

ERİTROSİTLERDE *in vitro* OKSİDATİF STRESE KARŞI ANTİOKSİDAN OLARAK DEĞERLENDİRİLEN ÇEŞİTLİ BİTKİ EKSTRAKTARI

Seda BALKAN

Kırklareli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 39100, Kırklareli
Corresponding author: e-mail: balkan.seda@hotmail.com

Alınış (Received): 14 Mart 2017, Kabul (Accepted): 25 Haziran 2017, Erken Görünüm (Online First): 02 Ağustos 2017, Basım (Published): 15 Aralık 2017

Özet: Son yıllarda pek çok hastalığın patogeneğinde oksidatif stresin etken olması araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Eritrositler tüm vücut dokuları ve organları ile iletişim halinde olan, oksidatif strese karşı en hassas hücre gruplarından biridir. Bu nedenle oksidatif stresin olumsuz etkilerinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda eritrosit hücreleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte oksidatif stresin olumsuz etkilerinin azaltılabilmesi veya yok edilebilmesi için doğal kaynaklı antioksidan maddelerin arayışı ile ilgili çalışma sayısı her geçen gün artmaktadır. Bu doğal kaynaklı antioksidan maddelerin tespiti için yapılan çalışmalarda çoğunlukla bitki ekstraktlarından yararlanılmakta ve bu ekstraktların antioksidan kapasiteleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada, eritrositlerde oksidatif stresin meydana getirilme yolları ve oksidatif strese karşı kullanılan bitki ekstraktları ile ilgili bilgilere yer verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bitki ekstraktı, oksidatif stres, eritrosit, *in vitro*.

Various Plant Extracts Evaluated as Antioxidant Against *in vitro* Oxidative Stress in Erythrocytes

Abstract: The role of oxidative stress in pathogenesis of many diseases has interested researchers in recent years. Erythrocytes are in contact with all organs and tissues and are one of the most vulnerable cell types against oxidative stress. Therefore, erythrocyte cells are commonly used in studies performed to reveal negative effects of oxidative stress. On the other hand, the number of studies carried out with the aim of finding natural antioxidants to reduce or neutralize negative effects of oxidative stress is increasing day by day. Plant extracts are mostly used in these studies and antioxidant effects of these extracts are investigated. In the present study, current data on the means of producing oxidative stress in erythrocytes and the plant extracts used against oxidative stress were reviewed.

Key words: Plant extract, oxidative stress, erythrocyte, *in vitro*.

Giriş

Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada, oksidatif stresin pek çok hastalığın patogeneğinde rol aldığı gösterilmektedir. Oksidatif stres ile ilişkili hastalıkların başında; kardiyolojik hastalıklar (Griendling ve Fitz 2003), nörolojik hastalıklar (Ameer 2016), diyabet (Salgueiro ve ark. 2013, Viskupicova ve ark. 2015), romatolojik hastalıklar, kanser (Mehta ve ark. 2016) ve yaşlanma (Lucas ve ark. 2016, Tarry-Adkins ve ark. 2016) gelmektedir. Oksidatif stresin bu kadar çok hastalığın patogeneğinde yer alışı araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir. Çeşitli yollar ile bu olumsuz etkilerin azaltılması veya yok edilmesi için yapılan araştırma sayısı her geçen gün artmaktadır (Suboh ve ark. 2004, Ajila ve Prasada Rao 2008, Yang ve ark. 2012, Sompong ve ark. 2015, Ameer 2016).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Eğer ROS/antioksidan savunma sistemi dengede ise birey sağlıklıdır (Memişoğulları 2005).

Normal metabolizma sonucu hidroksil radikali (HO \cdot), süperoksit radikali (O $_2^{\cdot-}$), nitrik oksit (NO \cdot), peroksil radikali (ROO \cdot) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H $_2$ O $_2$) ve singlet oksijen (1 O $_2$) gibi ROS'lar sürekli olarak üretilir. Ancak bu üretim gerçekleştirilirken hızlı bir şekilde antioksidan savunma sistemi tarafından bu radikaller temizlenerek bir denge sağlanmaktadır (Arbos ve ark. 2008). Antioksidan savunma sisteminde yer alan antioksidanlar temelde eksojen ve endojen kaynaklı olarak sınıflandırılır. Eksojen kaynaklı antioksidanlar; karoten, C, A ve E vitamini olarak sıralanabilir. Endojen kaynaklı antioksidanlar arasında; melatonin, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon redükdaz (GR), magnezyum (Mg), selenyum (Se), E vitamini, urat, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, glutatyon (GSH), bilirubin sayılabilir (Yılmaz 2010). Oksidatif stres ile ilgili yapılan çalışmalarda ROS/antioksidan savunma sistemindeki dengenin bozulup bozulmadığını tespit etmek için çoğunlukla

endojen kaynaklı antioksidan enzimlerin aktivite değerleri ölçülmektedir.

Eritrositler tüm vücut dokuları ve organları ile iletişim halinde olduğundan hassastır. Eritrositlerdeki kantitatif veya kalitatif değişimler hemostasinin değişimi için oldukça önemlidir (Mikashinovich ve Belousova 2016). Bir taraftan protein sentez mekanizmasından yoksun olmaları, nükleus, mitokondri ve ribozomlarının olmaması ve diğer pek çok hücreye nazaran daha az organel ve hücre içi fonksiyona sahip olmaları nedeni ile basit bir hücre modeline sahip olduğu kabul edilir. Diğer taraftan membranları ile aktif ve pasif taşıma, oksijen taşıma proteinini olan hemoglobin ile dokular ve akciğer arasında O₂ ve CO₂ taşınımı ve enerji üretiminden sorumlu enzimler içermesi ile enerji metabolizmasında yer alması gibi önemli fonksiyonları gerçekleştirebildikleri için de büyük öneme sahiptirler (Arbos ve ark. 2008).

Eritrositler, ROS'lardan etkilenen ilk hücreler arasında olduğu için oksidatif stres çalışmalarında oldukça geniş çapta kullanılmaktadır (Carl ve ark. 2016). Çünkü eritrositlerin membranlarında oldukça yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) ve yapısında oksidasyonu katalizleyen hemoglobindeki ferro demiri (Fe²⁺) bulunmaktadır. Bunlar da ROS'ların saldırısı için eritrositlerin hassas olmasına yol açmaktadır (Khalili ve ark. 2014). Oksidanlar, eritrosit membranlarında önemli değişikliklere neden olurlar. Eritrositlerin şekillerinde anormallığe yol açacak yüksek molekül ağırlığına sahip proteinler üretebilir ve iskelet protein içeriğini azaltarak etki gösterebilir (Suwalsky ve ark. 2007). Tüm bu etkiler sonucunda lipid peroksidasyonu (LPO) meydana gelmektedir. LPO'nun meydana gelişini en iyi karakterize eden bileşik malondialdehid (MDA)'dir. MDA, eritrositlerin membranlarındaki fosfolipid ve proteinler arasındaki çapraz bağlara bağlanarak hemolize neden olur. Bu da eritrositlerin yaşam süresini normalden daha kısa hale getirir veya normal olan eritrosit hücrelerinin senesensine neden olur (Yang ve ark. 2006, Okoko ve Ere 2012). Bu nedenle MDA ve % hemoliz değerlerinin ölçümü oksidatif stres hakkında bilgi sahibi olmanın en etkili yollarından biridir.

Bu derlemede öncelikle, yapılan çalışmalarda eritrositlerde oksidatif stresin hangi yollar ile meydana getirildiği incelenmiştir. Aynı zamanda, eritrositlerde önemli anormalliklere neden olan oksidatif strese karşı hangi bitki ekstraktlarının kullanıldığı ve bunların hangi antioksidan parametreler üzerinde etkili olduğuna dair literatür taraması yapılarak bu konulardaki bazı çalışmalardan örnekler sunulmuştur.

Eritrositlerde Oksidatif Stres ve Hiperglisemi

Eritrositlerde oksidatif stresin oluşurulma yollarından biri hiperglisemi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle eritrositlerde hipergliseminin neden olduğu oksidatif stresle ilgili çalışmaların pek çoğunda, ya *in vitro* olarak eritrositlere glukoz (Jain ve ark. 1999, Nandhini ve Anuradha 2003, Marar 2011, Salgueiro ve ark. 2013,

Sompong ve ark. 2015, Viskupicova ve ark. 2015), ya da streptozotosin (STZ) uygulanmıştır (Taleb-Senouci ve ark. 2009, Aydın ve Çelik 2012, Demir ve Yılmaz 2014). Hipergliseminin antioksidan savunma sisteminin kapasitesini azalttığı ve bu sayede ROS'ların üretiminde artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Demir ve Yılmaz 2014). ROS'ların artışı oksidatif hasara, DNA, protein, membran lipidlerinin yapısında ve fonksiyonunda değişikliğe yol açtığı ve hücre içi GSH düzeyini azalttığı yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır (Sompong ve ark. 2015). Bu güne kadar yapılan çalışmalarda eritrositlere sıklıkla uygulanan glukoz düzeyleri; 5mM, 6mM, 30mM, 40mM, 45mM ve 50mM olarak tespit edilmiştir. 5mM ve 6mM glukoz düzeyleri kontrol gruplarında kullanılan konsantrasyonlar; 30mM, 35mM, 45mM ve 50mM glukoz düzeyleri ılımlı glukoz konsantrasyonları; 100mM, 250mM ve 500mM glukoz düzeyleri yüksek glukoz konsantrasyonları olarak (Jain 1989, Jain ve ark. 1999, Jain ve Lim 2001, Nandhini ve Anuradha 2003, Marar 2011, Salgueiro ve ark. 2013, Sompong ve ark. 2015, Viskupicova ve ark. 2015) eritrositlere *in vitro* olarak uygulanmıştır. Özellikle yüksek glukoz düzeyleri ile kontrol glukoz düzeyleri uygulanan grupların karşılaştırıldığı çalışmalarda, yüksek glukoz düzeylerinin LPO ürünü olan MDA'nın artışına neden olduğu açıkça gözlemlenmiştir (Salgueiro ve ark. 2013). STZ uygulanması sonucu hiperglisemi oluşturulan çalışmalarda ise genellikle 45mg/kg, 60mg/kg veya 65mg/kg arasındaki dozların uygulandığı görülmüştür. Eritrositlerde, uygulanan bu dozlarda MDA değerlerinde artış, GSH, CAT, GSH-Px ve SOD aktivite değerlerinde ise azalış tespit edilmiş ve bu değişimlerin oksidatif hasarın göstergesi olabileceği belirtilmiştir (Taleb-Senouci ve ark. 2009, Aydın ve Çelik 2012, Demir ve Yılmaz 2014). Bazı çalışmalarda ise *in vitro* hiperglisemi oluşturulmak yerine Tip 2 diyabet tanısı konmuş bireylerden alınan kan örnekleri kullanılmıştır (Halifeoğlu ve ark. 2005, De Bona ve ark. 2011). Bu çalışmalarda yine oksidatif hasarın tespit edilebilmesi için sağlıklı bireylerden alınan kan örnekleri ile karşılaştırma yapılarak adenoazin deaminaz (ADA), asetilkolin esteraz (AChE), SOD, CAT ve tiyobarbitürik asit- reaktif madde (TBARS) değerleri ölçülmüş ve oksidatif hasar bulguları elde edilmiştir (De Bona ve ark. 2011). Tüm yapılan bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar hipergliseminin eritrositlerde MDA artışına ve antioksidan savunma enzimlerinin (CAT, GSH-Px, SOD ve ADA) aktivite değerlerinde azalışa neden olduğu açıkça görülmektedir. Çalışmalarda eritrositlerde elde edilen bu değişimler hipergliseminin oksidatif stresi meydana getiren en önemli göstergeleri olarak kabul edilebilirler.

Eritrositlerde Oksidatif Stres ve Hidrojen Peroksit

Eritrositlerde *in vitro* olarak oksidatif stresin oluşturulma yollarından bir diğeri ise hidrojen peroksit (H₂O₂) uygulanmasıdır. H₂O₂ eritrosit membranlarından geçebilen, hızlıca hemoglobin ile reaksiyona girebilen ve hidrosil radikali gibi çok reaktif olan ROS'ları üretebilen bir bileşik olarak bilinmektedir (Van der Berg ve ark. 1992). H₂O₂ ile muamele edilen eritrositlerde LPO,

protein degradasyonu ve konsantrasyonlarında deformasyon kaybı gerçekleşmektedir (Sroun ve ark. 2000). Tüm bu etkiler oksidatif hasarın göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu güne kadar yapılan eritrosit çalışmalarında oksidatif hasar meydana getirebilmek için en çok uygulanan H_2O_2 dozları; $100\mu M$ (Ajila ve Prasada Rao 2008, Okoko ve Ere 2012, Rajesh ve ark. 2013), $20mM$ (Suboh ve ark. 2004) ve $1,3M$ (Nuchanart ve ark. 2012)'dur. Rocha ve ark. (2015) ise diğer araştırmacılar farklı olarak H_2O_2 'nin farklı dozlarının (0, 5, 10, 20, 40 ve $80\mu M$) etkilerini eritrositler üzerinde test etmişlerdir. $100\mu M H_2O_2$ uygulanan eritrositlerin şekillerinde önemli ölçüde değişimler olduğu ışık ve elektron mikroskobu incelemelerinde gözlemlenmiştir. Eritrositlerin gerçek şekillerini kaybederek çoğunlukla ekinosit (Burr cell) şekline dönüştüğü ifade edilmiştir (Ajila ve Prasada Rao 2008, Rajesh ve ark. 2013). Snyder ve ark. (1985) eritrositlerde bu şekil değişikliğinin H_2O_2 'nin eritrosit membranındaki spektrin ve hemoglobine bağlanarak, hemolize neden olarak, membrandaki fosfolipid organizasyonunda, yüzey basıncında ve hücre yüzey bileşenlerinde değişime yol açarak gerçekleştirdiği belirtmişlerdir. H_2O_2 uygulanan eritrositlerde oksidatif stresin yol açtığı hasarların tespiti için CAT, GSH-Px, MDA ve hemoliz düzeyleri incelenmiş H_2O_2 'nin bu parametreler için önemli ölçüde eritrositlerde oksidatif hasara neden olduğu rapor edilmiştir (Suboh ve ark. 2004, Nuchanart ve ark. 2012, Rocha ve ark. 2015). Suboh ve ark. (2004) ile Rocha ve ark. (2015) eritrosit MDA değerlerinde; Nuchanart ve ark. (2012) ise eritrosit hemoliz değerlerinde H_2O_2 uygulanması sonucunda artış olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda Rocha ve ark. (2015) CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinde azalış olduğunu belirterek H_2O_2 'nin eritrositlerdeki oksidatif hasarını kanıtlamışlardır.

Eritrositlerde Oksidatif Stres ve Pestisitler

Pestisitler istenmeyen zararlı bitki, hayvan ve mantarları öldürmek amacıyla kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik sentetik ajanlardır. Bu sentetik ajanların, biyolojik sistemler üzerindeki toksik etkilerinden en önemlisi oksidatif strese neden olabilmeleridir. Hücrelerde ROS seviyesini arttırabilirler, hücre metabolizmasında GSH gibi indirgeyicilerin rezervlerini tüketebilirler ve antioksidan potansiyelini azaltabilirler. Sonuçta tüm bu etkiler göz önüne alındığında oksidatif stresin oluşumunu tetikleyebilirler (Kaymak ve ark. 2014). Örneğin Singh ve ark. (2010) atrazini, Kumar ve ark (2015) ise sipermetrini eritrositlerde oksidatif stresi tetiklemek için test etmişlerdir. Her iki çalışmada da eritrositlerin GSH içeriği, SOD, CAT, GSH-Px, glutatyon-s-transferaz (GST) ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivitelerine MDA değerleri ölçülmüştür. Singh ve ark. (2010) sıçanlara oral yolla $300mg/kg$ v.a. gün atrazini 7, 14 ve 21 gün boyunca uyguladıkları çalışmalarında; SOD, CAT, GSH-Px ve GST antioksidan enzim aktivitelerinde artış, G6PD enzim aktivitesinde ve GSH değerinde azalış olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte Kumar ve ark. (2015) sıçanlara oral yolla 28 gün boyunca $50mg/kg$

sipermetrin uygulamışlar ve Singh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçlarına benzer olarak CAT, GSH-Px ve GST antioksidan enzim aktivitelerinde artış, GSH değerinde azalış ve MDA değerinde artış tespit etmişlerdir. Her iki çalışma sonuçlarında da bu değişimlerin pestisitlerin yol açtığı oksidatif stresten kaynaklandığı dile getirilmiştir.

Eritrositlerde Oksidatif Stres ve Ekzojen Kaynaklı Radikaller

Oksidatif stres oluşturmak için kullanılan kaynakların bir diğeri ise hücrelere uygulan ekzojen kaynaklı radikallerdir. Bu radikaller hücrelerde proteinlerin -SH gruplarında, lizin residülerinde, kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon, membranlarda deformasyon ve lizis gibi çeşitli yollarla oksidatif hasara neden olurlar (Suwalsky ve ark. 2007). Bu radikallerin uygun kaynaklardan seçilmesi önemlidir. Özellikle eritrosit çalışmalarında kullanılan radikallerden biri 2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorit (AAPH) tir (Gabrielska ve ark. 2007, Bonarska-Kujawa ve ark. 2014). AAPH, suda azo bileşiklerine çözünebilen bir maddedir. Azo bileşikleri oksidasyon reaksiyonlarının başlatıcısı olarak kabul edilir ve bu nedenle özellikle eritrositlerde LPO çalışmalarında ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda sıklıkla kullanılırlar (He ve ark. 2013). Eritrositlerde oksidatif stres çalışmalarında kullanılan diğer radikaller ise tert butil-hidroperoksit (t-BuOOH/t-BHP), difenil-2-pikrilhidrazil hidrat (DPPH·) ve hipokloröz asit (HClO) tir (Suwalsky ve ark. 2007, Arbos ve ark. 2008, Maurya ve Rizvi 2009, Olchowik ve ark. 2012). Ekzojen kaynaklı radikaller ile yapılan bu çalışmalarda oksidatif hasar belirleyicisi olarak ölçülen parametrelerden MDA ve hemoliz değerlerinde artış, GSH değerlerinde ise azalış ortak olarak belirlenen parametrelerdendir. Bu sonuçlar göz önüne alınarak, bu ekzojen kaynaklı radikallerin oksidatif stresin oluşumunu tetiklediği söylenebilir.

Eritrositlerde Oksidatif Strese Neden Olan Diğer Maddeler

Pek çok çalışmada Dünya'da yaygın bir şekilde tatlandırıcı olarak kullanılan aspartamın karaciğer, böbrek ve pankreas üzerinde toksik etkilere sahip olduğu vurgulanmıştır (Nguyeni ve ark. 1998, Leme ve Azoubel 2006, Abhilash ve ark. 2011). 2015 yılında Abhilash ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise aspartamın $50, 500$ ve $1000mg/kg$ v.a dozlarının eritrositlerde GSH-Px, GR enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerinde değişime neden olduğu belirtilmiştir. Bu bulgular aspartamın eritrositler üzerinde yol açtığı oksidatif stresin bir sonucu oluşan toksik etkisini kanıtlamıştır.

Verma ve ark. tarafından sodyum florür'ün (NaF) (2006) ve aflatoksinin (2001) eritrositlerde meydana getirdiği hemoliz etkisi araştırılmıştır. Farklı dozlarda uygulanan NaF'nin ($50-500\mu g/ml$) özellikle yüksek dozlarının, aflatoksinin ise $1,95\mu M$ dozunun hemoliz etkisi arttırdığı rapor edilmiştir. Eritrositlerde hemoliz, LPO sonucu açığa çıkan MDA'nın membranlarda

fosfolipid ve proteinlere çapraz bağlanması sonucu meydana gelen hücre ölümüdür (Okokove Ere 2012). Yüksek dozda uygulanan NaF ve aflatoksinin oluşturduğu hemolizin oksidatif hasarın sonucu meydana geldiği söylenebilir.

Eritrositlerde Çeşitli Yollarla Meydana Getirilmiş Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Olarak Kullanılan Bitki Ekstraktları

Birçok hastalığın etkeni olan oksidatif stresin olumsuz etkilerinin önlenmesi için doğal kaynaklara duyulan ihtiyaç her geçen gün artmakta ve sentetik maddelerin alınımı yerine bitkisel kaynaklarca zengin olan doğal diyetler tercih edilmektedir (Okoko ve Ere 2012). Sentetik maddelerin ciddi olumsuz yan etkiler oluşturması nedeniyle doğal kaynaklı bitkilerin medikal alanda kullanılması gerektiği pek çok çalışmada vurgulanmıştır (Rajesh ve ark. 2013). Bitkilerin içerdikleri flavonoid ve fenolik asitler gibi çeşitli bileşikler onlara antioksidan ve farmakolojik özellik kazandırmaktadır (Ajila ve Prasada Rao 2008). Bu nedenle son yıllarda bilim dünyası doğal kaynaklı bitkilerin biyolojik, farmakolojik ve medikal özelliklerini geniş çapta ve sürekli olarak araştırmaktadır (Krishnaiah ve ark. 2011).

Suboh ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada eritrositlerde H_2O_2 'nin neden olduğu oksidatif strese karşı uygulanmış *Artemis herba-alba* Asso., *Ferula hermonis* Boiss., *Hibiscus sabdariffa* L., *Nigella sativa* L., *Teucrium polium* L., *Trigonella foenum-graecum* L. ve *Allium sativum* L. bitkilerinin koruyucu etkileri araştırılmıştır. H_2O_2 uygulaması ile artan MDA değerlerinin *A. sativum* ve *N. sativa* bitki ekstraktlarının yüksek konsantrasyonlarında düşüş gösterdiği rapor edilmiştir. Bu sonuç test edilen bu bitkilerin H_2O_2 'nin meydana getirdiği oksidatif stres hasarına karşı eritrositlerde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Verma ve ark. (2006) NaF'nin (500µg/ml) eritrositlerde indüklediği hemolizin iyileştirilmesi için farklı dozlarda (2,5-100µg/ml) uygulanan siyah çay ekstraktlarını test etmişlerdir. Test edilen tüm dozlarda % hemoliz ve % hemoliz inhibisyon değerlerinde iyileşme meydana geldiğini belirtmişlerdir. Özellikle 40µg/ml dozda en düşük % hemoliz ve en yüksek % hemoliz inhibisyon değerlerini bularak siyah çay ekstraktlarının NaF'ın eritrositlerde meydana getirdiği oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi olabileceğini belirtmişlerdir.

AAPH ile oksidatif hasar oluşturulmuş eritrositlere *Bidens pilosa* L. bitkisinin farklı dozlarının (50, 100 ve 150µg/ml) etanol ekstraktları uygulandığında % hemoliz ve MDA değerlerinde azalış, GSH ve SOD aktivite değerlerinde artış bulunmuştur (Yang ve ark. 2006). Bu bulgular *B. pilosa* ekstraktlarının eritrositler üzerinde antioksidan koruyucu etkiye sahip olduğunu belirtmektedir.

Suwalsky ve ark. (2007) tarafından *Ugni molinae* Turcz bitkisinin, HClO ile muamele edilen eritrositlerdeki koruyucu etkisi % hemoliz değerleri ve SEM görüntüleri

ile değerlendirilmiştir. *U. molinae* ekstraktlarının % hemoliz değerlerini düşürdüğü ve SEM analizinde ise ekinosit oluşumunun azaldığı belirtilerek eritrositler üzerindeki koruyucu etkisi ispatlanmıştır.

Ajila ve Prasada'nın (2008) yaptığı çalışmada eritrositlerde H_2O_2 'nin neden olduğu oksidatif strese karşı mango (*Mangifera indica* L.) bitkisinin Raspuri ve Badami varyetelerinin kabuk ekstraktlarının koruyucu etkisi incelenmiştir. Bu iki varyetenin de olgunlaşmış ve olgunlaşmamış durumlarında elde edilen kabuklarından ayrı ayrı ekstraktlar hazırlanmış ve eritrositlere uygulanmıştır. Bu çalışma kapsamında yapılan hemoliz ve LPO inhibisyon ölçümleri ile birlikte SEM görüntüleri değerlendirilmiştir. Hemoliz ve LPO inhibisyonunda artışın bulunması ayrıca SEM incelemelerinde ise ekinosit sayısında azalışın gözlenmesi mango kabuk ekstraktlarının eritrositlerde oksidatif stresin neden olduğu hasarların önleyebilmesi için kullanılabileceğini belirtmektedir.

Brassica oleracea L. subv. cymosa (brokoli), *Brassica oleracea* L. var. acephala (karalahana) ve *Raphanus sativus* L. var. radicular (turp) bitki ekstraktları DPPH uygulaması ile eritrositlerde meydana getirilen oksidatif hasara karşı koruyucu etki açısından analiz edilmiştir. Analiz edilen bitki ekstraktlarının özellikle brokolinin eritrositlerdeki methemoglobin oluşumunu azaltarak yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Arbos ve ark. 2008).

Genç, orta ve yaşlı bireylerden elde edilen eritrositlere, t-BHP uygulanarak meydana getirilen oksidatif strese karşı Dünya'da en yaygın olarak kullanılan çay (*Camellia sinensis* L. Kuntze) bitkisinin ekstraktları uygulanmış ve çayın koruyucu etkisini belirleyebilmek için MDA ve GSH değerleri ölçülmüştür. MDA değerlerinde azalışın, GSH değerlerinde ise artışın belirlenmesi çayın önemli ölçüde oksidatif stresi geriletmediği ve iyi bir antioksidan olarak koruyucu etkiye sahip olduğu hatta yaşlanmayı yavaşlattığı çalışma sonuçlarında vurgulanmıştır (Maurya ve Rizvi 2009).

Streptozotosin (60mg/kg v.a) uygulaması ile diyabetik yapılan sıçanlara %0,5 *Ajuga iva* (L.) Schreber.'nin sulu ekstraktları uygulanmış ve eritrositlerde SOD, GSH-Px ve GR enzim aktivite düzeyleri incelenmiştir. Bitki ekstraktlarının uygulandığı grup ile bitki ekstraktı uygulanmayan grup karşılaştırıldığında tüm enzim aktivitelerinde artış olduğu ve bu artışın *A.iva*'nın antioksidan etkisine bağlı olabileceği bildirilmiştir (Taleb-Senouci ve ark. 2009). Bu sonuçlar göz önüne alınarak hipergliseminin eritrositlerde yol açtığı oksidatif hasara karşı *A. iva*'nın koruyucu bir etkisinin olabileceğini söyleyebiliriz.

Tip 2 diyabete sahip olan kişilerden elde edilen eritrositlere uygulanan *Syzygium cumini* L. ekstraktlarının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise 200µg/ml dozunun MDA düzeyini önemli ölçüde azalttığı ve bu nedenden dolayı bir antioksidan olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır (De Bona ve ark. 2011).

Imaga ve ark. (2011) orak hücreli eritrositlerde, Okoko ve Ere (2012) H₂O₂ uygulanan eritrositlerde *Carica papaya* L. bitkisinin antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Her iki çalışmada yapılan ölçümler sonucu *C. papaya*'nın yüksek dozlarının oksidatif hasarı azaltabildiği gözlenmiştir. % hemoliz ve % LPO değerlerinde azalış tespit etmişlerdir. Bu bulgular *C. papaya*'nın antioksidan olarak kullanılabilceğini açıkça göstermektedir.

Brassicaceae familyasına ait mor lahanaya ve brüksel lahanasının polifenol ekstaktlarının farklı dozları (0, 5, 10, 20µmol/l) hiperkolesterolemik ve normal eritrositlerde özellikle yüksek dozların LPO'yu azalttığı belirtilmiştir (Duchnowicz ve ark. 2012). Oksidatif stres sonucu meydana gelen LPO'nun azaltılabilmesi bu bitki ekstraktının oksidatif strese karşı kullanılabilcek antioksidanlardan biri olabileceği söylenebilir.

Olchowik ve ark. (2012) tarafından t-BOOH radikali ile eritrositlerde oluşturulan oksidatif hasara karşı *Rhus typhina* L. Staghorn sumac'ın (sumak) farklı dozlarının (0-30µg/ml) % GSH ve % TBARS inhibisyon değerlerinin arttığını bularak *R. typhina*'nın yüksek ve etkili antioksidan kapasiteye sahip olabileceğini rapor etmişlerdir.

Brezilya'da çay olarak tüketilen *Bauhinia forficata* Link.'in yüksek glukoz uygulanan eritrositlere etkileri Salgueiro ve ark. (2013) tarafından araştırılmıştır. Yüksek glukoz uygulandığında artan MDA değerleri, *B. forficata*'nın 0,1, 1 ve 10µg/ml dozları uygulandığında düşüş göstermesi nedeniyle bu bitkinin iyi bir antioksidan olabileceği savunulmuştur.

Lonicera caerulea L. var. *kamtschatica* Sevast. (mavi hanımeli) bitkisinin yaprakları ve meyvesinden hazırlanan ekstraktlar, AAPH ile oksidatif hasar oluşturulmuş eritrositlere karşı SEM görüntüleri değerlendirildiğinde koruyucu etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Bonarska-Kujawa ve ark. 2014).

Orabanche orientalis G. Beck, *Cucumis melo* L., *Albizia julibriisii* Durazz, *Galium verum* L., *Scutellaria tournefortii* Benth., *Crocus caspius* Fisher & Meyer, *Sambucus ebulus* L., *Danae racemosa* L., *Rubus fruticosus* L. ve *Artemisia absinthium* L. bitkileri ile yapılan farklı bir çalışmada ise, bu bitkilerden elde edilen ekstraktların 0,25, 0,5, 1,0, 2,0 ve 4,0mg/ml dozları eritrositlere uygulanmıştır. % Hemoliz değerleri ölçüldüğünde en düşük % hemoliz değerleri *G. verum* ve *S. tournefortii* ekstraktlarında tespit edilmiştir. Bu nedenle bu iki bitkinin farmakoloji endüstrisinde doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (Khalili ve ark. 2014).

Kaynaklar

1. Abhilash, M., Paul, M.V., Varghese, M.V. & Nair, H.R. 2011. Effect of long-term intake of aspartame on antioxidant defence status in liver. *Food Chemical Toxicology*, 49: 1203-1207.
2. Abhilash, M., Varghese, M.V., Paul, M.V., Manju, A. & Nair, H.R. 2015. Effect of long-term intake of aspartame on serum biochemical parameters and erythrocyte oxidative

stress biomarkers in rats. *Comparative Clinical Pathology*, 24: 927-933.

Cezayir'in farklı bölgelerinden toplanan *Morettia canescens* Boiss., *Tamarix aphylla* L. Korst., *Calotropis procera* Ait., *Paronychia chlorothyrsa* Murb., *Paronychia argentea* Lam., *Thymelaea hirsuta* L., *Haloxylon scoparium* Pomel., *Arthrophytum schmittianum* Pomel. ve *Daphnia gnidium* L. bitkilerinin ekstraktları eritrositlerdeki hemolitik aktiviteyi belirlemek için kullanılmıştır. *D. gnidium*, *M. canescens* ve *T. aphylla* bitki ekstraktlarının % hemoliz inhibisyon değerleri yüksek oranlarda olduğu için farmakolojik olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır (Zohra ve Fawzia 2014).

Tupe ve ark. (2015) tarafından *Azadirachta indica* A. Juss., *Emblia officinalis* Gaertn., *Syzygium cumini* L. Skeels. ve *Terminalia bellirica* Roxb. bitkilerinin ekstraktları (1mg/ml) eritrositlerde glikolizasyon ile indüklenmiş oksidatif strese karşı koruyucu etki açısından araştırılmıştır. *T. bellirica* ve *E. officinalis* % LPO ve % hemoliz inhibisyon değerleri diğer bitkilere göre daha yüksek olduğu için oksidatif strese karşı koruyucu etkilerinin daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Sonuç

Bu derlemede, bu güne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde; eritrositlerde oksidatif stresin, glukoz, hidrojen peroksit, pestisit ve çeşitli ekzojen kaynaklı radikaller ile *in vitro* olarak meydana getirilebildiği tespit edilmiştir. Meydana getirilen bu oksidatif stresin olumsuz etkilerinin önlenbilmesi için doğal kaynaklı bitkilerin antioksidan ve koruyuculuk özellikleri değerlendirilmiştir. Bu konu ile ilgili yapılan eritrosit çalışmalarının pek çoğunda, oksidatif hasarın ve bu hasara karşı koruyucu etkilerin tespiti için değerlendirilen parametreler; % hemoliz, % LPO, MDA, GSH, antioksidan enzim aktivite (SOD, CAT, GSH-Px, GST) değerleri ve SEM görüntüleridir. Eritrositlerde oksidatif hasar sonucu % hemoliz, % hemoliz inhibisyonu, % LPO ve MDA değerlerinde artış, antioksidan enzim değerlerinde genellikle azalış ve SEM görüntülerinde de ekinosit sayısında artış olduğu yapılan çalışmalarda açıkça görülmektedir. Bununla birlikte bitki ekstraktlarının koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda ise antioksidan aktiviteye sahip bitkilerin ekstraktlarının % hemoliz, % LPO ve MDA değerlerinde azalış, % hemoliz inhibisyonu ve antioksidan enzim değerlerinde genellikle artış ve SEM görüntülerinde ise ekinosit sayısında azalış olduğu gözlenmiştir. Bundan sonra bu konuda çalışma yapacak araştırmacılara, derlememizde verilen bilgilerin ışık tutabileceği düşünülmektedir.

3. Ajila, C.M.& Prasada Rao, U.J.S. 2008. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica* L. peel extract. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 303-309.

4. Ameer, K. 2016. Avocado as a Major Dietary Source of Antioxidants and Its Preventive Role in Neurodegenerative Diseases. *Advances Neurobiology*, 12: 337-354.
5. Arbos, K.A., Claro, L.M., Borges, L., Santos, C.A.M. & Weffort-Santos, A.M. 2008. Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research*, 28: 457-463.
6. Aydın, M. & Çelik, S. 2012. Effects of lycopene on plasma glucose, insulin levels, oxidative stress, and body weights of streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42(2): 1406-1413.
7. Bonarska-Kujawa, D., Pruchnik, H., Cyboran, S., Zylka, R., Oszmianski, J. & Kleszczynska, H. 2014. Biophysical mechanism of the protective effect of blue honeysuckle polyphenols extracts against lipid peroxidation of erythrocyte and lipid membrane. *Journal Membrane Biology*, 247: 611-625.
8. Carl, H., Soumya, R., Srinivas, P. & Vani, R. 2016. Oxidative stress in erythrocytes of banked ABO blood. *Hematology*, 21(10): 630-634.
9. De Bona, K.S., Belle, L.P., Bittencourt, P.E.R., Bonfanti, G., Cargnelluti, L.O., Pimentel, V.C., Ruviano, A.R., Schetinger, M.R.C., Emanuelli, T. & Moretto M.B., 2011. Erythrocytic enzymes and antioxidant status in people with type 2 diabetes: Beneficial effect of *Syzygium cumini* leaf extract in vitro. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 94: 84-90.
10. Demir, E. & Yılmaz, Ö. 2014. Streptozotocin ile Tip-1 diyabet oluşturulan sıçanlarda acı badem yağının serum ve eritrositlerdeki bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18: 13-21.
11. Duchnowicz, P., Bors, M., Podsedek, A., Koter-Michalak, M. & Broncel, M. 2012. Effect of polyphenol extracts from *Brassica* vegetables on erythrocytes membrane (in vitro study). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34: 783-790.
12. Gabrielska, J., Korzeniowska, M. & Wojdyto, A. 2007. Antioxidative effect of plant extracts and flavones on liposome and erythrocyte membranes. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4): 145-150.
13. Griendling, K.K. & Fitz, G.A. 2003. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies. *Circulation*, 108: 2034-2040.
14. Halifeoğlu, İ., Karataş, F., Çolak, R., Canatan, H. & Telo, S. 2005. Tip 2 diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(3): 117-122.
15. He, R.R., Yan, L., Li, X.D., Yi, R.N., Wang, X.Y., Tsoi, B., Lee, K.H.H., Abe, K., Yang, X. & Kurihara H. 2013. A New Oxidative Stress Model, 2,2-Azobis (2-Amidinopropane) Dihydrochloride Induces Cardiovascular Damages in Chicken Embryo. *Plos One*, 8(3): 1-11.
16. Imaga, O.A., Esther, A., Samson, O. & Akindele, S.K. 2011. In vitro biochemical investigations of the effects of *Carica papaya* and *Fagara zanthoxyloides* on antioxidant status and sickle erythrocytes. *African Journal of Biochemistry Research*, 5(8): 226-236.
17. Jain, S.K. 1989. Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cell. *The Journal of Biological Chemistry*, 264(35): 21340-21345.
18. Jain, K.J., Palmer, M. & Chen, Y. 1999. Effect of vitamin E and *N*-acetylcysteine on phosphatidylserine externalization and induction of coagulation by high-glucose-treated human erythrocytes. *Metabolism*, 48(8): 957-959.
19. Jain, S.K. & Lim G., 2001. Pyridoxine and pyridoxamine inhibits superoxide radicals and prevents lipid peroxidation, protein glycosylation, and (Na⁺ + K⁺) ATPase activity reduction in high glucose-treated human erythrocyte. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(3): 232-238.
20. Kaymak, G., Akbulut, C., Esmer, H.E., Kayhan, F.E. & Yön, N.D. 2014. Sucul organizmalarda çevresel şartlara karşı geliştirilen oksidatif stres mekanizmaları ve adaptif yanıtlar. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 4: 137-151.
21. Khalili, M., Ebrahimzadeh, M.A. & Safdari, Y. 2014. Antihaemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cell. *Arhiv Za Higijenu Rada I Toksikologiju*, 65: 399-406.
22. Krishnaiah, D., Sarbatly, R. & Rajesh, N. 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioprocess Technology*, 89: 217-233.
23. Kumar, A., Rahal, A., Zoheb S.M., Prakash, A. & Mandil, R. 2015. Antioxidant role of ascorbic acid on oxidative stress induced by sub-acute exposure of lead and cypermethrin in erythrocytes of Wistar rats. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 96(8): 1248-1259.
24. Leme, F.A.G.L. & Azoubel, R. 2006. Effects of aspartame on the exocrine pancreas of rat fetuses. *International Journal of Morphology*, 24(4): 679-684.
25. Lucas, M.L., Carraro, C.C., Belló-Klein, A., Kalil, A.N. & Aerts, N. 2016. Oxidative stress in carotid arteries of patients submitted to carotid endarterectomy. The role of aging process. *Acta Cirurgica Brasileria*, 31(8): 564-568.
26. Marar, T. 2011. Amelioration of glucose induced hemolysis of human erythrocytes by vitamin E. *Chemico-Biological Interactions*, 193: 149-153.
27. Maurya, P.K. & Rizvi, S.I. 2009. Protective role of tea catechins on erythrocytes subjected to oxidative stress during human aging. *Natural Product Research*, 23(12): 1072-1079.
28. Mehta, M., Basalingappa, K., Griffith, J.N., Andrade, D., Babu, A., Amreddy, N., Muralidharan, R., Gorospe, M., Herman, T., Ding, W.Q., Ramesh, R. & Munshi, A. 2016. HuR silencing elicits oxidative stress and DNA damage and sensitizes human triple-negative breast cancer cells to radiotherapy. *Oncotarget*, doi: 10.18632/oncotarget.11706.
29. Memişoğulları, R. 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-39.
30. Mikashinovich, Z.I. & Belousova, E.S. 2016. Biochemical changes in erythrocytes as a molecular marker of cell damage during long-term simvastatin treatment. *Cell Technologies in Biology and Medicine*, 2: 600-603.
31. Nandhini, T.A. & Anuradha, C.V. 2003. Inhibition of lipid peroxidation, protein glycation and elevation of membrane

- ion pump activity bytaurine in RBC exposed to high glucose. *Clinical Chimica Acta*, 336: 129-135.
32. Nguyen, U.N., Dumoulin, G., Henriet, M.T. & Regnard, J. 1998. Aspartame ingestion increases urinary calcium, but not oxalate excretion, in healthy subjects. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*, 83: 165-168.
 33. Nuchanart, S., Panadda, R., Rattana, T., Jirada, S. & Intira, T. 2012. The comparative study of the protective effect on human oxidative hemolysis of polyphenol extracts from tea seed oil and olive oil. *Health and The Environment Journal*, 3(3): 11-16.
 34. Okoko, T. & Ere, D. 2012. Reduction of hydrogen peroxide-induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 2(6): 449-453.
 35. Olchownik, E., Sciepek, A., Mavlyanov, S. & Abdullajanova, N. 2012. Antioxidant capacities of polyphenols from Sumac (*Rhus typhina* L.) leaves in protection of erythrocytes against oxidative damage. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2: 99-105
 36. Rajesh, K.P., Manjunatha, H., Krishna, V. & Kumara Swamy, B.E. 2013. Potential *in vitro* antioxidant and protective effects of *Mesua ferra* Linn. Bark extracts on induced oxidative damage. *Industrial Crops and Products*, 47: 186-198.
 37. Rocha, S., Gomes, M., Lime, E., Bronze-da-Rocha, E. & Santos-Silva, A. 2015. Peroxiredoxin 2, glutathione peroxidase, and catalase in the cytosol and membrane of erythrocytes under H₂O₂- induced oxidative stress. *Free Radical Research*, 49(8): 990-1003.
 38. Salgueiro, A.C., Leal, C.Q., Bianchini, M.C., Prado, I.O., Mendez, A.S., Puntel, R.L., Folmer, V., Soares, F.A., Avila, D.S. & Puntel, G.O. 2013. The influence of *Bauhinia forficata* Link subsp. pruinosa tea on lipid peroxidation and non-protein SH groups in human erythrocytes exposed to high glucose concentrations. *Journal Ethnopharmacology*, 148(1): 81-87.
 39. Singh, M., Sandhir, R. & Kiran, R. 2010. Oxidative stress induced by atrazine in rat erythrocytes: Mitigating effect of vitamin E. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 20(3): 119-126.
 40. Snyder, L.M., Fortier, N.L. & Trainer, J. 1985. Effect of hydrogen peroxide exposure on normal human erythrocyte deformability, morphology, surface characteristics and spectrin-hemoglobin cross-linking. *Journal Clinical Investigation*, 76: 1971-1977.
 41. Sompong, W., Cheng, H. & Adisakwattana, S. 2015. Protective effects of ferulic acid on high glucose-induced protein glycation, lipid peroxidation, and membrane ion pump activity in human erythrocytes. *Plos one*, DOI: 10.1371/journal.pone.0129495.
 42. Srour, T., Bilto, Y.Y., Juma, M. & Irhimeh, M.R. 2000. Exposure of human erythrocytes to oxygen radicals causes loss of deformability, increases osmotic fragility, lipid peroxidation and protein degradation. *Clinic Hemorheology and Microcirculation*, 23: 13-21.
 43. Suboh, S.M., Bilto, Y.Y. & Aburjai, T.A. 2004. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytotherapy Research*, 18: 280-284.
 44. Suwalsky, M., Orellana, P., Avello, M. & Villena, F. 2007. Protective effect of *Ugni molinae* Turcz against oxidative damage of human erythrocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 130-135.
 45. Taleb-Senouci, D., Ghomari, H., Krouf, D., Bouderbala, S., Prost, J. & Lacaille-Dubois, M.A. 2009. Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 16: 623-631.
 46. Tarry-Adkins, J.L., Fernandez-Twinn, D.S., Chen, J.H., Hargreaves, I.P., Neergheen, V., Aiken, C.E. & Ozanne, S.E. 2016. Poor maternal nutrition and accelerated postnatal growth induces an accelerated aging phenotype antioxidative stress in skeletal muscle of male rats. *Advance Publications*, 9(10): 1221-1229.
 47. Tupe, R.S., Sankle, N.M., Shaikh, S.A., Phatak D.V., Parikh, J.U., Khaire, A.A. & Kemse, N.G. 2015. Aqueous extract of some indigenous medicinal plants inhibits glycation at multiple stages and protects erythrocytes from oxidative damage-an *in vitro* study. *Journal Food SciencesTechnology*, 52(4): 1911-1923.
 48. Van der Berg, J.J., Op den Kamp, J.A., Lubin, B.H., Roelofsen, B. & Kuypers, F.A. 1992. Kinetics and site specificity of hydroperoxide-induced oxidative damage in red blood cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 12(6): 487-498.
 49. Verma, R.J., Shukla, R.S. & Mehta, D.N. 2001. Amelioration of cytotoxic effects of aflatoxin by vitamin A: an *in vitro* study on erythrocytes. *Toxicology in Vitro*, 15: 39-41.
 50. Verma, R.J., Trivedi, M.H. & Ahmedabad, C.N.J. 2006. Amelioration by black tea extract of sodium fluoride induced hemolysis of human red blood cell corpuscles. *Research Report Fluoride*, 39(4): 261-265.
 51. Viskupicova, J., Blaskovic, D., Galiniak S., Soszyński, M., Bartosz, G., Horakova, A. & Sadowska-Bartos, I.L. 2015. Effect of high glucose concentration on human erythrocytes *in vitro*. *Redox Biology*, 5: 381-387.
 52. Yang, H.L., Chen, S.C., Chang, N.W., Chang, J.M., Lee, M.L., Tsai, P.C., Fu, H.H., Kao, W.W., Chiang, H.C., Wang, H.H. & Hseu, Y.C., 2006. Protection from oxidative damage using *Bidens pilosa* extracts in normal human erythrocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 1513-1521.
 53. Yang, W., Fu, J., Yu, M., Huang Q., Wang, D., Xu, J., Deng, Q., Yao, P., Huang, F. & Liu, L. 2012. Effects of flaxseed oil on anti-oxidative system and membrane deformation of human peripheral blood erythrocytes in high glucose level. *Lipids in Health and Disease*, 11: 88-97.
 54. Yılmaz, İ. 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(2): 143-153.
 55. Zohra, M. & Fawzia, A. 2014. Hemolytic activity of different herbal extracts used in Algeria. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 5(8): 495-500.