

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

LİSE SEVİYESİ FİKİR KATEGORİSİ

TAKIM ADI

İkili Sistem

PROJE ADI

Karabaş Otu Ekstrelerinin Hücre Kültüründe Hidrojen Peroksit

Toksitesine Karşı Nöroprotektif Etkilerinin Araştırılması

BAŞVURU ID

465742

1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarı, hem yaşlanmanın fizyolojik sürecinde hem de Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi çeşitli nörodejeneratif bozukluklarda etkili mekanizmalardandır (Markesbery, 1997; Finkel ve Holbrook, 2000; Choi ve ark., 2006). Ana reaktif oksijen türlerinden biri olan hidrojen peroksit (H_2O_2) redoks işlemi sırasında üretilir ve hücre içi sinyalleşme kaskadlarında bir haberci olarak kabul edilir (Rhee, 1999). Ayrıca, H_2O_2 'nin lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olabileceği ve böylece birçok farklı hücre tipinde apoptozu indükleyebileceği bilinmektedir (Halliwell ve Aruoma, 1991; Yoshikawa ve ark., 2006). Çalışmada dopaminerjik nöron özelliği gösteren SH-SY5Y hücrelerinde olarak H_2O_2 toksisitesine karşı Karabaş otu (*Lavandula Stoechas*) ekstralarının nöroprotektif etkilerinin olup olmadığı ve bu ekstraların apoptoz üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada ilk olarak SH-SY5Y hücrelerinde H_2O_2 'nin IC50 dozu araştırıldı ve bu dozun $250\mu M$ olduğu belirlendi. L. *Stoechas*'nın farklı çözücüler kullanılarak sıralı ekstraksiyon ve total ekstraksiyon metodları ile elde edilen farklı ekstralarının karşılaştırmalı olarak SH-SY5Y hücrelerinde H_2O_2 toksisitesine karşı hücre canlılık, çoğalma, enfeksiyon testleri yapıldı. Hücrelerin H_2O_2 ile tedavi edilmesinin doza bağlı bir canlılık kaybı olduğu, farklı konsantrasyonlarda (1 ve 10 ppm) L. *stoechas* ekstraları ile hücreler ön tedaviye tabi tutulduğunda hücre canlılığı kaybında büyük ölçüde azaltma görülmüştür. Bu çalışma ile literatürde ilk kez SH-SY5Y hücrelerinde H_2O_2 nörotoksitesine karşı L. *stoechas* farklı ekstralarının hücre canlılığında, koloni formasyon kapasitesinde koruma sağlayarak bu ekstraların nöroprotektif etkiler ortaya koyabileceği gösterilmiştir. H_2O_2 'ye bağlı gelişen hücre ölümü (apoptoz) ile ilişkili olarak da etkin rol oynayan Bax düzeylerini düşürüp, Bcl-2'yi arttırarak Bax/Bcl-2 protein oranını düşürerek anti-apoptotik etkiler ortaya koyabildikleri tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sıralı ekstraksiyon, total metanol ekstresi, su infüzyonu ekstresi ve uçucu yağ gibi farklı türlerdeki ekstralarının etkilerinin bir arada değerlendirildiği özgün bir çalışmadır.

2. Problem/Sorun (5 puan)

Oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarı hem yaşlanmanın fizyolojik sürecinde hem de Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi çeşitli nörodejeneratif bozukluklarda uzun süredir suçlanan mekanizmalardan birisidir (Markesbery, 1997; Finkel ve Holbrook, 2000; Choi ve ark., 2006;). Hücre lizisi, oksidatif patlama veya aşırı serbest geçiş metallerinin mevcudiyetini takiben üretilen reaktif oksijen türlerinin aracılık ettiği oksidatif hasar, proteinlere, deoksiniükleik asit ve lipid membranlara saldırabilir, böylece hücre fonksiyon ve bütünlüğü bozabilmektedir (Gorman ve diğerleri, 1996; Gardner ve ark., 1997). Ana reaktif oksijen türlerinden biri olan hidrojen peroksit (H_2O_2) redoks işlemi sırasında üretilir ve hücre içi sinyalleşme kaskadlarında bir haberci olarak kabul edilir (Rhee, 1999). Ayrıca, H_2O_2 'nin lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olabileceği ve böylece birçok farklı hücre tipinde apoptozu indükleyebileceği iyi bilinmektedir. (Halliwell ve Aruoma, 1991; Yoshikawa ve ark., 2006). Bu nedenle, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu apoptozu önlemeye veya geciktirmeye yönelik terapötik stratejiler, bu hastalıkların tedavisi için uygun bir yöntem olabilmektedir. Fenolik bileşikler gibi birçok sentetik kimyasalın güçlü radikal süpürücüler olduğu kanıtlanmıştır, ancak genellikle bazı ciddi yan etkileri bulunmaktadır (Heilmann ve ark., 1995).

3. Çözüm (20 puan)

Son yıllarda, nöroprotektif potansiyele sahip doğal maddelerin araştırılmasına odaklanılmıştır.

Lavandula stoechas L., başta kardiyovasküler ve nörodejeneratif bozukluklar olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde Avrupa ve İran geleneksel tıbbında kullanılmıştır (Javadi ve ark., 2017; Sobhani ve ark., 2017). Anti-inflamatuar, anti-oksidan, anti-alzheimer ve anti-epileptik özellikleri gibi nöroprotektif etkilerini ortaya koyan bazı çalışmalar vardır (Büyükokuroglu ve ark., 2003; Rabiei ve ark., 2014; Sinaei ve ark., 2017). Lavandula Stoechas örneklerinden farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraların SH-SY5Y hücrelerinde oluşturulan hidrojen peroksit toksisitesine karşı hücre canlılığı, koloni şekillendirme yeteneği ve programlı hücre ölümü (apoptoz) ile ilişkili Bcl-2 ve Bax proteinleri üzerine olan etkilerin in vitro yöntemler ile araştırdık.

4. Yöntem (20 puan)

Hücre Kültürü İşlemleri

Hücre kültürü işlemleri steril laminar hava akımlı çalışma kabinlerinde gerçekleştirildi. -80°C'de saklanan hücreler, 37°C'lik su banyosunda çözüldü ve 75 cm²'lik filtreli hücre kültür flasklarına aktarıldı.

SH-SY5Y hücre hattı DMEM/F12 (Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium, High glucose, L-Glutamin, Sodium Pyruvate, Phenol Red) besiyerine %15 ısı ile inaktive edilmiş fetal sıgır serumu eklenerek çoğaltıldı. Kelly hücre hattı ise RPMI 1640 besiyerine %10 ısı ile inaktive edilmiş fetal sıgır serumu eklenerek, 37°C sıcaklıkta, %5 CO₂ ve nem içeren inkübatörde çoğaltıldı. Tüm besiyerlerine penisilin ve streptomisin eklendi (100 ünite/ml).

Hücre hatları canlılık, çoğalma ve enfeksiyon açısından inverted mikroskopta günlük olarak izlendi. Flasklarda %80'in üzerinde hücre yoğunluğu gözlemlendiğinde hücreler pasajlanarak çoğaltıldı (Loubidi ve ark., 2018).

MTS Hücre Canlılığı Testi ve L.Stoechas Uygulaması

Hücre canlılığını ve proliferasyonunu tayin etmek için kullanılan MTS testi (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium salt), 37°C'de yaşayan hücrelerin mitokondriyal aktiviteleri sonucu, tetrazolium tuzunun (suda çözünebilen formazan ürünü), renkli bir yapıya dönüştürülmesi ve bunun ölçülmesi temeline dayanır. Dehidrogenaz enzimlerinin ürettiği formazan miktarı, kültürdeki canlı hücre sayısı ile doğrudan orantılıdır ve 490 nm'de ölçülebilir.

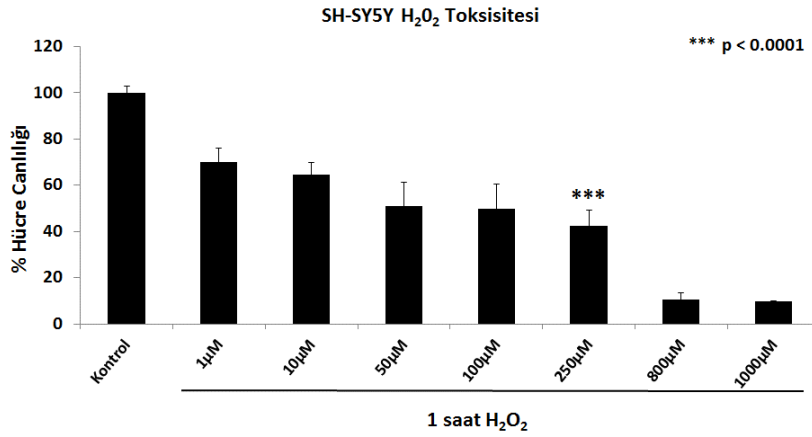
SH-SY5Y hücreleri için reaksiyonlar kuruldu ve her reaksiyon üç kere tekrarlandı. Hücreler, 100 µl'de ortalama 5 x 10³ hücre/kuyucuk olacak şekilde 96-kuyucuklu plakalara ekildi. 24 saat sonra, hücrelere L. stoechas ekstralarının farklı dozlardaki uygulamaları gerçekleştirildi.

L. stoechas ekstraları olarak Total Metanol, Etanol-Heksan-Metanol sıralı ekstraları ve Su İnfüzyon ekstresi ile Uçucu Yağ ekstraları elde edildi ve hücre çalışmalarında uygulandı. Uygulanan dozlar olarak Uçucu Yağ için 10-100-1000 µg/ml ve diğer ekstralar için 1,10 ve 100 ppm dozlar seçildi.

Bu dozlar için inkübasyon süresi 2 ve 24 saat olarak belirlendi ve uygulandı. Ekstreler ile 2 ve 24 saatlik ön tedavi süresi sonrasında hücreler, 1 saat boyunca 250 µM hidrojen peroksit maruz bırakıldı. 1 saatin sonunda kuyucuklardan hidrojen peroksit çekilerek ve yerlerine tekrar taze DMEM/FBS koyularak 1 günlük inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferasyon Assay kiti (Promega) kullanılarak MTS deneyi yapıldı.

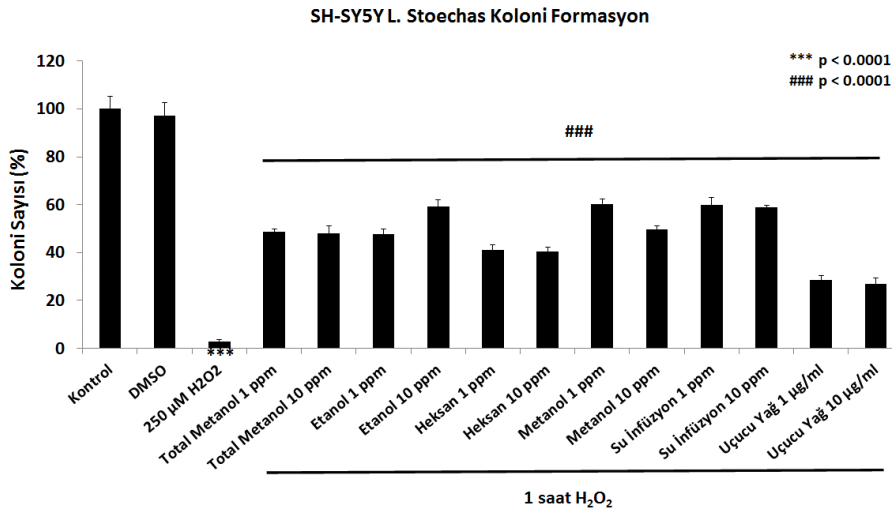
MTS ve PMS (phenazine methosulfate) içeren solüsyondan (20:1 v/v) 20 µl alınarak 100 µl besiyeri içeren her bir kuyuya eklendi, 37°C'de 2-3 saat inkübasyondan sonra spektrofotometrede 490 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Ortalamalar hesaplandı ve Microsoft Excel programı

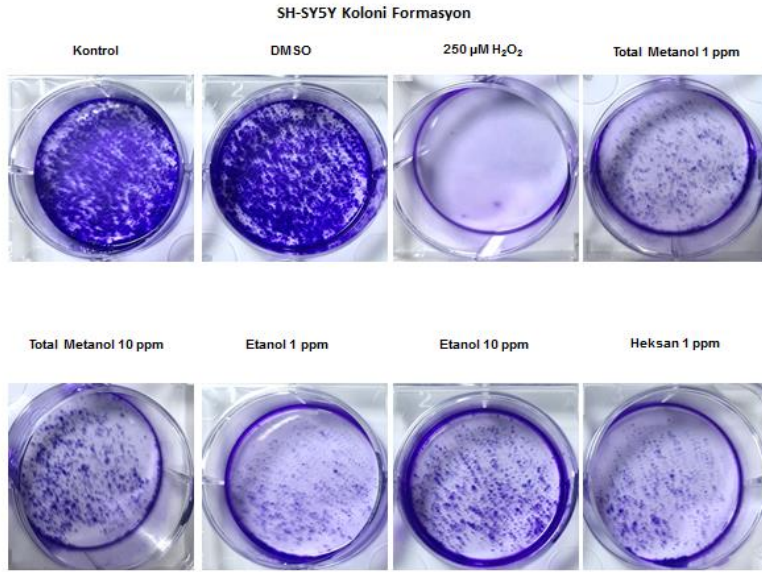
yardımla ortalama absorpsiyon \pm standart sapma baz alınarak grafikler çizildi (Loubidi ve ark., 2018).



Koloni Formasyon Testi

SH-SY5Y hücreleri, 6 kuyucuklu plakalara her 2 ml'de ortalama 2000-2500 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi. 24 saat inkübasyon sonrası hücrelerin yüzeye tutunduklarından emin olunduktan sonra *L. stoechas* ekstralarının ön tedavi uygulamaları gerçekleştirildi. Bu kez uygulanan dozlar olarak Uçucu Yağ için 1-10 µg/ml ve diğer ekstralar için 1 ve 10 ppm dozlar seçildi. Bu dozlar için inkübasyon süresi 24 saat olarak belirlendi ve uygulandı. Ekstreler ile 24 saatlik ön tedavi süresi sonunda hücreler 1 saat boyunca 250 µM hidrojen peroksit maruz bırakıldı. 1 saatin sonunda kuyucuklardan hidrojen peroksit çekilerek yerlerine 2'şer ml taze DMEM besiyeri koyularak hücreler inkübasyona bırakıldı. 2. hafta sonunda tedavi uygulanmamış kontrol kuyusundaki koloni sayısı ve yoğunluğu dikkate alınarak deney sonlandırıldı. Besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra kuyular bir kez PBS (Phosphate Buffer Saline) ile yıkandı. 40 ml metanol içinde 0.2 g kristal viyole eklenerek hazırlanmış stok solüsyon distile su ile 1/10 oranında dilüe edilerek çalışma solüsyonu elde edildi. Bu solüsyondan kuyucuklara 1 ml eklendi ve 5 dk beklendi. Bu şekilde hücre kolonileri Kristal Viyole ile boyandı. Sonrasında kuyucuklar 3 kez distile su ile birer dakika süreyle yıkandı. Ardından plakalar kapakları açık vaziyette kurumaya bırakıldı. Son olarak da plakalardan resimler çekilerek kuyucuklardaki koloni sayıları karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirildi (Erdogan ve Taşkıran, 2019).





Protein analizi

SH-SY5Y hücreleri 25×10^4 sayıda 25 cm^2 'lik T25 flasklara ekildi ve 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonra hücreler, *L. stoechas* ekstraktlarının 1 ve 10 ppm dozları ile 24 saat süreyle ön tedavi prosedürüne tabi tutuldu. 24 saat sonra ortam aspire edildi ve hücreler iki kez steril PBS ile yıkandı ve ardından 1 saat boyunca $250 \mu\text{M}$ hidrojen peroksit maruz bırakıldı. H_2O_2 indüksiyonunu takiben, hücreler soğuk 1X PBS solüsyonu ile yıkandı ve hücre pelletleri ayrı ayrı ependorf tüplere toplandı. Her bir örneğe 1X hücre lizis tamponu (fosfatase ve proteaz inhibitörleri eklenmiş) eklendi ve hücreler buz üzerinde vortekslenerek parçalandı. Bu hücre lizatlarındaki toplam protein miktarları, BCA protein tayin yöntemi kullanılarak ölçüldü. Daha sonra hücre lizatları kullanılarak Western Blot analizleri yapıldı (Loubidi ve ark., 2018).

Western blotlama

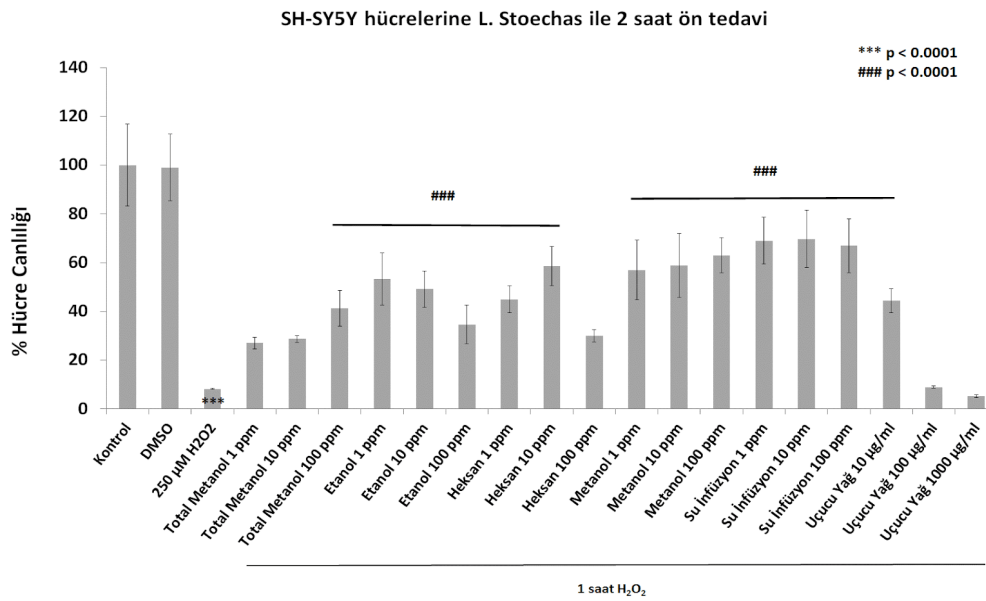
Western blot analizi, %10'luk tris-glisin denatüre edici jellerdeki kuyucuklara $30 \mu\text{g}$ protein örnekleri yüklenerek ve sonrasında proteinler elektroforez ile ayrılarak, ardından da PVDF membrana transfer edilerek gerçekleştirildi. Membran sonrasında %5'lik yapsız süt tozu ile bloke edildi. Ardından membran, primer antikolar olarak, anti-Bax tavşan monoklonal antikoru (1:1000, Cell Signaling Technology) veya anti-Bcl-2 tavşan monoklonal antikoru (1:1000, Cell Signaling Technology) ile sırasıyla, bir gece boyunca $+4 \text{ C}$ 'de inkübe edildi. Yıkandıktan sonra membran, bu primer antikolarla bağlanan HRP konjuge anti-rabbit sekonder antikolar (Odyssey Western Blotting kit, LI-COR Biosciences) ile oda sıcaklığında 1 saat kadar inkübe edildi. Membran, reaktifleri 1:1 oranında karıştırılan ChemiGlow West Chemiluminescence Substrate Kit (Protein Simple, Cat.No:60-12596-00) materyali ile kaplandı ve 1-2 dakika kadar bekletildi. Son olarak optimal ayarlarda membran görüntüsü tif formatında kaydedildi. Membran stripping işlemi ile üzerindeki antikolar soyularak sonrasında anti- β -aktin fare monoklonal antikoru (1:1000, Cell Signaling Technology) ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. Benzer şekilde bu antikora spesifik sekonder antikolar ile de işaretlemeler yapıldı ve bant görüntüleri alındı. Protein bantların görselleştirilmesi ve dansitometrik analizleri bir Odyssey Görüntüleme Sistemi (LI-COR Biosciences, ABD) üzerinde membran taranarak değerlendirildi (Loubidi ve ark., 2018).

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü (15 puan)

Her ne kadar insan SH-SY5Y nöroblastoma hücreleri, oksidatif stresin neden olduğu nöronal hücre ölümünü incelemek için model hücre sistemi olarak yaygın şekilde kullanılsa da (Zhang ve ark.,

1997; Gao ve ark., 2001; Uberti ve ark., 2002) bu anlamda her şey yeterince açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu anlamda *L. stoechas* ekstreleri ile yapılan hücre çalışmalarına bakıldığında SH-SY5Y hücrelerinde H_2O_2 toksisitesi modelinde herhangi bir değerlendirmeye rastlanılmamıştır. Ayrıca çalışmalarda kullanılan ekstrelerin genellikle metanol ve etanol ekstreleri olduğu görülmektedir. Bu kapsamda da çalışmamız sıralı ekstraksiyon, total metanol ekstresi, halk arasında kullanımına paralel şekilde su infüzyonu ekstresi ve uçucu yağ gibi farklı türlerdeki ekstrelerinin etkilerinin bir arada değerlendirildiği özgün bir çalışmadır. Çalışmamızla *L. stoechas* farklı ekstrelerinin karşılaştırmalı olarak SH-SY5Y hücrelerinde H_2O_2 toksisitesine karşı hücre canlılığına olan etkileri ilk kez literatüre kazandırılmış olacaktır.

6. Uygulanabilirlik (10 puan)



Tablodan da anlaşıldığı gibi su infüzyonu diğer ekstrelerle göre hücre canlılığının korunmasında daha etkili olmuştur. Bu durum bitkinin çay olarak tüketilmesinin hem sağlık hem de kullanım kolaylığı açısından en etkili yöntem olmasını sağlamaktadır.

L. stoechas ekstrelerinin tıbbi çay, metanol ekstresi ve aromaterapik yağlar şeklinde kullanılmak üzere ilaç ve gıda sanayi tarafından değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz. Potansiyel kullanımına yönelik olarak ıslah çalışmaları ile içerik açısından zenginleştirilmiş ve potansiyel kimyasal bileşimi standart hale getirilmiş bitkinin, ekolojik kültür bakış açısıyla üretilerek ülke ekonomisine ve ilaç sanayine faydalı olabileceği kanısındayız.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması (5 puan)

Reaktifler: Analitik saflıkta *n*-hekzan (Carlo Erba), etil asetat (Carlo Erba) ve metanol (Carlo Erba).

Cihazlar: Rotavapor (Heidolph Hei-VAP-Value), Speed vac (Christ RVC 2-25), Soğutucu (Christ LT-105), Vakum pompası (Vacuubrand RZ 2.5), Ultrasonik su banyosu (Bandelin Sonorex RK 514, 860W-35kHz), Clevenger apareyi, NUVE MK 418 (600W/1200rpm).

Bitki Materyali: Taze bitkilerin topraküstü kısımları (Çiçek durumları), Nisan-Mayıs 2021 tarihleri arasında Koçarlı'da (Aydın-Türkiye) (600-700 m) doğal yayılış alanından toplanmıştır. Ham droglar gölgede kurutulmuş ve kaba toz halinde öğütülmüştür.

Projemizin bir sonraki aşamalarında ürün olarak bir ilaç ortaya koymayı planlıyoruz. Ancak insanlar veya hayvanlar üzerinde herhangi bir deney yapamadığımız için optimum miktarı net bir şekilde belirleyemiyoruz. Bu da net bir bütçe belirleyememize sebep oluyor.

8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar) (5 puan)

Projemiz canlılarda rastlanılan Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların karabaş otu ön tedavisi ile engellenmesi üzerine geliştirilecek çalışmalara ve farmakolojik uygulamalara öncü olmayı amaçlamaktadır. Bu yüzden çalışmamız nörodejeneratif hastalığı olan bireyler ve bu alanda çalışan uzmanlara hitap etmektedir. Yazdığımız makale bu konuyla alakalı yapılmış en ayrıntılı çalışmadır. Bunun sebebi ise kullandığımız ekstrelerin, kimyasalların ve uygulanan yöntemlerin çeşitliliğidir. Yapılan çalışma konuyla ilgili gerçekleştirilecek araştırmalar ve tedaviler için literatür olmuştur.

9. Riskler (10 puan)

Projemizdeki deneyler hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarını kapsamadığı için doğrudan ilaç tedavisinde oluşabilecek riskler bilinmemektedir.

Karabaş otunun uçucu yağ ekstraktlarının yüksek dozlarda kullanılması toksik etki yapabilir bu yüzden kullanım miktarına dikkat edilmelidir.

10. Kaynaklar (5 puan)

Ayanoğlu F., Mert A., Kaya A., (2000) "Hatay florasında yetişen karabaş lavantanın (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) çelikle köklendirilmesi üzerine farklı lokasyonların ve hormon dozlarının etkisi," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 24:607-610.

Ayral NM., (1997) "Lavandula stoechas ssp. stoechas Bitkisinin Uçucu Yağının ve Uçucu Olmayan Organik Bileşenlerinin İncelenmesi ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Baytop, T. (1984) *Therapy with Medicinal Plants in Turkey*, Publications of Istanbul University, Istanbul (in Turkish), 284-285.

Benabdelkader T., Zitouni A., Guillon Y., Jullien F., Maitre D., Casabianca H., Legendre L., Kameli A., (2011) "Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties." *Chemistry & Biodiversity*, 8:937-953.

Bielder JL., Roffler-Tarlov S., Schachner M., Freedman LS., (1978) "Multiple neurotransmitter synthesis by human neuroblastoma cell lines and clones." *Cancer Res.* 38, 3751-3757.

Büyükokuroğlu ME., Gepdiremen A., Hacimuftuoğlu A., Oktay M., (2003) "The effects of aqueous extract of *Lavandula angustifolia* flowers in glutamate-induced neurotoxicity of cerebellar granular cell culture of rat pups." *J. Ethnopharmacol.* 84 (1), 91-94.

Ceylan, A., (1997) *Medicinal Plants-II*. Publications of Ege University Faculty of Agriculture, İzmir (in Turkish), No: 481: 144-161.

Chandra J., Samali A., Orrenius S., (2000) "Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress." *Free Radic. Biol. Med.* 29, 323- 333.

Cheung YT., Lau WKW., Yu MS., Lai CSW., Yeung SC., So KF., Chang RCC., (2009) "Effects of all-trans-retinoic acid on human SH-SY5Y neuroblastoma as in vitro model in neurotoxicity research." *NeuroToxicology*, 30(1), 127-135.

Choi J., Sullards MC., Olzmann JA., Rees HD., Weintraub ST., Bostwick DE., Gearing M., Levey AI., Chin LS., Li L., (2006) "Oxidative damage of DJ-1 is linked to sporadic Parkinson and Alzheimer diseases." *J. Biol. Chem.* 281, 10816–10824.

Crossthwaite AJ., Hasan S., Williams RJ., (2002) "Hydrogen peroxide mediated phosphorylation of ERK1/2, Akt/PKB and JNK in cortical neurones: dependence on Ca²⁺ and PI3-kinase." *J. Neurochem.* 80, 24–35.

El-Hilaly J., Hmammouchi M., Lyoussi B., (2003) "Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco)." *Journal of Ethnopharmacology*, 86:149–158.

Erdoğan MA., Taşkıran D., (2019) "Rotenon ile İndüklenen İn Vitro Parkinson Hastalığı Modelinde Glukagon Benzeri Peptid-1 Analöğü Ekzenatidin Nöron Sağkalımına Etkisi." *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 10(4), 362-368.

Ertuğ, F., (2002) "Bodrum Yöresinde Halk Tıbbında Yararlanılan Bitkiler", 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs, Eskişehir.

Finkel T., Holbrook N.J., (2000) "Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing." *Nature* 408, 239–247.

Gao Z., Huang K., Xu H., (2001) "Protective effects of flavonoids in the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in SH-SY5Y cells." *Pharmacol. Res.* 43, 173–178.

Gardner AM., Xu FH., Fady C., Jacoby FJ., Duffey DC., Tu Y., Lichtenstein A., (1997) "Apoptotic vs. nonapoptotic cytotoxicity induced by hydrogen peroxide." *Free Radic. Biol. Med.* 22, 73–83.

Gorman AM., McGowan A., O'Neill C., Cotter T., (1996) "Oxidative stress and apoptosis in neurodegeneration." *J. Neurol. Sci.* 139, 45–52.

Guner A., Ozhatay N., Ekim T., Baser KHC., (2000) "Flora of Turkey and East Aegean Islands." Supplement II. *Edinburgh Univ*, 2000, Vol. 11.

Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (eds.), (2012) *Turkish Plants List (Vascular Plants)*. In: Nezahat Gökyiğit Botanical Garden and Publication of Flora Researches Association, İstanbul (in Turkish), 558.

Halliwell B., Aruoma OI., (1991) "DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems." *FEBS Lett.* 281, 9–19.

Haznedaroğlu Z., (2011) *Lavandula angustifolia-Lavandula stoechas* In: Demirezer Ö., (ed.), *FFD Monographs-Plants Used in the Treatment*, MN Medikal & Nobel, Ankara (in Turkish), 343-349.

Heilmann J., Merfort I., Weiss M., (1995) "Radical scavenger activity of different 3',4'-dihydroxyflavonols and 1,5-dicaffeoylquinic acid studied by inhibition of chemiluminescence." *Planta Med.* 61, 435–438.

Itano Y., Nomura Y., (1995) "1-Methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺) causes DNA fragmentation and increases Bcl-2 expression in human neuroblastoma, SH-SY5Y cells, through different mechanisms." *Brain Res.* 704, 240–245.

Javadi B., Sahebkar A., Ahmad Emami S.J.C.p.d., (2017) "Medicinal plants for the treatment of asthma. A traditional Persian medicine perspective." *Current Pharmaceutical Design*, 23(11), 1623-1632.

Kitamura Y., Shimohama S., Kamoshima W., Ota T., Matsuoka Y., Nomura Y., Smith MA., Perry G., Whitehouse PJ., Taniguchi T., (1998) "Alteration of proteins regulating apoptosis, Bcl-2, Bcl-x, Bax, Bak, Bad, ICH-1 and CPP32, in Alzheimer's disease." *Brain Res.* 780, 260–269.

Kovalevich J., Dianne L., (2013) "Considerations for the use of SH-SY5Y neuroblastoma cells in neurobiology", *Neuronal Cell Culture*, 9-21.

Küçük S., Çetintaş E., Kürkçüoğlu M. (2018) Volatile compounds of the *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae) Species Cultured in Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society.* 5(3), 1303–1308.

Lee KH., Cha M., Lee BH. (2020) "Neuroprotective effect of antioxidants in the brain." *International journal of molecular sciences*, 21(19), 7152.

Loubidi M., Jouha J., Tber Z., Khouili M., Suzenet F., Akssira M., Erdogan MA., Köse FA., Dacı T., Armagan G., Saso L., Guillaumet G. (2018) "Efficient synthesis and first regioselective C-6 direct arylation of imidazo [2, 1-c][1, 2, 4] triazine scaffold and their evaluation in H₂O₂-induced oxidative stress." *European Journal of Medicinal Chemistry*, 145, 113-123.

Markesbery WR., (1997) "Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease." *Free Radic. Biol. Med.* 23, 134–147.

Mill RR., (1982) *Lavandula L.* In: Davis P.H. (Ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 7, Edinburgh University Press, 1982, 76-78.

Mushtaq A., Anwar R., Ahmad M., (2018a) "Lavandula stoechas L alleviates dementia by preventing oxidative damage of cholinergic neurons in mice brain." *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(8), 1539-1547.

Mushtaq A., Anwar R., Ahmad M., (2018b) "Lavandula stoechas (L) a very potent antioxidant attenuates dementia in scopolamine induced memory deficit mice." *Frontiers in pharmacology*, 9, 1375. 1-11.

Mushtaq A., Anwar R., Gohar UF., Ahmad M., Mureşan CC., Irimie M., Bobescu E. (2021) "Biomolecular Evaluation of Lavandula stoechas L. for Nootropic Activity." *Plants*, 10(6), 1259.

Nishida M., Marayama Y., Tanaka R., Kontani K., Nagao T., Kurose H., (2000) "Gai and Gao are target proteins of reactive oxygen species." *Nature* 408, 492–495.

Pastorino JG., Chen ST., Tafani M., Snyder JW., Farber JL., (1998) "The overexpression of Bax produces cell death upon induction of the mitochondrial permeability transition." *J. Biol. Chem.* 273, 7770–7775.

Rabiei Z., Rafieian-Kopaei M., Mokhtari S., Alibabaei Z., Shahrani M., (2014) "The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception." *Biomedicine & Aging Pathology* 4 (1), 71–76.

Ray PD., Huang BW., Tsuji Y., (2012) "Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling." *Cellular signalling*, 24(5), 981-990.

Reed JC., (1997) "Double identity for proteins of the Bcl-2 family." *Nature* 387, 773–776.

Rhee SG., (1999) "Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger." *Exp. Mol. Med.* 31, 53–59.

Sastry PS., Rao KS., (2000) "Apoptosis and the nervous system." *J. Neurochem.* 74, 1–20.

Satoh T., Sakai N., Enokido Y., Uchiyama Y., Hatanaka H., (1996) "Free radical-independent protection by nerve growth factor and Bcl-2 of PC12 cells from hydrogen peroxide-triggered apoptosis." *J. Biochem. (Tokyo)*. 120, 540–546.

Sebai H., Selmi S., Rtibi K., Souli A., Gharbi N., Sakly M. (2013) "Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats." *Lipids in health and disease*, 12(1), 1-9.

Selmi S., Jallouli M., Gharbi N., Marzouki L. (2015) "Hepatoprotective and renoprotective effects of lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils against malathion-induced oxidative stress in young male mice." *Journal of medicinal food*, 18(10), 1103-1111.

Sinaei F., Emami SA., Sahebkar A., Javadi B., (2017) "Olfactory loss management in view of avicenna: focus on neuroprotective plants." *Curr. Pharmaceut. Des.* 23 (22), 3315–3321.

Slater AFG., Stefan C., Nobel I., van den Dobbsteven DJ., Orrenius S., (1996) "Intracellular redox changes during apoptosis." *Cell Death Differ.* 3, 57– 62.

Sobhani Z., Reza Nami S., Ahmad Emami S., Sahebkar A., Javadi B.J.C.p.d., (2017) "Medicinal plants targeting cardiovascular diseases in view of Avicenna," *Current pharmaceutical design*, 23(17), 2428-2443.

Tayarani-Najaran Z., Hadipour E., Mousavi S.M.S., Emami S. A., Mohtashami L., Javadi B., (2021) Protective effects of *Lavandula stoechas* L. methanol extract against 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 273, 114023, 1-8.

TPL (The Plant List) (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 1st January).

Uberti D., Piccioni L., Colzi A., Bravi D., Canonico PL., Memo M., (2002) "Pergolide protects SH-SY5Y cells against neurodegeneration induced by H₂O₂". *Eur. J. Pharmacol.* 434, 17– 20.

Uberti D., Rizzini C., Spano PF., Memo M., (1997) "Characterization of tau proteins in human neuroblastoma SH-SY5Y cell line." *Neurosci. Lett.* 235, 149–153.

Ushio-Fukai M., Alexander RW., Akers M., Yin Q., Fujio Y., Walsh K., Griendling KK., (1999) "Reactive oxygen species mediate the activation of Akt/protein kinase B by angiotensin II in vascular smooth muscle cells." *J. Biol. Chem.* 274, 22699–22704.

Xicoy H., Wieringa B., Martens GJM. (2017) "The SH-SY5Y cell line in Parkinson's disease research: a systematic review." In *Molecular Neurodegeneration* (Vol. 12, Issue 1, pp. 1–11).

Yamakawa H., Ito Y., Naganawa T., Banno Y., Nakashima S., Yoshimu S., Sawada M., Nishimura Y., Nozawa Y., Sakai N., (2000) "Activation of caspase-9 and -3 during H₂O₂-induced apoptosis of PC12 cells independent of ceramide formation." *Neurol. Res.* 22, 556– 564.

Yenici N., (1999) "Lavandula stoechas Bitkisinin Özellikleri ve Fibrinolitik Sistem Etkisinin Araştırılması," Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Yoshikawa A., Saito Y., Maruyama K., (2006) "Lignan compounds and 4,4'-dihydroxybiphenyl protect C2C12 cells against damage from oxidative stress." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344, 394–399.

Zhang J., Wang X., Vikash V., Ye Q., Wu D., Liu Y., Dong W. (2016) "ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2016, Article ID 4350965.

Zhang L., Zhao B., Yew DT., Kusiak JW., Roth GS., (1997) "Processing of Alzheimer's amyloid precursor protein during H₂O₂-induced apoptosis in human neuronal cells." Biochem. Biophys. Res. Commun. 235, 845– 848.

RAPOR TASLAKLARI İLE İLGİLİ NOT:

- Yukarıda yer alan 10 madde en fazla 16 (on altı) sayfada anlatılacaktır.
- Kapak ve içerik olmak üzere en fazla 17 sayfa olacaktır.
- Tüm raporlar akademik rapor standartlarına uygun olarak yazılmalıdır.
- Her rapor bir kapak sayfası içermelidir.
- Yazı tipi: Times New Roman, Punto: 12, Satır Aralıkları: 1,15, iki tarafa yastı, sayfa kenar boşlukları üst-alt-sağ-sol 2,5 cm olmalıdır. Cilt payı bırakılması gerekmemektedir.
- Rapor içindeki cümleler birbirinin aynı ve tekrarı niteliğinde olmamalıdır.
- Kaynaklardan alınan cümleler ve ifadeler proje rapor yazarının uyarlamalarına sahip olmalı kopyala – yapıştır ile doğrudan alınan cümlelere yer verilmemelidir.
- Raporunda, Web sitemizde yer alan Geçmiş yıl Raporlarından yararlanmış olan takımlarımız alıntı yaptığını ilgili sayfada belirtmesi gerekmektedir. Açıklamayı alıntı yapılan cümlelerin ardından belirtmeniz gerekmektedir. ALINTI FORMATI: "Alıntı yapılan Cümle/ler" (Yıl, Yarışma Adı, Kategori, Takım Adı) ÖRNEK ALINTI: "Enkazda depremzedenin nerede olduğunu tespit edilememesi, enkaz kaldırma ve depremzede arama çalışmalarını yavaşlatan en önemli sorundur." (2020, İnsanlık Yararına Teknoloji Yarışması,Afet Yönetimi, X Takımı)