



**DÜŞÜK DOZ ÇİNKO OKSİT
NANOPARTİKÜLLERİ VE VİTAMİN C
KOMBİNASYONUNUN ALÜMİNYUM
İLE İNDÜKLENEN
HEPATOTOKSİSİTENİN
DÜZENLENMESİNDEKİ POTANSİYEL
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi
Özge ALİM
Eskişehir 2024

**DÜŞÜK DOZ ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE VİTAMİN C
KOMBİNASYONUNUN ALÜMİNYUM İLE İNDÜKLENEN
HEPATOTOKSİSİTENİN DÜZENLENMESİNDEKİ POTANSİYEL
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Özge ALİM

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gözde AYDOĞAN KILIÇ

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak 2024

Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen 21DRP150 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özge Alim'in "DÜŞÜK DOZ ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE VİTAMİN C KOMBİNASYONUNUN ALÜMİNYUM İLE İNDÜKLENEN HEPATOTOKSİSİTENİN DÜZENLENMESİNDEKİ POTANSİYEL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI" başlıklı çalışması 03/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyoloji Anabilim dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Üye (Tez Danışmanı)

Üye

Üye

Üye

Üye

Unvanı Adı Soyadı

: Doç. Dr. Gözde AYDOĞAN KILIÇ

: Prof. Dr. Filiz ALANYALI

: Prof. Dr. Ayça ÖZCAN

: Prof. Dr. Özlem ATLI EKLİOĞLU

: Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

İmza

Prof. Dr. Semra KURAMA

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

03/01/2024

DANIşMAN ONAYI

Danişmanlığını yürüttüğüm Doktora ğrencisi zge ALİM, “DüşüK DOZ ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE VİTAMİN C KOMBİNASYONUNUN ALÜMİNYUM İLE İNDÜKLENEN HEPATOTOKSİSİTENİN DÜZENLENMESİNDEKİ POTANSİYEL ETKİLERİNİN ARAşTIRILMASI” başlıklı tez çalışmasını tamamlamıştır. Hazırlamış olduğu tez tarafımca incelenmiş ve öğrencinin tez savunma sınavına alınması bilimsel ve etik açıdan uygun görülmüştür.

Tez Danişmanı

Doç. Dr. Gözde AYDOğAN KILIÇ

ÖZET

DÜŞÜK DOZ ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE VİTAMİN C KOMBİNASYONUNUN ALÜMİNYUM İLE İNDÜKLENEN HEPATOTOKSİSİTENİN DÜZENLENMESİNDEKİ POTANSİYEL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Özge ALİM

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2024

Danışman: Doç. Dr. Gözde AYDOĞAN KILIÇ

Uzun süreli Alüminyum (Al) maruziyeti karaciğer toksisitesine sebep olmakta ve çok çeşitli karaciğer hastalıklarının gelişimi ile sonuçlanmaktadır. Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP'leri), günümüzde yaygınlaşan çok sayıdaki farklı kullanım alanları ile çeşitli çalışmalara konu olmuştur. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından GRAS (genel anlamda güvenli) olarak tanımlanmıştır. C vitamini (Vit C) ile birlikte uygulandığında, ZnO NP'lerin antioksidan terapötik potansiyelinin artırılabilceği düşünülerek, bu çalışmada düşük doz ZnO NP'ler ve C Vit'nin ayrı ayrı ve birlikte yapılacak uygulamalarının Al ile indüklenen hepatotoksisteyi düzenleyici etkilerine odaklanılmıştır. Bu amaçla: sıçanlara intraperitoneal olarak, 42 gün süreyle $AlCl_3$ (70 mg/kg/gün) uygulanmıştır. ZnO NP (1 mg/kg/gün) ve C Vit (125 mg/kg/gün), 15. günden itibaren 28 gün süre ile uygulanmıştır. Oksidatif stres belirteçleri olarak SOD, CAT ve GST enzimleri ölçümlenmiştir. Total GSH düzeyleri ile lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenmiştir. DNA hasarını saptamak için tek hücreli jel elektroforezi (SCGE) testi yapılmıştır. Hepatosit proliferasyonunun bir belirteci olan çoğalan hücre nükleer antijeni (PCNA), DNA'daki oksidatif hasarın belirteci olarak 8-OHdG ve DNA onarımının yorumlanabilmesi için de BRCA1 düzeyleri immünofloresan etiketleme yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bu tez çalışmasının bulguları; ZnO NP ve C Vit'in birlikte yapılan uygulamasının Al maruziyeti sonucu artan oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu etkili şekilde önlediğini ortaya koymuştur. DNA hasarı ve hepatosit proliferasyonu azalmış ayrıca, karaciğer dokusundaki patolojik oluşumları önleyici ve iyileştirici etkiler ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Alüminyum, Çinko Oksit Nanopartikül, Vitamin C

ABSTRACT

INVESTIGATION OF POTENTIAL EFFECTS OF LOW-DOSE ZINC OXIDE NANOPARTICLES AND VITAMIN C COMBINATION ON THE REGULATION OF ALUMINUM-INDUCED HEPATOTOXICITY

Özge ALİM

Department of Biology

Programme in Molecular Biology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, January 2024

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gözde AYDOĞAN KILIÇ

Prolonged exposure to Al leads to liver toxicity results in the development of various liver diseases. Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) have been the subject of several studies with many different usage areas that are becoming widespread nowadays. ZnO NPs are defined as GRAS (generally safe) by the U.S. Food and Drug Administration (FDA). When administered together with Vitamin C (Vit C), it is hypothesized that the antioxidant therapeutic potential of ZnO NPs can be enhanced. Therefore, this study focuses on the regulatory effects of low-dose ZnO NPs and Vit C, both individually and in combination, on Al-induced hepatotoxicity. For this purpose: AlCl₃ (70 mg/kg/day) were administered to the rats intraperitoneally for 42 days, starting from the 15th day, ZnO NP (1 mg/kg/day) and Vit C (125 mg/kg/day) were administered to rats for 28 days. SOD, CAT and GST enzymes were measured as indicators of oxidative stress. Total GSH (Glutation) levels, malondialdehyde (MDA) levels as a marker of lipid peroxidation were determined. DNA damage was measured using the single-cell gel electrophoresis (SCGE) method. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as a marker of hepatocyte proliferation, BRCA1 to evaluate DNA repair and 8-OHdG as a DNA oxidation marker were measured using immunofluorescence labeling. The findings of this thesis indicate that the combined application of ZnO NP and Vit C effectively prevents increased oxidative stress and lipid peroxidation consequently of Al exposure. DNA damage and hepatocyte proliferation decreased moreover, it has demonstrated preventive and healing effects on pathological formations in liver tissue.

Keywords: Liver, Aluminum, Zinc Oxide Nanoparticle, Vitamin C

TEŞEKKÜR

‘Düşük Doz Çinko Oksit Nanopartikülleri Ve Vitamin C Kombinasyonunun Alüminyum İle İndüklenen Hepatotoksisitenin Düzenlenmesindeki Potansiyel Etkilerinin Araştırılması’ isimli tez konumun belirlenmesi ve hazırlanması süresince benden bilgi, destek ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyen, her daim yönlendiren ve tecrübelerini aktaran değerli hocam ve danışmanım Sayın Doç. Dr. Gözde AYDOĞAN KILIÇ’a ve bilgisi, sabrı ve deneyimleri ile her zaman bana yol gösteren değerli hocam Doç. Dr. Volkan KILIÇ’a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca çalışmamda kullanmış olduğum çinko oksit nanopartikülü teminindeki desteği için Prof. Dr. Ender SUVACI’ya ve bana olan güvenini her platformda dile getiren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Güneş PALA’ya teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar ve cihaz olanaklarından faydalandığım, edindiğim tüm mesleki tecrübe ve birikimleri bünyesinde kazandığım Eskişehir Teknik Üniversite Fen Fakültesi Biyoloji Bölüm Başkanlığı’na gerek vermiş oldukları manevi destek gerekse yardımlarıyla emeği geçen tüm çalışma arkadaşlarıma ve hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmaya maddi destek sağlayan Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne ve doktora eğitimim boyunca bana sağlamış olduğu YÖK 100/2000 doktora bursu imkânlarından dolayı Yüksek Öğretim Kurulu (YÖK)’e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca tecrübesiyle bana her konuda yardımcı olmaya çalışan değerli arkadaşım, Dr. Şeyda UÇARCAN KARAGÖZ’e teşekkür ederim.

Sevgi ve emekleriyle yalnızca araştırmam sırasında değil, hayatımın her alanında koşulsuzca manevi desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen, en büyük dayanaklarım olan canım ailem annem Şengül ALİM ve babam Alim ALİM’e, çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen manevi ablam değerli İlkay KURTULMAZ’a bu çalışmayı onlara ithaf ederek, tüm kalbimle teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Özge ALİM

Ocak 2024

03/01/2024

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

Özge ALİM

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	I
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	II
DANIŞMAN ONAYI	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
TEŞEKKÜR	VI
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
GÖRSELLER DİZİNİ	XIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XV
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Alüminyum (Al).....	4
1.1.1. Al'un bulunuşu ve tarihçesi	4
1.1.2. Alüminyum (Al) ve alüminyum klorür'ün (AlCl ₃) fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	4
1.1.3. Al metalinin ana kaynakları ve biyolojik etkileri	5
1.1.3.1. Al metalinin ana kaynakları ve canlılar üzerindeki maruziyet yolları	5
1.1.3.2. Al metalinin biyolojik etkileri	6
1.2. Oksidatif Stres (OS) ve OS'nin Neden Olduğu Sonuçlar	9
1.2.1. Oksidatif stres (OS)	9
1.2.2. Serbest radikaller (SR), lipid peroksidasyonu (LP) ve gen toksikolojisi.....	10
1.2.3. DNA onarım mekanizmaları ve nükleik asitlerdeki oksidatif hasar belirteçleri.....	12
1.2.3.1. DNA onarım mekanizmaları.....	12

1.2.3.2. Nükleik asitlerdeki oksidatif hasar belirteçleri	13
1.2.3.2.1. Proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA).....	13
1.2.3.2.2. 8-Hidroksidesoksiguanozin (8-OHdG)	14
1.2.3.2.3. BRCA1 gen ekspresyonu	14
1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	15
1.3.1. Doğal enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar	16
1.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	17
1.3.1.2. Katalaz (CAT)	18
1.3.1.3. Glutasyon (GSH)	19
1.3.1.4. Glutasyon S transferaz (GST)	20
1.3.1.5. Enzimatik olmayan bazı antioksidanların biyolojik etkisi.....	21
1.4. Nanopartiküller ve Çinko Oksit Nanopartikül'ünün (ZnO NP) Özellikleri-Kullanım Alanları	23
1.5. Karaciğer	26
1.5.1. Karaciğer anatomi histoloji ve fizyolojisi	26
2. MATERYAL METOD	30
2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları.....	30
2.2. Biyokimyasal Analizler	31
2.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD) ölçümü	31
2.2.2. Katalaz (CAT) aktivite ölçümü	32
2.2.3. Toplam glutasyon (GSH) ölçümü	32
2.2.4. Glutasyon S transferaz (GST) ölçümü	33
2.2.5. Dokulardaki lipid peroksidasyonunun belirlenmesi için malondialdehit (MDA) ölçümü.....	33
2.2.6. Bradford Protein Tayini.....	33
2.2.7. Histopatolojik incelemeler	34
2.2.7.1. Doku takibi	34
2.2.8. PCNA, BRCA ve 8-OHdG immüno Floresan işaretleme.....	34
2.2.9. Tek hücre jel elektroforezi (SCGE) / Comet tahlil metodu	35

3. BULGULAR.....	37
3.1. Biyokimyasal Analizler Sonucu Elde Edilen Bulgular	37
3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivitesi.....	37
3.1.2. Katalaz (CAT) aktivitesi (u/mg prt).....	37
3.1.3. Toplam glutatyon (GSH) düzeyi (umol/g)	38
3.1.4. Glutatyon S transferaz (GST) aktivitesi (u/mgprt)	39
3.1.5. Malondialdehit (MDA) tayini (nmol/ngr prt)	40
3.2. Tek Hücre Jel Elektforezi (SCGE) / Comet Assay Yöntemi	41
3.3. Histopatolojik İncelemeler Sonucunda Elde Edilen Bulgular	42
3.4. İmmüno Floresan İşaretleme	61
3.4.1. PCNA immüno Floresan değerlendirmesi.....	61
3.4.2. BRCA1 immüno Floresan değerlendirmesi.....	66
3.4.3. 8-Hidroksideoksiguanozin (8- OHdG) immüno Floresan değerlendirmesi.....	71
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
KAYNAKÇA.....	89
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Al ve AlCl_3 'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	5
Tablo 1.2. Karaciğer'de bulunan hücre ve yapılar	27
Tablo 2.1. Çalışmada uygulaması yapılan deney grupları	31



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1.	BRCA1'in hasar yanıtı rolleri	15
Şekil 1.2.	Organizmalar için antioksidan savunma sistemi.....	17
Şekil 1.3.	Sistein, glisin, glutamat amino asitleri ve GSH sentez yolu	19
Şekil 1.4.	GSH ve GSSG'nin kimyasal yapısı	20
Şekil 1.5.	Glutasyon S-konjugatını (R-SG) oluşturmak için genel bir elektrofile (R-X) glutasyonun (GSH) konjugasyonunun genel şeması.....	21
Şekil 1.6.	C vitamininin oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonu, dengedeki moleküler formları	22
Şekil 1.7.	100nm'lik ZnO NP TEM görüntüsü	26
Şekil 1.8.	Karaciğer klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsü.....	28
Şekil 1.9.	Karaciğer lobülü ve karaciğer asinüsü	28
Şekil 1.10.	Hepatosit yapısı.....	29
Şekil 1.11.	Karaciğer Histolojisi	29
Şekil 3.1.	SOD enzim aktivitesi grafiği	37
Şekil 3.2.	CAT enzim aktivitesi sütun grafiği.....	38
Şekil 3.3.	Toplam GSH sütun grafiği.....	39
Şekil 3.4.	GST enzim aktivitesi sütun grafiği	40
Şekil 3.5.	MDA bulgu sonuçları sütun grafiği	41
Şekil 3.6.	Comet Assay sonuçları sütun grafiği	42
Şekil 3.7.	PCNA sütun grafiği.....	61
Şekil 3.8.	BRCA1 sütun grafiği	66
Şekil 3.9.	8-OHdG sütun grafiği	71

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 3.1. Kontrol Grubu histolojisi.....	43
Görsel 3.2. Kontrol Grubu histolojisi.....	44
Görsel 3.3. Al Grubu histolojisi	45
Görsel 3.4. Al Grubu histolojisi	46
Görsel 3.5. Al Grubu histolojisi	47
Görsel 3.6. Al Grubu histolojisi	48
Görsel 3.7. Al+ZnO Grubu histolojisi	49
Görsel 3.8. Al+ZnO Grubu histolojisi	50
Görsel 3.9. Al+ZnO Grubu histolojisi	51
Görsel 3.10. Al+CVit Grubu histolojisi	52
Görsel 3.11. Al+CVit Grubu histolojisi	53
Görsel 3.12. Al+CVit Grubu histolojisi	54
Görsel 3.13. Al+CVit+ZnO NP Grubu histolojisi	55
Görsel 3.14. Al+CVit+ZnO NP Grubu histolojisi	56
Görsel 3.15. Al+CVit+ZnO NP Grubu histolojisi	57
Görsel 3.16. C Vit Grubu histolojisi	58
Görsel 3.17. ZnO NP Grubu histolojisi.....	59
Görsel 3.18. C Vit+ZnO NP Grubu histolojisi.....	60
Görsel 3.19. PCNA immunofloresan işaretleme: Kontrol grubu	62
Görsel 3.20. PCNA immunofloresan işaretleme: Al grubu	62
Görsel 3.21. PCNA immunofloresan işaretleme: Al+CVit grubu	63
Görsel 3.22. PCNA immunofloresan işaretleme: Al+ZnONP grubu.....	63
Görsel 3.23. PCNA immunofloresan işaretleme: Al+CVit+ZnO NP grubu.....	64
Görsel 3.24. PCNA immunofloresan işaretleme: C Vit grubu.....	64
Görsel 3.25. PCNA immunofloresan işaretleme: ZnO NP grubu	65
Görsel 3.26. PCNA immunofloresan işaretleme: CVit+ZnONP grubu	65
Görsel 3.27. BRCA1 immunofloresan işaretleme: Kontrol grubu.....	67

Görsel 3.28. BRCA1 immunofloresan işaretleme: Al grubu	67
Görsel 3.29. BRCA1 immunofloresan işaretleme: Al+CVit grubu	68
Görsel 3.30. BRCA1 immunofloresan işaretleme: Al+ZnONP grubu	68
Görsel 3.31. BRCA1 immunofloresan işaretleme: Al+CVit+ZnO NP grubu	69
Görsel 3.32. BRCA1 immunofloresan işaretleme: C Vit grubu	69
Görsel 3.33. BRCA1 immunofloresan işaretleme: ZnO NP grubu.....	70
Görsel 3.34. BRCA1 immunofloresan işaretleme: CVit+ZnONP grubu.....	70
Görsel 3.35. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Kontrol grubu.....	72
Görsel 3.36. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al grubu	72
Görsel 3.37. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al+CVit grubu	73
Görsel 3.38. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al+ZnONP grubu	73
Görsel 3.39. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al+CVit+ZnO NP grubu	74
Görsel 3.40. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: C Vit grubu	74
Görsel 3.41. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: ZnO NP grubu.....	75
Görsel 3.42. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: CVit+ZnONP grubu.....	75

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat Derece
8-OhdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8oxoG, 8-oksoG)
-SH	: Sülfhidril
A	: Adenin
AA	: Askorbik Asit
ACN	: Akonitase
Al(OH) ₄	: Terahidroksialüminat
Al	: Aluminyum
AlCl ₃	: Aluminyum Klorür
AlP	: Aluminyum fosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
BER	: Baz Eksizyon Onarımı
BHA	: Bütilhidroksianisol
BHT	: Bütilhidroksitoluen
BRCA1	: Göğüs Kanseri Geni Tip 1 (Breast Cancer Gene Type 1)
BSA	: Bovin Serum Albümin
C Vit	: C Vitamini
C	: Sitozin
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CDNB	: 1-kloro-2,4-dinitrobenzen
cm ³	: Santimetre Küp
COMET	: Tek Hücre Jel Elektroforezi (SCGE)
Cu	: Bakır
CV	: Santral Ven
DDR	: DNA Hasar Tepkisi (DNA Damage Response)
DDT	: DNA hasar toleransı (DNA Damage Tolerance)
dG	: Deoksiguanozin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DTNB	: 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoik asit)
DSB	: DNA Zincir Kırıkları (DNA Strand Breaks)

EC	: Ekstra Selüler (Hücre Dışı)
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
Fe	: Demir
FUM	: Fumaraz
G	: Guanin
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
GR	: Glutatyon Redüktaz
Gr	: Gram
GSH	: Glutatyon
GSSH	: Okside Glutatyon
GST	: Glutatyon S Transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
H ₂ SO ₄	: Sülfürik Asit
HCl	: Hidroklorik Asit
HOCl	: Hipokloröz Asit
HR	: Homolog Rekombinasyon
i.p.	: İntraperitoneal Enjeksiyon
KCl	: Potasyum Klorür
kDa	: Kilo Dalton
Kg	: Kilogram
KGDH	: α-ketoglutarat dehidrojenazın
KOH	: Potasyum Hidroksit
L	: Litre
LOO•	: Lipit Peroksil
LOOH	: Lipit Peroksit
LP	: Lipit Peroksidasyonu
M	: Metre
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
Mg	: Magnezyum
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre

mM	: Milimolar
MMR	: Yanlış Eşleşme (Mismatch) Onarımı
Mn	: Mangan
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NAD-ICDH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid'e bağımlı izositrat dehidrojenaz
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Hidrojen
NER	: Nükleotid Eksizyon Onarımı
NH ₄ OH	: Amonyum Hidroksit
Nm	: Nanometre
NP	: Nanopartikül
NO•	: Nitrik Oksit
NO ₂ •	: Nitrojen Dioksit
O ₂ • ⁻	: Singlet oksijen
O ₂ • ⁻	: Süperoksit
O ₃	: Ozon
•OH	: Hidroksil
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
OS	: Oksidatif Stres
P	: Fosfor
PBS	: Fosfat Salin Tamponu (Phosphate Buffered Salin)
PCNA	: Çoğalan Hücre Çekirdek Antijeni
RNA	: Ribonükleik Asit
RNT/RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
RO•	: Alkoksil
ROO•	: Peroksil
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions per minute)
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SR	: Serbest Radikal
sTf	: Serum Transferin
T	: Timin

TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
TCA	: Trikarboksilik Asit Döngüsü (Krebs Döngüsü)
TG	: Trigliserit
TNB	: 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit
v/v	: hacim/hacim
Vit C	: C Vitamini
w/v	: ağırlık/hacim
YÖK	: Yükseköğretim Kurulu
Zn	: Çinko
ZnO	: Çinko Oksit
ZnO NP	: Çinko Oksit Nanopartikülü
μl	: mikrolitre
μm	: mikrometre

1. GİRİŞ

Alüminyum (Al) yer kabuğunda en bol bulunan üçüncü element olup, bilinen bir biyolojik fonksiyonu yoktur (Becaria vd., 2002; Sjögren vd., 2015) ve hemen hemen tüm yaygın inorganik toprak parçacıklarının ana bileşenidir (Norman, 1965).

Reaktif doğası nedeniyle normalde metalik halde değil, oksijen, silikon, flor ve toprakta bulunan diğer elementler, kayalar, killeri ve değerli taşlar ile kombinasyon halinde bulunup (Alfrey, 1983), yer kabuğundaki toplam mineral bileşenlerin yaklaşık %8'ini oluşturur ve insanlar için önemli bir toksik potansiyele sahip olan bir elementtir (Verstraeten vd., 2008).

Al, çevrede yaygın olarak bulunur ve günlük yaşamda yaygın olarak kullanılır, bu sebeple insanlar Al'a kolaylıkla maruz kalmaktadır (Kumar ve Gill, 2009). Kronik maruziyet kaynaklarının fazlalığı nedeniyle yaşadığımız yüzyıl "Al çağı" olarak adlandırılmaktadır (Exley, 2016). Al'a maruziyet kaynaklarının fazlalığı nedeniyle, gelişmiş dünyada insanlar kronik yolla Al toksisitesine maruz kalmaktadır (Exley ve House, 2011).

Al, insan vücuduna genel olarak gıdalar, mutfak malzemeleri, gıda ambalajları, hava, içme suları, kozmetikler, deodorantlar, bazı ilaç ve aşılar yoluyla girer (Greger, 1992). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde Al, mutfak gereçleri, antasitler, fosfat bağlayıcılar, tamponlu aspirinler, aşılar, ter önleyiciler ve alerji sonucu kullanılan enjeksiyon ilaçlarının önemli bir bileşenidir (Crisponi vd., 2013) ve bu da vücuda kolay erişimini sağlamıştır (Yokel, 2000). Gıda katkı maddeleri, deodorantlar, tencere, tava ve diş macunlarında da yaygın olarak kullanılmaktadır (Ochmanski ve Barabasz, 2000) ayrıca içme suyuna arıtma amacıyla Al eklenmektedir (Klöppel vd., 1997). Bu yollarla Al'un insan vücuduna doğrudan maruziyeti gerçekleşmektedir.

İnsanlar ve hayvanlar için kümülatif toksik bir metaldir (EFSA, 2008). Zehirli Maddeler ve Hastalık Kayıt Dairesi tarafından tehlikeli maddeler listesinde öncelikli olarak tanımlanmıştır (ATSDR, 2007). Vücutta Al birikimi; Al açısından zengin maddelere oral, inhale, kutanöz ve intramüsküler maruziyetlerle ilişkilidir (Daouk vd., 2020). Bir antasit ve fosfat bağlayıcı olarak büyük miktarlarda terapötik olarak uygulanan alüminyum hidroksit ($Al(OH)_3$), Al birikimine ve toksisiteye katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Lione, 1985). Doğal Al (bentonit ve zeolit), Al bileşikleri, Al alaşımları ve Al tozları, gıda katkı maddeleri, elektrikli ekipman ve yakıt katkı maddeleri gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır ve bunların tümü çeşitli sorunlara yol

açmaktadır (Krewski vd., 2007). Özellikle endüstriyel atık sularda bulunan farklı Al içeren bileşikler ve çimento üreten fabrikalarda yüksek miktarda Al içeren partiküller maddelerden kaynaklanan çevre kirliliği, civarda yaşayan popülasyonları normalden daha yüksek Al seviyelerine maruz bırakmaktadır (Shehla vd., 2001).

Al, sistemik dağılım yoluyla karaciğer de dahil olmak üzere insan metabolizmasına dahil olan kilit organlara ulaşabilir (Sieg vd., 2019). Vücuda solunum ve gastrointestinal sistemlerden girer ve karaciğer, böbrekler, beyin ve kalp gibi farklı dokularda birikir ve kardiyotoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite ve karaciğer fonksiyon bozukluklarına sebep olabilir (Reinke vd, 2003). Campbell vd. (2004), Al çok düşük gastrointestinal absorpsiyona (%1'den az) rağmen Al'un uzun vadede karaciğer, böbrek ve beyin gibi hayati organlarda belirgin sitotoksik ve nörotoksik etkilerle birikebileceği sonucuna varılmıştır (Moneim vd., 2013). Beyin, akciğer, kemik, böbrek ve karaciğerde hasar verici etkileri vardır (Krewski vd., 2007).

Al, SOR (serbest oksijen radikallerini) indükler ve oluşturduğu oksidatif stres (OS) sebebiyle meydana gelen, lipid peroksidasyonu (LP) yoluyla, ana antioksidan genlerin ekspresyonunda, antioksidan mekanizma bileşenlerinin (SOD, CAT, GST, GPx gibi) aktivitesindeki değişimlerle birlikte oluşan DNA hasarına ve hücre ölümünün gözlenmesine sebep olur (Panda ve Matsumoto, 2010; Achary, 2008).

Antioksidan vitaminler, çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Farombi ve Onyema, 2006). Askorbik asit (Vitamin C), vücudun normal metabolik işleyişi için gerekli olan temel bir mikro besindir. Biyolojik sıvılarda önemli bir suda çözünür antioksidandır (Carr ve Frei, 1999). C vitamini serbest radikal (SR) süpürücü görevi görür (Kleszczewska, 2001), reaktif nitrojen gruplarını ($\text{NO}_2\bullet$ ve peroksinitril) temizleyebilir (Northrop ve Thurnham, 2007) ve LP seviyesini azaltabilir (Upasani vd., 2001).

Nanopartiküller, bir yapısal boyutta çapı 100 nm'den küçük olan partiküller olarak tanımlanır (Oberdörster vd., 2005). Küçük boyutları nedeniyle nanopartiküller, daha büyük partiküllere göre daha fazla toksisite riskine sahiptir (Li vd., 2011). Aynı zamanda nano boyutlu parçacıklar, sağlık ürünleri ve ilaçların aktivitesinde hayranlık uyandıran bir gelişmeye sahiptir. FDA, hastalıkları tedavi etme ve geleneksel ilaç formülasyonlarının yerini alma işlevsel yetenekleri açısından denenmiş ve test edilmiş olan farklı ilaç şirketleri tarafından birçok nano ilacı onaylamıştır (Jones vd., 2018).

Çinko (Zn) bilinen ve gerekli eser elementlerden biridir. Zn bir dizi biyolojik aktivitede gereklidir ve fizyolojik dozlarda toksik değildir (Bhasin, vd., 2012; Betholf, 1988). Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP'leri) ise, günümüzde yaygınlaşan çok sayıdaki farklı kullanım alanları ile çeşitli çalışmalara konu olmuştur. ZnO NP'ler gıda katkı maddeleri, diş macunu, gıda ambalajı, güneş kremleri, deodorant ile diğer kozmetiklerin içeriğinde ve ilaçların aktif bileşeni olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından GRAS (genel anlamda güvenli) olarak tanımlanmıştır (Espitia vd., 2012). Hücre zarından ve bazı önemli organların kan-beyin bariyerinden kolaylıkla geçebilmektedir. Bu nedenle Al kaynaklı, Alzheimer tedavisindeki etkinliği ile güncel bir araştırma konusudur (Singla ve Dhawan, 2014). Alzheimer tedavisinde, beyin dokusunda azalan Zn seviyesinin yerine koyulmasına ve doku hasarının önlenmesine yönelik bir tedavi seçeneği oluşturarak umut vadetmektedir (Andrási vd., 1995; Leko vd., 2023). ZnO NP'lerin antikanser, Zn salınımı yapma, antibakteriyel, diyabet tedavisinde kullanıma, anti-inflamatuar, yara iyileştirici vb. potansiyel etkileri bulunmaktadır (Thatoi vd., 2016).

ZnO NP'ler ile ilgili olarak yapılan toksisite değerlendirmelerindeki uygulama dozları ile çalışmalarda toksik veya güvenli olarak belirtilen dozları geniş bir aralıkta değişiklik göstermektedir. Genel olarak yüksek dozlarının toksik etkileri önceki çalışmalarda tanımlanmıştır. ZnO NP'lerin faydalanılabilir ve toksik etkileri doza, uygulanış şekline, uygulanış süresine ve nanopartikül büyüklüğüne göre farklılık göstermektedir (Rahman, 2022).

Karaciğer, vücudun en büyük bezidir ve yabancı kimyasalların metabolize edildiği ve biyolojik olarak dönüştürüldüğü birincil organdır. Bu yüzden aynı zamanda hasara en açık organdır (Chong vd., 2012). Hepatik metabolizma ve atık metabolit atılımı karaciğerin iki ana işlevidir. Aynı zamanda vücudun en büyük organıdır. Bileşikler sindirim sisteminden alındığında, karaciğer bu maddelerin dolaşım sistemine girmeden önce akışını ve güvenliğini düzenler. Karaciğerin önemi, karaciğer fonksiyonunun kısa süreli bir eksikliğinin bile ölümle sonuçlanabilmesi gerçeğinde gösterilebilir (Hassani, 2022; Ozougwu, 2014; Ozougwu ve Eyo, 2014; Allen, 2002). Al maruziyetinin karaciğer dokusunun lipid peroksidasyon (LP) reaksiyonuna, karaciğerin antioksidasyon yeteneğinin azalmasına ve karaciğer oksidatif hasarına yol açabileceğini, dolayısıyla karaciğer enzim salınımı, hepatosit yapısı ve karaciğer fonksiyonunun zarar gördüğünü belirtilmiştir (Chong vd., 2012). 2012 yılında yapılan bir çalışmanın bulguları Al'un

Alzheimer hastalığını karaciğer toksisitesi yoluyla oluşturabileceğini ortaya koymuştur (Brenner vd.,2012).

Bu tez çalışmasında Al'a maruz bırakılan karaciğer dokusunda ortaya çıkan OS ve genotoksik hasarın C Vit ve düşük doz ZnO NP kombinasyonu ile düzenlenmesi amaçlanmaktadır. Al toksisitesinin karaciğerde oluşturduğu OS'e bağlı genotoksikite ve erken dönem doku hasarının düzenlenmesiyle karaciğer ile ilişkili organ ve sistemlerde ortaya çıkabilecek komplikasyonları önleyebilecek yeni tedavilerin geliştirilebilmesi için literatüre katkı sağlanması hedeflenmektedir.

1.1. Alüminyum (Al)

1.1.1. Al'un bulunuşu ve tarihçesi

1808 yılında İngiltere'de bir kimyacı olan Sir Humphry Davy, binlerce yıldır kullanılan şap (İngilizcesi 'alum' olan) mineralin içerisinde keşfettiği elemente Alüminyum (Al) adını vermiştir ve ilk kez 1825'te Danimarka'lı kimyacı Hans Christian Orsted tarafından, Al metali elde etmiştir (Altıkardeş, 2016).

Danimarkalı kimyager H. C. Oersted'in bir potasyum-civa (K-Hg) karışımı olan potasyum amalgam kullanarak Al'u, alüminyum klorürden ($AlCl_3$) 1825'te indirgemeye çalışmış ve Orsted'in teşvikiyle Friedrich Wöhler, deneylerini 1827'de tekrarlamış ve Orsted'in reaksiyonunun saf potasyum ürettiğini bulmuştur. Wöhler, kendi deneyini yürüterek nihayet Al metali susuz $AlCl_3$ 'den buhar halinde metalik potasyum ile reaksiyona sokarak Al'u indirgeyebilmiş ve Al metalini ilk olarak izole etmeyi başarmıştır. Sonrasında Wöhler izole Al'un silikon içerdiğini belirlemiş ancak bu durum, Al parlayana kadar (ısıtılana kadar) tespit edilememiştir. Wöhler yine deneylerine devam ederek, Al'u sülfürik asitle (H_2SO_4) reaksiyonunu izleyip, Al'un çözülerek hidrojen gazı oluşturduğunu belirlemiş ve kükürtlü gazda ısıtıldığında hızla eridiğini görmüştür. Wöhler ayrıca Al'un potasyum hidroksit (KOH) ve amonyum hidroksit (NH_4OH) gibi kostik çözeltilerde çözünür olduğunu da belirlemiştir. Tüm bunlarla beraber Al'un ısıtılmış bir klor (Cl) gazı akışında $AlCl_3$ 'e dönüştürülebileceğini de keşfederek günümüzde Al'un bu formda kullanımına ışık tutmuştur (Runge, 2018).

1.1.2. Alüminyum (Al) ve alüminyum klorür'ün ($AlCl_3$) fiziksel ve kimyasal özellikleri

Al, D.I.Mendeleev'in periyodik tablosunda 13 numarada yer alan ve benzersiz fiziksel-kimyasal özelliklere sahip olan, yerkabuğundaki en yaygın elementlerden

biridir. Özellikle çeşitli minerallerde bulunur ve alüminosilikatlarda yaygındır (Bazhin vd. 2019). Al, toplam mineral bileşenlerinin yaklaşık %8'ini temsil eden, yerkabuğunun en bol bulunan metallerinden biridir. Doğada Al, çoğu silikat ile ilişkili ve suda çözünmeyen kompleksler oluşturan üç değerlikli bir katyon (Al^{3+}) olarak bulunur. Bu komplekslerin oluşumu yoluyla Al biyoyararlanımı oldukça azalır. Bu katyon, amfoterik karakterleri nedeniyle, 3-8 pH aralığında serbest Al^{3+} 'dan $Al(OH)_4^-$ 'e doğru gelişen su çözeltisinde hidroksil kompleksleri oluşturma eğilimindedir. Fizyolojik pH'da Al, ortamın asitliğindeki hafif değişikliklerle kolayca çözülebilen, az çözünen $Al(OH)_3$ 'ü oluşturur. Al ayrıca oksijen ve nitrojen içeren bileşiklere, özellikle inorganik ve organik fosfatlara da bağlanabilir. Bu tür etkileşimler yoluyla Al, birçok biyolojik makromoleküle bağlanır (Verstraeten vd., 2008; Ganrot, 1986).

Fiziksel özellikleri bakımından: Tablo 1.1.'de görüldüğü gibi, molekül ağırlığı 26,98, rengi: gümüş beyaz, erime noktası 660 °C, kaynama noktası 2,327 °C, Yoğunluk (g/cm^3) 2,70, kokusuz, suda çözünemeyen ancak HCl, H_2SO_4 , sıcak su ve alkaliler gibi diğer çözücülerde çözünen bir yapıda olması gibi özelliklere sahiptir (http-1).

Tablo 1.1. Al ve $AlCl_3$ 'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri (http-1).

Kimyasal İsmi	Alüminyum (Al)	Alüminyum Klorür ($AlCl_3$)
Molekül ağırlığı	26,98	133,34
Rengi	gümüş beyaz	Saf olduğunda beyaz, normalde gri veya sarı ile yeşilimsi
Erime Noktası	660 °C	192.6 °C
Kaynama Noktası	2,327 °C	752 mm Hg'de 182,7 °C (süblimleşme sıcaklığı)
Yoğunluk (g/cm^3)	2,70	2,48
Koku	Kokusuz	Güçlü hidrojen klorür kokusu
Çözünürlük	Suda Çözünmeyen	0,5 mg/L (Al iyonu üzerinden hesaplanıyor)
Diğer Çözücüler	HCl, H_2SO_4 , sıcak su ve alkaliler gibi diğer çözücülerde çözünen	Su üreten hidroklorik asit ve ısı ile şiddetli reaksiyona girer

1.1.3. Al metalinin ana kaynakları ve biyolojik etkileri

1.1.3.1. Al metalinin ana kaynakları ve canlılar üzerindeki maruziyet yolları

İnsan vücudunda Al alımı bir dizi yolla gerçekleşebilir. Al bazlı antasitler, aspirin içeren ilaçlar, içme suyu ve yiyecekler, sağlıklı insanların metale maruz kalmasının ana

kaynaklarıdır. Monomerik tuzların alımından sonra sistemik absorpsiyonu, su (%0,28) ve gıda alımından sonra (%0,1) daha fazladır. Al'a diyetle maruz kalmayı takiben, daha sonra insan vücuduna dağılır. Bir kez emildiğinde ise esas olarak kemiklerde, beyinde, karaciğerde ve böbreklerde birikmektedir (Willhite vd., 2012; Yokel, 2000)

Asit yağmurlarının neden olduğu toprak ve suyun pH'ındaki değişikliklerden ve çevredeki atmosferin artan asitlenmesinden kaynaklanan toksik Al iyonlarının mobilizasyonu çevre üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Bu, ormanların kuruması, bitki zehirlenmesi, mahsulün azalması veya başarısızlığı, suda yaşayan hayvanların ölümü ve ayrıca insan ve hayvan sistemlerinin işlevindeki çeşitli dengesizlikler ile kendini gösterir (Jaishankar vd., 2014; Barabasz vd., 2002).

Doğal ortamda bol miktarda bulunmasına rağmen Al'un henüz yararlı bir biyolojik fonksiyon bulunmamıştır (Lima vd, 2012). Bu unsurun geniş dağılımı, çalışma ortamlarında olduğu kadar makro çevrelerinde de insan temasının artmasına yol açmıştır (Paz vd., 2017; Ochmanski ve Barabasz, 2000).

1.1.3.2. Al metalinin biyolojik etkileri

Metaller, canlı sistemlerin çok çeşitli biyolojik süreçlerinde önemli roller oynarlar. Sıkıca düzenlenmiş alım, depolama ve salgılama mekanizmalarıyla sürdürülen metal iyonlarının homeostazı, bu nedenle yaşam için kritik öneme sahiptir (Bertini ve Cavallaro, 2007). Sonuçta, toksik metallerin, biyolojik makromoleküllerin oksidatif bozulmasına neden olan DNA ve proteinlerle etkileşime girebildiğine dair kanıtlar sağlamıştır. Bu nedenle, metal-iyon homeostazının parçalanma süreci çok sayıda hastalıkta rol oynamıştır (Jomova ve Valko, 2011; Halliwell ve Gutteridge, 2007).

Deneyisel kanıtlar hem in vitro hem de in vivo olarak yüksek Al konsantrasyonlarının OS'e neden olduğunu göstermektedir. Bu durum "oksidanlar ve antioksidanlar arasında, oksidanlar lehine, redoks sinyalinin ve kontrolünün bozulmasına ve/veya moleküler hasara yol açan bir dengesizlik" olarak tanımlanmıştır (Verstraeten vd., 2008; Sies ve Jones, 2007).

Genel olarak sıralayacak olursak Al'la indüklenen canlılardaki toksik yanıtlar şöyle sıralanabilir:

1. Al, değerliliği ve pro-oksidan yetenekleri nedeniyle, bu üç değerlikli metal Fe homeostazını kolayca bozar, biyolojik zarları bozar, ROS oluşumunu artırır ve DNA'ya zarar verir.

Aynı zamanda Levi ve Rovida'ya göre; Al'nin etkisi altında, TCA döngüsü ara ürünlerinin birikmesi yaygın bir olaydır. Al, Fe homeostazını bozarak ve/veya OS'i indükleyerek hepatositlerdeki metabolik süreçleri bozar. Mitokondride bozulmuş Fe homeostazı ile metabolik disfonksiyon arasındaki ilişki nispeten tanımlanmıştır (Mailloux vd. 2011).

Al birçok biyolojik sistemde Fe'ye benzer şekilde davranır ve Fe eksikliği olan sıçanlarda Fe emilimini artırır. Bu şekilde Al ve Al'nin toksisitesini dolaylı olarak etkileyebilir. Al'un ana plazma bağlayıcısı, iki spesifik bağlanma yerine sahip, Al dahil diğer metallerle de bağlanabilen bir Fe taşıma proteini olan transferrindir (Goyer, 1997). Temel aerobik işlemler için Fe'ye ihtiyaç duyan hücreler, Fe'nin hücre içine alınmasına izin veren transferrin reseptörlerine sahiptir (Özben, 1998). 80.000 mw'lık bir glikoprotein ailesi olan transferrin(ler) tek bir polipeptit zinciridir. Her biri N- ve C-terminal ucunda olmak üzere iki metal bağlama bölgesine sahiptir ve transferin, Fe'yi taşıyan başlıca serum proteinidir. Ayrıca Al dahil diğer metal iyonlarını da bağlar (Joshi vd. 1994). Serumdaki Al'un %60'ının sTf'ye (Serum transferrine), %34'ünün albümine ve geri kalan miktarın sitrata bağlı olduğu belirlenmiştir (Fatemi vd., 1991).

Sitrata izositrate izomerize eden Fe-S kümesi içeren bir enzim olan aconitase (ACN), Al ile muamele edilmiş hepatositlerde aktivite ve ekspresyonda keskin bir şekilde azalır. Diğer Fe-S kümesine bağlı enzim olan fumaraz (FUM) ve süksinat dehidrojenaz (SDH) da Al'e maruz kalan hepatositlerde aktivite ve ekspresyonda düşüşler sergiler.

Bu nedenle Al, TCA döngüsü ve elektron taşıma zinciri (ETC) içindeki Fe-bağımlı birkaç enzime müdahale ederek mitokondri tarafından ATP üretiminin azalmasına neden olur, bu da karaciğer hastalıklarında önemli etkileri olan bir olaydır (Mailloux vd., 2006; Mailloux vd. 2011).

Biyolojik sistemlerde genel olarak Al'un etkileri ise şöyle sıralanabilir:

2. Mitokondriyel metabolizmada; TCA döngüsü akışı, bu toksik metal tarafından NAD'ye bağımlı izositrat dehidrojenaz (NAD-ICDH) ve α -ketoglutarat dehidrojenazın (KGDH) inhibisyonu tarafından da bozulur (Mailloux, 2009).

Freeman ve Crapo, 1981'e göre: çeşitli hücre bileşenleri, O_2^- (singlet oksijen) ve H_2O_2 üretiminden sorumludur. Membrana bağlı e^- taşıma sistemleri aracılığıyla (mitokondriyal solunum zinciri, endoplazmik retiküler sitokrom P-450 sisteminde) e^- kaynağı, O_2 'yi O_2^- "sızıntısı" haline getirir (Özben 1998; Valko vd., 2006).

ROS konsantrasyonu yüksek olduğunda, bir pro-oksidan olan NADH oluşumunu azaltmak ve enerji üretimi ve mitokondriyal disfonksiyon pahasına bir antioksidan olan KG'nin (α -ketogluterat) birikmesini sağlamak için KGDH aktivitesi azalır. Al tarafından uyarılan TCA döngüsü içindeki bu metabolik kayma, hepatositlerde NADPH üretimini ve KG birikimini artırır (Mailloux vd., 2007a; Mailloux vd., 2009).

Antioksidan savunma ve Al toksisitesinde NADPH, herhangi bir anti-oksidatif savunma stratejisinin merkezinde yer alır ve OS'le mücadelede yer alan enzimlerin tümü olmasa da çoğunu besler (Pollak vd., 2007; Mailloux vd., 2011). Al'in pro-oksidan etkilerini sınırlamak amacıyla NADPH ve KG üretimine izin vermektedir (Mailloux vd., 2011). Bu nedenle, Al toksisitesinin etkisi altında karmaşık bir NADPH üretimi etkinleştirilir; bu, yağ asitlerinin biyosentezini ve ardından lipid birikimini destekleyen bir durum olarak bilinmektedir (Mailloux vd., 2007b).

1. Önceki maddede de anlatıldığı gibi mitokondriyal metabolizmayı engelleyen koşulların lipid sentezini, birikimini ve salgılanmasını arttırdığı bilinmektedir (Wlodek ve Gonzales, 2003).

Al kaynaklı mitokondriyal fonksiyonun bozulması, metabolize karbonhidratların daha sonra lipid biyosentezine ve trigliserit (TG) birikimine doğru sapmasına yol açar. Lipidlerin birikmesi, hücrel L-karnitin'in Al-aracılı tükenmesi ile birleştirilir.

Karaciğer vücutta L-karnitin biyosentezinin ana bölgesidir. L-karnitin biyosentezi, Al toksisitesi ve OS tarafından bozulduğu bilinen iki kısım olan kofaktörler olarak KG ve Fe'ye bağlıdır (Mailloux vd., 2011; Lemire vd., 2011). Askorbat (askorbik asit (AA) tuzu (minerali), karnitin biyosentezi yoluyla iki alfa-ketogluterat gerektiren dioksijenaz rekasyonu için bir kofaktördür (Rebouche, 1991).

L-karnitin, mitokondriyal süreçlerde, yağ asidi metabolizmasında ve ATP üretiminde merkezi bir konumdadır. Ayrıca hücrel detoksifikasyon, ketogenez ve glikojenezin kontrolü ve hücre stabilizasyonu gibi diğer önemli metabolik fonksiyonlarda da önemli bir rol oynar (Virmani ve Cirulli, 2022). TCA döngüsünün bozulması sitratın birikmesine neden olur ve sitrat daha sonra sitozole aktarılır ve yağ asidi parçaları oluşturmak için lipojenik enzimler tarafından etki edilir. L-karnitin'deki Al aracılı azalmaya atfedilen yağ asidi oksidasyonu da azalır. Al ile muamele edilmiş hücrelerde L-karnitin'deki azalma, KG'nin ROS süpürmeye yönelmesinden kaynaklanmaktadır (Mailloux vd., 2011).

1. Al'un immünohistokimyasal olarak izlenen genotoksisitedeki etkileşim kaynağı ise; Al'in fiziksel ve kimyasal özellikleri, Ca^{+2} , Fe, Mg gibi metalleri ilgili biyolojik işlevlerinde etkili bir şekilde taklit etmesine ve biyokimyasal olarak hücre membranında, ATP ve DNA üzerindeki Al, fosfat gruplarına bağlanarak Mg ile yer değiştirebilme yeteneğine sahip olabilmesi gibi yönleriyle düşünülebilmektedir (Han vd., 2013; Tomljenovic, 2011).

2. Önceki maddeye ek olarak immünohistokimyasal ve mitokondriyel seviyedeki etkileşimlerde; Kalmodulin, ökaryotik hücrelerde çeşitli enzim sistemlerinin Ca^{+2} bağımlı aktivasyonundan sorumludur (Klee ve Vanaman, 1982; Richardt vd., 1985). Al iyonlarının kalmodulin ile etkileştiği ve bu şekilde toksik olduğu iddia edilmiştir (Siegel ve Haug 1983). Bu sistem; Szutowicz vd'lerine göre (1998)'de; Al'un mitokondriyal membran üzerindeki Na/Ca değiş-tokuşunu inhibe ederek Ca seviyesinin yükselmesine neden olarak (Szutowicz, vd., 2000), mitokondri ve ER'da stresi tetiklemesiyle gerçekleşir ve sitozolik ve mitokondri içindeki Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış ise apoptoz yolağını indükyebilir, olarak belirtilmiştir (Rizzuto vd. 2003).

3. Sonuç olarak iyon metabolizmasında: Al'ı bağlayabilen biyomoleküllerin çeşitliliği ve Al'nin diğer biyolojik katyonları (Ca^{+2} ve Mg) diğer metabolik bağlanma bölgelerinden uzaklaştırma kapasitesi göz önüne alındığında, hemen hemen tüm metabolik etkileşim yollarında da Al'nin olumsuz etkileri araştırılan potansiyel bir hedef haline gelmiştir (Verstraeten vd., 2008). Ca^{+2} , fosfor (P), flor (F) ve Fe metabolizması içeren canlı organizmadaki metabolik yollar Al'dan etkilenir (Jaishankar vd., 2014; Barabasz vd., 2002).

Bu bilgiler ışığında Al maruziyeti yolları ve metabolik olarak Al'nin toksik etkileri çeşitlidir, bu nedenle çok yönlü sistemik toksikoza neden olabildiği literatürce kanıtlanmıştır. Bu toksik etkiler, moleküler olarak hücresel düzeyde sonuçlar üretir ve hücrede lezyonlara yol açan sonuçlarla hücresel homeostazı OS kaynaklı ve lipid peroksidasyonu (LP) yoluyla; enzimatik, histolojik, genotoksik birçok metabolik süreci bozarak etkiler.

1.2. Oksidatif Stres (OS) ve OS'nin Neden Olduğu Sonuçlar

1.2.1. Oksidatif stres (OS)

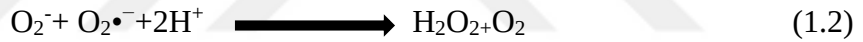
OS, reaktif oksijen/azot türlerinin (ROS/RNS) oluşumu ile organizmanın antioksidatif koruma sistemleri tarafından bunların hareketlerine karşı koyma kapasitesi arasındaki dengenin olmaması ya da bozulması olarak tanımlanmıştır (Persson, 2014).

ROS/RNS üretimindeki bir artıştan veya antioksidan ağındaki bir artıştan kaynaklanan OS, endojen antioksidanların biyolojik hedefler üzerindeki oksidatif hasara karşı koyamamasıyla karakterize edilir (López-Alarcón ve Denicola, 2013; Halliwell ve Gutteridge, 2007). Bu stres, hücre ölümüne neden olabilen proteinler, DNA ve membran lipidleri gibi tüm önemli hücresel bileşenlerde hasara yol açabilir. OS ayrıca, yaşlanmanın yanı sıra çok sayıda patolojik durumdaki çeşitli deneysel ve klinik verilerle doğrulanmış olan DNA hasarı, çoğalma, hücre yapışması ve hayatta kalma dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde yer almıştır (Sharma, 2014). Sonuç olarak, aktif oksijen türleri ve serbest radikaller biyolojik zar ve dokulardaki moleküllere saldırarak çeşitli hastalıklara neden olur (Yoshikawa ve Naito, 2002). Son çalışmalar, OS sonucu oluşan: iltihaplanma, kanser ve yaşlanmanın yanı sıra bazı karaciğer hastalıklarının SR temizleme sistemin etkinliğinin azalması ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Son dönemlerde, giderek daha fazla araştırma, ROS ve RNS'nin karaciğer fonksiyon kaybına, zararlı maddelerin üretimine ve safra miktarının azalmasına yol açtığını göstermiştir. Vücut toksinleri ve ilaçlar karaciğerde metabolize edilir, bu sırada karaciğer hücreleri oksijen türlerinin üretimini dengede tutmak için çalışır. Bu oksidatif dengesizlik ve oksidatif hasarın takip ettiği redoks reaksiyonu, sıklıkla karaciğer hasarının sebep olabilecek (kanser, sarıksız subklinik hepatit, inflamatuvar nekrotik hepatit, karaciğer sirozu gibi) bir dizi hastalığa yol açabilmektedir (Zhu vd., 2012).

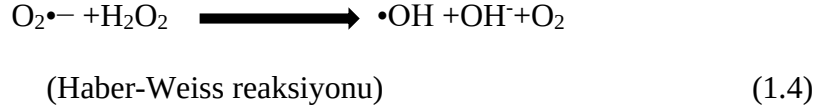
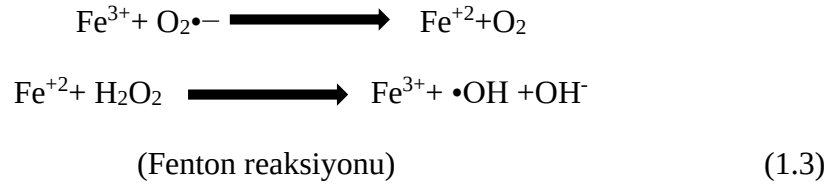
1.2.2. Serbest radikaller (SR), lipid peroksidasyonu (LP) ve gen toksikolojisi

Genellikle bir atom; etrafında dönen elektron çiftleriyle merkezi bir çekirdekten oluşur. Bazı atomlar ve moleküller eşleşmemiş elektronlara sahiptir ve bu tip atomlara ise serbest radikaller (SR) denir. SR'ler genellikle kararsızdır ve yüksek oranda reaktiftir çünkü eşleşmemiş elektronlar diğer elektronlarla çiftler oluşturmaya eğilimlidir (Yoshikawa ve Naito, 2002). Bu reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan oksijen türevli reaktanlar normal olarak canlı organizmalarda üretilir. Aşırı üretildiğinde, hücre ve doku hasarının önemli araçlarıdır (Gitto vd. 2002; Fridovic, 1998). Canlı sistemlerde SR'ler oksijenden elde edilir. Peroksil radikalının en basit şekli, süperoksidin protonasyonu ile oluşan perhidroksil radikalıdır (HOO) (De Grey, 2002). Cerutti, 1985'e göre; tipik bir hücrenin sitozolündeki toplam Süperoksit radikal anyonunun ($O_2^{\bullet-}$ 'nin) yaklaşık %0.3'ü protonlanmış formdadır. Bu durum, yağ asidi peroksidasyonunu başlatır ve ayrıca tümör gelişimini teşvik edebilir (Phaniendra, 2014).

Boveris ve Cadenas, (1997)'e göre: “Ana reaktif oksijen türlerinin kaynakları ise aerobik metabolizma, özel fizyolojik işlevler ve ksenobiyotik metabolizma olarak bilinmektedir.” Olarak belirtmiştir (Özben, 1998). $O_2^{\bullet-}$, hidroksil radikalleri ($OH^{\bullet}$), serbest lipid radikalleri, nitrojendioksit ($NO_2^{\bullet}$) ve nitrik oksit ($NO^{\bullet}$) SR'leri ile birlikte hidrojen peroksit (H_2O_2), O_2^- ve ozon (O_3) gibi SR'ler, in vivo reaktif oksijen türlerinin (ROS) ana formlarıdır (Webb ve Twedt, 2008). ROS'ların, normal hücrel fonksiyon sırasında üretildiği ve yine ROS'ların, $OH^{\bullet}$, $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 ve $NO^{\bullet}$ grubunu içerdiğini, bu nedenle oluşabilecek LP'nu ve bazı enzimlerin oksidasyonuna yol açan yüksek kimyasal reaktiviteleri nedeniyle önemlidir (Mates, 2000; Mates vd., 1999). $O_2^{\bullet-}$ gibi bir radikalın oksijene oksitlendiği ve diğerinin H_2O_2 'e indirgendiği bir dismutasyon reaksiyonunda farklı bir $O_2^{\bullet-}$ ile reaksiyona girebildiği bilinmektedir (1.1-1.2), (Phaniendra vd., 2014; Bielski ve Cabelli, 1985). Aynı zamanda; $^{\bullet}OH$ radikalleri DNA'ya yakın üretilirse, pürin ve pirimidin bazlarına saldırabilir ve mutasyonlara neden olabilir. Örneğin: guanin, 8-hidroksiguanin ve diğer ürünlere dönüştürülür (Dizdaroglu vd. 2002).



Hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$), hidroksit iyonunun (OH^-) nötr formudur ve oldukça reaktif bir SR'dir (Bedwell vd., 1989). DNA, proteinler, lipidler ve karbonhidratlar dahil olmak üzere hem organik hem de inorganik moleküllerle güçlü bir şekilde reaksiyona girebilir ve hücrelere diğer herhangi bir ROS'un yapabileceğinden daha ciddi hasara neden olabilir (Halliwell, 1987). H_2O_2 'nin metal iyonları (Fe^{+2} veya Cu^+) ile reaksiyona girdiği ve genellikle ferritin (Fe depolayan hücre içi bir protein) gibi farklı proteinlerle kompleks halinde bağlandığı bir Fenton reaksiyonunda oluşur ve seruloplazmin (plazma Cu taşıyan protein) veya diğer moleküller meydana gelir (1.3), (Fenton, 1894). Stres koşulları altında, aşırı $O_2^{\bullet-}$ ferritinden serbest Fe'yi serbest bırakır ve serbest kalan Fe, $^{\bullet}OH$ oluşturmak için Fenton reaksiyonuna katılır. Ayrıca Haber-Weiss reaksiyonu (1.4), (Haber ve Weiss, 1934) olarak adlandırılan bir reaksiyonda $O_2^{\bullet-}$ ile H_2O_2 arasındaki reaksiyonla oluşturulur.



(Phaniendra, 2014).

SR kaynaklı hücre hasarının mekanizmaları özetle şunları içermektedir:

- i) LP'nunun başlatılması,
- ii) Nükleik asitler, nükleotitler, polisakkaritler, protein ve protein olmayan tiyoller ile reaksiyonları (tiyol oksidasyonu ve gen toksisitesi),
- iii) Zar bileşenlerine (proteinler, lipidler, enzimler, reseptörler, taşıma sistemleri vb.) kovalent bağlanma (Comporti, 2010).

1.2.3. DNA onarım mekanizmaları ve nükleik asitlerdeki oksidatif hasar belirteçleri

1.2.3.1. DNA onarım mekanizmaları

DNA'daki lezyonlar oksidatif solunum sebepli ROS veya ağır metallerin aracılık ettiği redoks döngüsü olaylarından kaynaklanabilir (Valko vd., 2006).

Gen ekspresyonları, Al'nin DNA'ya bağlanmasından etkilenir (Lukiw vd., 1998), hücreleri genotoksisiteye yatkın hale getirir veya genotoksisiteye neden olur (Pogue ve Lukiw, 2016).

Son yıllarda lezyona özgü çeşitli onarım mekanizmaları tanımlanmıştır. DNA'daki çift sarmallı kopmaların etkili bir şekilde onarılması, genom stabilitesinin ve hücrenin hayatta kalmasının sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir. Homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) ve homolog rekombinasyon (HR) onarımının her ikisinde de çift sarmal zincir kopmalarını farklı mekanizmalar yoluyla ortadan kaldırır (West, 2003), Tek sarmallı kopmalar (SSB'ler), DNA çift sarmalının bir sarmalındaki süreksizlikleridir ve genellikle tek bir nükleotid kaybı ve kırılma bölgesinde hasarlı 5'-ve/veya 3'-terminallerinde eşlik eder. Hızlı veya uygun şekilde onarılmazsa kromozomal SSB'lerle genetik stabilite ve hücrenin hayatta kalması için ciddi bir tehdit oluşturur. Sonuç olarak hücreler, onarımları için enzimler yardımıyla hızlı ve etkili mekanizmalarla geliştirmiştir mesela, tek iplikçik kopma durumunda onarımını, DNA

ligasyonu yoluyla DNA iplikçiklerini bağlayarak yapar (Caldecott, 2008), mismatch (MMR) onarımında replikasyon sırasında meydana gelen hatalar geri düzeltilir (Jiricny, 2006), baz eksizyonu onarımı (BER) ile oksidatif baz hasarı tersine çevrilir ve nükleotit eksizyon onarımı (NER), sarmalı bozan lezyonları ortadan kaldırır (Higgs vd., 2014).

1.2.3.2. Nükleik asitlerdeki oksidatif hasar belirteçleri

1.2.3.2.1. Proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA)

Bir DNA replikasyon faktörü olan PCNA, hücre döngüsü sırasında oksidatif hasar sebebiyle meydana gelebilecek DNA hasarından kaynaklı olarak indüklenerek ekspresyonu artabilir. Baz eksizyon onarımı (BER), nükleotid eksizyon onarımı (NER), mismatch onarımı (MMR) ile ilişkili DNA sentezi için PCNA gereklidir (Strzalka ve Ziemienowicz, 2010). Bununla birlikte PCNA, mismatch onarımının ilk adımlarında yer alan proteinlerle etkileşime giriyor gibi görüldüğünden, onarım sentezinden önce de işlev görebilir yani PCNA'nın DNA sentezinden önceki bir aşamada da gerekli olduğunun raporlanmıştır (Umar, 1996). Aynı zamanda PCNA, hem DNA replikasyonu hem de DNA onarımı için gerekli bir proteindir (Yamamoto vd., 2005).

Hücrel DNA hasar gördüğünde, çoğu hasar türü replikatif DNA polimerazlara karşı tam blokaj görevi görür (Kannouche ve Lehmann, 2006). İlk kez mayada ve insanda, DNA replikasyon mekanizması DNA hasarıyla karşılaştığında PCNA'nın transkripsiyon sonrası modifiye edildiği gösterilmiştir (Hoege vd., 2002).

PCNA ilk olarak, bazı hastalardan alınan serumlarla reaksiyona giren, çoğalan hücrelerle sınırlı bir nükleer antijen olarak tanımlanmıştır (Miyachi vd., 1978). Bir, iki boyutlu jeller üzerindeki proteinin hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğunu ve proteinin hücre döngüsünün S fazı sırasında daha büyük miktarlarda sentezlendiği bilinmektedir (Bravo ve Celis, 1982). Siklin olarak da bilinen çoğalan hücre nükleer antijeni (PCNA), bir 36 KDa nükleer proteindir ve DNA polimeraz deltası için yardımcı bir protein olarak kabul edilmiştir Miyachi vd., 1978). PCNA'nın hem DNA sentezini hem de hücre proliferasyonunu düzenlemede önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Takasaki vd.,1981).

DNA replikasyonu; DNA onarımı, hücre döngüsü ilerlemesi, hücrel proliferasyon için gereklidir ve geç G1-S fazında eksprese edilir. Bu nedenle PCNA hücre döngüsü sırasında birikir ve bu nedenle normal dokuda PCNA immüno-lokalizasyonu ile boyama, çoğalan hücrelerle sınırlı olduğundan hücre çoğalma derecesinin bir indeksi olarak kullanılabilir (Sarraf vd., 1991).

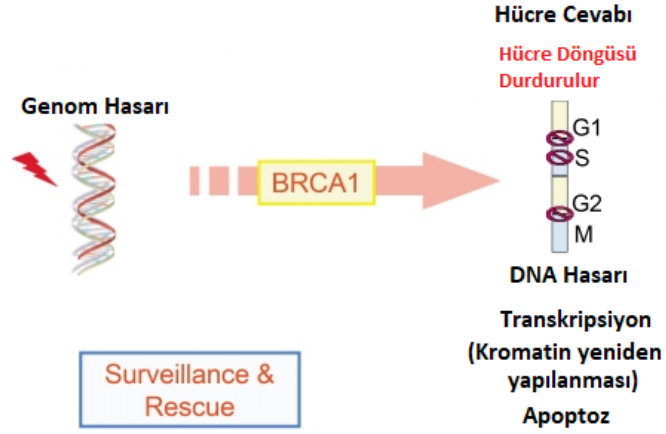
1.2.3.2.2. 8-Hidroksidesoksiguanozin (8-OHdG)

Guanin (G) bazının ROS tarafından oksitlenmiş bir formu olan 8-OHdG (8oxoG), spontan mutajenez ve karsinogenezin ana nedeni olarak kabul edilir (Maki ve Sekiguchi, 1992; Shibutan vd., 1991; Nakabeppu, 2004). Mitokondriyal membranlardaki Cu ve Fe'nin, aktif redoks havuzlarının yakınında solunum zinciri tarafından oluşturulan $O_2^\bullet$ ve H_2O_2 üretimi, $HO^\bullet$ oluşumuna yol açan Fenton kimyası için uygun ortamı sağlar. Bu durum mitokondri altı parçacıklarla bağlantılı 8-OHdG oluşturmaktadır (Giulivi vd., 1995). Bu nedenle mitokondriyal DNA'da 8-OHdG birikimine yol açan bir saldırı gerçekleşir. Daha da önemlisi, karaciğerde mitokondriyal DNA'da tespit edilen H_2O_2 üretim oranlarının (farklı mitokondriyal enerji durumlarında) ve 8-OHdG miktarı ile niteliksel olarak ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Cadenas ve Davies, 2000).

8-OHdG, DNA replikasyonu sırasında adenin (A) ve sitozin (S) ile neredeyse eşit verimlilikle eşleşebildiğinden, DNA'daki birikimi sırasıyla A:T'den, C:G'ye veya G:C'den, T:A'ya dönüşüm mutasyonlarının oluşumunu artırdığı bilinmektedir (Maki ve Sekiguchi, 1992; Shibutan vd., 1991; Nakabeppu, 2004).

1.2.3.2.3. BRCA1 gen ekspresyonu

BRCA1 geni, 17. kromozomun uzun kolunun 17q21 bölgesinde bulunan tümör baskılayıcı ve büyümeyi kısıtlayıcı bir gendir (Chisholm vd., 2008). BRCA1, OS'e sonucu oluşabilecek, eksojen ve/veya endojen ROS'ların neden olduğu DNA hasarına karşı stres ve tümör baskılayıcı gen olarak etki eder (Bae vd., 2004). Hücre kontrol noktası aktivasyonu, apoptoz ve hücre proliferasyonu düzenleyerek hasarlı DNA'nın onarımında yer alır (Şekil1.1), (Jang ve Lee, 2004). Pek çok normal hücre tipinin çekirdeğinde, BRCA1 proteini, DNA'daki kırılmaları onarmak için diğer bazı proteinlerle etkileşime girer (http-3). Bu genin en önemli özelliği genom bütünlüğünü korumak için; DNA hasar tepkisinin (DDR) bazı aşamalarında HR ve çift sarmallı DNA'daki kırılmanın onarımında görev almasıdır (Cavusoglu vd., 2009; Roy vd., 2012). DNA çift iplik kopmaları (DSB'ler) replikasyon sırasında bloke edici lezyonlar ve tek uçlu DSB'lerle yavru iplik boşukları üretebilir ve her ikisini de hücre döngüsünün S ve G2 fazlarında BRCA1 aracılı HR yoluyla onarır. BRCA1 eksikliğinde çok miktarda kromatin kırılması oluşur dolayısıyla BRCA1 varlığında replikasyon çatalındaki iplikçik lezyonlarını onararak, BER onarımına da aracılık eder (Roy, 2012).



Şekil 1.1. *BRCA1*'in hasar yanıtı rolleri (Jang ve Lee, 2004)

1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Sürekli maruz kaldığımız oksijen radikalleri ve diğer aktif oksijen türlerine karşı insanlar da dahil olmak üzere tüm aerobik organizmalar, oksidan hasarına karşı bir dizi birincil antioksidan savunma sistemi kullanır (Davies, 2001).

Antioksidanların klasik tanımı "hedef moleküle yönelik oksidatif hasarı geciktiren, önleyen veya gideren herhangi bir madde" olarak bilinmektedir (López-Alarcón ve Denicola, 2013; Halliwell ve Gutteridge, 2007). İyi bir antioksidan, sadece radikal süpürücü ve indirgeyici bileşik değildir, aynı zamanda, antioksidanların ekspresyonunu indükleyen transkripsiyon faktörlerini aktive ederek antioksidan aktivite uygulayabilen ve böylece OS'i iyileştirebilen bir moleküldür (López-Alarcón ve Denicola, 2013; Jones, 2006).

ROS/RNS'nin etkileri, çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmaları içeren antioksidan aktivitelerle dengelenir (Mates vd., 1999). ROS ve SR'lerin zararlı etkisiyle mücadele etmek için hücre içerisinde (endojen) ve hücre dışı (eksojen) bir dizi savunma sistemi bulunmaktadır (Evans vd., 2004). Hücreler, enzimler (örneğin, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) veya küçük moleküller (örneğin, askorbik asit) kullanarak ROS'u detoksifiye edebilir. Yine de, bu antioksidan aktivitenin bir sınırı vardır ve hücre, yapısal olarak OS'e maruz kalırsa ROS oluşumu ve birikimi önemli ölçüde artabilir (Applerot, 2012; Fedorova, 2009). Hücre dışı sistemlerinden en temel olanı moleküler ağırlığı düşük vitamin E ve vitamin C gibi antioksidan moleküllerle olmaktadır. Vitamin C ve E gibi moleküller reaktif hale gelmiş sistemlerin hücresel biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önler. Daha karmaşık sistemleri içeren

SOD, CAT, Glutasyon Peroksidaz (GPx) gibi enzimler ise endojen olarak ROS seviyesini sınırlandırmak üzere evrimleşmişlerdir (Evans vd., 2004).

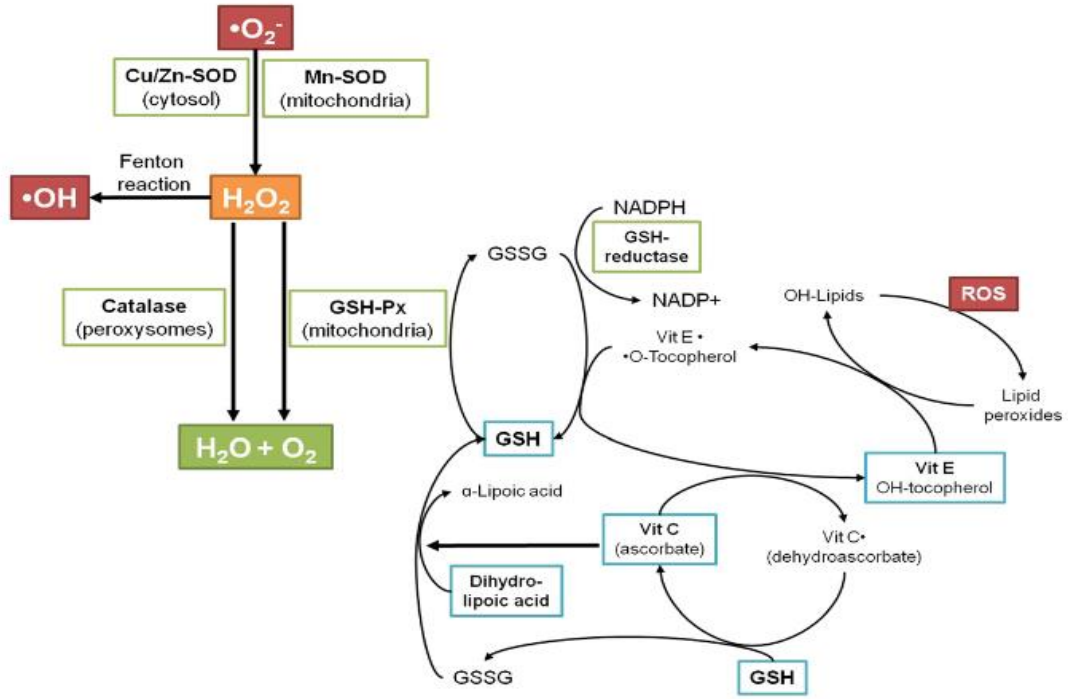
Vitamin E (alfa-tokoferol) hücrede zara bağlı çalışan önemli bir antioksidandır ve C vitamini (askorbik asit (AA)) suda çözünen önemli bir faz antioksidandır. Bu bileşiklerin her ikisinin de insanın kullandığı vitamini olması ve insan sağlığının korunmasında hayati önemlerini vurgulanmaktadır (Davies, 2000).

1.3.1. Doğal enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar

Hücrede bir antioksidan madde düşük konsantrasyonlarda bulunur ve oksitlenebilir substratın oksidasyonunu önemli ölçüde azaltır veya önler. İnsanlar, vücudun hücrelerini ve organ sistemlerini SR hasarına karşı korumak için sinerjistik olarak ve birbirleriyle birlikte çalışan oldukça karmaşık antioksidan sistemler (enzimatik ve enzimatik olmayan) geliştirmiştir (Şekil 1.2.). En etkili enzimatik antioksidanlar SOD, CAT, GPx'dir. Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında E ve C vitamini, tiyol antioksidanlar (glutasyon, tioredoksin ve lipoik asit), melatonin, karotenoidler, doğal flavonoidler ve diğer bileşikler bulunur. Bazı antioksidanlar, diğer antioksidanlarla etkileşime girerek orijinal özelliklerini geri kazanabilir; bu mekanizma genellikle "antioksidan ağ" olarak adlandırılır. Çeşitli hastalıklarda artan şekil'de da gösterildiği gibi, ROS/RNS seviyeleri ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların bozulmuş aktiviteleri arasındaki bağlantıyı destekleyen artan kanıtlar vardır (Valko vd., 2007; Kurutas, 2015).

Aerobik organizmalar ayrıca oksidatif hasarı en aza indirmek için çok sayıda antioksidan enzim ve diğer proteinleri sentezler (Özben, 1998). Mitokondri, serbest radikal oluşumunun ana bölgesi olduğundan, OS'i en aza indirmek için zarlarının her iki tarafında bulunan SOD ve GPx gibi enzimler ve GSH dahil antioksidanlar ile oldukça zengindir (Cadenas ve Davies, 2000).

Çeşitli endojen antioksidan savunma mekanizmaları arasında, SOD'lar, ROM'lara (Reaktif Oksijen Metabolitleri'ne) karşı birincil savunmayı oluşturur. Daha sonra CAT veya GPx'ler tarafından O_2 ve H_2O veya miyeloperoksidaz tarafından HOCl'ye nötralize edilerek $O_2^{\bullet-}$ formundan H_2O_2 'ye dönüştürülür (Kruidenier ve Verspaget, 2002).



Şekil 1.2. Organizmalar için antioksidan savunma sistemi (Valko vd. 2007; Kurutas, 2015)

1.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

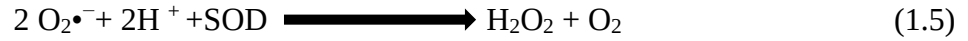
Süperoksit dismutazlar (SOD) birer metalloenzimlerdir (Fridovich, 1981). Aynı zamanda SOD (EC 1.15.1.1), vücudun hemen hemen her hücresinde, endojen olarak üretilmekte olan hücre içi bir enzimdir. SOD'un, hücre ve dokuları OS'e karşı korumada önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir (Rahman ve Biswas, 2006). İnsanlarda üç SOD izoformu bulunur: sitoplazmik bakır/çinko (Cu/Zn)-SOD, mitokondriyal mangan (Mn)-SOD ve hücre dışı matristeki ana izoform olan hücre dışı (EC)-SOD'tur (Kruidenier vd., 2003; Zelko vd., 2002).

Bir SOD izozimi olan; sitozolik dimer yapıdaki Cu-Zn/SOD, 32kDa moleküler ağırlığında ve iki eş alt üniteden oluşmuştur. Alt ünitelerindeyse; Cu ve bir tane Zn atomu bulunmaktadır. Hücrelerde en çok bulunan SOD formu ise; Cu-Zn/SOD'tur (Nordberg ve Arner, 2001; Karabulut ve Gülay, 2016). Başka SOD izoformu olan; Mn-SOD, 80kDa moleküler ağırlığında, mitokondriyel bir enzimdir ve 4 eşit alt üniteden oluşmuştur. Enzimin aktif olan bölgesinde Mn^{+3} bulunur. Böyle bir farklılık olmasına rağmen, Cu-Zn/SOD ile aynı reaksiyonu katalizleyebilmektedir. EC/SOD ise, 135,000 kDa moleküler ağırlıktadır ve canlılarda ilk olarak homotetramer formda olmasına karşın, dimerik, tetramerik veya multimerik formlarında da bulunabilir. EC/SOD'un, her bir alt ünitesinde bir Cu ve bir Zn atomu bulundurulur. Çünkü: Cu ile Zn enzimatik

aktivitelerin gerçekleşmesi için gereklidir (Gao, vd., 2008; Karabulut ve Gülay, 2016).

Mitokondriyal membranların her iki tarafında oluşan süper oksit radikalleri, önce H_2O_2 ve daha sonra zarlar arası boşlukta, ökaryotların sitozollerinde ve kloroplastlarda bulunan, Cu/Zn-SOD'la ve ökaryotların ve prokaryotların mitokondrilerinde lokalize olan Mn-SOD tarafından verimli bir şekilde detoksifiye edilir. Moleküler ağırlık ve amino asit açısından sitozolik formdan farklı olan Cu/Zn SOD'un (SOD-EC) hücre dışı formu bileşimin ökaryotlarda da bulunduğu bilinmektedir (Valko vd., 2006; Landis vd., 2005; Mruk vd., 2002). Aynı zamanda bazı bakteri türlerinde de Fe-SOD bulunur (Clements, 1999).

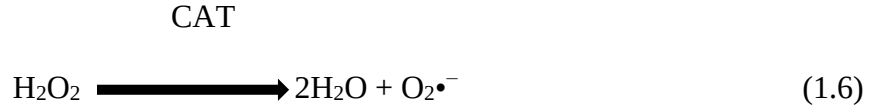
SOD enzimi, serbest radikal $O_2^{\bullet-}$ 'i, CAT veya GPx reaksiyonları ile yok edilebilecek olan süperoksit dönüştürür. Aerobik solunum ile sürekli olarak düşük seviyede bir süperoksit üretilir. Su oluşturmak için dört elektrona moleküler oksijene eşlik etmesi gereken mitokondrinin elektron taşıma zinciri, bazen tek bir elektron sızdırır. Süperoksit dismutaz Fe(III)'ü Fe(II)'ye indirger, Fe'yi depolama alanlarından serbest bırakır, böylece H_2O_2 ile reaksiyona girebilir ve $\bullet OH$ radikalleri üretebilir. SOD, $O_2^{\bullet-}$ 'i H_2O_2 'ye ve moleküler oksijene (O_2 'ye) dönüştürür (1.5), (Mates, 2000).



(Mates, 2000)

1.3.1.2. Katalaz (CAT)

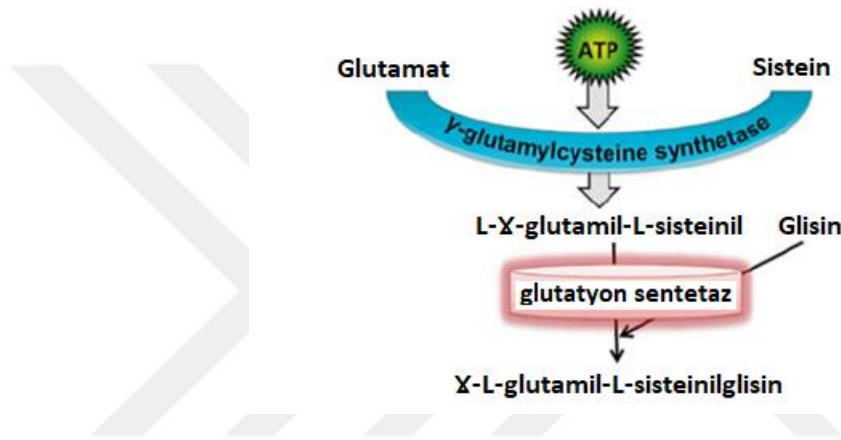
CAT, (EC 1.11.1.6). H_2O_2 'yi katalizleyen, 240 kilodaltonluk (kDa) tetramerik bir proteindir. Her bir polipeptit alt birimi, yaklaşık 60 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahiptir ve bir ferriprotopofirin (hematin) grubu içerir. $H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2^{\bullet-}$ dönüştürülmesinde önemli rol oynar (1.6), (Percy, 1984; Ighodaro ve Akinloye, 2017). H_2O_2 kısa ömürlüdür ve SR olmamakla birlikte, Fe ve Cu iyonları varlığında radikal öncüsü olarak, Fenton ve Haber Weiss reaksiyonunu başlatır ve bu reaksiyonlarla $\bullet OH$ kaynaklı yüksek bir toksiste oluşturur (Collin, 2019; Lenzen vd., 2022).



CAT'ı bilinen tüm canlılar, tüm organlarında kullanır ama CAT özellikle karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda meydana gelir (Lobo, vd., 2010).

1.3.1.3. Glutasyon (GSH)

GSH, L-glutamat, L-sistein ve glisin'in, gama-glutamil-sistein sentetaz ve glutasyon sentetazdan katalize edilerek, sentezlendiği bilinir (Şekil 1.3) (Griffith, 1999).

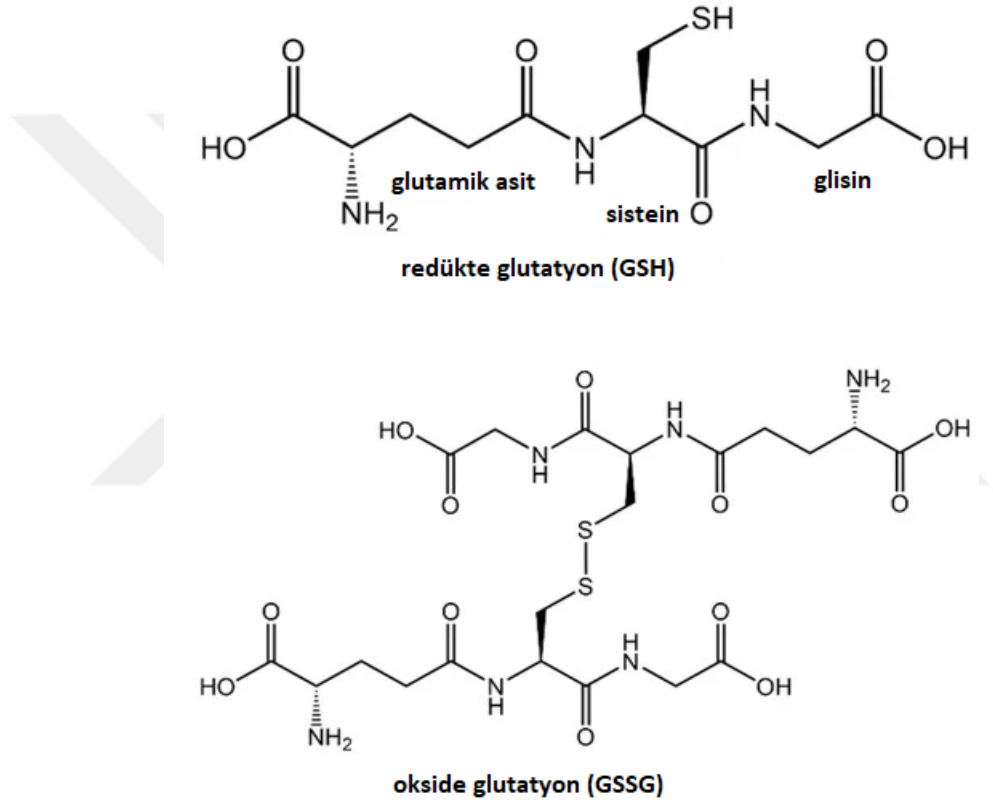


Şekil 1.3. Sistein, glisin, glutamat amino asitleri ve GSH sentez yolu (Tirapegui ve Cruzat, 2015).

GSH, enzimatik olmayan bir antioksidandır, doğrudan bir antioksidan olarak reaksiyona girer ve birçok antioksidan için kofaktör görevi görür (Bates, 2023).

Proteinlerin Sülfhidril (-SH) gruplarına bir elektron donörü görevi görebilir, böylelikle bu durum GSH'a SR'leri uzaklaştırma yeteneği kazandırır (Meister ve Anderson, 1983). Sistein tiyol kısmı GSH'ye antioksidan özelliklerini verir. Tiyol, SR'ler ve reaktif aldehytler gibi hücrel pro-oksidanlar tarafından oksitlenerek oksitlenmiş GSH disülfür (GSSG) oluşturulur (Owen ve Butterfield, 2010) Böylelikle hücrelerde, dokularda ve plazmada glutasyon birkaç ek formda bulunur. Bunlar: indirgenmiş (GSH) ve oksitlenmiş (GSSG) formlardır (Şekil 1.4). Oksitlenmiş olarak oluşan glutasyon disülfür (GSSG); yeniden "oksitlenmiş glutasyon" olarak da adlandırılır (Sies, 1999) ve GSH ve GSSG arasındaki oran, OS düzeyini yansıtır; bu orandaki (GSSG:GSH) artış, daha büyük miktarda OS işaret eder (Al-Temimi vd., 2023). GSSH, dokularda bulunan glutasyon redüktaz (GR) enzimi ile tekrar GSH'a dönüşebilmektedir (Hissin ve Hilf, 1976).

Bir antioksidan olarak GSH, ökaryotik hücrelerin OS'ten korunmasında anahtar bir rol oynamakta ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi için elektron donörü olmaktadır. Çoğu hücre tipinde, GSH; GS-S transferazları (GST) tarafından katalize edilen yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunda rol oynar (Oktyabrsky ve Smirnova, 2007; Bello, 1999). GSH tüm organlarda mevcuttur ancak en yüksek konsantrasyonunun karaciğerde bulunduğu bilinmektedir (Giustarini vd., 2023).



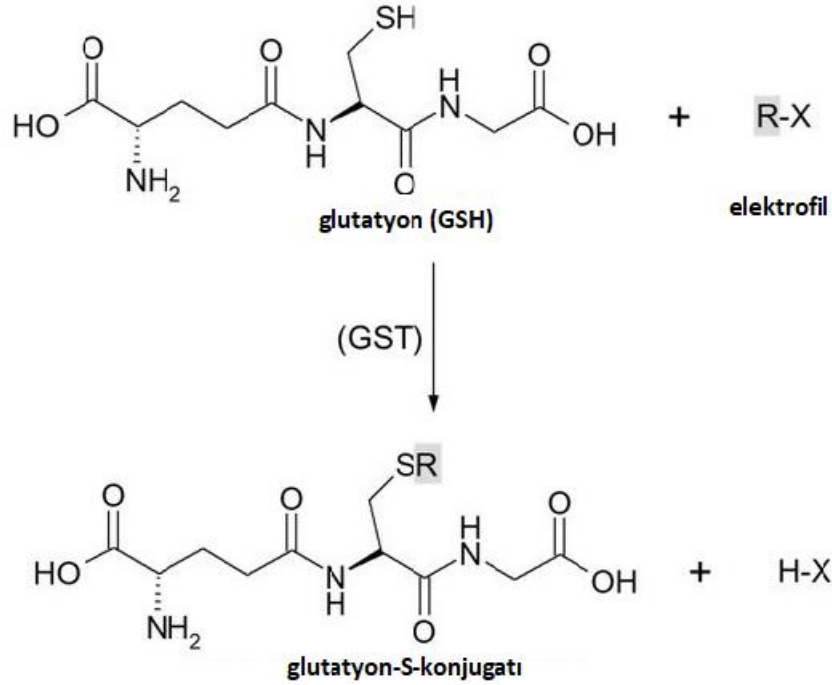
Şekil 1.4. GSH ve GSSG'nin kimyasal yapısı (Al-Temimi vd., 2023).

1.3.1.4. Glutatyon S transferaz (GST)

GST'ler (EC 2.5.1.18) çözünür proteinlerdir tipik moleküler kütleleri yaklaşık 50 kDa'dır (Dixon vd., 2002). GST, GSH'nin konjugasyon reaksiyonunu ve GSH konjugatlarını oluşturmak üzere sitokrom P450 metabolizması tarafından üretilen reaktif elektrofillerin konjugasyon reaksiyonunu katalize ederek sitoprotektif bir rol oynar (Singh ve Reind, 2021). Bunu şekil 1.5.'de görüldüğü gibi; GST'i, polar bir S-glutatyonillenmiş reaksiyon ürünü (R-SG) oluşturmak için GSH'nin reaktif bir elektrofilik merkez içeren bir kosubstrata (R-X) transferini katalize ederek yapar (Dixon

vd., 2002).

Bu enzim detoksifikasyon mekanizmasına yardımcı olmak üzere karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Chaudhary vd., 2023; Lobo vd., 2010).



Şekil 1.5. Glutasyon S-konjugatını (R-SG) oluşturmak için genel bir elektrofile (R-X) glutasyonun (GSH) konjugasyonunun genel şeması (Potega, 2022)

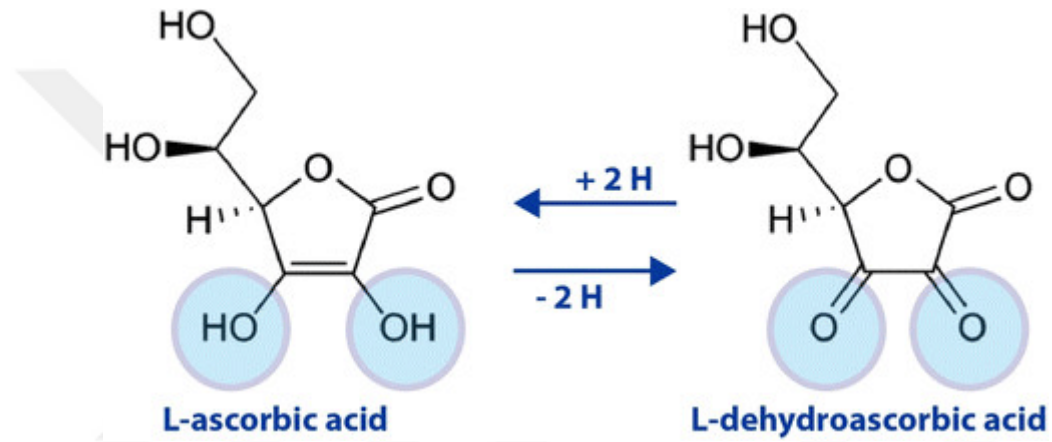
1.3.1.5. Enzimatik olmayan bazı antioksidanların biyolojik etkisi

Enzimatik mekanizmaların yanı sıra antioksidan olarak bilinen bazı bileşikler de vardır (Arrigoni ve De Tullio, 2002). Antioksidan vitaminler, çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Mekanik terimlerle, bağışıklık sistemini geliştirirler, kanserojen metabolizmasını değiştirirler, hücre proliferasyonunu değiştirirler, kanserojenin neden olduğu DNA hasarını onarmayı uyarırlar ve SR süpürücü özellikleri ortaya çıkarırlar (Chaudière vd., 1999; Khaidakov vd., 2001; Farombi ve Onyema, 2006). Bunlardan biri olan Askorbik asit (AA) ya da diğer ismiyle C vitamini, ilk olarak 1928 yılında Szent-Gyorgyi tarafından izole edilen ve karakterize edilen suda çözünen bir antioksidandır (Svirbely ve Szent-Györgyi, 1932).

C Vitamini'nin güçlü bir antioksidan olduğu bilinmektedir. ROS ile olan etkileşimler üzerine C Vit; SR'leri ara askorbil yoluyla dehidroaskorbata oksitler. Dehidroaskorbat da deaskorbat redüktaz ile askorbik asite geri dönüştürülür. Böylelikle

dehidroaskorbat, C Vit'ye göre çok düşük seviyelerde oluşur. ROS'ların temizleyicisi askorbatın; $O_2^{\bullet-}$ anyonuna karşı etkili olduğu; H_2O_2 , $\bullet OH$ radikali, singlet oksijen reaktiflerini temizlediği ve nitrojen oksit türlerinin, nitrozasyonu önlediği söylenmiştir (Stahl ve Sies, 1997). Bu vitamin LP'yi başlatan radikalleri temizleyerek hücre zarlarını oksidan hasarından korur (Ergul vd. 2010; Arrigoni ve Tullio, 2002).

L-dehidroaskorbik asit ayrıca biyolojik aktiviteye sahiptir, çünkü vücutta askorbik asit oluşturmak üzere indirgenir (Şekil 1.6.), (Kurutas, 2015). C vitamini potansiyel olarak ROS'ları temizleyip, DNA hasarını azaltabilir (Pawlowska vd., 2019; Jena vd., 2023).



Şekil 1.6. C vitamininin oksidasyon-redüksiyon (redoks) reaksiyonu, dengedeki moleküler formları (Kurutas, 2015).

Bir başka antioksidan molekül olan Zn insanlar, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar için gerekli bir eser elementtir ve son yıllarda fizyolojik ve biyokimyasal işlevlerini belirlemek için kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Zn'nin, vücudun normal bağışıklık fonksiyonlarını koruyan, protein metabolizmasını ayarlayan, hücre zarı bütünlüğünü koruyan ve hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenlemeye yardımcı olan 300'den fazla farklı enzim, transkripsiyon faktörü ve hücre sinyal proteininin bir bileşeni olduğu da bilinmektedir (Hua vd., 2016; Beyersmann, 2002). Zn eksikliğinin artık dünya çapında önemli bir yetersiz beslenme sorunu olduğu bilinmektedir. Et, baklagiller, tohumlar, kabuklu yemişler, kabuklu deniz ürünleri gibi farklı gıdalarda ve mantar, ıspanak, brokoli gibi sebzelerde doğal olarak bulunur ve ayrıca piyasada çinko glukonat ($C_{12}H_{22}O_{14}Zn$), çinko asetat ($ZnC_4H_6O_4$) şeklinde besin takviyesi olarak bulunur. Yine bazı ilaçlarda da, Ör: çinko sülfat ($ZnSO_4$) (aknenin şiddetini azaltmak için) vb. etkisi bulunmaktadır. Önerilen günlük Zn alımı (RDI)

yetişkin erkekler için 11 mg/gün ve yetişkin kadınlar için 8 mg/gün, hamileler için 11 mg/gün ve emziren kadınlar için gün 12 mg/gün'dür (Roohani vd., 2013; Keerthana ve Kumar, 2020).

Bu molekül, hücrel antioksidan savunma için hayati önem taşıyan hücrel GSH'ın düzenlenmesinde hayati bir role sahiptir (Parat vd., 1997). SR'leri ve OS'i kontrol eden süperoksit dismutaz (SOD) enziminin hayati bir parçasıdır (Bashandy vd., 2018; Peixoto vd., 2009). NP düzeyinde olan ZnO NP'lerin hücre zarı bütünlüğünü OS hasarına karşı koruyabildiği, antioksidan enzim düzeylerini artırabildiği, MDA ve SR düzeylerini düşürebildiği bildirilmiştir (Dawei vd., 2009). Ek olarak insan vücudunun gıdada bulunan Zn'nun sadece %20-40'ını absorbe ettiği bilinmektedir. Biyoyararlanımı arttırmak için gıda endüstrisinde bulunan katkı maddesi ZnO'nun yerini ZnO NP'ler almıştır (Li vd., 2011).

Kronik karaciğer hastalıklarında Zn eksikliği birçok olguda rapor edilmiştir. Al ile indüklenen nörotoksisite ve hepatotoksisiteye karşı da Zn'nin koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir. İçme suyuna 2 ay süre ile 227 mg/L ZnSO₄ uygulanan sıçanlarda, Al ile indüklenen hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkilerin gözlemlendiği bildirilmiştir (Bhasin vd., 2012). Güçlü hepatotoksik, kanserojen ve mutajenik bir bileşikle indüklenen karaciğer dokusuna tedavi amaçlı 50 mg/kg ZnO NP'nünün tedavi sonrası, karaciğerdeki LP'nunu, OS'yi ve fibrozu azalttığı söylenilerek, ZnO NP'ünün koruyucu etkisinden bahsedilmiştir (Rani vd., 2018).

1.4. Nanopartiküller ve Çinko Oksit Nanopartikül'ünün (ZnO NP) Özellikleri-Kullanım Alanları

Nano kelimesi Yunanca'da; "cüce" kelimesinden köken almış olup, son zamanlarda modern bilimde adından sıkça bahsedilen nanometre (nm), nanomateryal, nanobilim, nanoteknoloji, nanorobot gibi kelimeler ile popüleriteye kavuşmuştur (Korkmaz, 2012).

NM, bir metrik uzunluk birimidir ve metrenin milyarda birini ya da 10⁻⁹ m'yi belirtir. Boyutları 1 mikron'dan küçük olan partiküller "nanopartiküller" olarak adlandırılmaktadır biraz daha büyükleri ise mikropartiküllerdir (Buzea vd., 2007).

Bu kavramın doğuşu; yaklaşık elli yıl önce 29 Aralık 1959'da, nanoteknoloji tarihinin en iyi bilinen makalesinde "Dipte Bolca Yer Var" başlığı altında, bir fizikçi olan Richard Feynman'ın anlatımıyla Pasadena'daki California Teknoloji Enstitüsü'nde bir konuşmada nano boyutta yeni materyal üretilebilir düşüncesi ile ortaya atılmıştır

(Toumey, 2009).

Nanoteknolojideki hızlı gelişme, çok sayıda yeni ürün ve uygulama ortaya çıkarmıştır (Riehemann vd., 2009). Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO) tarafından yapılan tanıma göre nano ölçekli maddeler, boyut aralığında en az bir dış boyutu 100 nm'nin altında olan maddelerdir. Küçük boyutları ve karşılık gelen geniş yüzey alanları nedeniyle, nano ölçekli maddeler genellikle aynı malzemenin toplu versiyonlarından önemli ölçüde farklı olan benzersiz fiziksel ve/veya kimyasal özelliklere sahiptir (Li vd., 2011; Klaine vd., 2008; Stone ve Donaldson, 2006). Daha önceki çalışmalar göstermiştir ki, NP'lerin karaciğer, dalak, beyin, testis ve böbrek gibi çeşitli dokularda birikebilme özelliği gösterebilmiştir (Moghadam vd., 2018; Moridian vd., 2015; Bisht vd., 2005; Borm ve Kreyling, 2004).

Yaygın olarak karşılaştığımız kullanım alanı olarak NP'ler kozmetik, giyim, kişisel bakım, spor malzemeleri ve güneşten koruyucu ürünler gibi sağlık ve fitness alanlarında, oldukça fazla kullanılmaktadır. Ayrıca, NP'lerin teşhis, görüntüleme ve ilaç dağıtımı alanlarında uygulanması beklenmektedir. En yaygın olarak kullanılan NP türlerinden biri ZnO NP'leridir (Osmond vd., 2010; Kim vd., 2014). Aynı zamanda, ZnO NP'lerinin kullanım alanının önemli bir kategorisi birkaç yıldan beri önem kazanmıştır. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA, ABD), çinko oksidi (ZnO) "genel olarak güvenli" (GRAS) (21CFR182.8991) olarak sınıflandırmıştır (Khan vd. 2016). ZnO NP'leri, gıda katkı maddeleri, teşhis, ilaç dağıtım sistemleri ve benzerlerinde ticari olarak uygulanan malzemelerin önemli bir sınıfını da temsil etmektedir (Khan vd. 2016; Hu, 2019).

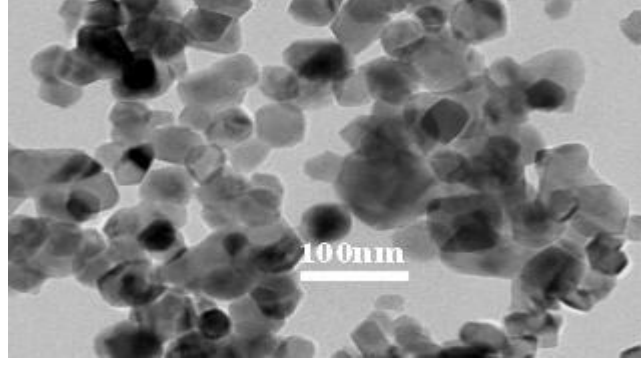
İnsanların bu nanoparçacıklara maruz kalması kaçınılmazdır. ZnO NP'ü ve çinko oksit mikropartiküllerinin (ZnO MP) emilimi ve dağılımı büyük ölçüde parçacık boyutuna bağlıdır (Wang vd., 2016). ZnO NP'ne maruz kalmanın çoğu cilt teması yoluyla olmasına rağmen, ZnO NP'ü epidermise nüfuz etmemektedir (Kairyte, 2013). ZnO NP'ü ile yapılan dudak bakım ürünlerinin ve güneşten korunma ürünlerinin küçük bir kısmı yanlışlıkla yutulabilir ve ZnO NP'ü, suda, gıda ambalajında veya ilaç dağıtımında kullanıldığında kolayca sindirilebilir (Khorsandi vd. 2016; Emamifar, 2011; Filipe, 2009).

ZnO NP'lerinin sistemik dağılımı, konsantrasyonlarına, uygulanan doza, uygulama yoluna ve bunlara maruz kalma süresine bağlı olarak farklı vücut organlarında ve sistemlerinde çeşitli belirtilere yol açabilir. Bu belirtiler, karaciğer,

dalak, böbrek, mide, pankreas, kalp, akciğer, nörolojik sistem, lenfatik sistem ve hematolojik indeksleri doza, uygulanmasına bağlı etkileyebilir (Keerthana ve Kumar, 2020). Hayvan modellerinde, inhale NP'ler akciğerde lokal olarak kalmazlar ve kan dolaşımına geçerek karaciğer, böbrek, beyin, kalp gibi uzak organlara dağılırlar. Bu nedenle, dolaşımdaki NP'lerin çeşitli organlar üzerindeki etkisini incelemek gerekir (Faddah vd., 2013; Kim vd., 2005; Wang vd., 2007). NP'lerin: böbrek, karaciğer ve dalak gibi organların, gastrointestinal sistem yoluyla NP'ları absorpsiyon edebileceğini ve bunun için hedef organlar olabileceği belirtilmiştir (Khorsandi vd., 2016; Böckmann vd., 2000).

Doz kelimesinin tanımı, biyolojik bir sisteme ulaşacak maddenin miktarı olarak belirtilmiştir (Donaldson ve Stone, 2003). NP'lerin doz miktarı ve Şekil 1.7.'de de görüldüğü gibi nm çapı önemlidir. Yaptıkları çalışmalarında; solunan TiO₂ NP ile çalışmış, farklı boyutlarda, 20 nm çaplı partiküllere düşük doz 10 mg/m³ maruziyetin, 300 nm çaplı partiküllerin yüksek doz 250 mg/m³ maruziyetinden daha büyük bir akciğer tümörü insidansı ile sonuçlanması ile NP'lerde sadece dozun önemine değil, parçacık çapı boyutuna da dikkat çekmiştir (Buzea, 2007; Hoet, 2004). Dolayısıyla çeşitli NP'lerin sağlık etkileri ile ilişkili olan ölçüsü (dozu), sadece NP'nin kütle dozuyla değil, aynı zamanda da yüzey alanıyla ilişkilidir. Dolayısıyla NP çapı da uygulama dozu kadar önemlidir (Oberdörster vd., 1994). Farklı çalışmalarda ise: aynı kimyasal bileşime ve kristal yapıya sahip NP'nin daha büyük NP parçacıklarına kıyasla, daha yüksek yüzey alanına ve birim kütle başına düşen parçacık sayısına sahip olduğu kanısıyla, milyarlarca nanoparçacıktan oluşan aynı kütle dozundaki birkaç MP'la karşılaştırıldığında, küçük yüzey alanlı NP'nin vücuda parçacık reaktivitesinin artmasından kaynaklı daha fazla ve daha farklı tepkiler verebileceği söylenmiştir (Roduner, 2006; Buzea, 2007). Aynı zamanda bu reaktivite durumu in vitro deneylerle de gösterildiği gibi, artan bir ROS oluşum kaynağıdır (Donaldson ve Stone, 2003).

Tüm bunlarla beraber oksidatif süreçte koruyucu bir rol oynayan diyet besinleri (C vitamini gibi antioksidan vitaminler), olası nanoparçacık kirliliğinin toksik etkilerinin potansiyel hafifleticileri olarak önerilmektedir (Romieu ve Tuberc, 2005).



Şekil 1.7. 100nm'lik ZnO NP TEM görüntüsü (http-2)

1.5. Karaciğer

Karaciğer vücutta: metabolizma, bağışıklık, vitamin depolama ve sindirim sonucu oluşan yabancı kimyasalların metabolize edildiği ve biyolojik olarak dönüştürüldüğü bir dizi fonksiyondan sorumlu kritik önemi olan birincil organdır. Bir yetişkinin vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturur. Karaciğer, portal venden (yaklaşık %75) ve hepatik arterden (yaklaşık %25) ikili kan desteği sağlaması nedeniyle eşsiz bir organdır (Kalra, 2023).

1.5.1. Karaciğer anatomi histoloji ve fizyolojisi

Karaciğer diyaframın altında bulunur ve karının sağ üst çeyreğinin (RUQ) çoğunu kaplar. Anatomik olarak karaciğerin dört lobu vardır: sağ, sol, kaudat ve kuadrat. Kaudat lob medialde ligamentum venozum, posteriorda inferior vena cava ve önde porta hepatis ile sınırlanır. Kuadrat lob, porta hepatisin önünde ve karaciğerin yuvarlak ligamentinin lateralindedir ve safra kesesi ile yakından ilişkilidir (Chase ve Anup, 2021).

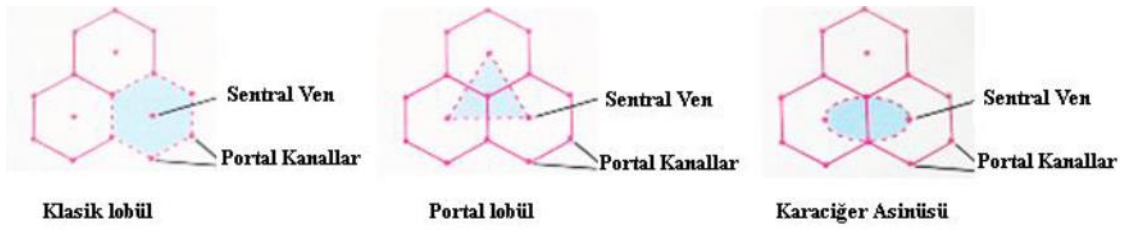
Yapı ve histoloji açısından karaciğer, beş sisteme ayrılır: (1.) hepatositler ve hepatik lobüller, (2.) hepatik sinüzoidal hücreler, (3.) biliyer sistem, (4.) arteriyel sistem ve (5.) stroma. Karaciğerdeki hücreler bölünebilir parankimal (hepatosit olarak da bilinir) ve parankimal olmayan (hepatosit olmayan olarak da bilinir) türlere ayrılır. Endotel hücreleri, kupffer hücreleri ve hepatik stellat hücreler de dahil olmak üzere parankimal olmayan hücreler karaciğer dokusu hacminin yaklaşık %6,3'ünü oluşturur ve hepatositler ise karaciğer hacmin yaklaşık %78'ini oluşturur. Karaciğerde hücre dışı boşluk toplam hacmin yaklaşık %16'sını oluşturur (Hassani, 2022; Saxena vd., 2003; Roskams, 2007). Karaciğer'de bulunan hücre ve yapılar Tablo 1.2'de de gösterilmiştir (Malarkey vd., 2005).

Tablo 1.2. Karaciğer’de bulunan hücre ve yapılar (*Malarkey vd., 2005*).

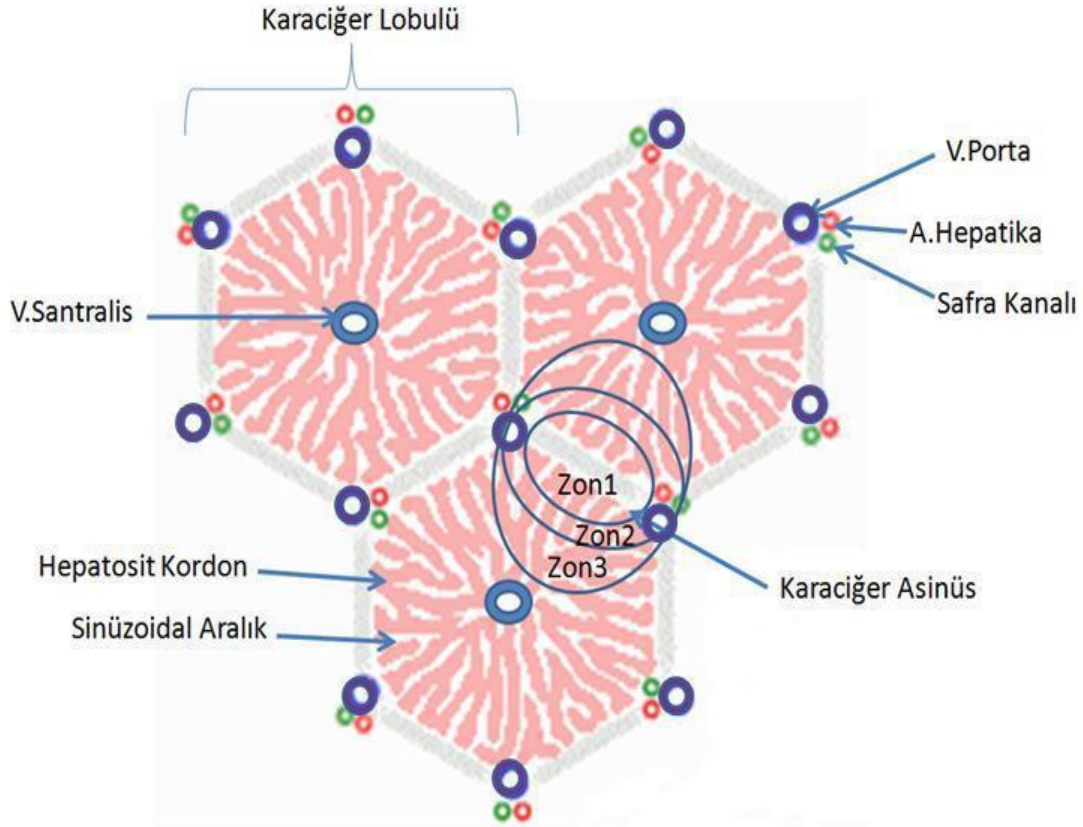
Karaciğer’de Bulunan Hücre ve Yapılar
Hepatositler (hücrelerin %60’ı ve parankim hacminin %80’i)
Safra Epiteli
Endotel
Sinuzoidler
Kan damarları (arterler ve damarlar)
Lenfatik sistem
Kupffer hücreleri
Hepatik yıldız hücreleri (Ito veya yağ depolayan hücreler olarak da bilinir)
Lenfositler (Çukur hücreleri)
Öncü hücreler
Oval hücre—Rodent modeller
Hepatoblastlar—insanlar
Fibroblastlar
Düz kas hücreleri (kan damarları)
Kan (eritrositler, lökositler, vb.)
Mezotelya
Sinirler (miyelinsiz)
Nöroendokrin hücreler
Hematopoetik hücreler
Kan (eritrositler, lökositler, vb.)

Karaciğerin histolojik olarak her fonksiyonel birimine lobül denilir. Karaciğer lobülleri, merkezi bir damar olan altıgen şeklinde hepatosit koleksiyonları şeklindedir. Lobüllerin içerisinde hepatositler, kordonlar halinde düzenlenir ve kordonların arasında ince pencere görümlü bir endotel yapı ve sinuzoid ismi verilen süreksiz bir zar içeren vasküler bir boşluk (lobul venleri arası boşluk) bulunur. Bu sinuzoidler, karaciğerin yerleşik makrofajı olan kupffer hücrelerini ve hepatik lipositler olan yıldız hücrelerini içerir. Altıgenin köşesinde bir safra kanalı, bir portal ven ve hepatik arter olmak üzere portal triad olarak adlandırılan bir üçlü bulunur (Şekil 1.8 ve Şekil 1.10.). Kan, portal ven dalından ve hepatik arter dalından lobül boyunca akar ve son olarak hepatik venin bir dalı olan santral vene akar. Alternatif bir hepatosit organizasyonu, uçları merkezi damarlar olan bir eşkenar dörtgen merkezinde 2 üçlü arasındaki çizgiyi yerleştirir. Bu düzenlemeye portal asinus denir ve karaciğerin fonksiyonel bölgelerini tanımlamada yardımcı olur. Zone 1 hepatositleri portal yolları hemen çevreler ve öncelikle oksidatif enerji metabolizmasında yer alır. Zon 3 hepatositleri merkezi damarları hemen çevreler ve ilaçların biyotransformasyonunun

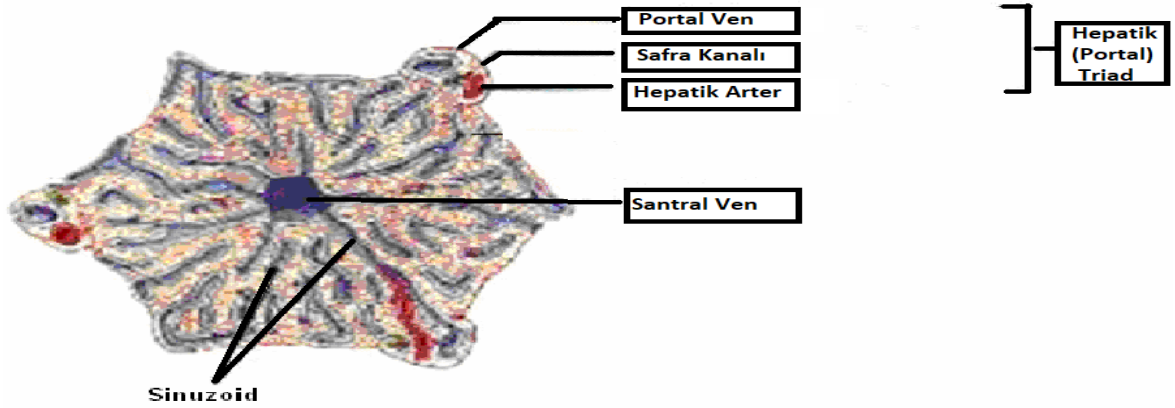
birincil yeridir. Bölge 2 hepatositleri, bölge 1 ve 3 arasında yer alır ve karışık işlevselliğe sahiptir (Şekil 1.9., Şekil 1.10., Şekil 1.11.), (Chase ve Anup, 2021).



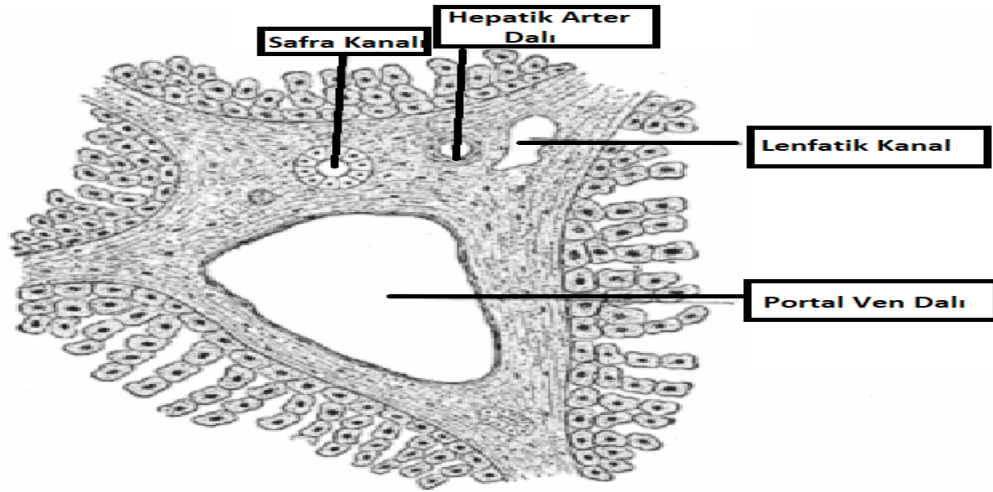
Şekil 1.8. Karaciğer klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsü: Mavi renkle belirtilen alan, her bir birimin karaciğer organizasyonu ve fonksiyonuyla ilişkili alanlarını göstermektedir. Klasik lobülün merkezinde bir terminal hepatik venül (santral ven) ve periferik köşelerinde portal triadları içeren portal kanallar bulunmaktadır, Portal lobülün merkezinde portal kanal bulunmaktadır ve terminal hepatik venül, portal lobülün periferik köşelerinde bulunmaktadır. Karaciğer asinüsünün ekvatorunda dağıtıcı damarlar bulunmaktadır ve her bir kutbunda terminal hepatik venüller (santral venler) yer almaktadır (Ross ve Pawlina 2013).



Şekil 1.9. Karaciğer lobülü ve karaciğer asinüsü (Kayan, 2018; Akbulut vd., 2008).



Şekil 1.10. Hepatosit yapısı (Karaarslan, 2012)



Şekil 1.11. Karaciğer Histolojisi (Karaarslan, 2012).

Karaciğere; portal ven yoluyla gelen kan, sindirim kanalı ve dalaktan geldiğinden, kana karışan toksinlerle doğrudan karşılaşmaktadır. Dolayısıyla diğer organlara kıyasla karaciğer, toksinlerden daha fazla etkilenebilmektedir (Kılıç, 2020). Bununla birlikte karaciğer, gastrointestinal sistemden emiliminden hemen sonra ksenobiyotik metabolizmanın ana bölgesi olarak görev yapar. Ayrıca karaciğer vücuttaki tüm organlar arasında en yüksek biyotransformasyon enzim kaynağına sahiptir. Bu nedenle, ksenobiyotik detoksifikasyonda ve kimyasal toksisiteye karşı korumada anahtar bir role sahiptir (Gu ve Manautou, 2012). Karaciğer, lobül içindeki işleme ve metabolizma yoluyla vücudu gastrointestinal (GI) kanaldan emilen toksik maddelerden korur. Faz-I reaksiyonları, sitokrom P-450 enzim sistemi tarafından katabolize edilirken, Faz-II reaksiyonları, maddeleri diğerleri arasında glukuronid, glutatyon, sülfat gibi substratlarla birleştirir (Chase ve Anup, 2021).

2. MATERYAL METOD

2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Bu tez çalışmasındaki tüm deneysel işlemler Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi Laboratuvarları, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Laboratuvarları ve Eskişehir Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun yönergeleri takip edilmiştir (Etik kurul karar no: 2019-03). Deneyler için 200-225 g ağırlığındaki 64 adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Deney süresi 6 hafta (42 gün) olarak ayarlandı ve 42. günün sonunda hayvanlar disekte edildi. Sprague Dawley cinsi sıçanlar 80 mg/kg ketamin anestezi sonrası disekte edilerek karaciğer dokusunun bir kısmı histolojik doku incelemesi için fikse edildi ve tek hücreli jel elektroforezi için ön muameleleri yapıldı. Dokudaki kalan kısım ise sıvı nitrojen içinde donduruldu ve biyokimyasal incelemeler için 86°C (Green vd., 1981) muhafaza edilmiştir.

Deneyde kullanılan ZnO NP, Sigma-Aldrich'den satın alınmıştır (CAS NO: 1314-13-2) satın alınan ZnO NP'ün parçacık boyutu 100 nm'den küçük, yüzey alanı ise 10-25 m²/g, moleküler ağırlığı 81,39 g/mol'dür. Toz formu olarak alınan ZnO NP, enjeksiyonlarda kullanılmak üzere ihtiyaç duyulan miktarlarda hazırlanarak stok solüsyon haline getirilmiştir. Hazırlanan stok solüsyon saf su içerisinde hazırlanarak ultrasonik banyoda muamele edilerek, uygulama dozları sıçanların ağırlıkları ölçüldükten sonra (200-225g) uygun miktarlarda enjeksiyonları yapılmıştır.

Deneylere başlamadan önce sıçanlar, her kafeste 6 tane sıçan, 24°C sıcaklıkta, %55 nem ve 12 saat aydınlık-karanlık (08:00 ve 20:00) koşullarda normal su ve beslenme sağlanarak 5 gün süreyle laboratuvar şartlarına alıştırmıştır. AlCl₃ intraperitoneal olarak (i.p.) 70 mg/kg/gün dozunda ve 42 gün süreyle uygulanmıştır (Ali vd., 2016). ZnO NP ve C vitamini uygulamalarıysa; 15. gün itibariyle başlanılarak 28 gün süre ile uygulanmıştır. ZnO NP 1 mg/kg/gün dozunda i.p. olarak; C Vit ise 125 mg/kg/gün dozunda i.p. olarak uygulanmıştır (Harrison vd., 2009).

Çalışmamız kontrol ve yedi deney grubundan oluşmuştur. Enjeksiyonlar: intraperitoneal (i.p.) uygulamayla sürdürülmüştür.

Tablo 2.1. Çalışmada uygulaması yapılan deney grupları

GRUPLAR	UYGULAMA
Kontrol grubu	42 gün süre ile i.p. yolla %0.9 fizyolojik salin uygulaması yapılmıştır.
Grup I (Al)	42 gün süre ile i.p. yolla 70 mg/kg/gün dozunda AlCl ₃ uygulaması yapılmıştır.
Grup II (Al+ZnO NP)	42 gün süre ile i.p. yolla 70 mg/kg/gün dozunda AlCl ₃ uygulanmış ve AlCl ₃ uygulaması 15. günden itibaren 1mg/kg/gün dozundaki ZnO NP ile birlikte i.p. olarak yapılmıştır.
Grup III (Al+CVit)	42 gün süre ile i.p. yolla 70 mg/kg/gün dozunda AlCl ₃ uygulaması yapılmış ve AlCl ₃ uygulaması 15. günden itibaren 125 mg/kg/gün dozundaki C Vit ile birlikte i.p. olarak yapılmıştır.
Grup IV (Al+CVit+ZnO NP)	42 gün süre ile i.p. yolla 70 mg/kg/gün dozunda AlCl ₃ uygulaması yapılmış ve AlCl ₃ uygulaması 15. günden itibaren 1mg/kg/gün dozundaki ZnO NP ve 125 mg/kg/gün dozundaki C Vit ile birlikte i.p. olarak yapılmıştır.
Grup V (C Vit)	İlk 14 gün %0.9 fizyolojik salin (i.p.) uygulanmış, 15. günden itibaren 28 gün süre ile 125 mg/kg/gün dozunda C Vit (i.p.) yapılmıştır.
Grup VI (ZnO NP)	İlk 14 gün %0.9 fizyolojik salin (i.p.) uygulanmış, 15. günden itibaren 28 gün süre ile 1mg/kg/gün dozunda ZnO NP (i.p.) uygulanmıştır.
Grup VII (C Vit+ZnO NP)	İlk 14 gün %0.9 fizyolojik salin (i.p.) uygulanacak, 15. günden itibaren 28 gün süre ile 1 mg/kg/gün dozunda ZnO NP ile 125 mg/kg/gün dozundaki C Vit birlikte i.p. olarak uygulanmıştır.

2.2. Biyokimyasal Analizler

2.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD) ölçümü

SOD enzim aktivitesinin belirlenmesinde Sun vd., (1988) metoduna dayalı ticari kit kullanılmıştır.

Karaciğer numunelerindeki süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD), üç SOD tipini de (Cu/Zn, Mn ve Fe-SOD) ölçen ticari kit (Cayman Chemical Company Ann Arbor, MI. ABD) Ürün No. 706002 kullanılarak ölçülmüştür. Çalışma prensibinde; Cayman's Superoxide Dismutase Assay, ksantin oksidaz ve hipoksantin tarafından üretilen süperoksit radikallerinin saptanması için bir tetrazolyum tuzu kullanılmaktadır. Bir birim SOD; süperoksit radikalının %50 dismutasyonunu sergilemek için gereken enzim miktarı olarak tanımlanır. Bu test; plazma, serum, eritrosit lizatları, doku homojenatları ve hücre lizatlarında SOD aktivitesini test etmek için basit, tekrarlanabilir ve hızlı bir

araç sağlar.

1 ünite enzim: 37°C sıcaklıkta ve pH 8.8'de 1 mikromol 5,6,6a,11b-tetrahidro3,9,10,-trihidroksibenzo [c] floren'in (BXT-01050) 1 dakikadaki otooksidasyonunu sağlayan enzim aktivitesidir.

2.2.2. Katalaz (CAT) aktivite ölçümü

CAT aktivite ölçümü, Beers ve Sizer (1952) yöntemine göre yapılmıştır. Bu metod, H₂O₂'nin 240 nm dalga boyunda oluşturduğu absorbansın, CAT enziminin katalize ettiği reaksiyon sırasında, azalma göstermesiyle bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır. Absorbanstaki dakikalık düşüş hızı, enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır.

Prensip: H₂O₂'nin 240 nm (De_{240nm} = 40M⁻¹ cm⁻¹)'deki dekompozisyonu takip edilerek, CAT aktivitesi belirlenmiştir.

1 ünite enzim 25°C'de, pH=7.0'de 1.0 mikromol H₂O₂'yi, 1 dakika içinde parçalamak için gerekli olan enzim miktarı şeklinde tanımlanmaktadır.

2.2.3. Toplam glutatyon (GSH) ölçümü

GSH oranı Tietze, (1969) Metoduna dayalı ticari kit kullanılarak belirlenmiştir.

Prensip: Glutatyon redüktaz tarafından redükte hale dönüştürülen glutatyonun, DTNB'yle (5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoik asit) reaksiyona girip oluşturduğu bileşiğin, spektrofotometre'deki 412 nm dalga boyunda ölçülünerek, toplam GSH düzeyi belirlenmesi ilkesine dayanır.

Toplam glutatyon (GSH) testi, Cayman glutatyon test kiti (Ürün No. 703002) uygulanarak yapılmıştır. Cayman'ın GSH testi, GSH'ı ölçmek için glutatyon redüktaz kullanarak dikkatle optimize edilmiş bir enzimatik geri dönüşüm yöntemini kullanır. 10-12 GSH'in sülfhidril grubuyla, DTNB'nin reaksiyona girer ve sarı renkte 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB) üretir. Birlikte üretilen karışık disülfür GSTNB (GSH ve TNB), GSH'yi glutatyon redüktaz ile indirgeyerek geri dönüştürür ve daha fazla TNB üretir ve bu üretim, numunedeki GSH konsantrasyonuyla doğru orantılı olan bu geri dönüşüm reaksiyonuyla doğru orantılıdır. 405-414 nm'deki absorbans ölçülmesiyle numunedeki GSH'in doğru miktarı belirlenir. GSH, disülfid dimer GSSG'ye kolayca oksitlenir. GSSG ise hidroperoksitlerin, glutatyon peroksidazca indirgenmesi ilkesiyle oluşturulur. GSSG, glutatyon redüktaz tarafından GSH'ye indirgenir ve bu da öncelikle biyolojik sistemlerde bulunan indirgenmiş şeklidir. Cayman GSH testi, glutatyon redüktaz

kullandığından hem GSH'ı hem de GSSG'yi ölçer ve bu test toplam glutatyon miktarını yansıtır.

2.2.4. Glutatyon S transferaz (GST) ölçümü

GST enzim aktivitesi, Xie'nin yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Xie vd., 2001). Yöntemin prensibi, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile GSH arasındaki reaksiyon sonucu oluşan bileşiğin 340 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmesine dayanmaktadır. 1 ünite enzim; 25°C sıcaklıkta, 1 dakikada 1 mikromol CDNB-GSH konjugatı oluşumunu katalize eden enzim miktarıdır.

2.2.5. Dokulardaki lipid peroksidasyonunun belirlenmesi için malondialdehit (MDA) ölçümü

MDA tayini; Ohkawa vd., (1979) yöntemine göre belirlenilmiştir (Ohkawa vd., 1979).

Prensip: Tiyobarbitürik asit ile ölçülebilen malondialdehit (MDA), yağ asitlerinin 3 veya daha fazla çift bağ ile peroksidasyonu ile oluşur. Tiyobarbitürik asit ve MDA, spektrofotometrede 532 nm'de ölçülebilen pembe renkli bir bileşiği oluşturur.

Doku numuneleri, % 1.15 KCI içinde % 10 (w:v) oranında homojenize edilmiştir. Oluşan homojenizat, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüjleme işleminden sonra elde edilen süpernatant kısım MDA tayini için kullanıldı. Oluşan 500 ul miktarındaki süpernatana; 200 ul % 8.1 sodyum dodesil sülfat çözeltisi, 1500 ul %20 asit tamponu, 1500 ul %0.8 tiobarbitürik asit çözeltisi ve 700 ul damıtılmış su ilave edildi. Soğutulduktan sonra numuneler inkübatörde 95°C'de 1 saat bekletildi ve daha sonra ilave karıştırma yapılmadan numunelerin berrak kısmı toplandı. Süpernatant daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Sonrasında oluşan bu karışım, 1 mL damıtılmış su ve 5 mL bütanol/piridin kombinasyonu ile 15/1 (v:v) oranında karıştırılmıştır. Daha sonra birleştirildi ve 4000 rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatant ayrı bir tüpe alınarak, kör'e karşı absorbans değeri 523 nm'de ölçümlenmiştir.

2.2.6. Bradford Protein Tayini

Toplam protein seviyeleri, Bradford, (1976) yöntemine göre belirlendi. Bu yöntem, organik boyanın (Coomassie Brilliant Blue G-250) proteinlerin asidik ve bazik gruplarıyla etkileşerek renk oluşturulması prensibine dayanır. Proteinin amino asit bileşimi (özellikle arginin gibi bazik amino asitler ve aromatik amino asitler) mavi

rengin oluşumunda önemlidir. Yöntemde protein 595 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermektedir. Protein tayini için Bradford boyası, sığır serum albümini (BSA) ve distile su kullanılmıştır. Çeşitli BSA konsantrasyonları oluşturularak standart bir eğri oluşturuldu. Bu konsantrasyonlar 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,125 mg/ml ve 0,0625 mg/ml şeklinde oluşturulmuştur. Protein tayini için standart ve doku örneklerine 200 µl Bradford boyası eklendi. 200 µl Bradford boyası ve 10 µl H₂O karıştırılarak plate kuyucuğuna blank olarak eklendi. Hazırlanan numuneler ve standartlar 5 dakika bekletildikten sonra spektrofotometreye yerleştirilmiş ve absorbans değeri 595 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçümlenmiştir.

2.2.7. Histopatolojik incelemeler

2.2.7.1. Doku takibi

Diseksiyon sonrasında 1 mm³'lük parçalara ayrılan karaciğer dokusu, %4'lük paraformaldehit (pH 7.2-7.3) içeren fiksatif solüsyonunda +4°C'de bir gece bekletilmiştir. Materyal, 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7.4) ile yıkandı. Dokular, dokuda bulunan suyu uzaklaştırmak için dereceli bir dizi alkolden geçirildi. LR white/alkol (%100) (2/1) (v:v) karışımında 2 saat süre ile rotator cihazında muamele edilmiştir. Dokular bir gece süre ile rotator cihazında saf LR White ile muamele edilmiştir. Dokular, Saf LR White içerisine gömülerek 45°C sıcaklıkta polimerize edilmiş, oluşturulan bloklar trimlendikten sonra LeicaUC6 ultra mikrotom ile 700 nm kalınlığında kesitler alınmıştır. Toluidin mavisi ile boyanan örnekler Leica DM 6000B ışık mikroskobu 63X ve 100X büyütme altında histopatolojik olarak incelendi (Bancroft ve Gamble, 2008).

2.2.8. PCNA, BRCA ve 8-OHdG immüno Floresan İşaretleme

Histolojik inceleme için alınan doku bloklarından 3µm kalınlığında hazırlanan kesitlere indirekt immüno Floresan etiketleme işlemi yapılmıştır. Çoğalan hücre nükleer antijenine özgü (PCNA), karşı bir rabbit monoklonal antikoru (PCNA) (Cell Signaling Technology 2586S, Danvers, MA, ABD), BRCA1'e özgü bir rabbit poliklonal BRCA1 antikoru (Cell Signaling Technology 9010S, Danvers, MA, ABD) ve 8-oksoguanin (8-oksoG) etiketleme protokolü Kemeleva vd., (2006) yöntemine göre bir mouse 8-oksoguanin (8-OHdG) antikoru (Santa Cruz Biyoteknoloji, INC. sc-516176, CA, ABD) kullanılarak immüno Floresan işaretleme için ayrı ayrı etiketleme işlemleri yapıldı (Kemeleva vd., 2006).

İmmünfloresan işaretleme protokolü takibi ile karaciğer doku kesitleri oda sıcaklığında 30 dakika süreyle bloke edici bir çözelti içerisinde inkübe edildi. Dokular PBS tamponunda (P7059, Sigma, St Louis, MO, ABD), %1 BSA (Cat No: A3294, Sigma, St Louis, MO, ABD) ile uygun bir seyreltme derecesinde (1:200 h/h) birincil antikorla birlikte 1 gece boyunca 4°C'lik tutarlı bir sıcaklıkta inkübe edildi. Daha sonra dokular PBS ile (3x5 dakika) yıkandıktan sonra karaciğer dokuları uygun bir seyreltme derecesinde (1:1000 v/v) PBS tamponu içerisinde %1 BSA ile hazırlanan Alexaflor 488 sekonder antikorunun (ab150113, ab150077, Ab Chem, Cambridge, UK) uygun miktarda seyreltilmesiyle, oda sıcaklığında 1 saat süreyle karanlık ortamda son kez inkübe edildi. İnkübe edilen doku kesitleri, PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra Leica DM 6000B floresans mikroskobu (Leica microsystems, Wetzlar, Almanya) altında immünofloresan incelemeleri yapıldı (Bancroft ve Gamble 2008). Floresan yoğunluğu, Image J programı (versiyon 1.53t, NIH, ABD) kullanılarak her gruptan deney hayvanı preparatlarının en az 20 görüntüsünde rastgele seçilen alanlar analiz edilerek sayısallaştırıldı.

2.2.9. Tek hücre jel elektroforezi (SCGE) / Comet tahlil metodu

0.1 g karaciğer dokusu, Merchant EDTA tamponuyla birlikte, Potter Elvehjem Homojenizatör içerisinde hafifçe parçalanarak hücreler açığa çıkarılmıştır.

Comet testi için ezilerek homojenize edilen bu numuneler kullanılmıştır. Doku homojenizasyonundan önce lamalar %1'lik agaroz jelle kaplanmış ve donması için beklenilmiştir. Bu işlem sonrasında 8 µl numune ile 73 µl %0,1'lik düşük erime sıcaklığında agarozla (Cat No: A9095, Sigma, St Louis MO, ABD) karıştırılarak %1'lik agaroz jel ile kaplanmış lamaların üzeri, üzerine dikkatlice lamel kapatılmıştır. Numuneler 5 dakika +4 °C sıcaklıkta bekletilmiştir. Sonrasında lamel çıkarılmış ve örnekler +4 °C'de liziz tamponunda (2.5M NaCl, 100 mM EDTA, 10mM Tris, %1 Triton X-100, pH 10'da) 1 saat süreyle bekletilmiştir. Sonrasında örnekler alkali tamponun (1 mM EDTA, 300 mM NaOH, pH 13) içerisine alınarak ve +4°C'de 40 dakika bekletilmiştir. Tüm numuneler 25 V ve 300 mA'da 30 dakika elektroforeze tabi tutulmuştur. Elektroforez sonrasında 3 kez 5 dakika nötralizasyon işlemi yapılmıştır. İşlem sonunda tüm örnekler distile su (C7684, Merck-Milipore, Darmstadt, Almanya) ile yıkandıktan sonra kurumaları beklenmiştir ve sonrasında tüm preparasyonlar SYBR yeşili (1ul/10mL) (1:10.000, S9430 Sigma, St Louis, MO, ABD) ile boyanmış ve Leica DM 6000B floresans mikroskobu (Leica microsystems, Wetzlar, Almanya) altında

analizleri yapılmıştır. Her slayttan ortalama 100 hücre sayıldı ve Comet analizi için BS 200 ProP, BAB Görüntüleme Sistemi kullanılmıştır. Sonuçlar, kuyruk uzunluğu ile kuyruk DNA'sının çarpımı olan 'kuyruk momenti' olarak verilmiştir (Kuyruk momenti=kuyruk uzunluğu×kuyruktaki DNA'nın %'si). Comet test analizi için BS 200 ProP, BAB Görüntüleme Sistemi kullanılmıştır (Kilic, 2019).

İstatistiksel Analizler

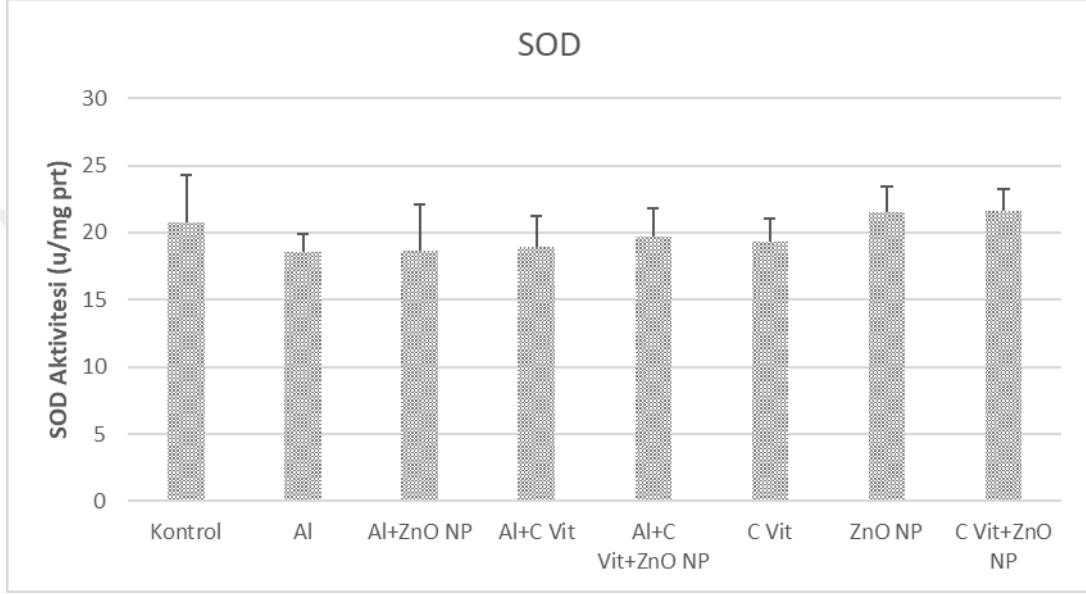
İstatistiksel analiz için SPSS programı kullanıldı. Normallik testleri yapıldıktan sonra veriler One-Way ANOVA testi kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerin ileri analizi için Post Hoc testlerden biri olan Dunnett's T3 testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ olduğunda, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tüm değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Analizler Sonucu Elde Edilen Bulgular

3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivitesi

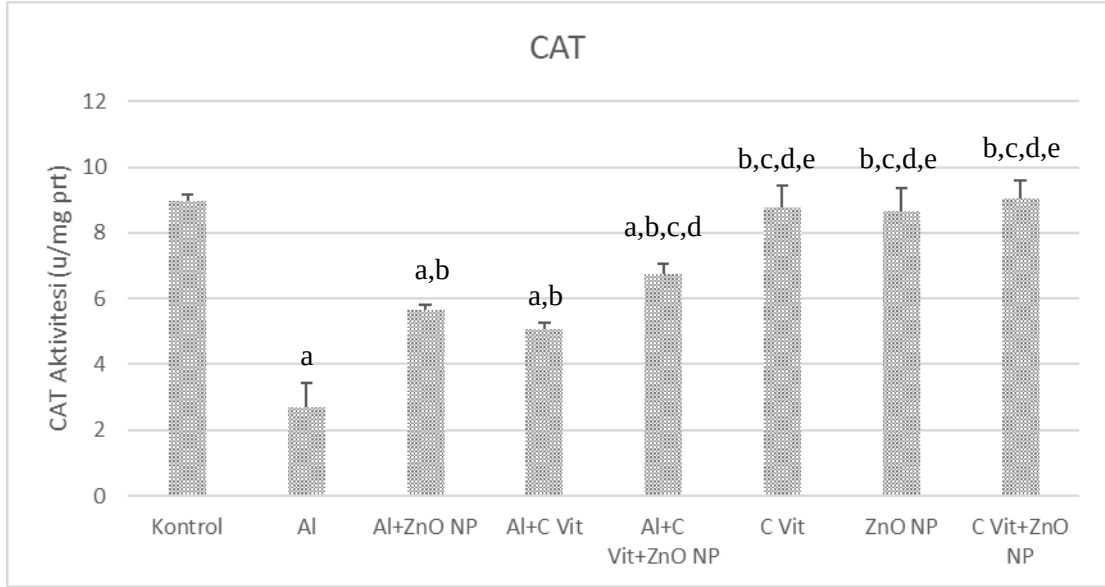
SOD aktivitesi bulgularına göre, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında ve diğer tüm grupların kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. SOD enzim aktivitesi grafiği: Kontrol:20,76667 ±3,492304; Al: 18,6±1,251285; Al+ZnO NP: 18,625±3,4267; Al+CVit: 18,96667±2,235855 Al+CVit+ZnONP: 19,75±2,061033; CVit: 19,36667±1,706849 ZnONP: 21,51667±1,92459; CVit+ZnONP: 21,6±1,658743

3.1.2. Katalaz (CAT) aktivitesi (u/mg prt)

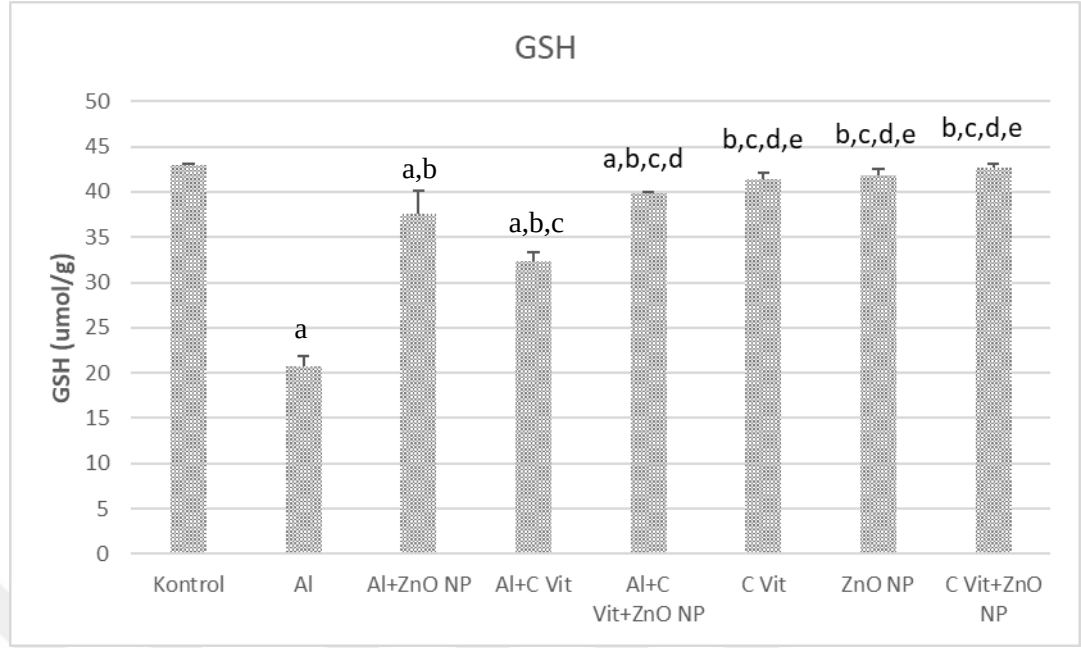
CAT aktivitesi bulgularına göre, Al grubu enzim aktivitesi kontrol grubuna göre yaklaşık 3 kat azalmıştır. Elde edilen veriler kontrol grubuyla kıyaslandığında, CAT enzim aktivitesinde anlamlı bir azalış olduğu görülmektedir. Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP gruplarındaki CAT enzim aktivitesi Al grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır (sırasıyla ~%110, ~%88, ~%150). C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. CAT enzim aktivitesi sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+C vit grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$), e) Al+CVit+ZnO NP grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: $8,96 \pm 0,21$; Al: $2,69 \pm 0,73$; Al+ZnO NP: $5,64 \pm 0,18$; Al+CVit: $5,06 \pm 0,18$; Al+CVit+ZnO NP: $6,73 \pm 0,32$; C Vit: $8,76 \pm 0,67$; ZnO NP: $8,64 \pm 0,72$; C Vit+ZnO NP: $9,06 \pm 0,53$.

3.1.3. Toplam glutatyon (GSH) düzeyi (umol/g)

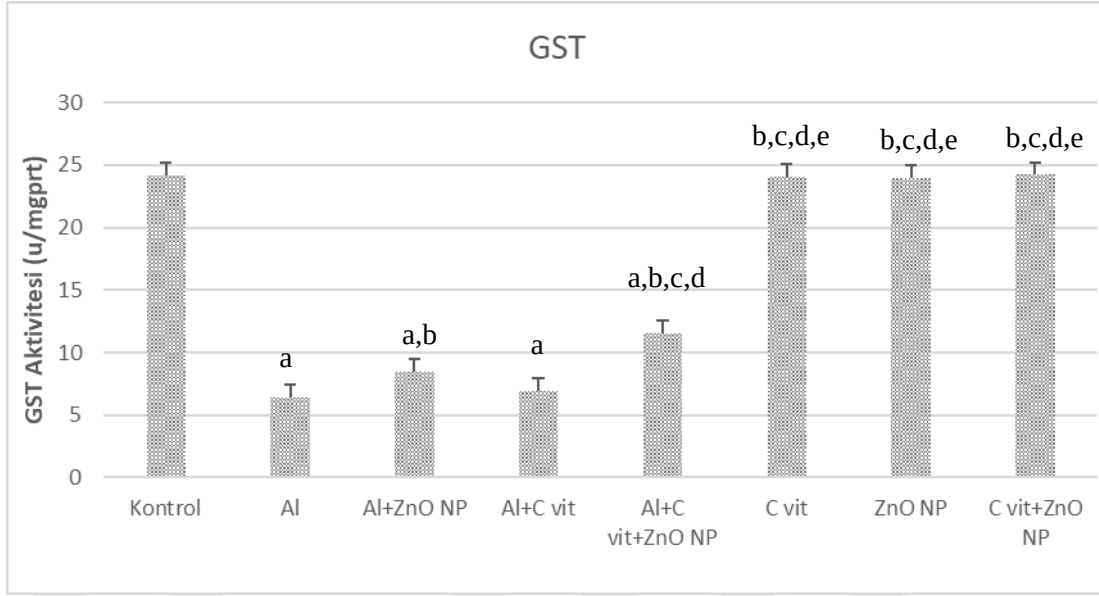
Toplam GSH düzeyi, Al grubunda kontrol grubuna kıyasla yaklaşık yarı yarıya azalmıştır. Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP gruplarındaki GSH düzeyi kontrol grubuna göre sırasıyla yaklaşık %12, %25, %7 oranında anlamlı olarak azalmıştır. Al grubuna göre Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP gruplarındaki GSH düzeyi sırasıyla yaklaşık %81, %56, %92 oranında anlamlı olarak artmıştır. C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP grupları ile kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Toplam GSH sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+CVit grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$), e) Al+CVit+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: $42,93 \pm 0,23$; Al: $20,74 \pm 1,06$; Al+ZnONP: $37,64 \pm 2,52$; Al+CVit: $32,30 \pm 1,06$; Al+CVit+ZnO NP: $39,84 \pm 0,16$; CVit: $41,42 \pm 0,74$; ZnONP: $41,89 \pm 0,63$; CVit+ZnONP: $42,65 \pm 0,49$

3.1.4. Glutasyon S transferaz (GST) aktivitesi (u/mgprt)

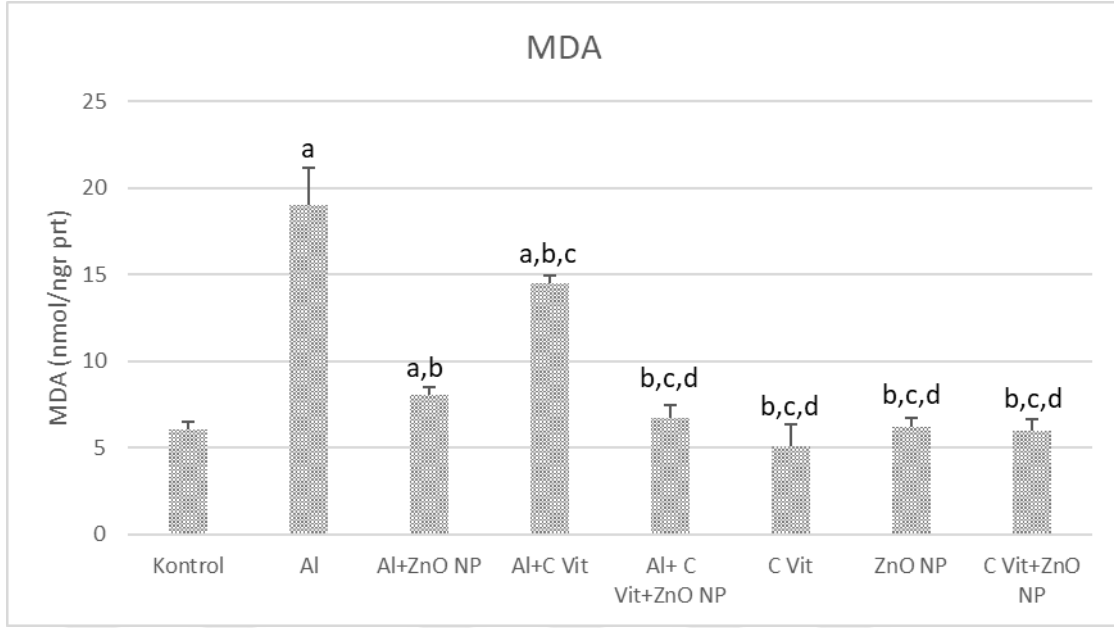
GST analiz sonuçlarına göre, Al grubu, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yaklaşık dört kat azalmıştır. Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP gruplarındaki GST düzeyi, kontrol grubuna göre sırasıyla yaklaşık %65, %71, %52 oranında azalmıştır. Al grubuna göre Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP gruplarındaki GST düzeyi ise sırasıyla yaklaşık %32, %8, %80 oranında artmıştır. Al+ZnO NP ile Al+CVit grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP grupları ile kontrol grubu arasında da anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. GST enzim aktivitesi sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+C vit grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). e) Al+CVit+ZnO NP grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: 24,15 ± 1,14; Al: 6,42 ± 0,09; Al+ZnONP: 8,45 ± 0,78; Al+CVit: 6,93 ± 0,41 Al+CVit+ZnONP: 11,54 ± 0,63; CVit: 24,04 ± 1,13; ZnONP: 23,98 ± 1,64; CVit+ZnONP: 24,22 ± 0,23

3.1.5. Malondialdehit (MDA) tayini (nmol/ngr prt)

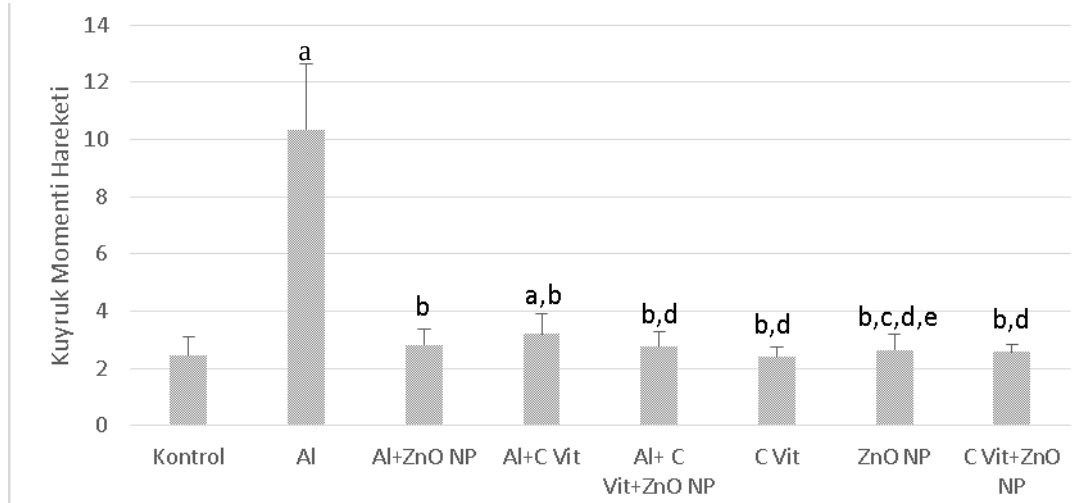
MDA ölçüm sonuçlarına göre, Al grubunda kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 3 kat daha fazla lipid peroksidasyonu oluşmuştur. Elde edilen veriler kontrol grubuyla kıyaslandığında, MDA aktivitesinde Al+ZnO NP, Al+CVit gruplarında anlamlı bir artış olduğu görülmektedir. Aynı zamanda Al+ZnO NP, Al+CVit gruplarındaki MDA ölçüm sonucu, Al grubu ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde azalmıştır (sırasıyla ~%58, ~%24). Al+CVit+ZnO NP grubunda ise MDA düzeyi kontrol grubu ile neredeyse aynı seviyededir ve Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında ise kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. MDA bulgu sonuçları sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+CVit grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: $6,07 \pm 0,43$; Al: $19,05 \pm 2,09$; Al+ZnONP: $8,07 \pm 0,43$; Al+CVit: $14,48 \pm 0,48$ Al+CVit+ZnONP: $6,70 \pm 0,73$; CVit: $5,07 \pm 1,30$; ZnONP: $6,22 \pm 0,47$; CVit+ZnONP: $5,98 \pm 0,65$

3.2. Tek Hücre Jel Elektrofrez (SCGE) / Comet Assay Yöntemi

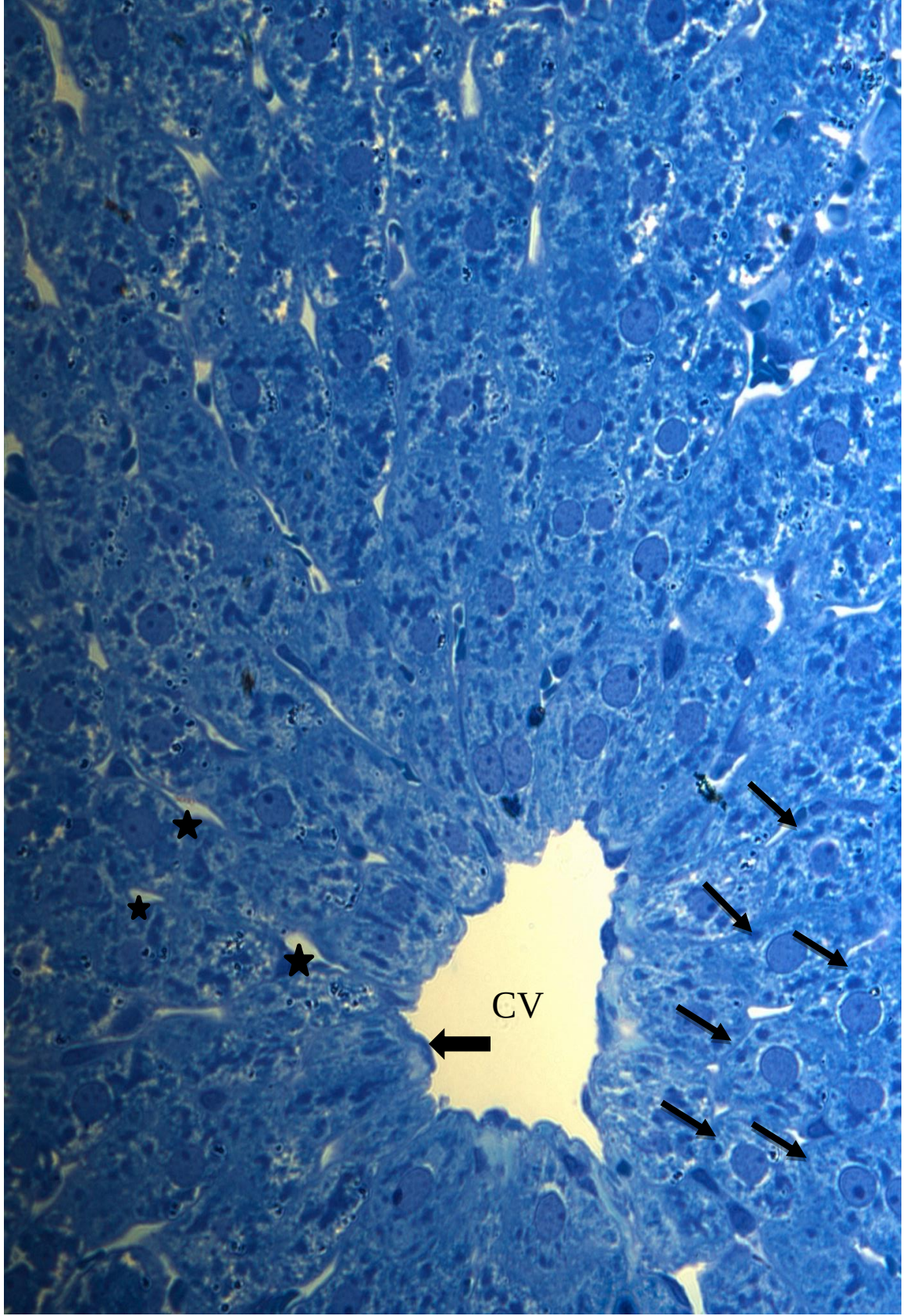
Comet Assay bulgu sonuçlarına göre, Al grubundaki DNA hasarı, kontrol grubundaki DNA hasarıyla kıyaslandığında yaklaşık olarak 4 kat oranla anlamlı bir artış gösterdiği görülmektedir. Al grubuna göre Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP gruplarındaki DNA hasarı düzeyi sırasıyla yaklaşık %73, %69, %73 oranında azalmıştır. Bu gruplar arasında yalnızca Al+CVit grubundaki DNA hasarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir. Al+ZnO NP ile Al+CVit grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Al+ZnO NP, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Şekil 3.6.).



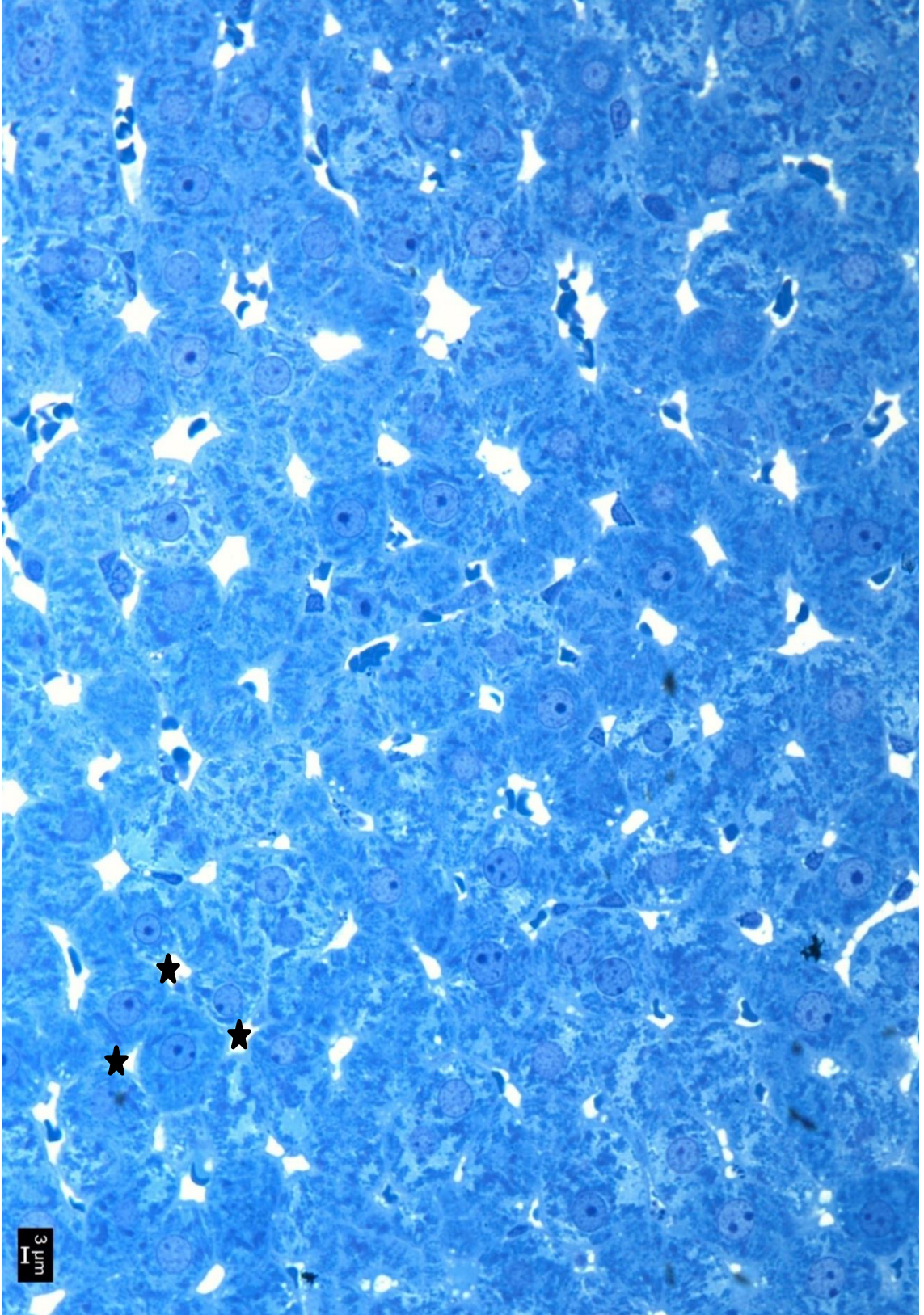
Şekil 3.6. Comet Assay sonuçları sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+CVit grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$), e) Al+CVit+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: $2,42 \pm 0,66$; Al: $10,35 \pm 2,30$; Al+ZnONP: $2,82 \pm 0,57$; Al+CVit: $3,20 \pm 0,69$; Al+CVit+ZnONP: $2,76 \pm 0,50$; CVit: $2,39 \pm 0,34$; ZnONP: $2,64 \pm 0,53$; CVit + ZnONP: $2,58 \pm 0,24$

3.3. Histopatolojik İncelemeler Sonucunda Elde Edilen Bulgular

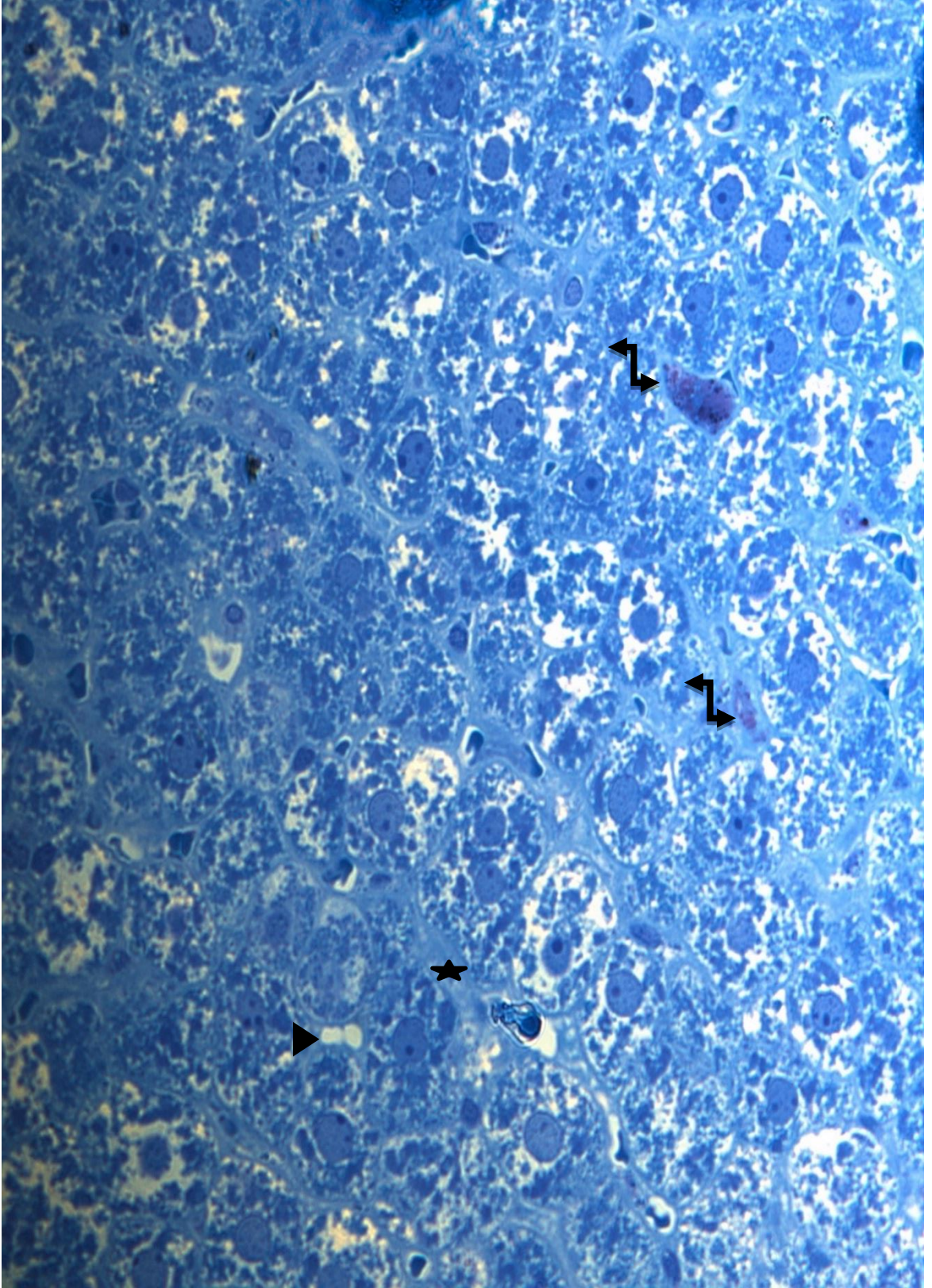
Kontrol grubu, karaciğerin histolojik kesitlerinde normal histolojik yapı ve normal karaciğer hücreleri görülmektedir (Görsel 3.1 ve Şekil 3.2). Al uygulanan karaciğer doku kesitlerinde, apoptotik hepatositler, inflamatuvar hücrelerin varlığı ve lipid birikimleri ile steatozun eşlik ettiği hasarlı hepatositler, portal venül epitelyal hücre düzensizlikleri, hücre içerisinde boşluklar ve hasarlı, tıkalı sinuzoidler görülmüştür (Görsel 3.3.-3.4.-3.5-3.6.). Al+ZnO NP grubunda ise Al grubuna göre, sinuzoidal kanallar daha iyi görünümlü, hepatositler daha düzgün sınırlı, santral ven daha iyi görülmüştür. Ancak hafif mikroveziküler yağ değişiklikleri ve apoptotik görünümlü hücreler daha az sayıdadır (Görsel 3.7.-3.8.-3.9.). Al+CVit grubu görüntülerinde, bazı hepatositlerin içeriği boşalmış, santral ven'de bozulmuş epitelyal hücreler, lipid damlacıkları bulunmakta ancak apoptotik görünümlü hücreler az sayıdadır, sinuzoidal kanallar yer yer daha açık ve genel olarak Al grubuna kıyasla daha sağlıklı bir görünümündedir (Görsel 3.10.-3.11.-3.12.). Al+CVit+ZnO NP grubu, hücre sınırları daha belirgin olup, nadiren bazı görüntülerde hepatositler düzensiz sıralanmış, sinuzoidal kanallar daha açık olup, apoptotik görünümlü hücreler gözlenmiştir, inflamatuvar hücre infiltrasyonları da gözlenmiş ancak Al, Al+CVit ve Al+ZnO NP gruplarına göre daha sağlıklı görünümündedir (Görsel 3.13.-3.14.-3.15.). C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında ise kesitler, karaciğer dokusunun normal yapısı görülmekte olup, herhangi bir anormallik tespit edilmemiştir (Görsel 3.16.-3.17.-3.18.).



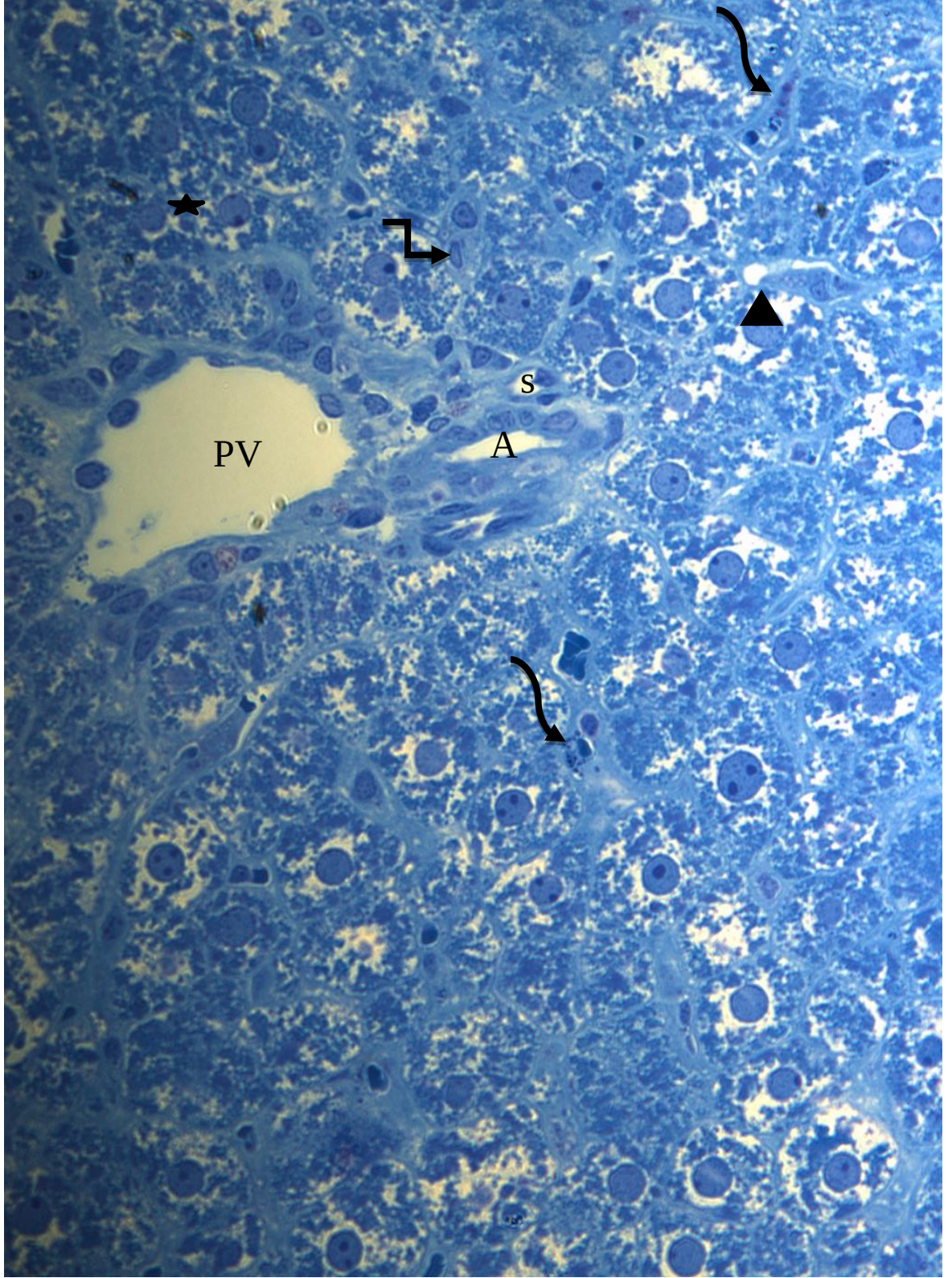
Görsel 3.1. Kontrol Grubu histolojisi: normal sıralı düzgün hepatositler (ince ok), santral ven (CV), epitelyal hücreler (kalın ok), sinuzoidal boşluklar (yıldız) ile normal karaciğer dokusu yapısı görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



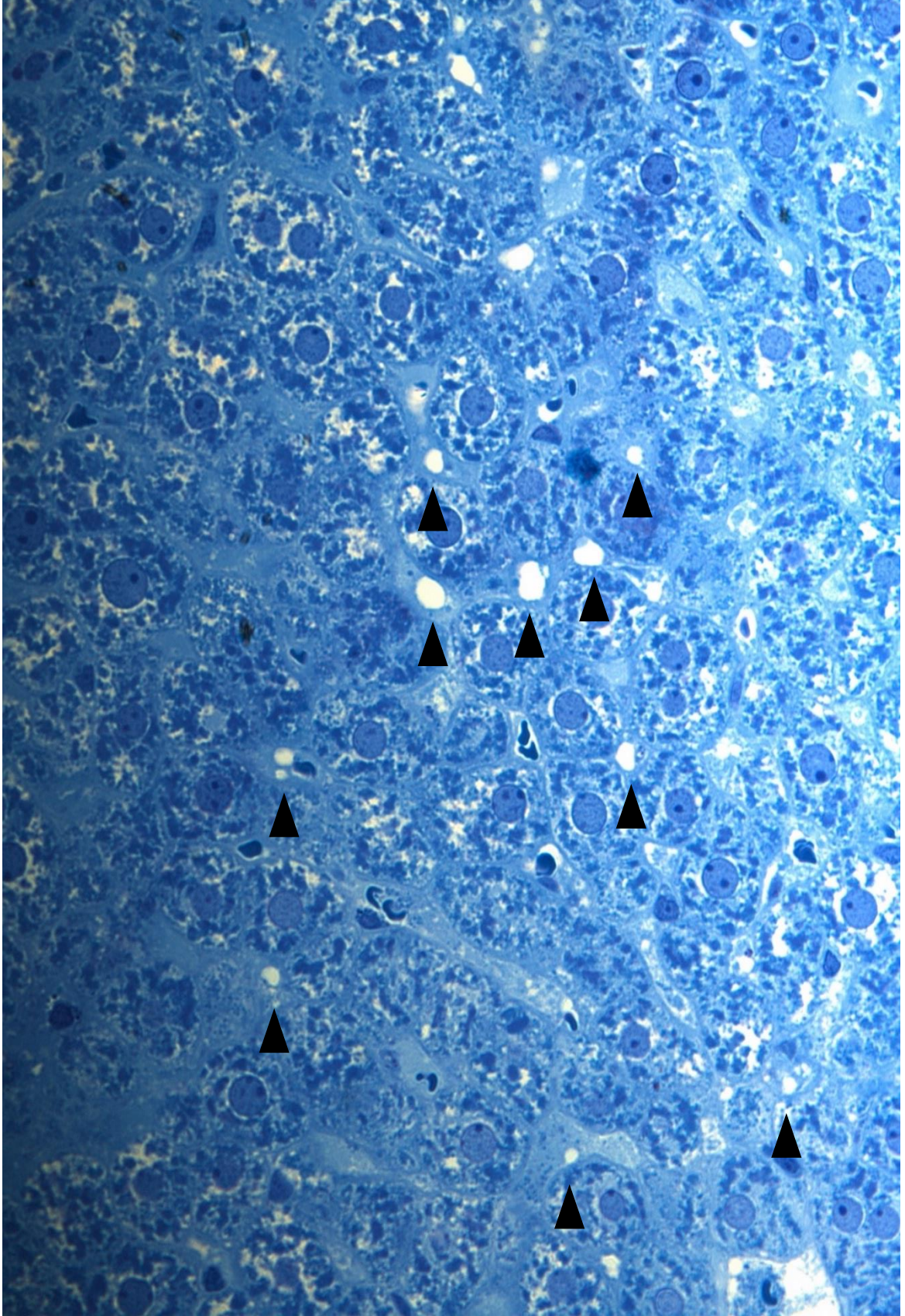
Görsel 3.2. Kontrol Grubu histolojisi: Normal sıralı hepatositler, sinuzoidal boşluklar (yıldız), normal karaciğer doku yapısı görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



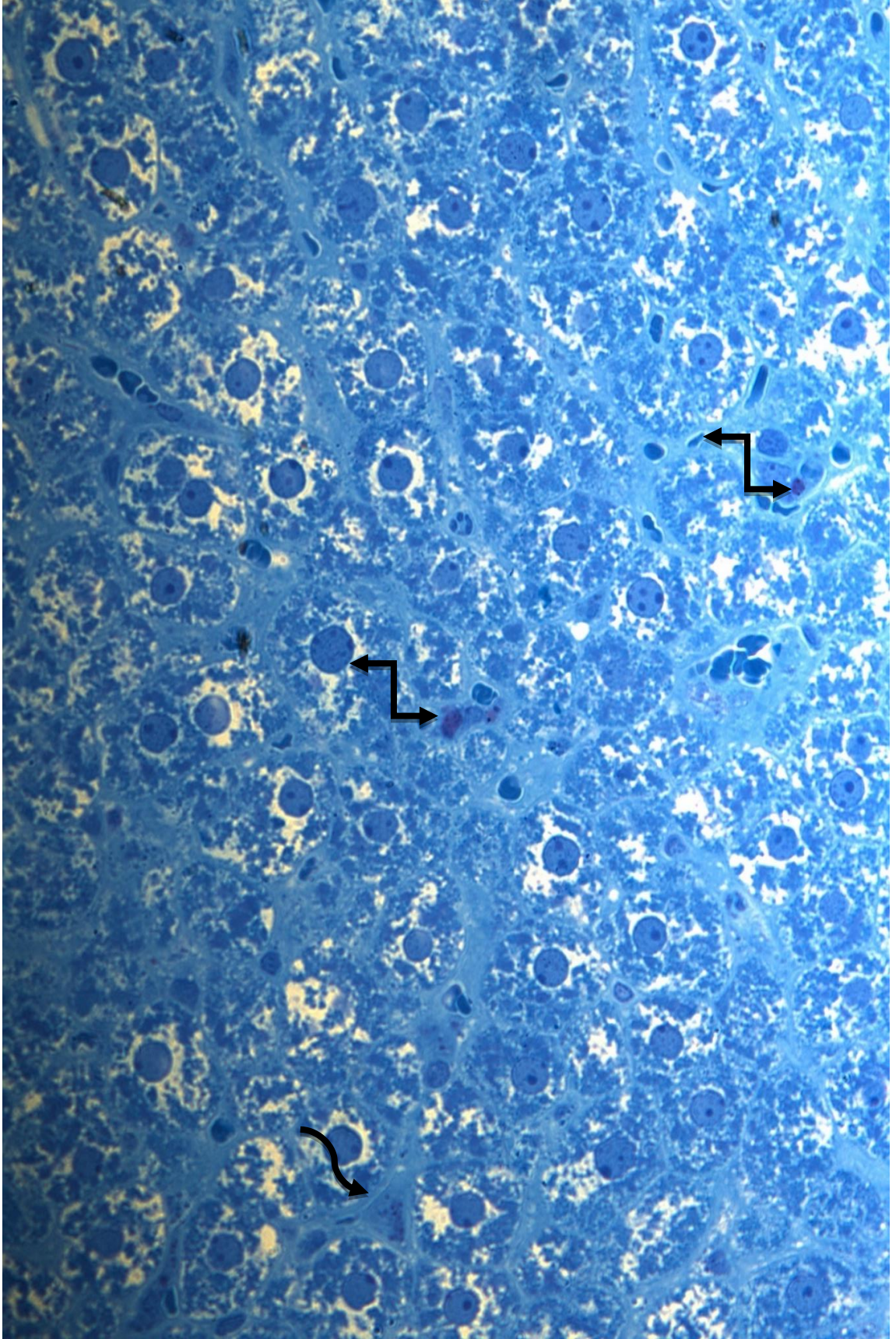
Görsel 3.3. Al Grubu histolojisi: Sinuzoidal boşluk kaybı (yıldız), apoptotik hepatositler (Z ok), lipit damlacıkları (üçgen) görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



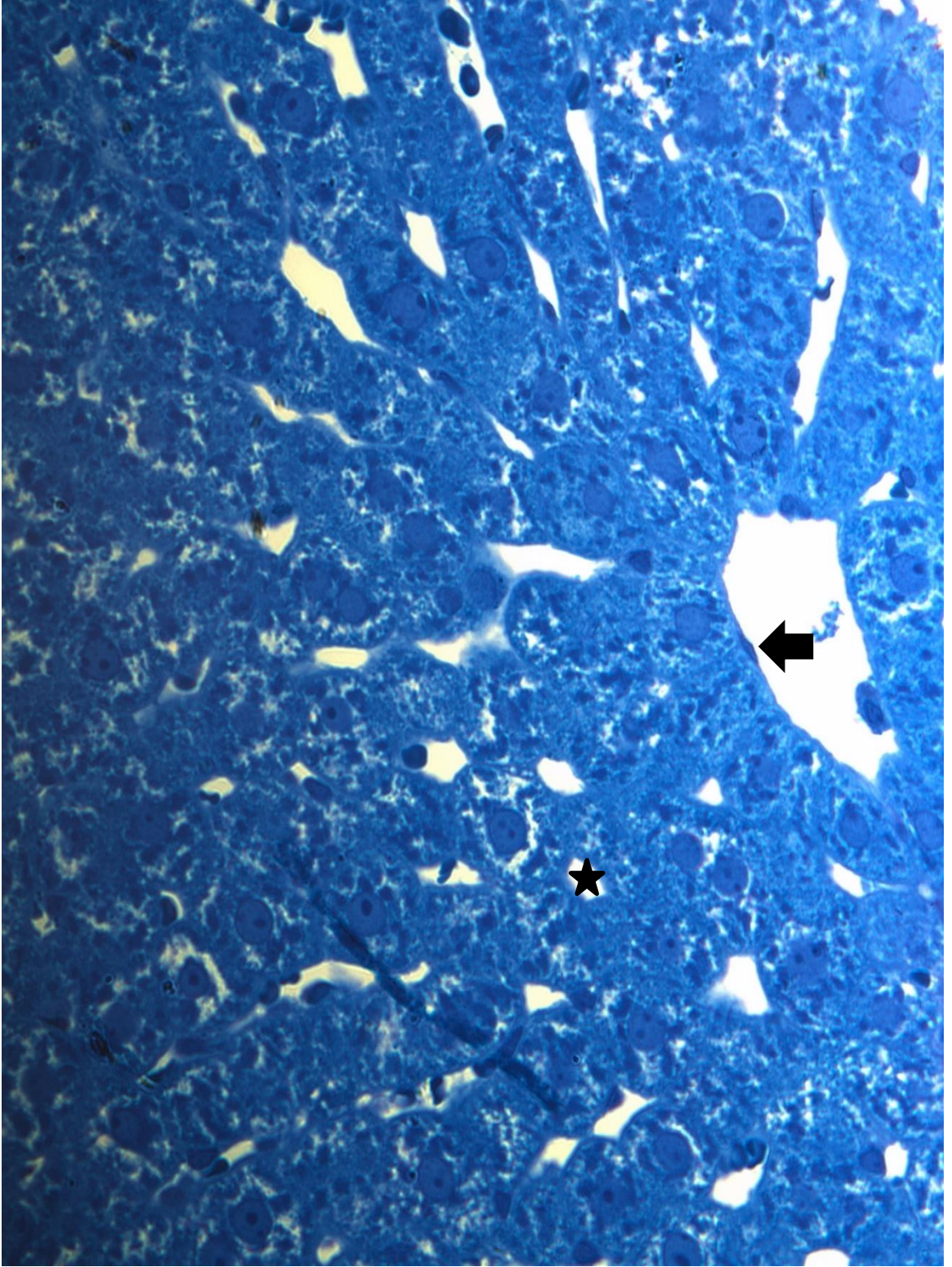
Görsel 3.4. Al Grubu histolojisi: Portal ven (PV), arter (A) ve safra kanalı (s) daralmış, portal alan etrafı sinuzoidal kanallar deforme (yıldız), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (S ok), lipit damlacığı (üçgen), apoptoza giden hücre (Z ok), deforme eritrositlere rastlanmaktadır (Toluidin mavisi, X63).



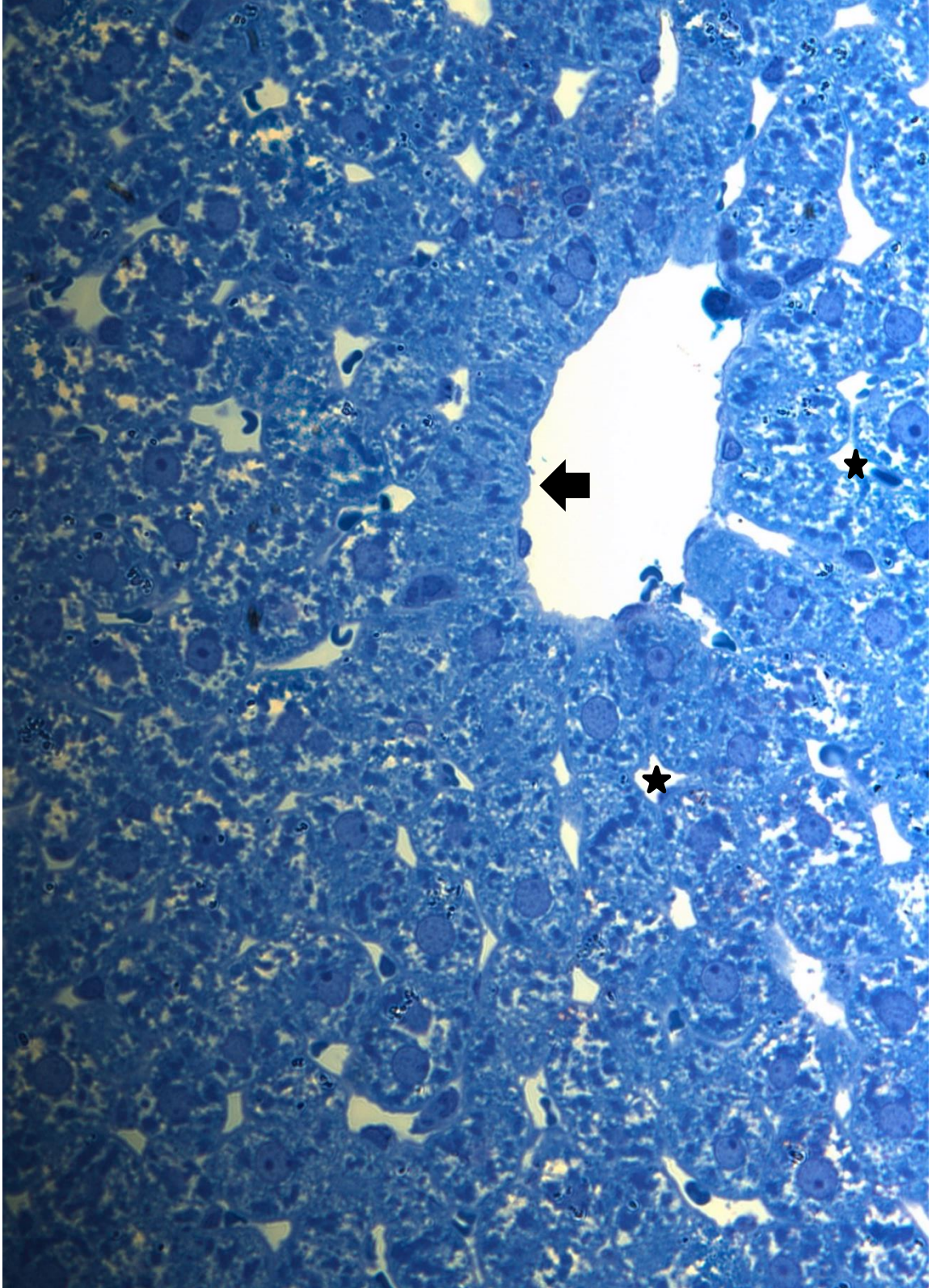
Görsel 3.5. Al Grubu histolojisi: *Steatoz (üçgen) yapısı* görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



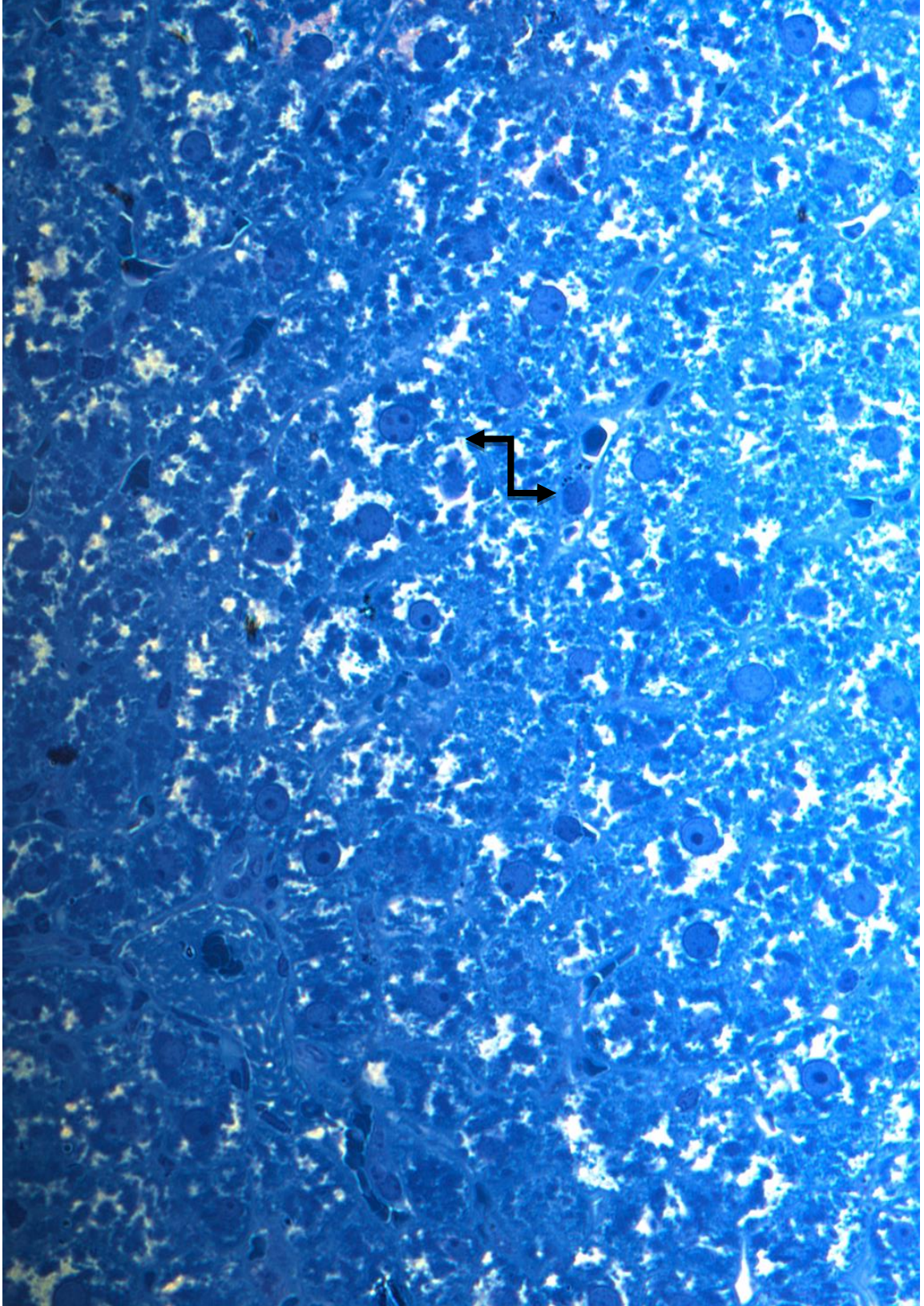
Görsel 3.6. Al Grubu histolojisi: Apoptotik olaylar sonucu oluşan asidofilik cisimcikler (Z ok), inflamatuvar hücre infiltrasyonları (S ok) görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



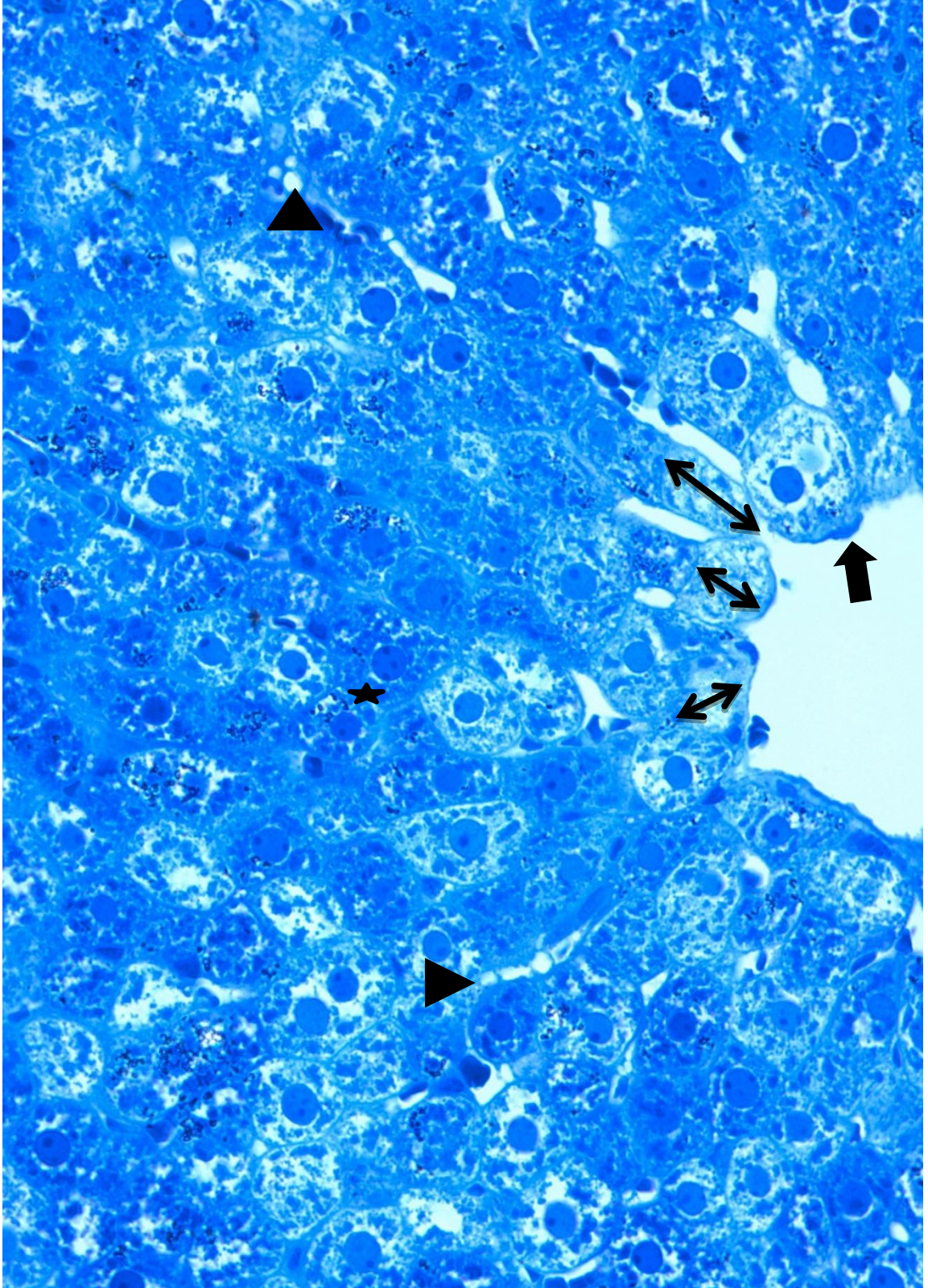
Görsel 3.7. *Al+ZnO Grubu histolojisi: Al grubu'na göre sinuzoidal boşluklar daha iyi (yıldız), epitelyal hücreler sağlıklı yapıda (kalın ok) (Toluidin mavisi, X100).*



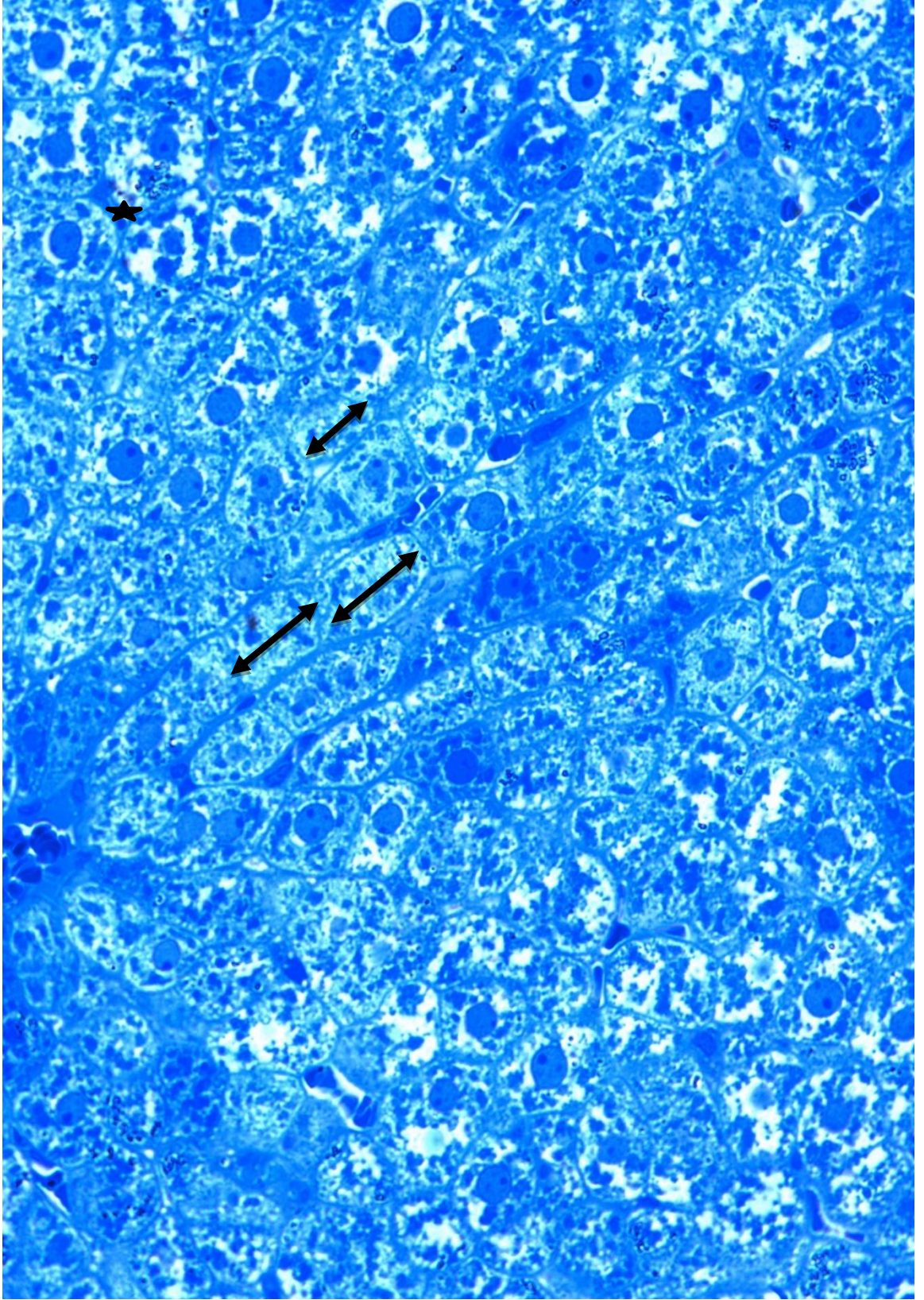
Görsel 3.8. Al+ZnO Grubu histolojisi: Epitelyal hücreler ve sağlıklı santral ven yapısı (kalın ok), sağlıklı sinuzoidal boşluklar (yıldız) görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



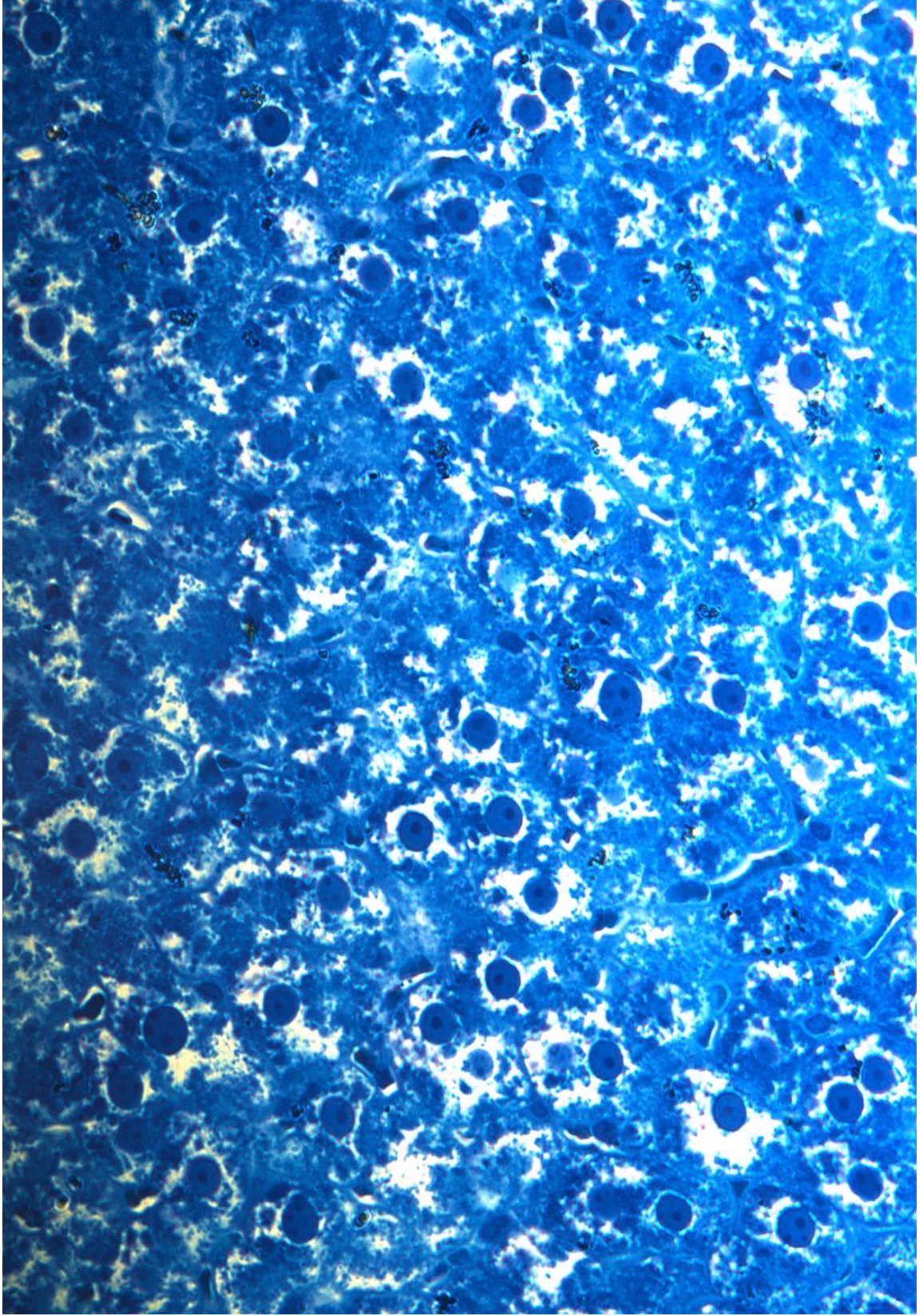
Görsel 3.9. Al+ZnO Grubu histolojisi: Apoptotik olay (Z ok) ve sinuzoidal kanalların tıkalı yapısı görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



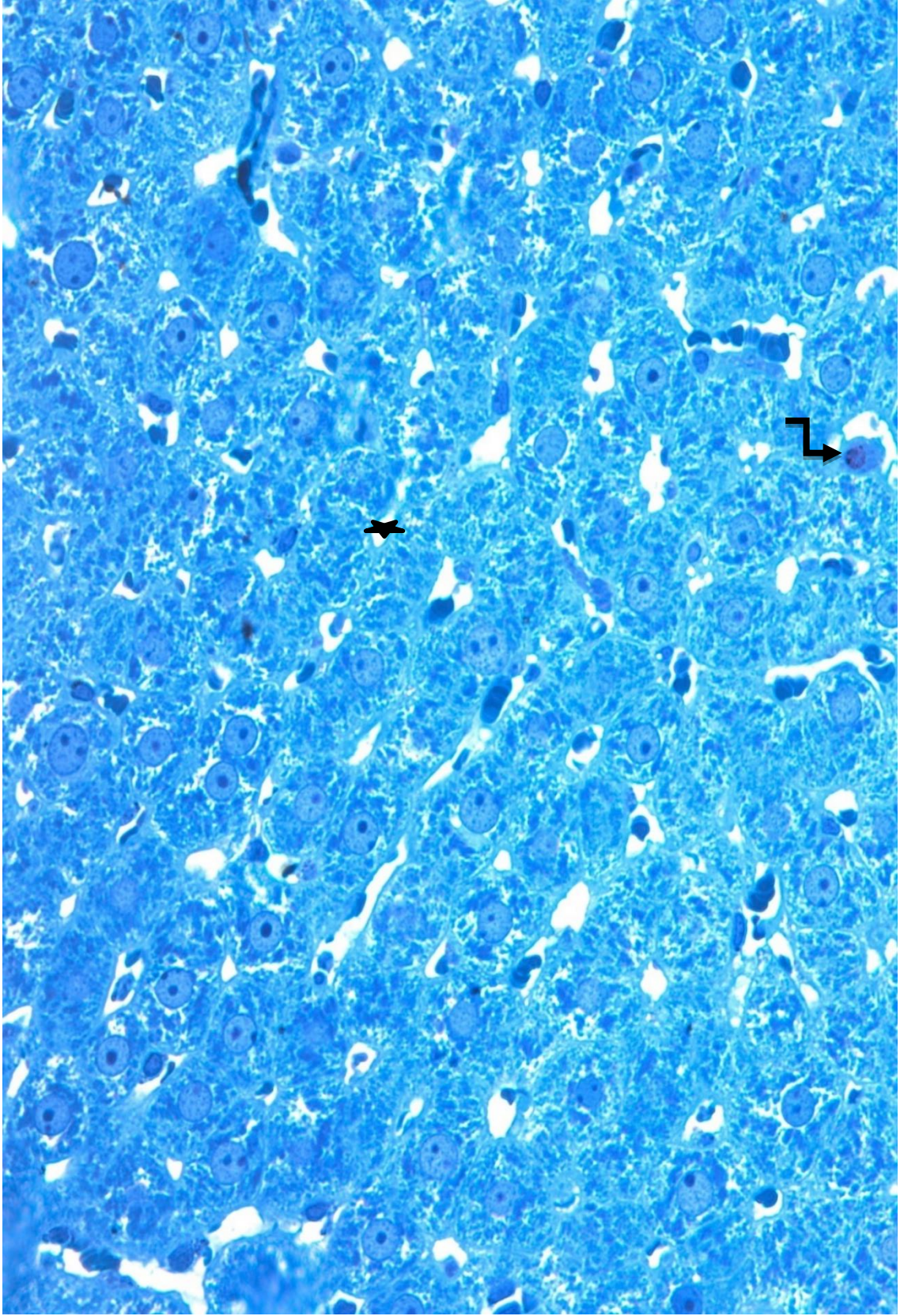
Görsel 3.10. Al+CVit Grubu histolojisi: Santral venin sağlıklı olmayan yapısı ve epitelial hücrelerdeki parçalanmalar (kalın ok), hücre içeriklerinde boşluklar (iki yönlü ok), sinuzoidal boşluk kayıpları (yıldız) ve yağ damlacıkları (üçgen) görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).



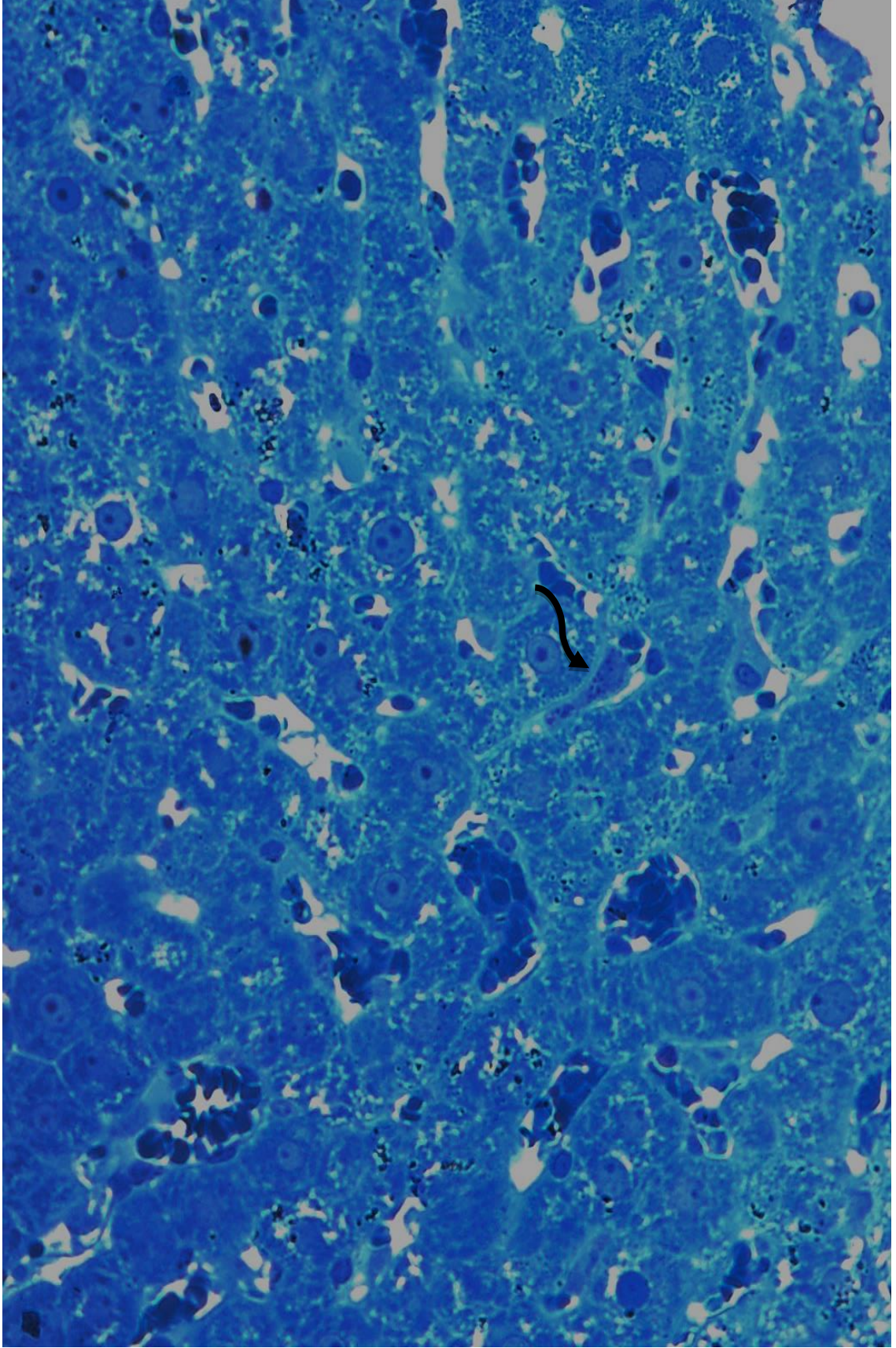
Görsel 3.11. *Al+CVit Grubu histolojisi: Tıkalı sinüzoidal yapılar (yıldız) ve birçok hücrenin içeriği boş (iki yönlü ok) olarak görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).*



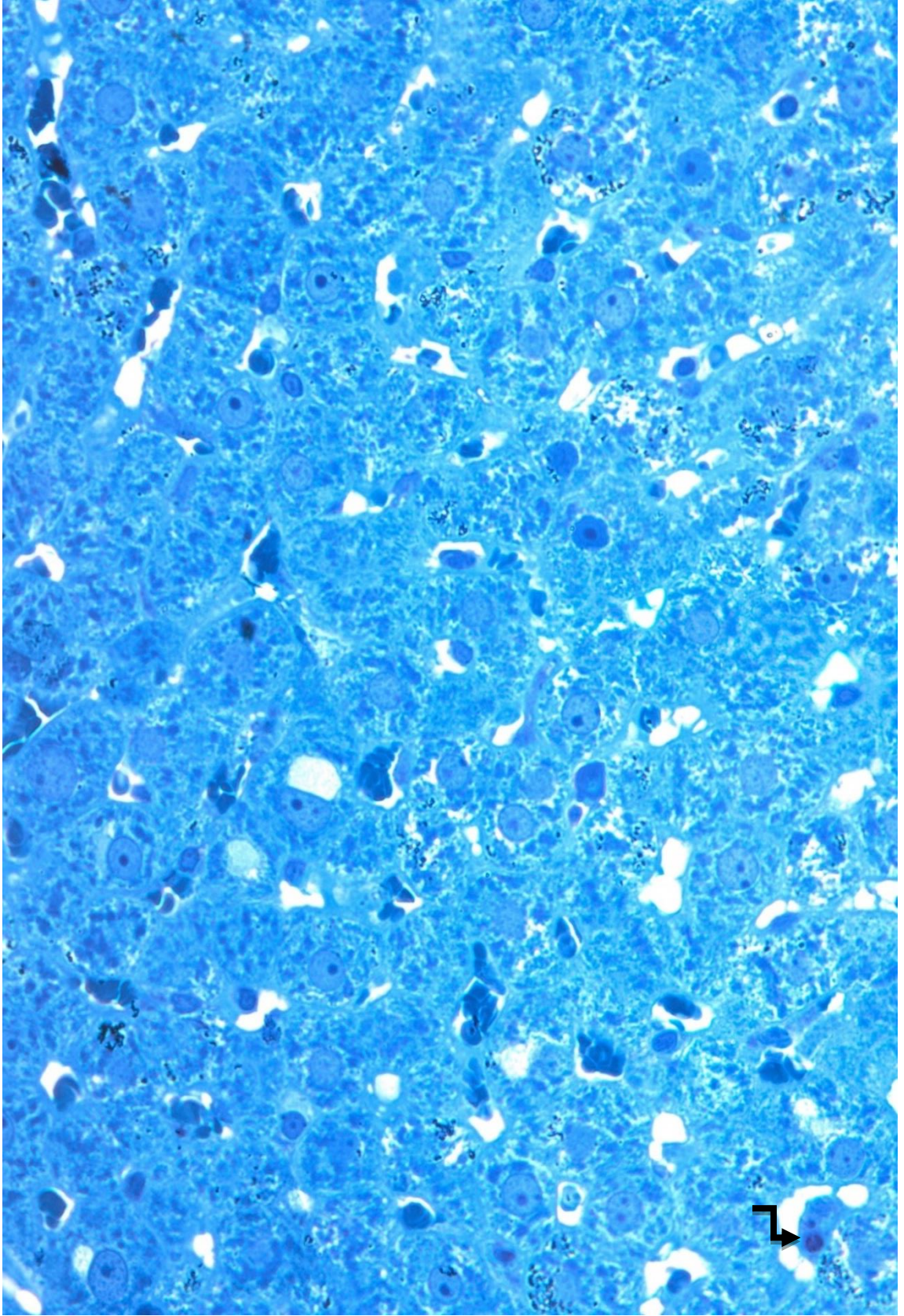
Görsel 3.12. *Al+CVit Grubu histolojisi: Hücre içi boşuklar ve düzensizlikler ile hepatosit ve sinuzoidal kanalların kaybı görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).*



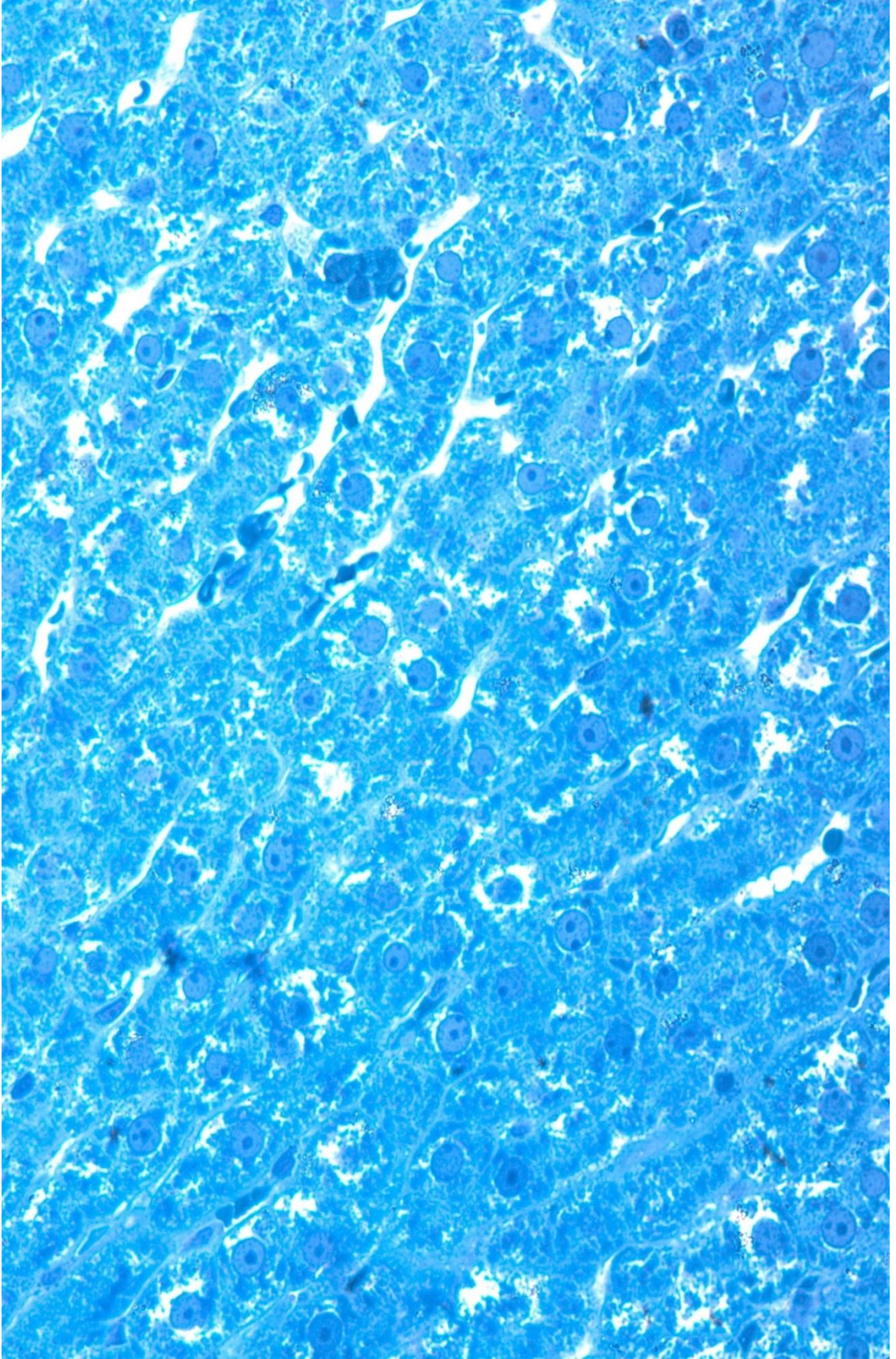
Görsel 3.13. *Al+CVit+ZnO NP Grubu histolojisi: Apoptotik olay (Z ok), sinuzoidal kanallar (yıldız) sağlıklı yapıda görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).*



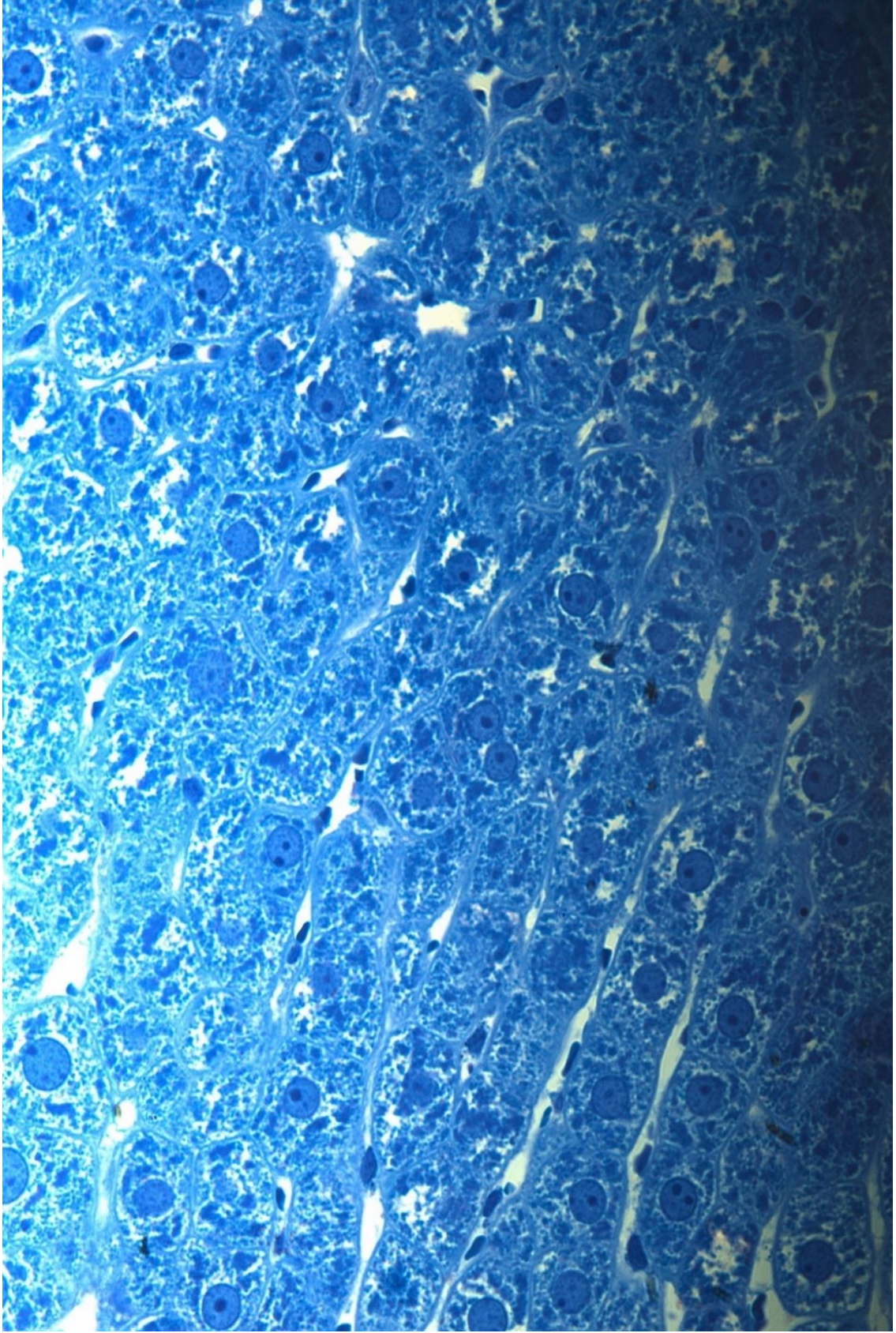
Görsel 3.14. *Al+CVit+ZnO NP Grubu histolojisi: inflamatuvar hücre infiltrasyonu (S ok), (Toluidin mavisi, X63).*



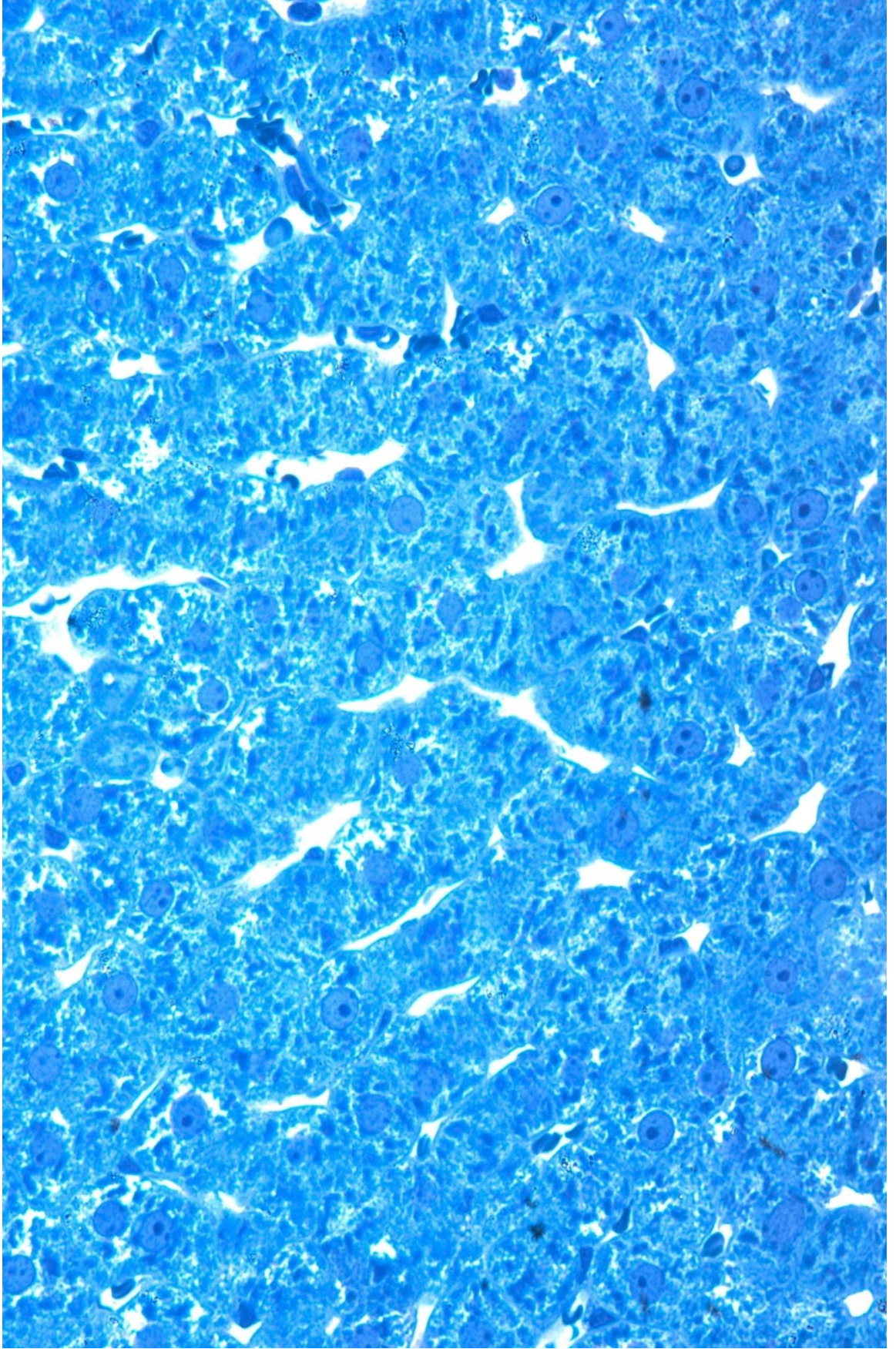
Görsel 3.15. *Al+CVit+ZnO NP Grubu histolojisi: Apoptotik olay (Z ok) görülmektedir (Toluidin mavisi, X63).*



Görsel 3.16. *C Vit Grubu histolojisi (Toluidin mavisi, X63)*



Görsel 3.17. ZnO NP Grubu histolojisi (Toluidin mavisi, X63)

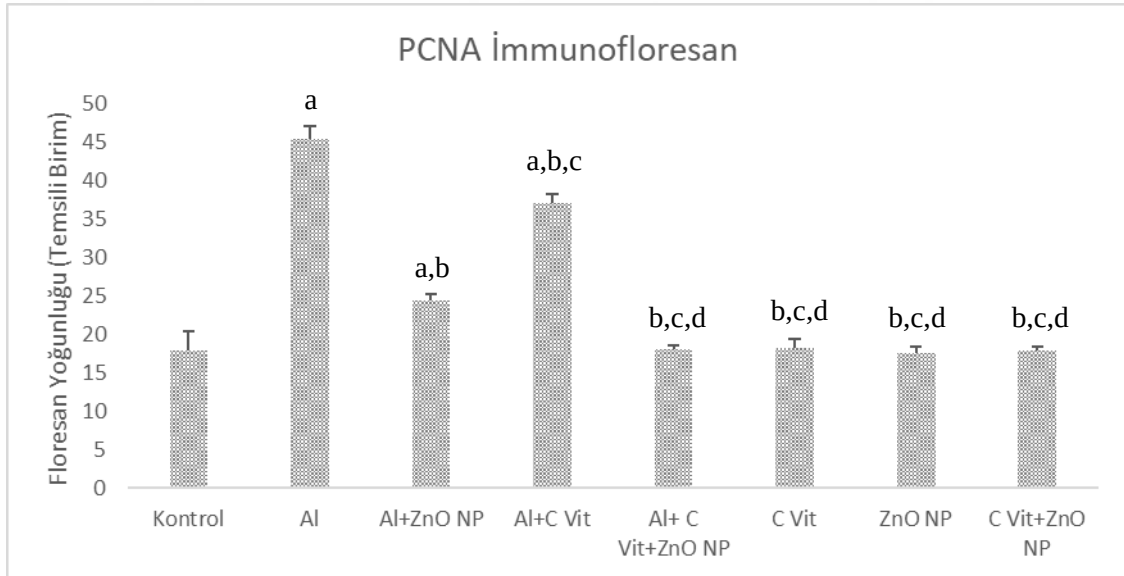


Görsel 3.18. *C Vit+ZnO NP Grubu histolojisi (Toluidin mavisi, X63).*

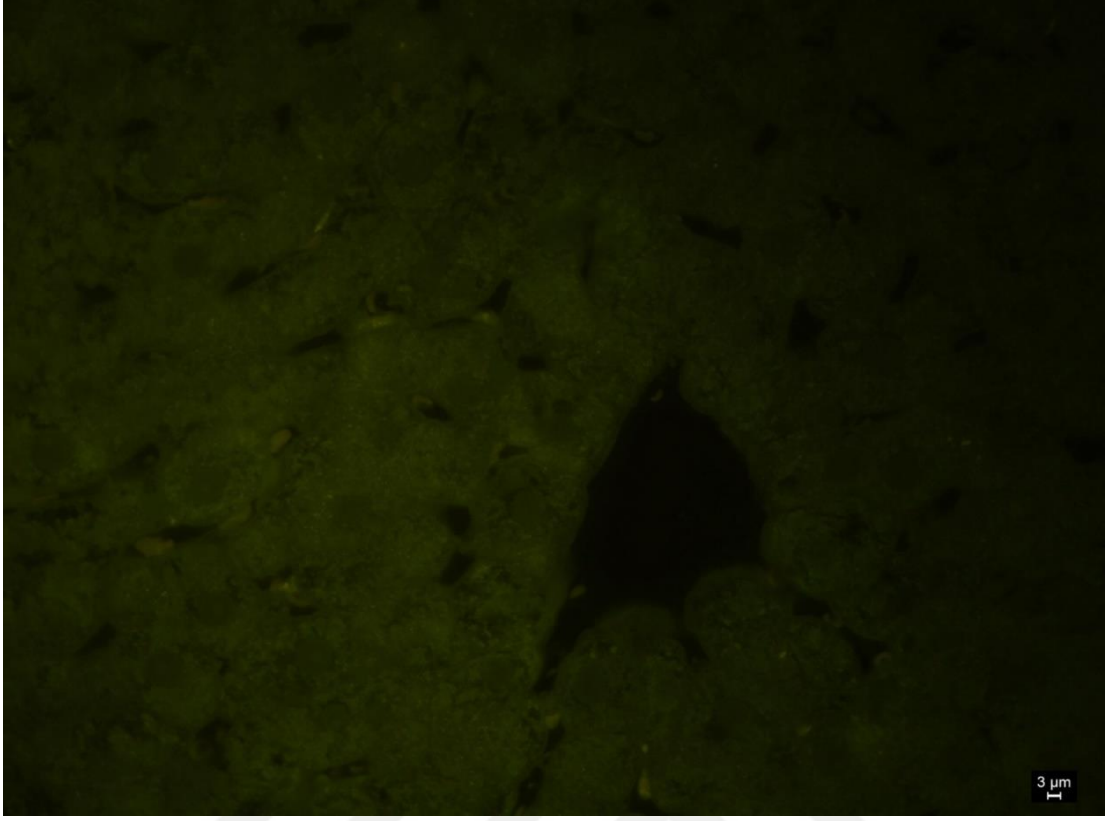
3.4. İmmunofloresan İşaretleme

3.4.1. PCNA immünofloresan değerlendirmesi

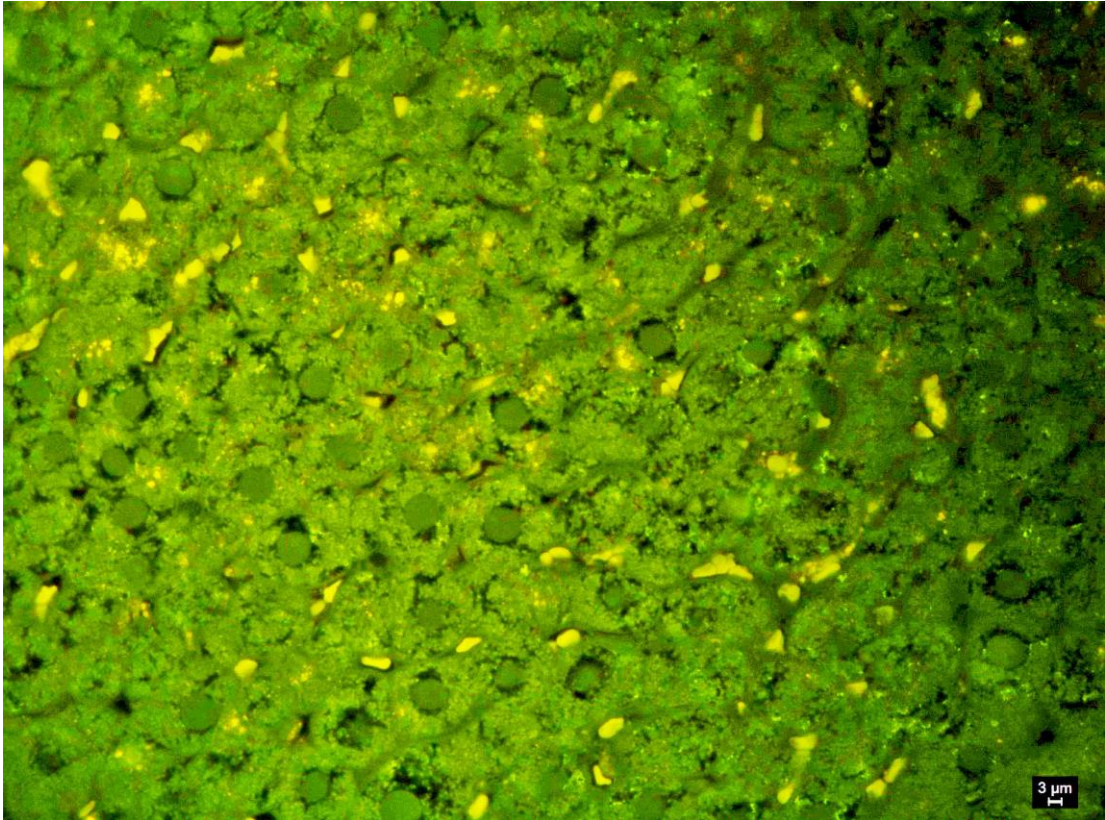
PCNA immünofloresan işaretleme sonucunda, kontrol grubuna göre Al, Al+ZnO NP, Al+CVit gruplarında grafikte olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı seviyede artış gözlenmiştir. Al, Al+ZnO NP, Al+CVit gruplarında PCNA sinyali ağırlıklı olarak kupffer hücrelerinde gözlenmekte olup, Al grubuna göre anlamlı olarak sırasıyla yaklaşık %46, %18 düzeyinde daha düşük seviyededir. Kontrol, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında ise ışıma oranının düşük olduğu ve Al gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (Şekil 3.7.).



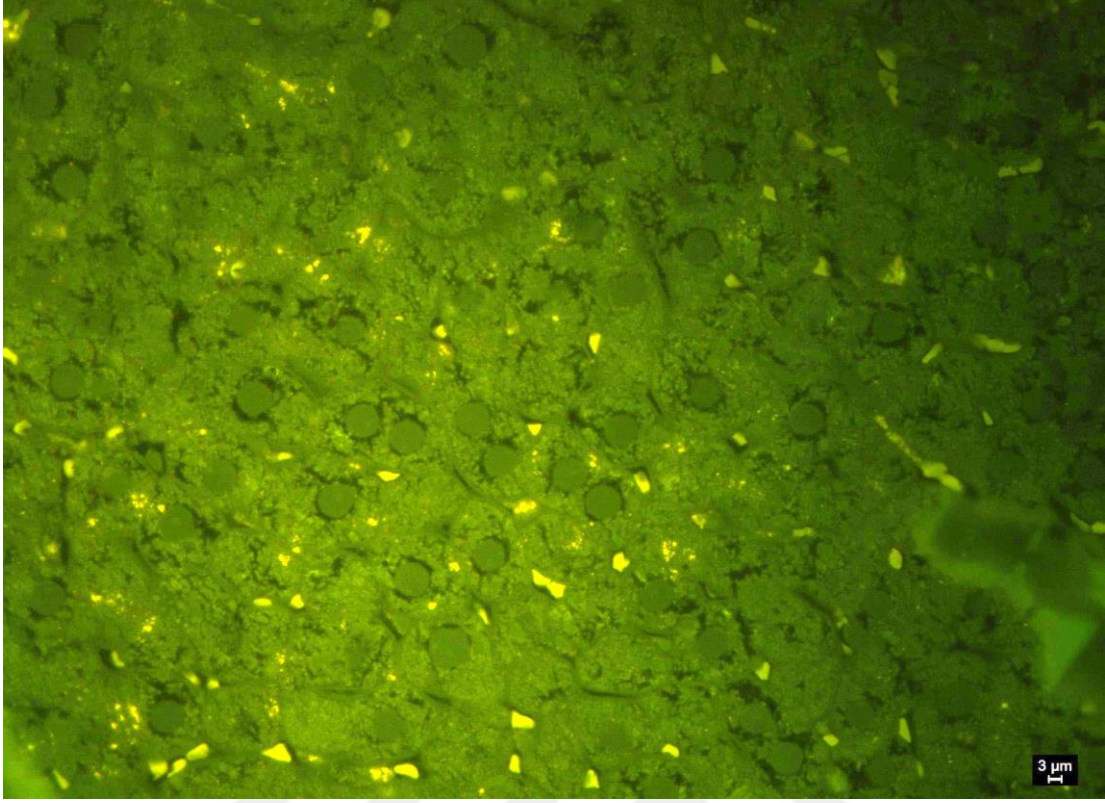
Şekil 3.7. PCNA sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+CVit grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: $17,86 \pm 2,45$; Al: $45,43 \pm 1,63$; Al+ZnONP: $24,42 \pm 0,78$; Al+CVit: $37,11 \pm 1,10$ Al+CVit+ZnONP: $18,03 \pm 0,55$; CVit: $18,22 \pm 1,09$; ZnONP: $17,52 \pm 0,87$; CVit+ZnONP: $17,84 \pm 0,48$



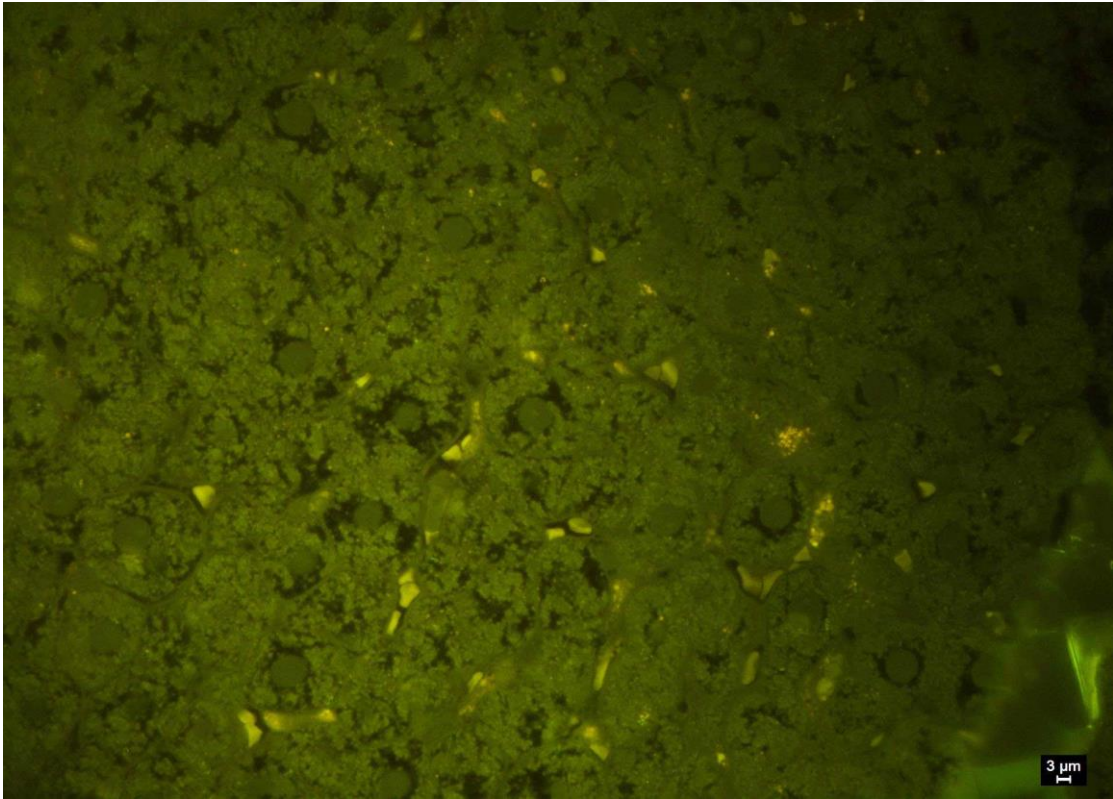
Görsel 3.19. *PCNA immunofloresan işaretleme: Kontrol grubu*



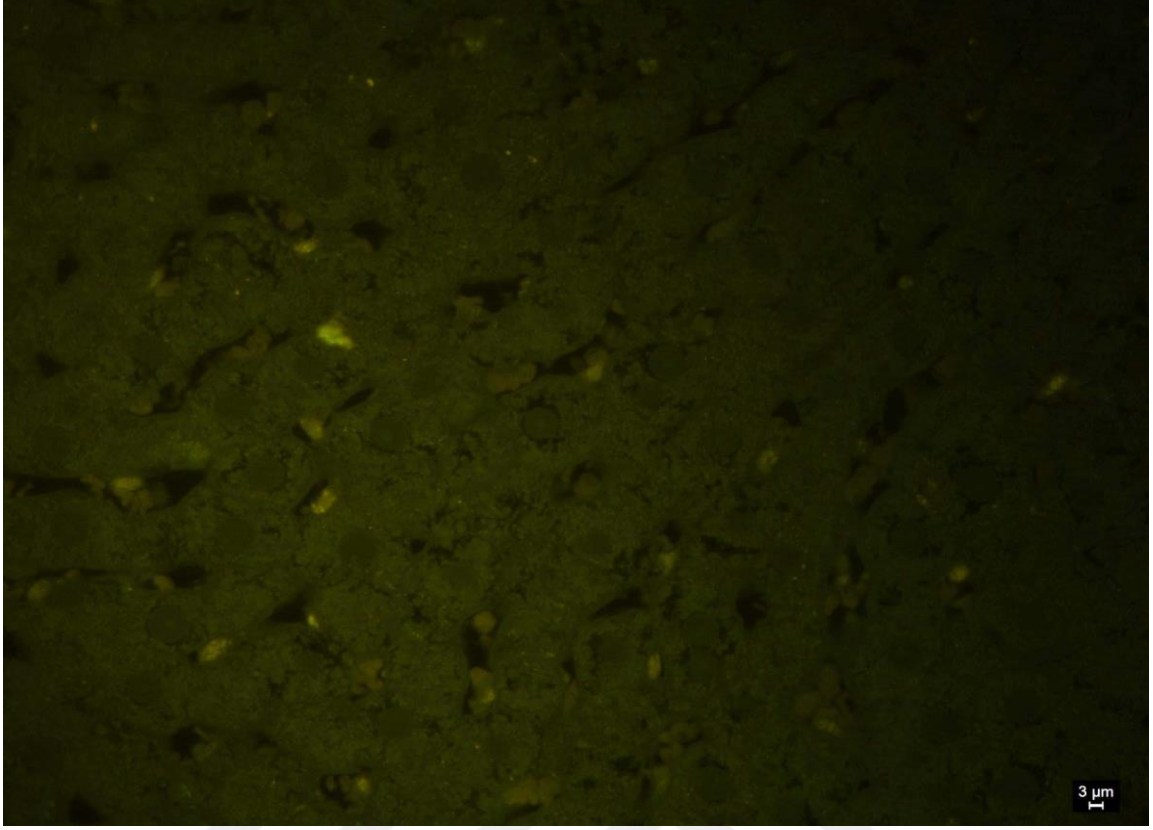
Görsel 3.20. *PCNA immunofloresan işaretleme: Al grubu*



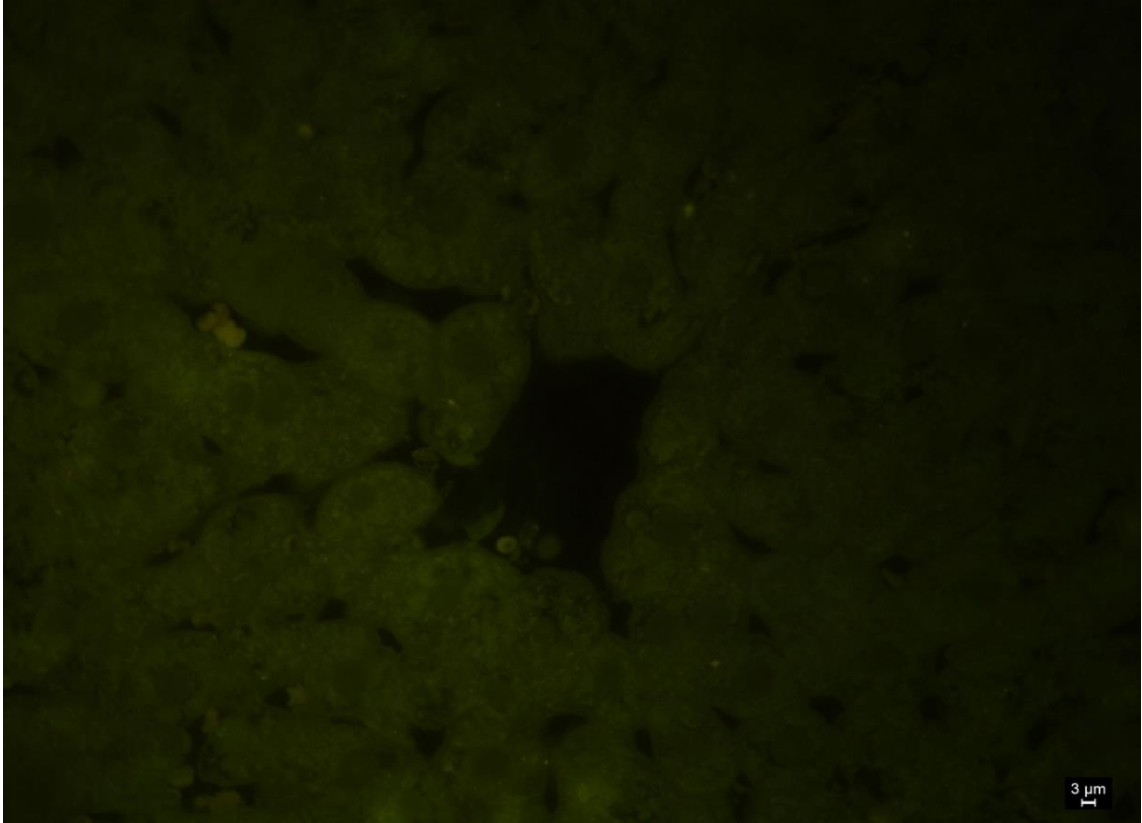
Görsel 3.21. *PCNA immunofloresan işaretleme: Al+CVit grubu*



Görsel 3.22. *PCNA immunofloresan işaretleme: Al+ZnONP grubu*



Görsel 3.23. *PCNA immunofloresan işaretleme: Al+CVit+ZnO NP grubu*



Görsel 3.24. *PCNA immunofloresan işaretleme: C Vit grubu*



Görsel 3.25. *PCNA immunofloresan işaretleme: ZnO NP grubu*

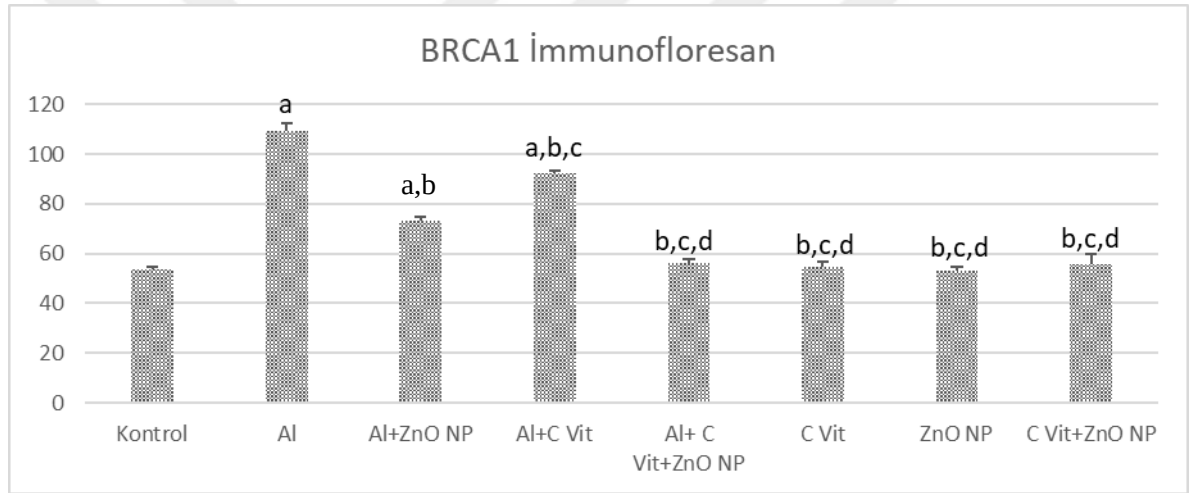


Görsel 3.26. *PCNA immunofloresan işaretleme: CVit+ZnONP grubu*

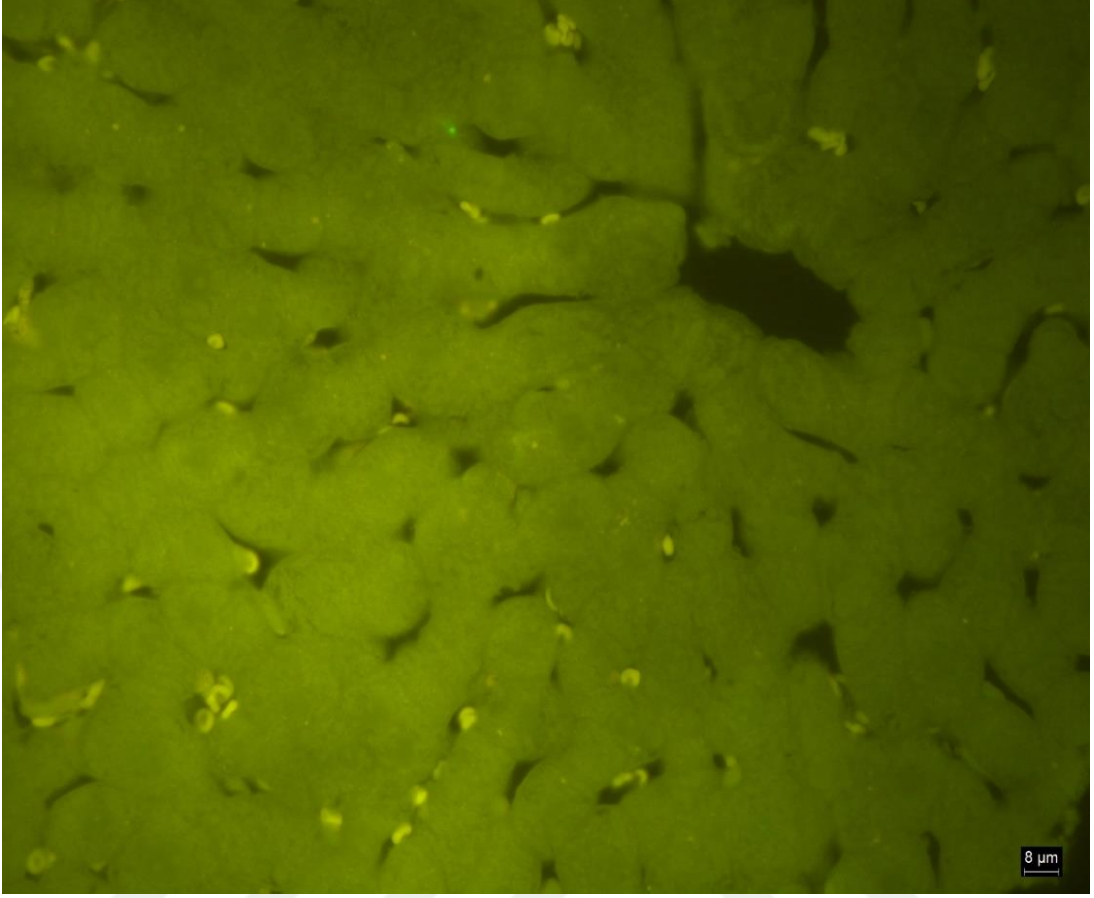
3.4.2. BRCA1 immüno Floresan değ erlendirmesi

Kontrol grubunda BRCA1 nükleer sinyali anlamlı olarak göz lenmemiştir. Kupffer hücrelerinin sitoplazmasında, Al uygulanan hayvan grubundaki doku hasarı nedeniyle floresan yoğunluğun kontrol grubuna göre yaklaşık 2 katın üzerinde arttığı görülmüştür. Al grubunda göre Al+ZnO NP, Al+CVit grubundaki BRCA1 ışıması, anlamlı olarak sırasıyla yaklaşık %33 ve %16 azalış göstermiştir yine Al grubuna göre Al+CVit+ZnO NP grubunda BRCA1 immüno Floresan ışımanın ise yaklaşık olarak %49 azaldığı görülmüştür (Şekil 3.8.).

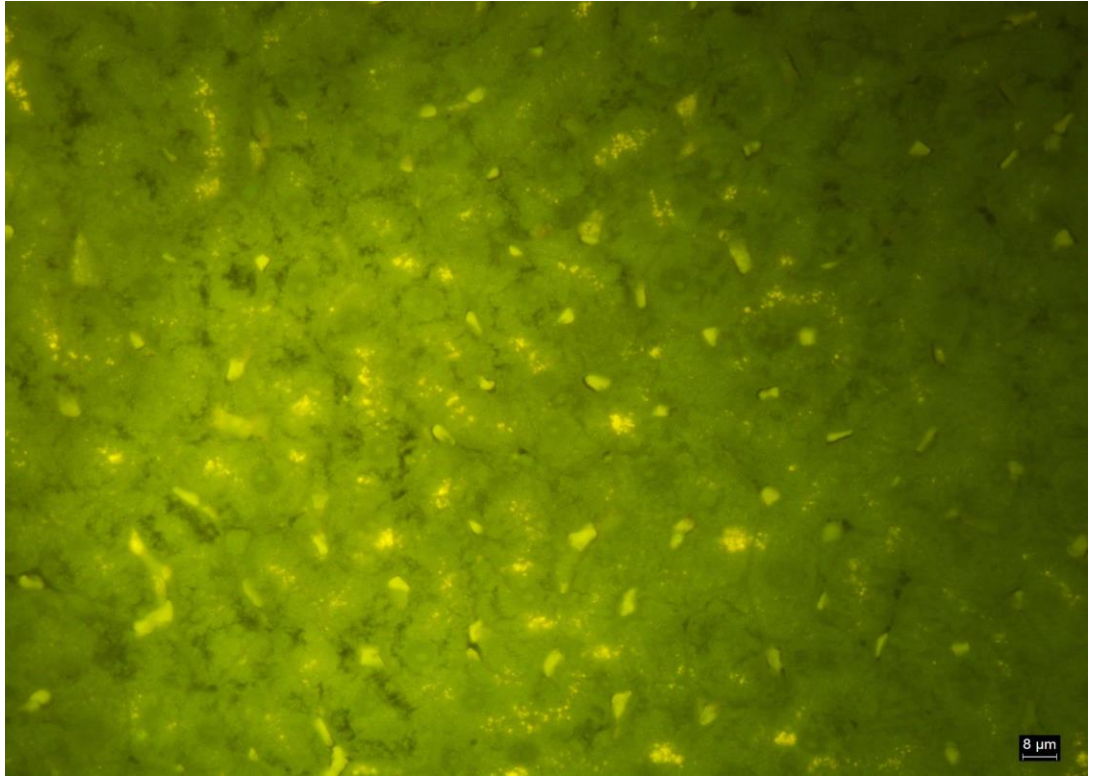
Kontrol, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında ise immüno Floresan ışıma göz lenmemiş olup, bu grupların Al grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.



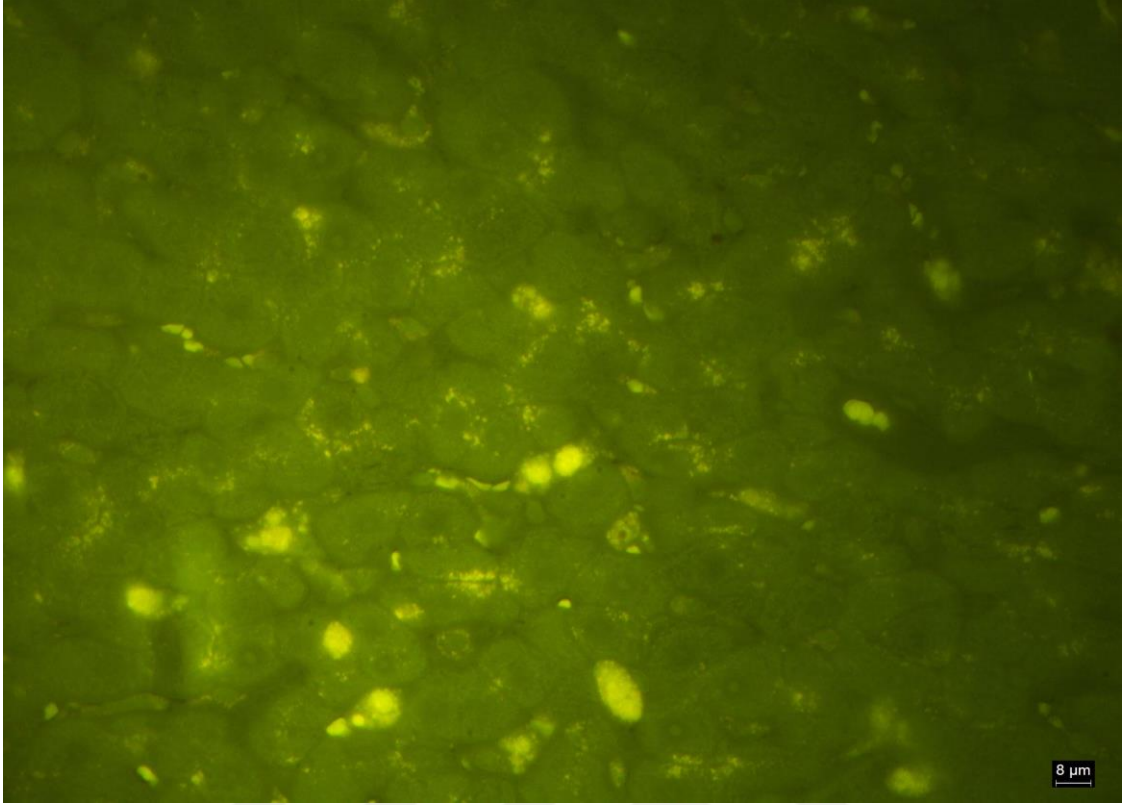
Şekil 3.8. BRCA1 sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+CVit grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: 53,44±21,12; Al: 109,18±3,24; Al+ZnONP: 73,04±1,55; Al+CVit: 92,14±1,42 Al+CVit+ZnONP: 56,04±1,94; CVit: 54,44±1,45; ZnONP: 53,34±2,13; CVit+ZnONP: 55,62±4,00



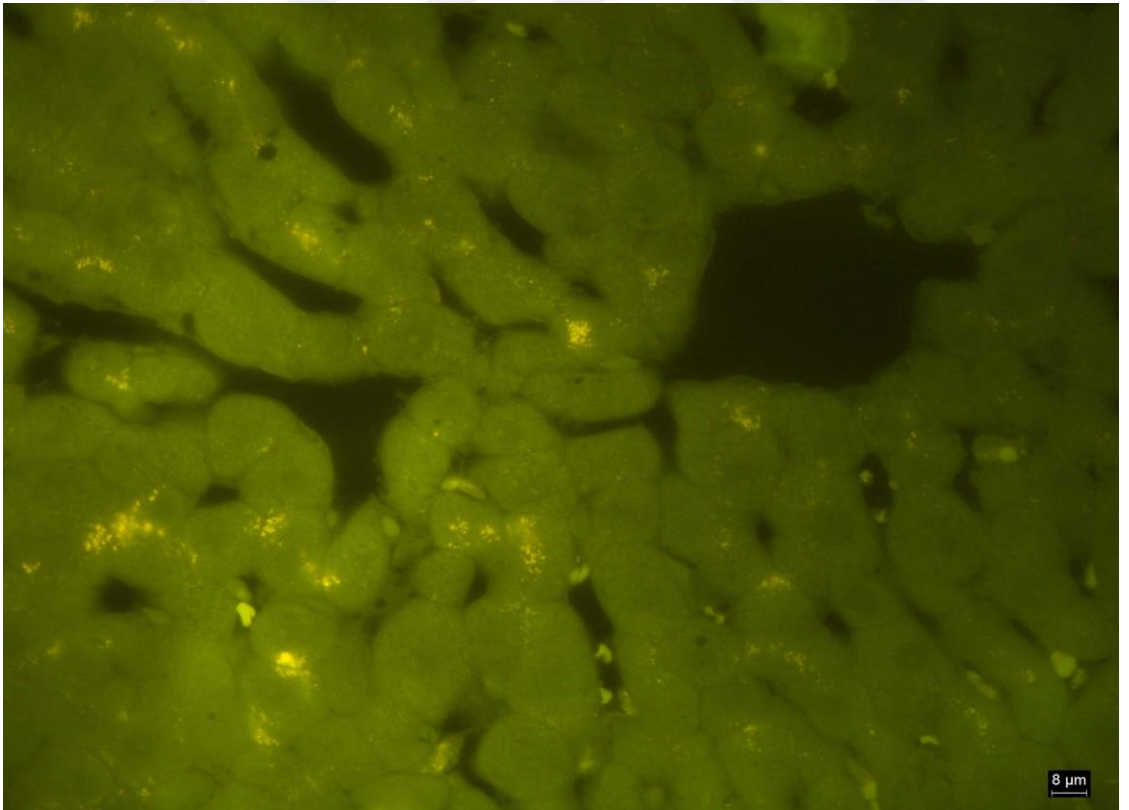
Görsel 3.27. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: Kontrol grubu



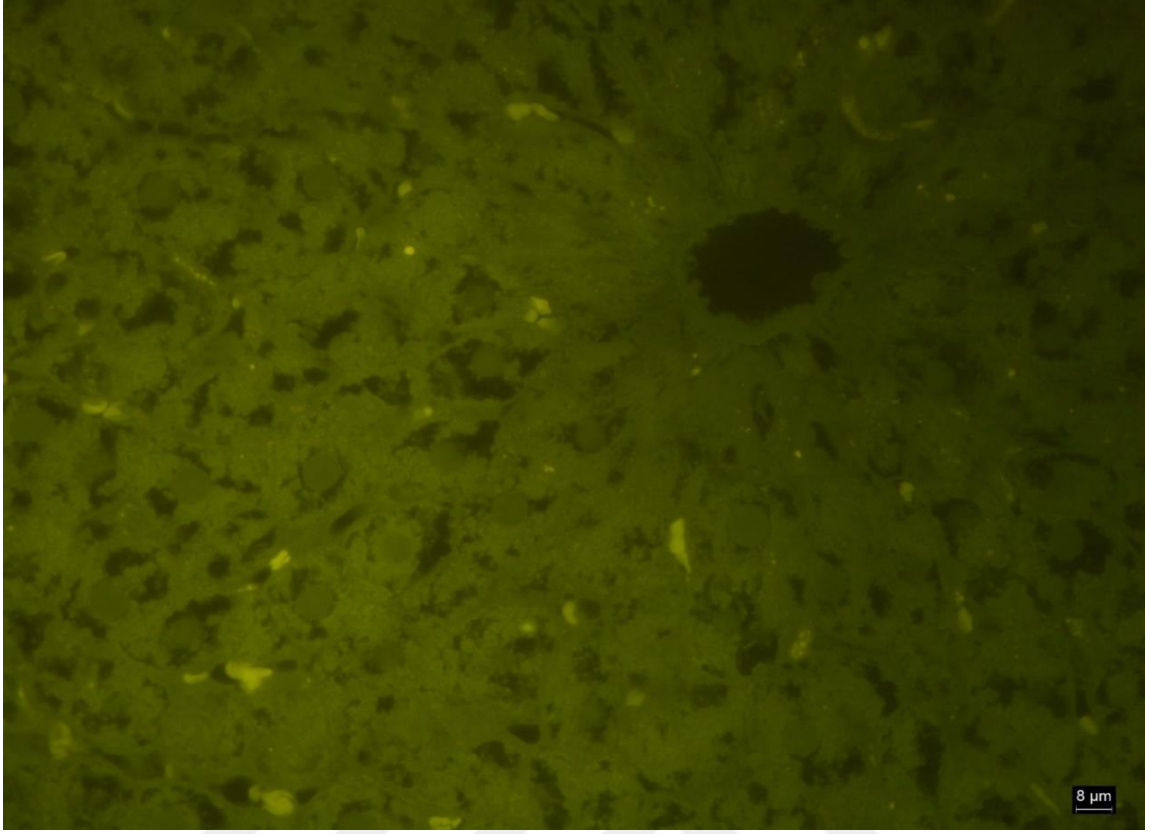
Görsel 3.28. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: Al grubu



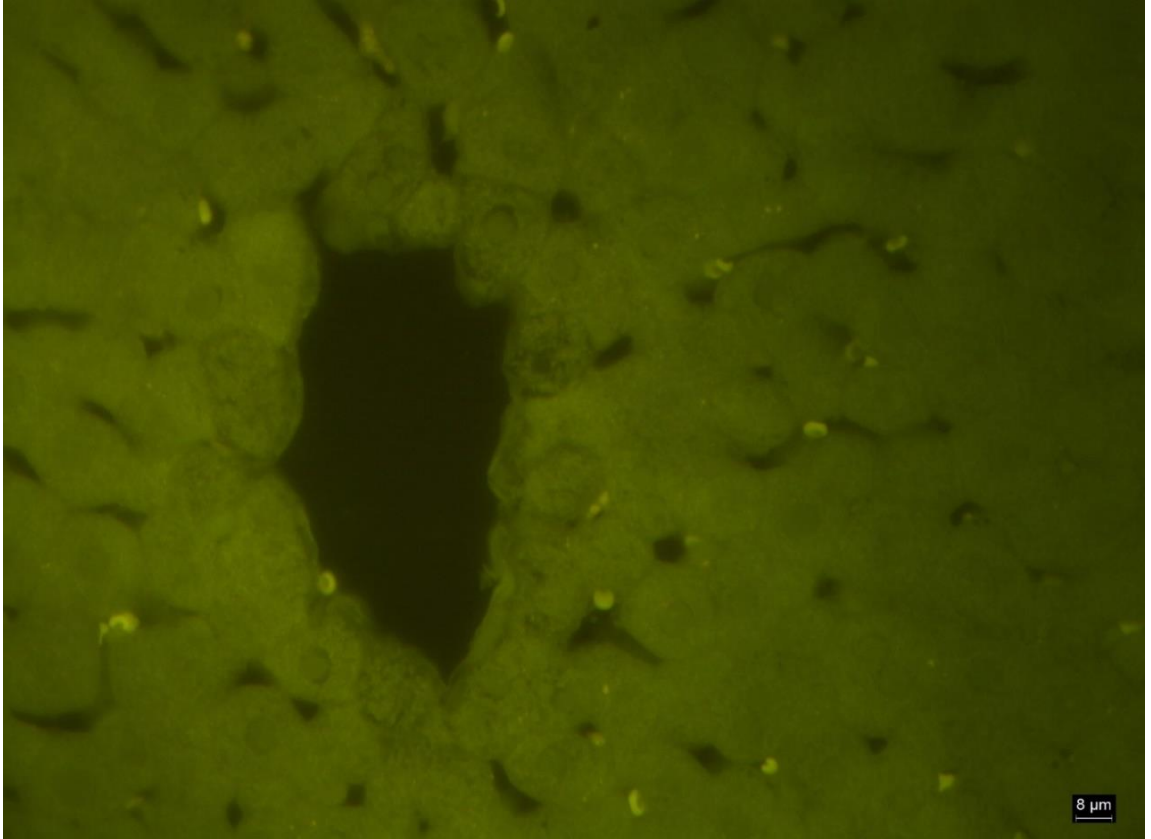
Görsel 3.29. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: Al+CVit grubu



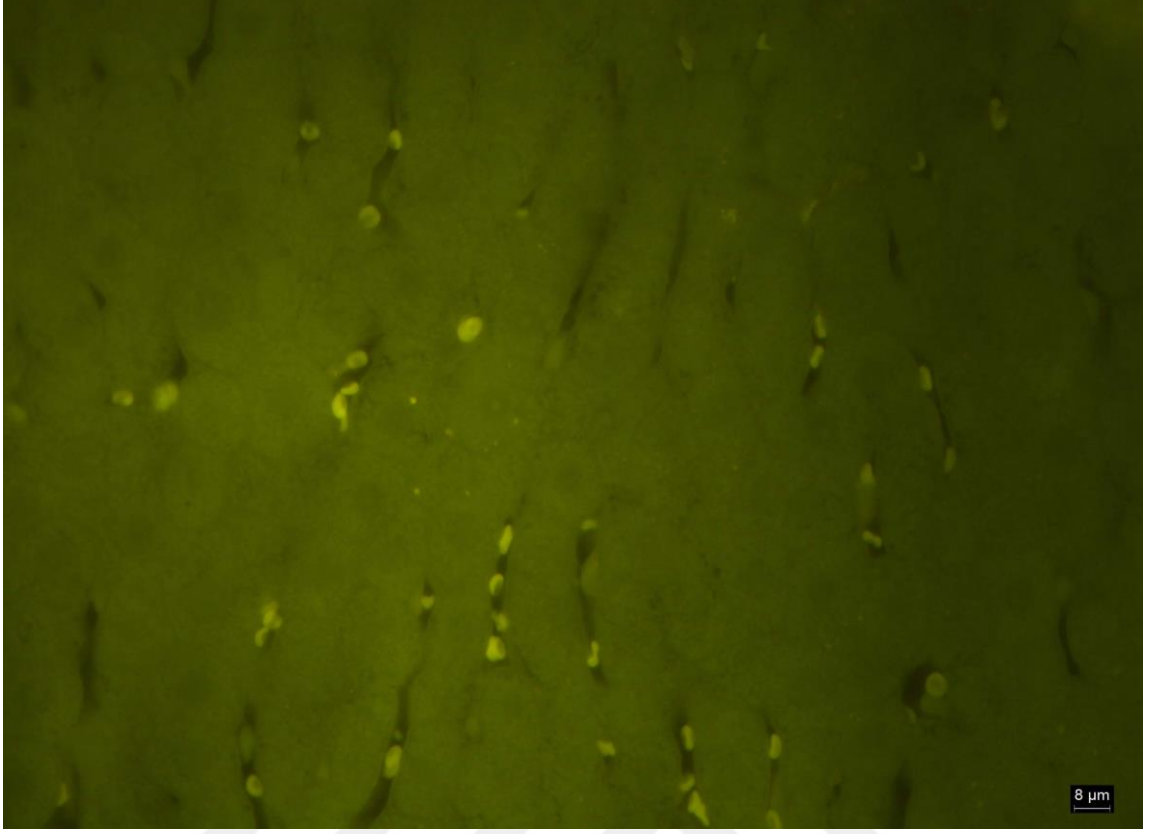
Görsel 3.30. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: Al+ZnONP grubu



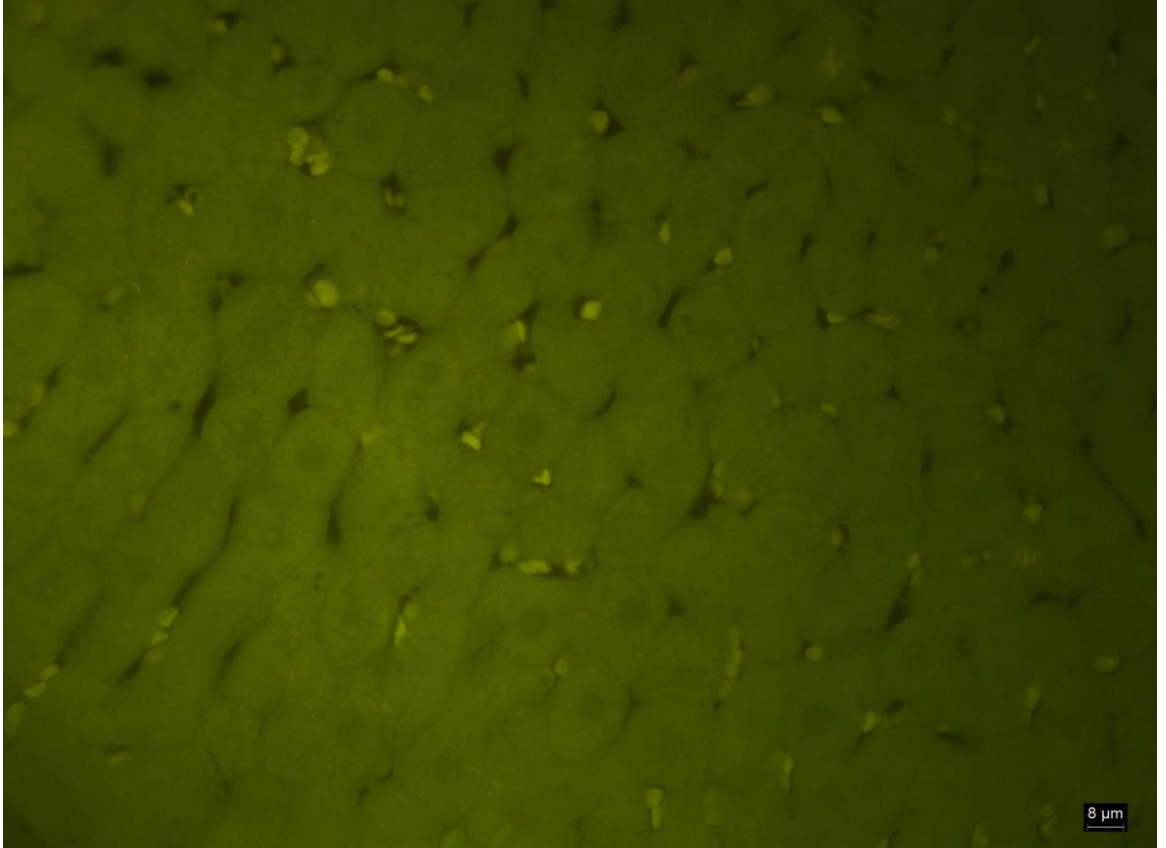
Görsel 3.31. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: Al+CVit+ZnO NP grubu



Görsel 3.32. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: C Vit grubu



Görsel 3.33. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: ZnO NP grubu

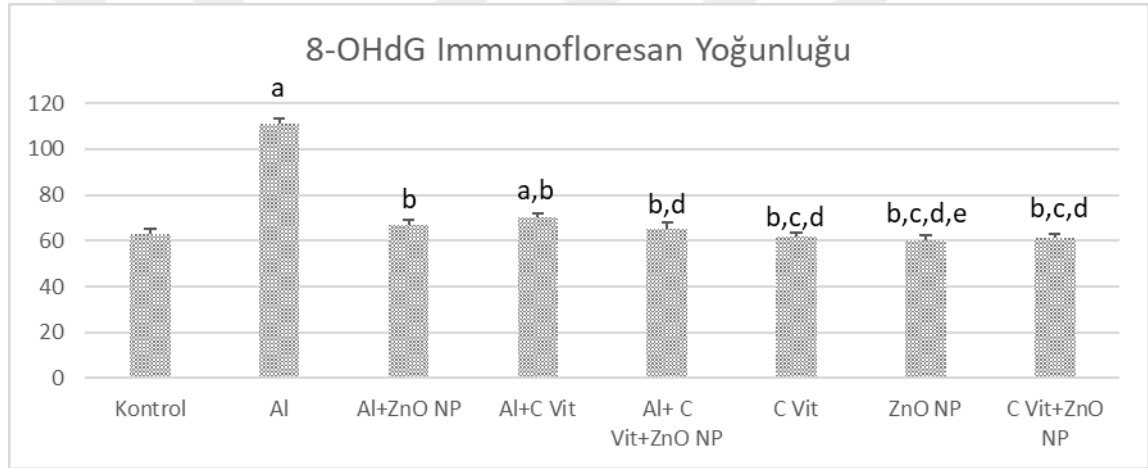


Görsel 3.34. *BRCA1* immunofloresan işaretleme: CVit+ZnONP grubu

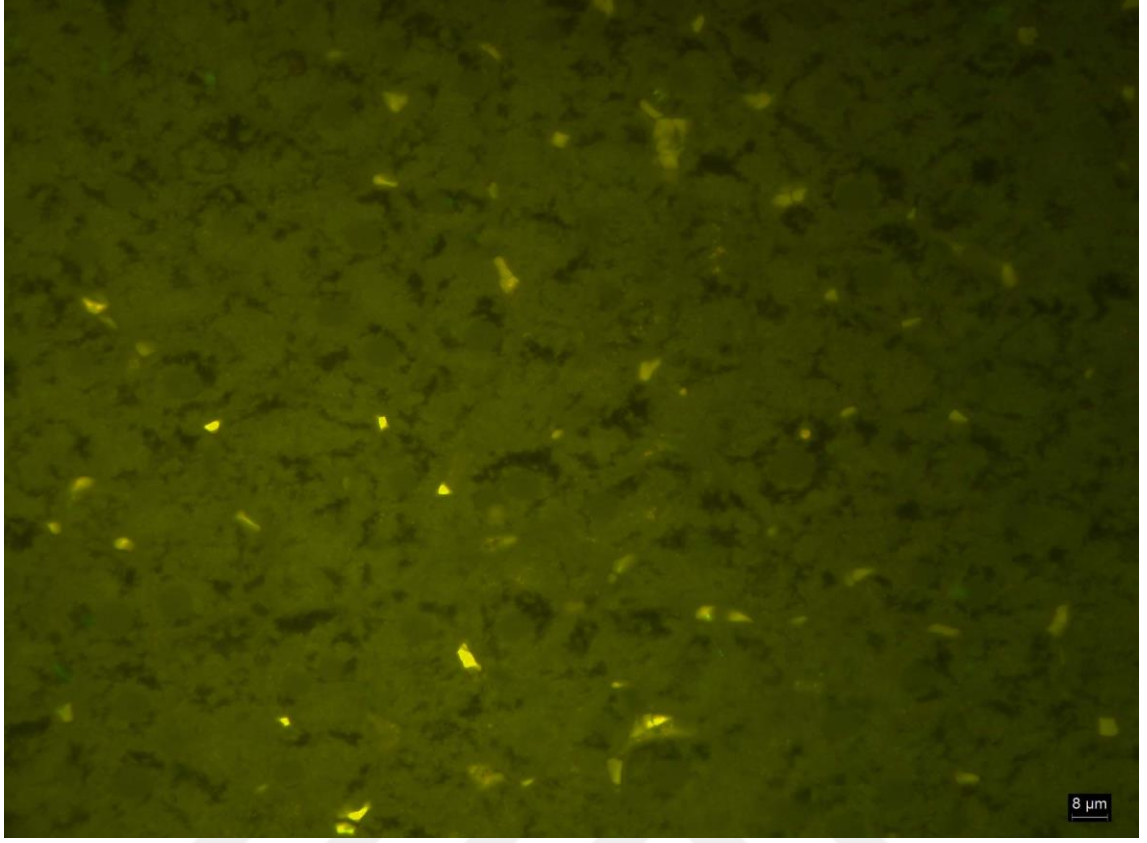
3.4.3. 8-Hidroksideoksiguanozin (8- OHdG) immüno Floresan değ erlendirmesi

Kontrol grubu kesitlerinde gözlenebilen bir nükleer 8-OHdG sinyali bulunamamıştır. 8-OHdG için immünreaktivite, Al uygulanan grupların çekirdeğinde, ince bir granüler model ile hepatositlerin çekirdeğinde ış ıma görülmüştür. Floresan yoğunluğun, kontrol grubuna göre Al grubundaki hayvanlarda yaklaşık 2 kat artışı tespit edilmiştir. Al grubuna göre sırasıyla Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP grubundaki 8-OHdG için immünreaktivite ış ıması sırasıyla anlamlı bir şekilde yaklaşık olarak %40, %37, %41 azalmıştır (Ş ekil 3.9.).

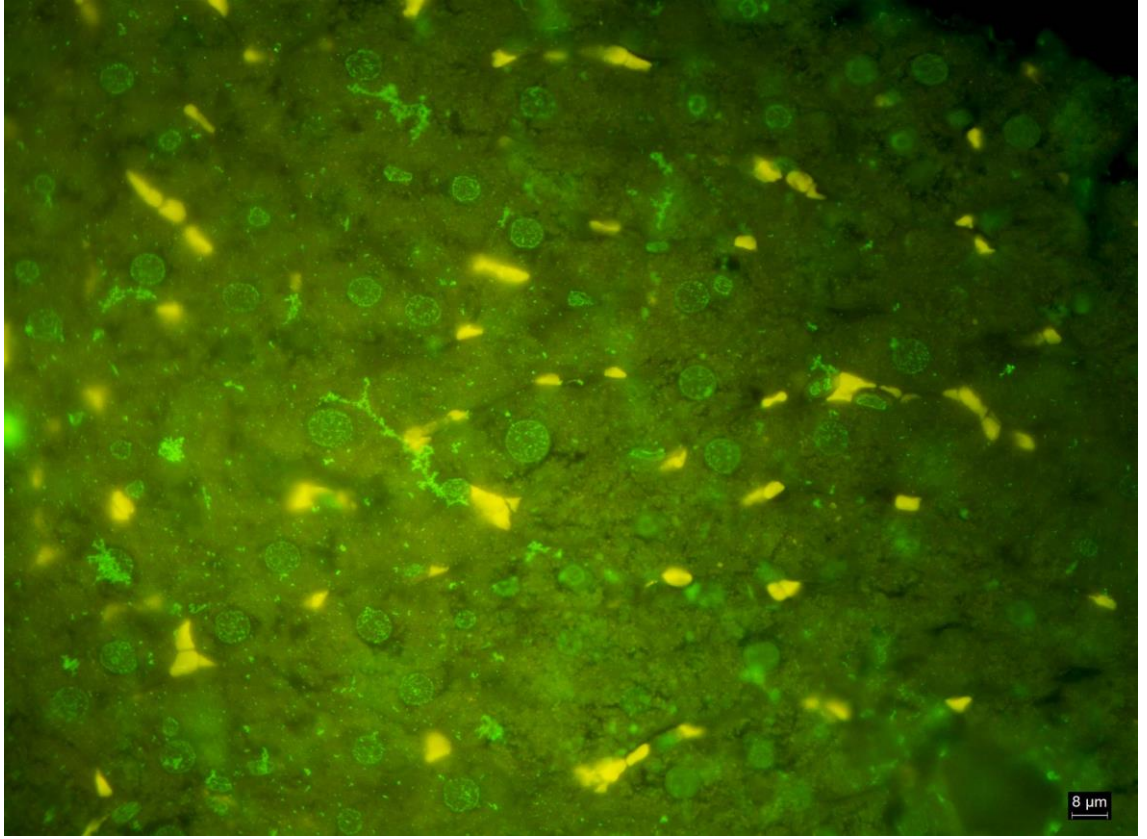
Kontrol, Al+ZnO NP, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında ise anlamlı bir immüno Floresan ış ıma gözlenmemiş olup, bu grupların Al grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.



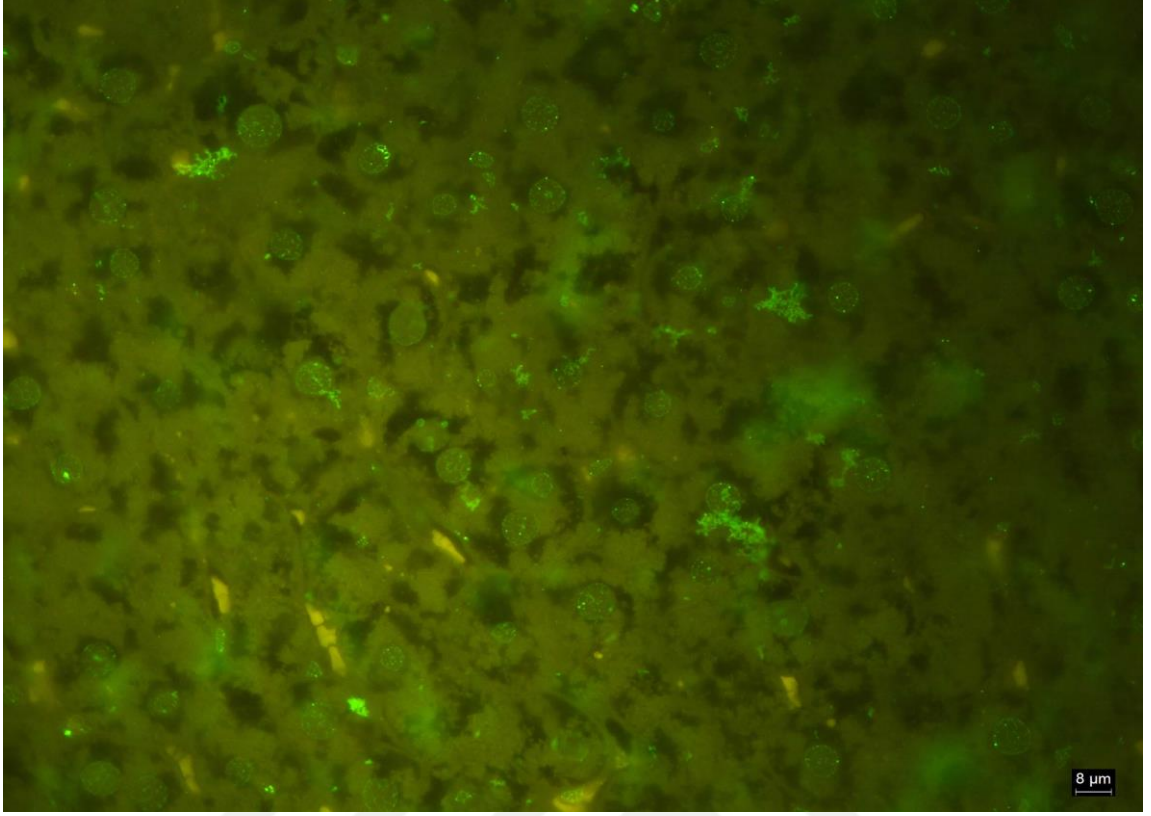
Ş ekil 3.9. 8-OHdG sütun grafiği: a) Kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). b) Al grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). c) Al+ZnO NP grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). d) Al+C Vit grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). e) Al+CVit+ZnO NP grubu ile kıyaslandığındaki anlamlı farklılıkları temsil eder ($P < 0.05$). Kontrol: 63,27±1,92; Al: 110,90±2,62; Al+ZnONP: 66,57±2,23; Al+CVit: 69,72±1,91; Al+CVit+ZnO NP: 65,01±3,16; CVit: 61,82±1,33; ZnONP: 60,01±2,63; CVit+ZnONP: 61,33±1,89



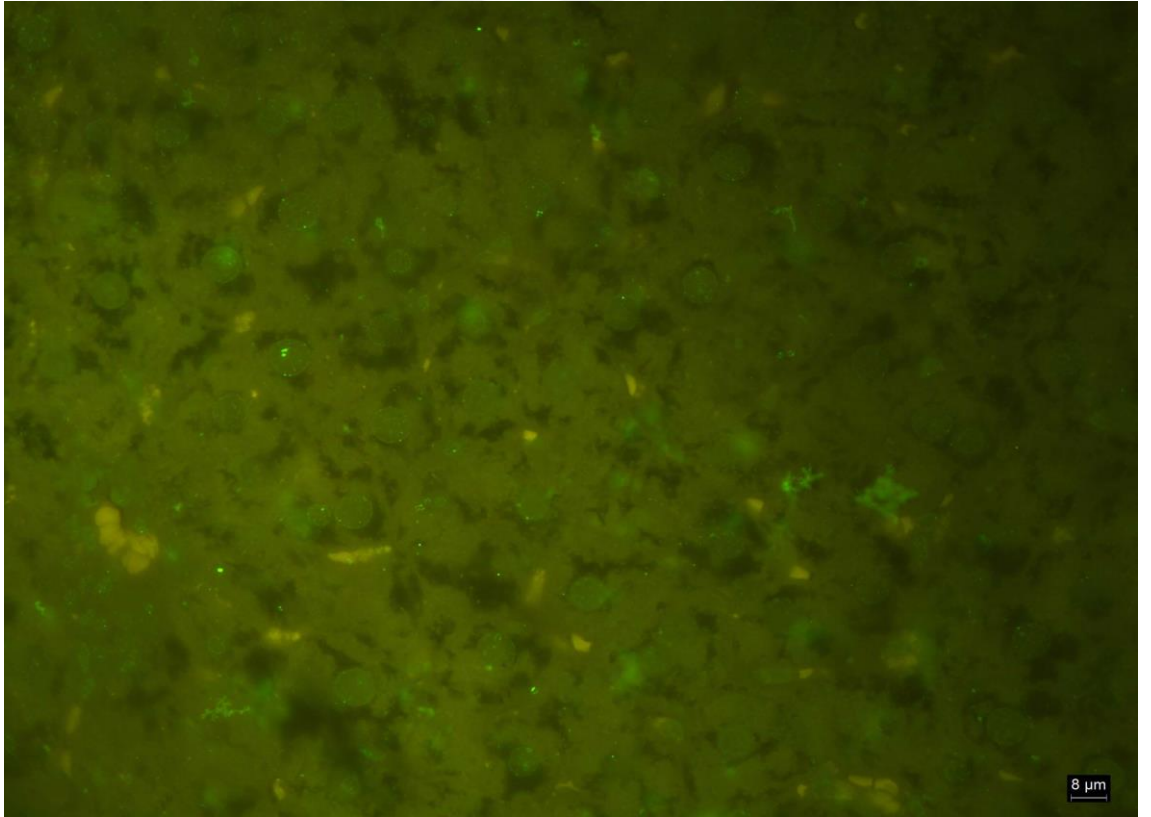
Görsel 3.35. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Kontrol grubu



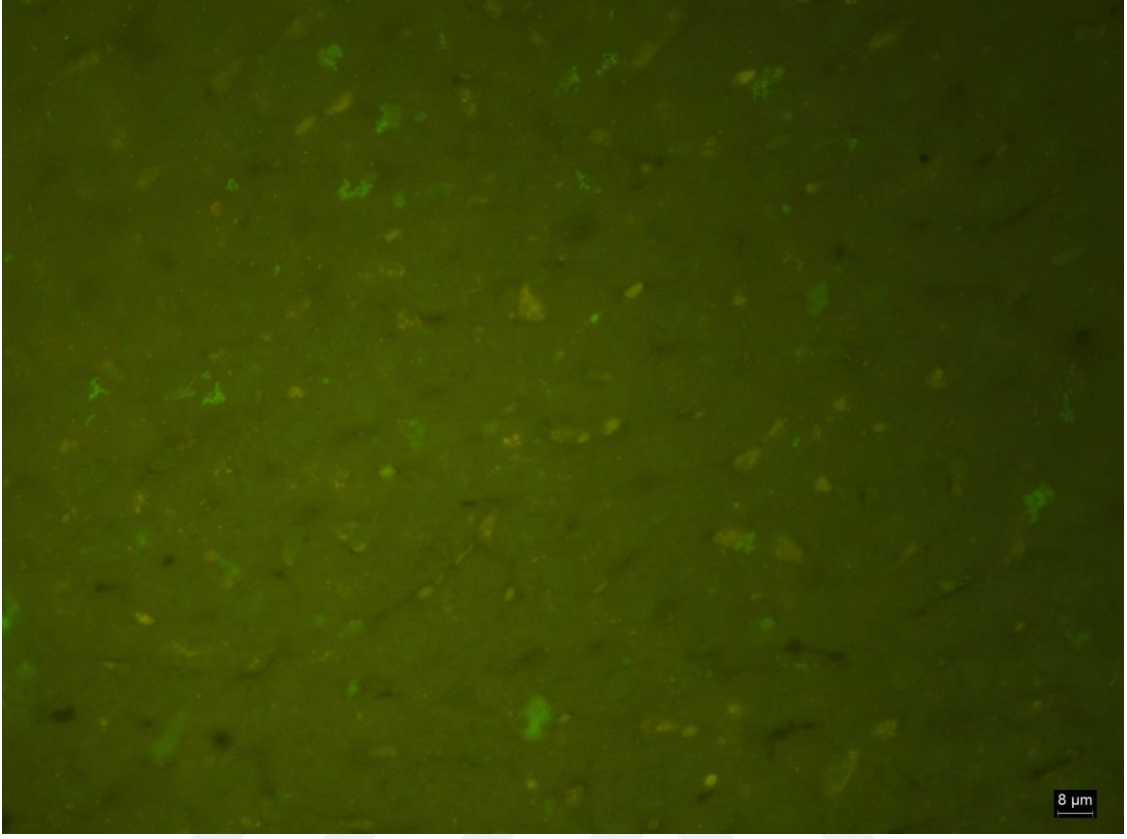
Görsel 3.36. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al grubu



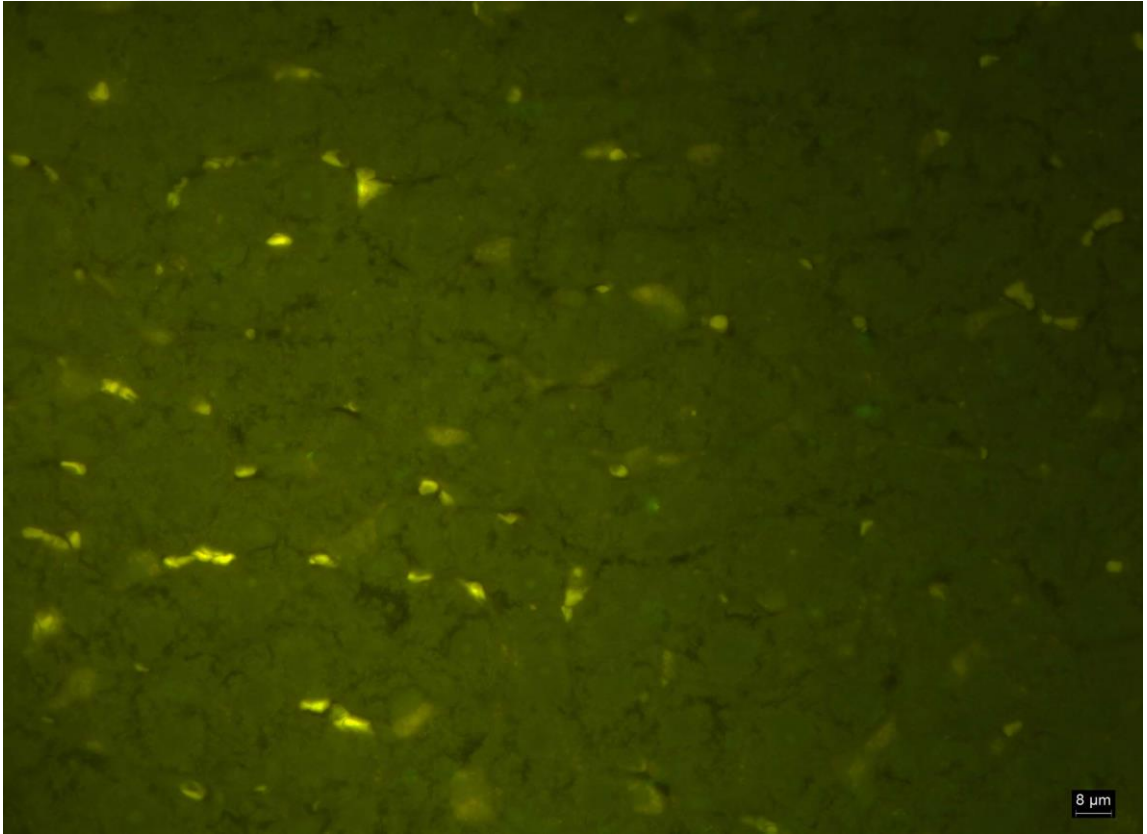
Görsel 3.37. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al+CVit grubu



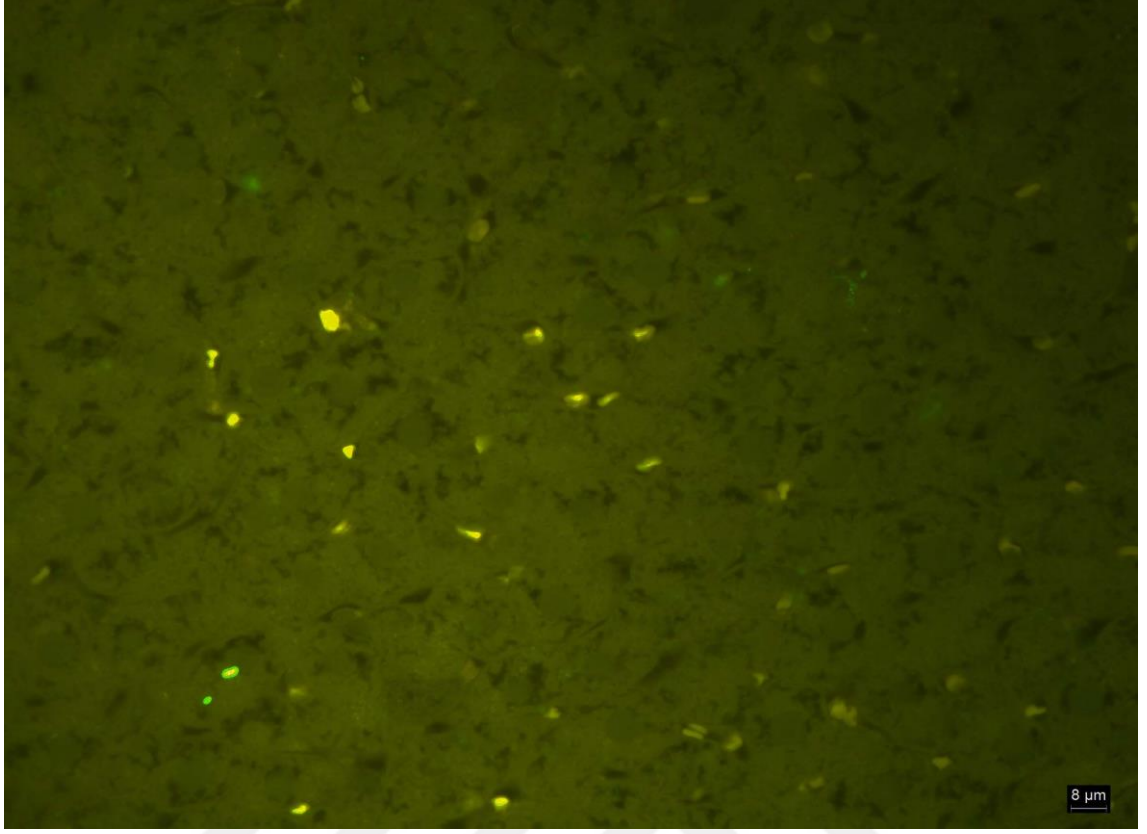
Görsel 3.38. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al+ZnONP grubu



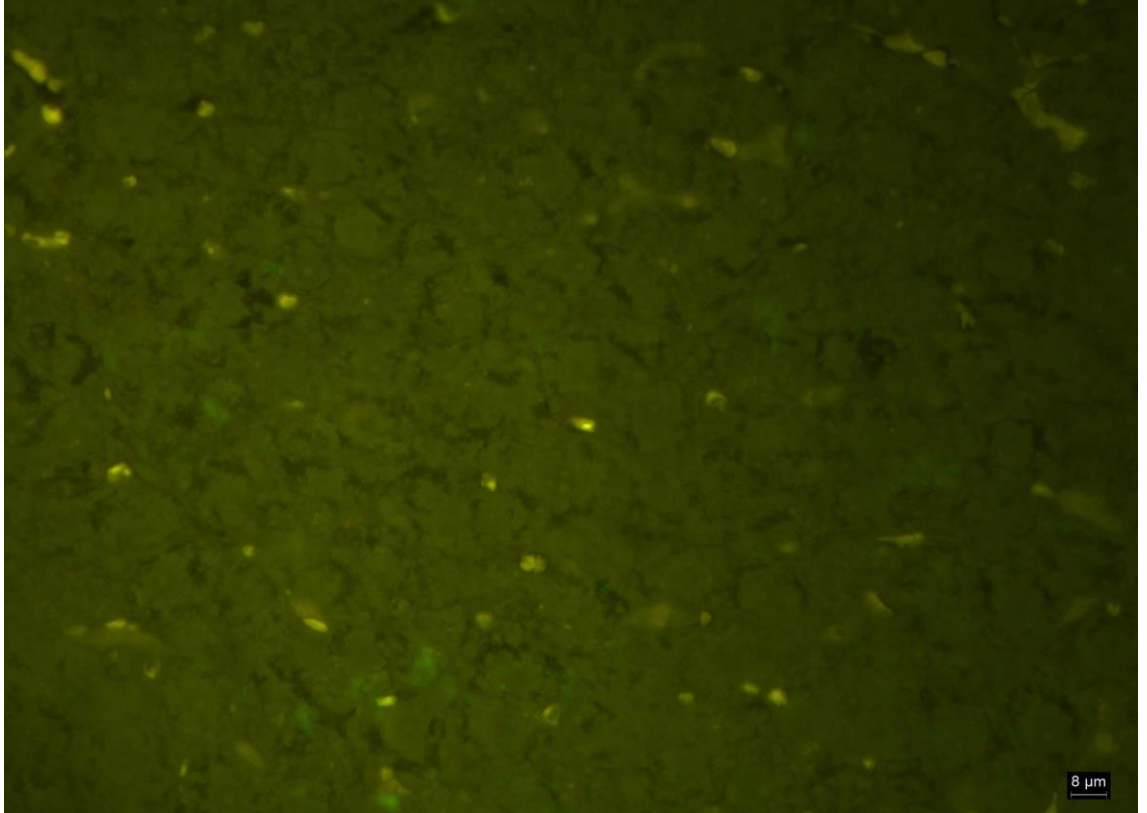
Görsel 3.39. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: Al+CVit+ZnO NP grubu



Görsel 3.40. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: C Vit grubu



Görsel 3.41. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: ZnO NP grubu



Görsel 3.42. 8-OHdG immunofloresan işaretleme: CVit+ZnONP grubu

4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Canlı organizmalar değişen miktarlarda metallere ihtiyaç duyar. Zn, organizma için esansiyel olan metaller grubuna girmektedir (Lane ve Morel, 2000). Tüm metaller yüksek konsantrasyonlarda toksiktir (Chronopoulos vd., 1997).

Crapper ve De Boni, 1980’de; “Al, yer kabuğunda en bol bulunan metallere aittir. Bu metalin ilaç amaçlı kullanımı uzunca bir geçmişe dayanmaktadır. Örneğin, eski Roma’da Al tuzları suyun arıtılması için kullanılmış ve Orta Çağ’da ülser tedavisi için bal ile birlikte kullanımı görülmüştür.” diye belirtmiştir (Becaria vd., 2002).

İnsanlar Al’a habersizce pek çok yoldan maruz kalabilir; folyolar, pişirme tencereleri, beslenme yoluyla alınması gibi bazı maruziyet yollarıdır (Fekete vd., 2012; Exley, 2013). Çevrede en çok bulunan elementlerden biridir ve farklı organlar üzerinde bilinen toksik etkileri vardır. Al, vücuda aerosollerin veya parçacıklarının solunması, cilt teması, aşılar, su tüketimi, ilaç kullanımı gibi yollarla da vücuda girebilir (Igbokwe vd., 2019). Yine Al’un başlıca kaynakları arasında mısır, kaşar peyniri, otlar, baharatlar, tuzlar, çay, kozmetik, tencere, Al eşya ve kapları ayrıca gıda katkı maddeleri, deodorantlar ve diş macunlarında da yaygın olarak kullanımı belirtilmiştir (Exley, 1998; Yokel, 2000; Abbasali vd., 2005; Tamer vd., 2016).

Al’un tek başına hayvanlarda veya insanlarda herhangi bir temel işlevi olduğuna dair kanıtlanmış hiçbir kanıt yoktur. Tek ana nokta, aşırı maruz kalma durumunda potansiyel toksisitesidir (Mehri ve Marjan 2013; Alfrey, 1986).

Son zamanlardaki araştırma verileri Al’un daha önce düşünüldüğü kadar güvenli olmadığını ve Alzheimer hastalığının temelindeki ilerlemesine de katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Nie, 2018). Beyine Al girişi, transferrin reseptörü aracılı endositozu ve küçük moleküler ağırlıklı Al türlerini taşıyan daha hızlı bir süreci içerebilir (Yokel, 2000). Yine Al ile muamele edilmiş sıçanlarda, Al konsantrasyonunun karaciğerde beyinden çok daha fazla arttığı da gösterilmiştir (El-Maraghy, 2001).

Al iyonları, birçok enzimi inhibe eder (Abreo ve Glass, 1993), hücre zarlarının özelliklerini ve yapısını değiştirir ve Ca, Mg, Fe silikon, P, Cu ve Zn gibi diğer elementler için antagonist olarak biyolojik sistemlerde hareket edebilir (Aziz ve Zabut, 2011; Mahmoud vd., 2013; Ward vd., 2001).

Nano boyutlu parçacıklar, sağlık ürünlerinde ve ilaç aktivitesinde önemli bir gelişime sahiptir. Geniş yüzey alanlı bağlayıcı ilaç moleküllerinin mevcudiyeti veya kontrol ajanları olarak yerleşik mekanizmaları nedeniyle belirli hastalıkları hedeflemek

için bir dizi nano boyutlu ilaç sentezlenmektedir (Jones vd., 2018). 1995'den beri, ağızdan ve damardan uygulanabilen ve şu anda klinik kullanım için mevcut olan 50'den fazla nanoilaç FDA tarafından onaylanmıştır. Klinik kullanım için onaylanan nanoilaçların çoğu, geliştirilmiş etkinlikle birlikte azaltılmış toksisite göstermiştir (Caster, vd., 2016; Ventola, 2017). ZnO NP'de kullanıldığı bilinen nanoilaçlardan bir tanesidir (Mirzaei ve Darroudi, 2017).

C vitamini diğer ismiyle; "Askorbik (ASC)" kelimenin tam anlamıyla "iskorbüte karşı" anlamına gelir ve iskorbüt hastalığının esas olarak farklı kolajen formları da dahil olmak üzere birkaç anahtar molekülün sentezinde yer alan bazı önemli dioksijenazların etkisizleştirilmesinden kaynaklandığı bilinmektedir (De Tullio, 2004). ASC, bir antioksidan görevi görür, dioksijenazların (antioksidan olmayan) aktivitesi için özel olarak gereklidir ve gen ifadelerini etkileyen bir maddedir (De Tullio, 2011).

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular, literatürdeki Al toksikolojisinin neden olduğu OS ve karaciğer hasarı tanımlarıyla tutarlıdır. Al'in oksidatif hasar oluşturmaları için birkaç yolu vardır bunlardan biri; membrandaki doymamış fosfolipitlerin, O_2^- , H_2O_2 , $\bullet OH$ ve OH^- gibi Al toksisitesi tarafından üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından saldırıya uğratılmasıdır (Su vd., 2019). Al ayrıca, ROS üretimine ve Fe^{3+} oluşumuna neden olan Fenton reaksiyonunda demir tarafından başlatılan LP'nunu da uyarabilir. Al ile deneysel olarak zehirlenmiş laboratuvar hayvanlarının patolojisi, her zaman birçok OS göstergesi gösterir. Bunlar; SOD ve CAT gibi antioksidan seviyelerindeki değişiklikler ile ayrıca MDA ve lipid hidroperoksitlerin değişimleri ile sonuçlanabilir (Exley, 2004). Bu çalışmadaki LP bulguları, Al grubunda LP'unun bir belirteci olan malondialdehit (MDA) seviyesinin kontrol grubuna göre yaklaşık 3 kat arttığını ortaya koymuştur. Ancak; Al+ZnONP ve Al+CVit uygulanan gruplarda Al grubuna göre sırasıyla MDA seviyesi, yaklaşık ~%58, ~%24 oranında azalmıştır. Al+CVit+ZnO NP grubundaki LP'nun ise Al grubuna göre yaklaşık ~%65 düzeyde azaldığı görülmüştür. Bu durum, ZnONP ve CVit'nin önceki çalışmalarda bildirilen OS'e karşı baskılayıcı etkilerini doğrulamaktadır. Araştırmadaki LP sonuçlarına göre, ZnONP ve CVit'nin birlikte uygulanması, ayrı ayrı oluşturdukları etkiye göre istatistiksel anlamda önemli ölçüde fark göstermiştir. Al+CVit+ZnO NP grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Bu sonuçlara göre C Vit+ZnO NP kombinasyonu, Al toksisitesi kaynaklı LP'nu gidermede tek başına yapılan uygulamalara göre anlamlı ve önemli düzeyde etkilidir. Literatürde

Al'un, kontrol grubuna karşı bu belirgin MDA artışı bulgularını destekleyen pek çok çalışma mevcuttur. Al'a maruz bırakılan sıçanların doku homojenatlarında malondealdehit (MDA) ve tiyobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS) seviyelerinde anormal artışlar ile birlikte GSH, GPx, SOD ve CAT gibi antioksidanların azalmış seviyeleri bildirilmiştir (Igbokwe vd., 2014). Okerenta ve Anacletus (2016)'da yaptıkları çalışmalarında; 200 mg/kg Al doz uygulaması yaptıkları ratlara Zn, C vitamini gibi farklı antioksidanlar kullanarak karaciğerdeki SOD, CAT, GSH, LP gibi parametreleri incelemişlerdir. Al grubundaki OS'in çalışmamızla paralel şekilde artış gösterdiği, ayrı ayrı uygulanan Zn ve C vitamininin ise bu stresi belirli düzeyde azaltmada etkili olduğu görülmüştür (Okerenta ve Anacletus, 2016). Bhasin vd., (2012)'deki çalışmalarında Rat karaciğerinde Al tarafından indüklenen biyokimyasal değişikliklerin azaltılmasında Zn'nin rolünü değerlendirmek için uygulama yapmışlar. Al ile muamele edilmiş (AlCl (3), 100 mg/kg ağırlık/gün uyguladıkları) ratlarda kontrol grubuna göre oluşan LP'u Zn uygulamasıyla istatistiksel olarak önemli ölçüde azaltılmış olarak bulunmuştur (Bhasin vd., 2012). Oda (2016)'da çalışmasında; 100 mg/kg AlCl₃ dozunda Al'a maruz kalmış ratlar üzerinde MDA değişimini incelediğinde kontrol grubuna göre MDA'da artış tespit etmiştir (Oda, 2016). Hammoud ve Shalaby (2019)'daki çalışmasında; Al'yi AlCl₃ formunda 6 hafta boyunca 100 mg/kg vücut ağırlığı dozunda oral uygulaması yapmış ve kontrol grubuna göre LP ürünü olan MDA miktarında önemli bir artış ve GSH ve SOD değerlerinde önemli ölçüde azalış gözlemişlerdir (Hammoud ve Shalaby, 2019). Osama vd., (2014), AlCl₃'ün (150mg/kg) dozunun ratlara oral yoldan verilmesi ile yapılan deneyde kontrole kıyasla hepatik MDA seviyesinde ($p < 0.05$) önemli bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Osama vd., 2014). Buna karşılık hepatik SOD, CAT, GSH seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla AlCl₃ uygulanan edilen grupta önemli ölçüde aşağı yönlü regüle edildiğini belirtmişlerdir. Sayed vd., (2011)'de fare karaciğeri üzerinde yaptığı çalışmada alüminyum (AlCl₃) (tek bir 25 mg Al³⁺/kg, i.p. enjeksiyonu) uygulamış ve sonucunda hepatik MDA seviyelerinde artış gözlemişlerdir. Aynı zamanda; Al gruplarında karaciğerde, GST, CAT aktivitelerini azalttığını belirleyerek; Al'un, hepatik kanamaya, hücresel dejenerasyona neden olduğu da ilave etmişlerdir (Sayed vd., 2011). Newairy vd., (2009)'da yaptıkları çalışmada; 34 mg AlCl₃/kg uygulanan ratlarda, kontrol grubuna göre karaciğer dokusunda, TBARS seviyelerinin yükseldiği ancak GSH, GST, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin karaciğerde azaldığını ortaya

koymuşlardır (Newairy vd., 2009). Turgut vd., (2006)'da ratlara 300 mg/kg alüminyum sülfat ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) uygulanması sonucu Al grubunda kontrol grubuna göre MDA seviyesinde artış gözlemlenmiştir (Turgut vd., 2006). Moumen vd., (2001)'deki çalışmada 0, 5, 10, ve 15 mg/kg dozlarında uyguladıkları Al maruziyetinden sonra LP ürünlerinin artan birikimiyle doğrulanmış biyolojik bir etki olan karaciğerde oksidatif durum değişimleri ve kontrol grubuna göre LP artışı gözlemlendiğini bildirilmiştir (Moumen vd., 2001). Cheraghi ve Roshanaei (2019) çalışmalarında, 28 günlük i.p. enjeksiyonla 10 mg/kg AlCl_3 ile indüklenen ratlarda, MDA seviyesinde artış saptamışlardır (Cheraghi ve Roshanaei, 2019).

Antioksidan enzimler bağlamında çalışmamızdaki SOD değerleri incelendiğinde; kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir. SOD'un, fonksiyonel görevi; $\text{O}_2^{\bullet-}$ 'yi katalizleyerek oksijen (O_2) ve hidrojen peroksit dönüşürme (H_2O_2) yeteneğidir (Archibald ve Fridovich, 1982; Fridovich, 1981). Al, çoklu değerlik durumlarından dolayı moleküler oksijen ile reaksiyona girerek ROS ve RNS üretebilir. Aynı zamanda Al gibi çeşitli metaller, Fenton reaksiyonu ile oldukça reaktif $\bullet\text{OH}$ üretmek için katalitik güç için oksijen aktarma özelliklerine sahiptir. Al süperoksit yarı indirgenmiş radikal iyonları (AlO_2^{2+}), Al^{3+} 'nın $\text{O}_2^{\bullet-}$ ile reaksiyonu ile üretilir. AlO_2^{2+} daha sonra Fe^{3+} 'yı Fe^{2+} 'ye indirger ve Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu yoluyla OS'i artırır (Das vd., 2015; Ruipérez vd., 2012). Bilim adamları, Al'un biyolojik dokular için daha reaktif bir radikal molekül olan AlO_2^+ oluşturmak üzere $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikaliyle etkileşime girdiğini öne sürmüştürler. Bu durum, $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikalinin SOD tarafından katalize edilen H_2O_2 'ye dönüşüm reaksiyonunu önlediği bilinir. Al toksisitesine maruz kalan gruplarda SOD aktivitesinde değişiklik olmamasının bu durumla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Benzer bir açıklama ise Das vd., (2015) tarafından da yapılmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre SOD, Al uygulanan gruplarda istatistiksel açıdan anlamlı olmayan kısmi bir azalma göstermiştir. Önceki çalışmalarda SOD aktivitesinde Al toksisitesine bağlı olarak görülen azalma veya değişmeden kalma durumunun uygulanan doza bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir. Araştırma sonucumuz SOD miktarındaki değişimin literatürde yer alan diğer çalışmalarla uyum sağladığını göstermektedir. Ratlarda Al maruziyetinin, karaciğerde katalaz (CAT) aktivitesinin inhibisyonu ile birlikte mikrozomal LP'nunun yükselmesine neden olduğunu ancak Al maruziyetinin karaciğer SOD aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin gözlenmediği belirlenmiştir (Chainy,

1996). Cheraghi ve Roshanaei (2019)'deki çalışmalarında, 28 günlük i.p. enjeksiyonla 10 mg/kg $AlCl_3$ ile indüklenen ratlarda, hepatoksisiteye dair bulgularını yayınlamışlardır. $AlCl_3$ grubunda, kontrole kıyasla karaciğerde SOD, CAT ve GSH seviyeleride önemli ölçüde düşüş saptamışlardır. $AlCl_3$ 'ün uygulandığı grupta ayrıca karaciğerlerinde çeşitli histopatolojik değişiklikler gözlemlediklerini bildirmişlerdir (Cheraghi ve Roshanaei, 2019). Fatima vd.'leri, (2016)'daki çalışmalarında; $AlCl_3$ 'ü beş günde bir, 30 mg/kg uyguladıkları rat karaciğeri dokusunda uygulama sonrası SOD miktarında düşüş, TBARS miktarında artış ve diğer antioksidan parametrelerden SOD, GSH, CAT miktarlarında azalış gözlemiştir (Fatima vd., 2016). Newairy vd., (2009)'da, 70 gün boyunca günlük 34 mg/kg vücut ağırlığı $AlCl_3$ uygulanan ratların karaciğer, böbrek ve beyinde TBARS düzeyinin arttığını ve GSH, GST, SOD ve CAT aktivitelerinin azaldığını ortaya koymuştur (Newairy vd., 2009). Yeh vd., (2009)'da, rat diyetine 8 hafta boyunca 150–300 ppm ekledikleri Al sonucu GSH depolarını tükettildiğini ve CAT faaliyetlerini azalttığı bir hepatotoksisiteden bahsetmişlerdir (Yeh vd., 2009). Dolayısıyla bazı araştırmalara göre, Al maruziyeti CAT ve SOD enzimlerinin aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. CAT; %1.1'lik bir protohem içeriğine ve %0.09'luk bir Fe içeriğine karşılık gelen, molekül başına 4 ferriprotoporfirin grubu içerir. Dokuların CAT aktivitesi büyük ölçüde değişir; karaciğer'de CAT miktar olarak fazladır (Aebi, 1974). Transferin Fe bağlayan protein olarak görev yapar (Morgan, 1981). Al'a maruz kalma, karaciğerde aşırı Fe yükü ile Fe homeostazının bozulmasına da neden olabilir (Igbokwe vd., 2019). Bu, OS yoluyla ROS üretimini artırabilir ve kalıtsal hemokromatozdan bilinen Fenton reaksiyonu yoluyla karaciğer toksisitesini artırabilir (Teschke ve Xuan, 2022; Teschke, 2022). Mostaghie vd., (1977)'de Al varlığında transferrin tarafından Fe alımının azalabildiğini gösteren çalışmalarını yapmışlardır (Mostaghie ve Skillen 1990). Yine; 1983 yılında Trapp'ın gözlemi, Al'un Fe bağlama noktalarından birine bağlandığını ve Fe metabolizmasına müdahale ettiğini göstermiştir (Trapp, 1983). Tomimatsue ve Donovan'da, (1977)'de 3-5 Al molekülünün transferrine nonspesifik olarak bağlandığını bildirmiştir (Mostaghie ve Skillen, 1990; Tomimatsue ve Donovan, 1977). Bizim çalışmamızda ise; CAT bulguları sonuçlarına göre, Al grubunda elde edilen veriler kontrol grubuyla kıyaslandığında, CAT enziminde bu nedenle oluşan anlamlı bir azalış olduğu düşünülmektedir. Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CAT aktivitesindeki azalmanın ve Al grubu ile

Al+ZnO NP, Al+CVit, Al+CVit+ZnO NP grupları karşılaştırıldığında CAT enzim aktivitesindeki artışın bu grupların tümünde istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Araştırmamızın bu sonuçları da önceki çalışmalarla uyumludur. Anand vd., (2012)'deki çalışmalarında; kullandıkları ratlara ağızdan tek bir doz 20 mg AIP/kg (Aluminyum fosfat) uygulamış ve CAT aktivitesinin, kontrollere kıyasla AIP grubunda yaklaşık %36 oranında azaldığını ($p < 0.05$), ancak SOD enziminin istatistiksel olarak etkilenmediğini tespit etmişlerdir (Anand vd., 2012). GST ve GSH'da SOD ve CAT gibi antioksidan kapasiteyi oluşturmaktadır. Toplam GSH bulgularına bakıldığında, Al grubu, kontrol grubuna göre iki kata yakın bir azalış göstererek anlamlı düzeyde azalmıştır. GSH düzeyi Al+ZnONP, Al+CVit ve Al+CVit+ZnO NP gruplarında, Al grubuna göre sırasıyla yaklaşık %81, %56, ve %92 oranlarında daha yüksek olup kontrol grubuna yaklaşmıştır. Bu gruplar ve kontrol grubu arasında anlamlı fakat düşük düzeyde farklar gözlenmiştir. GST sonuçlarına bakıldığında ise, Al'a maruz kalan tüm gruplarda GST aktivitesinin inhibe olduğu görülmüştür. Al grubu ile Al+ZnO NP grupları arasında ve Al+CVit+ZnO NP grubu ile diğer tüm Al grupları arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Araştırma verilerimizin sonucunun diğer bilim insanlarının çalışmalarıyla uygun sonuç verdiği görülmektedir. Othman vd., (2020)'deki çalışmalarında 8 hafta boyunca enjeksiyon ile 34 mg/kg $AlCl_3$ uyguladıkları rat karaciğerlerinde LPO arttığını, kontrol grubuna kıyasla GSH içeriğinde azalma sonucu antioksidan enzim aktivitelerinde inhibisyon gözlemlemişlerdir (Othman vd., 2020). Yousef vd., (2019)'da; Al_2O_3 NP'leri 70 mg/kg (yaklaşık 50 nm parçacık boyutu) ve ZnONP'ü 100 mg/kg (yaklaşık 100 nm parçacık boyutu) kullandıkları deneylerinde, ratlara 75 gün oral maruziyetle uygulama sonucunda karaciğerlerinde kontrol grubuna göre her iki grupta da çalışmamızla tutarlı olarak SOD, CAT, GST, GSH miktarlarında azalma tespit edilmiş, TBARS miktarı artmıştır olarak bulunmuştur (Yousef vd., 2019). Aita (2014)'de yaptığı araştırmasında 50 mg/kg $AlCl_3$ dozunda 30 günlük gavajla oluşturdukları maruziyet sonucunda kontrol grubuna oranla MDA seviyesinin arttığını, SOD ve CAT seviyesinin ise azaldığını tespit etmişlerdir (Aita, 2014). Demerdash, (2004)'de yaptığı çalışmada 34 $AlCl_3$ mg/kg doz maruziyetini 30 gün boyunca oral olarak uygulamışlardır ve sonucunda Al gruplarında kontrol grubuna oranla $AlCl_3$ 'ün LP'nununu önemli ölçüde indüklediğini ve GST aktivitesini azalttığını açıkça ortaya koymuştur (Demerdash, 2004). Mahmoud vd. (2019)'daki çalışmasında; 100 mg $AlCl_3$ /kg doza maruz bıraktığı ratlardaki uyguladıkları 10 mg/kg ZnONP dozu ve <100

nm partikül büyüklüğündeki ZnONP uygulama sonucunda LP düzeyinin düştüğü, SOD, CAT, GSH aktivitesinin arttığı görülerek, ZnONP kullanımının oksidatif hücre hasarına karşı bir savunma aracı olduğu bildirmişlerdir (Mahmoud vd., 2019). Oda, (2016)'da çalışmasında; 100 mg/kg AlCl₃ dozunda Al'a GSH'da azalış tespit etmişlerdir. Bizim araştırmamızda da benzer sonuç elde edilerek GSH, GST seviyelerinde de kontrol grubuna karşı, Al grubunda anlamlı düzeyde azalma olduğu ve ZnO NP ile tedavi edilen canlılarda OS parametrelerinin Al'un oluşturduğu prooksidan etkiyi kısmen önleyerek diğer çalışmalarla benzer parametrik değişimlere sebep olduğu bulunmuştur (Oda, 2016). Daha önceki çalışmalarda Zn'nin, geçiş metalleri tarafından oluşan reaktif oksijen üretiminin inhibe ettiği, hücresel GSH regülasyonu ile hücresel antioksidan savunmada hayati bir rol oynadığı bildirilmiş ve aktif bölgesinde Zn²⁺ ve Cu²⁺ olduğu bilinen SOD aktivitesi için SR'leri ve OS'i kontrol ederek OS'e karşı savunmada GSH, SOD aktivitelerini arttırarak, kronik inflamasyon ve DNA hasarındaki koruyucu etkisi bildirilmiştir (Bao vd., 2014; Bray ve Bettger, 1990; Parat, 1997). GSH, GST ve GPx aktiviteleri için bir substrat olarak kabul edilir, bu nedenle eksikliği aktivitelerinde bir azalmaya neden olabilir (Habig, 1974). GST; ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu için ve sinyal kaskadlarında uzmanlaşmış bir faz II detoksifikasyon enzimleri ailesini oluştururken Zn ve C Vit yine ksenobiyotik metabolizmada antioksidan koruyucu bir pelerin gibi görev alır (Liska, 1998). Mahmoud vd., 2019 (100 mg AlCl₃/kg) ve Gao vd., (2017)'deki çalışmalarında (CdCl₂ kontaminasyonu uygulaması ile oluşturulan hepatotoksistede), toksisite sonucu oluşan süperoksitin, oksijen ve H₂O₂'ye parçalanmasını önce arttırdığını, sonra bu durumun süperoksit radikal konsantrasyonunu düşük seviyelerde tuttuğunu fakat ZnO NP'lerinin mevcudiyetine dolayısıyla SOD, CAT'nin geliştirilmiş etkinliğe OS iyileştirmeye çalışmamıza benzer bir şekilde yol açtığını belirtmişlerdir (Mahmoud vd., 2019; Gao vd., 2017). Aynı şekilde Mahmoud vd.'leri, (2019)'daki Al uygulanan ve ZnO ile tedavi edilen rat grubunun karaciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler üzerinde gözlenen iyileştirici etkisini, dokulardaki LP'nundaki azalmaya, artan antioksidan enzim (CAT ve SOD) aktivitelerine ve karaciğer dokusunda kısmi olarak korunmuş GSH içeriğine bağlamıştır (Mahmoud vd., 2019). Ho (2004)'de: Zn, 300'den fazla enzimin kofaktörüdür. OS'i ve GSH tükenmesini azaltarak DNA'da artan oksidatif modifikasyonlar sonucu oluşan tek ve çift sarmallı DNA kırılmalarındaki, DNA onarımının aktivasyonu yoluyla hücre korumasıyla ilgili süreçlerde rol alır. Ayrıca apoptozu ve hücre proliferasyonunu da

önler, olarak belirtmiştir (Ho, 2004).

Akinpelu vd., (2023)'deki deneysel çalışmalarında 20 adet Wistar cinsi rat kullanmış, 2.5 mg/kg AlP (Aluminyum fosfat) ile rat karaciğerini indüklemiş ve başka bir gruba 100mg/kg C vitamini ve D vitamini 10 mg/kg dozu 28 gün süreyle verildiğinde sonuç olarak, bulgularında, AlP'ye maruz bırakılmış karaciğerde, hepatosit vakuolasyonu, sinuzoidal tıkanıklık ve nükleer parçalanma görmüşlerdir. C Vit ile uygulanan AlP kaynaklı karaciğerde ise, sinuzoidal boşlukta azalmış konjesyon ve hepatositlerin nükleer parçalanmasının olmaması ile karakterize edilen rejeneratif değişiklikleri (piknotik çekirdekler) görüldüğünü tespit etmişlerdir. Tüm bu sonuçlarla beraber C Vit ve D Vit takviyesi kombinasyonunun, antioksidan savunma sistemini iyileştirdiğini ve fosfin zehirlenmesinde karaciğerin histopatolojisini iyileştirdiğini ve OS'i azalttığını da belirtmişlerdir (Akinpelu vd., 2023). Mahmoud vd'leri (2019)'daki çalışmasında; 100 mg $AlCl_3$ /kg doza maruz bıraktığı ratlardaki histopatolojik değişimleri iyileştirmek amaçlı uyguladıkları 10 mg ZnO NP/kg doz ve <100 nm partikül büyüklüğündeki ZnO NP uygulama sonucunda kontrol grubunda, iyi tanımlanmış merkezi çekirdek ve bol miktarda sitoplazma gösteren normal hepatosit mimarisi gözlerken, ZnONP+ $AlCl_3$ ile tedavi edilen hayvanlardaki ZnO NP'ü uygulanmasının, karaciğer dokusunda $AlCl_3$ maruziyetinin neden olduğu patolojik değişikliklerden bir dereceye kadar koruduğunu ortaya koymuşlardır (Mahmoud vd., 2019). Okerenta ve Anacletus'un, (2016)'da yaptıkları çalışmalarında; 200 mg/kg Al doz uygulaması yaptıkları ratlara Zn, C vitamini gibi antioksidanlar kullandığı araştırmasında karaciğer bölümleri için histolojik inceleme sonucunda ise, bozulmuş karaciğer mimarisi ve sitoplazmanın vakuolizasyonunu ortaya gözlemleyerek, kullanılan antioksidanların çalışmamıza benzer şekilde Al kaynaklı erkek Wistar cinsi rat uygulanmasının, toksik etkisini iyileştirdiğini tespit etmişlerdir (Okerenta ve Anacletus, 2016). Moneim, (2006)'da yaptıkları çalışmada 7 adet rat üzerinde 7 gün oral olarak denedikleri $AlCl_3$ (34 mg/kg) ile indüklenen hepatosit toksisitesini incelediklerinde; histopatolojik olarak çeşitli düzensizlikler, düzensiz CV, hepatositlerin kord düzenlemesi kaybı ve sinuzoidal boşlukların kaybı, vakuollü hepatositler ve nekroz gözlediklerini belirtmişlerdir (Moneim, 2006). Al-Hazmi, (2021)'de yaptıkları araştırmalarında 6 hafta boyunca 1,5 mg/kg $AlCl_3$ dozu uyguladıkları ratlar üzerinde Al^{+3} 'e uzun süre maruz kalmanın sıklıkla hepatik histolojik hücre hasarlarıyla sonuçlandığını bulmuş, hepatositlerin sitoplazmasında aşırı miktarda yağ değişiklikleri

ve keskin vakuolasyon ile piknotik ve dilate sinuzoidal ile karakterize hepatositlerin koagülatif nekrozunu görmüşlerdir (Al-Hazmi, 2021). Xu, vd. (2017)'de yaptıkları çalışmalarında, kırk adet rat üzerinde ve içme sularına 120 gün boyunca sırasıyla eklenen, 128 mg/kg ve 256 mg/kg $AlCl_3$ 'a oral yolla maruz bırakmış, $AlCl_3$ uygulanan gruplarında karaciğer histopatolojisinde; düzensiz hepatosit görünimleri, hücre sınırlarının kaybolduğu belirsizlikler, karyopiknoz oluşumunun ortaya çıktığı karaciğer kordonundaki ciddi dejeneratif düzensizlik değişimleri, intrahepatik kanama ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözleyerek, bu histopatolojik değişikliklerde, $AlCl_3$ 'ün artmasıyla değişimlerin arttığını raporlamışlardır (Xu vd., 2017). Cheraghi ve Roshanaei, (2019)'da yaptıkları uygulamalarında kırk erkek sıçana 28 gün i.p. enjeksiyonlarla $AlCl_3$ (10 mg/kg) uygulanması sonucu karaciğer histolojik yapılarında, portal alanda bozulma ve iltihaplanma, portal vende kırmızı kan hücrelerinin birikimi ve lipid damlacıklarının yanı sıra kanama, dokuda bozulmuş sinuzoidler ve bozulmuş portal alanın oluşumunun ortaya çıktığını belirtmişlerdir (Cheraghi ve Roshanaei, 2019). Hosseini, (2020)'de yaptıkları çalışmalarında kırk rat üzerinde $AlCl_3$ (70 mg/kg, IP) olarak yaptıkları uygulamada $AlCl_3$ 'e maruz bırakılan sıçanların karaciğerinde, ayrıntıları kontrol grubuna kıyasla nekroz, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, vakuolar dejenerasyon ve hipereminin istatistiksel olarak arttığını ($p<0.05$) tespit etmişlerdir (Hosseini, 2020). Hammoud ve Shalaby, (2019) çalışmasında; $AlCl_3$ 'ü 6 hafta boyunca 100 mg/kg vücut ağırlığı dozunda uyguladıklarında karaciğerdeki histopatolojik incelemelerinde Al toksisitesi sonucu ciddi değişiklikler görmüşlerdir. Bunlar; günlük olarak $AlCl_3$ (100 mg/kg) uygulanan rat karaciğeri, hepatositlerde hidropik dejenerasyon, santral vende konjesyon, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ile ilişkili fokal hepatik nekroz ve portal triadda fibroplazi olarak kaydedilmiştir (Hammoud ve Shalaby, 2019). Oda, (2016)'da çalışmasında; 100 mg/kg $AlCl_3$ dozunda Al'a maruz kalmış ratlarda karaciğer dokusunda önemli lenfositik infiltrasyonun eşlik ettiği periportal hepatositik nekroz, Al uygulanan edilen Rat karaciğerlerinde diffüz hepatik hücre vakuolasyonu, hepatik sinuzoidler ve portal damarlarda bozulma ve kanla dolu olması gibi histopatolojik değişimler de tespit etmiştir (Oda, 2016). Bizim çalışmamız kapsamındaki histolojik bulgular, Al'nin literatürde belgelenen patolojik etkileri ile uyumludur. Al uygulanan karaciğer doku kesitlerimizde, apoptoza giden hepatositler, inflamatuvar hücrelerin varlığı ve lipid birikimleri ile steatozun eşlik ettiği hasarlı hepatositler, portal venül epitelyal hücre düzensizlikleri, hücre içeriği boşluğu ve hasarlı

sinuzoidler görülmüştür. Al, Al+CVit, Al+ZnO NP gruplarına göre Al+CVit+ZnO NP grubunda, hücre sınırları daha belirgin, nadiren bazı görüntülerde hepatositler düzensiz sıralanmış, sinuzoidal kanallar daha açık, nadiren apoptoza giden olayların varlığı ile inflamatuvar hücre infiltrasyonları ve lipid damlacıkları gözlenmiştir. Bu durumdaki gözlenen sonuca göre, Al'e ilave C Vit ve ZnO NP'ünün kombine uygulanmasının histopatolojik deformasyonları azalttığı gösterilmiştir.

Al kaynaklı genotoksitesi üzerinde yapılan araştırmalarda ise, Al ve Al nanoparçacıklarına maruz kalmanın hepatositlerde yüksek seviyelerde DNA hasarına neden olduğunu göstermektedir. Bu hasarın oluşumu ise; genotoksite biyobelirteci olan 8-OHdG ve comet assay testleri ile anlaşılabilmektedir (Temiz ve Kargın, 2021; Borai, 2017). Kuyruklu yıldız tahlili olarak da adlandırılan tek hücreli jel elektroforez tahlili (SCGE), tek ve çift DNA sarmal kırılmalarının ve tek tek hücrelerde alkali kararsız bölgelerin tespit edilmesini sağlar. Bu tahlil, zincir kırıkları içeren DNA'nın, bir elektrik alanının uygulanması üzerine bozulmamış DNA'ya göre agaroz jelde daha hızlı göç edebildiği şeklindeki basit prensibe dayanmaktadır. Bu nedenle, DNA hasarının boyutu, test malzemelerine maruz kaldıktan sonra görselleştirilen kuyruklu yıldız "kuyruğunun" uzunluğu ile doğrudan ilişkilidir. Bir floresan boya (Cyber Green) ile boyama, kuyruklu yıldız kuyruklarının görselleştirilmesini sağlar ve bu yapıların çeşitli parametreleri tipik olarak görüntü analiz yazılımı kullanılarak belirlenir ve daha sonra hem kuyruk uzunluğu hem de dağılım tarafından tanımlanan olive kuyruk momentini (OTM) DNA'nın kuyruk parametrelerinde hesaplamak için kullanılır (Kumaravel ve Jha, 2006; Hillegass, vd., 2009). Hassas ancak basit ve ekonomik bir tekniktir. 1984'te Ostling ve Johnson, nötr koşullar altında bir elektrik alanına maruz kalan çekirdeklerden DNA şeritlerinin göç ettiğini göstermiştir. Bununla birlikte Aynı şekilde DNA hasarı için; 8-OHdG ilk olarak 1984'te ısıtılmış şeker, fenton tipi reaktifler ve in vitro X-ışınlanması ile oksidatif DNA hasar ürününün ana formu olarak raporlanmıştır. Dolayısıyla hücresel DNA'daki 8-OHdG seviyesindeki artışın, immünokimyasal tespiti DNA hasarını da ortaya koymaktadır (Kasai vd., 1984; Kasai ve Nishimura, 1984; Kasai, 1997; Ostling ve Johnson, 1984). •OH, nükleik asit hasarında kritik bir rol oynar. Fenton reaksiyonu ile üretilen •OH, DNA ile hidrojen çıkarma veya ekleme yoluyla reaksiyona girerek DNA zincirinin bozulmasına neden olur ve deoksiguanozin 8-OHdG'e dönüşür (Das vd., 2015; Shibutani vd., 1991). Çalışmamızdaki; Comet Assay bulgularımızda, Al grubundaki DNA hasarı, kontrol

grubundaki DNA hasarıyla kıyaslandığında yaklaşık olarak 4 kat artış göstermiştir. Al grubuna göre Al+ZnONP, Al+CVit+ZnO NP gruplarında yaklaşık %73'lük DNA hasarı azalmasıyla anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna göre, Al+ZnONP, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, CVit+ZnO NP grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir. Benzer şekilde 8-OHdG immünreaktivitesine bakıldığında kontrol grubu kesitlerinde gözlenebilen bir nükleer 8-OHdG sinyali bulunamamıştır. Al grubuna göre, Al+ZnONP, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında 8-OHdG sinyalinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Kontrol, Al+ZnO NP, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında ise anlamlı bir immünofloresan ışıma gözlenmemiş olup, bu grupların Al grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Al+CVit deney gruplarında kontrole oldukça yakın, fakat anlamlı düzeyde daha yüksek bir immünreaktivite saptanmıştır. Bu durum Al toksisitesine maruz bırakılan hayvanlara ZnO NP ve C Vit in kombine şekilde uygulanmasının OS kaynaklı genotoksisiteyi önlemede etkili olduğunu göstermektedir. Comet analizinde saptanan Al+CVit+ZnO NP grubu ile 8-OHdG'deki sonuçların birbiriyle tutarlı olduğu kanıtlanmıştır, bu da C Vit+ZnO NP uygulamasının ardından Al'nin genotoksitesinin azaldığını göstermektedir. Bu anlamda elde ettiğimiz sonuçlar yapılan diğer literatür çalışmalarıyla uyumlu bulunmuştur. Jalili vd., (2020)'de yaptıkları araştırmalarında; Erkek Sprague-Dawley farelerine 6, 12.5 ve 25 mg/kg AlCl₃ arka arkaya üç gavaj yoluyla uygulama yapmış ve kontrol grubuna göre karaciğer dokusunda gerçekleşen DNA zincir kırıklarını comet testi ile gözlemlemiştir. Deney sonucunda comet artışı ile DNA hasarı tespit etmişlerdir (Jalili vd., 2020). Samir ve Rashed, (2017)'de yaptıkları çalışmalarında; 96 erkek bireyde, mesleki maruziyet yoluyla maruz kaldıkları Al tozu ve dumanına ve Al'a maruz kalmamış aynı cinsiyetteki 96 işçinin plazmasındaki total antioksidan kapasitesi (TAC), idrar 8-OHdG testi ve comet analizi sonucunda; Al'a maruz kalmanın kontrol grubuna göre OS'i ve DNA hasarını indüklediğini tespit etmişlerdir (Samir ve Rashed, 2017).

DNA hasarı, genomik bütünlüğe meydan okuyan sürekli bir stres kaynağıdır. Genomlarımızın aslına sadık bir şekilde kopyalanmasını sağlamak için mekanizmalar, kopyalama sırasında karşılaşılan hasarla başa çıkacak şekilde gelişmiştir (Leung vd., 2018). Hücreler, replikasyon sırasında karşılaşılan lezyonları atlamak için DNA hasar toleransı (DDT) yollarını kullanır. DDT sırasında PCNA'da kullanılır; DNA'yı çevreleyen DNA polimerazların bir kofaktörü olan çoğalan hücre nükleer

antijeni (PCNA), çok önemli oyuncularını replikasyon çatalına alarak bu işlevlerin birçoğunu düzenler. PCNA, polimerazları fiziksel olarak DNA'ya bağlayarak hücre döngüsü kontrolü ve onarımında yer alan replikasyon faktörleri ve proteinler için bir yükleme platformu görevi görür. Doğru DNA replikasyonu, genom stabilitesi ve hücre homeostazı için gereklidir (Warbrick, 2000; Moldovan vd., 2007). Kupffer hücreleri, toksik ve kanserojen maddelere karşı hepatik yanıtta merkezi bir rol oynar ve toksik maddeler hepatosit hücre proliferasyonunu arttırarak kupffer hücrelerinin artışını sayıca aktive eder (Roberts vd., 2006). Bu hücreler, mononükleer fagositik sistemin kritik bir bileşenidir ve patojenlere karşı hem hepatik hem de sistemik yanıtın merkezinde yer alır. Kupffer hücreleri hem karaciğer hasarının hem de onarımının kritik araçları olarak ortaya çıkarlar (Dixon vd., 2013). Bogdanovic vd., (2008)'de yaptıkları çalışmada intraperitoneal olarak 100 mg mL⁻¹ konsantrasyonunda (uygulama başına 50 mg Al) Al'a maruz kalan farelerde, uygulama sonucu elde edilen bulgularında fare karaciğerinin sinuzoidlerinde kupffer hücrelerinde artış tespit etmişlerdir (Bogdanovic vd., 2008). Balubaid, (2010)'da emziren anne ratlar üzerinde yaptığı çalışmasında; AlCl₃ (10 mg/kg/gün) kullanılmış, diğer bir gruba ise benzer miktarda Zn'ye ek olarak AlCl₃ kullanmış ve Zn ve Al ile tedavi edilen grup, anne ve rat bebeklerin çoğu dokusunda (karaciğer ve akciğer) önemli iyileşme ve Al gruplarında daha fazla kupffer hücre artışı görmüş ve Zn'nin koruyucu etkisi bildirilmiştir (Balubaid, 2010). El-Gerbed (2015)'de yaptığı çalışmasında kırk adet erkek albino sıçanda 2 haftalık gavaj uygulaması sonunda C vitamini (100 mg/kg) uygulamasının, hepatik dokuda OS ve PCNA aktivitesinin önemli ölçüde tersine çevrildiğini göstermiştir (El-Gerbed, 2015). Çalışmamız da diğer çalışmalarla benzer bir şekilde PCNA ekspresyonunun, kontrol grubuna göre anlamlı olarak Al, Al+ZnO NP, Al+CVit, gruplarında arttığını göstermiştir. Ancak, Al+CVit+ZnO NP grubu neredeyse kontrol grubu ile aynı düzeydedir. Diğer çalışmalarda da olduğu gibi çalışmamızda; Al grubunda genel anlamda kupffer hücre yoğunluklu arka plan ışıması gözlenmiştir. Al+ZnO NP grubunda, kupffer hücre ışıması diğer iki gruba göre PCNA ekspresyonunu daha da azaldığı ve Al grubuyla Al+CVit gruplarına göre proliferasyonun daha da azaldığı tespiti yapılmıştır. Al+CVit+ZnO NP grubunda ise PCNA ekspresyonunun oldukça düştüğü kontrol, Al+CVit+ZnO NP, C Vit, ZnO NP, C Vit+ZnO NP gruplarında ışıma oranının neredeyse aynı seviyede olduğu görülmüştür. Bu bilgiler ışığında, hücreler OS'e maruz kaldığında genom stabilitesinin tehlikeye girdiği görülmektedir. OS, DNA

hasarı ve kontrolsüz hücre proliferasyonu yoluyla genomik istikrarsızlık yaparak karsinojeneze neden olduğundan, OS yanıtının BRCA1 tarafından düzenlenmesinin, BRCA1 tümör baskılama döngüsünün bir çarkını da oluşturduğu bilinir (Yi vd., 2014). BRCA1'in aktivasyonu ise sitoplazma ve çekirdekte lokalize olarak bulunmaktadır. Bu gen, DNA hasarına yanıt olarak çekirdekte DNA onarımına ve transkripsiyonel düzenlemeye katkıda bulunur. Son çalışmalar, BRCA proteinlerinin kromozomal stabilitenin korunması için gerekli olduğunu ve böylece genomu hasardan koruduğunu göstermektedir (Yoshida ve Miki, 2004). Çalışmamızda; Al uygulanan gruptaki kupffer hücrelerinin ve hücre sitoplazmasındaki PCNA verilerinde olduğu gibi BRCA1 ekspresyonunun indüklendiği gözlenmiştir. Al gruplarındaki yüksek OS ve toksik etki nedeniyle BRCA1 üretiminin arttığı düşünülmektedir. Al+ZnO NP ve Al+CVit gruplarında, kupffer hücrelerinde ve hücre sitoplazmasında, bu hücrelerdeki DNA hasarına karşı onarıcı yanıt nedeniyle BRCA1 ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. Al+CVit+ZnO NP grubunda, BRCA1'in floresan sinyali Al grubundan anlamlı olarak daha düşük ve kontrol grubuyla benzer çıkmıştır. Bununla beraber, C Vit, ZnO NP ve C Vit+ZnO NP gruplarında BRCA1 immünfloresansı saptanmamıştır. Mevcut çalışmadaki bulgular, C Vit ve düşük doz uygulanan ZnO NP'nin koruyucu etkileri ve antioksidan etkinliği ile ilgili önceki çalışmaların bulguları ile uyumludur. Moleküler yapıdaki etkileşimler, hücredeki moleküllerin yapısında ve aktivitesinde değişikliğe neden olabilsede, C Vit ve ZnO NP kombinasyon terapisinin, karaciğerde Al tarafından indüklenen oksidatif hasarı azaltmak için etkili olduğunu bulunmuştur. Bu sonuçların, Al kaynaklı OS'le bağlantılı doku ve organ hasarlarının düzenlenmesi açısından gelecekte yapılacak C Vit ve ZnO NP bazlı tedavi ve ilaç tasarımı çalışmaları için literatüre önemli bir katkı sağlayacağı aynı zamanda bu tedavinin nörodejenetatif hastalıklar üzerindeki etkilerinin de detaylı olarak araştırılmasının Alzheimer, Parkinson ve Demans gibi hastalıkların düzenlenmesi konularında umut vadeden sonuçlar ortaya koyabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abbasali, K.M., Zhila, T. ve Farshad, N. (2005). Developmental toxicity of aluminum from high doses of AlCl₃ in Mice. J Appl Res. 5, 575-579.
- Abreo, K. ve Glass, J. (1993). Cellular, biochemical, and molecular mechanisms of aluminium toxicity. Nephrology Dialysis Transplantation, 8(supp1), 5-11.
- Achary, V.M.M., Jena, S., Panda, K.K. ve Panda, B.B. (2008). Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. Ecotoxicology and Environmental Safety, 70(2), 300–310.
- Aebi, H. (1974). Catalase. Methods of Enzymatic Analysis, 673–684.
- Aita, N.A.A. (2014). Hepatoprotective effect of *Spirulina platensis* against aluminum chloride induced liver damage in rats. Global Veterinaria 13 (4): 552-559, 2014 ISSN 1992-6197.
- Akbulut G, Çiftci H, Yıldız E. Sindirim sistemi hastalıkları ve beslenme tedavisi. Ankara Klasmat Matbaacılık. 2008.
- Akinpelu M., Gamade S., M., Akinbo F., Adeniyi T.D., Elizebeth A.F. ve Obeagu E.I., (2023). Histopathological and biochemical effect of Vitamin C and D on phosphine-induced hepatotoxicity in Wistar rats. Asian Journal of Dental and Health Sciences. 2023; 3(2):18-22
- Alfrey, A.C. (1983). Aluminum. Advances in Clinical Chemistry Volume 23, 69–91.
- Al-Hazmi, M.A., Rawi, S.M. ve Hamza, R.Z. (2021). Biochemical, histological, and neuro-physiological effects of long-term aluminum chloride exposure in rats. Metabolic Brain Disease, 36(3), 429–436.
- Ali, A.A., Ahmed, H.I. ve Abu-Elfotuh, K. (2016). Modeling stages mimic Alzheimer's disease induced by different doses of aluminum in rats: focus on progression of the disease in response to time. of, 11, 2.
- Allen, S.E. (2002). The liver: Anatomy, Physiology, Disease and Treatment. North. Eastern University Press, USA. Human Anatomy & Physiology, pp 3-11.
- Al-Temimi A.A., Al-Mossawi A.E.B., Al-Hilifi S.A., Korma S.A., Esatbeyoglu T., Rocha J.M. ve Agarwal V. (2023). Glutathione for food and health applications with emphasis on extraction, identification, and quantification methods: A Review. Metabolites. 2023; 13(4):465.

- Altıkardeş, G.Ç., (2016). Aluminyum sülfatın sıçan hippocampus hücre popülasyonlarına etkisi ve melatoninin koruyucu rolü: bir stereoloji ve elektron mikroskopi çalışması, Pamukkale Üniversitesi, Uzmanlık Tezi.
- Anand, R., Kumari, P., Kaushal, A., Bal, A., Wani, W. Y., Sunkaria, A., Dua R., Singh S., Bhalla A. ve Gill, K.D. (2012). Effect of acute aluminum phosphide exposure on rats. A biochemical and histological correlation. *Toxicology Letters*, 215(1), 62–69.
- Andrási, E., Farkas, É., Scheibler, H., Réffy, A. ve Bezúr, L. (1995). Al, Zn, Cu, Mn and Fe levels in brain in Alzheimer's disease. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 21(1), 89–97.
- Applerot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A. ve Banin, E. (2012). Understanding the antibacterial mechanism of CuO Nanoparticles: Revealing the Route of Induced Oxidative Stress. *Small*, 8(21), 3326–3337.
- Archibald, F.S. ve Fridovich, I. (1982). The scavenging of superoxide radical by manganous complexes: In vitro. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 214(2), 452–463.
- Arrigoni, O. ve De Tullio, M. C. (2002). Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1569(1-3), 1–9.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), (2007). Notice of the revised priority list of hazardous substances that will be the subject of toxicological profiles. *Fed. Regist.* 2007; 73:12178-12179.
- Aziz, I. ve Zabut, B. (2011). Determination of blood indices of albino rats treated with aluminum chloride and investigation of antioxidant effects of vitamin E and C. *Egyptian Journal of Biology*, 13(1).
- Bae, I., Fan, S., Meng, Q., Rih, J.K., Kim, H.J., Kang, H.J., Rosen, E.M., Xu J., Goldberg I.D. ve Jaiswal A.K. (2004). BRCA1 Induces Antioxidant Gene Expression and Resistance to Oxidative Stress. *Cancer Research*, 64(21), 7893–7909.
- Balubaid, S.O. (2010). The protective effect of zinc against the histopathological lesions of aluminum on some organs of mothers and lactating white rats. *Egypt. J. Exp. Biol. (Zool.)*, 6(1): 151 – 158.

- Bancroft, J.D. ve Gamble, M. (Eds.). (2008). Theory and practice of histological techniques. Elsevier health sciences. 8th Edition. ISSN: 9780702068645
- Bao, B., Ahmad, A., Azmi, A., Li, Y., Prasad, A. ve Sarkar, F.H. (2014). The Biological Significance of Zinc in Inflammation and Aging. *Inflammation, Advancing Age and Nutrition*, 15–27.
- Barabasz, W., Albinska D., Jaskowska M. ve Lipiec J. (2002). Ecotoxicology of Aluminium. *Pol J Environ Stud* 11(3): 199–203.
- Bashandy, S.A.E., Alaamer, A., Moussa, S.A.A. ve Omara, E.A. (2018). Role of zinc oxide nanoparticles in alleviating hepatic fibrosis and nephrotoxicity induced by thioacetamide in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 96(4), 337–344.
- Bates, D.A.A. (2023). The antioxidant glutathione. *Vitamins and Hormones*. Volume 121, 2023, Pages 109-141.
- Bazhin, Y.V., Aleksandrova T.A., Kotova E.L.ve Suslov A.P. (2019). A Modern View of Anomalies in the Metal Groups of the Periodic System of D.I.Mendeleev Vladimir. Saint-Petersburg Mining University, Saint-Petersburg, Russia.
- Becaria, A., Campbell, A. ve Bondy, S.C. (2002). Aluminum as a toxicant. *Toxicology and Industrial Health*, 18(7), 309-320.
- Bedwell, S., Dean, R. T. ve Jessup, W. (1989). The action of defined oxygen-centred free radicals on human low-density lipoprotein. *Biochemical Journal*, 262(3), 707–712.
- Beers, R.F. ve Sizer, I.W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of biological chemistry*, 195(1), 133-140.
- Bello, B. D., Paolicchi, A., Comporti, M., Pompella, A. ve Maellaro, E. (1999). Hydrogen peroxide produced during γ -glutamyl transpeptidase activity is involved in prevention of apoptosis and maintenance of proliferation in U937 cells. *The FASEB Journal*, 13(1), 69–79.
- Bertini, I. ve Cavallaro, G. (2007). Metals in the “omics” world: copper homeostasis and cytochrome c oxidase assembly in a new light. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 13(1), 3–14.
- Betholf, R.L. (1988). Zinc. In: Seiler HG, editor. *Handbook Toxicology of Inorganic Compounds*. New York: Siegel Dekker. p 788.

- Beyersmann, D. (2002). Homeostasis and cellular functions of zinc. *Materwiss Werksttech.* 2002;33(12):764–769.
- Bhasin, P., Singla, N. ve Dhawan, D.K. (2012). Protective role of zinc during aluminum-induced hepatotoxicity. *Environmental Toxicology*, 29(3), 320–327.
- Bielski, B.H.J. ve Cabelli, D.E. (1995). Superoxide and hydroxyl radical chemistry in aqueous solution. *Active Oxygen in Chemistry*, 66–104.
- Bisht, S., Bhakta, G., Mitra, S. ve Maitra, A. (2005). pDNA loaded calcium phosphate nanoparticles: highly efficient non-viral vector for gene delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 288(1), 157–168.
- Bogdanovic, M., Janeva A.B. ve Bulat P. (2008): Histopathological changes in rat liver after a single high dose of aluminium. *Arh. Hig. Rada.Toksikol.*, 59(2):97101.
- Borai, I.H., Ezz, M.K., Rizk, M.Z., Aly, H.F., El-Sherbiny, M., Matloub, A.A. ve Fouad, G.I. (2017). Therapeutic impact of grape leaves polyphenols on certain biochemical and neurological markers in $AlCl_3$ -induced Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 837–851.
- Borm, P.J.A. ve Kreyling, W. (2004). Toxicological Hazards of Inhaled Nanoparticles—Potential Implications for Drug Delivery. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 4(5), 521–531.
- Böckmann J., Lahl H., Eckert T., Unterhalt B. (2000). Titanium blood levels of dialysis patients compared to healthy volunteers. *Pharmazie* 2000;55:468-76.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bravo, R. ve Celis, J.E. (1982). Up-dated catalogue of HeLa cell proteins: percentages and characteristics of the major cell polypeptides labeled with a mixture of 16 ^{14}C -labeled amino acids. *Clinical Chemistry*, 28(4), 766–781.
- Bray, T.M. ve Bettger, W.J. (1990). The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(3), 281–291.
- Brenner, S. (2012). Aluminum may mediate Alzheimer's disease through liver toxicity, with aberrant hepatic synthesis of ceruloplasmin and Atpase7b, the resultant excess free copper causing brain oxidation, Beta-Amyloid Aggregation and Alzheimer Disease. *Medical Hypotheses*, 80(3), 326–327.

- Buzea, C., Pacheco, I.I., ve Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17–MR71.
- Cadenas, E. ve Davies, K.J.A. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging¹¹This article is dedicated to the memory of our dear friend, colleague, and mentor Lars Ernster (1920–1998), in gratitude for all he gave to us. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3-4), 222–230.
- Caldecott, K.W. (2008). Single-strand break repair and genetic disease. *Nature Reviews Genetics*, 9(8), 619–631.
- Campbell A., Becaria A., Lahiri D.K., Sharman K., Bondy S.C. (2004). Chronic exposure to aluminum in drinking water increases inflammatory parameters selectively in the brain. *J Neurosci Res*, 75, 565-72.
- Carr, A.C. ve Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1086–1107.
- Caster, J.M., Patel, A.N., Zhang, T. ve Wang, A. (2016). Investigational nanomedicines in 2016: a review of nanotherapeutics currently undergoing clinical trials. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(1), e1416.
- Cavusoglu, C.A., Kilic, Y. ve Saydam, S., (2009). Predicting invasive phenotype with CDH1, CDH13, CD44, and TIMP3 gene expression in primary breast cancer, *Cancer Science*, vol. 100, no. 12, pp. 2341–2345, 2009.
- Cerutti, P. (1985). Prooxidant states and tumor promotion. *Science*, 227(4685), 375–381.
- Chainy G.B., Samanta L. ve Rout N.B. (1996). Effect of aluminum on superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation of rat liver. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1996 Nov;94(2):217-20.
- Chase J., Wehrle, Anup Kasi (2021). *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Liver Hamilton Vernon*; Last Update: July 31, 2021.
- Chaudhary P., Janmeda P., Docea A.O., Yeskaliyeva B., Abdull Razis A.F., Modu B., Calina D. ve Sharifi-Rad J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front. Chem*. 11:1158198
- Chaudière, J. ve Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular Antioxidants: from chemical to biochemical echanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9-10), 949–962.

- Cheraghi E. ve Roshanaei, K. (2019). The Protective Effect of Curcumin Against Aluminum Chloride-Induced Oxidative Stress and Hepatotoxicity in Rats. *Pharmaceutical and Biomedical Research*, 5(1), 11–18.
- Chisholm, K.M., Goff, B.A., Garcia, R., King, M.C. ve Swisher, E.M. (2008). Genomic structure of chromosome 17 deletions in BRCA1-associated ovarian cancers. *Cancer genetics and cytogenetics*, 183(1), 41–48.
- Chong, S.B., Fan, W., Han S.Z. ve Yan F.L. (2012). Effects of Subchronic Aluminum Exposure on Liver Function in Rats. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, 19(2), 62–65.
- Chronopoulos, J., Haidouti, C., Chronopoulou-Sereli, A. ve Massas, I. (1997). Variations in plant and soil lead and cadmium content in urban parks in Athens, Greece. *Science of The Total Environment*, 196(1), 91–98.
- Clements, M.O., Watson, P.S. ve Foster, J.S. (1999) Characterization of the Major Superoxide Dismutase of *Staphylococcus aureus* and Its Role in Starvation Survival, Stress Resistance, and Pathogenicity. *J Bacteriol.* 1999 Jul; 181(13): 3898–3903.
- Collin, F. (2019). Chemical Basis of Reactive Oxygen Species Reactivity and Involvement in Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2407.
- Comporti, M. (2010). Free Radicals, Oxidative Stress And Antioxidants. *Journal of the Siena Academy of Sciences*, 2(1).
- Crapper, D.R. ve De Boni, U. (1980). Aluminum. In Spencer, S.S. and Schaumburg H.H., editors, *Experimental and clinical neurotoxicology*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 326-35.
- Crisponi, G., Fanni, D., Gerosa, C., Nemolato, S., Nurchi, V.M., Crespo-Alonso, M., Lachowicz J.I., Faa, G. (2013). The meaning of aluminium exposure on human health and aluminium-related diseases. *BioMolecular Concepts*, 4(1).
- Daouk, E.L.S., Pineau, A., Taha, M., Ezzeddine, R., Hijazi, A. ve Al Iskanda, M. (2020). Aluminum exposure from food in the population of Lebanon. *Toxicology Reports*, 7, 1025–1031.
- Das, T.K., Wati, M.R. ve Fatima-Shad, K. (2015). Oxidative stress gated by Fenton and Haber Weiss reactions and its association with Alzheimer's disease. *Archives of Neuroscience*, 2(2).

- Davies, K. (2001). Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems. *IUBMB Life*, 50(4), 279–289.
- Davies, K.J.A. (2000). Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems. *IUBMB Life*, 50(4), 279–289.
- Dawei, A.I., Zhisheng, W. ve Anguo, Z. (2009). Protective effects of Nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in in vitro against oxidative injury. *J. Anim. Vet. Adv.* 8(10): 1964-1967. [Researchgate.net./237763313](https://www.researchgate.net/publication/237763313).
- De Grey, A.D.N.J. (2002). HO₂•: The Forgotten Radical. *DNA and Cell Biology*, 21(4), 251–257.
- De Tullio, M.C. (2004) How does ascorbic acid prevent scurvy? A survey of the nonantioxidant functions of vitamin C. In: Asard H, May J, Smirnoff N (eds) *Vitamin C, its functions and biochemistry in animals and plants*. Bios Scientific Publishers, Oxford, UK, pp 159–172.
- De Tullio, M.C. (2011). Beyond the Antioxidant: The Double Life of Vitamin C. *Water Soluble Vitamins*, 49–65.
- Demerdash, E.F.M. (2004). Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18(1), 113–121.
- Dixon, D.P., Laphorn, A. ve Edwards, R. (2002). *Genome Biology*, 3(3), reviews3004.1.
- Dixon, L.J., Barnes, M., Tang, H., Pritchard, M.T. ve Nagy, L.E. (2013). Kupffer Cells in the Liver. *Comprehensive Physiology*.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M. ve Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement 1,2 1This article is part of a series of reviews on “Oxidative DNA Damage and Repair.” The full list of papers may be found on the homepage of the journal. 2Guest Editor: Miral Dizdaroglu. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1102-1115.
- Donaldson, K. ve Stone, V. (2003). Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles. *Reviews, Ann Ist Super Sanita*. 2003;39(3):405-10.
- EFSA. (2008). Safety of aluminium from dietary intake - Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA Journal*, 6(7).

- El-Gerbed, M.S. (2015). Hepatoprotective Effect Of Vitamin C On Capecitabine-Induced Liver Injury In Rats. *Egypt. J. Exp. Biol. (Zool.)*, 11(1): 61 – 69 (2015).
- El-Maraghy, S.A., Gad, M.Z., Fahim, A.T. ve Hamdy, M.A. (2001). Effect of Cadmium and Aluminum Intake on the Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Rat Tissues. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 15(4), 207–214.
- Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M. ve Soleimani-Zad, S. (2011). Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. *Food Control*, 22(3-4), 408–413.
- Ergul, Y., Erkan, T., Uzun, H., Genc, H., Altug, T. ve Erginoz, E. (2010). Effect of vitamin C on oxidative liver injury due to isoniazid in rats. *Pediatrics International*, 52(1), 69–74.
- Espitia P.J.P., Soares, N.F.F., Coimbra, J.S. Dos R., De Andrade, N.J., Cruz, R.S. ve Medeiros, E.A.A. (2012). Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1447–1464.
- Evans, M.D., Dizdaroglu, M. ve Cooke, M.S. (2004). Oxidative DNA Damage and Disease: Induction, Repair and Significance. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 567(1), 1–61.
- Exley, C. (1998). Does antiperspirant use increase the risk of aluminium-related disease, including Alzheimer's disease? *Molecular Medicine Today*, 4(3), 107–109.
- Exley, C. (2004). The pro-oxidant activity of aluminum. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(3), 380–387.
- Exley, C. (2013). Human exposure to aluminium. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 15(10), 1807–1816.
- Exley, C. (2016). The Toxicity of Aluminium in Humans. *Morphologie*, volume 100, issue 329, 51-55.
- Exley, C. ve House E.R. (2011). Aluminium in the human brain. *Monatsh Chem* 2011;142(4): 357-63
- Faa, G. (2013). The meaning of aluminium exposure on human health and aluminium-related diseases. *BioMolecular Concepts*, 4(1).

- Faddah, L.M., Baky, N.A.A., Mohamed, A.M., Al-Rasheed, N.M., ve Al-Rasheed, N.M. (2013). Protective effect of quercetin and/or l-arginine against nano-zinc oxide-induced cardiotoxicity in rats. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(4).
- Farombi, E.O. ve Onyema, O.O. (2006). Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Human & Experimental Toxicology*, 25(5), 251–259.
- Fatemi, S.J., Kadir, F.H.A. ve Moore, G.R. (1991). Aluminium Transport in Blood Serum. Binding of Aluminium By Human Transferrin in The Presence of Human Albumin and Citrate. *Biochemical Journal*, 280(2), 527–532.
- Fatima, Z.T., Monya, L., Nadia, A.H., Zineb, T. ve Abdelkader, A. (2016). Protective effect of *Haloxylon salicornicum* on hepatic and renal functions of Wistar rats exposed to aluminium. *African Journal of Biotechnology*, 15(9), 293–302.
- Fedorova, M., Kuleva, N. ve Hoffmann, R. (2010). Identification, Quantification, and Functional Aspects of Skeletal Muscle Protein-Carbonylation in Vivoduring Acute Oxidative Stress. *Journal of Proteome Research*, 9(5), 2516–2526.
- Fekete, V., Deconinck, E., Bolle, F. ve Van Loco, J. (2012). Modelling aluminium leaching into food from different foodware materials with multi-level factorial design of experiments. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(8), 1322–1333.
- Fenton, H.J.H. (1894). LXXIII.—Oxidation of Tartaric Acid in Presence of Iron. *J. Chem. Soc., Trans.*, 65(0), 899–910.
- Filipe, P., Silva J.N., Silva R., Cirne de Castro J.L., Marques Gomes M., Alves L.C., Santos R. ve Pinheiro T. (2009). Stratum corneum is an effective barrier to TiO₂ and ZnO nanoparticle percutaneous absorption. *Skin Pharmacol Physiol* 2010;22:266–75.
- Fridovich, I. (1981). Superoxide Radical and Superoxide Dismutases. *Oxygen and Living Processes*, 250–272.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide Radical and Superoxide Dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 64(1), 97–112.
- Fridovich, I. (1998). Oxygen toxicity: A radical explanation. *J. Exp. Biol.* 1998;201:1203–1209.
- Ganrot, P.O. (1986). Metabolism and Possible Health Effects of Aluminum. *Environmental Health Perspectives*, 65, 363.

- Gao, F., Kinnula, V.L., Myllärniemi, M. ve Oury, T.D. (2008). Extracellular Superoxide Dismutase in Pulmonary Fibrosis. *Antioxidants & Redox Signaling*, 10(2), 343–354.
- Gao, S., Wang, X., Wang, S., Zhu, S., Rong, R. ve Xu, X. (2017). Complex effect of zinc oxide nanoparticles on cadmium chloride-induced hepatotoxicity in mice: protective role of metallothionein. *Metallomics*, 9(6), 706–714.
- Gitto, E., Reiter, R.J., Karbownik, M., Tan, D., Gitto, P., Barberi, S., Barberi, I. (2002). Causes of Oxidative Stress in the Pre- and Perinatal Period. *Neonatology*, 81(3), 146–157.
- Giulivi, C., Boveris, A. ve Cadenas, E. (1995). Hydroxyl radical generation during mitochondrial electron transfer and the formation of 8-hydroxy-desoxyguanosine in mitochondrial DNA. *Arch. Biochem. Biophys.* 316:909–916; 1995.
- Giustarini, D., Milzani A., Dalle-Donne I., Rossi R. (2023). How to Increase Cellular Glutathione. *Antioxidants*. 2023; 12(5):1094.
- Goyer, R.A. (1997). Toxic and Essential Metal Interactions. *Annual Review of Nutrition*, 17(1), 37–50.
- Green, C.J., Knight, J., Precious, S. ve Simpkin, S. (1981). Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. *Laboratory Animals*, 15, 163-170.
- Greger, J.L. (1992). Dietary And Other Sources of Aluminium İntake. *Aluminium in Biology And Medicine*, 26-49.
- Griffith, O.W. (1999). Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), 922–935.
- Gu, X. ve Manautou, J.E. (2012). Molecular Mechanisms Underlying Chemical Liver Injury. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 14, e4.
- Haber, F. ve Weiss, J. (1934). The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc R Soc London (A)*. 1934;147:332–51 ve *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, Vol. 147, No. 861 (Nov. 15, 1934), pp. 332-351
- Habig, W.H., Pabst, M.J. ve Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-Transferases. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.

- Halliwell, B. (1987). Oxidants and human disease: some new concepts. *The FASEB Journal*, 1(5), 358–364.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th ed., Oxford University Press, New York, 2007.
- Hammoud, G.M. ve Shalaby, R.A. (2019). Experimental evaluation of protective action of resveratrol against aluminum-induced toxicity in male rats. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* ISSN: 2348-8069. Volume6, Issue1-2019.
- Han, S., Lemire, J., Appanna, V.P., Auger, C., Castonguay, Z. ve Appanna, V.D. (2013). How aluminum, an intracellular ROS generator promotes hepatic and neurological diseases: the metabolic tale. *Cell Biology and Toxicology*, 29(2), 75–84.
- Harrison, F.E., Hosseini, A.H., Dawes, S.M., Weaver, S. ve May, J.M. (2009). Ascorbic acid attenuates scopolamine-induced spatial learning deficits in the water maze. *Behavioural brain research*, 205(2), 550-558.
- Hassani, K.M. (2022). Liver Structure, Function and its Interrelationships with Other Organs: A Review. *International Journal Dental and Medical Sciences Research*. Volume 4, Issue 1, Jan-Feb 2022 pp 88-92.
- Higgs, M.R., Chouteau, P. ve Lerat, H. (2014). “Liver let die”: oxidative DNA damage and hepatotropic viruses. *Journal of General Virology*, 95(Pt_5), 991–1004.
- Hillegass, J.M., Shukla, A., Lathrop, S.A., MacPherson, M.B., Fukagawa, N.K. ve Mossman, B. T. (2009). Assessing nanotoxicity in cells in vitro. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2(3), 219–231.
- Hissin, P.J. ve Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry*, 74(1), 214–226.
- Ho, E. (2004). Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(10), 572–578.
- Hoegel, C., Pfander, B., Moldovan, G.L., Pyrowolakis, G. ve Jentsch, S. (2002). RAD6-dependent DNA repair is linked to modification of PCNA by ubiquitin and SUMO. *Nature*, 419(6903), 135–141.
- Hoet, P.H., Bröske-Hohlfeld, I. ve Salata, O. V. (2004). Nanoparticles-known and unknown health risks. *Journal of Nanobiotechnology*, 2(1), 12.

Hosseini, S.M., Hejazian, L.B., Amani, R. ve Siahchehreh B.N. (2020). Geraniol attenuates oxidative stress, bioaccumulation, serological and histopathological changes during aluminum chloride-hepatopancreatic toxicity in male Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 20076–20089.

http-1 <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp22.pdf>. (Erişim tarihi: 18.01.2023).

http-2 <https://www.us-nano.com/inc/sdetail/355> (Erişim tarihi: 18.01.2023).

http-3-<https://medlineplus.gov/genetics/gene/brca1/#function>.(Erişimtarihi: 01.04.2023).

Hu, H., Guo, Q., Fan, X., Wei, X., Yang, D., Zhang, B. ve Gu, N. (2019). Molecular mechanisms underlying zinc oxide nanoparticle induced insulin resistance in mice. *Nanotoxicology*, 1–18.

Hua, Q.T., Min, X., Qian, R., Ru W.J., Qi J.L., ve Li, Y. (2016). The effect of ZnO nanoparticles on liver function in rats. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 11, 4275–4285.

Igbokwe, I.O., Igwenagu, E. ve Igbokwe, N.A. (2019). Aluminium Toxicosis: A Review Of Toxic Actions And Effects (Review Article). *Interdiscip Toxicol.* 2019 Oct; 12(2): 45–70.

Ighodaro, O. M. ve Akinloye, O. A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*.

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B. ve Beeregowda, K.N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60–72.

Jalili, P., Huet S., Lanceleur, R., Jarry, G., Le Hegarat, L., Nesslany, F., Hogeveen, K., Fessard V. (2020). Genotoxicity of Aluminum and Aluminum Oxide Nanomaterials in Rats Following Oral Exposure. *Nanomaterials*, 10(2), 305.

Jang, E.R. ve Lee, J.S. (2004). DNA Damage Response Mediated through BRCA1. *Cancer Research and Treatment*, 36(4), 214. doi:10.4143/crt.2004.36.4.214

Jena, A.B, Samal, R.R, Bhol, N.K ve Duttaroy, A.K. (2023). Cellular Red-Ox system in health and disease: The latest update. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Volume 162, June 2023, 114606.

- Jiricny, J. (2013). Postreplicative Mismatch Repair. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(4), a012633–a012633.
- Jomova, K. ve Valko, M. (2011). Advances in Metal-Induced Oxidative Stress and Human Disease. *Toxicology*, 283(2-3), 65–87.
- Jones, A.A.D., Mi, G. ve Webster, T.J. (2018). A Status Report on FDA Approval of Medical Devices Containing Nanostructured Materials. *Trends in Biotechnology*.
- Jones, D.P. (2006). Redefining Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(9-10), 1865–1879.
- Joshi, J.G., Dhar, M., Clauberg, M. ve Chauthaiwale, V. (1994). Iron and Aluminum Homeostasis in Neural Disorders. *Environmental Health Perspectives*, 102, 207.
- Kairyte, K., Kadys, A., Luksiene, Z. (2013). Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension. *J Photochem Photobiol B* 2013;128:78-84.
- Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle, C., J. ve Tuma F. (2023). *Physiology, Liver. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing ; 2023.*
- Kannouche, P. ve Lehmann, A. (2006). Localization of Y-Family Polymerases and the DNA Polymerase Switch in Mammalian Cells. *DNA Repair, Part A*, 407–415.
- Karaarslan, T.G. (2012). Canlı Vericili Karaciğer Nakillerinde Donörlerde Pretransplant Dönemde Çok Dedektörlü Bilgisayarlı Tomografi (Çdbt) ile Hesaplanan Greft Volümünün Cerrahi Sonrası Greft Ağırlığı ile Karşılaştırılması ve Bulguların Analizi. Uzmanlık Tezi. İstanbul: İstanbul Bilim Üniversitesi, Tıp Fakültesi.
- Karabulut, H. ve Gülay, Ş.M. (2016). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg*, 2016, 1 (1).
- Kasai, H. (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 387(3), 147–163.
- Kasai, H. ve Nishimura, S. (1984). Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. *Nucleic Acids Research*, 12(4), 2137–2145.

- Kasai, H., Hayami, H., Yamaizumi, Z., Saito, H. ve Nishimura, S. (1984). Detection and identification of mutagens and carcinogens as their adducts with guanosine derivatives. *Nucleic Acids Research*, 12(4), 2127–2136.
- Kayan, S. (2018). Ratlarda Obezite ile Oluşturulan Hepatik Steatozis ve Oksidatif Strese N-Asetilsistein ve Folik Asitin Etkileri. Doktora Tezi. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Keerthana, S. ve Kumar, A. (2020). Potential Risks and Benefits of Zinc Oxide Nanoparticles: A Systematic Review. *Critical Reviews In Toxicology*, 1–25.
- Kemeleva, E.A., Sinitsyna, O.I., Kolosova, N.G., Vasyunina, E.A., Zharkov, D.O., Conlon K.A., Berrios, M. ve Nevinsky, G.A. (2006). Immunofluorescent detection of 8-oxoguanine DNA lesions in liver cells from aging OXYS rats, a strain prone to overproduction of free radicals. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2006;599(1-2): 88-97.
- Khaidakov, M., Bishop, M.E., Manjanatha, M.G., Lyn-Cook, L.E., Desai, V.G., Chen, J.J. ve Aidoo, A. (2001). Influence of dietary antioxidants on the mutagenicity of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and bleomycin in female rats. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 480-481, 163–170.
- Khan, M.F., Ansari, A.H., Hameedullah, M., Ahmad, E., Husain, F.M., Zia, Q., Baig U., Zaheer M.R., Alam M.M., Khan A.M., Othman Z.A.A, Ahmad I., Ashraf G.M., Aliev, G. (2016). Sol-gel synthesis of thorn-like ZnO nanoparticles endorsing mechanical stirring effect and their antimicrobial activities: Potential role as nano-antibiotics. *Scientific Reports*, 6(1).
- Khorsandi L., Mansouri E., Orazizadeh M. ve Jozi Zahra (2016), Curcumin Attenuates Hepatotoxicity Induced by Zinc Oxide Nanoparticles in Rats. *Balkan Med J*. 2016 May; 33(3): 252–257. Published online 1 May 2016.
- Kılıç, N. (2020). Hidroksitirosol’ün Alüminyum Maruziyetine Bağlı Olarak Gelişen Karaciğer Hasarını Önleyici Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Teknik Üniversitesi. Sayfa: 29.
- Kiliç, V. (2019). Piceatannol mediated modulation of oxidative stress and regeneration in the liver of endotoxemic mice. *Journal of medicinal food*, 22(6), 594-601.
- Kim, J.S., Yoon, T.J., Yu, K.N., Kim, B.G., Park, S.J., Kim, H.W., Lee H.K., Park S.B., Lee J.K. ve Cho, M.H. (2005). Toxicity and Tissue Distribution of Magnetic Nanoparticles in Mice. *Toxicological Sciences*, 89(1), 338–347.

- Kim, Y.R., Park, J.I., Lee, E.J., Park, S.H., Seong, N.W., Kim, J.H., Kim, G.Y., Meang, E.H., Hong, J.S., Kim, S.H., Koh, S.B., Kim, M.S. Kim, C.S., Kim, S.K., Son, S.W., Seo, Y.R., Kang, B.H., Han, B.S., An, S.S.A, Yun, H.I. ve Kim, M.K. (2014). Toxicity of 100 nm zinc oxide nanoparticles: a report of 90-day repeated oral administration in Sprague Dawley rats. *International Journal of Nanomedicine*, 109.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J.J., Batley, G.E., Fernandes, T. F., Handy, R.D., Lyon, D.Y., Mahendra S., Mclaughlin M.J. ve Lead, J.R. (2008). Nanomaterials In The Environment: Behavior, Fate, Bioavailability, And Effects. *Environmental Toxicology And Chemistry*, 27(9), 1825.
- Klee, C. B. ve Vanaman, T. C. (1982). Calmodulin. *Advances in Protein Chemistry*, 213–321.
- Kleszczewska, E. (2001). Biological rele of reactions of l-ascorbic acid with metals. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* 55 (1), 81–94
- Klöppel, H., Fliedner, A. ve Kördel, W. (1997). Behaviour and ecotoxicology of aluminium in soil and water - Review of the scientific literature. *Chemosphere*, 35(1-2), 353–363.
- Korkmaz, D.F. (2012). Titanyum Dioksit ve Çinko Oksit Nanopartiküllerinin In Vitro İnsan Lenfositlerindeki Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi: Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı.
- Krewski, D., Yokel, R. A., Nieboer, E., Borchelt, D., Cohen, J., Harry, J., Kacew S., Lindsay J., Mahfouz A.M., Rondeau, V. (2007). Human Health Risk Assessment for Aluminium, Aluminium Oxide, and Aluminium Hydroxide. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10(sup1), 1–269.
- Kruidenier, L. ve Verspaget, H.W. (2002). Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease-radicals or ridiculous? *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 16(12), 1997–2015.
- Kumar, V. ve Gill, K.D. (2009). Aluminum neurotoxicity: neurobehavioral and oxidative aspects. *Arch. Toxicol.* 83, 965– 78.
- Kumaravel, T.S. ve Jha, A.N. (2006). Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 605(1-2), 7–16.

- Kurutas, E.B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(1).
- Landis, G.N. ve Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of Ageing and Development*, 126(3), 365–379.
- Lane, T.W. ve Morel, F.M.M. (2000). A biological function for cadmium in marine diatoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(9), 4627–4631.
- Leko, M.B., Horvat, L.L., Popovački, E.S., Zubčić, K., Hof, P.R. ve Šimić, G. (2023). Metals in Alzheimer's Disease. *Biomedicines* 2023, 11(4), 1161.
- Lemire, J., Mailloux, R., Darwich, R., Auger, C. ve Appanna, V.D. (2011). The Disruption of L-Carnitine Metabolism By Aluminum Toxicity and Oxidative Stress Promotes Dyslipidemia in Human Astrocytic And Hepatic Cells. *Toxicology Letters*, 203(3), 219–226.
- Lenzen, S., Lushchak V.I., Scholz F. (2022). The pro-radical hydrogen peroxide as a stable hydroxyl radical distributor: lessons from pancreatic beta cells. *Arch Toxicol.* 2022; 96(7): 1915–1920.
- Leung, W., Baxley, R., Moldovan, G.L., ve Bielinsky, A.K. (2018). Mechanisms of DNA Damage Tolerance: Post-Translational Regulation of PCNA. *Genes*, 10(1), 10.
- Li, C.H., Shen, C.C., Cheng, Y.W., Huang, S. H., Wu, C.C., Kao, C.C., Liao J.W., Kang, J. J. (2011). Organ biodistribution, clearance, and genotoxicity of orally administered zinc oxide nanoparticles in mice. *Nanotoxicology*, 6(7), 746–756.
- Lima, P.D.L., Leite, D.S., Vasconcellos, M.C., Cavalcanti, B.C., Santos, R.A., Costa-Lotufo, L.V., Pessoa C., Moaes M.O., Burbano, R.R. (2007). Genotoxic effects of aluminum chloride in cultured human lymphocytes treated in different phases of cell cycle. *Food and Chemical Toxicology*, 45(7), 1154–1159.
- Lione, A. (1985). Aluminum toxicology and the aluminium-containing medications. *Pharmacology & Therapeutics* 29: 255–285.
- Liska, D.J. (1998). The Detoxification Enzyme Systems. Associate Director of Research, HealthComm International, Inc. Volume 3, Number 3, 1998. Sayfa:187.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118.

- López-Alarcón, C. ve Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763, 1–10.
- Lukiw, W.J., LeBlanc, H.J., Carver, L.A., McLachlan, D.R.C. ve Bazan, N.G. (1998). Run-On Gene Transcription in Human Neocortical Nuclei: Inhibition by Nanomolar Aluminum and Implications for Neurodegenerative Disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, 11(1), 67–78.
- Mahmoud, E.M. ve Elsoadaa S.S. (2013). Protective Effect of Ascorbic Acid, Biopropolis and Royal Jelly against Aluminum Toxicity in Rats. *Journal of Natural Sciences Research* www.iiste.org ISSN 2224-3186 (Paper) ISSN 2225-0921 (Online) Vol.3, No.1, 2013.
- Mahmoud, S.M., Kassab, R.B. ve Moneim, A.E.A. (2019). Zinc Oxide Nanoparticles Ameliorate Aluminum Chloride-Induced Hepato-Renal Oxidative Stress And Inflammation In Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 11–20.
- Mailloux, R., Lemire, J. ve Appanna, V. (2007b). Aluminum-Induced Mitochondrial Dysfunction Leads to Lipid Accumulation in Human Hepatocytes: A Link to Obesity. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 20(5), 627–638.
- Mailloux, R.J., Bériault, R., Lemire, J., Singh, R., Chénier, D.R., Hamel, R.D. ve Appanna, V.D. (2007a). The Tricarboxylic Acid Cycle, an Ancient Metabolic Network with a Novel Twist. *PLoS ONE*, 2(8), e690.
- Mailloux, R.J., Hamel, R. ve Appanna, V.D. (2006). Aluminum Toxicity Elicits A Dysfunctional TCA Cycle and Succinate Accumulation in Hepatocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 20(4), 198–208.
- Mailloux, R.J., Lemire, J. ve Appanna, V.D. (2011). Hepatic response to aluminum toxicity: Dyslipidemia and liver diseases. *Experimental Cell Research*, 317(16), 2231–2238.
- Mailloux, R.J., Puiseux-Dao, S. ve Appanna, V.D. (2009). α -Ketoglutarate Abrogates The Nuclear Localization Of Hif-1 α in Aluminum-Exposed Hepatocytes. *Biochimie*, 91(3), 408–415.
- Maki, H. ve Sekiguchi, M. (1992). MutT protein specifically hydrolyses a potent mutagenic substrate for DNA synthesis. *Nature*, 355(6357), 273–275.

- Malarkey, D.E., Johnson, K., Ryan, L., Boorman, G. ve Maronpot, R.R. (2005). New Insights into Functional Aspects of Liver Morphology. *Toxicologic Pathology*, 33(1), 27–34.
- Mates, J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83–104.
- Mates, J.M., Gómez, P.C. ve Castro, I.N.D. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999; 32: 595– 603.
- Mehri, A. ve Marjan, R.F. (2013). Trace Elements in Human Nutrition: A Review. *Int j med invest*.2(3):115-128.
- Meister, A. ve Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52(1), 711–760.
- Mirzaei, H. ve Darroudi, M. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications. *Ceramics International*, 43(1), 907–914.
- Miyachi, K., Fntzler, M. ve Tan, E.M. (1978). Autoantibody to a nuclear antigen in proheferatmg cells *J Immunol*, 121, 2228 2234.
- Moghadam, A.H., Khorsandi, L. ve Jozi, Z. (2018). Curcumin attenuates nephrotoxicity induced by zinc oxide nanoparticles in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 26,179-187(2019).
- Moldovan, G.L., Pfander, B. ve Jentsch, S. (2007). PCNA, the Maestro of the Replication Fork. *Cell*, 129(4), 665–679.
- Moneim, A.A.E., Othman, M.S., Mohmoud, S.M. ve El-Deib, K.M. (2013). Pomegranate peel attenuates aluminum-induced hepatorenal toxicity. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23(8), 624–633.
- Morgan, E.H. (1981). Transferrin, biochemistry, physiology and clinical significance. *Molecular Aspects of Medicine*, 4(1), 1–123.
- Moridian, M., Khorsandi, L. ve Talebi, A. R. (2015). Morphometric and stereological assessment of the effects of zinc oxide nanoparticles on the mouse testicular tissue. *Bratislava Medical Journal*, 116(05), 321–325.
- Mostaghie, A.A. ve Skillen A.W., (1990). Comparative Binding Studies Of Aluminum And Iron To Serum Transferrin. *Journal of Islamic Academy of Sciences* 3:4, 280-283, 1990.

- Moumen, R., Ait-Oukhatar, N., Bureau, F., Fleury, C., Bouglé, D., Arhan, P., Neuville D. ve Viader, F. (2001). Aluminium increases xanthine oxidase activity and disturbs antioxidant status in the rat. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 15(2-3), 89–93.
- Mruk, D.D., Silvestrini, B., Mo, M. ve Cheng, C.Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305–311.
- Nakabeppu, Y., Tsuchimoto, D., Furuichi, M. ve Sakumi, K. (2004). Review The Defense Mechanisms in Mammalian Cells against Oxidative Damage in Nucleic Acids and their Involvement in the Suppression of Mutagenesis and Cell Death. *Free Radical Research*, 38(5), 423–429.
- Newairy, A.S.A., Salama, A.F., Hussien, H.M. ve Yousef, M.I. (2009). Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1093–1098.
- Nie, J. (2018). Exposure to Aluminum in Daily Life and Alzheimer's Disease. *Neurotoxicity of Aluminum*, 99–111.
- Nordberg, J. ve Arnér, E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system1 1This review is based on the licentiate thesis “Thioredoxin reductase—interactions with the redox active compounds 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and lipoic acid” by Jonas Nordberg, 2001, Karolinska Institute, Stockholm, ISBN 91-631-1064-4. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287–1312.
- Norman, A.G. (1965). *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties, Aluminum*. Chapter 67, Citations 2.
- Northrop, C.C.A. ve Thurnham, D.I. (2007). Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clinica Chimica Acta*, 377(1-2), 14–38.
- Oberdörster, G., Ferin, J. ve Lehnert, B.E. (1994). Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. *Environ. Health Perspect.* 102, 173 1994.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E. ve Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823–839.
- Ochmanski, W. ve Barabasz, W. (2000). Aluminium-occurrence and toxicity for organisms. *Przegl. Lek.* 57, 665–668.

- Oda, S.S. (2016). The influence of Omega3 fatty acids supplementation against aluminum-induced toxicity in male albino rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(14), 14354–14361.
- Ohkawa, H, Ohishi N., Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*. 1979; 95(2): 351-358.
- Okerenta, O.B.M. ve Anacletus, F.C. (2016). Hepatoprotective and Ameliorative Effects Of Selected Antioxidants On Aluminium Induced Toxicity On Wistar Rats. *European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences*, Vol. 4 No. 2, 2016. ISSN 2056-5984.
- Oktyabrsky, O.N. ve Smirnova, G.V. (2007). Redox regulation of cellular functions. *Biochemistry (Moscow)*, 72(2), 132–145.
- Osama, A., Fatma A., Mohamed E.B. ve Huda S. (2014). Studies on the Protective Effects of Ginger Extract and in Combination with Ascorbic Acid against Aluminum Toxicity Induced Hematological Disorders, Oxidative Stress and Hepatorenal Damage in Rats. *Annals of Veterinary and Animal Science* 2014. eISSN: 2313-5514 pISSN: 2312-9123.
- Osmond, M.J. ve McCall, M.J. (2010). Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: an analysis of potential exposure and hazard. *Nanotoxicology*. 2010;4(1):15–41.
- Ostling, O. ve Johanson, K.J. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123(1), 291–298.
- Othman, M.S., Fareid, M.A., Hameed, A.R.S. ve Moneim, A.A.E. (2020). The Protective Effects of Melatonin on Aluminum-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–12.
- Owen, J. B. ve Butterfield, D. A. (2010). Measurement of Oxidized/Reduced Glutathione Ratio. *Protein Misfolding and Cellular Stress in Disease and Aging*, 269–277.
- Ozougwu, J.C. (2014). Comparative hepatoprotective and antioxidant effects of *Allium cepa*, *Allium sativum* and *Zingiber officinale* methanolic extracts against paracetamol-induced liver damage in *Rattus norvegicus*. Ph.D Research Thesis, Department Of Zoology and Environmental Biology, University of Nigeria, Nsukka. 222pp .

- Ozougwu, J.C. ve Eyo, J.E. (2014). Hepatoprotective effects of *Allium cepa* extracts on paracetamol-induced liver damage in rat. *African Journal of Biotechnology*, 13(26): 2679 -2688.
- Özben, T. (Ed.). (1998). Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants. Page:2.
- Panda, S.K. ve Matsumoto, H. (2010). Changes in antioxidant gene expression and induction of oxidative stress in pea (*Pisum sativum* L.) under Al stress. *BioMetals*, 23(4), 753–762.
- Parat, M.O., Richard, M.J., Béani, J.C., ve Favier, A. (1997). Involvement of zinc in intracellular oxidant/antioxidant balance. *Biological Trace Element Research*, 60(3), 187–204.
- Pawlowska, E., Szczepanska, J. ve Blasiak, J. (2019). Pro- and Antioxidant Effects of Vitamin C in Cancer in correspondence to Its Dietary and Pharmacological Concentrations. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–18.
- Paz, L.N.F., Moura, L.M., Feio, D.C.A., Cardoso, M. de S.G., Ximenes, W.L.O., Montenegro, R.C., Alves A.P.N., Burbano R.R. ve Lima, P.D.L. (2017). Evaluation of in vivo and in vitro toxicological and genotoxic potential of aluminum chloride. *Chemosphere*, 175, 130–137.
- Peixoto, E.B., Pessoa, B.S, Biswas, S.K. ve Lopes de Faria, J.B. (2009). Antioxidant SOD mimetic prevents NADPH oxidase-induced oxidative stress and renal damage in the early stage of experimental diabetes and hypertension. *Am. J. Nephrol.* 29:309–318.
- Percy, M.E. (1984). Catalase: an old enzyme with a new role? *Canadian Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 62(10), 1006–1014.
- Persson, T., Popescu, B.O. ve Cedazo-Minguez, A. (2014). Oxidative Stress in Alzheimer’s Disease: Why Did Antioxidant Therapy Fail? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–11. Sayfa:2
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. ve Periyasamy, L. (2014). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26.
- Pogue, A. I. ve Lukiw W.J. (2016). Aluminium, the genetic apparatus of human CNS and Alzheimer’s disease. *Morphologie*. 2016;100(329):56–64.

- Pollak, N., Dölle, C. ve Ziegler, M. (2007). The power to reduce: pyridine nucleotides – small molecules with a multitude of functions. *Biochemical Journal*, 402(2), 205–218.
- Potega, A. (2022). Glutathione-Mediated Conjugation of Anticancer Drugs: An Overview of Reaction Mechanisms and Biological Significance for Drug Detoxification and Bioactivation. *Molecules*. 27(16): 5252.
- Rahman, H.S., Othman H.H., Abdullah, R., Edin, H.Y.A.S. ve Al-Haj N.A. (2022). Beneficial and Toxicological Aspects Of Zinc Oxide Nanoparticles In Animals. *Vet Med Sci*. 2022 Jul; 8(4): 1769–1779.
- Rahman, I. ve Biswas, S.K. (2006). Oxidants And Antioxidants. *Antioxidants, Enzymatic. Encyclopedia of Respiratory Medicine*, 258–266. Sayfa:259
- Rani, V., Verma, Y., Rana, K. ve Rana, S.V.S. (2018). Zinc Oxide Nanoparticles Inhibit Dimethylnitrosamine Induced Liver Injury In Rat. *Chemico-Biological Interactions*. 2018 Nov 1:295:84-92.
- Rebouche, C.J. (1991). Ascorbic Acid and Carnitine Biosynthesis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54(6), 1147S–1152S.
- Reinke, C.M., Breitzkreutz, J. ve Leuenberger, H. (2003). Aluminium in Over-the-Counter Drugs. *Drug Safety*, 26(14), 1011–1025.
- Richardt, G., Federolf, G. ve Habermann, E. (1985). The interaction of aluminum and other metal ions with calcium-calmodulin-dependent phosphodiesterase. *Archives of Toxicology*, 57(4), 257–259.
- Riehemann, K., Schneider, S.W., Luger, T.A., Godin, B., Ferrari, M. ve Fuchs, H. (2009). Nanomedicine-Challenge and Perspectives. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(5), 872–897.
- Rizzuto, R., Pinton, P., Ferrari, D., Chami, M., Szabadkai, G., Magalhães, P. J., Virgilio F.D., Pozzan, T. (2003). Calcium and apoptosis: facts and hypotheses. *Oncogene*, 22(53), 8619–8627.
- Roberts, R.A., Ganey, P.E., Ju, C., Kamendulis, L.M., Rusyn, I. ve Klaunig, J.E. (2006). Role of the Kupffer Cell in Mediating Hepatic Toxicity and Carcinogenesis. *Toxicological Sciences*, 96(1), 2–15.
- Roduner, E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical Society Reviews*, 35(7), 583.

- Romieu, I. ve Tuberc, I.J. (2005). Nutrition and lung health. *Reviews, Lung Dis.* 9, 362-2005.
- Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R. ve Schulin, R. (2013). Zinc and its importance for human health. An integrative review. *J Res Med Sci.* 18: 144–157.
- Roskams, T., Desmet, V. ve Verslype, C. (2007). Development, structure and function of the liver. In: Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, eds. *Macswen's Pathology of the Liver*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1–74.
- Ross, M. H. ve Pawlina, W. (2013). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Ankara: Palme Yayınevi; 2013. 628-662.(634).
- Roy, R., Chun, J. ve Powell, S.N. (2012). BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nature Reviews Cancer*, 12(1), 68–78.
- Ruipérez, F., Mujika, J.I., Ugalde, J.M., Exley, C. ve Lopez, X. (2012). Pro-oxidant activity of aluminum: Promoting the Fenton reaction by reducing Fe(III) to Fe(II). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 117, 118–123.
- Runge, J.M. (2018). A Brief History of Aluminum and Its Alloys. *The Metallurgy of Anodizing Aluminum*, 1–63.
- Samir, A. ve Rashed, L. (2017). Effects of occupational exposure to aluminium on some oxidative stress and DNA damage parameters. *Human & Experimental Toxicology*, 37(9), 901–908.
- Sarraf, C.E., McCormick, F., Brown, G.R., Price, Y.E., Hall, P.A., Lane, D.P., ve Alison, M.R. (1991). Proliferating Cell Nuclear Antigen Immunolocalization in Gastro-Intestinal Epithelia. *Digestion*, 50(2), 85–91.
- Saxena, R., Zucker, S.D. ve Crawford, J.M. (2003). Anatomy and physiology of the liver. In: Zakim D, Boyer TD, eds. *Hepatology: a Textbook of Liver Disease*, 4th ed. Philadelphia: Saunders.; 3–30.
- Sayed, E.W.M., Al-Kahtani, M.A. ve Abdel-Moneim, A.M. (2011). Prophylactic and therapeutic effects of taurine against aluminum-induced acute hepatotoxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 192(2), 880–886.
- Sharma, N. (2014). Free Radicals, Antioxidants and Disease. *Biology and Medicine*, 06(03).

- Shehla, K.F., Prabhavathi, P.A., Pamavathi, P. ve Reddy, P.P. (2001). Analysis of chromosomal aberrations in men occupationally exposed to cement dust. *Mutat. Res.*, 490:179-186.
- Shibutani, S., Takeshita, M. ve Grollman, A.P. (1991). Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG. *Nature*, 349(6308), 431–434.
- Sieg, H., Ellermann, A.L., Maria Kunz, B., Jalili, P., Burel, A., Hogeveen, K., Lampen, A. (2019). Aluminum in liver cells the element species matters. *Nanotoxicology*, 1–14.
- Siegel, N. ve Haug, A. (1983). Aluminum interaction with calmodulin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 744(1), 36–45.
- Sies, H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), 916–921.
- Sies, H. ve Jones, D. (2007). Oxidative Stress. In: Fink G (ed) *Encyclopedia of stress*. Elsevier, San Diego, pp 45–48.
- Singh, R. R. ve Reind, K. M. (2021). Glutathione S-Transferases in Cancer. *Antioxidants*, 10(5), 701.
- Singla, N. ve Dhawan, D.K. (2014). Zinc Modulates Aluminium-Induced Oxidative Stress and Cellular Injury in Rat Brain. *Metallomics*, 6(10), 1941–1950.
- Sjögren, B., Iregren, A., Montelius, J. ve Yokel, R. A. (2015). Aluminum. *Handbook on the Toxicology of Metals*, 549–564.
- Stahl, W. ve Sies, H. (1997). Antioxidant Defense: Vitamins E and C and Carotenoids. *Diabetes*, 46(Supplement_2), S14–S18.
- Stone, V. ve Donaldson, K. (2006). Signs of stress. *Nature Nanotechnology*, 1(1), 23–24.
- Strzalka, W. ve Ziemienowicz, A. (2010). Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycle regulation. *Annals of Botany*, 107(7), 1127–1140.
- Su, L.J., Zhang, J.H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D, Jiang F. ve Peng, Z.Y. (2019). Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis,

- Autophagy, and Ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–13.
- Sun, Y., Oberley, L.W. ve Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497–500.
- Svirbely, J.L. ve Szent-Györgyi, A. (1932). The chemical nature of vitamin C. *Biochemical Journal*, 26(3), 865–870.
- Szutowicz, A., Tomaszewicz, M., Jankowska, A., Madziar, B. ve Bielarczyk, H. (2000). Acetyl-CoA metabolism in cholinergic neurons and their susceptibility to neurotoxic inputs. *Metabolic Brain Disease*, 15(1), 29–44.
- Takasaki, Y. (1981). A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation. *Journal of Experimental Medicine*, 154(6), 1899-1909.
- Tamer, S.I., Hesham, A.K., Hussein, M.M.A. ve Ali H.A. (2016). Aluminum –Induced Oxidative Stress and Hepato -Renal Impairment in Male Albino Rats: Possible Protective trial with Naringenin. *Life Science Journal* 2016;13(1s).
- Temiz, Ö. ve Kargın, F. (2021). Toxicological Impacts on Antioxidant Responses, Stress Protein, and Genotoxicity Parameters of Aluminum Oxide Nanoparticles in the Liver of *Oreochromis niloticus*. *Biological Trace Element Research*, 200(3), 1339–1346.
- Teschke, R. (2022). Aluminum, Arsenic, Beryllium, Cadmium, Chromium, Cobalt, Copper, Iron, Lead, Mercury, Molybdenum, Nickel, Platinum, Thallium, Titanium, Vanadium, and Zinc: Molecular Aspects in Experimental Liver Injury. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23(20), 12213.
- Teschke, R. ve Xuan, T.D. (2022). Heavy metals, halogenated hydrocarbons, phthalates, glyphosate, cordycepin, alcohol, drugs, and herbs, assessed for liver injury and mechanistic steps. Special Issue: Hepatotoxicity: Molecular Mechanisms and Pathophysiology (Guest editor Rolf Teschke). *Front. Biosci. Landmark* 2022, in press.
- Thatoi P., Kerry, R. G., Gouda, S., Das, G., Pramanik, K., Thatoi, H. ve Patra, J.K. (2016). Photo-Mediated Green Synthesis of Silver and Zinc Oxide Nanoparticles Using Aqueous Extracts of Two Mangrove Plant Species, *Heritiera Fomes* and *Sonneratia Apetala* and Investigation of Their Biomedical Applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 163, 311–318.
- Tietze, F. (1969). Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical Biochemistry*, 27(3), 502–522.

- Tirapegui, J. ve Cruzat, V.F. (2015). Glutamine and Skeletal Muscle. Glutamine in Clinical Nutrition (pp.12)
- Tomimatsue, Y. ve Donovan, J.W. (1977). Spectrophotometric and differential scanning colorimetric measurements of Zn (III) and Ga (III) binding to ovo transferrin and human serum transferrin. In: Protein of iron metabolism. Ed by EB Brown, P Aisen, J Fielding, RR Crichton. Grune and Straton, pp 221-226, 1977.
- Tomljenovic, L. (2011). Aluminum and Alzheimer's Disease: After a Century of Controversy, Is there a Plausible Link? Journal of Alzheimer's Disease, 23(4), 567–598.
- Toumey, C. (2009). Plenty of room, plenty of history. Nature Nanotechnology, 4(12), 783–784.
- Trapp, G.A. (1983). Plasma aluminum is bound to transferrin. Life Sciences, 33(4), 311–316.
- Turgut, G., Enlib Y., Kaptanoğlu B., Turguta S. ve Genç O. (2006). Changes in the levels of MDA and GSH in mice serum, liver and spleen after aluminum administration., 2006. Eastern Journal of Medicine: 11 (2006):7-12.
- Umar, A., Buermeier, A.B., Simon, J. A., Thomas, D.C., Clark, A.B., Liskay, R.M. ve Kunkel, T., A. (1996). Requirement for PCNA in DNA Mismatch Repair at a Step Preceding DNA Resynthesis. Cell, 87(1), 65–73.
- Upasani, C.D., Khera, A. ve Balaraman, R. (2001). Effect of lead with Vitamins E, C, or Spirulina on malondialdehyde: conjugated dienes and hydroperoxides in rats. Indian J. Exp. Biol. 39 (1), 70–74.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M. ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39(1), 44–84. Syfa:50
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. ve Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions, 160(1), 1–40.
- Ventola, C.L.M.S. (2017). Progress in Nanomedicine: Approved and Investigational Nanodrugs. Pharmacy and Therapeutics. 2017 Dec; 42(12): 742–755.

- Verstraeten, S.V., Aimo, L. ve Oteiza, P.I. (2008). Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity. *Archives of Toxicology*, 82(11), 789–802.
- Virmani, E.M. ve Cirulli, M. (2022). Mitokondride L-Karnitinin Rolü, Metabolik Esnekliğin Önlenmesi ve Hastalık Başlangıcı. *Int J Mol Sci*, 2022 Şubat 28;23(5):2717.
- Wang, B., Feng, W., Wang, M., Wang, T., Gu, Y., Zhu, M., Ouyang H., Shi J., Zhang F., Zhao Y., Chai J., Wang H. ve Wang, J. (2007). Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(2), 263–276.
- Wang, C., Lu, J., Zhou, L., Li, J., Xu, J., Li, W. ve Wang, T. (2016). Effects of Long-Term Exposure to Zinc Oxide Nanoparticles on Development, Zinc Metabolism and Biodistribution of Minerals (Zn, Fe, Cu, Mn) In Mice. *PLOS ONE*, 11(10), E0164434.
- Warbrick, E. (2000). The puzzle of PCNA's many partners. *BioEssays* 2000, 22, 997–1006.
- Ward, R.J., Zhang, Y. ve Crichton, R.R. (2001) Aluminium toxicity and iron homeostasis. *Journal of Inorganic Biochemistry* 87(1-2): 9
- Webb, C. ve Twedt, D. (2008). Oxidative Stress and Liver Disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38(1), 125–135.
- West, S.C. (2003). Molecular views of recombination proteins and their control. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(6), 435–445.
- Willhite, C.C., Ball G.L. ve Mclellan C.J. (2012). Total Allowable Concentrations Of Monomeric Inorganic Aluminum And Hydrated Aluminum Silicates in Drinking Water. *Crit. Rev. Toxicol.* 42(05), 358-442.
- Wlodek, D. ve Gonzales, M. (2003). Decreased Energy Levels Can Cause and Sustain Obesity. *Journal of Theoretical Biology*, 225(1), 33–44.
- Xie, C., Lovell, M.A., Xiong, S., Kindy, M.S., Guo, J. T., Xie, J., Amaranth V., Montine T. J. ve Markesbery, W.R. (2001). Expression of glutathione-S-transferase isozyme in the SY5Y neuroblastoma cell line increases resistance to oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(1), 73-81.
- Xu, F., Liu, Y., Zhao, H., Yu, K., Song, M., Zhu, Y. ve Li, Y. (2017). Aluminum chloride caused liver dysfunction and mitochondrial energy metabolism disorder in rat. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 174, 55–62.

- Yamamoto, T., Mori, Y., Ishibashi, T., Uchiyama, Y., Ueda, T., Ando, T., Hashimoto J., Kimura S. ve Sakaguchi, K. (2005). Interaction between proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and a DnaJ induced by DNA damage. *Journal of Plant Research*, 118(2), 91–97.
- Yeh, Y.H., Lee, Y.T., Hsieh, H.S. ve Hwang, D.F. (2009). Effect of taurine on toxicity of aluminum in rats. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, 4(4), e187–e192.
- Yi, Y., Kang, H. ve Bae, I. (2014). BRCA1 and Oxidative Stress. *Cancers*, 6(2), 771–795.
- Yokel, R. A. (2000). The toxicology of aluminum in the brain: a review. *Neurotoxicology* 21(5), 13–828.
- Yokel, R.A. ve McNamara, P.J. (2000). Aluminium Toxicokinetics: An Updated MiniReview. *Pharmacology & Toxicology*, 88(4), 159–167.
- Yoshida, K. ve Miki, Y. (2004). Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Science*, 95(11), 866–871.
- Yoshikawa, T. ve Naito, Y. (2002). What Is Oxidative Stress?. *JMAJ* 45(7): 271–276, 2002. Sayfa 272.
- Yousef, M.I., Mutar, T.F. ve Kamel, M.A.E.N. (2019). Hepato-renal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats. *Toxicology Reports*, 6, 336–346.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J. ve Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337–349.
- Zhu, R., Wang, Y., Zhang, L. ve Guo, Q. (2012). Oxidative stress and liver disease. *Hepatology Research*, 42(8), 741–749.

ÖZGEÇMİŞ

Orcid No : <https://orcid.org/0009-0003-8026-0346>

Adı Soyadı : Özge ALİM

Eğitim Geçmişi

- Eskişehir Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji Bilim Dalı Doktora
Genel Not Ortalaması: 3,94/4,00
- İstanbul Üniversitesi-AUZEF: Çocuk Gelişimi Lisans (mezun)
Genel Not Ortalaması: 2,78/4,00
- Fırat Üniversitesi, Genel Biyoloji Bilim Dalı, Yüksek Lisans (mezun)
Genel Not Ortalaması: 90.71/100
- Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (mezunu)
Genel Not Ortalaması: 3,05/4,00

İş Geçmişi:

Kolej ve Kurs Merkezleri

- Biyoloji Öğretmeni (2022-devam)

Görev Aldığı Projeler:

- 100/2000 YÖK Doktora Bursu: Doktora Öğrencisi
Proje'deki çalışma alanı: Nanobiyoteknolojik Güdümlü İlaçlar
- Bilimsel Araştırma Projesi Görevi: Araştırmacı (Doktora)
Düşük Doz Çinko Oksit Nanopartikülleri Ve Vitamin C Kombinasyonunun
Alüminyum İle İndüklenen Hepatotoksisitenin Düzenlenmesindeki Potansiyel
Etkilerinin Araştırılması
- Bilimsel Araştırma Projesi Görevi: Araştırmacı (Yüksek Lisans)
Proje Başlığı: Led Işık Kaynaklarıyla Aydınlatılan *Spirulina platensis*'in
(Gomont) Geitler Gelişimi Üzerine Selenyum (Se) ve E Vitamininin Etkileri

Görev Aldığı Diğer İşler:

- Laboratuvar Uygulamalarında Yardımcı Hazırlık Elemanı
 - Microbiology Laboratory 2
 - Genetik Laboratuvarı
 - Moleküler Biyoloji Labortuvarı
 - Molecular Biology Laboratory
- Sınav Gözetmenlikleri

Sertifikaları:

- EuroasianBioChem2023 Katılım Sertifikası (2023)
- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (2019): Fare, Sıçan, Tavşan.
- Ehliyet Sertifikası (2019): B Sınıfı
- Fırat Üniversitesi Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Eğitimi Kursu Sertifikası (2010-2012)
- Bilgisayar İşletmenliği Kurs Sertifikası (2008)
- Model Uçak Kursu (2002)

Staj Bilgisi:

- Alexandru Ioan Cuza University, Romanya / IASI, Moleküler Biyoloji (Erasmus) [20/06/2013 - 20/09/2013]

Ulusal, Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiri Kitabında Basılan

Bildiriler ve Makaleler:

- Pala, G., Alim, Ö. (2023). Karkamış Baraj Gölü (Gaziantep)'den Toplanan *Elodea canadensis* (Michaux)'ın Epifitik Algleri. Ecological Life Science/Biology of Inland Waters. Page: 146-155. (Research Article).
- Pala, G., Alim, Ö. (2023). Karkamış Baraj Gölü (Gaziantep) Mavi-Yeşil Algleri. 6th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2023). (Tam Metin Bildiri).
- Uma, M.M., Bağcı, E., Alim, Ö. (2016). Gaziantep Dülük Antik Kenti Kaya Mezarları Alanına Floristik Bir Bakış, 23.Ulusal Biyoloji Kongresi. (Özet Metin Bildiri).