



T.C.

MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AKUT YÜKSEK DOZ ARSENİK MARUZİYETİNİN
İNSAN GÖBEK DAMARI ENDOTEL
HÜCRELERİNDE(HUVEC) OLUŞTURDUĞU
SİTOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE APOPTOZİSE
KARŞI TRANS-CHALCONE UYGULAMASININ
KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa GÖZÜOĞLU

Mardin 2023

**T.C.
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYAANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AKUT YÜKSEK DOZ ARSENİK MARUZİYETİNİN
İNSAN GÖBEK DAMARI ENDOTEL
HÜCRELERİNDE(HUVEC) OLUŞTURDUĞU
SİTOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE APOPTOZİSE
KARŞI TRANS-CHALCONE UYGULAMASININ
KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa GÖZÜOĞLU

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Velid UNSAL**

Mardin2023

Bu çalışma MAÜ BAP koordinatörlüğü tarafından MAÜ.BAP.22.LEE.006 numarasıyla desteklenmiştir.

T.C.
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüz Kimya Ana bilim dalı 20204001 numaralı öğrencisi Mustafa GÖZÜOĞLU'nun hazırladığı “Akut Yüksek Doz Arsenik Maruziyetinin İnsan Göbek Damarı Endotel Hücrelerinde (HUVEC) Oluşturduğu Sitotoksiste, Oksidatif Stres ve Apoptozise Karşı Trans-Chalcone Uygulamasının Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması” başlıklı çalışma, 21/06/2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri	Unvanı, Adı SOYADI	İmza
Başkan	Doç. Dr. Velid Unsal	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Erkan Öner	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Güngören	

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20.... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../20...

Doç. Dr. Ahmet KAYAOĞLU

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Mardin Artuklu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tez çalışmasının hazırlık, bilgi, belge, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarda bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun davrandığımı,
- Tez çalışmada kullanılan tüm eserlere eksiksiz atıf yaptığımı ve kullanılan tüm eserlere kaynaklar/kaynakçada yer verdiğimi,
- Tez çalışmasının özgün olduğunu,
- Tez çalışmasının Mardin Artuklu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” ile tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabullendiğimi bildiririm.

Mustafa GÖZÜOĞLU

20/07/2023

ÖZET

Yüksek lisans Tezi

Akut Yüksek Doz Arsenik Maruziyetinin İnsan Göbek Damarı Endotel Hücrelerinde (HUVEC) Oluşturduğu Sitotoksosite, Oksidatif Stres ve Apoptozise Karşı Trans-Chalcone Uygulamasının Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması

Mustafa GÖZÜOĞLU

Mardin Artuklu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

2023: 61 Sayfa

Vasküler endotel hücrelerinin bütünlüğünün ve normal işlevinin, vasküler ortamın stabilitesi için büyük önem taşıdığını göstermiştir. Arsenik organizmada toksik etkilerini birçok yerde gösterirken bununla beraber neredeyse ikiyüzden fazla enzimi de inaktive eder. Ancak bu istenmeyen durum ve gelişmelerin durdurulması ya da azaltılması hücreleri/dokuyu arsenik toksisitesinden koruyabilir. Ortama antioksidanların veya radikal süpürücülerin eklenmesinin arsenik kaynaklı ROS seviyelerini azaltma özelliği sebebiyle hasarları iyileştirdiği bilinmektedir. İnsan göbek damarı endotel hücreleri (HUVEC), göbek kordonunun damarından izole edilen birincil hücrelerdir. HUVEC hücreleri hipoksi, inflamasyon, oksidatif stres, enfeksiyona yanıt ve hem normal hem de tümörle ilişkili anjiyogenezdahil olmak üzere uygulamalarla endotel hücre fonksiyonunu incelemek için bir modelleme örneğidir. ROS, vaskülerendotel hücre disfonksiyonuna ve vasküler duvar hücrelerinde hasara neden olabilir. Antioksidanlar, vasküler endotel hücre fonksiyonunu korur ve ateroskleroza önler. Trans-chalcone antioksidan, anti-inflamatuar gibi bir dizi terapötik özelliğe sahip bir bileşiktir. Bu çalışmada HUVEC hücrelerinin arsenik maruziyeti sonucunda endotel hücre hasarı gerçekleştirildi. Çalışmada hücre canlılığı, enzim aktivitesi, gen ekspresyon düzeyleri incelendi. Arseniğin HUVEC hücrelerinde MDA düzeyi, TNF- α , IL-1 β , Bax, Caspase-3 mRNA ekspresyon seviyelerini yükselttiği ve SOD ve GSH-Px'in aktivitelerini azalttığı tespit edildi. Ancak trans-chalcone uygulamasının SOD ve GSH-Px'in aktivitelerinin arttığı, MDA düzeyi, TNF- α , IL-1 β , Bax, Caspase-3 mRNA ekspresyon seviyelerinin ise azaldığı tespit edildi. Bu bulgular ışığında, Arseniğin oluşturduğu endotel hücre hasarına karşı trans-chalcone antioksidan, anti-inflamatuar, antiapoptotik özellik gösterdiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Arsenik, HUVEC, Trans-chalcone, Oksidatif stres, Apoptozis

ABSTRACT

Master Thesis

Investigation of the protective efficacy of trans-chalcone application against cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis caused by acute high-dose arsenic exposure in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC).

Mustafa GÖZÜOĞLU

Mardin Artuklu University

Graduate Education Institute

Department of Chemistry

2023: 61 Pages

The integrity and normal function of vascular endothelial cells has shown to be of great importance for the stability of the vascular environment. While arsenic shows cytotoxic effects in many places in the organism, it also inactivates almost two hundred enzymes. However, stopping or reducing the severe undesirable conditions and developments may protect cells/tissue from arsenic toxicity. It is known that the arsenic-induced ROS production feature of the filter, of antioxidant and radical scavengers, improves the damages. Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) are primary cells isolated from the vessel of the umbilical cord. HUVEC cells are a modeling example for studying endothelial cell function with application including hypoxia, inflammation, oxidative stress, response to infection, and both normal and tumor-associated angiogenesis. ROS can cause vascular endothelial cell dysfunction and damage to vascular wall cells. Antioxidants protect vascular endothelial cell function and prevent atherosclerosis. Trans-chalcone is a compound with a number of therapeutic properties such as antioxidant, anti-inflammatory. In this study, endothelial cell damage was performed as a result of arsenic exposure of HUVEC cells. In the study, cell viability, enzyme activity, gene expression levels were examined. It was determined that arsenic increased MDA level and TNF- α , IL-1 β , Bax, Caspase-3 mRNA expression levels and decreased the activities of SOD and GSH-Px in HUVEC cells. However, it was determined that trans-chalcone application increased the activities of SOD and GSH-Px, and decreased MDA level, TNF- α , IL-1 β , Bax, Caspase-3 mRNA expression levels. In the light of the findings, it is thought that trans-chalcone antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic properties against endothelial cell damage caused by arsenic.

Key Words: Arsenic, HUVEC, Trans-chalcone, Oxidative stress, Apoptosis

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimi hazırlamamda bilgi birikimi ve deneyimleri ile akademik gelişimime katkı sağlayan, tez konusunun belirlenmesi, laboratuvar çalışmalarında ve tezin çalışmamın tüm aşamalarda bana yol gösteren ve yardımcı olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Velid UNSAL'a; hücre kültürü kısmının deneysel aşamasında katkı sunan KSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji öğretim Üyesi Doç. Dr. Mustafa ÇİÇEK'e

Hayatımın her döneminde bana desteklerini eksik etmeyen ve motivasyonumda büyük katkıları olan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mustafa GÖZÜOĞLU

Temmuz 2023, MARDİN

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
GRAFİKLER DİZİNİ	ix
GÖRSEL DİZİNİ	x
TABLolar LİSTESİ	xi
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Arseniğin Kimyasal Özellikleri ve Yapısı	4
2.1.1. Arsenik Toksisitesinin Mekanizma ve Metabolizması.....	5
2.1.2. Maruziyet Kaynakları	6
2.1.2.1. İçme Suyundaki Arsenik.....	6
2.1.2.2. Gıdalarda Arsenik	7
2.1.2.3. Mesleki Maruziyet	7
2.1.3. Arsenik Maruziyetinin Sağlık Üzerine Etkileri.....	7
2.1.4. Arsenik Zehirlenmesinin Tedavisi.....	8
2.1.4.1. BAL, DMSA ve DMPS ve As(III)-Şelatlarının Kimyasal Özellikleri ...	8
2.1.4.2. Arsenik Toksisitesi Üzerine Tedavi Etkisi Olan Doğal Bileşikler	8
2.2. ROS ve Antioksidanlar	9
2.3. Apoptozis	11
2.4. Enflamasyon.....	11
2.4.1. TNF- α	11
2.4.2. İnterlökin-1 beta	12
2.5. Chalcone'ların Yapısı, Biyosentezi ve Doğadaki Rollerini	12
2.5.1. Chalcone'ların Sitotoksik Aktivitesi, Apoptozis ve Oksidatif Stres Etkileri	13
2.5.1.1. Trans-chalcone	14
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1. Materyaller, Kullanılan Sarf malzemeler ve Kitler.....	15
3.2. Metodlar	18
3.2.1. Arsenik Konsantrasyonlarının Hazırlanması.....	18

3.2.2.	MTT Hücre Canlılık Testi	18
3.2.3.	Hücre Hatlarında Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi	19
3.2.4.	ReversTranskriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi	20
3.2.5.	Real-time PCR yöntemi.....	21
3.2.6.	Biyokimyasal Yöntemler	21
3.2.7.	MDA konsantrasyonlarının ölçümü	21
3.2.8.	SOD aktivitesinin ölçümü	21
3.2.9.	GSH-Px aktivitesinin ölçümü.....	21
3.2.10.	Protein seviyesi ölçümü.....	22
3.2.11.	İstatistiksel analiz	22
4.	BULGULAR.....	23
5.	TARTIŞMA.....	32
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	38
	KAYNAKLAR	39
	ÖZGEÇMİŞ	47

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1. Trans-chalcone Uygulaması Optik Dansite (OD)	23
Grafik 4.2. HUVEC Hücrelerinde Trans-chalcone Uygulanan Dozların 24. saat MTT sonuçları.....	23
Grafik 4.3. Arsenik Uygulaması- Optik Dansite (OD).....	24
Grafik 4.4. HUVEC Hücrelerinde Arsenik Uygulanan Dozların 24. saat MTT sonuçları	24
Grafik 4.5. Grupların SOD aktivitesi.....	25
Grafik 4.6. Grupların GSH-Px aktivitesi	26
Grafik 4.7. Grupların MDA seviyesi	27
Grafik 4.8. Grupların TNF-alfa-mRNA ekspresyon seviyesi.....	28
Grafik 4.9. Grupların IL-1 β mRNA ekspresyon seviyesi	29
Grafik 4.10. Grupların Bax protein mRNA ekspresyon seviyesi.....	30
Grafik 4.11. Grupların Caspase-3- mRNA ekspresyon seviyesi.....	31

GÖRSEL DİZİNİ

Şekil 2.1. Chalcone'ların temel kimyasal yapıları.....	13
Şekil 3.1. Class IIA biyogüvenlik kabini ve çalışma ortamı	15
Şekil 3.2. 96' lık well plate okuyucu ve ELISA reader	16
Şekil 3.3. Hücre kültürü medium, PBS, FBS ve sarf malzemeler	16
Şekil 3.4. Termostatik su banyosu.....	17
Şekil 3.5. Saf su cihazı.....	17
Şekil 3.6. Spektrofotometre	18



TABLÖLÖR LİSTESİ

Tablo 3.1. Real Time PCR Analizi için kullanılan primerler	20
---	----



KISALTMALAR

Bu tez çalışmasında kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda belirtilmiştir.

Simgeler	Açıklamalar
As	Arsenik
AsO₄³⁻	Arsenik Asit
As(V)	Arsenat
As(III)	Arsenit
BAL	Dimerkaprol
CAT	Katalaz
DMA	Dimetilarsonöz Asit
DMPS	2,3-dimerkaptopropan-1-sülfonat
DMSA	Meso 2,3-dimerkaptosüksinik Asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FM	Fenolik Madde
G	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GLUT1, GLUT4	Glikoz taşıyıcıları
GSH-Px	Glutatyonperoksidaz
HNE	4-hidroksi-nonenal
HUVEC	İnsan Göbek Damarı Endotel Hücreleri
IC50	%50 İnhibisyon Sağlayan Örnek Konsantrasyonu
İnorganik arsenik	İnorganik Arsenik
KE	Kateşin Eşdeğeri
Kg	Kilogram
Mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
MMA-III	Monometilarsonöz Asit
MDA	Malondialdehit
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol
PO	Fosfat
OH	Hidroksil Radikali

ROS	Reaktif Oksijen Türleri
ROO	Peroksil Radikali
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
°C	Santigrat derece
SOD	Süperoksit Dismutaz
UV	Ultraviyole



1. GİRİŞ

HUVEC hücresi göbek kordonunun damarından izole edilmiş bir endotel hücre hattıdır. HUVEC hücre hattı özellikleri, bir organizmada bulunan farklı endotel hücre türleri ile ilgili fizyopatoloji ve toksisitedeki tüm metabolik kapasiteleri ve yanıtları kesinlikle temsil edemese de HUVEC'ler tüm dünyadaki geniş bir araştırmacı topluluğu için bir model temsil etmektedir. HUVEC'ler, büyük miktarlarda hücrenin hazırlanması için doğru olan en basit ve mevcut insan endotel hücre tipidir (Baudin vd;2007).

Arsenik elementi (As) periyodik sistemde 15. gruba ait olup, kimyasal olarak bir metaloid olarak sınıflandırılmaktadır. Yer kabuğundaki birçok mineralde, genellikle diğer metaller ve kükürt ile birlikte bulunan 20. Elementtir (Baksi,2007). Çoğunlukla bakır, nikel, kurşun, kobalt veya diğer metallerle birlikte sülfür bileşikleri olarak bulunur. Arsenik, havada, suda ve toprakta bulunan toksik bir elementtir. Arsenik ve bileşikleri çevrede hareketlidir. Kayaların ayrışması, arsenik sülfürleri arsenik döngüsüne toz olarak veya yağmurda, nehirlerde veya yeraltı sularında çözünerek giren arsenik trioksit döndürür. Bu nedenle, arsenik nedeniyle yeraltı sularının kirlenmesi tüm dünyadaki insanlık için ciddi bir tehdit olup önemli bir sağlık sorunudur. Çoğu arsenik bileşiğinin rengi veya kokusu olmadığı için, arsenik varlığı gıda, su veya havada hemen belli olmaz, bu nedenle elementin toksik doğası göz önüne alındığında ciddi bir insan sağlığı tehlikesi arz eder. Arseniğe kronik maruz kalma, insanlarda çok çeşitli hastalıkların ve sağlık sorunlarının gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Arsenik maruziyeti, sinyal yollarını ve epigenetik modifikasyonları değiştirerek hücre davranışında çoklu değişikliklere aracılık eden veya moleküllerde doğrudan oksidatif hasara neden olan hücre içi ROS oluşumunu indükler. ROS aracılı oksidatif hasar, arsenik patogeneğinde ortak bir paydadır. Ek olarak, arsenik mitokondri bütünlüğünde morfolojik değişikliklere neden olur. Süperoksit radikalinden türetilen serbest radikal oluşumunun kademeli mekanizmaları, glutatyon tüketen ajanlarla birleştiğinde, hücrelerin arsenik toksisitesine duyarlılığını artırır. ROS'un neden olduğu biyokimyasal dengesizlik, multipl skleroz, kanser ve Alzheimer hastalığı gibi dejeneratif hastalıklara yol açan DNA, RNA, lipid ve protein dahil olmak üzere birçok biyolojik makromoleküle zarar verebilir. ROS seviyelerini düşürme

potansiyeline sahip antioksidanların arsenik kaynaklı lezyonları iyileştirdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, ortaya çıkan kanıtlar, antioksidan yolların yapıcı aktivasyonunun ve azalan ROS seviyelerinin bazı durumlarda kronik arsenik toksisitesine katkıda bulunduğunu göstermektedir (Badal ve Kazuo,2002; Hu vd.,2020; Bakoyiannis vd.; 2019).

Arsenik, başlıca son ürünleri aldehitler malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE) olan çeşitli biyoaktif moleküller (ROS, peroksitler ve izoprostanlar) üreten oksitlenmiş lipitlerin oluşumunu indükler (Jomova vd.;2011).

Antioksidanlar, oksidasyonun başlamasını engelleyen veya geciktiren bileşiklerdir (Shadidi,2010). Antioksidanlar insan vücudunun serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli bileşikler antioksidanlardır. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilen ve hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. İnsanda bulunan antioksidanlar ya vücut tarafından doğal olarak üretilirler ya da dışarıdan alınması gereklidir. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar serbest radikal temizleyici olarak hareket ederler. Bundan dolayı savunma sisteminin etkisini artırarak hastalık riskini ve gelişmesini de azaltırlar (Shinde vd.,2012). Yaşlanma dejeneratif, biyolojik, zamana bağlı, evrensel olarak korunan bir süreçtir ve bu nedenle morbidite ve mortalite için bilinen en yüksek risk faktörlerinden biridir. Hem çevresel koşullar (%75) hem de genetik (%25) yaşlanmadan sorumlu olduğundan, her bireyin kendi yaşlanma mekanizması vardır. Birçok ROS, yaşlanma ile ilişkili olan endojen ve eksojen olarak üretilir. Ancak mitokondriyal ROS, oksidatif strese bağlı mitokondriyal işlev bozukluğu yaşlanmaya katkıda bulunanlardan biri olarak kabul edildiğinden, yaşlanma sürecine büyük ölçüde katkıda bulunur. Antioksidanlar, serbest radikallerle bağlanarak oksidatif zincir reaksiyonlarını sonlandırır ve elektronlarını onlara bağışlar, böylece serbest radikalleri daha fazla saldırı için kullanılamaz hale getirir. Elektronlarını bağışladıktan sonra, serbest radikal durumu antioksidanlar tarafından sağlanır. Bu nedenle zararlı değildir çünkü kendileri reaktif olmadan elektronlardaki değişimi karşılama yeteneğine sahiptirler.

Chalcone'lar, iki aromatik halkanın α,β -doymamış ketonlarla birleştiği flavonoidlerin öncüleridir. Ayrıca chalcone'ların antiprotozoal, antibakteriyel, antidiyabetik, antikanser, antiülser, antiinflamatuvar, amoebisidal, antelmintik ve

immünomodölatör etkiler gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu da bilinmektedir (Burmaoğlu vd.,2019a, 2019b,2020; Alipour vd.,2020).

Bu çalışmada akut yüksek doz arsenik maruziyetinin HUVEC hücrelerinde oluşturduğu sitotoksisite, oksidatif stres ve apoptozise karşı trans-chalcone uygulamasının koruyucu etkinliği araştırıldı. Arseniğin neden olduğu oksidatif stres ve apoptozu incelemek için HUVEC hücrelerinin kullanıldığı çalışmamızda biyoyararlılığı olduğu düşünülen trans-chalcone'nin etkisi araştırıldı.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Arseniğin Kimyasal Özellikleri ve Yapısı

Arsenik bileşikleri inorganik ve organik olarak sınıflandırılabilirler. Karbon bağı bulunmayan arsenik bileşikleri inorganik arsenikler, yapısında karbonbağı bulunduran arsenik bileşikleri de organik arsenikler olarak tanımlanabilirler. İnorganikarsenik türleri arsenat ve arsenit, organik türlerinden bazıları ise metillenmiş türleri olanmonometil arsenik asit ve dimetil arsinik asittir. Arsenit, arsenat, monometil arsonik asit (MMA) ve dimetil arsinik asit (DMA) sulara yoğun olarak bulunan arsenik türleridir. Arseniğin toksisitesikimyasal yapısına bağlıdır ve inorganik arsenik türleri organik arseniktürlerine (MMA ve DMA gibi) göre daha toksik bir yapıya sahiptir. Çünkü organik arsenik normal şartlarda vücuttan kolayca atılır. Bunun yanı sıra arsenobetain ve arsenokolin gibi büyük molekulyapısına sahip arsenik türleri toksik değildir. Arsenit arsenattan 60 kat, inorganikarsenik ise organik arsenikten 100 kat daha toksiktir (Mandal ve Suzuki 2020; Jutta Frank,2005). Arsenik birçok mineralde kükürt ve diğer metallerle kombinasyon halinde veya saf bir element olarak bulunan bir metaloiddir. Arsenik kuru havada kararlıdır, ancak neme maruz kaldığında altın-bronz bir kararma oluşturur ve bu uzun süre maruz kaldığında siyah bir yüzey tabakasına dönüşür (Rimondi vd.,2022). Canlı organizmalarda arsenik hem inorganik hem de organik formda ve üç değerlikli ve beş değerlikli oksidasyon durumlarında bulunur. İnorganik As (III; arsenit), As (V; arsenat)'tan daha toksiktir ve inorganik arsenikler, organik arseniklerden daha toksiktir. Arsenik asit böbrek, testis ve karaciğer hücrelerine aquagliseroporinler ve glikoz taşıyıcıları (GLUT1, GLUT4) yoluyla girerken, arsenik asit (AsO_4^{3-}) ve fosfat (PO) arasındaki aşırı benzerlik göz önüne alındığında, arsenik asit fosfat taşıyıcıları yoluyla hücre zarlarını geçer (Nurçi vd.,2020). Yerkabuğunda yaygın olarak bulunan bir element olan arsenik, hem metalik hem de metalik olmayan kimyasal özelliklere sahip bir metaloiddir. Arsenik bir metaloiddir ve elemental, sülfid ve karbonat formları gibi çeşitli allotropik formlarda bulunur. Doğada çeşitli oksidasyon durumlarında (3-, 0, 3+ ve 5+) ve birçok organik ve inorganik formda bulunur. İnorganik arsenik, inorganik türevler

sağlamak için oksijen ve kükürt ile ve organik bileşikler vermek için karbon ve hidrojen ile reaksiyona girebilir (ATSDR,2013). Arseniğin yaygın olarak bulunan organik formları monometilarsenik asit (MMA) ve dimetilarsenik asit (DMA)'tir. Yakın zamana kadar, çeşitli As bileşikleri pestisit ve herbisit olarak kullanılmıştır. DMA çevrede bulunan ana organik arsenik formudur ve pestisitlerin ve herbisitlerin yapımında kullanılmaktadır (ATSDR,2013). Mantar önleyici özellikleri nedeniyle, ahşabı işlemek ve korumak için kromlu bakır arsenat kullanılmıştır. As diğer metallerle karşılaştırıldığında, karbonun yanı sıra kükürt ve selenyum ile kovalent bağlanmaya katılma eğilimi yüksektir (Aaseth vd.; 2015). Modern antibiyotiklerin ve sitostatik ajanların geliştirilmesinden önce, farmasötik olarak farklı organik ve inorganik arsenik bileşikleri kullanılıyordu. Örnek olarak, frengi için Salvarsan (arsfenamin) ve kanser için arsenik trioksit kullanılıyordu. Sedef hastalığının tedavisinde, As içeren Fowler's solüsyonu önerilmiştir, ancak daha sonra doza bağlı bir şekilde cilt kanseri riskini artırdığı tespit edilmiştir (Gardner vd.,2012).

Arsenik hem inorganik hem de organik formlarda çevreye salınır. Arsenat [As(V)] ve arsenit [As (III)], arseniğin toprak çözeltisindeki inorganik formlarıdır. Bununla birlikte, topraktaki arsenik türlerini metilleyebilen ve demetile edebilen mikroplar, inorganik arsenik türlerini organik türlere dönüştürebilir ve bunun tersi de geçerlidir (Turpeinen vd.,1999).

2.1.1. Arsenik Toksisitesinin Mekanizma ve Metabolizması

Arsenik toksisitesi, insan sağlığı üzerindeki zararlı sonuçları nedeniyle önemli bir endişe kaynağıdır. Hızlı sanayileşme, dengeli ekosistemleri bozabilen, insanları, bitkileri ve hayvanları olumsuz ve geri döndürülemez şekilde etkileyen kirleticileri ortaya çıkararak çevre kalitesini de zayıflattı. Tüm çevresel tehlikeler arasında önemli bir toksik olan arsenik, hücreler ve organlar üzerinde çeşitli zararlı etkilere yol açarak genel yaşam kalitesini etkileyebilir (Khan,2022).

As toksisitesinin temel mekanizması önemli redoks düzenleyicileri, sinyalleme ve DNA onarım proteinleri ile bağlanmasıdır. Arsenik, proteinlerin önemli metal bağlama bölgelerinde doğrudan temel çinko iyonlarının yerini alabilir ve/veya tersinir ve ROS/RNS oluşumuna bağlı olarak önemli sistein kalıntılarının geri dönüşümsüz oksidatif ve nitroztatif modifikasyonları, çinko salınımına ve protein konformasyon modifikasyonuna yol açar ve ardından fonksiyon inhibisyonu gerçekleştirir (Saintilnord vd.,2012).

Arsenik, in vivo olarak birkaç karmaşık metabolik dönüşüme uğrar. Hem As hem de metabolitleri hücre dışı ve hücre içi makromoleküllerle, özellikle de komşu tiyoller içerenlerle etkileşime girer, ancak etki mekanizması As'ın kimyasal formuna göre değişebilir. Bununla birlikte, daha yeni araştırmalar, ara metabolitlerin, özellikle monometilarsenöz asit (MMA-III) ve aynı zamanda dimetilarsenöz asit (DMA-III) reaktif ve toksik olduğunu göstermektedir (Naranmandura.,2011; Bozack.,2018). MMA-III ve DMA-III genellikle daha az toksikpentavalent türlere hızla oksitlense de, inorganik arsenik metilasyon yollarındaki ara ürünler, DNA hasarı da dahil olmak üzere toksik etkilere neden olabilir (Molin vd.,2015). As maruziyeti, merkezi sinir sisteminin glial bileşenini önemli ölçüde etkiler. As maruziyetinin neden olduğu nörotoksik etkiler, oksidatif stres aracılı gibi görünmektedir. Mitokondri, As nörotoksitesinin ana hedefidir (Chen vd.,2016; Liu vd.,2013; Prakash vd.,2016). Arsenik, reaktif oksijen türlerinin mitokondriyal üretimini artıran elektron taşıma zincirinin I, II ve IV komplekslerini inhibe eder. Buna karşılık, bu mitokondriyal bozukluk, mikroglial hücre apoptozisine yol açabilir (Kharroubi vd.,2017). As'ın akut toksitesisi, SH grupları için As (III)'ün güçlü afinitesine atfedilir. Endojen tiyollerin, bazı kofaktörler (α -lipoik asit) veya önemli enzimlerin aktif bölgelerinde temel bileşenler olan sistein kalıntıları gibi As bileşikleri tarafından işgal edilebildiği artık iyi bilinmektedir. Bu nedenle, erken çalışmalar As (III) bileşiklerinin, sitrik asit döngüsüne giren piruvatın asetil-CoA'ya dönüştürülmesi için çok önemli olan kükürt içeren piruvatdehidrojenaz enzim kompleksinin işlevini bloke ettiğini ortaya koydu. Bu hassas enzim kompleksi mitokondriyal fonksiyonlar için gereklidir (Peters vd.,1945). Deneysel olarak, mitokondriyal etkilerin bazıları, kofaktör α -lipoik asidin uygulanmasıyla tersine çevrilmiş gibi görünmektedir (Shila vd.,2005).

2.1.2. Maruziyet Kaynakları

2.1.2.1. İçme Suyundaki Arsenik

Arsenik yeraltı suyu ve içme suyunda inorganik arsenik olarak bulunur, ancak kimyasal analizlerde genellikle toplam As olarak belirlenir. Bu bölgelerde 50 milyondan fazla insan, 50 $\mu\text{g/L}$ 'nin üzerinde As içeren yeraltı suyu içmektedir (Mondal vd.;2006). Dünyanın bazı bölgelerinde tortullarda meydana gelen As'ın yeraltı sularına bırakılabileceği bilinmektedir. Peru'dan madencilik faaliyetleriyle ilgili yeraltı ve yüzey sularında yüksek seviyelerde As bildirilmiştir (George vd.;2014).

2.1.2.2. Gıdalarda Arsenik

As'a mesleki olarak veya içme suyu yoluyla maruz kalmayan bireyler için en önemli As kaynağı besindir (Hughes vd.,2011). Toprak kaynaklı gıdalar arasında, pirinç gibi bazı tahıllar, bazen 0,4 mg/kg kuru ağırlık kadar yüksek As konsantrasyonlarına sahiptir (Benford vd.,2011).

As içeren su ile sulanan veya As bakımından zengin topraklarda yetiştirilen pirinç ve diğer bitkilerdeki ana As türü inorganik arsenik'tir (Molin vd.,2015; Khanam vd.,2020). Esas olarak inorganik As içeren karasal organizmaların aksine, deniz organizmalarındaki As'ların çoğu organoarseniktir. Özellikle, deniz besin zincirinin üst kısmındaki organizmalarda, arsenobetain, yaygın arsenik bileşimidir (Edmonds vd.,1977).

2.1.2.3. Mesleki Maruziyet

As bileşiklerine mesleki maruziyet, bir başka önemli maruziyet kaynağıdır. Bazı durumlarda mesleki maruziyet, özellikle inorganik As kullanan endüstrilerde veya diğer toksik arsenikleri kullanan işçilerde As zehirlenmesine bile yol açabilir. Bunlara ahşap koruma, bağ püskürtme, demir dışı metal alaşımları, cam üretimi ve elektronik yarı iletkenlerin üretimi dahildir (Román vd.,2018).

2.1.3. Arsenik Maruziyetinin Sağlık Üzerine Etkileri

Akut arsenik zehirlenmesi başlangıçta bulantı, kusma, karın ağrısı ve şiddetli ishal ile ilişkilidir. Ensefalopati ve periferiknöropati oluşabilir. Uzuvlarda parestezi, bazı durumlarda yaygın polinöropatiye dönüşebilen inorganik arsenik maruziyetinin sık görülen bir semptomudur. Uzun süreli inorganik arsenik maruziyeti, özellikle cilt kıvrımlarında lokalizasyon ile cildi etkiler. Bu, pigmentasyonda değişikliklere, hiperkeratoz ve zamanla, örneğin ellerde cilt kanseri gelişimine neden olabilir. Böyle bir maruziyet üzerine, birçok organı etkileyen iyi belgelenmiş bir insan kanserojenidir. Pek çok epidemiyolojik çalışmada As maruziyetinin analizleri, içme suyundaki As seviyeleri 10 µg/L kadar düşük olduğunda mesane kanseri gelişme riskinde küçük bir artış olabileceğini düşündürmektedir (Ratnaik,2003; Tseng vd.,2006; Mink vd.,2008). Uzun süreli maruz kalmanın diğer hassas son noktaları, periferiknöropati, kardiyovasküler hastalık ve maruz kalan çocuklarda nöro-davranışsal etkilerdir. Sıçanlarda, inorganik arsenikmaruziyeti beyin kolinerjik reseptörlerini önemli ölçüde etkiler. Ayrıca hücrelerde, dopamin ve inorganik arsenikler arasındaki etkileşim, dopaminergik nöronlar

üzerindeki nörotoksik etkileri arttırır. Arsenik maruziyeti, duyarlı vakalarda tip 2 diabetes mellitus'u da hızlandırabilir (Bjørklund vd.,2019; Chandravanshi vd.,2014; Shavali vd.,2008).

2.1.4. Arsenik Zehirlenmesinin Tedavisi

Akut arsenik zehirlenmesine karşı klasik panzehir olan BAL (İngiliz anti-Lewite, dimerkaptopropanol), başlangıçta Lewisit (diklorovinilarsin) için bir savaş gazı panzehiri olarak geliştirildi. BAL, endojen SH gruplarıyla, örneğin arsenik zehirlenmelerinde As için piruvat dehidrojenaz kofaktör a-lipoatın kükürt gruplarıyla başarılı bir şekilde rekabet eden ve böylece As'ın vücuttan atılmasını artıran bir ditiol bileşiğidir. Bununla birlikte, BAL'ın oldukça yüksek toksisitesi ve sık ve uygunsuz intramüsküler uygulamaların gerekliliği nedeniyle bu ilacın klinik kullanımı şu anda akut As intoksikasyonlarından sonraki birkaç gün için sadece başlangıç tedavisi ile sınırlıdır (Aaseth,1983; Bjørklund vd.,2017; Andersen vd.,2002). BAL'ın suda çözünür ve daha az toksik türevleri, terapötik kullanım için geliştirilmiştir. Akut hayatı tehdit eden zehirlenmelerde hayati fonksiyonların desteklenmesi ve şelasyon tedavisinin olabildiğince hızlı yapılması önerilir. Terapi, ilk günlerde monoterapi ile elde edilenden daha etkili bir terapötik yaklaşım sağlamak için DMPS iv ile birlikte, 5 mg/kg olarak hesaplanan dozlarda ve ilk günlerde günde dört kez maksimum 300 mg im olarak BAL im anlamına gelir (Gerhardsson vd.,2016; Aaseth vd.,2018). BAL'ın As'ın hücre içi transferine yönelik bir mekik ajanı olarak hareket edebileceğini varsaymak mantıklıdır. Acil durumlarda, hücre dışı metal daha sonra DMPS dolaştırılarak alınır ve oluşan As-DMPS-şelat idrar yoluyla hızla atılır. DMPS ile başarılı tedavi, farklı vaka raporlarında tanımlanmıştır (Moore vd.,1994; Wax vd.,2000).

2.1.4.1. BAL, DMSA ve DMPS ve As(III)-Şelatlarının Kimyasal Özellikleri

İnorganik ve organik arseniklerin toksik bileşiklerinin ve metabolitlerinin çoğu, yakın ditiyollerin özellikle hassas hedefler oluşturduğunu açıklayan genel formül R-As²⁺ ile tarif edilebilir. DHLA, BAL, DMPS ve DMSA gibi visinalditiyoller de en etkili şelatlama antidotlarıdır.

2.1.4.2. Arsenik Toksisitesi Üzerine Tedavi Etkisi Olan Doğal Bileşikler

Arsenik toksisitesini iyileştirici etkiye sahip, klinik öncesi ve/veya klinik olarak aktif olan tıbbi bitkiler ve doğal ürünler üzerine yapılan çalışmalar bütün hızıyla devam etmektedir. Deneysel modellerde sub-kronik arsenik toksisitesinde arsenik toksisitesini

iyileştirici özelliğe sahip olduğu onlarca bitki özleri veya doğal ürün rapor edilmiştir. Bitki bazlı tıbbın en önemli avantajları, algılanan etkinlikleri, düşük ciddi yan etki insidansları ve düşük maliyetleri gibi görünmektedir. Deneysel arsenik ve diğer ağır metal zehirlenmelerine karşı tıbbi bitki özlerinin veya doğal ürünlerin yararlılığına ilişkin şu anda bol miktarda literatür bulunmaktadır. Bunlar genel olarak antioksidan özellikler sergiler ve bu nedenle metal/metaloid kaynaklı oksidatif stresi azaltma potansiyeli gösterir (Bhattacharya ve Haldar.,2013; Bhattacharya.,2017).

Doğal bileşikler ve türevleri uzun süredir oksidatif stresin neden olduğu hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Biyoaktif moleküller, güçlü antioksidan aktiviteleri nedeniyle büyük ilgi uyandırmıştır (Krishnaiah vd.,2011). Mehrandish ve arkadaşlarına göre As toksisitesini tedavi etmek için en güçlü tıbbi bitkiler *Allium sativum*, *Curcuma longa*, *Silybum marianum*, bazı bitkisel lifler ve alglerdir. Organokükürt bileşikleri içeren sebzeler arseniğin karaciğerden temizlenmesinde faydalıdır. Sarımsakta (*Allium sativum*) bulunan bir organokükürt doğal bileşiği olan dialil sülfürün, farelerde As kaynaklı mitokondriyal toksisitede azalma olduğunu göstermiştir (Das ve Chaudhuri.,2014). Karnabahar (*Brassica oleracea* var. *Botrytis*), brokoli (*Brassica oleracea* var. *Italic*), lahanası (*Brassica*) ve şalgam (*Brassicarapa* subsp. *Rapa*), kükürt bakımından çok zengin kaynaklardır. Bu bitkiler aynı zamanda topraktan arseniği uzaklaştırma konusunda oldukça yeteneklidir ve bu nedenle Arsenik ile kontamine olmuş toprağın islahında da önerilmiştir (Vitanaj vd.,2012).

2.2. ROS ve Antioksidanlar

ROS hayati fizyolojik süreçlerin yürütülmesinde bir role sahiptir. Yükselen ROS seviyeleri strese ve patolojiye yol açsa da azalan ROS seviyeleri normal fizyolojik koşullarla ilişkilidir (Banerjee vd.,2017; Bodega vd.,2019). Dokuların ve hücrelerin yakınında serbest radikallerin varlığı, bir dizi reaksiyona neden olur ve ROS'u ortadan kaldırmak için belirli çoklu dahili savunma hücresel işlemlerini etkinleştirir (Mirończuk-Chodakowska vd.,2018). Hücreler ve organizma, kendilerini savunmak için spesifik bir anti-oksidatif koruma sistemine sahiptir (Höhn vd.,2017). Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları söndürür veya inhibe eder ve sonuçta hücresel hasarı önler veya geciktirir. Hücresel redoks işlemi sırasında, genellikle RNS (reaktif nitrojen türleri) ve ROS gibi yan ürünler üretilir (Pham-Huy vd.,2008). Bu ürünler, nitrojen ve oksijenin radikal ve radikal olmayan aktif bileşiklerini tanımlar (Powers

vd.,2011). Serbest radikaller olarak metabolize olan eksojen ROS ve RONS kaynakları arasında su ve hava kirliliği, ilaçlar, alkol, tütün, ağır veya geçiş metalleri, radyasyon ve pişirme ürünleri yer alır. Endojen RONS kaynakları, lipoksijenaz, miyeloperoksidaz (MPO), anjiyotensin II ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazdır. Hücre içindeki ROS'un ana kaynakları enzimlerdir (Liguori vd.,2018).

Hücre içinde ROS'un üretildiği çok sayıda enzim ve birden çok bölme vardır. Bu, sitoplazma, oksidaz ve siklooksijenazlar, plazma zarındaki NADPH oksidaz, oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondri ve peroksizomlar içindeki lipid oksidasyonu gibi bölmeleri içerir. Yaşlanmada genel oksidatif yük bu kaynaklardan gelse de maksimum ROS üretimi oksidatif fosforilasyon sırasında gerçekleşir (Dai vd.,2012; Flores-López.,2019). İnsanlarda, doğaları gereği üç savunma hattı gelişmiştir. Bu mekanizmalar; engelleme, yakalama, geri yüklemidir. Farklı mekanizmalarla çalışırlar; ROS/RNS'yi temizleyen ilk savunma hattı, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları içerir. Farklı oksidatif streslerin başlamasını doğrudan geciktirebilir veya önleyebilirler ve bunlar arasında glutatyon (GSH), ürik asit, E vitamini ve C vitamini bulunur. Kan plazmasındaki enzimatik olmayan transferrin, ferritin, seruloplazmin ve albümin gibi maddeler koruyucu antioksidanlar ve geçiş metal iyonlarını (örneğin bakır ve demir) bağlayarak yeni reaktif türlerin oluşumunu engellerler. Diğer bir savunma hattı, oksidantları ve radikalleri etkisiz hale getirmek için bir ara savunma görevi gören enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşur. Üçüncü ve son savunma hattı, oksidatif hasardan zarar görmüş biyo-moleküllerin rejenerasyonuna neden olarak onarımı ve hasarı gidermeyi içerir (Lei vd.,2015; Mirończuk-Chodakowska vd.,2018; Neha vd.,2019).

Antioksidanlar, biyolojik fonksiyonlarına göre enzimatik ve enzimatik olmayan serbest oksijen radikalleri olarak ayrılabilir. Başlıca enzimatik antioksidanlar katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutamil transpeptidazdır (GT). Enzimatik olmayan antioksidanlar, mineraller (selenyum, çinko), vitaminler (C, E) ve ayrıca ürik asit, ubikinol, tokoferol, retinol ve glutatyon içeren diyet bileşikleridir (Momtaz ve Abdollahi,2012). Hem enzimatik olmayan hem de enzimatik antioksidanlar, farklı hücrel bölme ve farklı oksidatif türlere karşı işlev görürler, bu nedenle birbirlerinin tamamlayıcısıdır. Ayrıca eksojen antioksidan sistemler ile sinerjistik bir şekilde fonksiyonlarını yerine getirirler (Petruk vd.,2018).

2.3. Apoptozis

Apoptoz, hücre oluşumu hızı ile hücre ölümü arasında homeostatik bir denge sağlamak için düzenli olarak meydana gelen sıralı bir hücre ölümü sırasındır. Bununla birlikte, bu dengeleme işlevinin yanlış yerleştirilmesi, anormal hücre büyümesine/ çoğalmasına veya otoimmün bozukluklara vb. ayrıca iltihaplı hücrelerden kurtulmadır (Obeng,2020)

2.4. Enflamasyon

Enflamasyon, vücudun enfeksiyöz, fizyolojik veya kimyasal ajanlar gibi zararlı uyarılara verdiği yanıtıdır, nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler gibi bağışıklık hücreleri yoluyla çeşitli inflamatuvar mediatörleri serbest bırakır. Bu inflamatuvar mediatörler, büyüme faktörleri, kemokinler ve sitokinlerdir.

Çok hücreli organizmaların hayatta kalması, enfeksiyonla savaşma ve hasarı iyileştirme yeteneği ve besin mevcudiyetinin düşük olduğu veya yüksek enerji ihtiyacının olduğu zamanlar için enerji depolama yeteneğine bağlıdır. Bu nedenle metabolik ve bağışıklık sistemleri en temel gereksinimler arasındadır. Birçok hormon, sitokin, sinyal proteini, transkripsiyon faktörü ve biyoaktif lipit hem metabolik hem de immün rollerde işlev görebilir. Aynı hücresel mekanizmalardan bazılarını kullanmanın yanı sıra, metabolik ve bağışıklık sistemleri de birbirini düzenler. Normal inflamatuvar yanıt, metabolik desteğe dayanır ve enerjinin yeniden dağılımı, özellikle depolanmış lipidin mobilizasyonu, akut faz yanıtı sırasında enfeksiyonla mücadelede önemli bir rol oynar. Metabolizma ve bağışıklık yakından bağlantılıdır. Hem aşırı beslenmenin hem de yetersiz beslenmenin bağışıklık fonksiyonu üzerinde etkileri vardır. Açlık ve yetersiz beslenme, bağışıklık fonksiyonunu baskılayabilir ve enfeksiyonlara karşı duyarlılığı artırabilir. Enflamasyonda önemli sitokin çeşitleri mevcuttur. Bunlardan önemli olanları TNF- α ve IL (interlökin)'dir (Khovidhunkit vd.,2004).

2.4.1. TNF- α

Tümör Nekroz Faktörü (TNF- α), akut enflamasyon sırasında makrofajlar/monositler tarafından üretilen bir inflamatuvar, pleiotropik etkileri olan bir sitokindir ve hücreler içinde nekroz veya apoptoza yol açan çok çeşitli sinyalleşme olaylarından sorumludur. Enflamatuvar yanıtların ana düzenleyicisi olarak

tanımlanmıştır ve bazı inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde yer aldığı bilinmektedir. Yapısal olarak, 157 aminoasitten oluşan bir homotrimer protein olan TNF- α , esas olarak aktive edilmiş makrofajlar, T-lenfositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilir. Diğer sitokinler ve kemokinler dahil olmak üzere bir dizi çeşitli inflamatuvar molekülü tetiklediği fonksiyonel olarak bilinmektedir. TNF- α çözünebilir ve transmembran formda bulunur. Enflamasyonda yer alan önemli bir sitokin olan tümör nekroz faktörü TNF- α , öncelikle karaciğerdeki Kupffer hücreleri tarafından üretilir. TNF- α , insan göbek damarı endotel hücreleri (HUVEC'ler) gibi kültürlenmiş endotel hücreleri üzerinde lökosit adezyon molekülü ekspresyonunu değiştirebilen, sistemik enflamasyonda yer alan sitokinlerden biridir (Zi-Yuan vd.,2016; Jang vd.,2021).

2.4.2. İnterlökin-1 beta

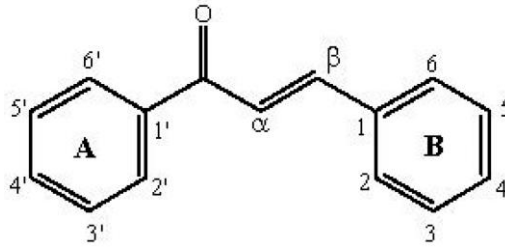
IL-1, doğal ve adaptif bağışıklık sisteminin hücrelerini aktive eder ve ateş, vazodilatasyon, hematopoez, anjiyogenez, akut faz tepkisi, lökosit çekimi ve ekstrasvazasyonu, lenfosit aktivasyonu gibi enfeksiyon sırasında koruyucu olan çok çeşitli biyolojik aktivitelerde görev alır (Garlanda vd.,2013).

İnterlökin-1 beta (IL-1 β), çok sayıda immün hücre tipinde inflamatuvar sinyal tarafından indüklenir. IL-1 β (ve IL-18), iltihaplanma aracılı aktivasyondan sonra caspase-1 tarafından işlenen tek sitokindir. IL-1 β , immün reaksiyonları indükleyici olarak görev yapar. IL-1 β doku enfeksiyonu veya yaralanma bölgelerinde enflamasyonlar tarafından üretilir.

2.5. Chalcone'ların Yapısı, Biyosentezi ve Doğadaki Roller

Chalcone'lar, 1,3-difenil-2-propen-1-on C₆C₃-C₆ konfigürasyonunda düzenlenmiş 15 karbonlu bir yapıya sahip açık zincirli flavonoidlerdir. 3C köprüsü ile birbirine bağlanan iki fenolik halkadan (A ve B halkaları) oluşurlar ve bu onlara özellikle tekil bir yapı kazandırır (Piñero vd.,2006; Iwashina,2000). Tıbbi bitkilerde özellikle Fabaceae, Asteraceae ve Moraceae familyalarına ait çeşitli türlerden izole edilmişlerdir (Rozmer ve Perjési.,2016). Flavonoidler sebzelerde, meyvelerde ve bitkilerde yaygın olarak bulunan polifenollerin önemli bir alt kümesini temsil eden doğal bileşiklerdir. Genel olarak flavonoidlerin antioksidan, antitümöral, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve analjezik gibi geniş biyolojik aktivite gösterdiğine dair kanıtlar vardır (Verri vd.,2012). Chalcone'ların birçok kanser türünde terapotik etkinliğinin yüksek olmasından dolayı

doğal chalcone'ların yanı sıra sentetik türevleri de geliştirilmiştir (Mahapatra vd.,2015). Daha yüksek bitkilerde Chalcone'lar, bir p-kumaril-CoA molekülü ve üç malonil-CoA molekülünden chalcone sentaz enzimi tarafından sentezlenir. Şikimik asit yolunda oluşan aminoasit L-fenilalanin, fenilpropanoid yolu ile p-kumaril-CoA'ya dönüştürülerek aromatik B halkası ve chalconeun 3C köprüsü (C6-C3-) oluşur. Aromatik A halkası, üç malonil-CoA (-C6) molekülünün yoğunlaşmasından sonra oluşur (Austin ve Noel,2003; Yu ve Jez,2008).



Şekil 2.1. Chalcone'ların temel kimyasal yapıları

2.5.1. Chalcone'ların Sitotoksik Aktivitesi, Apoptozis ve Oksidatif Stres Etkileri

Chalcone'lar, çeşitli biyolojik aktivitelerle ilişkili benzersiz bir bileşiktir. Tümör hücre hatlarına karşı sitotoksikite, hücre döngüsünün bozulması, anjiyogenezin inhibisyonu, p53-MDM2 etkileşimine müdahale, mitokondriyal ayrılma veya apoptoz indüksiyonunun sonucu olabilir. Sitotoksik aktivite için yapısal gereksinimler, etki mekanizmalarına göre değişir. Anti-mitotik aktivite için, metoksi sübstitüentlerinin mevcudiyeti, enon parçasının a-metilasyonu ve 2' oksijenli sübstitüentlerin mevcudiyeti uygun özelliklerdir. Chalcone şablonunun yapısal kısıtlaması genellikle sitotoksik aktivitede bir azalmaya yol açar. Chalcone'lar tarafından kemo koruma, antioksidan özelliklerinin bir sonucu olabilir. Metabolik enzimlerin inhibisyonu veya indüksiyonu, bir anti-invaziv etki veya nitrik oksit üretiminde bir azalma aracılığıyla aracılık eder. Hidroksil ve prenilsübstitüentleri, antioksidan özellikler ve kinonredüktaz aktivitelerinin indüksiyonu ile ilişkilidir. Chalcone'ların tiyol reaktivitesinin, bu bileşiklerin hem sitotoksik hem de kemoprotektif özelliklerine katkıda bulunması muhtemeldir (Liu.,2001).

Tümör hücrelerindeki direnç, Bcl-2 ailesininkiler gibi programlanmış hücre ölüm yollarında yer alan temel genlerin modülasyonunu değiştirerek apoptozu önleyebilir. Trans chalcone MCF-7 hücresinde Bcl-2'nin inhibisyonu ve Bax'ın indüklenmesi yoluyla

sitotoksik ve önemli ölçüde genotoksik olduğu, hücre döngüsü durmasına neden olduğu, apoptozu indüklediği ve apoptotik genleri modüle ettiği bulunmuştur (Git vd.,2005).

2.5.1.1. Trans-chalcone

Trans-chalcone, cilt ödemi ve nötrofil alımını azaltarak cilt iltihabını inhibe eder ayrıca matris metalloproteinaz-9 aktivitesini inhibe eder. Trans-chalcone ayrıca oksidatif stresi, gp 91phox mRNA ekspresyonunu ve çok çeşitli pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini inhibe ederken, UV ışınlanması ile indüklenen anti-inflamatuar sitokinleri etkilemezler. Bununla birlikte, trans-chalcone'nin vitro oksidatif stresi önlemediği, bu da in vivo etkisinin doğrudan bir antioksidan etkiden ziyade anti-inflamatuar özelliklerle ilişkili olduğunu belirlenmiştir. Sonuç olarak, trans-chalcone ile tedavi, oksidatif stres inhibisyonu ile sonuçlanan UV kaynaklı cilt iltihabını inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, bu bileşik ile sistemik takviye, UV ışınlarının neden olduğu enflamatuar cilt hastalıklarında önemli bir terapötik yaklaşımı temsil edebilir (Fattori vd.,2016).

Trans-chalcone yapısı, flavonoidlerin ve chalcone bileşiklerinin öncüsüdür ve antioksidan, sitotoksik, antikanser, antimikrobiyal, antiprotozoal, antiülser, antihistaminik ve antienflamatuar gibi bir dizi terapötik özelliğe sahiptir (Molin vd.,2015; Lamoke vd.,2011). Daha önce trans-chalcone alfa-amilaz inhibitör etkisini in vitro ve bunun streptozotosin ile indüklenen diyabetik fareler üzerindeki yararlı etkisini gözlemlemiştik (Najafian vd.,2011; Ebrahim-Habibi vd.,2010).

Trans-chalcone yüksek yağlı diyet (HFD) ile indüklenen alkolsüz steatohepatit (NASH), insülin direnci ve metabolik sendroma karşı koruyucu etkileri son araştırmalarda dikkat çekecek şekilde belirtilmiştir (Jalalvand vd.,2015; Karimi-Sales vd.,2018b; Karimi-Sales vd.,2019). Ayrıca trans-chalcone, HFD ile beslenen sıçanların kalbinde TGF- β 1 ve CTGF'ye bağlı kollajen tip I sentezi stimülasyonunu inhibe ederek kalp koruyucu bir bileşik görevi görmüştür (Karimi-Sales vd.,2022)

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyaller, Kullanılan Sarf malzemeler ve Kitler

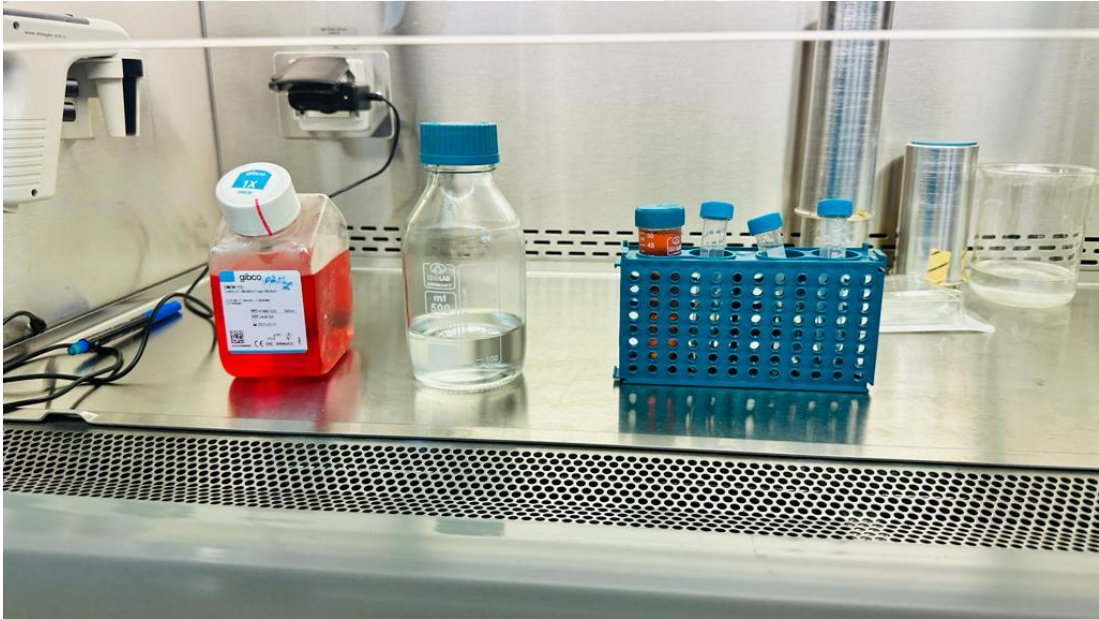
Laminar flow, spektrofotometre, mikropipet, eldiven, mikropipet ucu, 96 kuyucuklu mikroplaka, 96 plate okuyucu, soğutmalı santrifüj, falkon tüp, sıvı azot tankı (-196 °C), su banyosu, -20 °C dondurucu, 25 cm²'lik flask, inkübatör, pH metre, mikroskop, 75 cm²'lik flask, kabin, +4 °C soğutucu, hassas terazi, vorteks, çalkalayıcı, manyetik karıştırıcı, saf su cihazıdır. Deneyde kullanılan kimyasallar Sigma, Merk, Alfa Aesar, Tekkim markalarından temin edilmiştir.



Şekil 3.1. Class IIA biyogüvenlik kabini ve çalışma ortamı



Şekil 3.2. 96' lık well plate okuyucu ve ELISA reader



Şekil 3.3. Hücre kültürü medium, PBS, FBS ve sarf malzemeler



Şekil 3.4. Termostatik su banyosu



Şekil 3.5. Saf su cihazı

10 µM ve 5 µM dozlarında ki muhtemel koruyuculuk etkinliğinin hesaplanması için MTT analizi spektrofotometrik yöntem ile yapıldı. Uygun koşullarda çoğalmaya bırakılan hücreler flask yüzeyini %70 oranında kapladıkları zaman Tripsin-EDTA ile muamele edilerek flask tabanından kaldırıldı. Hücreler Thoma lamı yardımıyla 3 kez sayılarak MTT hücre canlı testi için 96 kuyulu kültür kaplarına kuyu başına 5000 hücre olacak şekilde ekildi. Başlangıçta yapılan hücre canlılık analizleri ile arsenik' in HUVEC hücrelerine karşı toksik etki oluşturan akut yüksek doz miktarı ile teröpatik trans-chalcone uygulaması dozları IC50 hesaplaması ile belirlendi. Çalışma için oluşturulması planlanan deney grupları; Kontrol grubu, Arsenik grubu, Arsenik+trans-chalcone a, Arsenik+trans-chalcone b, Arsenik+trans-chalcone c, Arsenik+trans-chalcone d, Arsenik+trans-chalcone e olarak oluşturuldu. Normal medyumda hazırlanmış arsenik ve arsenik+ trans-chalcone farklı konsantrasyonları hücreler ekildikten sonra 2. saatte uygulanarak 37°C CO₂ inkübatöründe inkübe edildi. Deney sürelerinin tamamlanmasıyla, her kuyucuğa 10µl MTT I solüsyonu eklendi ve kültür kapları MTT boyasının suda çözünmeyen formazan kristalleri haline dönüştürülebilmesi için 4 saat 37°C'de CO₂ inkübatöründe inkübe edildi. Canlı hücreler tarafından oluşturulan formazan kristalleri çözülmesi için her bir kuyucuğa 100 µl MTT II solüsyonu (SDS) eklenmiş ve bir gece boyunca CO₂ inkübatöründe bırakıldı. Bu süre sonunda hücrelerin optik yoğunlukları ELISA cihazında 540nm dalga boyunda okutuldu. Test maddesi ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı %100 kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları yüzde olarak ifade edildi. Bu test 3 kez tekrar edildi. Sonrasında 24. saatte hücrelere MTT yöntemi uygulandıktan sonra mikropalak okuyucu spektrofotometre ile 620 nm absorbans değerinde ölçümleri 3 tekrarlı olarak yapıldı.

3.2.3. Hücre Hatlarında Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi

Bu çalışmada hücre hatlarında apoptotik Bax, Caspase-3 ile proinflamatuarsitokinlerden TNF-a, IL-1B mRNA düzeyleri ölçüldü. Hücreler 6-kuyucuklu plaklara 200000/kuyucuk ekilecek ve 37°C de %5 CO₂ içeren nemli ortamda inkübe edilecektir. Hücreler tripsinizasyon yöntemi ile 6'lık wellplaytlerden kaldırılarak TissueLyser II (Qiagen) cihazında ((1*10⁵ hücreye 350 µl RLT buffer koyularak) homojenize edilecek ve QIAcube RNA izolasyon cihazında RNA ekstraksiyonu üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde sürdürüldü.

Tablo 3.1. Real Time PCR Analizi için kullanılan primerler

	5'-Forward-3'	5'-Reverse-3'
Bax	AACTGGACAGTAACATGGAG	TTGCTGGCAAAGTAGA AAAG
Caspase 3	GGAAGCGAATCAATGGACTCTGG	GCATCGACATCTGTAC CAGACC
TNF-alpha	CTCTTCTGCCTGCTGCACTTTG	ATGGGCTACAGGCTTG TCACTC
IL-1B	CCACAGACCTTCCAGGAGAATG	GTGCAGTTCAGTGATC GTACAGG
G6PHD	CTGTTCCGTGAGGACCAGATCT	TGAAGGTGAGGATAAC GCAGGC

3.2.4. ReversTranskriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi

cDNA analizi cDNA kütüphaneleri oluşturduktan sonra bunların ekspresyon analizlerini yaparak genler hakkında bilgi toplamaktır. Genotip analizi ile bir bireyin biyolojik assayler ile çıkarılan sekansını, başka bir bireyin sekansı ya da referans genom ile karşılaştırarak farklılıkları saptamaktır. High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzimi kullanımı ile total RNA'dan cDNA sentezi yapıldı. Her reaksiyon 10 µl RNA ile gerçekleştirilerek cDNA sentezi aşağıdaki sıcaklık değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile sağlandı. cDNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile ölçüm belirlendi ve -20°C'de saklandı.

cDNA sentez reaksiyonu:

Total RNA 10 µl

10 X RT Buffer 2 µl

25 X dNTPs mix 0.8 µl

10 X RT Random Primers 2 µl

MultiScribe Reverse Transcriptase 1 µl

DEPC-H₂O 4.2 µl

3.2.5. Real-time PCR yöntemi

Gerçek zamanlı PCR niceleme çalışmalarında, sonuçları normalleştirmek ve birbirleriyle karşılaştırmak için referans olarak bir housekeeping geni kullanıldı. Elde edilen DNA önce 20 ng/μl'ye ve daha sonra 5 ng/μl'lik nihai konsantrasyona seyreltildi. AB 7500 FAST Real Time cihazın da miktar tayini yapıldı.

3.2.6. Biyokimyasal Yöntemler

Deneysel uygulamalar sonunda 6 kuyulu kültür kaplarına ekilen hücreler (5×10^5) kaldırılarak, Tris-HCl tamponuna (pH:7,2) alındı. Daha sonra ultrasonikatör ile sonike edilerek hücrelerin membranlarının parçalanması sağlanmış ve elde edilen hücre süspansiyonu 14000 g'de soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant alındı. Alınan süpernatantlar, lipid peroksidasyonunun (MDA), antioksidan enzimler olan Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyonperoksidaz (GSH-px) enzimlerinin ölçülmesi için kullanıldı.

3.2.7. MDA konsantrasyonlarının ölçümü

90°C'nin üstünde tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaktivite, MDA konsantrasyonunu belirlemek için kullanıldı (Esterbauer ve Cheeseman,1990). Bu reaksiyonun ürünü, 532 nm'de maksimum absorbansa sahiptir ve bir spektrofotometre kullanılarak tespit edilebilir. Ölçümler, 1,1,3,3-tetrametoksiopropan ile reaksiyondan hazırlanan standart bir eğriden ölçüldüğü üzere nmmol/Ugprotein olarak ifade edildi (Esterbauer ve Cheeseman,1990). 532 nm'de birkez toplamda en az iki kez okuma yapılarak absorbans alındı.

3.2.8. SOD aktivitesinin ölçümü

Toplam SOD enzimatik aktivitesi, Sun ve diğerleri tarafından açıklanan protokole göre tahmin edildi. Enzimatik aktivite, santrifüjlenmiş 5:3 etanol-kloroform karışımının etanol fazından değerlendirildi. 1 U SOD aktivitesi, nitrobluetetrazolyum indirgemisini yarı yarıya azaltmak için gereken hacim olarak tanımlandı (Sun vd.,1988). Enzimatik aktivite, başına U/mgprotein olarak ölçüldü.

3.2.9. GSH-Px aktivitesinin ölçümü

GSH-Px enzimatik aktivitesi literatürde en çok ölçümü yapılan Paglia ve Valentina yöntemiyle gerçekleştirildi. GSH-Px, H₂O₂ mevcudiyetinde redükte

glutasyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini katalize eden bir enzimdir. Tüpteki enzimatik reaksiyon, sodyum azit, NADPH, glutasyonredüktaz ve indirgenmiş glutasyon içeren bir çözeltiye H₂O₂ eklenmesiyle başlatıldı ve bir spektrofotometre kullanılarak 340 nm'de ölçülebilen ürünlerle sonuçlandı. Enzimatik aktivite, başına U/mgprotein olarak ölçüldü (Paglia ve Valentine,1967).

3.2.10. Protein seviyesi ölçümü

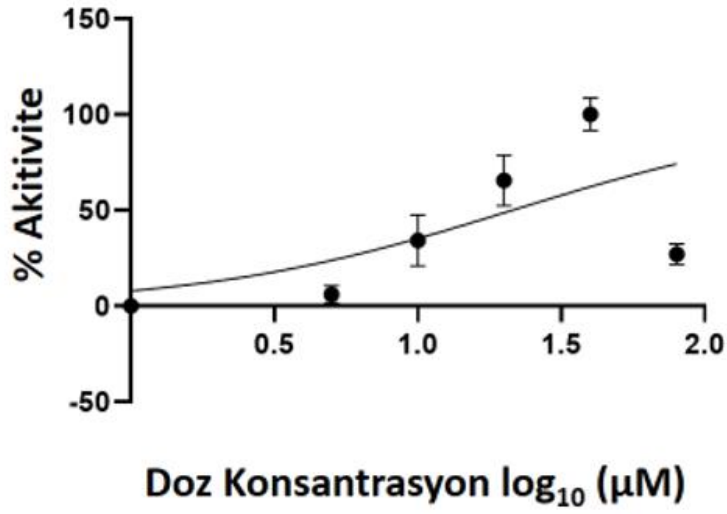
Protein seviyesi ölçümünde en yaygın kullanılan Lowry yöntemi ile standart grafiği elde etmek için konsantrasyonunu bildiğimiz Bovine serum albüminden hazırlanmış çözeltiler kullanılmaktadır. Optik dansite protein konsantrasyonu grafiği çizilerek protein değerleri bu grafikten okunmaktadır (Lowry,1951).

3.2.11. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler, GraphPad Prism 9.2 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Tukey testi kullanıldı ve iki yönlü ANOVA kullanılarak hesaplandı. Tukey-Kramer Testi ile her grup kendi içinde karşılaştırılarak sonuçlar elde edildi. *p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

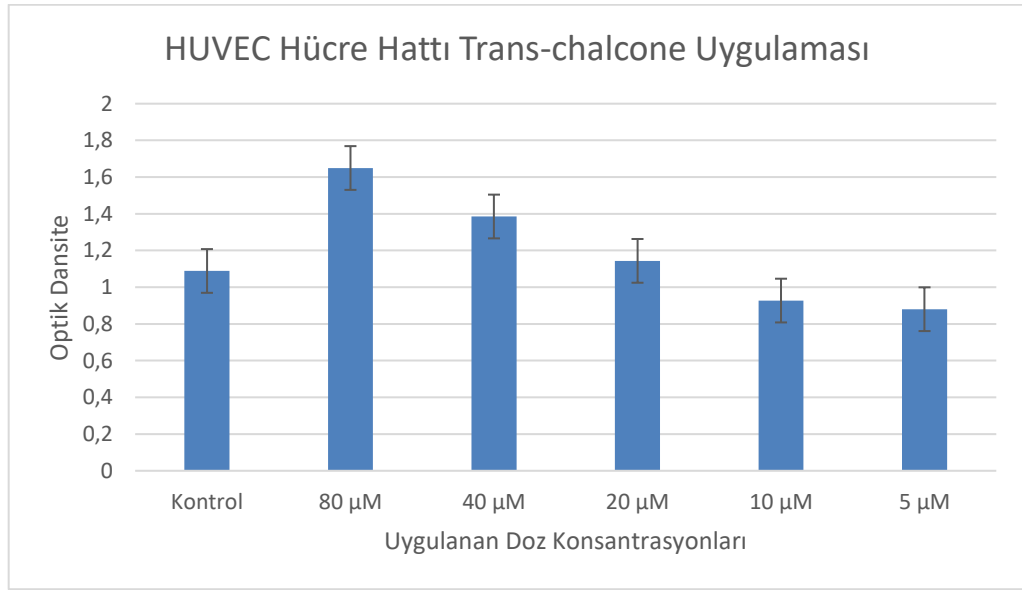
4. BULGULAR

Trans-chalcone Uygulaması-Optik Dansite



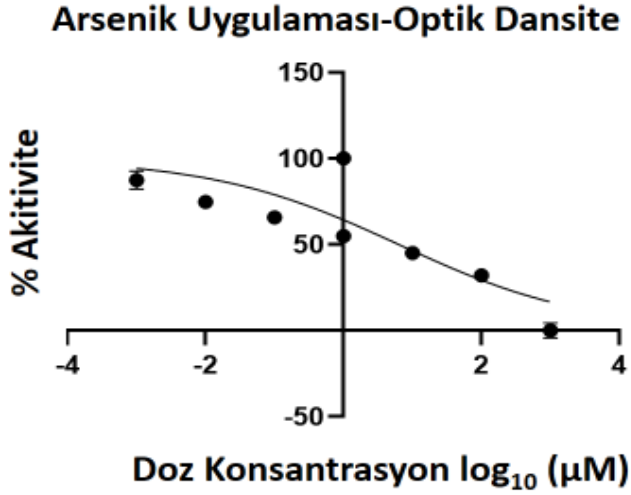
Grafik 4.1. Trans-chalcone Uygulaması Optik Dansite (OD)

IC 50 : 21.31 u



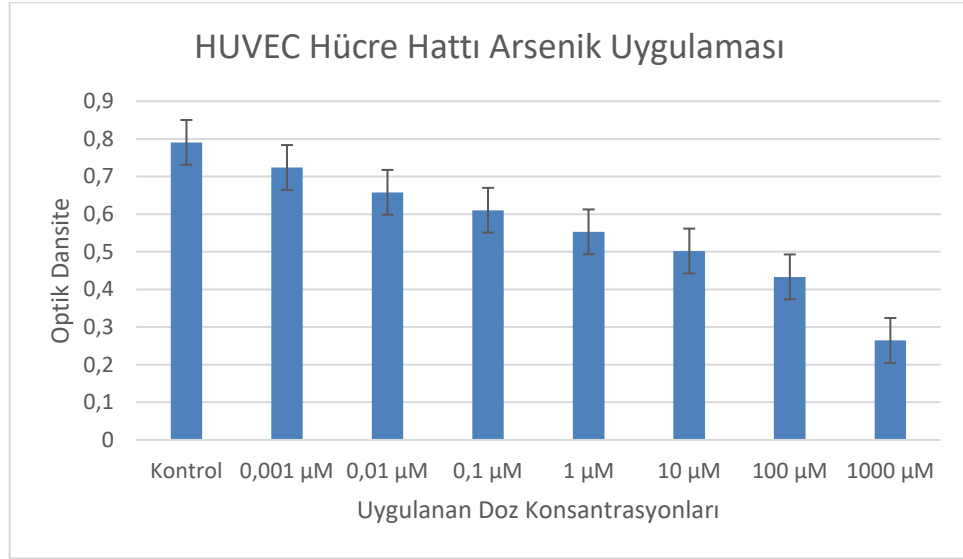
Grafik 4.2. HUVEC Hücrelerinde Trans-chalcone Uygulanan Dozların 24. saat MTT sonuçları

HUVEC hücrelerine uygulanan 1000, 100, 10, 1, 0,1, 0,01 ve 0,001 uM konsantrasyonlardaki Arsenik dozlarının IC50 sonuçları incelendiğinde, Arsenik için IC50 değerinin 6,357 uM olduğu görülmüştür. Bu nedenle çalışmada Arsenik toksisitesinin oluşması için 10 uM'lık Arsenik konsantrasyonu seçilmiştir.



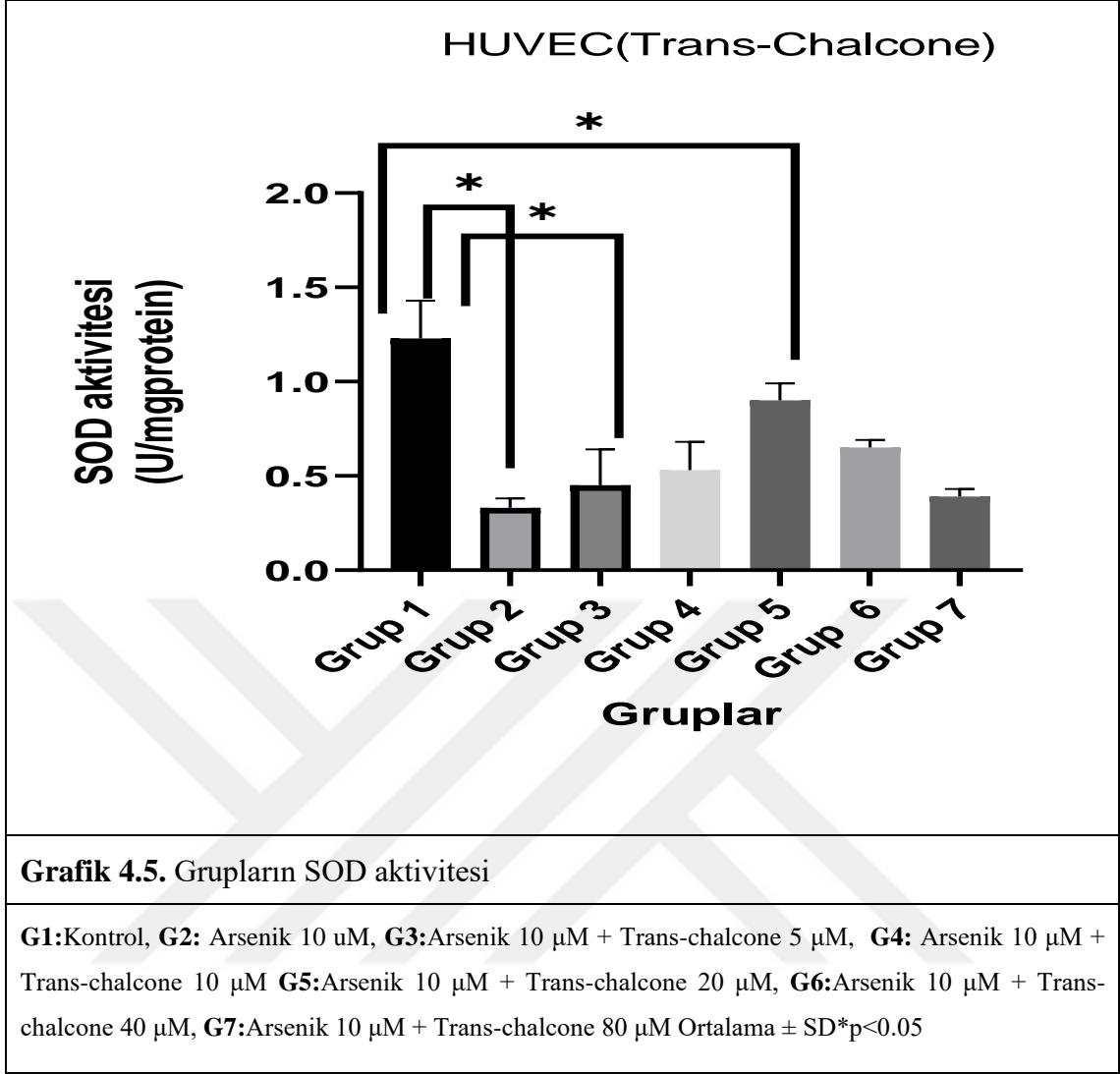
Grafik 4.3. Arsenik Uygulaması- Optik Dansite (OD)

IC 50: 6,357 uM

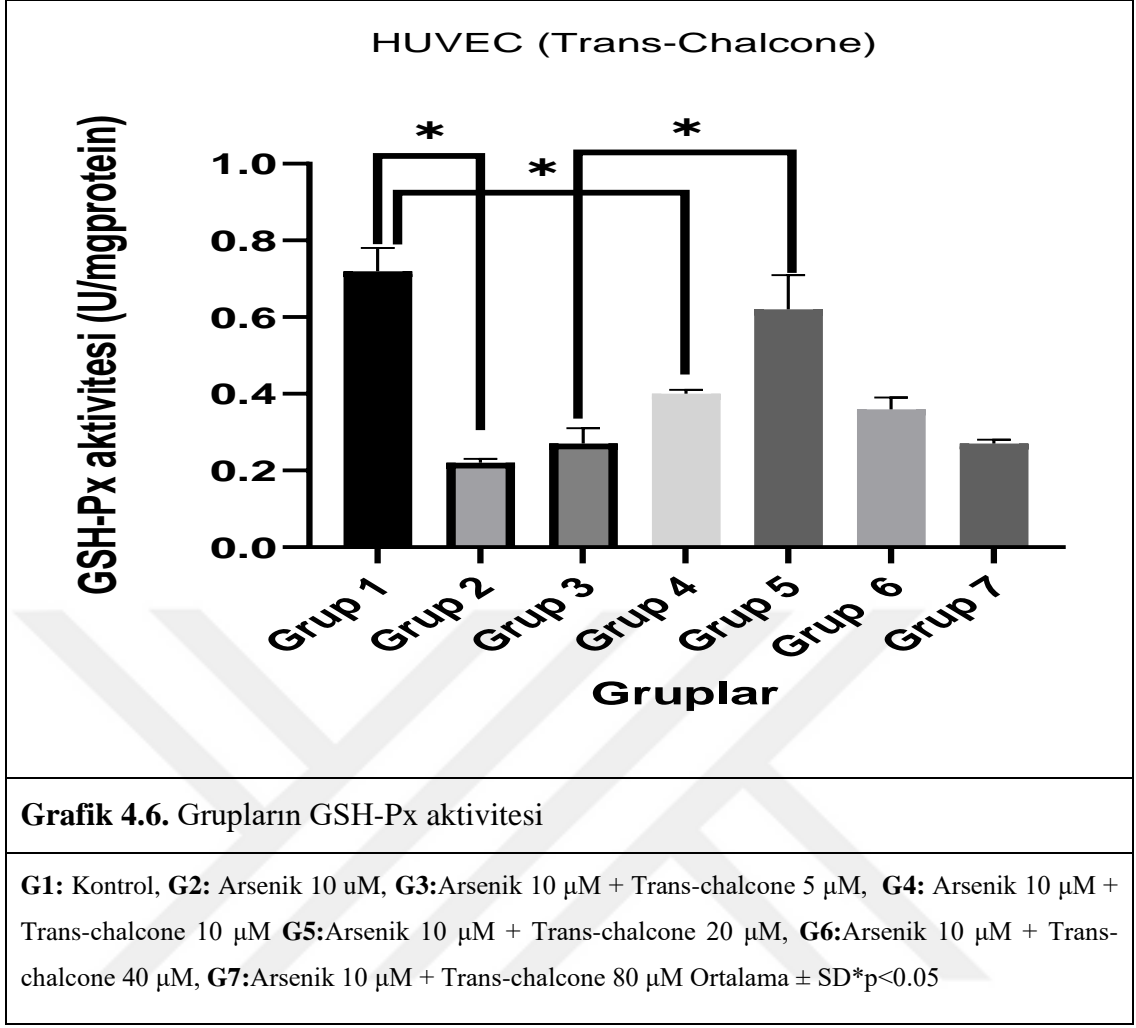


Grafik 4.4. HUVEC Hücrelerinde Arsenik Uygulanan Dozların 24. saat MTT sonuçları

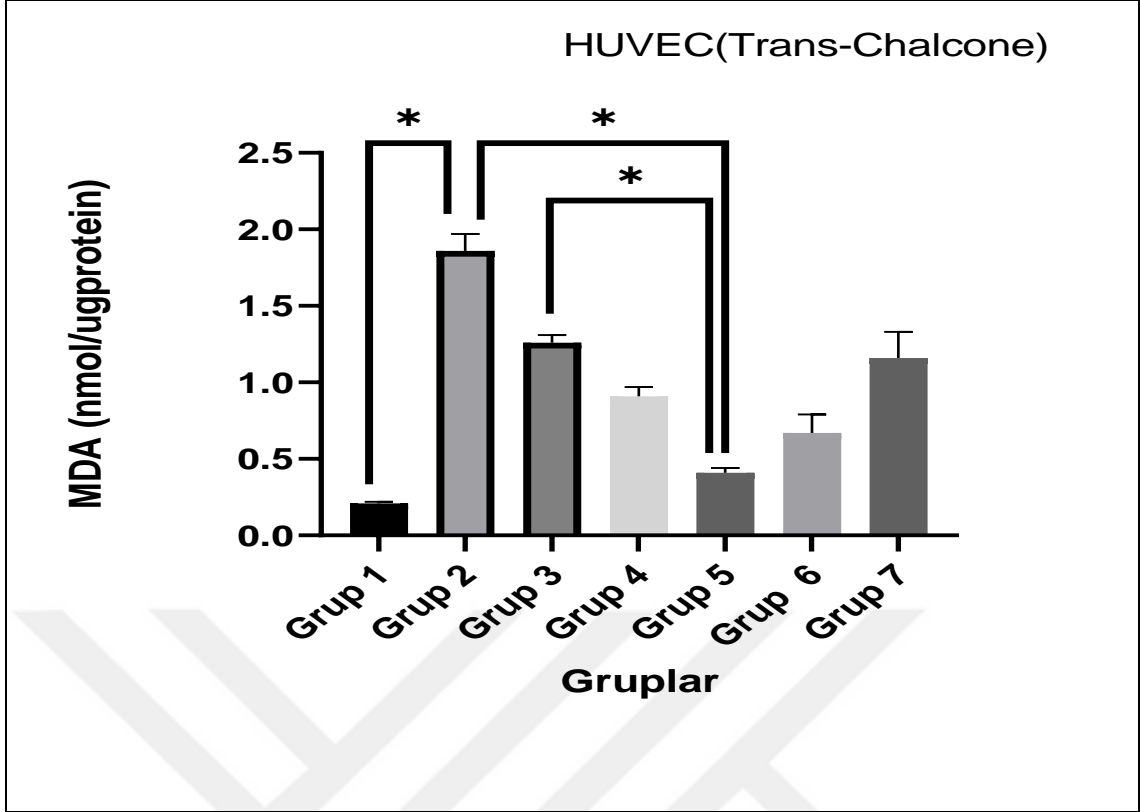
Sağlıklı HUVEC hücrelerinde 80, 40, 20, 10, ve 5 uM konsantrasyonlardaki Trans-chalcone uygulanan dozların IC50 sonuçları incelendiğinde, Trans-chalcone uygulaması için IC50 değerinin 21,31 uM olduğu görülmüştür.



Sadece Arsenik (10 μ M) verilen grupta (G2) SODaktivitesindeçok anlamlı şekilde düşmüştür (p <0.05). G1 dışında (Kontrol) bütün gruplarda en yüksek SOD aktivitesi G5'e ait iken en düşük ise G2'ye aittir (p <0.05). Ortama tedavi molekülü trans-chalcone eklendikten sonra SOD aktivitesinde artmaya yol açtığı görülmüştür. Ancak trans-chalcone dozu artıkça G6 ve G7 gruplarında doza bağlı olarak SOD aktivitesi tekrar azalmıştır.



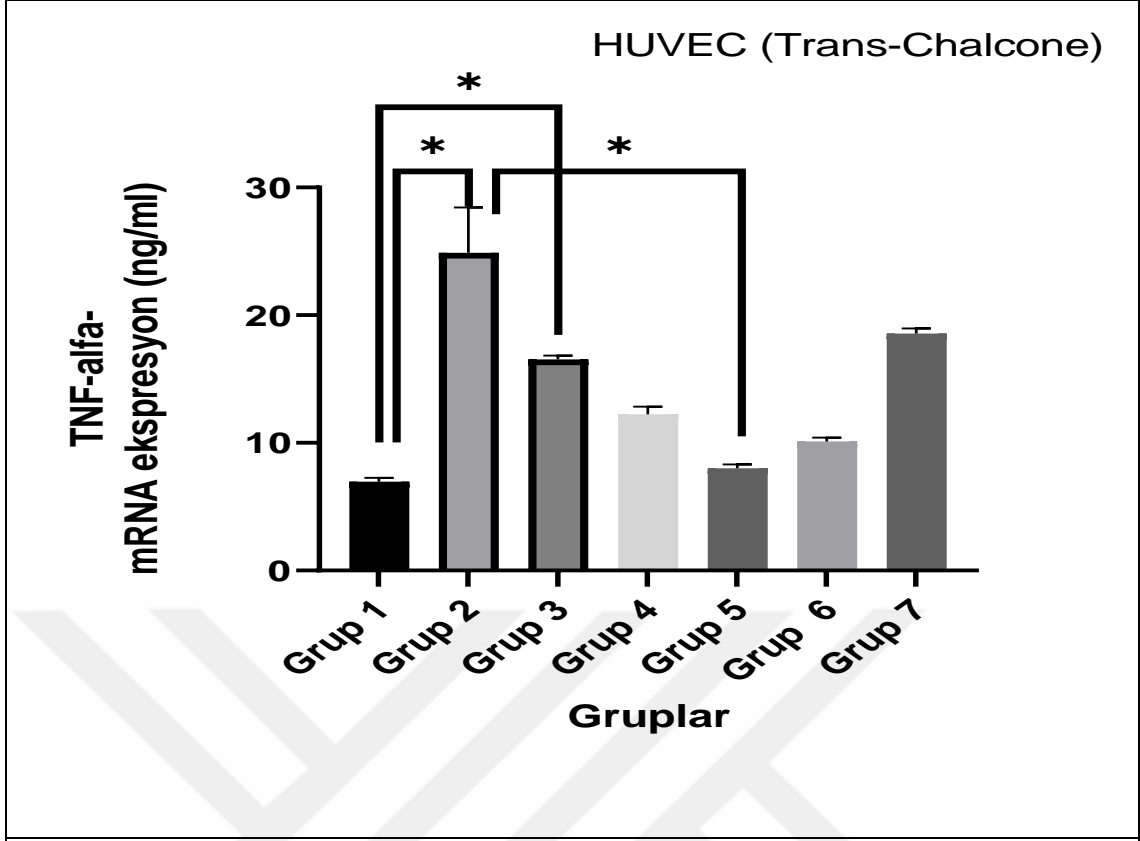
Sadece Arsenik (10 µM) verilen grupta (G2) GSH-Px aktivitesi çok anlamlı şekilde düşmüştür (p<0.05). Bütün gruplarda (G1 Kontrol hariç) en yüksek GSH-Px aktivitesi G5'e ait iken en düşük ise G2'ye aittir (p<0.05). Deney ortamına tedavi molekülü trans-chalcone eklendikten sonra GSH-Px aktivitesinde artma görülmüştür. Ancak trans-chalcone dozu arttıkça G6 ve G7 gruplarında doza bağlı olarak GSH-Px aktivitesi tekrar azalmıştır.



Grafik 4.7. Grupların MDA seviyesi

G1:Kontrol, **G2:** Arsenik 10 uM, **G3:**Arsenik 10 uM + Trans-chalcone 5 uM, **G4:** Arsenik 10 uM + Trans-chalcone 10 uM **G5:**Arsenik 10 uM + Trans-chalcone 20 uM, **G6:**Arsenik 10 uM + Trans-chalcone 40 uM, **G7:**Arsenik 10 uM + Trans-chalcone 80 uM Ortalama \pm SD*p<0.05

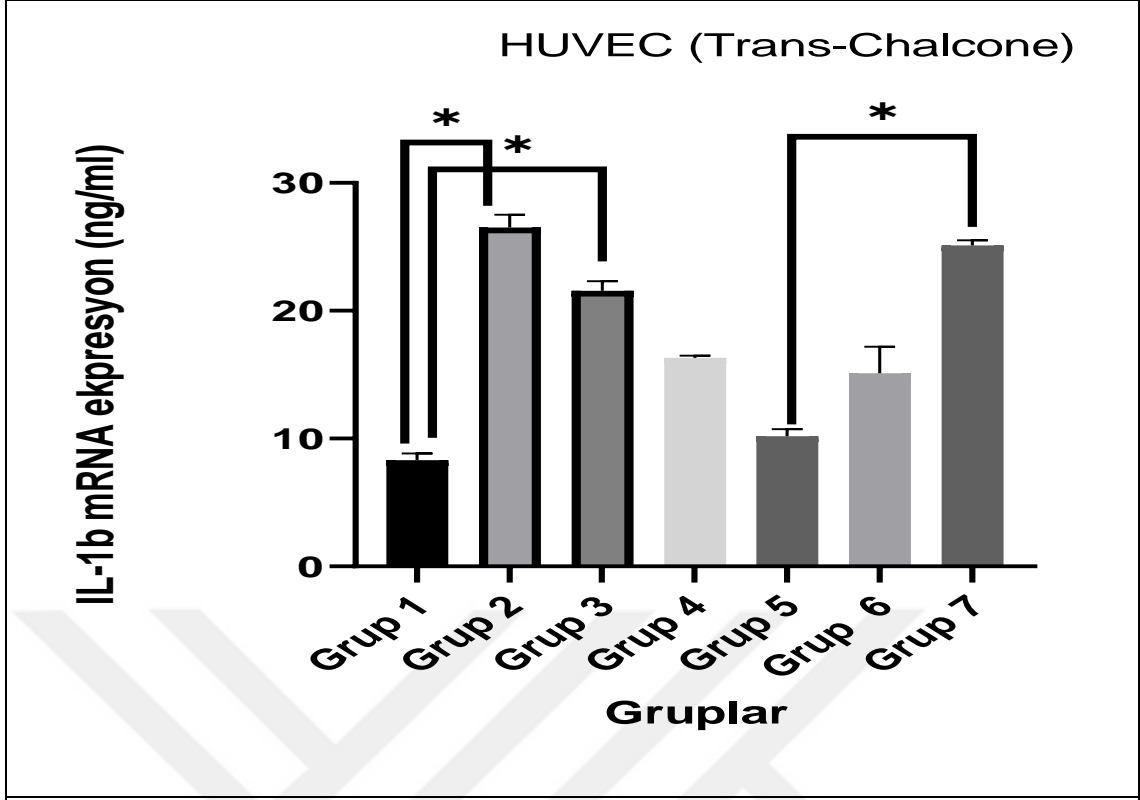
Sadece Arsenik (10 uM) verilen grupta (G2) MDA seviyesi aktivitesi çok anlamlı şekilde artmıştır (p<0.05). Bütün gruplarda en yüksek MDA düzeyi G2 iken en düşük G5'tir (p<0.05). Ortama tedavi molekülü trans-chalcone eklendikten sonra MDA seviyelerinde azalmaya yol açtığı görülmüştür. Ancak trans-chalcone dozu artıkça G6 ve G7 gruplarında MDA seviyesi tekrar artmıştır.



Grafik 4.8. Grupların TNF-alfa-mRNA ekspresyon seviyesi

G1:Kontrol, **G2:** Arsenik 10 µM, **G3:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 5 µM, **G4:** Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 10 µM **G5:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 20 µM, **G6:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 40 µM, **G7:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 80 µM Ortalama ± SD*p<0.05

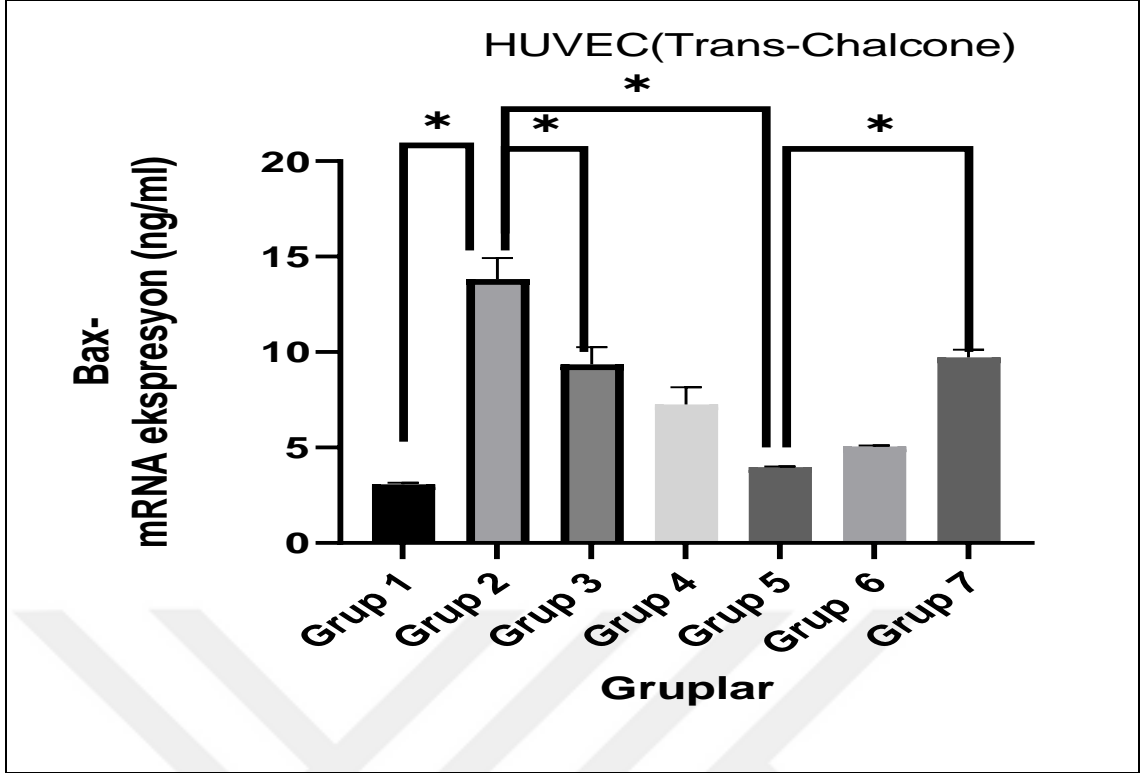
Sadece Arsenik (10 µM) verilen grupta (G2) TNF-alfa mRNA ekspresyon seviyesi aktivitesi çok anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.05$). Bütün gruplarda en yüksek mRNA ekspresyon seviyesi düzeyi G2 iken en düşük G5'tir (G1 Kontrol hariç) ($p<0.05$). Ortama tedavi molekülü trans-chalcone eklendikten sonra TNF-alfa seviyelerinde azalmaya yol açtığı görülmüştür. Ancak trans-chalcone dozu arttıkça G6 ve G7 gruplarında TNF-alfa mRNA ekspresyon seviyesi tekrar artmıştır.



Grafik 4.9. Grupların IL-1 β mRNA ekspresyon seviyesi

G1:Kontrol, **G2:** Arsenik 10 μ M, **G3:**Arsenik 10 μ M + Trans-chalcone 5 μ M, **G4:** Arsenik 10 μ M + Trans-chalcone 10 μ M **G5:**Arsenik 10 μ M + Trans-chalcone 20 μ M, **G6:**Arsenik 10 μ M + Trans-chalcone 40 μ M, **G7:**Arsenik 10 μ M + Trans-chalcone 80 μ M Ortalama \pm SD*p<0.05

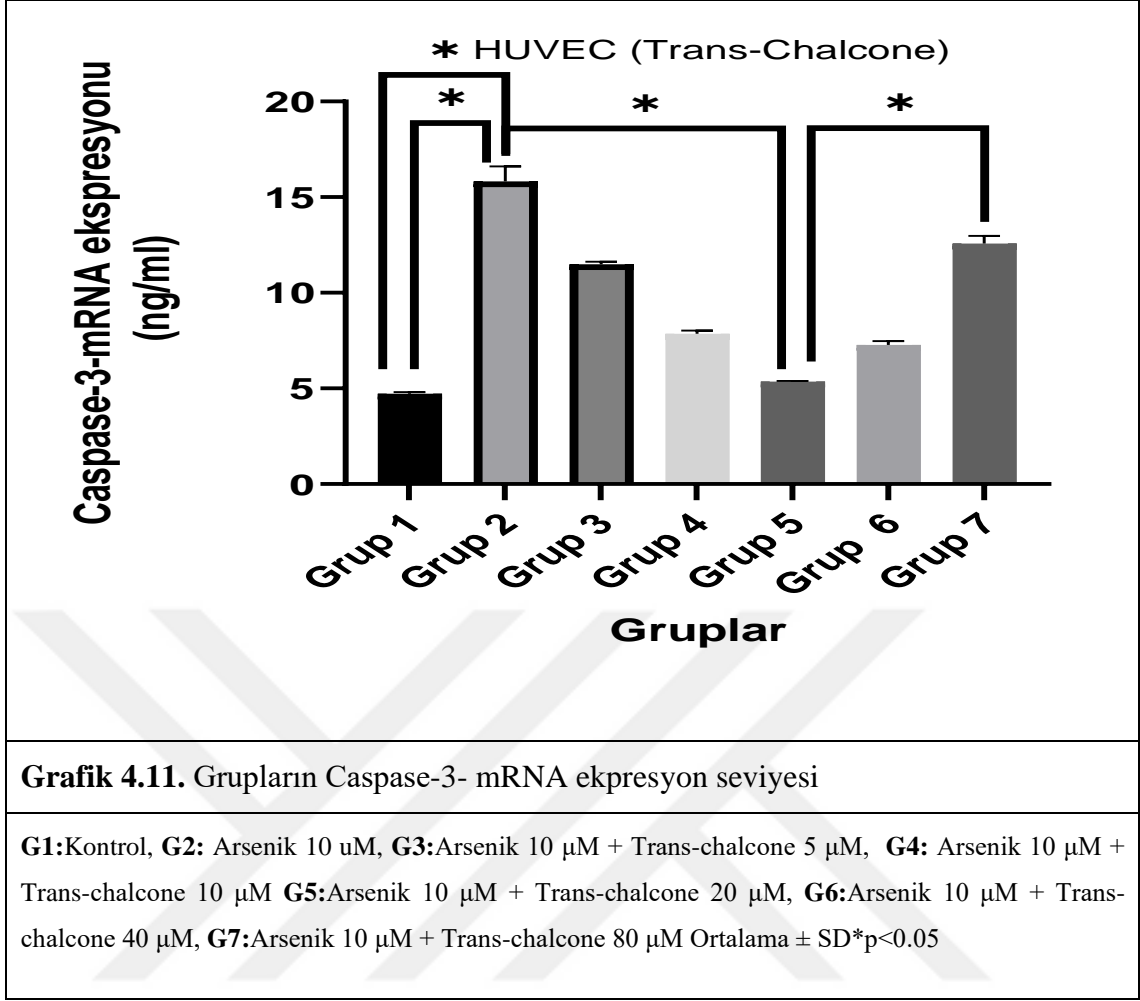
Sadece Arsenik (10 μ M) verilen grupta (G2) IL-1 β mRNA ekspresyon seviyesi aktivitesi çok anlamlı şekilde artmıştır (p<0.05). Bütün gruplarda en yüksek mRNA ekspresyon seviyesi düzeyi G2 iken en düşük G5'tir(G1 Kontrol hariç) (p<0.05). Ortama tedavi molekülü trans-chalcone eklendikten sonra IL-1 β seviyelerinde azalmaya yol açtığı görülmüştür. Ancak trans-chalcone dozu artıkça G6 ve G7 gruplarında IL-1 β mRNA ekspresyon seviyesi tekrar artmıştır.



Grafik 4.10. Grupların Bax protein mRNA ekspresyon seviyesi

G1:Kontrol, **G2:** Arsenik 10 µM, **G3:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 5 µM, **G4:** Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 10 µM **G5:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 20 µM, **G6:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 40 µM, **G7:**Arsenik 10 µM + Trans-chalcone 80 µM Ortalama ± SD*p<0.05

Sadece Arsenik (10 µM) verilen grupta (G2) Bax protein mRNA ekspresyon seviyesi aktivitesi çok anlamlı şekilde artmıştır (p<0.05). Bütün gruplarda en yüksek mRNA ekspresyon seviyesi düzeyi G2 iken en düşük G5'tir (G1 Kontrol hariç) (p<0.05). Ortama tedavi molekülü trans-chalcone eklendikten sonra Bax protein seviyelerinde azalmaya yol açtığı görülmüştür. Ancak trans-chalcone dozu arttıkça G6 ve G7 gruplarında Bax protein mRNA ekspresyon seviyesi tekrar artmıştır.



Sadece Arsenik (10 µM) verilen grupta (G2) Caspase-3 mRNA ekspresyon seviyesi aktivitesi çok anlamlı şekilde artmıştır (p<0.05). Bütün gruplarda en yüksek mRNA ekspresyon seviyesi düzeyi G2 iken en düşük G5'tir(G1 Kontrol hariç) (p<0.05). Ortama tedavi molekülü trans-chalcone eklendikten sonra Caspase-3 seviyelerinde azalmaya yol açtığı görülmüştür. Ancak trans-chalcone dozu arttıkça G6 ve G7 gruplarında Caspase-3 mRNA ekspresyon seviyesi tekrar artmıştır.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada HUVEC hücrelerinin arsenik maruziyeti sonucunda endotel hücre hasarı gerçekleştirildi. Trans-chalcone'nin HUVEC hücrelerinde Arsenik kaynaklı oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoza karşı terapötik potansiyelini araştırmayı amaçlamaktadır. Trans-chalcone'nin koruyucu rolünü ve antioksidan gücünü göstermek için antioksidan enzimlerden SOD ve GSH-px'in aktivitelerine ölçtük. Arseniğin hücrelerde neden olduğu oksidatif hasarı ölçmek için oksidatif stres parametrelerinden olan lipid peroksidasyon ürünü MDA seviyelerini ölçtük. Arseniğin apoptozis üzerindeki etkisini ve trans-chalcone'nin anti-apoptotik etkisini değerlendirmek için, Bax protein ve caspase-3 aktivitesinin mRNA ekspresyon seviyelerini ölçtük. Ayrıca inflamasyon üzerine etkisini araştırmak için TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyon seviyelerini ölçtük. Bulgularımız, doğal polifenolik bileşik trans-chalcone'nin, HUVEC hücrelerinde arseniğin neden olduğu hücrel toksisiteye karşı umut verici bir terapötik potansiyele sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Vasküler endotel, kan akışının ve dolayısıyla kan basıncının önemli bir düzenleyicisidir. Endotel hücreleri, nitrik oksit, prostasiklin, endotelin ve tromboksan gibi otokrin, parakrin ve hormonal benzeri mekanizmalar ve moleküller yoluyla hem vazodilatasyon hem de vazokonstriksiyonu modüle ederek vasküler biyolojide önemli bir rol oynar. Endotel hücreleri yalnızca kan ve doku arasında fiziksel bir tek tabaka olarak hizmet etmekle kalmamakla birlikte, kan kaynaklı streslerin saptanmasında ve bunlara tepki verilmesinde önemli bir rol oynar. Bozulmuş endotel fonksiyonu, çeşitli kardiyovasküler hastalıkların başlangıcında geri döndürülemez bir süreç olabilir (Domínguez vd.,2015; Tsai vd.,2021).

Önceki çalışmalar, vasküler endotel hücrelerinin bütünlüğünün ve normal işlevinin, vasküler ortamın stabilitesi için büyük önem taşıdığını göstermiştir. Vasküler endotel disfonksiyonu, ateroskleroz patogenezindeki ilk olaydır (Santoro vd.,2007; Kumar vd.,2014). Endotel disfonksiyonu, vasküler inflamasyon, vasküler duvar

morfolojik değişiklikleri ve öngörülebilir kardiyovasküler olayların eşlik ettiği vasküler endotel hücre apoptozu ile karakterize edilir (Zhang vd.,2015; Chalouhi vd.,2012).

Oksidatif stresin aterosklerozun önemli bir nedeni olduğu birçok faktör vasküler endotel hücre hasarı ile ilişkili olup, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (Wu vd.,2019; Makó vd.,2010).

ROS, vasküler endotel hücre disfonksiyonuna ve vasküler duvar hücrelerinde hasara neden olabilir. Antioksidan stres, vasküler endotel hücre fonksiyonunu korur ve ateroskleroza önler. Aynı zamanda kardiyovasküler hastalıkları önlemede anahtar hedeflerden biridir (Kalichman vd.,1998).

Endotel hücrelerinin korunması, aterosklerozun önlenmesi ve tedavisi için etkili bir strateji olabilir. Oksidatif stres sırasında endotel hücrelerinin işlevini koruyan ilaçlara acilen ihtiyaç duyulmaktadır (Wu vd.,2019).

Hayvan ve hücre modellerini içeren Arsenik maruziyeti çalışmalarında birden fazla Arsenik türünün maruziyetinde Arseniğin kardiyovasküler bozukluklarla ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Cai vd.,2019).

Arsenik toksisitesi için etkili bir şekilde önleyici ve terapötik bir strateji, altta yatan mekanizmaların tam olarak anlaşılması nedeniyle dünya çapında hala ciddi bir yüküdür. ROS değişikliği, arsenik toksisitesinde yaygın olarak kabul edilen önemli bir olaydır. Akut maruziyet ve nispeten yüksek doz arsenik ile yapılan daha önceki çalışmalar, aşırı ROS seviyelerinin hücrel sinyal yollarını bozmasının yanı sıra makromoleküllere zarar verdiğini düşündürmektedir. Antioksidanların arsenik toksisitesi üzerindeki etkileri, nispeten yüksek dozda arsenik senaryosunda da değerlendirilir. Bununla birlikte, ROS'un mekanizması ve işlevi, nispeten düşük dozda ve uzun süreli arsenik maruziyetinin milyonlarca insanı etkilediği gerçekçi ortamda farklı olabilir. ROS'un arsenik toksisitesindeki rolü, antioksidanların uygulanmasından önce tam olarak açıklığa kavuşturulmalıdır. Arsenik toksisitesinde araştırılan tüm antioksidanlar arasında özellikle doğal antioksidanlar, zengin kaynakları, çeşitlilikleri ve az yan etkileri, özellikle düşük moleküler ağırlıkları nedeniyle umut vericidir (Hu vd.,2020). Trans-chalcone yapı, flavonoidler ve chalcone bileşiklerine öncülük eder ve antioksidan, sitotoksik, antikanser, antimikrobiyal, antiprotozoal, antiülser, antihistamin ve antiinflamatuvar gibi bir takım terapötik özelliklere sahiptir (Molin vd.,2015; Karimi-Sales vd.,2019; Unsal vd.,2021).

Daha önce trans-chalcone alfa-amilaz inhibitör etkisini in vitro ve bunun streptozotosin ile indüklenen diyabetik fareler üzerindeki yararlı etkisi gözlemlendi (Najafian vd.,2011; Ebrahim-Habibi vd.,2010).

In vivo veriler, trans-chalcone'nin antioksidan savunmanın artması ve ROS'un azalmasıyla gözlemlenen antioksidan etki gösterdiğini göstermektedir. Farklı deneysel modellerde trans-chalcone'nin antioksidan savunma sistemini arttırdığı, ROS'u azaltarak oksidatif stresi engellediği ve yine trans-chalcone'nin inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (Miranda-Sapla vd.,2019; Karkhaneh vd.,2016; Singh vd.,2016; Martinez vd.,2016).

Örneğin, yakın bir çalışmada da trans-chalcone insan hepatoselüler karsinomunda anti-metastaz ve antitümör aktivite göstermiştir (Da Silva Siqueira vd.,2021).

Çalışmamızda HUVEC hücrelerinde arseniğin oksidatif stres parametrelerinde olan MDA seviyesini yükselttiği ve antioksidan enzim olan SOD ve GSH-Px'in aktivitelerini azalttığı tespit edildi. Trans-chalcone uygulamasının SOD ve GSH-Px ile arttığı, MDA düzeyinin azalttığı tespit edildi. Trans-chalcone uygulamasının antioksidan enzimleri aktive etmesi, MDA seviyesinin azaltılması antioksidan özelliği olarak yorumlanabilir. Bununla beraber Trans-chalcone'nun doz arttıkça arsenik ile birlikte sinerjik etki göstermiştir. Bu trans-chalcone uygulamasının uygun dozda verilmesi halinde endotel hücrelerinde arseniğin toksisitesi kaynaklı oksidatif stresi azalttığı ya da engellediği yorumu çıkarılabilir.

Endotel hücreleri, çeşitli endojen ve ekzojen proinflamatuvar uyarılara yanıt vererek inflamasyonda kritik bir rol oynar. Endotel hücrelerinin inflamatuvar yanıtı, (septik veya anafilaktik) şok, tromboz, ateroskleroz ve kronik venöz yetmezlik gibi çeşitli hastalıklarda kritik öneme sahiptir. Enflamasyonu endotel hücreleri seviyesinde kontrol etmek, patogenetik süreci etkili bir şekilde geciktirebilir veya tersine çevirebilir; bu nedenle, enflamatuvar faktörlerin sinyal yolları arasındaki farklılıkları anlamak vazgeçilmezdir (Makó.,2010).

Doğuştan gelen bağışıklık tepkisi, patojenik ajanlara karşı önemli bir savunma hattı işlevi görür ve yara onarım sürecinin ayrılmaz bir parçasıdır (Dinarello.,2000)

Hem tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) hem de İnterlökin-1 (IL-1), doğuştan gelen bağışıklık tepkisini aktive etmek, işe alım aktivasyonuna aracılık etmek,

dolaşımdaki fagositik hücrelerin (makrofajlar ve nötrofiller) yapışmasını sağlamak ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisini sonlandırmak için gerekli sitokinlerdir (Kwon vd.,2004; Vig vd.,2001)

Arsenik maruziyeti, bağışıklık hücrelerinin işlevlerine zarar verebilir ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ), interlökin-1 β (interlökin [IL]- gibi inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu değiştirebilir. 1 β), interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL-10), interlökin-12 (IL-12). Birçok araştırma, arsenik maruziyeti olan bireylerde inflamatuvar sitokin düzeylerinin değiştiğini bildirmiştir (Yan vd.,2020; Duan vd.,2017; Ahmed vd.,2019).

Monosodyum urat kristalleri deneysel gut modelinde trans-chalcone'nun oral uygulamasından sonra TNF- α ve IL-1 β üretiminde azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (Staurengo-Ferrari vd.,2018).

Lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen THP-1 monosit hücrelerinde antioksidan ve anti-inflamatuvar olduğu düşünülen Ferulik asidin sitokin (COX-1, IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-10, NF- κ β ve IFN- γ) düzeyleri üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlayan bir çalışmada LPS grubunda TNF- α ve IL-1 β seviyelerinde kontrol grubu ve diğer gruplara göre önemli bir artış gösterdiği ve LPS ile diğer bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu rapor edilmiştir. Ancak LPS ile indüklenen THP-1 monosit hücrelerinde Ferulik asit uygulamasının TNF- α ve IL-1 β seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak Ferulik asidin lipopolisakkarit ile indüklenen THP-1 hücrelerinde artan TNF- α , IL-1 α ve IL-1 β ekspresyonunu inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (Öztürk vd., 2021).

Çalışmamızda HUVEC hücrelerinde arseniğin olan TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyon seviyelerini yükselttiği, ancak trans-chalcone uygulamasının TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyon seviyesini azalttığı tespit edildi. Trans-chalcone uygulamasının TNF- α ve IL-1 β seviyelerini anlamlı şekilde azaltmasının anti inflamatuvar özelliğinden kaynaklandığı yorumu çıkarılabilir. Genel olarak bakıldığında çalışmamızın bulguları literatürle uyumludur.

Hücre ölümü, çeşitli farklı mekanizmalarla gerçekleşebilir. Hücre yenilenme dokularında gelişim sırasında ve yaşam boyunca birçok hücre apoptozu indükleyen mekanizmalar tarafından sürekli olarak elimine edilir (Fuchs ve Steller.,2015; Negroni vd.,2015).

Korunmuş bir protein ailesinin yaygın şekilde eksprese edilen bir üyesi olan Caspase-3, genellikle bu hücre ölümü modunun spesifik dışsal veya içsel indükleyicilerine yanıt veren hücrelerde apoptozun yürütülmesinde aktif proteolitik rolleri ile tanınır. Buna ek olarak artan kanıtlar, Caspase-3'ün çok hücreli organizmalarda hem normal hem de habis hücrelerin ve dokuların büyümesini ve homeostatik bakımını düzenlemede önemli roller oynadığını göstermektedir. Caspase'lerin tümü başlangıçta aktif olmayan zimojenler (procaspaseler olarak adlandırılır) olarak üretilir ve bunlar daha sonra çok çeşitli özel dahili ve/veya harici sinyaller tarafından aktivasyona tabi tutulur (Eskandari ve Eaves.,2022).

Endotel hücre apoptozu, kan damarı gelişimi, homeostaz ve yeniden şekillenmede önemli bir rol oynar. Endotel apoptozu da kardiyovasküler patolojilerle ilişkilendirilmiştir (Affara vd.,2007).

Artan endotel hücre apoptozu, endotel bütünlüğünün kaybına katkıda bulunabilir ve vasküler bozukluklara yol açabilir (Liu vd.,2010; Liu vd.,2014).

Rahaman ve ark. hem kurkumin hem de D-pinitolün arsenik toksisitesine karşı koruyucu etkileri olduğunu önceki kanıtlara dayanarak, PC12 hücrelerinde Arsenik maruziyeti üzerine sonrasında Bax, caspase 3'ün belirgin şekilde yukarı regüle olduğunu gözlemlediler. Kurkumin tek başına veya D-pinitol ile kombinasyon halinde Arsenik ile indüklenen apoptotik hücre ölümünü etkili bir şekilde bastırdığı rapor ettiler. Ayrıca PC12 hücrelerinde Arsenik maruziyetinin oksidatif stresi indüklediğini ve temel bir antioksidan ve oksidatif stres belirteci olarak işlev gören toplam GSH içeriğini olumsuz etkilediğini ortaya koydular (Rahaman vd.,2020).

HUVEC hücre hattı üzerinde yapılan bir çalışmada H₂O₂ kaynaklı apoptoz ve endoplazmik retikulum oksidatif stresi üzerindeki anti-inflamatuvar, anti-oksidasyon ve anti-apoptoz etkileri olduğu düşünülen klotho proteininin anti-oksidatif, anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkilerinin mekanizmaları araştırılmıştır. Klotho proteini, H₂O₂ ile uygulanmış HUVEC'lerin yaşayabilirliğini arttırmış, TNF- α ve IL-6'nın ekspresyonunu azaltmıştır. Klotho proteini, H₂O₂ ile işlenmiş HUVEC'lerin apoptoz oranını azaltmıştır (Cui vd.,2018).

Çalışmamızda HUVEC hücrelerinde arseniğin olan Bax ve Caspase-3 mRNA ekspresyon seviyelerini yükselttiği, ancak trans-chalcone uygulamasının Bax ve Caspase-

3 mRNA ekspresyon seviyelerini azalttığı tespit edildi. Trans-chalcone uygulamasının Bax ve Caspase-3 seviyelerini anlamlı Şekilde azaltmasının anti-antiapoptotik özelliğinden kaynaklandığı yorumu çıkarılabilir. Genel olarak bakıldığında çalışmamızın bulguları literatürle uyumludur.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

HUVEC hücre hattında arsenik toksisitesine karşı trans-chalcone'nin terapötik rolünü ve etki ettiği moleküler mekanizmalar üzerindeki düzenleyici rolünü araştırdığımız bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- Toksik olmayan bir dozda trans-chalcone tedavisinin, arsenik kaynaklı apoptozu, oksidatif stresi, inflamasyonu önemli şekilde etkilemektedir.
- HUVEC hücrelerinde arsenik maruziyeti oksidatif stresi artırmaktadır.
- HUVEC hücrelerinde arsenik maruziyeti inflamasyonu artırmaktadır.
- HUVEC hücrelerinde arsenik maruziyeti apoptozisi artırmaktadır.
- Arsenik maruziyetine kalmış HUVEC hücrelerinde uygun doz trans-chalcone ile tedavisiyle inflamasyon azalmaktadır.
- Arsenik maruziyetine kalmış HUVEC hücrelerinde uygun doz trans-chalcone ile tedavisiyle oksidatif stresi azalmaktadır.
- Arsenik maruziyetine kalmış HUVEC hücrelerinde uygun doz trans-chalcone ile tedavisiyle apoptozisi azalmaktadır.
- Trans-chalcone endotel hücrelerinin korunması, aterosklerozun önlenmesi ve tedavisi için etkili bir stratejinin başlangıcı olabilir. Altta yatan mekanizmalar, potansiyel klinik kardiyoprotektif etkiler hakkında yeni bilgiler sağlayabilir. Ancak daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır.
- Arsenik maruziyeti ile trans-chalcone'nun farklı dozları in vivo modellemeler oluşturularak çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Aaseth, J. (1983). Recent advance in the therapy of metal poisonings with chelating agents. *Human Toxicology*, 2(2), 257-272.
- Aaseth, J., Skaug, M. A., Cao, Y., & Andersen, O. (2015). Chelation in metal intoxication—principles and paradigms. *Journal of Trace Elements in medicine and Biology*, 31, 260-266.
- Affara, M., Dunmore, B., Savoie, C., Imoto, S., Tamada, Y., Araki, H., ... & Print, C. (2007). Endotelyal hücre apoptozunu anlamak: transkriptom, glikom ve proteom neyi ortaya çıkarabilir? *Royal Society B'nin Felsefi İşlemleri: Biyolojik Bilimler*, 362 (1484), 1469-1487.
- Ahmed, G., Thakur, AK, Pushpanjali, Snehil, Chaturvedi, SK, Shivam, P., ... & Narayan, S. (2019). Arsenik maruziyetine bağlı visseral leishmaniasis'te Leishmania donovani'ye karşı bağışıklık yanıtının ve enfeksiyon modelinin modülasyonu: Bir in vitro çalışma. *PLoS Bir*, 14 (2), e0210737.
- Alipour, MR, Jeddi, S.,& Karimi-Sales, E. (2020). trans-Chalcone, sıçan böbreğinde FXR/SREBP-1c/FAS ve FXR/Smad-3 yollarında yüksek yağlı diyet kaynaklı rahatsızlıkları inhibe eder. *Gıda biyokimyası dergisi*, 44 (11), e13476.
- Andersen, O. ve Aaseth, J. (2002). İn vivo metal şelasyonunun moleküler mekanizmaları: metal zehirlenmelerinin klinik tedavisi için çıkarımlar. *Çevre Sağlığı Perspektifleri*, 110 (ek 5), 887-890.
- Annapurna, A., Mudagal, M. P., & Ansari, A. (2012). Cardioprotective activity of chalcones in ischemia/reperfusion-induced myocardial infarction in albino rats. *Experimental & Clinical Cardiology*, 17(3), 110.
- Arsenic, Fact Sheet No 372. Geneva: World Health Organization (2012). Available online: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs372/en/> (accessed on 11 January 2020).
- ATSDR, T. (2000). ATSDR (Agency for toxic substances and disease registry). *Prepared by clement international corp., under contract*, 205, 88-0608.
- Austin M.B.,& Noel J.P.(2003). Thechalconesynthasesuperfamily of type III polyketidesynthases. *NatProdRep*.20:79110.
- Mandal, B. K.,& Suzuki, K. T. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58(1), 201-235.
- Bakoyiannis, I., Daskalopoulou, A., Pergialiotis, V., & Perrea, D. (2019). Fitokimyasallar ve bilişsel sağlık: Flavonoidler işe yarıyor mu? *Biyotip ve Farmakoterapi*, 109, 1488-1497.
- Baksi, A. K. (2007). GeologicalSociety of America Special Papers. *GeologicalSociety of America Special Papers*, 430, 285-303.Jomova, K., et al. "Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease." *Journal of Applied Toxicology* 31.2 (2011): 95-107.
- Banerjee, P., Bhattacharyya, S. S., Bhattacharjee, N., Pathak, S., Boujedaini, N., Belon, P., & Khuda-Bukhsh, A. R. (2009). Ascorbic acid combats arsenic-induced oxidative stress in mice liver. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72(2), 639-649.
- Baudin, B., Bruneel, A., Bosselut, N., & Vaubourdolle, M. (2007). A protocol for isolation and culture of human umbilical vein endothelial cells. *Nature protocols*, 2(3), 481-485.
- Nurchi, VM, Buha Djordjevic, A., Crisponi, G., Alexander, J., Bjørklund, G., & Aaseth, J. (2020). Arsenik toksisitesi: moleküler hedefler ve terapötik maddeler. *Biyomoleküller*, 10 (2), 235.

Bhattacharya, S. ve Haldar, PK (2013). Trichosanthes dioica kökünden elde edilen triterpenoid fraksiyonu, sıçanlarda deneysel olarak indüklenen inflamatuvar asitleri bastırır. *Farmasötik Biyoloji*, 51 (11), 1477-1479.

Bhattacharya, S. (2017). Medicinal plants and natural products in amelioration of arsenic toxicity: a short review. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 349-354.

Bhattacharya, S. (2017). Medicinal plants and natural products in amelioration of arsenic toxicity: a short review. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 349-354.

Burmaoglu, S., Yilmaz, A. O., Polat, M. F., Kaya, R., Gulcin, İ., & Algul, O. (2019). Synthesis and biological evaluation of novel tris-chalcones as potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and α -glycosidase inhibitors. *Bioorganic chemistry*, 85, 191-197.

Burmaoglu, S., Kazancioglu, E. A., Kaya, R., Kazancioglu, M., Karaman, M., Algul, O., & Gulcin, I. (2020). Synthesis of novel organohalogen chalcone derivatives and screening of their molecular docking study and some enzymes inhibition effects. *Journal of molecular structure*, 1208, 127868.

Burmaoglu, S., Yilmaz, A. O., Polat, M. F., Kaya, R., Gulcin, İ., & Algul, O. (2021). Synthesis of novel tris-chalcones and determination of their inhibition profiles against some metabolic enzymes. *Archives of physiology and biochemistry*, 127(2), 153-161.

Bjørklund, G., Mutter, J., & Aaseth, J. (2017). Metal chelators and neurotoxicity: lead, mercury, and arsenic. *Archives of toxicology*, 91(12), 3787-3797.

Bjørklund, G., Rahaman, M. S., Shanaida, M., Lysiuk, R., Oliynyk, P., Lenchyk, L., ... & Peana, M. (2022). Natural dietary compounds in the treatment of arsenic toxicity. *Molecules*, 27(15), 4871.

Bjørklund, G., Tippairote, T., Rahaman, M. S., & Aaseth, J. (2020). Developmental toxicity of arsenic: a drift from the classical dose–response relationship. *Archives of Toxicology*, 94(1), 67-75.

Bozack, AK, Saxena, R., & Gamble, MV (2018). Tek karbon metabolizması üzerindeki beslenme etkileri: arsenik metilasyonu ve toksisite üzerindeki etkiler. *Beslenme yıllic gözden geçirilmesi*, 38, 401-429.

Cai, Z., Zhang, Y., Zhang, Y., Miao, X., Li, S., Yang, H., ... & Huang, Z. (2019). Use of a mouse model and human umbilical vein endothelial cells to investigate the effect of arsenic exposure on vascular endothelial function and the associated role of calpains. *Environmental health perspectives*, 127(7), 077003.

Chandravanshi, L. P., Yadav, R. S., Shukla, R. K., Singh, A., Sultana, S., Pant, A. B., ... & Khanna, V. K. (2014). Reversibility of changes in brain cholinergic receptors and acetylcholinesterase activity in rats following early life arsenic exposure. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 34, 60-75.

Chalouhi, N., Ali, M. S., Jabbour, P. M., Tjoumakaris, S. I., Gonzalez, L. F., Rosenwasser, R. H., ... & Dumont, A. S. (2012). Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32(9), 1659-1676.

Chen, G., Mao, J., Zhao, J., Zhang, Y., Li, T., Wang, C., ... & Wu, Q. (2016). Arsenic trioxide mediates HAPI microglia inflammatory response and the secretion of inflammatory cytokine IL-6 via Akt/NF- κ B signaling pathway. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 81, 480-488.

Cui, W., Len, B., Liu, W., & Wang, G. (2018). Suppression of apoptosis in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) by klotho protein is associated with reduced endoplasmic reticulum oxidative stress and activation of the PI3K/AKT pathway. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24, 8489.

Cecilia, G., Dinarello, C. A., & Mantovani, A. (2013). The interleukin-1 family: Back to the future. *Immunity*, 39(6), 1003-18.

Das, B.; Chaudhuri, K. Sodyum arsenit kaynaklı toksisitenin, sarımsağın biyoaktif bir bileşeni olan dialil disülfid ile iyileştirilmesi: *Antioksidanların katılımı ve şelat etkisi*. *RSC Av. 2014*, 4, 20964–20973.

da Silva Siqueira, E., Concato, V. M., Tomiotto-Pellissier, F., Silva, T. F., da Silva Bortoleti, B. T., Gonçalves, M. D., ... & Conchon-Costa, I. (2021). Trans-chalcone induces death by autophagy mediated by p53 up-regulation and β -catenin down-regulation on human hepatocellular carcinoma HuH7. 5 cell line. *Phytomedicine*, *80*, 153373.

Dai, D. F., Rabinovitch, P. S., & Ungvari, Z. (2012). Mitochondria and cardiovascular aging. *Circulation research*, *110*(8), 1109-1124.

Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, *118*(2), 503-508.

Prasad, A. S. (1988). Essential and toxic trace elements in human health and disease.

Domínguez-Borgua, A., Izaguirre-Gutiérrez, F., & Meaney, E. (2015). The vascular endothelium: a review series I. Basic aspects of the vascular endothelium. *Revista mexicana de cardiología*, *26*(2), 95-100.

Duan, X., Gao, S., Li, J., Wu, L., Zhang, Y., Li, W., ... & Li, B. (2017). Acute arsenic exposure induces inflammatory responses and CD4⁺ T cell subpopulations differentiation in spleen and thymus with the involvement of MAPK, NF- κ B, and Nrf2. *Molecular immunology*, *81*, 160-172.

Edmonds, J. S., & Francesconi, K. A. (1977). Methylated arsenic from marine fauna. *Nature*, *265*(5593), 436-436.

Emadi, A., & Gore, S. D. (2010). Arsenic trioxide—an old drug rediscovered. *Blood reviews*, *24*(4-5), 191-199.

Eskandari, E., & Eaves, C. J. (2022). Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. *Journal of Cell Biology*, *221*(6), e202201159.

Farber, E. M. (1992). History of the treatment of psoriasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *27*(4), 640-645.

Fattori, V., Amaral, F. A., & Verri Jr, W. A. (2016). Neutrophils and arthritis: role in disease and pharmacological perspectives. *Pharmacological research*, *112*, 84-98.

Field, C. J., Johnson, I. R., & Schley, P. D. (2002). Nutrients and their role in host resistance to infection. *Journal of leukocyte biology*, *71*(1), 16-32.

Flores-López, L. Z., Espinoza-Gómez, H., & Somanathan, R. (2019). Silver nanoparticles: Electron transfer, reactive oxygen species, oxidative stress, beneficial and toxicological effects. Mini review. *Journal of Applied Toxicology*, *39*(1), 16-26.

Fuchs, Y., & Steller, H. (2015). Live to die another way: modes of programmed cell death and the signals emanating from dying cells. *Nature reviews Molecular cell biology*, *16*(6), 329-344.

Gerhardsson, L., & Aaseth, J. (2016). Guidance for clinical treatment of metal poisonings—Use and misuse of chelating agents. *Chelation therapy in the treatment of metal intoxication*. Academic Press, London, 313-341.

George, C. M., Sima, L., Arias, M. H. J., Mihalic, J., Cabrera, L. Z., Danz, D., ... & Gilman, R. H. (2014). Exposition à l'arsenic dans l'eau potable: Une menace méconnue pour la santé au Pérou. *Bulletin of the World Health Organization*, *92*(8), 565-572.

Go, M. L., Wu, X., & Liu, X. L. (2005). Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Current medicinal chemistry*, *12*(4), 483-499.

Petruk, G., Del Giudice, R., Rigano, M. M., & Monti, D. M. (2018). Antioxidants from plants protect against skin photoaging. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2018*.

Horiuchi, T., Mitoma, H., Harashima, S. I., Tsukamoto, H., & Shimoda, T. (2010). Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*, *49*(7), 1215-1228.

Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., & Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicological sciences*, *123*(2), 305-332.

Hu, Y., Li, J., Lou, B., Wu, R., Wang, G., Lu, C., ... & Xu, Y. (2020). The role of reactive oxygen species in arsenic toxicity. *Biomolecules*, *10*(2), 240.

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, *757-772*.

Iwashina, T. (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, *113*(3), 287.

- Jalalvand, F., Amoli, M. M., Yaghmaei, P., Kimiagar, M., & Ebrahim-Habibi, A. (2015). Acarbose versus trans-chalcone: comparing the effect of two glycosidase inhibitors on obese mice. *Archives of endocrinology and metabolism*, 59, 202-209.
- Jang, D. I., Lee, A. H., Shin, H. Y., Song, H. R., Park, J. H., Kang, T. B., ... & Yang, S. H. (2021). The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2719.
- Jomova, K. (2011). i in. Arsen: toksyczność, stres oksydacyjny i choroby człowieka. *J Appl Toxicol*, 31(2), 95-107.
- Kalichman, M. W., Dines, K. C., Bobik, M., & Mizisin, A. P. (1998). Nerve conduction velocity, laser Doppler flow, and axonal caliber in galactose and streptozotocin diabetes. *Brain research*, 810(1-2), 130-137.
- Karimi-Sales, E., Alipour, M. R., Naderi, R., Hosseinzadeh, E., & Ghiasi, R. (2019). Protective effect of trans-chalcone against high-fat diet-induced pulmonary inflammation is associated with changes in miR-146a and pro-inflammatory cytokines expression in male rats. *Inflammation*, 42, 2048-2055.
- Karimi-Sales, E., Ebrahimi-Kalan, A., & Alipour, M. R. (2019). Preventive effect of trans-chalcone on non-alcoholic steatohepatitis: Improvement of hepatic lipid metabolism. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 109, 1306-1312.
- Karimi-Sales, E., Jeddi, S., Ebrahimi-Kalan, A., & Alipour, M. R. (2018). trans-Chalcone prevents insulin resistance and hepatic inflammation and also promotes hepatic cholesterol efflux in high-fat diet-fed rats: modulation of miR-34a-, miR-451-, and miR-33a-related pathways. *Food & function*, 9(8), 4292-4298.
- Karimi-Sales, E., Jeddi, S., & Alipour, M. R. (2022). trans-Chalcone inhibits transforming growth factor- β 1 and connective tissue growth factor-dependent collagen expression in the heart of high-fat diet-fed rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 128(5), 1221-1224.
- Karimi-Sales, E., Mohaddes, G., & Alipour, M. R. (2018). Chalcones as putative hepatoprotective agents: Preclinical evidence and molecular mechanisms. *Pharmacological research*, 129, 177-187.
- Karkhaneh, L., Yaghmaei, P., Parivar, K., Sadeghizadeh, M., & Ebrahim-Habibi, A. (2016). Effect of trans-chalcone on atheroma plaque formation, liver fibrosis and adiponectin gene expression in cholesterol-fed NMRI mice. *Pharmacological Reports*, 68(4), 720-727.
- Khanam, R., Kumar, A., Nayak, A. K., Shahid, M., Tripathi, R., Vijayakumar, S., ... & Pathak, H. (2020). Metal (loid) s (As, Hg, Se, Pb and Cd) in paddy soil: Bioavailability and potential risk to human health. *Science of the Total Environment*, 699, 134330.
- Khan, S. S., Sharma, A., & Flora, S. J. (2022). Phytochemicals in the management of arsenic toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 35(6), 916-934.
- Kharroubi, W., Ahmed, S. H., Nury, T., Androletti, P., Sakly, R., Hammami, M., & Lizard, G. (2017). Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and apoptotic induction in microglial BV-2 cells treated with sodium arsenate. *Journal of Environmental Sciences*, 51, 44-51.
- Khovidhunkit, W., Kim, M. S., Memon, R. A., Shigenaga, J. K., Moser, A. H., Feingold, K. R., & Grunfeld, C. (2004). Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *The Journal of Lipid Research*, 45(7), 1169-1196.
- Krinsky, N. I., & Deneke, S. M. (1982). Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids. *Journal of the National Cancer Institute*, 69(1), 205-210.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3), 217-233.

Kumar, S., Kim, C. W., Simmons, R. D., & Jo, H. (2014). Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRNAs. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, *34*(10), 2206-2216.

Kwon, H. J., Breese, E. H., Vig-Varga, E., Luo, Y., Lee, Y., Goebel, M. G., & Harrington, M. A. (2004). Tumor necrosis factor alpha induction of NF- κ B requires the novel coactivator SIMPL. *Molecular and cellular biology*, *24*(21), 9317-9326.

Lamoke, F., Labazi, M., Montemari, A., Parisi, G., Varano, M., & Bartoli, M. (2011). Trans-Chalcone prevents VEGF expression and retinal neovascularization in the ischemic retina. *Experimental eye research*, *93*(4), 350-354.

Liebler, D. C., Kling, D. S., & Reed, D. J. (1986). Antioxidant protection of phospholipid bilayers by alpha-tocopherol. Control of alpha-tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *Journal of Biological Chemistry*, *261*(26), 12114-12119.

Liu, M., Wilairat, P., & Go, M. L. (2001). Antimalarial alkoxyated and hydroxylated chalcones: structure– activity relationship analysis. *Journal of Medicinal Chemistry*, *44*(25), 4443-4452.

Liu, X., Gao, Y., Yao, H., Zhou, L., Sun, D., & Wang, J. (2013). Neuroglobin involvement in the course of arsenic toxicity in rat cerebellar granule neurons. *Biological trace element research*, *155*, 439-446.

Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., & Asati, V. (2015). Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *European journal of medicinal chemistry*, *98*, 69-114.

Mahapatra, D. K., & Bharti, S. K. (2016). Therapeutic potential of chalcones as cardiovascular agents. *Life sciences*, *148*, 154-172.

Makó, V., Czúcz, J., Weiszhar, Z., Herczenik, E., Matkó, J., Prohászka, Z., & Cervenak, L. (2010). Proinflammatory activation pattern of human umbilical vein endothelial cells induced by IL-1 β , TNF- α , and LPS. *Cytometry Part A*, *77*(10), 962-970.

Martinez, R. M., Pinho-Ribeiro, F. A., Vale, D. L., Steffen, V. S., Vicentini, F. T., Vignoli, J. A., ... & Casagrande, R. (2017). Trans-chalcone added in topical formulation inhibits skin inflammation and oxidative stress in a model of ultraviolet B radiation skin damage in hairless mice. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *171*, 139-146.

Martinez, R. M., Pinho-Ribeiro, F. A., Steffen, V. S., Silva, T. C., Caviglione, C. V., Bottura, C., ... & Casagrande, R. (2016). Topical formulation containing naringenin: efficacy against ultraviolet B irradiation-induced skin inflammation and oxidative stress in mice. *PLoS One*, *11*(1), e0146296.

Mehrandish, R., Rahimian, A., & Shahriary, A. (2019). Heavy metals detoxification: A review of herbal compounds for chelation therapy in heavy metals toxicity. *Journal of Herbmed Pharmacology*, *8*(2), 69-77.

Mink, P. J., Alexander, D. D., Barraj, L. M., Kelsh, M. A., & Tsuji, J. S. (2008). Low-level arsenic exposure in drinking water and bladder cancer: a review and meta-analysis. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *52*(3), 299-310.

Miranda-Sapla, M. M., Tomiotto-Pellissier, F., Assolini, J. P., Carloto, A. C. M., da Silva Bortoleti, B. T., Goncalves, M. D., ... & Pavanelli, W. R. (2019). trans-Chalcone modulates *Leishmania amazonensis* infection in vitro by Nrf2 overexpression affecting iron availability. *European Journal of Pharmacology*, *853*, 275-288.

Molin, M., Ulven, S. M., Meltzer, H. M., & Alexander, J. (2015). Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology—Review focusing on seafood arsenic. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *31*, 249-259.

Mondal, P., Majumder, C. B., & Mohanty, B. (2006). Laboratory based approaches for arsenic remediation from contaminated water: recent developments. *Journal of Hazardous materials*, *137*(1), 464-479.

Moore, D. F., O'Callaghan, C. A., Berlyne, G., Ogg, C. S., Davies, H. A., House, I. M., & Henry, J. A. (1994). Acute arsenic poisoning: absence of polyneuropathy after treatment with 2, 3-dimercaptopropanesulphonate (DMPS). *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *57*(9), 1133-1135.

- Najafian, M., Ebrahim-Habibi, A., Hezareh, N., Yaghmaei, P., Parivar, K., & Larijani, B. (2011). Trans-chalcone: a novel small molecule inhibitor of mammalian alpha-amylase. *Molecular biology reports*, 38, 1617-1620.
- Najafian, M., Ebrahim-Habibi, A., Yaghmaei, P., Parivar, K., & Larijani, B. (2010). Core structure of flavonoids precursor as an antihyperglycemic and antihyperlipidemic agent: an in vivo study in rats. *Acta biochimica polonica*, 57(4), 553-560.
- Naranmandura, H., Xu, S., Sawata, T., Hao, W. H., Liu, H., Bu, N., ... & Suzuki, N. (2011). Mitochondria are the main target organelle for trivalent monomethylarsonous acid (MMAIII)-induced cytotoxicity. *Chemical research in toxicology*, 24(7), 1094-1103.
- Negróni, A., Cucchiara, S., & Stronati, L. (2015). Apoptosis, necrosis, and necroptosis in the gut and intestinal homeostasis. *Mediators of inflammation*, 2015.
- Nishikimi, M. (1975). Oxidation of ascorbic acid with superoxide anion generated by the xanthine-xanthine oxidase system. *Biochemical and biophysical research communications*, 63(2), 463-468.
- Nurçi, VM; Corcevic, AB; Crisponi, G.; Alexander, J.; Bjørklund, G.; Aaseth, J. (2020). Arsenik toksisitesi: Moleküler hedefler ve terapötik maddeler. *Biyomoleküller*, 10(235).
- Obeng, E. (2020). Apoptosis (programmed cell death) and its signals-A review. *Brazilian Journal of Biology*, 81, 1133-1143.
- Öztürk, Ş., Durmaz, B., Memmedov, H., Oktay, L. M., Günel, S. N., Olukman, M., & Sözmen, E. Y. (2021). Ferulik asitin lipopolisakkaridaz ile induklenmiş insan lösemi monositik hücrelerinde sitokin salınımına etkisi. *Ege Tıp Dergisi*, 60(1), 39-50.
- Paglia, D. E., & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 70(1), 158-169.
- Piñero, J., Temporal, R. M., Silva-Gonçalves, A. J., Jiménez, I. A., Bazzocchi, I. L., Oliva, A., ... & Valladares, B. (2006). New administration model of trans-chalcone biodegradable polymers for the treatment of experimental leishmaniasis. *Acta tropica*, 98(1), 59-65.
- Rahaman, M. S., Banik, S., Akter, M., Rahman, M. M., Sikder, M. T., Hosokawa, T., ... & Kurasaki, M. (2020). Curcumin alleviates arsenic-induced toxicity in PC12 cells via modulating autophagy/apoptosis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 200, 110756.
- Ratnaike, R. N. (2003). Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgraduate medical journal*, 79(933), 391-396.
- Genchi, G., Lauria, G., Catalano, A., Carocci, A., & Sinicropi, MS (2022). Arsenik: Dünya çapında büyük bir sağlık sorunu üzerine bir inceleme. *Uygulamalı Bilimler*, 12 (12), 6184.
- Román, M. D., Niclis, C., Aballay, L. R., Lantieri, M. J., Díaz, M. D. P., & Muñoz, S. E. (2018). Do exposure to arsenic, occupation and diet have synergistic effects on prostate cancer risk?. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 19(6), 1495.
- Rozmer, Z., & Perjési, P. (2016). Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry reviews*, 15, 87-120.
- Saintilnord, W. N., & Fondufe-Mittendorf, Y. (2021, November). Arsenic-induced epigenetic changes in cancer development. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 76, pp. 195-205). Academic Press.
- Santoro, M. M., Samuel, T., Mitchell, T., Reed, J. C., & Stainier, D. Y. (2007). Birc2 (cIap1) regulates endothelial cell integrity and blood vessel homeostasis. *Nature genetics*, 39(11), 1397-1402.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(9), 930-940.

- Shinde, A., Ganu, J., & Naik, P. (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.
- Singh, H., Sidhu, S., Chopra, K., & Khan, M. U. (2016). Hepatoprotective effect of trans-chalcone on experimentally induced hepatic injury in rats: inhibition of hepatic inflammation and fibrosis. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 94(08), 879-887.
- Shavali, S., & Sens, D. A. (2008). Synergistic neurotoxic effects of arsenic and dopamine in human dopaminergic neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Toxicological sciences*, 102(2), 254-261.
- Shila, S., Subathra, M., Devi, M. A., & Panneerselvam, C. (2005). Arsenic intoxication-induced reduction of glutathione level and of the activity of related enzymes in rat brain regions: reversal by dl- α -lipoic acid. *Archives of toxicology*, 79, 140-146.
- Singh, A. K., & Vinayak, M. (2015). Curcumin attenuates CFA induced thermal hyperalgesia by modulation of antioxidant enzymes and down regulation of TNF- α , IL-1 β and IL-6. *Neurochemical research*, 40, 463-472.
- Staurengo-Ferrari, L., Ruiz-Miyazawa, K. W., Pinho-Ribeiro, F. A., Fattori, V., Zaninelli, T. H., Badaro-Garcia, S., ... & Verri Jr, W. A. (2018). Trans-chalcone attenuates pain and inflammation in experimental acute gout arthritis in mice. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1123.
- Tsai, C. L., Tsai, C. W., Chang, W. S., Lin, J. C., Hsia, T. C., & Bau, D. T. (2021). Protective effects of baicalin on arsenic trioxide-induced oxidative damage and apoptosis in human umbilical vein endothelial cells. *in vivo*, 35(1), 155-162.
- Tseng, H. P., Wang, Y. H., Wu, M. M., The, H. W., Chiou, H. Y., & Chen, C. J. (2006). Association between chronic exposure to arsenic and slow nerve conduction velocity among adolescents in Taiwan. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 182-189.
- Turpeinen, R., Panssar-Kallio, M., Häggblom, M., & Kairesalo, T. (1999). Influence of microbes on the mobilization, toxicity and biomethylation of arsenic in soil. *Science of the Total Environment*, 236(1-3), 173-180.
- Hussain, F., & Kayani, H. U. R. (2020). Aging-Oxidative stress, antioxidants and computational modeling. *Heliyon*, 6(5).
- Unsal, V., Deveci, K., Ozmen, Z. C., & Tumer, M. K. (2021). Research on the effects of L-carnitine and trans-chalcone on endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in high-fructose corn syrup-fed rats. *Nutrition & Food Science*, 51(2), 345-361.
- Wax, P. M., Wax, P., & Thornton, C. A. (2000). Recovery from severe arsenic-induced peripheral neuropathy with 2, 3-dimercapto-l-propanesulphonic acid. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 38(7), 777-780.
- Wu, Y., Wang, Y., & Nabi, X. (2019). Protective effect of Ziziphora clinopodioides flavonoids against H₂O₂-induced oxidative stress in HUVEC cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 117, 109156.
- Vig, E., Green, M., Liu, Y., Yu, K. Y., Kwon, H. J., Tian, J., ... & Harrington, M. A. (2001). SIMPL is a tumor necrosis factor-specific regulator of nuclear factor- κ B activity. *Journal of Biological Chemistry*, 276(11), 7859-7866.
- Verri Jr, W. A., Vicentini, F. T., Baracat, M. M., Georgetti, S. R., Cardoso, R. D., Cunha, T. M., ... & Casagrande, R. (2012). Flavonoids as anti-inflammatory and analgesic drugs: mechanisms of action and perspectives in the development of pharmaceutical forms. *Studies in natural products chemistry*, 36, 297-330.
- Vitanaj, M.; Dabrowska, BB; Mukherjee, AB; Sandhi, A.; Bhattacharya, P. Bitkiler tarafından arsenik alımı ve olası fitoremedinorganik arsenikyon uygulamaları: Kısa bir genel bakış. *çevre. kimya Letonya* 2012 , 10 , 217–224.
- Yan, N., Xu, G., Zhang, C., Liu, X., Li, X., Sun, L., ... & Li, B. (2020). Chronic arsenic exposure induces the time-dependent modulation of inflammation and immunosuppression in spleen. *Cell & Bioscience*, 10, 1-10.
- Yan-Chun, Z. ve Rong-Liang, Z. (1991). Süperoksit anyon temizleyiciler ve antioksidanlar olarak fenolik bileşikler ve bir analog. *Biyokimyasal farmakoloji* , 42 (6), 1177-1179.
- Yu, O., & Jez, J. M. (2008). Nature's assembly line: biosynthesis of simple phenylpropanoids and polyketides. *The Plant Journal*, 54(4), 750-762.

Zaffiri, L., Gardner, J., & Toledo-Pereyra, L. H. (2012). History of antibiotics. From salvarsan to cephalosporins. *Journal of Investigative Surgery*, 25(2), 67-77.

Zhang, Y., Qin, W., Zhang, L., Wu, X., Du, N., Hu, Y., ... & Yang, B. (2015). MicroRNA-26a prevents endothelial cell apoptosis by directly targeting TRPC6 in the setting of atherosclerosis. *Scientific reports*, 5(1), 9401.

Zi-Yuan, L., Wan-Cheng, C., & Yong-Hua, L. (2016). TNF-(enhances vascular cell adhesion molecule-1 expression in human bone marrow mesenchymal stem cells via the NF-(B, ERK and JNK signaling pathways. *Mol Med Rep*, 14, 643-8.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	Mustafa GÖZÜOĞLU
Yabancı Dili	İngilizce
ORCID Numarası	0000-0002-9908-9978
Ulusal Tez Merkezi Referans Numarası	10414161
Lise	Mardin Lisesi
Yüksek Lisans	Omü Veteriner Hekimliği Histoloji ve Embriyoloji A.B.D Çörek Otunun Akciğerler Üzerine İmmünmodülatör Etkisi
Mesleki Deneyim	2013 den beri Zekim Eczanesinde serbest eczacı
Akademik Çalışmalar	

