime girmesiyle tam birleşme gerçekleşir. Füzyonun sağlanması için etkin rol oynayan; birleştirici faktörler, fosfolipitler, sitoskelet elemanlar ve bağlantılı proteinleri ve spesifik SNARE kompleksleridir. Starvasyon şartlarında intraselüler pH'ta meydana gelen farklılıklar lizozomların perinükleer kısımda kümelenmesine, otofagozomların ise hücre etrafında geliş güzel oluşmasına sebep olmaktadır. Gelişim sürecini bitiren otofagozom, mikrotübülle tutunarak mikrotübülün uzunluğu kadar taşınır, lizozomun yer aldığı perinükleer kısımda yoğunlaşır. Otofagozomların mikrotübül üzerinden lizozomların bulunduğu yönde taşınmasına sebep olan 'dinein ve kinaz' motor proteinlerdir. Otofagozom-lizozom füzyonunda görev alanlar; mikrotübül kökenli olan motor proteinlerin dışında MiyozinVI- MYO6, MiyozinI- MYO1 benzeri, kökeni aktin olan proteinlerdir (Gökçek, 2020).

İlk zamanlar otofajinin degrade edeceği içeriği rastgele seçtiği söylene de, son zamanlardaki çalışmalar sonucunda farklı olan otofaji reseptörlerinin özgül kargoları tanıyıp belirleyerek degradasyona karar verdiği sonucuna varılmıştır. Yapılan bu araştırmalar seçici ve seçici olmayan otofaji ayırımına sebebiyet vermiştir (Üstünova, 2020). Seçici otofajide görevli otofaji reseptörleri şunlardır; OPTN ve BNIP3L'dir. Reseptörlerden birkaçı hedeflenen kargo ile birleşerek ubikutinleyebilir, bazıları ise LIR (LC3-etkileşim bölümü) motifleri taşımakla görev alır ve taşınan motifler hala kapanmayan otofagozom membranının içerisindeki LC3'e tutunarak, otofagozomun çevresinde meydana gelmesine sebep olur. Bu otofaji reseptörleri çoğu zaman kargo ile beraber lizozom füzyonundan sonra degrade olur, bu nedenle hücresel seviyeleri otofajinin aktivasyonunu yükseltmesi ile düzeylerinde azalma olur. Bu durum otofaji reseptörlerinin, otofaji aktivite ölçümü için nitelik olarak kullanılmasına sebep olmuştur (Alvur, 2020).



Şekil 1.4. Otofajinin düzenlenmesinde rol oynayan temel moleküler mekanizmalar (Alvur, 2020).

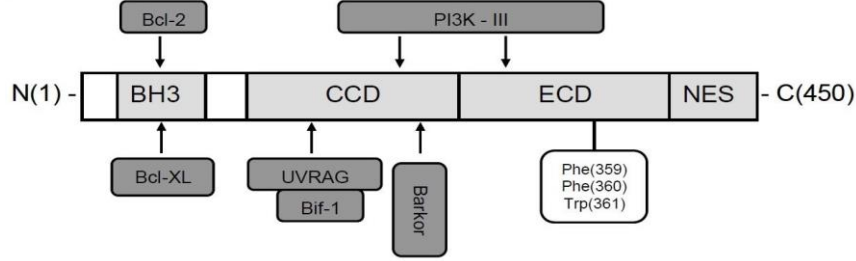
1.6.2. Beclin 1 Proteinini

60 kDa moleküler ağırlığı olan, 450 aminoasitlik dizilimi olan proteini kodlamaktadır. Otofajinin düzenlenmesinde Beclin 1'in önemli görevleri bulunmaktadır. Ayrıca yapılan genetik çalışmalar neticesinde; immün savunma sistemi, hücre ölümünün düzenlenmesi, kalp hastalıklarının engellenmesinde de görev almaktadır. Beclin 1; fosfatidilinositol-3-fosfat (PI3P) oluşturmak için fosfatidilinositolün inositol halkasının 3 pozisyona sahip hidroksil grubunun fosforilasyonunu katalizasyon işlemini gerçekleştiren, sınıf III fosfatidilinositol 3-kinazın (PI3KC3) temel bileşenlerinden birini oluşturmaktadır. III-PI3Ksınıfı içerisinde PI3KC3, mayadan insanlara büyük oranda değişime uğramayan tek komplekstir ve PI3KC3 (Vps34), p150 (Vps15), Beclin 1 (Vps39/Atg6) içerisinde bulunduran çekirdek kompleksinden meydana gelir. PI3KC3, otofaji ve vakuolar protein sınıflandırılmasında (Vps) pleiyotropik görev almaktadır. Bu kompleksin, diğer hücrelerdeki süreçleri konusunda nasıl farklılaşmaya uğradığıyla alakalı henüz net bilgiler bulunmamaktadır. Mayada bulunan Atg14 ve Vps38; farklı komplekslerin gerçekleşmesine, sub-selüler lokalizasyonuna, otofaji ve Vps'de görev alan merkezi PI3K kinazın lipid fosforilasyonuna eşlik eder. Beclin 1, her biri farklı görevi bulunan üç alandan meydana gelmiştir. Bunlar; BH3, CCD ve ECD'dir (Şekil 1.5).

BH3: N ucunda lokalize olan BH3 alanı (Bcl-2 homoloji alanı) 125 aminoasitten oluşmaktadır ve Bcl-XL, Bcl-2 gibi antiapoptotik protein ailesinin üyelerini bağlayabilme özelliği bulunmaktadır.

CCD: Merkezi çift kıvrımlı bölgeyi (CCD 144. ile 269. aminoasit arasında) UV ışınlama direnci ilişkili gen (UGRAV) ve sınıf III PI3 kinaza tutunmaktadır. İn vivo-in vitro olarak hiçbir yardım olmadan birleşmeyi ve dimerizasyonu düzenlemekle görevlidir (Baytar, 2019).

ECD: Beclin 1'i oluşturan üçüncü evrimsel olarak korunan alandır, sınıf III PI3 kinaza tutunur, hücrede yer alan organellerin lipid membrana bağlanmasında görev almaktadır. Bu alanda yer alan kardiyolipit ile zenginleşen lipid membrana (mitokondri örnek gösterilebilir) öncelik verilmesi ile hidrofobik parmak meydana getiren, art arda oluşan aromatik aminoasit keşfedilmiştir (Phe359-Phe360-Trp361) (Baytar, 2019).



Şekil 1.5. Beclin 1 proteini oluşturan yapılar (Baytar, 2019).

1.6.3. Otofajinin Başlatılmasında Beclin 1'in Rolü

Otofajinin düzenlenmesinde görevli önemli proteinlerden biride Beclin 1'dir, ayrıca otofajik mekanizmanın aktifleşip aktifleşmediğini belirlemek amacıyla Beclin 1 gösterge görevi görmektedir. Beclin 1, temel sinyal başlatma kompleksinde (sınıf III PI3 kinaz, Beclin 1 ve p150 proteini) yer aldığı için otofagolizozomu meydana getiren protein dizisini aktive ederek doğrudan etki eden bir mekanizmadır. Beclin 1 proteinin otofajiyi aktifleştirmedeki görevi, proteini oluşturan alanlarda (ECD, CCD, BH3) yer alan özgül proteinlerle ilişkilendirilmektedir. ECD ve CCD alanlarında yer alan proteinler içerisinde en önemli protein, öncelikle *Saccharomyces cerevisiae* mayasında belirlenmiş vakuoler protein sınıflandırması (Vps34) homologu olan sınıf III fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K III) örnek gösterilmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda memeli hücrelerinde sınıf I, II ve III PI3 kinaz bulunduğu belirlenmiştir. Sınıf III PI3 kinaz ve sınıf I otofaji mekanizmasına katılmaktadır. Sınıf I hücre zarını oluşturan bileşenlerden biridir ve mTOR kinazı aktifleştirmek için sinyal iletim yolağında bulunmaktadır. Hücrenin çoğalması ve hücre iskeletinde görevli olan elemanların hücre içerisinde yer değiştirmesini ise sınıf III PI3 yardımcı olmaktadır. Sınıf III PI3 kinaz, yalnız Beclin 1 proteini ile kompleks oluştururken çalışabilir. Beclin 1/PI3K-III kompleksi, trans golgide yeri bellidir ve artan fosfatidisinol 3-fosfat (PIP3) üretiminde görev alarak fagoforun uzamasını destekler, diğer Atg proteinlerinin fagoforlara katılmasına müsaade etmektedir. PI3 kinazın aktivitesinin wortmannin ya da 3 metiladenin gibi inhibitörler ile bloke oluşturması neticesinde PI3K'nın stratejik etkisini doğrular ve otofajiyi engellemektedir (Hill vd., 2019). Antiapoptotik protein ailesine ait üyeler, BH3 alanı yardımı ile Beclin 1'e bağlanmaktadır. Proteinlerin bağlanması ya da proteinlerin bağlandığı yerden ayrılması, sürecin durması ya da aktifleştirilmesi ile sonuçlanmaktadır. Sürecin çok hızlı bir şekilde ilerlemesini engellemek amacıyla düzenleyici olarak görev yaparlar, proliferasyonu ve hücrenin büyümesi amacıyla besin alım işlemini kolaylaştırarak, hücrede bozulmalar karşısında koruyucu bir etki gösterir (Shi vd., 2018). Beclin 1, otofagozomun meydana gelmesinden

otofagozom/endozom olgunlaşmasına kadar geçen süreçlerin her bir aşamasında otofajide etkin rol oynar. Etkilerin birçoğuna otofajik inhibitörler ve otofajik indükatörler de dahil, özgün Beclin 1 bağlayıcı proteinlerin aktivasyonu eşlik etmektedir. Beclin 1 komplekslerinin bir araya gelmesi hücre ya da dokuya bağlı olarak gerçekleşmektedir (Baytar, 2019).

1.7. Apoptozis-Otofaji Bağlantısı

Hücrelerin hayatta kalması amacıyla, hücresel stres durumlarında önemli görevleri bulunan otofaji, gereğinden fazla fonksiyon gösterir ise hücreyi atrofiye uğratması konusunda hücre ölüm şekillerinden biri olarak gösterilmiş, bu anlamda programlı hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozisle farklılık-benzerlik açısından ilişkisini değerlendirmek için birçok çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Yıldırım, 2018). Apoptozis hücrelerin küçülmesi, kromatinde gerçekleşen yoğunlaşma, son olarak da apoptotik cisimlerin parçalara ayrılması gibi özelliklerle ön plandadır. Kaspaz olarak adlandırılan proteazlar, apoptozis hücre ölümünün önemli bir faktörüdür, kromatin DNA'sı ve hücre yaşamında gerekli proteinler, hücrede dikkat çeken morfolojik değişimler bu proteazlar ile kesilmesi sonucunda oluşmaktadır. Apoptotik cisimlerin son aşaması fagositlerin lizozomları ya da heterofagositoz sonucu komşu hücrelerin lizozomları olarak belirlenmiştir. Hücre ölüm şekillerinden biri olan otofaji de ise en dikkat çeken morfolojik değişimler stoplazmada meydana gelen iki ya da daha fazla katmanlı zar ile çevrelenmiş keseciklerin oluşmasını sağlamaktadır. Zarla çevrelenmiş olan bu kesecikler; stoplazma parçaları ya da mitokondri, endoplazmik retikulum benzeri organeller bulundurmaktadır. Son aşamada ise otofaji kesecikler lizozomla bir araya gelerek taşıdıkları molekülleri lizozomal enzimler aracılığı ile parçalanmasına neden olurlar. Otofaji mekanizmasında hücre ölümü kaspaz bağımlı olmadığı için DNA merdivenler ve apoptotik cisimler görülmemektedir. Otofajide ölü hücreler fagositoz ile yok edildiği için apoptozis ile kıyaslandığında daha uzun ve düzensiz olarak gerçekleşmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda otofajik hücre ölümü stoplazmada meydana gelmektedir, apoptozisde ise hedef, DNA'nın içerisinde yer alan hücre çekirdeğidir. Küçük stoplazmaya sahip hücrelerin (örneğin lenfositler) yok edilmesi aşamasında genellikle apoptozis mekanizması yeterlidir. Ancak büyük stoplazmaya sahip hücrelerin yok edilmesi aşamasında birden çok mekanizmanın aynı zamanda aktif hale gelmesi gerekmektedir. Bu şekilde, apoptozis mekanizmalar çekirdeğin yok olmasını sağlarken, otofaji stoplazma ve burada yer alan organelleri temizleyip hücre ölümünün hızlanmasını sağlayabilmektedir. Otofaji ve apoptozis birlikte çalışarak hücre ölümüne sebep oldukları gibi, birbirini engelleyen çarpaz düzenlemelerde de bulunabilirler. Otofaji, özellikle apoptozun engellendiği aşamalarda apoptozis mekanizması ile ölme imkanının olmadığı durumlarda hücre ölümüne sebebiyet verebilir ve özellikle apoptozis ile birlikte 'hücre ölümü B planı' olarak işlem görmektedir (Baytar, 2019; Gürler, 2019). Otofaji direk olarak gerçekleştirilmezse de, fosfotidilserin (PS) ile karşı karşıya kalmak ve membran salgısı gibi ATP'ye bağlı mekanizmalarda morfolojik farklılıklara eşlik ederek apoptotik mekanizmaları aktif hale getirir (Bulut, 2019).

1.8. Malondialdehit (MDA)

Reaktif oksijen ürünlerinin toksik etkileri karşısında, biyolojik yapılardan en duyarlı olan lipitlerdir. Özellikle hücre membranında yer alan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile birlikte sıklıkla tepkimeye girerek peroksidasyonu meydana getirirler. Doymamış yağ asitlerinin görevi hücre membranında akışkanlığı sağlamaktır, fakat doymamış yağ asitlerinde oluşan hasar sonucunda membran akışkanlığında azalma meydana gelir (Keskin, 2020; Güney, 2021). Çoklu doymamış yağ asitlerinde bulunan reaktif türlerin genellikle hedeflediği yer karbon-karbon çift bağlarıdır. Serbest radikallerin hidrojen atomuna kolay bir şekilde ulaşabilmesi için karbon-karbon çift bağının yağ asidi karbon hidrojen bağını zayıflatmasına bağlıdır. Lipit serbest radikalının meydana gelmesi için bu radikalın bir hidrojen atomunu bırakması gerekmektedir, meydana gelen lipit serbest radikali oksidasyon geçirerek peroksil radikalının oluşmasına sebep olur. Diğer çoklu doymamış yağ asitleri ile etkileşim gerçekleştiren peroksil radikali, yağ asitlerinde yer alan elektronlardan kurtarır, böylelikle lipit hidroperoksitleri ve diğer lipit serbest radikaller meydana gelir. Bu aşamalar lipit bir zincir reaksiyon içinde sürekli tekrar ederek gerçekleşebilir. Lipit hidroperoksitin kararsız bir yapısı olması nedeniyle parçalanır, lipit peroksidasyonun son ürünü olarak adlandırılan MDA meydana getirir (Korkmaz, 2020; Özcan, 2018). Lipit peroksidasyonu gerçekleşirken, biyolojik yapılar içerisinde kolay bir şekilde tespit edilebilen ve peroksidatif hasar sonucunda belirteç olarak gösterilen MDA oluşmaktadır. Malondialdehit lipit peroksidasyonunun önemli ürünlerinden birini oluşturmaktadır. Meydana gelen malondialdehit hücre membranında iyon alış verişini olumsuz yönde etkileyerek membranda yer alan bileşik bağlanmalarının çarpaz olmasına ve enzim aktivitesinde farklılaşma vb. menfi sonuçlara sebep olan, vücut için zararlı bir üründür (Tunç, 2018; Güngörmez, 2019). Oksidatif stres neticesinde oluşan hasarı önlemek amacı ile vücutta birçok savunma sistemleri meydana gelir. Bunlar antioksidanlardan oluşan savunma mekanizması ve enzimatik karakterden oluşan SOD, GSH-Px, CAT ile enzimatik olmayan GSH, A,E,D vitaminleri gibi maddelerden meydana gelmektedir (Gündüz, 2021). Aldehit yapıları olan bileşimler genellikle uzun yaşam süresine sahiptir, bu şekilde hücre membranına direk geçebilir, bu sebeple lipit peroksidasyonunun etkileri organlarda, dokuda ve kanda gözlemlenebilir (Sarıkaya, 2020).

1.9. Glutasyon (GSH)

Glutasyon tripeptit yapısına sahip, içerisinde sistein bulunduran, ince bağırsakta emilme özelliğine sahip antioksidan enzim sistemlerinden birini oluşturmaktadır (Güven vd., 2020). Glutasyon birçok vücut fonksiyonlarında aktif bir şekilde etkilidir. Örneğin; bazı enzimlerin aktifleşmesinde, peroksit metabolizması, iskelet-kas bütünlüğünün sağlanması, aminoasit transportunun gerçekleşmesi, DNA sentezi ve hasara uğramış kısımların onarılması gibi. Ayrıca GSH birçok farklı ilaç ve karsinogen benzeri toksik yapılara karşı korumaktadır. Oksidatif stres karşısında belirteç olarak GSH düzeyleri kontrol edilmektedir (Ertunç, 2017; Korkmaz, 2017).

1.10. Katalaz (CAT)

Oksidoredüktazların canlılardaki görevleri, indirgenme (redüksiyon) ve yükseltgenme (oksidasyon) basamaklarını katalize etmektir. Genellikle bileşikler yapısında yer alan elektronu verebiliyor ise ‘indirgeyici-redüktant’ ajan olarak, kendi yapılarına elektron alabiliyor ise ‘oksitleyici-oksidant’ ajan olarak adlandırılmaktadır. Oksidoredüktazlar üç farklı gruptan meydana gelmektedir. Bunlar; dehidrojenazlar, oksidazlar, hidroperoksidazlardır.

Dehidrojenazlar; H^+ için uygun alıcı ortamda bulunuyor ise substrata bağlı olan hidrojeni ayırmakla görevlidir.

Oksidazlar; oksijen bulundurmaktadır, H^+ için alıcı görevindedir.

Hidroperoksidazlar; vücudu zararlı olan peroksitler karşısında korumak amacıyla, substrat olarak organik ya da hidrojen peroksiti kullanmaktadır. Kendi içerisinde hidroperoksidazlar iki kısma ayrılmaktadır, bunlar peroksidazlar ve katalazlar.

Peroksidazlar; substratın oksitlenmesi için, hidrojen peroksit ile bir arada bulunan hidrojeni uzaklaştırmaktadır. Ayrıca peroksidazlar ‘bitkisel dokularda’ yer almaktadır.

Katalaz; hidrojen peroksidin moleküler oksijen ve suya kadar ayrılmasını sağlamaktadır. Ayrıca katalazlar ‘hayvansal dokularda’ yer almaktadır.

Hidrojen peroksitten oluşan oksijen, alkol- formik asit- fenol- formaldehit benzeri maddelerden H^+ alır ve onların parçalanmasını sağlayarak toksik maddelerin meydana gelmesine sebep olur. Oluşan toksik maddeler kanla böbrek ve karaciğere gelerek peroksizomlarda bulunan enzimler aracılığıyla etkisiz hale dönüştürülür. Organizmada seviyesi düşük olan ‘hidrojen peroksit’ katalaz yardımıyla parçalanır. Fakat ‘hidrojen peroksit’ düzeyinde artış olması ya da katalaz ile parçalanarak zararsız bir hale getirilmemesi sonucunda vücut için tehlikeli olan ‘hidroksil serbest radikali’ ($OH\cdot$)’ın meydana gelmesine katkı sağlar. Vücutta seviyesi fazla olan hidrojen peroksit, lipid peroksidasyonu ya da DNA hasarlarına neden olmaktadır. Yapılan birçok farklı araştırma sonucunda oksidatif stresin neden olduğu sorunlardan olan diyabet, nörodejeneratif bozukluklar, ateroskleroz ve lipid bozukluğunun katalaz aktivitesinin az olduğu kişilerde sıklıkla görüldüğü belirtilmiştir (Ekinci, 2019; Bulgulu, 2019).

1.11. Patoloji

Patoloji ‘Pathes’ teriminden türetilen, eski Yunanca’da hastalık olarak adlandırılan, oluşan hastalıkların bilimsel yöntemler ile incelenmesi olarak tanımlanmaktadır. Patoloji anatomi-fizyolojik bilgiler ışığında, problemleri dokuların mikroskop yardımıyla görünüşündeki anormallikler ile hastalığın kolay açıklanmasını sağlamaktadır. Patolojik incelemeler sonucunda hastalığın tanısı veya tedavisi konusunda yardımcı olmaktadır. Günümüzde birçok hastalığın kesin tanısı için patolojik incelemeler zorunlu ve gereklidir. Patologlar morfolojik değerlendirmenin dışında kalitatif ve kantitatif incelemelerde gerçekleştirebilir, bu değerlendirmeler arasında immünohistokimyasal patolojide bulunmaktadır. İmmünohistokimyasal patoloji; immünolojik reaksiyonlardan yararlanılarak, kromojenik ya da floresan maddeler yardımı ile doku kesitlerinde bulunan hastalıklı etmenlerin işaretlenerek belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır (Ürer, 2020; Kurt vd., 2021).

1.12. Amaç

Antioksidan özelliği bulunan *Lycium barbarum*'un deneysel ülseratif kolit modelinde olumlu etkilerinin olabileceğini düşünmekteyiz. Deneysel ülseratif kolit modelinde, *Lycium barbarum*'un hastalığı önleyici etkisinin ratlarda p53, TIGAR ve Beclin 1 proteinleri üzerindeki potansiyel rolüyle ilgili herhangi bir literatür çalışmasına rastlanmamıştır. Bu tez çalışması ile, ülseratif kolit oluşturulan ratlarda *Lycium barbarum*'un kolon dokusunda apoptotik-otofajik mekanizmasının moleküler biyolojik yönden aydınlatılması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda p53, TIGAR ve Beclin 1 protein ekspresyon seviyesi, MDA ve GSH düzeyleri, katalaz aktivitesi araştırılmış, kolorektal doku histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Hayvan Materyali

Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK) onay belgesi alındıktan sonra (Tarih: 30/12/2019, Toplantı 2019/24, Karar Yazı No: 365723) hayvan refahı ve hayvan haklarına riayet edilerek çalışmalar yürütülmüştür.

Bu tez çalışması FÜDAM'dan elde edilen Wistar albino cinsi sıçanlar ile gerçekleştirildi. Sıçanlar temiz kafeslerde, özel hazırlanmış havalandırma sistemine sahip odalarda bulunduruldu. Pelet halindeki yem, çelik özellikteki kapta, su bilyeli çelik paslanmaz biberon ile verildi. Sıçanlara verilen standart yemin içerisindeki maddeler Tablo 2.1'de belirtilmiştir. Çalışma süresince yem ve içme suyu *ad libitum* olarak verildi.

Tablo 2.1. Deney hayvanlarında kullanılan standart pelet yem bileşimi (*Vitamin karma içeriği; B12, B2, B1, B6, D3, K, A, E vitaminlerinden ve kolin klorit, folik asit, nikotinamid, D biotinden oluşmuştur. **Mineral karma içeriği; Bakır, Kalsiyum, Çinko, Kobalt, Mangan, İyot, Selenyum, Demirden oluşmuştur (Erten, 2019).

Yem Hammaddeleri	%
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya küspesi	25
Balık unu	8
E-Kemik unu	4
Melas 4	4
Tuz 4	4
*vitamin karması	1
**mineral karması	1

2.2. Araştırma Grupları

Sıçanlara 12/12 saat (karanlık/aydınlık) ortam oluşturuldu. Sıçanlar 22±2°C sıcaklığa sahip ve nispi nem oranı %55±5 olan ortamda barındırıldı. Araştırmanın başlangıcında ve haftada üç kez olmak üzere canlı ağırlıklar tartılarak kaydedildi. Araştırma FÜDAM'da yürütüldü. Çalışmada toplam 28 tane, 8 haftalık, erkek Wistar albino cinsi sıçanlar kullanıldı. Hayvan ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde ayarlanarak her grupta 7'şer adet sıçan olacak şekilde rastgele 4 ayrı grup oluşturuldu (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Araştırma grupları

Araştırma grup adı	Uygulama	Süre
Kontrol (n=7)	Normal içme suyu verilen, LB ve DSS verilmeyen grup.	4 hafta
LB (n=7)	%2 LB verilen grup.	4 hafta
DSS (n=7)	%3 DSS verilen grup.	1 hafta (21. ve 28 günlerinde verildi)
LB+DSS (n=7)	%2 LB+%3 DSS birlikte verilen grup.	LB 4 hafta + DSS 1 hafta (çalışmanın 21.ve 28. günlerinde verildi)

Kontrol grubu: Normal içme suyu verildi.

LB (*Lycium barbarum*) grubu: LB %2 oranında içme suyuna katılarak verildi (Kang vd., 2017).

%2'lik LB'un hazırlanması:

- 100 gr LB tartıldı
- 5 litre ılık suda, 2 saat bekletildi
- Filtre kağıdı ile süzüldü

DSS (Dekstran Sodyum Sülfat) grubu: DSS %3 ([w/v], molekül ağırlığı 40.000) oranında çalışmanın 21-28 günlerinde içme suyuna katılarak verildi (Şenol, 2010).

%3'lük DSS'nin Hazırlanması:

- 30 gr DSS tartıldı
- 1 litre saf suda çözündürüldü

LB+DSS grubu: LB %2 oranında içme suyuna katılarak 4 hafta verildi, DSS %3 oranında çalışmanın 21. ve 28. günlerinde LB'un içerisinde çözündürülerek içme suyuna katılıp verildi.

Çalışma sonunda sıçanlar dekapite edildi, kolon dokusu ve kan örnekleri alındı. Kan örnekleri +4°C'de santrifüj yapılarak serum ile hücre pelleti ayrıldı. Kan serum örnekleri ve kolon dokusu analiz işlemleri gerçekleştirilinceye kadar derin dondurucuda -80°C'de muhafaza edildi. Ayrıca akciğer, karaciğer, göz, beyin, testis, kalp, kas, pankreas doku örnekleri alınarak ileride yapılacak çalışmalar için -80 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Tablo 2.3. Deneyde kullanılan tampon/çözeltilerin hazırlanması

<u>Acrylamide Mix</u>	<u>Yürütme Tamponu (5X)</u>	<u>PBS (Phosphate-Buffer-Saline) Tween20</u>	<u>Transfer Tamponu (5X)</u>	<u>DAB (3,3'-Diaminobenzidin) solüsyonu</u>	<u>9 X PBS (Phosphate Buffered Saline)</u>
*N₁,N₁-MethyleneBis Acrylamide: 0,12 gr *Acrylamide: 3,48 gr *dH₂O: 12 ml	*%0.1 SDS: 5 gr/l *Trizma Base 0.025 M: 15gr/ml *Glycine 0.192 M: 72gr/ml	*PBS: 1000ml *Tween20: 2ml	*Glycine: 4.3 gr *Trizma Base: 5.81 gr *Methanol: 75 ml *dH₂O: 300 ml tamamlandı	* (pH: 6,8) Tris 1 M: 1,33 ml *DAB: 4 tablet *H₂O₂ % 30: 40 µl *dH₂O: 38,63 ml	*0.075 M Na₂HPO₄.12H₂O: 26.8 g/l *1.45 M NaCl: 84.74 g/l *0.025 M NaH₂PO₄.12H₂O: 3.9 g/l

2.3. Laboratuvar Analizleri

2.3.1. p53, TIGAR ve Beclin 1 Proteinlerin Western Blot İle Analizi

Kolon dokusuna ait örnekler homojenize edilerek proteinler elde edildi. Western blot ve SDS-PAGE yöntemleriyle p53, TIGAR ve Beclin 1 proteinlerinin düzeyleri belirlendi.

2.3.2. Western Blot İçin Doku Homojenizasyonu

Kolon doku örneklerinin homojenizasyonu işlemlerinde Aslan (2011), tarafından uygulanan homojenizasyon metodu kullanıldı. Küçük parçalar halinde kolon doku örnekleri ‘PMSF (Fenil metil sülfonik florid), β-Merkaptoetanol, EDTA (Etilen diamin tatra asetik asit) ve pH 8 olan 0,5 M Tris lizis tamponu’ içerisinde cam homojenizatör yardımıyla parçalanma işlemi gerçekleştirildi. Homoje edilen kolon dokuları 45 dk ve rpm 15000’e ayarlanarak santrifüj işlemi gerçekleştirildi, süpernatant dikkatlice alınarak -80 °C’ye bırakıldı (Aslan vd., 2014).

2.3.3. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi

SDS-PAGE jel elektrofrezinde ‘acrylamide’ maddesinden faydalanılır. Stabilizatör oluşturan, serbest radikal olan amonyum persülfat (APS) ve N,N,N',N'-Tetramethyl ethylenediamide (TEMED)'in bulunmasıyla, acrylamide maddesinin monomerleri uzun zincir meydana getirerek polimerleşir, meydana gelen bu zincirlerin kendi aralarında oluşan yanıl bağlantıların ortaya çıkması ile jel oluşur. Sodyum dodesilsülfat deterjanı SDS-PAGE analizinde jelin yapısında yer alması sonucunda, proteinleri oluşturan monomerin alt birimlere ayrılmasına neden olur, bu şekilde protein agregasyonu önlenmiş olur. Denatüre polipeptitler SDS

moleküllerine bağlanarak negatif yük kazanırlar. SDS moleküllerine bağlı olan polipeptit kompleksleri, jel içerisinde moleküler ağırlıklarına göre jelde hareket halindedirler. Hareket eden moleküllerin ağırlığı, aynı jel üzerinde yer alan bir standart ile karşılaştırılarak belirlenir. Mutasyona uğramış ya da birçok farklı çevre faktörleri neticesinde canlı organizmanın bir bölüm proteinlerinden normal ile kıyaslandığı zaman parça kopması ya da parça eklenmesi-bazı proteinlerin yeteri kadar sentezlenememesi gibi faktörler bu jel sisteminde belirlenir. Güç kaynağından gelen elektrik akımına göre, protein moleküllerinin hareketi negatif (-) kutuptan pozitif (+) kutuba doğru gerçekleşir. Araştırılacak protein molekülü 15-45 kDa aralığında ise hazırlanacak akrilamid konsantrasyonu %15, eğer 45 kDa'dan fazla ise akrilamid %10 ya da daha az olmalıdır (Erten, 2019). Kısacası moleküler ağırlık arttıkça, hazırlanan akrilamid konsantrasyonu düşürülmelidir. Akrilamid konsantrasyonu artar ise jelde boşlukların arası daha sık olur ve bu durum protein moleküllerinin hareket hızında azalmaya sebep olur (Ağca, 2013).

2.3.4. Jellerin Hazırlanması (SDS-PAGE)

Laemmli (1970), tarafından geliştirilen prosedüre göre hazırlanan SDS-PAGE ile kolon dokusu protein örnekleri incelendi.

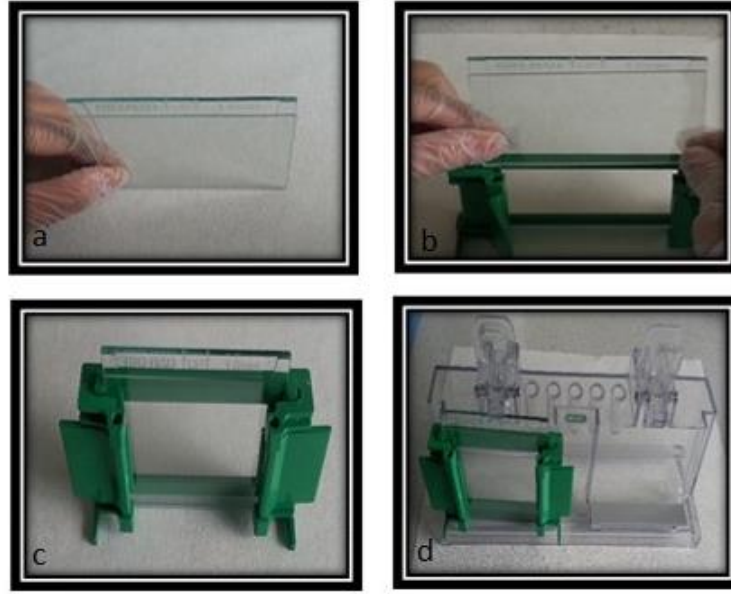
%12'lik Ayırma Jel İçeriği

dH₂O: 3,35 ml
Tris-HCl pH: 8,8- 1,5 M: 2,5 ml
%30 Acrylamide/Mix: 4 ml
%10 SDS: 100 µl
%10 APS: 75 µl
TEMED: 15 µl

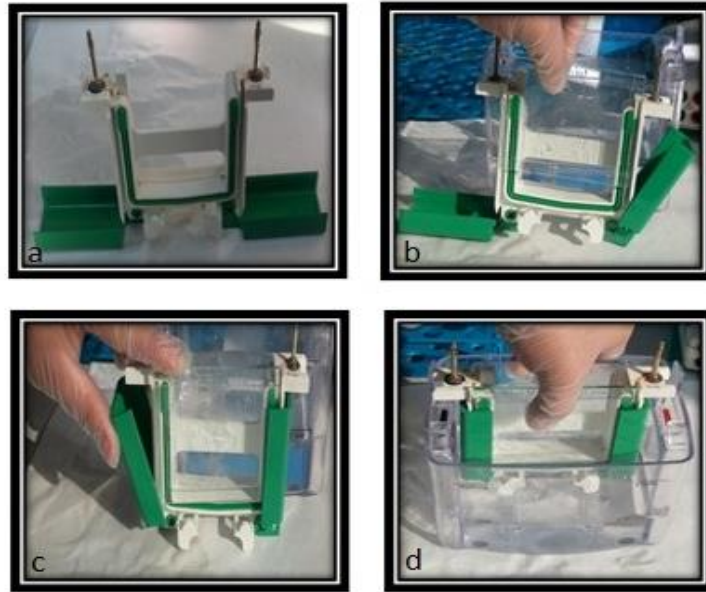
%4 Yükleme Jel İçeriği

6,1 ml
2,5 ml (0,5 M pH:6,8)
1,3 ml
100 µl
60 µl
12 µl

'Bio-Rad Mini Protean Tetra Cell Elektroforez' SDS-PAGE elektroforezi yönteminde kullanıldı. Jelleri hazırlamak amacıyla kaset sistemi ile iki cam arasına (kalın cam arkada, ince cam önde olacak şekilde) eklenmek üzere %12'lik ayırma jel solüsyonu oluşturuldu (Şekil 2.1). %12 ayırma jel solüsyonu otomatik pipet ile karıştırılarak, polimerleşmenin hemen gerçekleşme olasılığı nedeniyle homojenizasyon sağlandıktan sonra hassas ve hızlı bir şekilde belirli bölgelerden sıkıştırılarak kaset sistemi oluşturulan iki cam arasına eklendi.



Şekil 2.1. Kaset-jel sistemi hazırlık aşamaları **a.** Kalın ve ince cam jelin döküleceği bölümün (0.75mm) meydana gelmesi için üst üste getirmek. **b.** Kalın ve ince camı sıkıştırma aparatına yerleştirmek, **c.** Sıkıştırma aparatının mandal kısımlarını kapatmak, **d.** Jel dökmek için cam kasetlerin dikey olacak şekilde sabitlemek



Şekil 2.2. Elektroforezde kaset sistemi hazırlık aşamaları **a.** Katot-anot haznesi, **b.** Kaset sistemini hazneye bırakmak, **c.** Hazne kısmındaki mandalları kapatmak, **d.** Hazne sistemini tank içerisine yerleştirmek

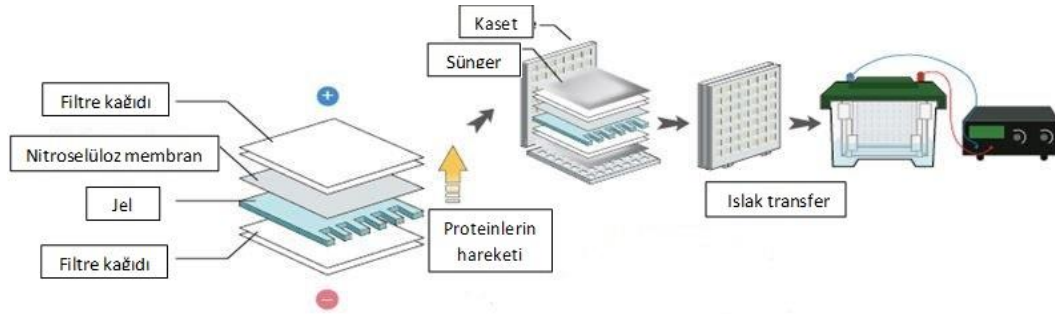
Üzerine yükleme jel eklemek için bırakılan boşluğa 1 ml saf su eklenerek jelin düzgün polimerleşmesi sağlandı. 30 dk akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi amacıyla oda sıcaklığında bekletildi. Polimerleşme sağlandıktan sonra saf su uzaklaştırıldı ve %4 yükleme jel hazırlandı (ayırma jel üzerine) eklendi ve iki cam arasına 1 mm çapında tarak yerleştirildi. 25-30 dk oda sıcaklığında polimerleşmenin gerçekleşmesi amacıyla bekletildi. Polimerleşme sağlandıktan sonra oluşturulan kaset sistemi elektroforez tankına dikkatli bir şekilde yerleştirildi (Şekil 2.2.d). Yürütme tankı içerisine yeterli miktarda running tamponu (yürütme) eklendi ve camlar arasındaki tarak kuyucukların bozulmamasına dikkat edilerek çıkartıldı. Oluşan kuyucuklara örnekler ve marker belirlenen konsantrasyonlarda mikropipet yardımı ile eklendi. Güç kaynağından ilk olarak düşük voltaj (150 V) 20 mA'lık akım elektroforeze verildi. Yaklaşık 30 dk sonra ise 40 mA voltaj değerine getirildi (180/200 V). Elektroforez cihazında mavi bandı, çıplak göz ile fark edilmektedir. Bu bant jelin en alt basamağına geldiği zaman cihaz (elektroforez) kapatıldı ve işlem tamamlanınca kaset sistemi oluşturulan iki cam birbirinden yavaşça ayrılarak arasındaki jel çıkartıldı. Bantlaşmanın meydana geldiği resolving jel kısmı, araştırmanın blotlama aşaması için hazırlandı.

2.3.5. Western Blot Analizi

Western blot prosedürü; elektroforez yöntemi ile elektrik yük farkı ilkesiyle poliakrilamid jelden göç ettirilen proteinlerin, yatay bir şekilde nitroselüloz membrana aktarımı ve membrandaki proteinlerin immünolojik yöntemler ile (antijen-antikor) gösterilmesidir. Kolon dokusuna ait örneklerin western blot analizleri Aslan (2011), tarafından uygulanan metoda göre yapıldı. Araştırmada kullanılan protein örnekleri, blotlama işleminden önce elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Elde edilen protein örneklerinin elektroforez işlemleri SDS-PAGE yöntemi ile gerçekleştirilmektedir. Western blot yöntemi elektroforezi takip eden 4 basamakta gerçekleşmektedir. İlk olarak jelde bulunan proteinin nitroselüloz özellikteki membrana aktarım olarak adlandırılan 'blotlama', ikincisi özgül olmayan reaksiyonu önlemek amacıyla nitroselüloz özellikteki membran üzerinde, protein bağlanmayan alanların ilgisiz protein ile kaplanma olarak adlandırılan 'bloklama', üçüncüsü spesifik olan antikor ile tepkime ve son olarak dördüncüsü ise proteinin görüntü basamağıdır. Nitroselüloz membrana transfer basamağında, jel ile nitroselüloz membran karşılıklı olacak şekilde filtre kağıtlarının arasına yerleştirilmektedir. Jel büyüklüğü ile orantılı olması dikkat edilerek bir süre elektrik akımı uygulanır ve proteinlerin transferi işlemi gerçekleştirilir. Nitroselüloz membranın spesifik olmayan proteinler ile bloklanması aşamasında süt tozu kullanılmaktadır. Monoklonal veya poliklonal antikorlar özgül antikor olarak tercih edilebilir. Monoklonal antikorların avantajı, sadece bir epitopa spesifik olmaları ve güçlü bir immünokimyasal köprüler meydana getirmesidir. Bu sebeple monoklonal özgül bağlanma sağlar. Fakat araştırılan proteinler içerisinde benzer epitop alanları bulunuyorsa, çapraz gerçekleşen reaksiyonlar neticesinde yalancı pozitiflikler oluşabilir.

Poliklonal antikorların tercih edilmesi durumunda aynı sebepten ötürü oluşan yalancı ayakların pozitiflik olasılığının daha fazla olduğu bilinmektedir. Monoklonal antikor kullanımının western blot tekniğindeki dezavantajı, SDS-PAGE ve blotlama sırasında polipeptit yapıya sahip epitopların yok edilmesidir. Belirlenmek istenen epitopun yok olması aşamasında ise monoklonal antikor-epitop bağlanması şekillenemez. Bu sebeple monoklonal antikor tercih edildiğinde,

poliklonal antikor ile çalışmaya kıyasla, yalancı negatiflik olasılığı artmaktadır. Spesifik antikorlar çoğunlukla radyoaktif izotoplar ya da enzimler raportör madde olarak tercih edilmektedir. Alkalen fosfataz, peroksidaz gibi enzimler kullanılmaktadır. Bu enzimlerin substrat kısımları ve kromojen maddelerinde farklılıklar bulunmaktadır. Son yıllarda enzim ile işaretleme, yapılan testin duyarlılığını arttırmak için peroksidaz ile işaretlenmiş avidin biyotin sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Tercih edilen kromojenlerin dikkat çeken özelliği çözünmeyen renkli ürünleri meydana getirmesidir (Erten, 2019). Çalışmada nitroselüloz membrana jeldeki proteinlerin ['Schleicher and Schuell, Inc., USA'] aktarılması yani blotlama amacıyla SDS-PAGE işlemi tamamlanınca sıra poliakrilamid jelin blotlama aşmasına geçildi. Nitroselüloz membran, transfer işlemi için poliakrilamid jel ve nitroselüloz membran yüzeyinde herhangi bir hava kabarcığı, boşluk oluşmayacak bir şekilde karşı karşıya getirildi, filtre kağıdı ile sarılarak oluşturulan kaset sistemi blotlama düzeneğine bırakıldı ve tampon solüsyonu ile doyuruldu (kaset sisteminde sırasıyla; sünger, filtre kağıdı, jel, membran, filtre kağıdı ve sünger bırakıldı) (Şekil 2.3). Soğutulmuş tampon (transfer tamponu) ile tank dolduruldu, hazırlanan düzenek içerisine yerleştirildi, tank içerisine buz bırakıldı, işlem boyunca soğutulan ortamın her tarafa eşit yayılması amacıyla manyetik karıştırıcı üzerinde 90 dk boyunca, elektrik akımı 250 mA uygulanarak 'proteinlerin membrana transferi' gerçekleştirildi. Özgün olmayan reaksiyonları önlemek amacıyla nitroselüloz membranda, protein bağlanmayan alanların ilgisiz proteinler ile kaplanması (bloklama) için, blotlama aşamasından sonra nitroselüloz membran petri kutularına alındı, tampon solüsyonunda (1 X PBS) 3 defa 5'er dk olarak çalkalayıcı üzerinde yıkama işlemi gerçekleştirildi. Özgün olmayan bağlanmalar %5'lik süt tozu içerisinde +4 °C'de bir gece blokladı. Bloklama işleminin ardından 90 dakika oda sıcaklığında (37 °C) bekletildi. Spesifik antikorlarla tepkime aşamasında primer antikor olarak; p53, TIGAR ve Beclin 1 kollajen antikorları çalışmada kullanıldı. Primer antikorlar 1:1000 oranına sahip tampon içerisinde (Tampon: Tween 20, %0,05) hazırlandı. 90 dk çalkalayıcıda bekletildi. 3 kez 5'er dk PBS ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Peroksidaz ile konjüge edilen 'goat-anti-rabbit immünoglobulin' 1:1000 oranına sahip tampon içerisinde (Tampon: Tween 20, %0,05) hazırlandı ve 90 dk, 37 °C'de inkübasyon için bekletildi. Daha sonra tampon solüsyonu ile (PBS) 3 kez 5'er dk yıkama işlemi gerçekleştirildi. Bantların görünür hale gelmesi amacıyla DAB solüsyonu (Tablo 2.3) içerisine %30'luk H₂O₂ reaksiyonu neticesinde nitroselüloz membran üzerinde yer alan bantlar görünür hale geldi. 15 dk reaksiyon sonucunda, bantlar görünür hale gelince reaksiyonu durdurmak için nitroselüloz membran dH₂O ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Nitroselüloz membran kurutuldu, bant rölatif yoğunluğunu belirlemek amacıyla Image Analyses System 'yazılım programı' yardımıyla analiz işlemleri gerçekleştirildi ['Image J, National Institute of Health Bethesda USA'] (Aslan vd., 2014).



Şekil 2.3. Blotlama sistemi (Mahmood vd., 2012).

Western Blot çalışmasında kullanılan primerler; p53 anti sc-126. TIGAR sc-377065. Beclin 1 sc-48341 (santa cruz). β -aktin sc-8432, sekonder antikor (sc-516102, Ig (G) HRP sekonder antibody Lot: 201117-84. DSS kimyasalı: Lot: SR00853, CAS:9011-18-1.

2.3.6. Kolon Dokusu Malondialdehit (MDA) Analizi

Kolon dokusu 0,5 gr tartıldı, %1,5 KCl, her bir doku örneği için 4,5 ml eklendi, cam homojenizatör ile parçalandı (örneklerin bozulmaması amacıyla işlemler buz içerisinde gerçekleştirildi). Elde edilen doku homojenatından 0,1 ml, %8,1 SDS 0,1 ml, (pH: 3,5) %20'lik AA (asetik asit) solüsyonu 750 μ l eklendi. %0,8 TBA (pH:3,5) 750 μ l, saf su 2,3 ml eklendi. 95 °C sıcaklıkta 45 dk bekletildi (spektrofotometre ölçümü için kullanılan kör içeriği: 2,4 ml saf su, asetik asit %20'lik 750 μ l, %8 TBA 750 μ l, SDS %8,1'lik 100 μ l bırakıldı ve sıcak su banyosunda 95 °C sıcaklıkta 45 dk bekletildi). Örnekler sıcak su banyosundan çıkarıldı, soğuması için bekletildi. Her bir örneğe 1000 μ l saf su, 15:1 oranına sahip (v/v) 'n-butanol-piridin' solüsyonundan 5 ml ilave edildi ve vortekslendi. Santrifüj işlemi 10 dk 5000 rpm'de gerçekleştirildi ve süpernatant kısmı dikkatlice mikropipet yardımıyla alındı. Spektrofotometrede dalga boyu 532 nm olarak ölçüldü, elde edilen veriler (n mol/gram) hesaplandı (Aslan vd., 2014; Ohkawa vd., 1979).

2.3.7. Plazma Malondialdehit (MDA) Analizi

Plazma örneği 200 μ l alındı, %8,1 SDS 200 μ l, pH:3,5 TBA % 0,8'lik 1500 μ l, pH:3,5 %20'lik asetik asit 1500 μ l, saf su 600 μ l eklendi. Sıcak su banyosunda 95 °C'de 60 dk bekletildi (spektrofotometre ölçümü için kullanılan kör içeriği: 2,4 ml saf su, asetik asit %20'lik 750 μ l, %8 TBA 750 μ l, SDS %8,1 100 μ l bırakıldı ve sıcak su banyosunda 95 °C sıcaklıkta 60 dk bekletildi). Örnekler sıcak su banyosundan çıkarıldı, soğuması için bekletildi. Her bir örneğe 1000 μ l saf su, 15:1 oranına sahip (v/v) 'n-butanol-piridin' solüsyonundan 5 ml ilave edildi ve vortekslendi. Santrifüj işlemi 15 dk 4000 rpm'de gerçekleştirildi ve süpernatant kısmı dikkatlice mikropipet yardımıyla alındı. Spektrofotometrede dalga boyu 532 nm olarak ölçüldü, elde edilen veriler (n mol/gram) hesaplandı (Aslan vd., 2014; Ohkawa vd., 1979).

2.3.8. Malondialdehit (MDA) Ölçümü Standart Eğri Çizimi

Standart günlük MDA stoğundan [$1,1,3,3$ tetramethoksiopropan] $10\text{ }\mu\text{l}$ alındı ve üzerine 100 ml 'lik saf su eklenerek tamamlandı. Eğri çiziminde günlük standart saf su ile $40, 20, 10, 8, 5, 4$ oranlarında seyreltme işlemleri gerçekleştirilerek $15, 30, 60, 75, 121, 151\text{ n/mol}$ derişiminde standart çalışmalar oluşturuldu. MDA prosedüründeki aşamalar gerçekleştirilerek sonuçlar 'serum/plazma örneği için nmol/ml ve doku örneğinde ise nmol/g ' olarak işlemler kaydedilerek, grafik çizimi gerçekleştirildi (Antmen 2005).

2.3.9. Kolon Dokusu Glutasyon (GSH) Analizi

Kolon dokusu $0,5\text{ gr}$ tartıldı, $1,5\%$ KCl, her bir doku örneği için $4,5\text{ ml}$ eklendi, cam homojenizatör ile parçalandı (örneklerin bozulmaması amacıyla işlemler buz içerisinde gerçekleştirildi). Elde edilen doku homojenatından $100\text{ }\mu\text{l}$, $\text{pH}:3,5$ $0,8\%$ olan TBA $400\text{ }\mu\text{l}$ eklendi ve vortekslendi. Santrifüj işlemi $5\text{ dk } 3000\text{ rpm}$ 'de gerçekleştirildi ve süpernatant kısmı alındı ($100\text{ }\mu\text{l}$) ve $900\text{ }\mu\text{l}$ saf su, $\text{pH}:8,8$ olan $1,5\text{ M}$ Tris 2 ml , DTNB $100\text{ }\mu\text{l}$ üzerine eklendi, $20\text{-}25\text{ dk}$ reaksiyon oluşturması için oda sıcaklığında bekletildi. Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ölçülerek, elde edilen sonuçlar nmol/g olarak kaydedildi (Yiğit, 2015).

2.3.10. Kolon Dokusu Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Analizi

İlk olarak kör tüpü hazırlanarak 240 nm 'de 30 saniye bekletilerek iki defa ölçüm yapıldı (kör içeriği: $200\text{ }\mu\text{l}$ fosfat tamponu ve H_2O_2 (30 mM) $2800\text{ }\mu\text{l}$ bırakıldı). $200\text{ }\mu\text{l}$ serum ve H_2O_2 (30 mM) $2800\text{ }\mu\text{l}$ numune tüpüne eklenerek spektrofotometrede dalga boyu 240 nm 'de ölçülerek kaydedildi. Katalaz aktivite analizini belirlemede ölçülen 'optik dansite farkı U/mg ' olarak belirlendi (Erol, 2020).

2.3.11. Histopatolojik Analizler

Deney hayvanlarının her birinden alınan kolon doku örnekleri histopatolojik analiz için hızlıca 20% formaldehit solüsyonuyla (nötröl tamponlu) incelenmek üzere fikse edildi. Dokuda bulunan fazla su alınarak (dehidrate) parafine gömülme işlemi gerçekleştirildi. Oluşturulan parafin blok, $5\text{ }\mu\text{M}$ kalınlığında kesildi ve örnekler 'hematoksilen- eozin' ile boyandı (Aslan, 2011).

2.3.12. İstatistiksel Analizler

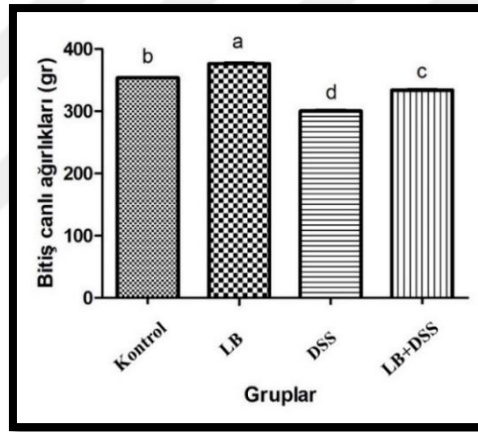
Yapılan çalışmada ölçümler 3 tekrarlı gerçekleştirildi. Sonuçlar 'SPSS 20 paket programı' ile değerlendirildi. ANOVA analizi kullanılarak gruplar karşılaştırıldı. 'Posthoc' analizinde ise 'Tukey testi' tercih edildi. İstatistiksel olarak ' $p < 0.05$ ' değeri belirlendi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Canlı Ağırlık Değişimleri

Tablo 3.1. Dört farklı deney grubunun başlangıç-bitiş canlı ağırlık değişimi (sonuçlar ‘One.Way ANOVA-Post-Hoc-Tukey’ programı ile analiz edilmiştir)

Gruplar	Başlangıç canlı ağırlığı, gr	Bitiş canlı ağırlığı, gr
Kontrol	266	353.19±1.00 ^b
LB	267	376.46±0.88 ^a
DSS	268	300.31±1.15 ^d
LB+DSS	269	333.92±0.78 ^c



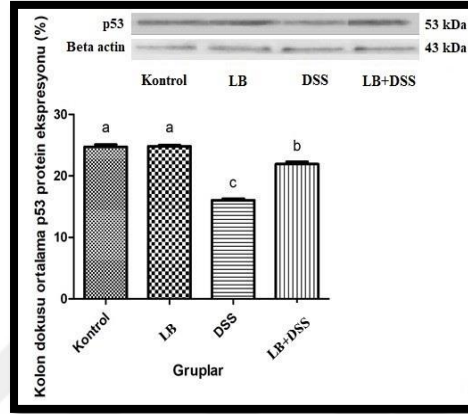
Şekil 3.1. Dört farklı deney grubunun bitiş canlı ağırlık (gr) değişimi (‘a-d: farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir $p<0.05$ ’)



Şekil 3.2. Deneyde kullanılan hayvanların tartımı, grupları ve DSS’nin LB içerisinde çözülmesi

Deney çalışmasında gruplar arası başlangıç canlı ağırlıklarında istatistiksel anlamda herhangi bir farklılık yoktur, fakat gruplar arası bitiş canlı ağırlıkları incelendiğinde istatistiksel anlamda farklılık gözlemlenmiştir. Dört grup içerisinde ağırlık artışının en fazla olduğu gruplar kontrol ve LB'dur, en düşük ise DSS'dir, fakat DSS grubuna kıyasla LB +DSS grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.1, Şekil 3.1, Şekil 3.2).

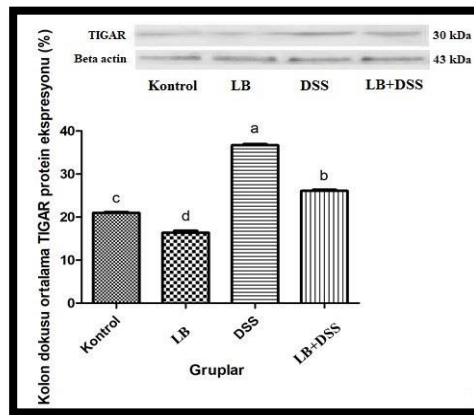
3.2. p53 Protein Ekspresyon Düzeyleri



Şekil 3.3. p53 protein ekspresyon düzeyleri. Sonuçlar ‘One-Way ANOVA Post Hoc Duncan’ programı ile analiz edilmiştir (‘a-c: farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir $p<0.05$ ’)

p53 proteini ekspresyon düzeylerinde; DSS grubuna kıyasla LB +DSS grubunda anlamlı bir yükseliş olduğu, LB ‘un p53 ekspresyon düzeyi artışını olumlu etkilediği gözlemlenmiştir (Şekil 3.3)

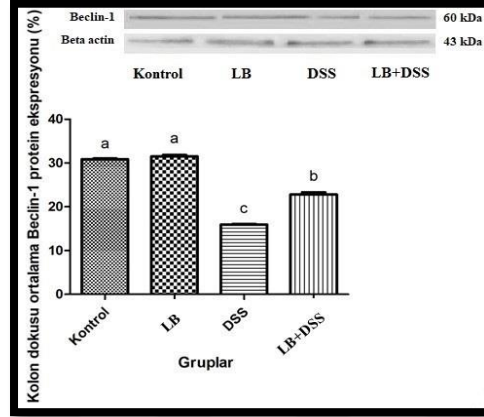
3.3. TIGAR Protein Ekspresyon Düzeyleri



Şekil 3.4. TIGAR protein ekspresyon düzeyleri. Sonuçlar ‘One-Way ANOVA Post Hoc Duncan’ programı ile analiz edilmiştir (‘a-c: farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir $p<0.05$ ’)

TIGAR proteini ekspresyon düzeylerinde; DSS grubuna kıyasla LB +DSS grubunda anlamlı bir düşüş olduğu, LB'ın TIGAR ekspresyon düzeyinin düşmesinde etkili olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.4).

3.4. Beclin 1 Protein Ekspresyon Düzeyleri



Şekil 3.5. Beclin 1 protein ekspresyon düzeyleri. Sonuçlar ‘One-Way ANOVA Post Hoc Duncan’ programı ile analiz edilmiştir (‘a-c: farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir $p<0.05$ ’)

Beclin 1 proteini; DSS grubuna kıyasla LB +DSS grubunda anlamlı bir artış olduğu, LB’un Beclin 1 ekspresyon düzeyi artışını olumlu etkilediği gözlemlenmiştir (Şekil 3.5).

3.5. Kolon Dokusu ve Plazma Malondialdehit (MDA) Düzeyleri

Tablo 3.2. Kolon doku Malondialdehit (MDA) düzeyi

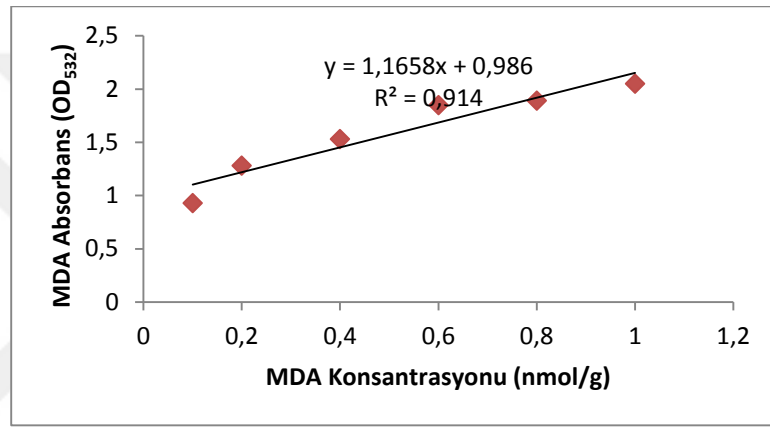
Gruplar	Kolon Doku MDA Düzeyi (nmol/g)
Kontrol	59.97 ± 1.00 ^c
LB	57.70 ± 2.00 ^c
DSS	82.34 ± 3.00 ^a
LB + DSS	72.34 ± 2.00 ^b

‘a-c: Aynı sütun grafikte farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)’ Sonuçlar ‘One-way ANOVA Post Hoc LSD Test’ ile analiz edilmiştir.

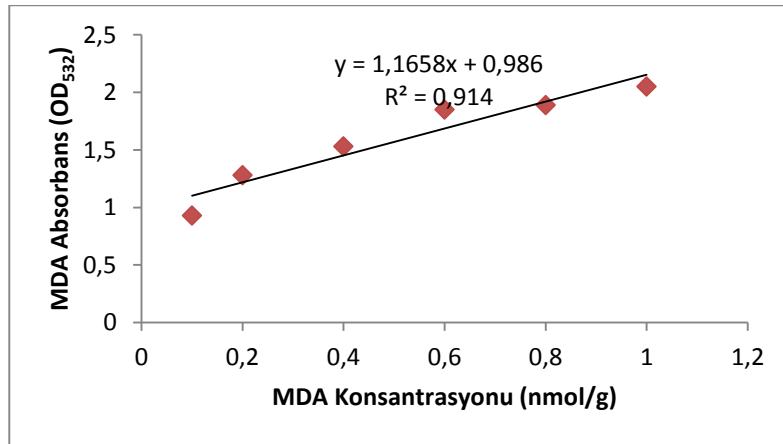
Tablo 3.3. Plazma Malondialdehit (MDA) düzeyi

Gruplar	Plazma MDA Düzeyi (nmol/ml)
Kontrol	22.01 ± 1.00 ^c
LB	20.12 ± 2.00 ^c
DSS	40.04 ± 3.00 ^a
LB + DSS	30.91 ± 2.00 ^b

‘a–c: Aynı sütun grafikte farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (p <0.05)’ Sonuçlar ‘One-way ANOVA *Post Hoc* LSD Test’ ile analiz edilmiştir.

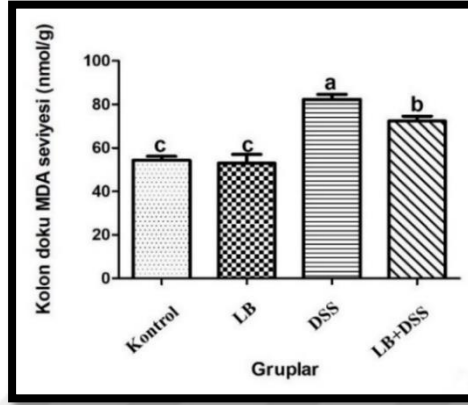


Şekil 3.6. Kolon dokusu MDA standart grafiği

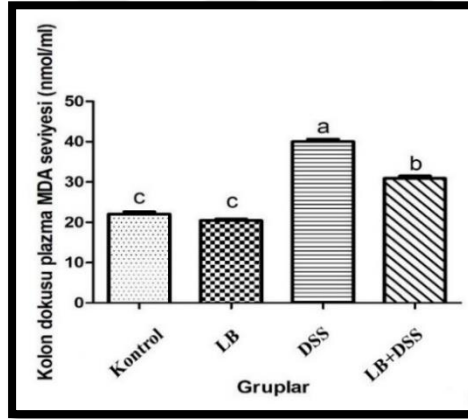


Şekil 3.7. Plazma MDA standart grafiği

Kolon doku MDA hesaplanması ' $x=(y - 1,8504) / 0,8531$ ' olarak yapıldı ve 'y' değeri ise dalga boyu 532 nm olarak spektrofotometrede ölçümü yapılan MDA değeridir ' $(y = 0.8531x + 1.8504)$.' Plazma MDA hesaplanması ' $x = (y - 2,075)/0,8158$ ' olarak yapıldı ve 'y' değeri ise dalga boyu 532 nm olarak spektrofotometrede ölçümü yapılan MDA değeridir ' $(y = 0.8158x + 2.075)$.' Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda standart MDA eğrisi çizildi ' $p<0.05$ ' (Şekil 3.6, Şekil 3.7).



Şekil 3.8. Dört farklı deney grubunda kolon dokusu MDA düzeyi karşılaştırılması. 'a-c: aynı satır farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir ($p<0.05$)'



Şekil 3.9. Dört farklı deney grubunda plazma MDA düzeyi karşılaştırılması. 'a-c: aynı satır farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir ($p<0.05$)'

Çalışma elde ettiğimiz sonuçlar kontrol ve LB grubunda MDA düzeyleri aynı ve düşüktür. Kolon doku ve kolon dokusu plazma MDA düzeyleri DSS grubunda en yüksek düzeydedir, DSS grubu ile kıyasladığımız zaman LB+DSS grubunda istatistiksel olarak önemli bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3.2, Tablo 3.3, Şekil 3.8, Şekil 3.9).

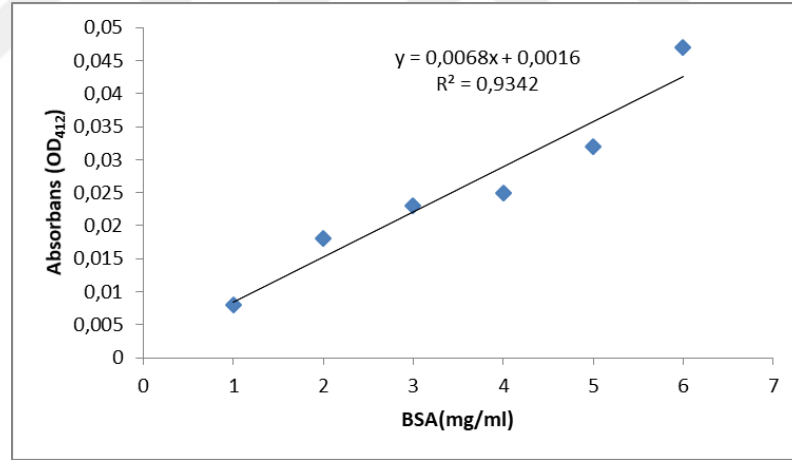
3.6. Kolon Dokusu Glutatyon (GSH) Düzeyleri

Tablo 3.4. Kolon dokusu Glutatyon (GSH) düzeyi

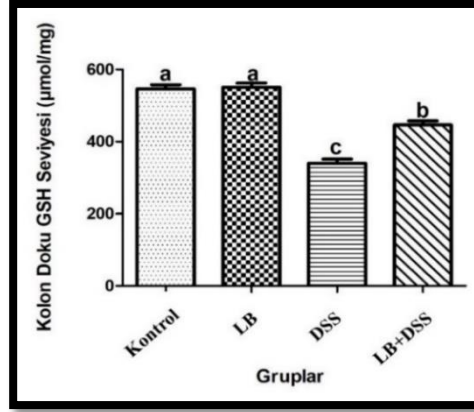
Gruplar	Kolon Dokusu GSH Düzeyi ($\mu\text{mol/mg protein}$)
Kontrol	$546,17 \pm 2.00^a$
LB	550.58 ± 2.00^a
DSS	340.29 ± 1.00^c
LB + DSS	446.17 ± 2.00^b

'a-c: Aynı sütun grafikte farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)' Sonuçlar 'One-way ANOVA Post Hoc LSD Test' ile analiz edilmiştir.

Kolon doku GSH hesaplaması ' $x=(y-0,0643)/0,012$ ' olarak yapıldı ve 'y' değeri ise dalga boyu 412 nm olarak spektrofotometrede ölçümü yapılan GSH değeridir ' $(y=0,012x+0,0643)$.' Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda GSH eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.10).



Şekil.3.10. BSA standart grafiği (GSH)



Şekil 3.11. Dört farklı deney grubunun, kolon dokusu GSH düzeyinin karşılaştırılması. ‘a-c: aynı satır farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir ($p < 0.05$)’

Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar kontrol ve LB grubunda GSH düzeyleri yüksek ve aynıdır. DSS grubunda en düşük düzeydedir, DSS ile kıyasladığımız zaman LB+DSS grubunda istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3.4, Şekil 3.11).

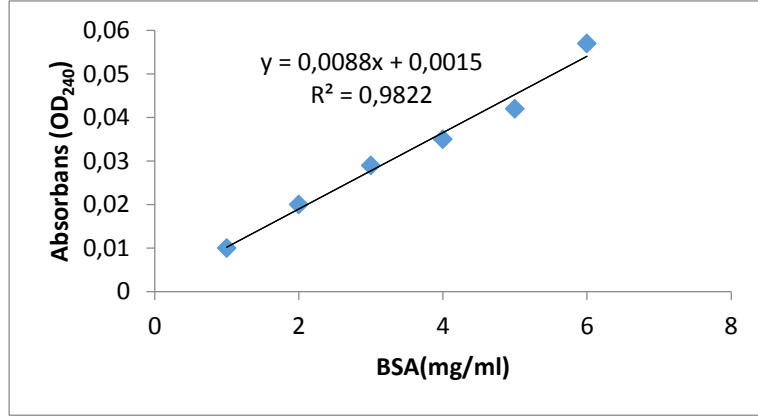
3.7. Kolon Dokusu Katalaz (CAT) Aktivite Düzeyleri

Tablo 3.5. Kolon dokusu katalaz (CAT) aktivite düzeyi

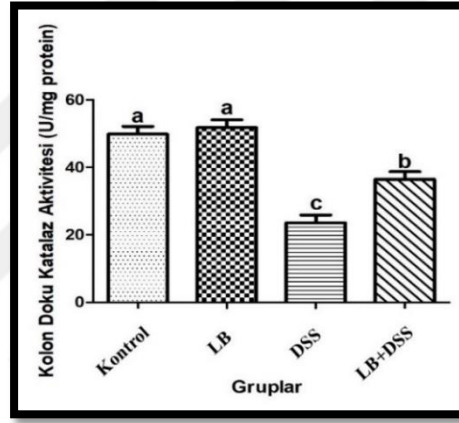
Gruplar	Kolon Dokusu Katalaz Aktivite Düzeyi (U/mg protein)
Kontrol	64.47 ± 3.00^a
LB	66.97 ± 3.00^a
DSS	30.50 ± 1.00^c
LB + DSS	47.11 ± 2.00^b

‘a-c: Aynı sütun grafikte farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)’ Sonuçlar ‘One-way ANOVA Post Hoc LSD Test’ ile analiz edilmiştir.

Kolon doku katalaz hesaplaması ‘ $x = (y - 0,0159) / 0,0115$ ’ olarak yapıldı ‘y’ değeri ise dalga boyu 240 nm olarak spektrofotometrede ölçümü yapılan katalaz değeridir ‘ $y = 0,0115x + 0,0159$.’ Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda katalaz eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.12).



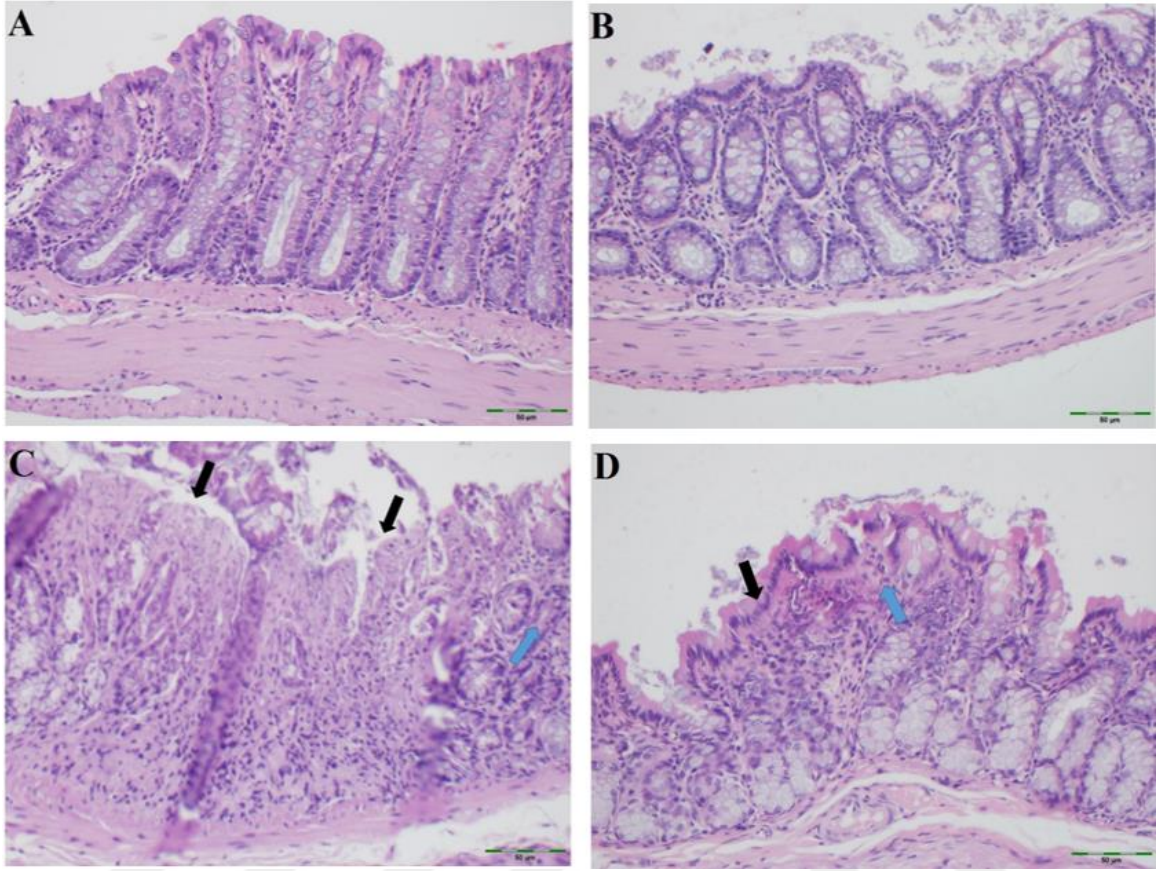
Şekil 3.12. BSA standart grafiği (CAT)



Şekil 3.13. Dört farklı deney grubunun kolon dokusu katalaz aktivite düzeyinin karşılaştırılması. ‘a-c: aynı satır farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir (p<0.05)’

Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar kontrol ve LB grubunda GSH düzeyleri yüksek ve aynıdır. DSS grubunda en düşük düzeydedir, DSS grubu ile kıyasladığımız zaman LB+DSS grubunda istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3.5, Şekil 3.13).

3.8. Histopatolojik Görüntüler



Şekil 3.14. Deney gruplarının kolon mukozası histopatolojik görüntüleri: (boyama hematoxilen-eozin, Bar:50 µm). **A.**Kontrol grubu, sağlıklı olan kolon mukozası **B.**LB grubu, histolojik görüntüsü normal **C.**DSS grubu (ülser oluşturulan grup), mavi ok; kript distorsiyon, siyah ok; ülserli olan kolon mukozası, yüzey epiteli yok **D.**LB+DSS grubu (hastalığı engelleyen grup), mavi ok; inflamatuvar hücreler seyrek, siyah ok; yüzey epiteli görünüyor

Çalışmada elde ettiğimiz histopatolojik sonuçlarda kontrol grubu (A) ile LB grubu (B) arasında histolojik görüntü olarak bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. DSS grubunda (C) kript distorsiyonu (mavi ok) ve ülserli kolon mukozası (siyah ok) gözlemlenmiştir. LB+DSS grubu (D) inflamatuvar hücrelerin (mavi ok) azaldığı belirlenerek, yüzey epiteli (siyah ok) gözlemlenmiştir (Şekil 3.14, Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Gruplar arası histopatolojik parametreler, K:Kontrol grubu. LB: *Lycium barbarum* grubu. D: DSS grubu. LB+D: *Lycium barbarum* +DSS grubu. (- hasar yok, + hasar var, ++ hasar orta derecede, +++ hasar şiddetli derecede)

	Histolojik Parametreler					
	Nötrofilik infiltrasyon	Ödem	Hemoraji	Ülserasyon	Kriptit	Kript Distorsiyon
Gruplar						
K	+	-	-	-	-	-
K	+	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-
K	+	-	-	-	-	-
K	+	-	-	-	-	-
K	+	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-
LB	+	-	-	-	-	-
LB	-	-	-	-	-	-
LB	-	-	-	-	-	-
LB	+	-	-	-	-	-
LB	+	-	-	-	-	-
LB	+	-	-	-	-	-
LB	+	-	-	-	-	-
D	++	+	+	+	+	+
D	++	-	-	++	++	+
D	+++	+	-	++	+	+
D	++	+	+	+	+	+
D	+++	+	-	+	-	+
D	++	+	-	+	+	+
D	++	+	-	+	+	+
LB+D	-	-	-	-	-	-
LB+D	+	-	-	-	-	-
LB+D	+	-	-	-	-	-
LB+D	+	+	-	-	-	-
LB+D	++	+	-	-	-	-
LB+D	+	-	-	-	-	-
LB+D	+	-	-	-	-	-

4. SONUÇLAR

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının (İBH) başlangıcı intestinal inflamasyon ve mukozal doku hasarı ile gerçekleşmekte, hastalığın ilerlemesi bozulmuş immün cevaplar ile oluşmakta, intestinal ve ekstraintestinal bulgulara neden olan, etiyojisi netleşmemiş, hastaların yaşam standartlarını ciddi anlamda olumsuz etkileyen, kronik hastalıklardan biridir (Nazlıkul, 2020). İBH'dan biri de ülseratif kolittir. Bu hastalık kolonun bir kısmına ya da tamamına yayılarak tutunabilir. Genellikle hastalığı alan kişilerin kolon muhtevastaki gıda, bakteri vb. ile kolonun tahriş olması neticesinde immün sistemleri aktif hale gelmektedir. Ülseratif kolit belirtileri tahriş neticesinde alevlenmektedir. Alevlenmeler esnasında genellikle hastalarda mukuslu ve kanlı gayta, karın ağrıları, şişkinlik, diyare ve kramp gibi semptomlar görülmektedir (Uğurlu, 2020). Yapılan araştırmalarda, yaklaşık otuz yıldan fazla bir süredir deneysel ülseratif kolit modelleri kullanılmaktadır. Modellerin oluşması; laboratuvarında deney hayvanlarının deniz yosunu ekstraktını tüketmesi neticesinde, insanlarda oluşan ülseratif kolit (ÜK) hastalığındaki semptomların gözlemlenmesi ile başlamıştır. Sonraki süreçlerde ise immün transfer, farklı kimyasallar ile indüklenen, genetik tabanlı ve bakteriyel örnek modelleri oluşturulmuştur. İnsanlarda görülen ÜK modeline deneysel olarak ulaşmak için tercih edilen kimyasallardan biri de DSS (Dekstran Sodyum Sülfat)'dır. 5 ile 1400 kDa moleküler ağırlığa sahip, (C₆H₇Na₃O₁₄S₃)n kimyasal formülü olan, suda çözünme özelliğı olan, negatif yüklü sülfatlanmış polisakkarit türlerinden biridir. Sıçan ve farelerde intestinal koliti tetiklemek amacıyla bilimsel çalışmalarda çoğunlukla kullanılmaktadır. ÜK hastalığında bağırsak epitel bariyerdeki farklılaşması, böylece lümende bulunan bakteri ya da bakteri antijenlerinin mukozaya doğru ilerlemesi ve kolonik inflamasyonu tetiklemesi hastalığın sistemi olarak ileri sürülmektedir. Benzer olaylar DSS ile meydana gelmiş kolit modellerinde de görülmektedir. DSS'nin bağırsak iltihabına neden olan mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, kolonik epitel yüzeyi için toksik bir madde olan DSS epitel hücrede bozulmalara neden olur, bu hasar sonucunda oluşan immün tepkiler, kolonik epitel mukozal bariyer boyunca farklılaşmalara sebep olur. Bu nedenle DSS'nin kısa süre içerisinde fare ya da sıçanların içme sularına eklenmesiyle, kolonla sınırlı olarak; ülserler/erezyonlar, karakterize akut inflamasyonu ve kript kayıplarına meydana gelmesiyle neticelenmektedir. ÜK çalışmalarında; uygulama sırasındaki hızlılığı ve kolaylığı (içme suyu ile), tekrar edilmesi, dozajını kontrol etme olanağı sebebiyle DSS kolit modeli sıklıkla tercih edilmektedir. DSS uygulama sıklığı ve dozajında farklılıklar oluşturularak kronik ve akut inflamasyon modelleri oluşturulabilir (Küçük, 2020).

Yapılan farklı araştırmalara göre; ÜK hastalığı teşhisinde, hastaların yaklaşık %21'i klasik ilaç tedavi yöntemlerini bırakarak, alternatif tedavi yöntemlerini tercih etmişlerdir. Tedavi sürecindeki yetersizlik farklı ve etkili yöntemlere ihtiyacı kanıtlamaktadır (Ağaoğlu, 2020). Alternatif tedavi yöntemleri içerisinde en dikkat çeken bitkisel yöntemlerdir. Bitkisel yöntemlerde tedavi diğer ülkelerde ve ülkemizde son zamanlarda hızla yaygınlaşmaktadır. Bitkisel tedavinin ön planda olmasının en önemli sebepleri içerisinde özellikle de kişilerin tıbbi tedavinin yan etkilerinden şikayetçi olmalarıdır. Ayrıca bitkilerle tedaviye olan bu yönelimin nedeni gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerde ekonomik sebepler ile ilaçlara alternatif olarak, doğal kaynaklar kullanılarak sağlık teknolojisinin gelişmesini sağlamaktır (Bozdağ, 2019; Mutlu, 2020). Antioksidan özelliğı ön planda olan *Lycium barbarum* (LB) alternatif tıpta kullanılan bitkiler

içerisinde yer almaktadır. Kurt üzümü ya da Goji Berry (*Solanaceae* familyasında) olarak da bilinen LB, genellikle Tibet, Çin ve farklı Asya ülkelerinde oluşan, 1-2 cm uzunluğuna sahip, kırmızı-turuncu renkte bir meyve türüdür. LB'un kimyasal bileşenlerinde en çok dikkat çeken polisakkarit kompleksleridir. Bu kompleksler ise polipeptit ve asidik heteropolisakkaritten meydana gelen komplekslerdir. Miktarlarında farklılıklar olsa da polisakkaritler esasen 6 tane monosakkaritten meydana gelmiştir, monosakkaritler şunlardır; ramnoz, galaktoz, glikoz, mannoz, arabinoz, ksilozdur. LB meyvesinin polisakkaritleri, 18 tane aminoasit ve galakturonik asit bulundurmaktadır (Yılmaz, 2017). LB'un turuncu-kırmızı renkli olmasına sebep olan içeriğindeki karotenoidlerdir. Ekstraktıyla ilgili yapılan çalışmalarda 7 tane karotenoid esteri ve 11 tane serbest karotenoid içermektedir (Yıldız, 2018). LB'da karotenoid ve polisakkaritlerin farklı olarak içeriğinde; beta-sitosterol, betain, serebrosit, p-kumarik asit gibi yararlı bileşikler ve Co, Fe, K, Ca, Zn, Se, Mn, Mg gibi faydalı minerallerde bulunmaktadır (Özdemir, 2017). 'Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi' (ORAC) besinlerinde bulunan antioksidan içeriğini belirtmektedir. Besinlerin içerdiği ORAC seviyesi yüksekse, hücre ve hücre bileşenlerini oksidatif hasarlar karşısında korumaktadır. LB'un çok sayıda sebze ve meyveyle karşılaştırıldığında ORAC değerinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (nar, yaban mersini, böğürtlen, çilek, ıspanak, brüksel lahanası, pancar, portakal, soğan, havuç vb. kıyaslanmış ve en yüksek ORAC seviyesi LB olduğu belirlenmiştir) (Ergür, 2019). LB'un ömrü uzatıcı etkisinin olduğu inancı sebebiyle Çin halkı tarafından 'mutluluk meyvesi' olarak tanımlanmış ve yüzyıllarca kullanılmış bir meyvedir. Yapılan birçok araştırma sonuçlarına göre, bu meyvenin insan sağlığı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bir çalışmada sıçanlarda asetik asit ile oluşturulan ülseratif kolit modelinde LBP'nin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada biyokimyasal belirteç olan endotoksin (EDT), diamin oksidaz (DAO) ve d-laktat (DLA) serum seviyelerinde artış olduğu, kilo kaybı ve ishalin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Zhao vd., 2014). Yüksek yağlı diyet ile oluşturulan obez farelerin testis dokularındaki hasar ile ilgili yapılan çalışmada, LBP'nin testis dokusunda oksidatif stresi ve patolojik hasarı azalttığı, glikoliz seviyesini düşürdüğü açıklanmıştır (Yang vd., 2020). Potasyum bromat ($KBrO_3$) genellikle suların dezenfektanı için kullanılan kimyasaldır. $KBrO_3$ ile sıçanlarda oluşturulan böbrek hasarı üzerinde LB'un etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucu LB'un böbrek dokusundaki hasarı azalttığı, böbrek hasarı tedavisinde koruyucu bir ajan olabileceği belirtilmiştir (Li vd., 2017). 'Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS)' akciğer dokusundaki alveollerde sıvı birikmesi nedeniyle oluşan bir inflamatuvar akciğer hasarı olarak tanımlanır. Erkek fareler üzerinde yapılan bir çalışmada LBP'nin ARDS'ye karşı kısmen koruyucu etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Chen vd., 2018). Yapılan farklı bir çalışmada sıçanlarda etanol ile indüklenen mide ülseri üzerinde LBP'nin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucu LBP'nin mide ülserini zayıflatığı belirtilmiştir (Lian vd., 2020).

Apoptoz hücresel dengeyi korumakla görevli, inflamasyon olmadan hücre ölümlerini düzenleyen programlanmış bir mekanizmadır (Aktaş, 2017). Programlı bu mekanizmanın ana görevi, organizmanın normal işleyişine zararlı olacak hücreleri uzaklaştırıp, hasara uğramış hücreleri ortamdaki kaldırarak homeostazın devamlılığını sağlamaya çalışmaktadır (Çolpan, 2020). Bu programda önemli görevleri bulunan proteinlerden biri p53 proteindir. Oksidatif stres, DNA hasarı gibi durumlarda p53 proteini uyarılır, uyarım sonrası hücre siklusu durdurulur ve hasar onarım mekanizması aktive edilir, hasar tamir edilemeyecek bir seviyede ise p53 proteini hücreyi apoptozise sürükler. Bir transkripsiyon faktörü olarak da görev yapan p53 proteini, uyarıldığı zaman konsantrasyon seviyesinde artış olur ve spesifik olarak DNA'ya bağlanarak, birçok farklı

genin faaliyetini olumlu-olumsuz yönden etkilemektedir (Kanapathipillai, 2018; Stein vd., 2019). p53'ün kontrolünde yer alan C12orf5 geni ürünü olan TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) proteindir. Yapılan birçok farklı araştırma sonuçları incelendiğinde artan TIGAR seviyesi, hücrede ROS ile tetiklenen programlı hücre ölümünün aktif hale gelmesini önlemede hücreyi ikna edici rol oynadığı düşünülmektedir (Ağca vd., 2019a). Hücre ölümüne sebep olan mekanizmalardan bir diğeri ise otofajidir. Otofajiyle ilgili ilk araştırmalarda besin eksikliğiyle aktifleşen, lizozom ile makromolekülün hücre içerisinde yıkımını gerçekleştirerek, sonraki aşamada ürünlerin tekrar elde edilmesiyle hücrede oluşan stres koşullarına alışması amacıyla ona yardımcı olan bir sistem olduğu belirlenmiştir (Aybek, 2021; Alvur, 2020). Fakat son yıllarda otofajiyle ilgili yapılan çalışmalar bu görevinin dışında metabolizmayı düzenlemek, hücre ölümü, hücre yaşlanması-farklılaşması, doğal ve adaptif immün sistemde görev aldığı belirtilmiştir (Acar, 2020). Otofaji sisteminde meydana gelen bozukluklar nörodejeneratif ve kardiyovasküler gibi birçok patolojik hastalıklara sebep olduğu belirlenmiştir (Erfidan, 2020). Otofajinin düzenlenmesinde Beclin 1'in önemli görevleri bulunmaktadır, yapılan genetik çalışmalar neticesinde; immün savunma sistemi, hücre ölümlerinin düzenlenmesi, kalp hastalıklarının engellenmesinde de görev almaktadır. Ayrıca otofajik mekanizmanın aktifleşip aktifleşmediğini belirlemek amacıyla Beclin 1 gösterge görevi görmektedir. Beclin 1, temel sinyal başlatma kompleksinde (sınıf III PI3 kinaz, Beclin 1 ve p150 proteini) yer aldığı için otofagolizozomu meydana getiren protein dizisini aktive ederek doğrudan etki eden bir mekanizma olarak da tanımlanmaktadır (Hill vd., 2019; Baytar, 2019).

Son yıllarda apoptozis ve otofaji ile ilgili literatürde birçok çalışma mevcutken, deneysel ülseratif kolit modelinde LB'un hastalığı önleyici etkisinin sıçanlarda p53, TIGAR ve Beclin-1 proteinlerinin, apoptotik-otofajik mekanizma üzerindeki potansiyel rolüyle ilgili herhangi bir çalışma olmadığını gözlemledik. Çalışmamızda bu konunun araştırması amaçlanmıştır.

Ülseratif kolit hastalarıyla ilgili yapılan bir araştırmada, p53 geni incelenmiş, çalışma sonuçlarına göre hastaların yaklaşık %55'inin p53 geninde bozulma olduğu açıklanmıştır, yapılan çalışma ile ülseratif kolit hastalığının tedavi edilmemesi kolon kanseri riskini arttıracak belirtilmiştir (Mariann vd., 2015). Yapılan farklı bir çalışmada ise ülseratif kolit hastalarının kolon dokularında p53 protein ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, hastalıklı dokularda p53 proteininde azalma olduğu ve bu azalma sonucunda iltihaplı dokunun tedavisi için apoptozisin engellendiği düşünülmektedir (Su vd., 2019). Uzun süreli inflamatuvar bağırsak hastalığı kolorektal kanser riskinin artmasına neden olmaktadır. İnflamatuvar bağırsak hastalarında gelişen kolorektal tümör yapısının araştırıldığı bir çalışmada hastaların %63'ünde p53 geninin mutasyonlu olduğu belirtilmiştir (Robles vd., 2016). 2001-2011 yılları arasında inflamatuvar bağırsak hastalarında gelişen poliplerde displazi tanısında p53'ün etkisinin araştırıldığı çalışmada ise displazi tanısında p53 proteininin yardımcı olabileceği açıklanmıştır (Brahim vd., 2016).

Mevcut çalışmamızda p53 proteininin DSS grubu ile kıyasla LB+DSS grubunda anlamlı bir artışının olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuca göre, LB'un apoptozis mekanizmasının aktifleşmesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

İki farklı fare grubu üzerinde yapılan bir araştırmada; her iki grupta da akut ince bağırsak hasarı oluşturulmuştur, fakat sadece bir grupta TIGAR geni silinmiştir. Çalışma sonucunda TIGAR geninin silindiği grupta oluşan bağırsak poliplerinin sayısı, diğer gruba kıyasla daha az olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar TIGAR proteininin bağırsak hasarını arttırmada yardımcı olabileceği

düşüncesini güçlendirmiştir (Cheung vd., 2013). Resveratrolün göğüs kanseri hücre hattı olan MCF-7 ve akciğer kanseri hücre hattı olan H1299 üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, her iki hücre hattında da resveratrol maddesinin verildiği grupta TIGAR seviyesinde azalma olduğu, azalan TIGAR sonucunun, resveratrolün tetiklediği apoptozisi desteklediği belirtilmiştir (Kumar vd., 2015). Akciğer kanseri hücre hattı olan A549’da TIGAR geninin susturulması sonucunda apoptotik ve otofajik mekanizmanın araştırıldığı bir çalışmada TIGAR’ın susturulduğu grupta koloni oluşumunda ve hücre canlılığında azalma olduğu, Kaspaz3-Beclin 1-LC3IveII proteinlerinde artış olduğu belirtilmiştir, sonuç olarak TIGAR gen susturulmasının apoptozis ve otofajiyi indüklediği, kanser tedavilerinde potansiyel strateji olarak kullanılabileceği düşüncesini güçlendirmiştir (Ağca vd., 2019b). *Triticum aestivum* çim kökünün kolon kanser hücre hattı olan HT-29 üzerinde etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada *Triticum aestivum* çim kökünün HT-29 hücrelerinde antiproliferatif etkisinin olduğu, p53 ve TIGAR protein ekspresyonlarını aşağı regüle ettiği bildirilmiştir, yapılan bu çalışmada p53 ve TIGAR proteinlerinin stoplazmadan çekirdeğe göçme olasılığının yüksek olduğu açıklanarak p53/TIGAR’a bağlı apoptozis mekanizmasını indükleyebileceği belirtilmiştir (Ağca vd., 2017).

Mevcut çalışmamızda, benzer çalışmalar ile tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda TIGAR proteininin DSS grubunda anlamlı olarak arttığını, DSS grubu ile kıyasla LB+DSS grubunda ise anlamlı bir azalışın olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuca göre, LB’un apoptozis mekanizmasının aktifleşmesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Ratlarda DSS ile oluşturulan ülseratif kolit modelinde üzümde bulunan resveratrol maddesinin otofajik mekanizmadaki etkisiyle ilgili bir çalışmada, Beclin 1 protein ekspresyon seviyesinde artış olduğu ve otofajiyi aktifleştirerek bağırsaktaki hasarı hafiflettiği sonucuna varılmıştır (Pan vd., 2020). Ülseratif kolit hastalarıyla ilgili yapılan bir çalışmada Beclin 1 protein ekspresyon seviyesinde artış olduğu, artan Beclin 1 seviyesi ile hasarlı dokuda otofajinin tetiklendiği sonucuna varılmıştır (Hao vd., 2015). Farelerde DSS ile indüklenen ülseratif kolit modelinde *Ganoderma atrum* polisakkaritinin (PSG-1) koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada, PSG-1’in bağırsak yapısının bütünlüğünü koruduğunu, Akt/mTOR seviyesini düzenleyerek, Beclin 1 protein ekspresyonunu arttırdığı ve bu sonuçlarla otofajiyi desteklediği düşünülmektedir (Zheng vd., 2020). DSS ile oluşturulan ülseratif kolit modelinde Metrn1 protein rolünün araştırıldığı bir çalışmada; Metrn1 proteinin bulunduğu kontrol grubuna kıyasla Metrn1 proteinin olmadığı ülserli dokuda Beclin 1 proteininde azalma olduğu ve AMPK-mTOR-p70S6K yoluyla otofajiyi inhibe ederek ülseratif koliti şiddetlendirdiği düşünülmektedir (Zhang vd., 2020). Farelerde DSS ile indüklenen ülseratif kolit modeli üzerinde kurkumin ve resveratrolün koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada; kurkumin ve resveratrol ile tedavi edilen grubun, DSS grubuna kıyasla vücut ağırlık kaybının azaldığı, histopatolojik sonuçlara göre hastalık şiddetini azaltarak iyileşme sürecini hızlandırdığı ancak Beclin 1 ve LC3I-II protein ekspresyonunu azalttığı belirtilmiştir, proteinlerdeki azalmanın sebebi ise ülserli kolonun iyileşmesinden kaynaklı otofajiyi engellemesi olabileceği belirtilmiştir (Zhang vd., 2019).

Mevcut çalışmamızda, benzer çalışmalar ile tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda Beclin 1 proteininin DSS grubunda anlamlı bir azalışın olduğu, DSS grubuna kıyasla LB+DSS grubunda ise anlamlı ciddi bir artışın olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuca göre, LB’un otofajik mekanizmasının aktifleşmesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan, biyolojik yapılar içerisinde kolay bir şekilde tespit edilebilen ve peroksidatif hasar sonucunda belirteç olarak gösterilen MDA oluşmaktadır. Malondialdehit lipit peroksidasyonunun önemli ürünlerinden birini oluşturmaktadır. Üç veya daha çok bağ bulunduran yağ asidinin peroksidasyonu sonucunda malondialdehit oluşur. Meydana gelen malondialdehit hücre membranından iyon alış verişini olumsuz yönde etkileyerek membranda yer alan bileşik bağlanmalarının çarpaz olmasına ve enzim aktivitesinde farklılaşma vb. menfi sonuçlara sebep olan, vücut için zararlı üründür (Tunç, 2018; Güngörmez, 2019). Hidrojen peroksitin sebep olduğu *Drosophila melanogaster*'in (meyve sineği) ölüm oranları üzerinde LBP'nin etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, LBP'nin meyve sineği ölüm oranlarını azalttığı ve MDA düzeyinde ciddi oranda azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir (Rui vd., 2019). Streptozotocini ile indüklenen diyabetik rat modelinde LBP etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, LBP'nin kandaki glikoz ve serum MDA düzeyinde azalmalara neden olduğu belirtilmiştir (Wu vd., 2006). Sağlıklı insanlar üzerinde, LBP'nin antioksidan etkisini belirlemek için yapılan çalışmada glutatyon peroksidaz düzeyinin arttığı ve serum MDA düzeyinde ise azalma olduğu belirlenmiştir (Amagase vd., 2009). Sıçanlarda 'intestinal iskemi/reperfüzyon' bağırsak hasar modelinde LBP'nin etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada LBP'nin bağırsak dokusunda histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği ve MDA düzeyini azalttığı bildirilmiştir (Yang vd., 2013). Doksorubisin (DOX) kanser tedavilerinde kullanılan kemoterapik ajanlardan biridir, yapılan çalışmalarda DOX'inin kalpte hasara neden olduğu belirlenmiştir, sıçanlar üzerinde DOX'in kaynaklı kalp hasarı üzerinde LBP'nin etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada LBP'nin kalpte miyokard hasarını iyileştirdiği, MDA düzeyini azalttığı belirlenmiştir (Xin vd., 2011). Farelerde oluşturulan psikolojik stres modelinde karaciğer dokusunda LBP'nin etkisinin değerlendirildiği bir çalışma sonucunda ise LBP'nin kanda ve karaciğer dokusunda MDA düzeyini azalttığı, ayrıca strese karşı farelerde yararlı bir koruyucu madde olduğu düşünülmektedir (Zhu vd., 2014).

Mevcut çalışmamızda MDA düzeyi en yüksek olan DSS grubudur, DSS grubuna kıyasla LB+DSS grubunda önemli bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuca göre LB'un MDA düzeyini azaltarak dokuda oluşan hasarı engellediğini ifade edebiliriz.

Vücutta oluşan oksidatif stres neticesinde birçok hasar gelişebilir, hasarı önlemek amacı ile vücutta birçok savunma sistemleri meydana gelir. Bu savunma sistemlerinden biri de GSH (Glutatyon)'dur (Gündüz, 2021). GSH tripeptit yapısına sahip, içerisinde sistein bulunduran, ince bağırsakta emilme özelliğine sahip antioksidan enzim sistemlerinden birini oluşturmaktadır. GSH birçok vücut fonksiyonlarında aktif bir şekilde etkilidir. Örneğin DNA sentezi ve hasara uğramış kısımların onarılması gibi. Ayrıca GSH birçok farklı ilaç ve karsinogen benzeri toksik yapılara karşı korumaktadır. Oksidatif stres karşısında belirteç olarak GSH düzeyleri kontrol edilmektedir (Ertunç, 2017; Korkmaz, 2017). D-galaktoz ile oluşturulan yaşlı fare modeli üzerinde LBP'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, LBP'nin MDA düzeyini azalttığı, GSH düzeyini ise ciddi bir oranda arttırdığı, farelerde antiaging etki oluşturduğu belirtilmiştir (Yi vd., 2013). Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların karaciğer dokusunda LBP'nin etkisinin araştırıldığı çalışmada, LBP'nin karaciğerde GSH düzeyinin önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (Wu vd., 2010). Sıçanlarda safra tıkanıklığıyla oluşturulan karaciğer hasarı üzerinde LB'un etkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada, LB'un karaciğerde MDA düzeyini azalttığı, GSH düzeyini ve katalaz aktivitesini ise arttırdığı belirlenmiştir (Kabakçı, 2013). LBP'nin kadmiyum kaynaklı karaciğer hasarına karşı

etkisinin araştırıldığı çalışmada LBP'nin hasarı hafiflettiği, GSH düzeyinde yükselmeye neden olduğu gözlemlenmiştir (Varoni vd., 2017). Göz retina bozukluğu üzerinde LB'un etkilerinin araştırıldığı çalışmada LB ile tedavi edilen grubun hastalık grubuna kıyasla GSH düzeyinde artma ve MDA düzeyinde ise azalma olduğu belirtilmiştir (Chang vd., 2018).

Mevcut çalışmamızda GSH düzeyi en düşük olan DSS grubudur, DSS grubuna kıyasla LB+DSS grubunda önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuca göre LB'un GSH düzeyinin artmasına yardımcı olarak, dokuda oluşan hasarı önleyebileceğini ifade edebiliriz.

Organizmada seviyesi düşük olan 'hidrojen peroksit' katalaz yardımıyla parçalanır. Fakat 'hidrojen peroksit' düzeyinde artış olması ya da katalaz ile parçalanarak zararsız bir hale getirilmemesi sonucunda vücut için tehlikeli olan 'hidroksil serbest radikali' (OH)'ın meydana gelmesine katkı sağlar. Vücutta seviyesi fazla olan hidrojen peroksit, lipid peroksidasyonu ya da DNA hasarlarına neden olmaktadır. Yapılan birçok farklı araştırma sonucunda oksidatif stresin neden olduğu sorunlardan olan diyabet, nörodejeneratif bozukluklar, ateroskleroz ve lipid bozukluğunun katalaz aktivitesinin az olduğu kişilerde sıklıkla görüldüğü açıklanmıştır (Ekinci, 2019; Bulgulu, 2019). Yumurtalıkları alınmış dişi sıçanlarda oluşan oksidatif hasar üzerinde LBP'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada LBP'nin ROS seviyesini azalttığı ve katalaz aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Yu vd., 2019). LBP'nin γ ışınlamasının neden olduğu sıçan karaciğer hasarındaki etkisinin araştırıldığı çalışmada katalaz aktivitesini ciddi oranda arttırdığı belirtilmiştir (Li vd., 2007). LB'un metabolik sendromlu hastalar (obez-yüksek tansiyon) üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada kanda MDA düzeyini azalttığı, katalaz aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir (Zanchet vd., 2017). İnsan karaciğer karsinoma HepG2 hücre hattında H_2O_2 ile oluşturulan hasar üzerinde LB'un yaprak etanol ekstraktının etkilerinin araştırıldığı çalışmada, LB yaprak ekstraktının ROS düzeyini azalttığı ve katalaz aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir (Kim vd., 2019). Fareler üzerinde metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) ile oluşturulan parkinson hastalığı modelinde LBP'nin davranışsal eksiklikler üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada, LBP'nin hafıza üzerinde olumlu etkilerinin olduğu, katalaz aktivitesinde ciddi oranda artışın olduğu belirlenmiştir (Wang vd., 2018). Sıçanlarda alkol ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı LB etkisinin araştırıldığı çalışma sonucuna göre LB'un oksidatif stresi inhibe ettiği, karaciğer hasarını azalttığı, GSH düzeyini ve katalaz aktivitesini arttırdığı, MDA düzeyini ise azalttığı belirtilmiştir (Yan vd., 2019).

Mevcut çalışmamızda katalaz aktivitesi en düşük olan DSS grubudur, DSS grubuna kıyasla LB+DSS grubunda önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuca göre LB'un katalaz aktivitesinin artmasına yardımcı olarak, dokuda oluşan hasar karşısında dokuyu koruyabileceğini ifade edebiliriz.

Patoloji 'Pathes' teriminden türetilen, eski Yunanca da hastalık olarak adlandırılan, oluşan hastalıkların bilimsel yöntemler ile incelenmesi olarak tanımlanmaktadır. Patoloji anatomi-fizyolojik bilgiler ışığında, problemleri dokuların mikroskop yardımıyla görünüşteki anormallikler ile hastalığın kolay açıklanmasını sağlamaktadır. Patolojik incelemeler sonucunda hastalığın tanısı veya tedavisi konusunda yardımcı olmaktadır. Günümüzde birçok hastalığın kesin tanısı için patolojik incelemeler zorunlu ve gereklidir. Patologlar morfolojik değerlendirmenin dışında kalitatif ve kantitatif incelemelerde gerçekleştirebilir, bu değerlendirmeler arasında immünohistokimyasal patolojide bulunmaktadır. İmmünohistokimyasal patoloji; immünojenik

reaksiyonlardan yararlanılarak, kromojenik ya da floresan maddeler yardımı ile doku kesitlerinde bulunan hastalıklı etmenlerin işaretlenerek belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır (Ürer, 2020; Kurt vd., 2021).

Mevcut çalışmamızda histopatolojik sonuçlar incelendiğinde kontrol ve LB grubunun histolojik görüntüsünün sağlıklı-normal olduğunu, DSS grubunda ülserli kolon mukozayı ve oluşan kript distorsiyonu, LB+DSS grubunda ise yüzey epitelinin bulunduğunu ve inflamatuvar hücrelerin ise seyreltiği gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuca göre LB'un ülseratif kolit hastalığını engellemede etkili olduğunu ifade edebiliriz.

'Deneysel Ülseratif Kolit Modelinde, *Lycium barbarum*'un (Goji Berry) Apoptozis ve Otofajideki Rolü' başlıklı çalışma konumuz, gerçekleştirdiğimiz literatür taramaları sonucunda daha önce hiç çalışılmadığını ve tez konumuzun özgün olduğunu ortaya çıkarmaktadır. *Lycium barbarum*'un ülseratif koliti önleyici etkisinin olduğu belirlenmiştir. Genel olarak elde ettiğimiz bulgular ülseratif kolit modelinde LB'un Beclin 1, TIGAR ve p53 proteinlerin sinyal yollarını aktifleştirerek, apoptozis ve otofajiye sebebiyet verdiği gözlemlenmiştir. Çalışmamızda MDA düzeyinde ciddi oranda azalma, GSH düzeyi ve katalaz aktivitesinde ise önemli bir artışın olduğu belirlenmiştir. Histopatolojik analiz sonucunda ise LB+DSS grubunda ülseratif kolit oluşmadığı gözlemlenmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen analiz sonuçları doğrultusunda LB'un DSS kimyasalı ile oluşturulan ülseratif kolit hastalığına karşı kolon dokusunda koruyucu bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Aslan, A.; Can, M.İ. (2014). Milk Thistle Impedes the Development of Carbontetrachloride Iduced Liver Damage in Rats Through Suppression of Bcl-2 and Regulating Caspase Pathway, *Life Sciences*, 117 (1), 13-18.
- Aktaş, G. (2017). *Lycium barbarum (Kurt Üzüümü)'un Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Erkek Sıçanlarda Üreme Sistemi ve Crisp-1 Protein Ekspresyonu Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Alkan, Ş. (2017). *Kolonoskopi Öncesi Bağırsak Hazırlığında Uygulanan Farklı Protokollerin Hastalarda Uyum Tolerans ve Konfor Düzeylerine Etkisinin Karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, İstinye Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Acar, N. (2020). *Kalıtısal Metabolik Hastalıklarda Antioksidan Yanıt ve Otofajinin P62/NRF2/KEAP1 Yolağı Aracılığıyla Araştırılması*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altınoluk, T. (2019). *Sıçanlarda Kronik Rezistans Egzersizinin İndüklediği Hipertrofide mTor Yolağına Bağlı Otofajinin Rolü*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Aybek, H. (2021). *5-Flourourasil ve C₆₀ Nanopartikülünün MCF-7 Hücre Hattı Üzerindeki Sinerjik Etkisinin Apoptotik ve Otofajik Hücre Ölüm Yolakları Üzerine Etkisinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aykan, A. (2018). *Eribulin Mesilatın T98 İnsan Glioblastoma Hücrelerinde Proliferasyon ve Apoptoz Üzerine Etkilerinin in Vitro Olarak Değerlendirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ağca, C.A.; Aybek, H.; Çiftçi, M. (2020). 5-Fluorourasil (5-FU) ve C60 Nanopartikülünün Meme Kanseri (MCF-7) Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin Araştırılması, *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9 (2), 35-42.
- Alvur, Ö. (2020). *Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserlerinde Transkripsiyon Faktörü NFKB-Aracılı Otofaji Düzenlenme Mekanizmalarının Aydınlatılması*, Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ağaoğlu, A. (2020). *Ülseratif Kolit Oluşturulan Hayvan Modelinde Arum Dioscoridis Bitki Ekstraktı Uygulamasının Antioksidan ve Anti-İnflamatuvar Etkisinin Araştırılması*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Aslan, A. (2011). *Ratlarda Azoksimetan Uygulanarak Oluşturulan Kolorektal Kanserde Likopenin Siklooksijenaz-2 (Cox-2), Kaspaz-3, Kaspaz-9, Bax, Bcl-2, p53 Proteinlerinin Ekspresyonu ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi*, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altun, H. (2019). *Kolorektal Kanseri Tanısı Alan Hastaların Kanseri Taraması Bilgi ve Tutumlarının Değerlendirilmesi*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Ağca, C.A.; Kırıcı, M.; Can, A.; Yumak, Y. (2019a). 5-Flourouracil ve Resveratrol Kombinasyonunun İnsan Akciğer Kanseri A549 Hücre Hattında Apoptozis Üzerine Etkisi, *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 21 (3), 359-368.
- Ağca, C.A.; Shareef, O. (2019b). A549 Akciğer Kanseri Hücre Hattında TIGAR'ın Susturulması, NF-κB ve HO-1 Ekspresyonlarının Modülasyonu ile Apoptozis ve Otofaji İndükler, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (1), 310-320.
- Ağca, C.A.; Cimen, B.; Kırıcı, M.; Aryan, M.F.; Gecibesler, İ.H. (2017). Wheatgrass Root (*Triticum aestivum*) Colon Cancer Cell Line (HT-29) Effect on p53\TIGAR Protein, *International DNA Day and Genome Congress*, 24-28 April, Kırşehir.
- Ağca, C.A. (2013). *Diyabetik Nöropati Oluşturulan Ratlarda Taurinin NRF2/HO-1 Sinyal Yolağı Üzerine Etkisi*, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Amagase, H.; Sun, B.; Borek, C. (2009). *Lycium barbarum* (Goji) Juice Improves in Vivo Antioxidant Biomarkers in Serum of Healthy Adults, *Nutrition Research*, 29 (1), 19-25.
- Antmen, Ş.E. (2005). *Beta Talasemide Oksidatif Stres*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Baytar, S. (2019). *Besin Açlığı Durumunda Sıçan İnce Barsak Dokusunda BECN 1 (BECLIN 1) İmmün Lokalizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Bozdağ, R. (2019). *Gaziantep İlinde Ticareti Yapılan Tıbbi Bitkiler ve Aktarların Müşteri Profili*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bulut, D. (2019). *Otokrin Büyüme Hormonu (BH) Sinyalinin Curcumin'e Karşı Direnç Mekanizmasındaki Rolünün Endoplazmik Retikulum Stres ve Otofajik Yollara Bağlı Olarak MDA-MB-231 ve T47D Meme Kanseri Hücrelerinde İrdelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Kültür Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Brahim, E.; Mrabet, A.; Jouini, R.; Koubaa, W.; Sidhom, R.; Elloumi, H.; Chadli, A. (2016). Immunohistochemistry in the Diagnosis of Dysplasia in Chronic Inflammatory Bowel Disease Colorectal Polyps, *Arab Journal of Gastroenterology*, 17 (3), 121-126. DOI:[10.1016/j.ajg.2016.06.003](https://doi.org/10.1016/j.ajg.2016.06.003)
- Bensaad, K.; Cheung, C.; Vousden, H. (2009). Modulation of Intracellular ROS Levels by TIGAR Controls Autophagy, *The EMBO Journal*, 28 (19), 3015-3026. DOI:<https://doi.org/10.1038/emboj.2009.242>
- Bulgulu, Ö. (2019). *Sezaryen ve Normal Doğum Yapmış Kadınlardan Elde Edilen Plesantalarda Katalaz Enzimi İmmunoreaktivitesinin Karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Chang, J.; Lee, Y.; Wilkie, D.; Lin, C. (2018). The Neuroprotective and Antioxidative Effects of Submicron and Blended *Lycium barbarum* in Experimental Retinal Degeneration in Rats, *Journal of Veterinary Medical Science*, 80 (7), 1108–1115. DOI:[10.1292/jvms.17-0623](https://doi.org/10.1292/jvms.17-0623)
- Chen, L.; Li, W.; Qi, D.; Wang, D. (2018). *Lycium barbarum* Polysaccharide Protects Against LPS induced ARDS by Inhibiting Apoptosis Oxidative Stress and Inflammation in Pulmonary Endothelial Cells, *Free Radical Research*, 52 (4), 480-490. DOI:[10.1080/10715762.2018.1447105](https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1447105)
- Chien, K.; Horng, C.; Huang, Y.; Hsieh, Y.; Wang, C.; Yang, J.; Lu, K.; Chen, F. (2018). Effects of *Lycium barbarum* (Goji Berry) on Dry Eye Disease in Rats, *Molecular Medicine Reports*, 17 (1), 809- 818. DOI:[10.3892/mmr.2017.7947](https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7947)
- Cheung, E.; Athineos, D.; Lee, P.; Ridway, R.; Lambie, W.; Nixon, C.; Strathdee, D.; Blyth, K.; Sansom, O.; Vousden, K. (2013). TIGAR is Required For Efficient Intestinal Regeneration and Tumorigenesis, *Developmental Cell*, 25 (5), 463-477. DOI:[10.1016/j.devcel.2013.05.001](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.05.001)
- Çetin, F. (2019). *Kurt Üzümünün (Lycium barbarum) Çelikle Çoğaltılmasında Çelik Alma Zamanı ve İba Uygulamasının Köklenme Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çelebi, D. (2017). *Kolonoskopi Sırasında Dinletilen Müziğin Ağrı, Anksiyete ve Hasta Konforuna Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Çolak, E. (2020). *Deneyisel Olarak Oluşturulan Beyin İskemi/Reperfüzyon Hasarında Panneksin-1 Proteininin Apoptoz ve Nekroptoz ile İlişkisi*, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Çatav, N. (2019). *Kurt Üzümlü'nün (Lycium barbarum L.) Konya Ekolojik Şartlarında Adaptasyonu Üzerine Bir Araştırma*, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Çolpan, R. (2020). *Kolon Kanseri Hücre Hattında Kuersetin ve Kafeik Asit Fenetil Ester Yüklü Nanopartiküllerin Proliferasyon ve Apoptoz Üzerine Etkilerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çakır, B. (2019). *Keçi Sütü Proteinlerinden Elde Edilen Biyoaktif Peptidlerin, HCT 116 Kolon Kanseri Hücreleri Üzerine in Vitro Etkilerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Doğan, T. (2016). *Ratlarda Akut Pankreatite Bağlı Gelişen Böbrek Hasarında Lycium barbarum (Goji) Bitki Ekstresinin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Dişli, A. (2020). *Tiyol/Disülfid Homeostazının Ülseratif Kolit Hastalığındaki Rolü*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Değerli, E. (2019). *Meme Kanseri Tedavisine Yönelik Usnik Asit'e Cevap Veren MİR-185-5P'nin Apoptoz Yolağı Üzerindeki Etkisinin Moleküler Düzeyde Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü.
- Ergür, N. (2019). *Kurt Üzüümü Ekstraktı ile Zenginleştirilmiş Chia Tohumu Müsilajı'nın Alabalık (Oncorhynchus mykiss WALBAUM 1792) Filetolarının Kaplanmasında Kullanımı ve Raf Ömrünün Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ertunç, B. (2017). *Subklinik Mastitisli Koyunlarda GSH, Seruloplazmin, A Vitamini, C Vitamini ve E Vitamini Düzeylerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Erkoç, M. (2018). *İnsan Akciğer Kanseri Hücre Hattında Trail ve Bortezomib'in Apoptoz Yolağı Genlerinin mRNA ve Protein Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Eroğlu, S. (2018). *Otofaji İle İlişkili MikroRna'ların Akciğer Kanseri Üzerindeki Rollerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ekinci, S. (2019). *Kurkumin Uygulanan Diyabetik Ratların Akciğer Dokusunda Katalaz Lokalizasyonunun İmmünohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Erfidan, S. (2020). *Glukokortikoid Uygulanan Ratlarda Kinoanın (Chenopodium quinoa willd) Apoptotik, Otofajik, Antioksidan ve İnflamasyon Markırları Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Erten, F. (2019). *Akut Metotreksat Kemoterapisi Alan Ratlarda Mango Ginger'in Osteoklastogenez ve Kemik Hasarı Üzerine Etkileri*, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Erol, C. (2020). *Akut Romatizmal Ateşli Hastalarda Serum Malondialdehit Asit, Superoksit Dismutaz, Katalaz, Redükte Glutasyon ve Glutasyon Peroksidaz Aktivitelerinin İncelenmesi*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Felekoğlu, R. (2021). *Yeni Sentezlenen Antitirozinaz Aktiviteye Sahip Kojik Asit Türevlerinin A375 Malin Melanoma Hücre Hattında Sitotoksikite ve Hücre Ölümü Üzerine Etkisinin Aydınlatılması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Gürler, N. (2019). *Otofaji İnhibitörü Chloroquine Uygulamasının, İpek Böceği Bombyx Mori'nin Larval-Pupal Metamorfoz Sürecinde, Posterior İpek Bezine Olan Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Geng, J.; Yuan, X.; Wei, M.; Wu, J.; Qin, Z. (2018). The Diverse Role of TIGAR in Cellular Homeostasis and Cancer, *Free Radical Research*, 52 (11-12), 1240-1249. DOI:[10.1080/10715762.2018.1489133](https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1489133)
- Güçlü, E. (2020). *Uzun Kodlamayan Rna HIF1A-AS2'nin Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Üzerine Otofaji ile İlişkili Kemoterapötik Dirençteki Etkiliğinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Gökçek, Ö. (2020). *Idh Mutant Olmayan Glioblastoma'da LC3 Genin INTEGRİN B1/FAK/SRC Yolağı Üzerinden Otofajiye ve U87 GBM Hücre Hattında Hücre Davranışı Üzerine Etkisi*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Güney, K. (2021). *Holstein Irkı İneklerde Prepartum ile Postpartum Dönemde Malondialdehit, Nitrik Oksit, Total Oksidan Kapasite ve Total Antioksidan Kapasite Değerlerinin Karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Güngörmez, Y. (2019). *Muay Thai Sporcularının Antioksidan Sistem Mekanizmaları ve Enzim Düzeylerinin (CAT, GSH, MDA) İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü.
- Gündüz, A. (2021). *Köpeklerde Ovaryohistektomi Operasyonunda Lidokain ve Meloksikam Uygulamalarının Postoperatif Glutasyon Peroksidaz, Katalaz ve Malondialdehit Konsantrasyonları Üzerine Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü.
- Güven, A.; Kısacım, A. (2020). Gastrit ve Mide Kanseri Hastalarında Kan Malondialdehit (MDA) ve Redükte Glutasyon (GSH) Düzeylerinin Araştırılması, *Caucasian Journal of Science*, 7 (1), 1-8.
- Hill, S.; Wrobel, L.; Rubinsztajn, D. (2019). Post-Translational Modifications of Beclin 1 Provide Multiple Strategies For Autophagy Regulation, *Cell Death & Differentiation*, 26 (4), 617–629. DOI:[10.1038/s41418-018-0254-9](https://doi.org/10.1038/s41418-018-0254-9)
- Hao, X.; Yang, B.; Liu, X.; Yang, H.; Liu, X. (2015). Expression of Beclin 1 in the Colonic Mucosa Tissues of Patients With Ulcerative Colitis, *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8 (11), 21098–21105.
- Hu, X.; Mu, L.; Zhu, L.; Chang, X.; Nie, L.; Wang, L.; Li, G. (2021). *Lycium barbarum* Polysaccharides Attenuate Cardiovascular Oxidative Stress Injury by Enhancing the Keap1/Nrf2 Signaling Pathway in Exhaustive Exercise Rats, *Molecular Medicine Reports*, 24 (3), 643. DOI: [10.3892/mmr.2021.12282](https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12282)
- Kalkan, S.; Engin, M.; Otağ, M. (2019). Goji Berry (*Lycium barbarum* L.) Meyvesinin Farklı Çözgenlerden Elde Edilen Ekstratlarının Toplam Fenolik İçerikleri ile Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Karşılaştırılması, *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4 (3), 359-365. DOI:<https://doi.org/10.35229/jaes.596235>
- Kanapathipillai, M. (2018). Treating p53 Mutant Aggregation-Associated Cancer, *Cancers*, 10 (6), 154. DOI:[10.3390/cancers10060154](https://doi.org/10.3390/cancers10060154)
- Karabekir, G. (2017). *MCF-7 Hücre Soyunda Resveratrolün Apoptoz Mekanizması Üzerine Etkisinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Bilim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kadifeci, A. (2017). *Deneyisel Kolit Modelinde Koenzim Q10'un Koruyucu Etkiliğinin Kolon Dokusunda Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Korkmaz, H. (2017). *Akut ve Kronik Stres Uygulanan Sıçanlarda Serum Tiyo/Disülfid ve Malondialdehit/Glutasyon Oksidan Dengesine Oksitosinin Etkisi*, Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Kurt, Ö.; Özen, N.; Aydın, E.; Kaya, D.; Kayhan, C.; Okullu, S.; İnce, Ü.; Zeyrek, F. (2021). Yerli Bir Kala-Azar Hastasından İzole Edilen Leishmania Donovanii/L. Infantum Hibridinin Karakterizasyonu: in Vivo Modele Ait ön Bulgular, *Türkiye Parazitolojisi Dergisi*, 45 (2), 95-100. DOI:[10.4274/tpd.galenos.2021.14622](https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2021.14622)
- Kang, Y.; Xue, Y.; Du, M.; Zhu, M. (2017). Preventive Effects of Goji Berry on Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis in Mice, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 40, 70-76. DOI:[10.1016/j.jnutbio.2016.10.009](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.10.009)

- Keskin, A. (2020). *Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Melatonin ve Niasin Desteğinin Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisi*, Doktora Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kocaturk, M.; Akkoc, Y.; Kig, C.; Bayraktar, O.; Gozuacik, D.; Kutlu, O. (2019). Autophagy as a Molecular Target For Cancer Treatment, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 134, 116-137. DOI:[10.1016/j.ejps.2019.04.011](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.011)
- Korkmaz, D. (2020). *İntraserebroventriküler Streptozotosin Enjeksiyonu ile Oluşturulan Deneysel Alzheimer Modelinde Bor ve Taurinin Beyin Dokusu Malondialdehit ve Glutatyon Düzeylerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kılınç, E. (2019). *Ülseratif Kolit ve Kolon Kanseri Hastalarında HOGG1 (SER326CYS) ve APE1 (ASP148GLU) Polimorfizmlerinin Araştırılması*, Tıpta Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Kapancık, S. (2020). *Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri Uzun Kodlamayan RNA HIF1A-AS1'in Apoptoz Üzerine Etkisinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Küçük, N. (2020). *Siçanlarda Dekstran Sodyum Sülfat ile Oluşturulan Deneysel Ülseratif Kolit Modelinde Misoprostolün Koruyucu Etkisi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kabakçı, B. (2013). *Deneysel Tıkanma Sarılığı Modelinde Karaciğer Hasarı Üzerine Andız (Juniperus Drupacea) Pekmezi ve Goji Berry (Lycium barbarum)'nin Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kumar, B.; Iqbal, B.; Singh, R.; Bamezai, NK.; (2015). Resveratrol Inhibits TIGAR to Promote ROS Induced Apoptosis and Autophagy, *Biochimie*, 118, 26-35. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.07.016>
- Kim, J.; Bae, S.; Nam, Y.; Bae, E.; Ly, S. (2019). Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Lycium barbarum*'s Leaf With Removal of Chlorophyll, *Journal of Nutrition and Health*, 52 (1), 26-35. DOI:<https://doi.org/10.4163/jnh.2019.52.1.26>
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680-685. DOI:[10.1038/227680a0](https://doi.org/10.1038/227680a0)
- Liu, L.; Sha, X.; Wu, Y.; Chen, M.; Zhong, J. (2020). *Lycium barbarum* Polysaccharides Protects Retinal Ganglion Cells Against Oxidative Stress Injury, *Neural Regen Research*, 15 (8), 1526-1531. DOI:[10.4103/1673-5374.274349](https://doi.org/10.4103/1673-5374.274349)
- Li, J.; Shi, M.; Ma, B.; Zheng, Y.; Niu, R.; Li, K. (2017). Protective Effects of Fraction 4a of Polysaccharides Isolated From *Lycium barbarum* Against KBRO₃ Induced Renal Damage in Rats, *Food Function Journal*, 8 (7), 2566-2572. DOI:[10.1039/C6F01818A](https://doi.org/10.1039/C6F01818A)
- Lian, Y.; Lin, I.; Yang, Y.; Jane, J. (2020). Gastroprotective Effect of *Lycium barbarum* Polysaccharides and C Phycocyanin in Rats With Ethanol Induced Gastric Ulcer, *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 1519- 1528. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.037>
- Li, X.; Zhou, A.; Li, X. (2007). Inhibition of *Lycium barbarum* Polysaccharides and *Ganoderma Lucidum* Polysaccharides Against Oxidative Injury Induced by Γ -Irradiation in Rat Liver Mitochondria, *Carbohydrate Polymers*, 69 (1), 172-178. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.09.021>
- Marcus, J.; Ladds, W.; Lain S. (2019). Small Molecule Activators of the p53 Response, *Journal of Molecular Cell Biology*, 11 (3), 245–254. DOI:<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz006>
- Metin, H. (2020). *İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Tedavisinde Biyolojik Ajan Tedavisinin Retrospektif Analizi*, Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi.

- Ma, Z.; Zhang, H.; Teh, S.; Wang, C.; Zhang, Y.; Hayford, F.; Wang, L.; Ma, T.; Dong, Z.; Zhang, Y.; Zhu, Y. (2019). Goji Berries as a Potential Natural Antioxidant Medicine an Insight Into Their Molecular Mechanisms of Action, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2437397. DOI:[10.1155/2019/2437397](https://doi.org/10.1155/2019/2437397).
- Mahmood, T.; Yang, P. (2012). Western Blot: Technique Theory and Trouble Shooting, *North American Journal of Medical Science*, 4 (9), 429-434. DOI:[10.4103/1947-2714.100998](https://doi.org/10.4103/1947-2714.100998).
- Mariann, F.; Espen, B.; Aasa, R.; Per, E.; Solveing, A.; Clausen, O.; Paula, M. (2015). TP53/53 Alterations and Aurora A Expression in Progressor and Non Progressor Colectomies From Patients With Longstanding Ulcerative Colitis, *International Journal of Molecular Medicine*, 35 (1), 24-30. DOI:<https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1974>
- Muratoğlu, S. (2020). *Yaşlanma Sürecinde AGK-2 Uygulamasının Apoptoz ve Oksidatif Strese Etkisi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Mutlu, M. (2020). *Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kullanarak Kişiyi Özel Ağz Bakım ve Kozmetik Ürünlerinin Geliştirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Nazlıkul, H. (2020). İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Regülasyon Tıbbi Nöralterapi Yaklaşımı, *Journal of Complementary Medicine*, 14 (3), 80-92.
- Oğuz, İ. (2019). *Aksaray'da Yetiştirilen Farklı Kurt Üzümleri (Lycium barbarum L., Lycium chinense Miller) Türlerinin Değişik Olgunlaşma Dönemlerindeki Meyvelerinde Bazı Pomolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K. (1979). Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction, *Analyses of Biochemical*, 95 (2), 351-358. DOI:[10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3).
- Özdemir, H. (2017). *Akrilamid Uygulanmış Genç Erkek Ratlarda Lycium barbarum (Kurt Üzümleri) Ekstraktının Fertiliteye Etkisinin Işık Mikroskopik ve Biyokimyasal İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Özcan, M. (2018). *Viral Hemorajik Septisemi Virüsünün Gökkuşuğu Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) Doku Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Öncül, S. (2017). *Doksorubisinin Luminal A ve Üçlü Negatif Meme Kanseri Hücrelerinde p53 Apoptoz Yoluyla ve Çoklu İlaç Direnci Üzerinde Farklı Etkilerinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Pilley, S.; Rodriguez, T.; Vousden, K. (2021). Mutant p53 in Cell Interactions, *Genes & Development*, 35 (7-8), 433-448. DOI:[10.1101/gad.347542.120](https://doi.org/10.1101/gad.347542.120)
- Peng, L.; Li, H.; Li, Z.; Jiang, N.; Liu, Q.; Zhang, E.; Liang, B.; Li, R.; Zhu, H. (2017). *Lycium barbarum* Polysaccharide Protects Human Keratinocytes Against UVB-Induced Photo Damage, *Free Radical Research*, 51 (2), 200-210. DOI:<https://doi.org/10.1080/10715762.2017.1294755>
- Pan, H.; Zhau, X.; Ma, Y.; Pan, W.; Zhao, F.; Yu, M.; Liu, J. (2020). Resveratrol Alleviates Intestinal Mucosal Barrier Dysfunction in Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis Mice by Enhancing Autophagy, *World Journal Gastroenterology*, 26 (33), 4945-4959. DOI:[10.3748/wjg.v26.i33.4945](https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i33.4945)
- Po, K.; Leung, J.; Chan, J.; Fung, T.; Vidana, D.; Sin, E.; So, K.; Lau, B.; Siu, A. (2017). Protective Effect of *Lycium barbarum* Polysaccharides on Dextromethorphan Induced Mood Impairment and Neurogenesis Suppression, *Brain Research Bulletin*, 134, 10-17. DOI:[10.1016/j.brainresbull.2017.06.014](https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.06.014)
- Ravanan, P.; Srikumar, IF.; Talwar, P. (2017). Autophagy: The Spotlight For Cellular Stress Responses, *Life Sciences*, 188, 53-67. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.08.029>

- Robles, A.; Traverso, G.; Zhang, M.; Roberts, N.; Khan, M.; Joseph, C.; Lauwers, G.; Selaru, F.; Popoli, M.; Pittman, M.; Ke, X.; Hruban, R.; Meltzer, S.; Kinzler, K.; Vogelstein, B.; Harris, C.; Papadopoulos, N. (2016). Whole Exome Sequencing Analyses of Inflammatory Bowel Disease-Associated Colorectal Cancers, *Gastroenterology*, 150 (4), 931-943. DOI:[10.1053/j.gastro.2015.12.036](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.12.036)
- Rui, T.; Chen, X.; Dang, T.; Deng, Y.; Zou, Z.; Liu, Q.; Gong, G.; Song, S.; Ma, F.; Huang, L.; Wang, Z. (2019). *Lycium barbarum* Polysaccharides Extend the Mean Lifespan of *Drosophila Melanogaster*, *From the Journal:Food &Function*, 10 (7), 4231-4241. DOI:[10.1039/c8fo01751d](https://doi.org/10.1039/c8fo01751d)
- Sarıkaya, E. (2020). *Abortus Imminens Hastalarında Lipit Peroksidasyonu (MDA) ve Bazı Antioxidant (SOD, GSH, GPX ve CAT) Aktivitelerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Samar, E. (2019). *Goji Berry Tüketiminin Boksörlerde Kilo Kaybı Üzerine Etkisi*, Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü.
- Sabapathy, K.; Lane, D. (2019). Understanding p53 Functions Through p53 Antibodies, *Journal of Molecular Cell Biology*, 11 (4), 317-329. DOI:[10.1093/jmcb/mjz010](https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz010)
- Stein, Y.; Rotter, V.; Grinstein, R. (2019). Gain of Function Mutant p53 All the Roads Lead to Tumorigenesis, *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (24), 6197. DOI:[10.3390/ijms20246197](https://doi.org/10.3390/ijms20246197)
- Shen, M.; Zhao, X.; Zhao, L.; Shi, L.; An, S.; Huang, G.; Liu, J. (2018). Met is Involved in TIGAR Regulated Metastasis of Non Small Cell Lung Cancer, *Molecular Cancer*, 88, 1-12. DOI:<https://doi.org/10.1186/s12943-018-0839-4>
- Shi, B.; Ma, M.; Zheng, Y.; Pan, Y.; Lin, X. (2018). mTOR and Beclin 1 Two Key Autophagy Related molecules and Their Roles in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury, *Journal Cell Physiol*, 234 (8), 12562-12568. DOI:[10.1002/jcp.28125](https://doi.org/10.1002/jcp.28125)
- Shan, T.; Liu, F.; Zheng, H.; Shan, T.; Li, G. (2017). Effects of *Lycium barbarum* Polysaccharides on the Damage to Human Endometrial Stromal Cells Induced by Hydrogen Peroxide, *Molecular Medicine Reports*, 15, 879- 884. DOI:[10.3892/mmr.2016.6080](https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6080)
- Su, H.; Kang, Q.; Wang, H.; Yin, H.; Duan, L.; Liu, Y.; Fan, R. (2019). Changes in Expression of p53 and Inflammatory Factors in Patients With Ulcerative Colitis, *Experimental the Therapeutic Medicine*, 17 (4), 2451-2456. DOI:[10.3892/etm.2019.7253](https://doi.org/10.3892/etm.2019.7253)
- Şengün, P. (2019). *Goji Berry (Lycium barbarum L) Meyvelerinin Olgunlaşma Evreleri ve Kurutulma Sürecinde Karotenoid Kompozisyonundaki Değişim*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Şenol, A. (2010). *Kefirin Sıçanlarda Dekstran Sülfat Sodyum ile Uyarılan Kolit Modelinde Koruyucu Etkinliği*, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Şirin, N. (2018). *Hepatoselüler Kansere Hücrelerinde Apigenin, Sorafenib ve Kombine Uygulamalarının Apoptoz ve Hücre Döngüsü Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Tomruk, A. (2017). *Radyofrekans Alanların İnsan Kolorektal Karsinom Hücrelerinde Kaspaz-Bağımlı Apoptoz Üzerine Etkileri*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Turhan, M. (2017). *Glioblastoma Tedavisinde Apoptoz ve Otofaji Arasındaki İlişkide Naringinin Rolünün Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Tank, Z.; He, Z. (2019). TIGAR Promotes Growth Survival and Metastasis Through Oxidation Resistance and AKT Activation In Glioblastoma, *Oncology Letters*, 18 (3), 2509-2517. DOI:[10.3892/ol.2019.10574](https://doi.org/10.3892/ol.2019.10574)
- Tunç, A.; (2018). *Yeme Farklı Oranlarda İlave Edilen Demirin Kabuk Değiştirme Dönemindeki Astacus leptodactylus (Esch., 1823)'un Malondialdehit ve Bazı Antioksidanlar Üzerine Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Tok, K. (2019). *Farklı Kansere Hücre Hatlarında Buğday Çimi (Triticum aestivum L.) Ekstraktının Apoptotik ve Otofajik Etkilerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Uğurlu, Z. (2020). *İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı İle Takipli Hastalarda Aktif Dönemde Nötrofil / Lenfosit Oranının Klinik ve Endoskopik Aktivite Derecesiyle İlişkisi, Kalprotektin, ESR ve Crp ile Karşılaştırılması*, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Uçar, S. (2018). *Kurt Üzüümü (Lycium barbarum) Ekstraktının Ehrlich Assit Tümör Oluşturulan Farelerde Antitümör Etkisinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ünsal, R. (2018). *Ceratonia siliqua L. Yaprak Ekstresinin ve Çeşitli Biyoaktif Bileşiklerinin İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücre Hattında Otofaji ve Apoptoz Üzerinden Antitümör Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ülgenalp, O.; Koç, B.; Oğuzoğlu, T. (2018). Viral Enfeksiyonlarla Otofaji, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 75 (3), 291-304. DOI:[10.5505/TurkHijyen.2018.79923](https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2018.79923)
- Ürer, H. (2020). Mediastinal Hastalıklarda Patoloji, *Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi*, 8 (3), 42-49. DOI:[10.5152/gghs.2020.030](https://doi.org/10.5152/gghs.2020.030)
- Üstünova, S. (2020). *Timokinonun Diyabetik Sıçanlarda Kardiyak İskemi/Reperfüzyon Hasarı ve Otofaji Üzerine Etkisi*, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Vurgun, H. (2020). *Sıçan Testis Dokusunda Paklitaksel ile Oluşturulan Hasarda Otofajinin Rolü*, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Varoni, M.; Pasciu, V.; Gadau, S.; Baralla, E.; Serra, E.; Palomba, D.; Demostis, M. (2017). Possible Antioxidant Effect of *Lycium barbarum* Polysaccharides on Hepatic Cadmium-Induced Oxidative Stress in Rats, *Environmental Science and Pollution Research*, 24 (3), 2946–2955. DOI:[10.1007/s11356-016-8050-x](https://doi.org/10.1007/s11356-016-8050-x)
- Yiğit, M. (2015). *Astaksantin Arpe-19 Hücrelerinde Sigara Dumanı Bileşenlerinden Hidrokuinon ile Oluşturulan Oksidatif Stres Modelinde Antioksidan Parametreler (GSH, GSH-PX, MDA), Ca²⁺ Sinyali ve Apoptosis Düzeyleri Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yılmaz, Ü. (2020). *Serebral İskemi/Reperfüzyon Hasarı Oluşturulan Sıçanlarda Otofaji Üzerine Melatonin Etkilerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yu, L.; Chen, Y.; Tooze, S. (2018). Autophagy Pathway Cellular and Molecular Mechanisms, *Autophagy*, 14 (2), 207-215. DOI:[10.1080/15548627.2017.1378838](https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1378838)
- Yaman, H. (2020). *Ülseratif Kolit Hastalarında Plazma Aterojenite İndeksinin Log (Tg/Hdl) Değerlendirilmesi*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Yıldız, S. (2018). *Yüksek Yağlı Diyetle Beslenen Ratlarda Goji Berry Ekstraktının Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yılmaz, Z. (2017). *Melatonin Takviyesinin Goji Berry Meyvesi ile Etkisinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yıldırım, M. (2018). *C₆₀ Fullerene'nin A549 İnsan Akciğer Kanseri Hücre Hattında Otofajik Markerlar Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yan, Y.; Wu, W.; Lu, L.; Ren, J.; Mi, J.; Liu, X.; Cao, Y. (2019). Study on the Synergistic Protective Effect of *Lycium barbarum* L. Polysaccharides and Zinc Sulfate on Chronic Alcoholic Liver Injury in Rats, *Food Science Nutrition*, 7 (11), 3435-3442. DOI:[10.1002/fsn3.1182](https://doi.org/10.1002/fsn3.1182)
- Yang, F.; Wei, Y.; Liao, B.; Wei, G.; Qin, H.; Pang, X.; Wang, J. (2020). Effects of *Lycium barbarum* Polysaccharide on Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress in Obese Mice, *Front Pharmacol*, 11, 1-11. DOI:<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00742>

- Yang, D.; Zhang, J.; Fei, Y. (2017). *Lycium barbarum* Polysaccharide Attenuates Chemotherapy Induced Ovarian Injury by Reducing Oxidative Stress, *Obstetrics and Gynaecology Research*, 43 (10), 1621-1628. DOI:[10.1111/jog.13416](https://doi.org/10.1111/jog.13416)
- Yi, R.; Liu, X.; Dong, Q. (2013). A Study of *Lycium barbarum* Polysaccharides (LBP) Extraction Technology and its Anti-Aging Effect, *Afr Journal Tradit Complement Altern Medicine*, 10 (4), 171-174. DOI:[10.4314/ajtcam.v10i4.27](https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i4.27)
- Yang, X.; Bai, H.; Cai, W.; Li, J.; Zhou, Q.; Wang, Y.; Han, J.; Zhu, X.; Don, M.; Hu, D. (2013). *Lycium barbarum* Polysaccharides Reduce Intestinal Ischemia/Reperfusion Injuries in Rats, *Chemico-Biological Interactions*, 204 (3), 166-172. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.05.010>
- Yu, N.; Song, N.; Liu, C.; Yang, G. (2019). The Estrogen Like Protective Effect of *Lycium barbarum* Polysaccharides in Reducing Oxidative Stress on Myocardial Cells From Ovariectomized Rats, *Molecular Medicine Reports*, 19 (3), 2271-2278. DOI:<https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9880>
- Zelka, M. (2020). *Hesaplamalı Sistem Biyolojisi Yaklaşımı Kullanılarak İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları ve Kolorektal Kanser Hastalıklarının İlişkilerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Üsküdar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Zhao, Q.; Li, J.; Yan, J.; Liu, S.; Guo, Y.; Chen, D.; Luo, Q. (2016). *Lycium barbarum* Polysaccharides Ameliorates Renal Injury and Inflammatory Reaction in Alloxan-Induced Diabetic Nephropathy Rabbits, *Life Sciences*, 157, 82-90. DOI:[10.1016/j.lfs.2016.05.045](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.05.045)
- Zu, M.; Song, H.; Zhang, J.; Chen, Q.; Deng, S.; Canup, B.; Yuan, Y.; Xiao, B. (2020). *Lycium barbarum* Lipid Based Edible Nanoparticles Protect Against Experimental Colitis, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 187, 1-29. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110747>
- Zheng, B.; Ying, M.; Xie, J.; Chen, Y.; Wang, Y.; Ding, X.; Hong, J.; Liao, W.; Yu, Ç. (2020). A Ganoderma Atrum Polysaccharide Alleviated DSS Induced Ulcerative Colitis by Protecting the Apoptosis/Autophagy Regulated Physical Barrier and the DC-Related Immune Barrier, *Food Function Journal*. 11 (12), 10690-10699. DOI: [10.1039/D0fo02260h](https://doi.org/10.1039/D0fo02260h).
- Zhang, S.; Li, Z.; Wang, D.; Xu, T.; Fan, M.; Cheng, M.; Miao, C. (2020). Aggravated Ulcerative Colitis Caused by Intestinal Metrn Deficiency is Associated With Reduced Autophagy in Epithelial Cells, *Acta Pharmacologica Sinica*, 41 (6), 763-770. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0343-4>
- Zhang, L.; Xue, H.; Zhao, G.; Qiao, C.; Sun, X.; Pang, C.; Zhang, D. (2019). Curcumin and Resveratrol Suppress Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis in Mice, *Molecular Medicine Reports*, 19 (4), 3053-3060. DOI:[10.3892/aa.2019.9974](https://doi.org/10.3892/aa.2019.9974)
- Zhu, X.; Hu, S.; Zhu, L.; Ding, J.; Zhou, Y.; Li, G. (2014). Effects of *Lycium barbarum* Polysaccharides on Oxidative Stress in Hyperlipidemic Mice Following Chronic Composite Psychological Stress Intervention, *Molecular Medicine Reports*, 22, 3445-3450. DOI:[10.3892/mmr.2014.3128](https://doi.org/10.3892/mmr.2014.3128)
- Zanchet, M.; Nardi, G.; Bratti, L.; Monteiro, F.; Locatelli, C. (2017). *Lycium barbarum* Reduces Abdominal Fat and Improves Lipid Profile and Antioxidant Status in Patients with Metabolic Syndrome, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 9763210. DOI:<https://doi.org/10.1155/2017/9763210>
- Zhao, L.; Wu, H.; Zhao, A.; Lu, H.; Sun, W.; Ma, C.; Yang, Y.; Xin, X.; Zou, H.; Qiu, M.; Jia, W. (2014). The in Vivo and in Vitro Study of Polysaccharides From A Two Herb Formula on Ulcerative Colitis and Potential Mechanism of Action, *Journal of Ethnopharmacology*, 153 (1), 153-159. DOI:[10.1016/j.jep.2014.02.008](https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.008)
- Zheng, X.; Wang, J.; Bi, F.; Li, Y.; Xiao, J.; Chai, Z.; Li, Y.; Miao, Z.; Wang, Y. (2021). Protective Effects of *Lycium barbarum* Polysaccharide on Ovariectomy-Induced Cognition Reduction in Aging Mice, *International Journal of Molecular Medicine*, 48 (1), 121. DOI: [10.3892/ijmm.2021.4954](https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4954)
- Wang, X.; Liu, B.; Wang, L.; Zhang, C.; Dai, J.; Huang, X.; Gao, M. (2020). Reparative Effects of *Lycium barbarum* Polysaccharide on Mouse Ovarian Injuries Induced by Repeated Superovulation, *Theriogenology*, 145, 115-125. DOI:[10.1016/j.theriogenology.2020.01.048](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.048)

- Won, Y.; Lim, J.; Kim, Y.; Kim, W.; Han, A.; Song, Y. (2012). Regulatory Role of p53 in Cancer Metabolism Via SCO₂ and TIGAR in Human Breast Cancer, *Human Pathol*, 43 (2), 221-228. DOI:[10.1016/j.humpath.2011.04.021](https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.04.021)
- Wu, H.; Guo, H.; Zhao, R. (2006). Effect of *Lycium barbarum* Polysaccharide on the Improvement of Antioxidant Ability and DNA Damage in NIDDM Rats, *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 126 (5), 365-371. DOI:[10.1248/yakushi.126.365](https://doi.org/10.1248/yakushi.126.365)
- Wang, X.; Pang, L.; Zhang, Y.; Xu, J.; Ding, D.; Yang, T.; Zhao, Q.; Wu, H.; Li, F.; Meng, H.; Yu, D. (2018). *Lycium barbarum* Polysaccharide Promotes Nigrostriatal Dopamine Function by Modulating PTEN/AKT/mTOR Pathway in a Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) Murine Model of Parkinson's Disease, *Neurochemical Research*, 43 (4), 938-947. DOI:[10.1007/s11064-018-2499-6](https://doi.org/10.1007/s11064-018-2499-6)
- Wu, H.; He, J.; Hong, Y.; Ma, T.; Xu, Y.; Li, H. (2010). Chemical Characterization of *Lycium barbarum* Polysaccharides and its Inhibition Against Liver Oxidative Injury of High-Fat Mice, *International Journal of Biological Macromolecules*, 46 (5), 540-543. DOI:[10.1016/j.ijbiomac.2010.02.010](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.02.010)
- Wang, Y.; Chen, H.; Wu, M.; Zeng, S.; Liu, Y.; Dong, J. (2015). Chemical and Genetic Diversity of Wolfberry, *Lycium barbarum and Human Health*, 1-26 (Chapter 1). DOI:[10.1007/978-94-017-9658-3_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9658-3_1)
- Xin, Y.; Wan, J.; Peng, L.; Guo, C. (2011). Alleviation of the Acute Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by *Lycium barbarum* Polysaccharides Through the Suppression of Oxidative Stress, *Food and Chemical Toxicology*, 49 (1), 259-264. DOI:[10.1016/j.fct.2010.10.028](https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.028)
- Xie, W.; Huang, Y.; Chen, H.; Zhou, X. (2021). Study on the Efficacy and Mechanism of *Lycium barbarum* Polysaccharide Against Lead Induced Renal Injury in Mice, *Nutrients*, 13 (9), 2945. DOI:[10.3390/nu13092945](https://doi.org/10.3390/nu13092945)

EKLER

Evrak Tarih ve Sayısı: 30/12/2019-369133



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARARLARI

Oturum Tarihi
30/12/2019

Oturum Saati
09:00

Oturum Sayısı
2019/24

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 30/12/2019 tarihinde saat 09:00'da Kurul Başkanı Prof. Dr. Mustafa İSSİ başkanlığında, aşağıda imzaları bulunan kurul üyelerinin katılımlarıyla toplanarak gündemdeki konuları görüşmüş ve aşağıdaki kararları almıştır.

"Deneysel Ülseratif Kolit modelinde, *Lycium Barbarum*'un (Goji Berry) Apoptozis ve Otofajideki rolü" başlıklı araştırma projenizde 28 *Adet Wistar Albino Sıçan* kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafınızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait projenin "Firat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi" gereği altı ay aralıklarla Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna bilgi verilmesi şartıyla uygun olduğuna oybirliğiyle karar verilmiştir.

1. Doç. Dr. Abdullah ASLAN
2. Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN
3. Yük. Lis. Öğr. Büşra ÇİMEN

Kurul Üyeleri:

Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT
Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA
Doç. Dr. Serkan DÜNDAR
Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIR
Dr. Öğr. Üyesi Eşef BOLAT
Dr. Öğr. Üyesi Özgür BULMUŞ
Vet. Hek. Ebru GÖKDERE
Onur UYGUR
Murat DAĞHAN

Başkan
E-İmzalıdır
Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Büşra ÇİMEN

[Redacted]	
[Redacted]	[Redacted]
[Redacted]	[Redacted]
[Redacted]	[Redacted]
[Redacted]	[Redacted]
[Redacted]	
[Redacted]	[Redacted]
[Redacted]	[Redacted]
[Redacted]	
[Redacted]	[Redacted]
	[Redacted]
	[Redacted]
	[Redacted]
	[Redacted]
[Redacted]	[Redacted]
	[Redacted]