

## Deneysel Araştırma

# İyonize Radyasyon Uygulamasının Sıçan Karaciğer Dokularında Ghrelin Ekspresyonu Üzerine Etkileri

Fikri Selçuk ŞİMŞEK<sup>1</sup>, Nevin KOCAMAN<sup>2a</sup>

<sup>1</sup>Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nükleer Tıp, Elazığ, Türkiye

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji, Elazığ, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Görüntüleme yöntemleri günümüzde hastalıkların tanısında, evrelemesinde ve tedaviye yanıtının değerlendirilmesinde oldukça sık kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler radyasyon içermeleri nedeniyle dokulardaki oksidatif stres düzeyini arttırabilmektedirler. Bu çalışma ile görüntüleme yöntemlerinin, karaciğer dokularında, bir antioksidan bileşik olan ghrelin immünreaktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi planlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Wistar albino cinsi 20 adet dişi sıçan çalışmada kullanıldı. Hayvanlar 5 sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı ve Grup I kontrol grubu olarak ayrıldı. Grup II'ye deneyin 0. saatinde tek doz 50 miliAmper mA ve 110 keV BT görüntüleme yapılırken, Grup III'e 0. saatte tek doz 1 mci FDG i.v uygulandı. Ardından 1 saat sonra PET/BT çekildi. Grup IV'teki sıçanlara ise 0. saatte bir kez ve i.v 1mci dozunda FDG uygulandı. Deneyin 24. saatinde tüm gruplarda yer alan sıçanlar anestezi altında dekapite edildi. Karaciğer dokuları çıkarılarak immünboymalarını takiben, ışık mikroskopunda değerlendirildi, fotoğraflandı ve istatistiksel analizleri yapıldı.

**Bulgular:** Ghrelin immünreaktivitesi Kontrol ve FDG gruplarında benzerdi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BT ve PET/BT gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi.

**Sonuç:** Bu çalışma ile BT ve PET/BT görüntülemenin karaciğer dokusunda ghrelin immünreaktivitesinde anlamlı derecede artışa yol açtığı, sadece FDG uygulamasının ise ghrelin immünreaktivitesi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** İyonize radyasyon, Ghrelin, Karaciğer.

### ABSTRACT

#### The Effect of Ionizing Radiation on Ghrelin Expression in Rat Liver Tissue

**Objective:** Current medical practice commonly use radiological imaging techniques for the diagnosis, staging, evaluating and response to treatment. However most of these imaging modalities utilize radiation, which is known to result in increased oxidative stress. In this study, we aimed to evaluate the impact of imaging modalities involving radiation to the immune reactivity of ghrelin in the liver.

**Material and Method:** Total 20 female Wistar albino rats were divided into 4 equal groups. Animals in group I comprised the controls. Rats in Group II underwent a CT examination at 0 hour with a dose 50 mA and 110 keV, Group III received single dose, 1 mci FDG at 0 hour, followed by a PET/CT examination after 1 hour. Rats in Group IV were administered i.v. FDG 1 mci at 0 hour. All animals were decapitated at 24. hours. Subsequently, liver tissue samples were appropriately immune-stained, examined under light microscopy, statistical analysis were performed and photographs obtained during microscopical examination.

**Results:** In comparison with liver tissue from control rats, no significant differences were found in the ghrelin immunoreactivity in rats receiving FDG only. On the other hand, statistically significant increases were observed in CT and PET/CT imaging groups. However, between CT and PET/CT groups didn't differ significantly.

**Conclusion:** Our results suggest that CT and PET/CT imaging are associated with a significant increase in rat liver ghrelin immunoreactivity, while FDG alone has no such effect.

**Key Words:** Ionizing radiation, Ghrelin, Liver.

Birçok hastalığın tanı ve tedavisinde kullanılan radyasyon içeren yöntemler çeşitli riskleri de beraberinde getirmektedirler. İyonize radyasyon direkt yolla hücrel makro moleküllerden olan DNA, mRNA ve proteinlerin kovalent bağlarını bozarak bu yapılarda irreversibl yapısal bozukluklara neden olmaktadır. Bununla birlikte iyonize radyasyon suyun hidrolizi ile serbest hidrojen ve hidroksilin oluşumuna yol açarak

indirekt yolla sellüler yapıyı ve genomik bilgiyi bozmakta, bu da mutasyonlara veya hücre ölümüne yol açmaktadır (1). İyonize radyasyonun biyolojik dokular üzerindeki etkileri esas olarak indirekt yolla meydana gelmekte, sitotoksik reaktif oksijen radikalleri ortaya çıkmakta ve sonuçta oksidatif hasar oluşmaktadır (2, 3). Antioksidan bileşikler ise, bu süreçte meydana gelen serbest oksijen radikali miktarını ve lipid

<sup>a</sup> Yazışma Adresi: Dr. Nevin KOCAMAN, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji, Elazığ, Türkiye

Tel: 0 424 2370000

Geliş Tarihi/Received: 09.09.2014

e-mail: drnkocaman@gmail.com

Kabul Tarihi/Accepted: 15.12.2014

peroksidasyonunu azaltmaktadır (4).

1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından midede endojen bir ligant olarak keşfedilen ghrelin, peptid yapıda bir hormon olup (5) antioksidan etkiye sahip olduğu, böylelikle dokularda oluşabilecek oksidatif stresi ve apoptozisi önlediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (6, 7). Ghrelin, mide dokusundan başka bağırsak, yanak mukozası, özofagus, hipofiz, tiroid, lenf nodları, lenfositler, akciğer, karaciğer, safra kesesi, pankreas, kalp, dalak, testis, prostat, ovaryum, tuba uterina ve plasenta dokularında da bulunmaktadır (8).

Karaciğer fizyolojik ve biyokimyasal görevlerinden dolayı pek çok toksik madde ve ilaçlara sıklıkla maruz kalmakta olup karaciğer hasarı, belirtilerinin çok geç meydana gelmesinden dolayı tedavisi zor olan patolojik bir durumdur (9, 10).

Bu çalışmada, iyonize radyasyon uygulamasının sıçan karaciğer dokularında endojen bir antioksidan olan ghrelin ekspresyonu üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 26.03.2014 tarih ve 82 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapıldı

Çalışmada Wistar albino cinsi 20 adet dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar 8 haftalık ve ağırlıkları  $200 \pm 50$  gram idi. Deneklerin kaldığı oda  $21 \text{ }^\circ\text{C}$  idi ve sıçanlar 12 saat ışık (7:00–19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00–7:00) tutuldu. Aynı standart sıçan yemi verilerek ad libitum su, yiyecek alımları sağlandı. Çalışmada 1983 Helsinki deklarasyonunda bildirilen “Hayvanlarda Bilimsel Çalışmalar için Etik Kurallar” a uyuldu. Hayvanlar 4 gruba ayrıldı. Grupların her biri 5 sıçandan oluşturuldu.

I. Grup (Kontrol Grubu): 24 saat boyunca herhangi bir işlem yapılmadı.

II. Grup (BT Grubu): Deneyin 0. saatinde 50 miliAmper(mA) ve 110 Kiloelektronvolt (keV) dozda bilgisayarlı tomografi (BT) uygulandı.

III. Grup (PET/BT Grubu): Deneyin 0. saatinde intravenöz (i.v) 1mci dozunda 18-Floro-deoksi-glukoz (FDG) injeksiyonunu takiben 1 saat sonra 50 miliAmper (mA) ve 110 Kiloelektronvolt (keV) dozda BT ile pozitron emisyon tomografisi (PET/BT) çekildi.

IV. Grup (FDG Grubu) : Deneyin 0. saatinde i.v 1mci dozunda FDG uygulandı.

Deneyin 24. saatinde tüm gruplardaki sıçanlar 75mg/kg ketamin + 10mg/kg xylazine i.p uygulanarak

anestezi yapıldı. Ardından tüm sıçanlar dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından midsagittal insizyon yapılarak sıçanların karaciğer dokuları hızlıca çıkarılıp %10'luk formaldehit ile tespit edildi. Rutin histolojik doku hazırlama prosedürü ile parafin bloklar hazırlandı.

## İMMUNOHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMA

Parafin bloklardan 5–6 mm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen kesitler dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen kesitler PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA–125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulanıp ardından PBS ile yıkama yapılmadan 1/200 oranında dilue edilen ghrelin primer antikor (Ghrelin goat poliklonal IgG, sc-10368, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Primer antikor uygulanmasını takiben PBS ile 3x5 dakika yıkanan kesitlere 30 dakika biyotinli sekonder antikor (Donkey anti-goat IgG-B, sc-2042, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) uygulandı. PBS ile 3x5 dakika yıkanan kesitler streptavidin alkaline fosfataz (TS-060-AP, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara fast-red (Fast-Red Tablets and Naphthol Phosphate Substrate, TA-125-AF, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Skala bar: 50  $\mu\text{m}$ .

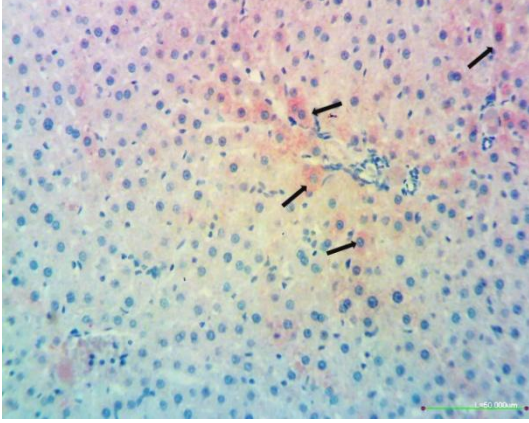
Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <25, 0.4:26-50, 0.6:51-75, 0.9:76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1:az, +2: orta, +3:şiddetli) esas alınarak histoskor (histoskor= yaygınlık x şiddet) oluşturularak istatistiksel analizleri yapıldı.

İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve posthoc tukey testi ile yapıldı.

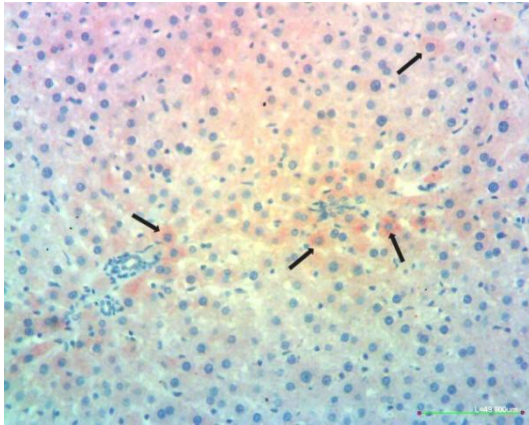
## BULGULAR

Ghrelin immünreaktivitesinin belirlenmesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopisi ile incelenmesi sonucu; Ghrelin immünreaktivitesi karaciğer dokusunda hepatositlerde (siyah ok) izlendi.

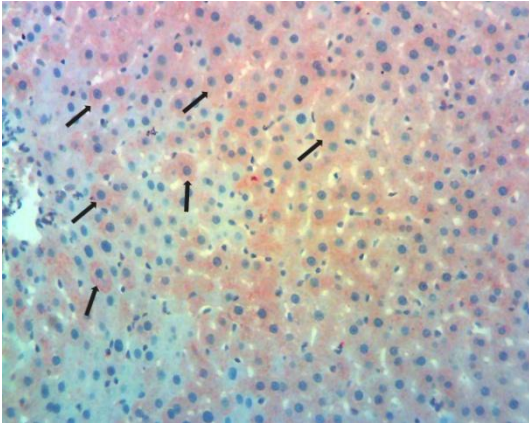
Ghrelin immünreaktivitesi Kontrol (Şekil 1) ve FDG (Şekil 4) gruplarında benzerdi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BT (Şekil 2) ve PET/BT (Şekil 3) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi. Negatif kontrolde (Şekil 5) ghrelin immünreaktivitesi izlenmedi. Pozitif kontrol (Şekil 6) için sıçan mide dokusu kullanıldı (Tablo 1).



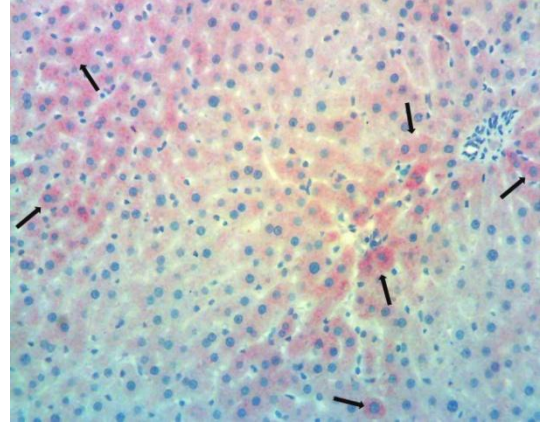
Şekil 1. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda Ghrelin immünreaktivitesi (→)



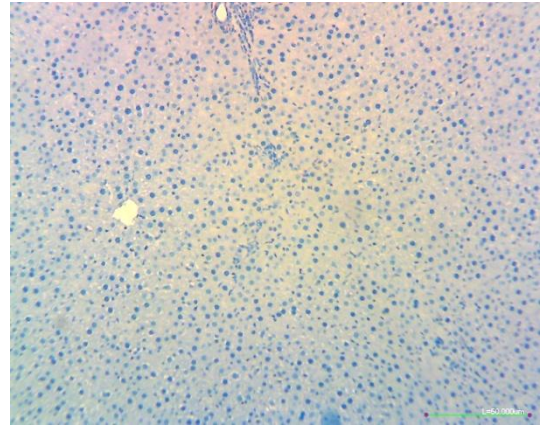
Şekil 2. BT grubuna ait karaciğer dokusunda Ghrelin immünreaktivitesi (→).



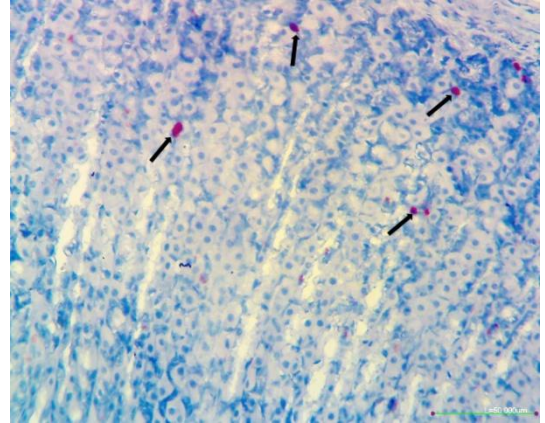
Şekil 3. PET/BT grubuna ait karaciğer dokusunda Ghrelin immünreaktivitesi (→).



Şekil 4. FDG grubuna ait karaciğer dokusunda Ghrelin immünreaktivitesi (→).



Şekil 5. Negatif kontrol.



Şekil 6. Pozitif kontrol. Mide dokusu.

Tablo 1. Ghrelin immünreaktivitesi

GRUP	Histoskor (yaygınlık x şiddet)
KONTROL	0.18 ± 0.04
BT	0.16 ± 0.05 <sup>a</sup>
PET/BT	0.96 ± 0.21 <sup>a</sup>
FDG	1.04 ± 0.21

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, p<0.05.

## TARTIŞMA

İyonize radyasyon reaktif oksijen radikallerinin yapımını artırarak oksidatif strese sebep olmakta ve çeşitli organlarda disfonksiyonlara yol açabilmektedir (11). Gama radyasyon canlı dokuda DNA hasarı, genomik instabilite, apoptozis, inflamasyon gibi patolojilere serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin oluşumu vasıtasıyla yol açabilmektedir. Bu hasarlarda asıl sorumlu suyun radyolizisi sonucu oluşan hidroksil radikali, superoksid anyonu ve hidroperoksil radikalleridir (12). Klinikte tanısız ve tedavi amacıyla kullanılan radyasyonun SOR gibi oksidan moleküllerin seviyesinde artışa yol açtığı ve glutatyon (GSH), süper oksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidanların seviyelerinde azalmaya neden olduğu Srinivasan ve ark.'nın (13) yaptıkları bir çalışmada ortaya konmuştur. Sonuçta iyonize radyasyon maruziyeti ile dokularda oksidan stresin arttığı ve antioksidan enzimlerin azaldığı bilinmektedir.

Reaktif oksijen türlerini ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinmektedirler. Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksid dismutaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır (14). Ghrelin vücutta, karaciğer dahil çok sayıda organda bulunan peptid yapıda ve antioksidan özellikleri olan bir hormondur (8). Ghrelin bu etkisini antioksidan enzim sistemlerini indükleyerek göstermektedir (15). Ayrıca polimikrobiyal sepsiste plazmada norepinefrin düzeylerinin arttığı (16) ve radyasyon maruziyeti sonrası oluşan doku hasarını takiben gelişen sepsiste ortaya çıkan norepinefrin seviyesi artışının uygulanan intravenöz ghrelin ile %35 oranında azaltıldığı ortaya konmuştur (17).

Karaciğer diğer organlarla karşılaştırıldığında rölatif olarak daha radyosensitif bir organdır ve radyasyon maruziyetinden sonra bu organın metabolik fonksiyonlarında ölçülebilen derecede değişiklikler oluşur (18).

Hepatosellüler karsinom tedavisinde radyoterapi, radyasyonun indüklediği karaciğer hastalığı riski nedeniyle oldukça sınırlı seviyede kullanılmaktadır (19). Karaciğerde radiogenik kanser riski genelde maruz kalınan doza bağımlı olmakla beraber, risk modelinde belirsizliklerin de olduğu bilinmektedir (20).

Karaciğerde ve vücudun diğer organlarında meydana gelen oksidatif strese karşı vücutta antioksidanların üretimi arttırılmaktadır (21). Srinivasan ve ark. (22), izole sıçan hepatositlerinde in

vitro ortamda yaptıkları bir çalışmada antioksidan savunma mekanizmasının SOR toksisitesini azalttığını ve sonuçta meydana gelecek olan radyasyon hasarından koruyucu rol oynadığını ortaya koymuşlardır. Mohammad ve ark. (23) düşük doz X-ray uyguladıkları farelerde oksidatif hasarın meydana geldiğini ve antioksidan etkiye sahip olan karpuz (*Citrullus lanatus*) suyu verilen farelerde bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) seviyelerinin azaldığını saptamışlardır. Fareler 10 Gy radyasyona maruz bırakıldıklarında MDA seviyesinin anlamlı derecede arttığı, birer antioksidan olan GSH, SOD ve katalaz oranlarının da anlamlı derecede azaldığı Das ve arkadaşları tarafından ortaya konmuştur (24). Aynı çalışmada, karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında piknotik, multilobule, dens ve hematoksilenden zengin boyama paterni gösteren nükleus dikkati çekmiştir. Ayrıca karaciğer dokusunda hepatositlerde şişme, membran yapısında bozulma ve sinuzoidal aralıkta genişleme tespit edilmiştir (24). Berbee ve ark. (25) iyonize radyasyon uygulamasının vücutta endojen bir antioksidan molekül olan Tetrahydrobiopterin (BH4) seviyelerini anlamlı derecede azalttığını ortaya koymuşlardır. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada radyasyon maruziyetinden 24 saat sonra karaciğer dokusunda redükte glutatyon seviyelerinde azalma ile beraber glukolik asid ve N-arachidonoyl taurine miktarında artış saptanmıştır (26). Bu çalışmalar ışığında iyonize radyasyon uygulamasının karaciğer dokusunda oksidatif stresi arttırdığı ve antioksidan moleküller üzerinde etkilerinin olduğu ortaya konmuştur. Biz de çalışmamızda radyasyon maruziyetinden 24 saat sonra karaciğer dokusunda, bir antioksidan hormon olan ghrelinin immunreaktivitesinde artış saptadık. Bu, artışın ghrelinin antioksidan enzim sistemlerini indükleme özelliği (15) ile ilgili olabileceği kanaatindeyiz. Karaciğer dokusunda radyasyonun indüklediği mikroskobik değişikliklerin ilk birkaç haftada görülmeyebileceği, histopatolojik değişikliklerin ve fibrozisin total vücut radyasyonu uygulaması yapılan farelerde ancak 6-10 hafta sonra saptanabileceği bazı çalışmalarda ortaya konmuştur (27, 28). Bizim çalışmamızda ise radyasyon maruziyetinden sonra karaciğer dokusunda endojen ghrelin immunreaktivitesine bakılmış ve PET/BT uygulanan grup ile BT çekilen grupta anlamlı derecede artış olduğu tespit edilmiştir. Bu bize diğer bazı histopatolojik değişikliklerin radyasyon maruziyeti sonrası ilk birkaç haftada görülmezken, ghrelin immunreaktivitesinin bu değişikliklerden farklı olarak 24. saatte immunohistokimyasal yöntemlerle arttığının saptanabileceğini göstermektedir.

Obay ve ark. (29) yaptıkları bir çalışmada sıçanların eritrosit, karaciğer ve beyin dokularında, pentylenetetrazole bileşiği tarafından indüklenen

oksidatif stres sonucu meydana gelen lipid peroksidasyonu ile antioksidan enzim aktivitesi ve glutatyon seviyesindeki azalmaların ghrelin tarafından önlendiğini ortaya koymuşlardır. Xu ve ark. (30) da kardiyomyosit hücre kültürlerinde, ghrelinin bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA seviyelerini azalttığını ve antioksidan enzimler olan SOD ile katalaz seviyelerini arttırdığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca ghrelinin karaciğerde fibrozis gelişimini azaltarak hepatoprotektif etkilerinin olduğu da bazı çalışmalarda gösterilmiştir (31). Li ve ark. (32) radyasyon uygulanan farelerde, uygulama sonrası 16. saatte, testis dokusunda MDA' da artış ile birlikte antioksidan enzimlerde yükselme saptamışlardır. Bu artış yine 16. saatte bakılan ghrelin seviyesindeki artışla paralel olarak bulunmuştur. Ayrıca ghrelin reseptör antagonisti [D-Lys-3]-GHRP-6 (D-GHRP) verilen farelerde

radyasyon sonrası 16. saatte TUNEL metodu ile bakılan apoptozis miktarında anlamlı derecede artış olduğu tespit edilmiştir (33). Benzer şekilde biz de 24. saatte baktığımız ghrelin immunreaktivitesinde artış saptadık. Bütün bu sonuçlar, ghrelinin radyasyon sonrası gelişen oksidatif strese erken cevapta etkili olduğu kanısını uyandırmaktadır.

Sonuç olarak; BT ve PET/BT görüntülemesinin karaciğerde ghrelin seviyesini arttırdığı, FDG uygulamasının ghrelin seviyesini değiştirmediği, ghrelin immünreaktivitesindeki bu değişikliklerin radyasyonun karaciğer dokusunda meydana getireceği histopatolojik değişikliklerin mekanizmasına ghrelinin katılabileceği ve ileride farklı radyasyon doz ve süreleri ile çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu kanıtlanmıştır.

## KAYNAKLAR

- Katanyutanon S, Wu R, Wang P. The Effect of whole-body radiation on blood levels of gastrointestinal peptides in the rat. *Int J Clin Exp Med* 2008; 1: 332-37.
- Maiorino M, Ursini F. Oxidative stress, spermatogenesis and fertility. *Biol Chem* 2002; 383: 591-7.
- Turner TT, Lysiak JJ. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. *J Androl* 2008; 29: 488-98.
- Yüce A, Aksakal M. Ratların karaciğer ve testis dokusundaki antioksidan aktivite üzerine nar suyunun etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2007; 216: 253-6.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelinin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-60.
- Takeda R, Nishimatsu H, Suzuki E, et al. Ghrelin improves renal function in mice with ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 113-21.
- Chung H, Kim E, Lee DH, et al. Ghrelin inhibits apoptosis in hypothalamic neuronal cells during oxygen-glucose deprivation. *Endocrinology* 2007; 148: 148-59.
- Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-91.
- Dhanabal SP, Syamala G, Satish Kumar MN, et al. Hepatoprotective activity of the Indian medicinal plant *Polygala arvensis* on D- galactosamine-induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia* 2006; 77: 472-4.
- Naaz F, Javed S, Abdin MZ. Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *phyllanthus amarus* schum et thonn on aflatoxin B1-induced liver damage in mice. *J Ethnopharma* 2007; 113: 503-9.
- Mansour HH, Ismael Nel-S, Hafez HF. Ameliorative effect of septilin, an ayurvedic preparation against gamma-irradiation-induced oxidative stress and tissue injury in rats. 2014; 5: 135-41.
- Sinha M, Das DK, Manna K, et al. Epicatechin ameliorates ionising radiation-induced oxidative stress in mice liver. *Free Radic Res* 2012; 46: 842-9.
- Srinivasan M, Devipriya N, Kalpana KB, et al. Lycopene: an antioxidant and radioprotector against Gamma radiation-induced cellular damages in cultured human lymphocytes. *Toxicology* 2009; 262: 43-9.
- Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharma* 1995; 49: 1341-8.
- Kheradmand A, Alirezael M, Birjandi M. Ghrelin promotes antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in the rat ovary. *Regul Pept* 2010; 162: 84-9.
- Hahn PY, Wang P, Tait SM, et al. Sustained elevation in circulating catecholamine levels during polymicrobial sepsis. *Shock* 1995; 4: 269-73.
- Jacob A, Shah KG, Wu R, et al. Human ghrelin ameliorates organ injury and improves survival after radiation injury combined with severe sepsis. *Mol Med* 2009; 15: 407-14.
- Barshishat-Kupper M, Tipton AJ, McCart E, et al. Effect of Ionizing Radiation on Liver Protein Oxidation and Metabolic Function in C57BL/6J Mice. *Int J Radiat Biol* 2014; 5: 1-29.
- Emami B, Lyman J, Brown A, et al. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 2: 109-22.
- Kim DW, K Chung, Chung WK, et al. Risk of secondary cancers from scattered radiation during intensity-modulated radiotherapies for hepatocellular carcinoma. *Radiation Oncology* 2014; 9: 109.
- Hanson PM, Yang R, Wu J, et al. Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 2004; 129: 704-11.
- Srinivasan M, Sudheer AR, Pillai KR, et al. Lycopene as a natural protector against -radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta General Subjects* 2007; 4: 659-65.
- Mohammad MKA, Mohamed MI, Zakaria AM, et al. Watermelon (*Citrullus lanatus*) Juice Modulates Oxidative Damage Induced by Low Dose X-Ray in Mice. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International* 2014; 6: 512834.



24. Das U, Manna K, Sinha M, et al. Role of ferulic acid in the amelioration of ionizing radiation induced inflammation: a murine model. *PLoS One* 2014; 22: 97599.
25. Berbee M, Fu Q, Boerma M. Reduction of radiation-induced vascular nitrosative stress by the vitamin E analog gamma-tocotrienol: evidence of a role for tetrahydrobiopterin. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 79: 884-91.
26. Ak C, Pathak R, Zandkarimi F, et al. Liver metabolomics reveals increased oxidative stress and fibrogenic potential in gfrp transgenic mice in response to ionizing radiation. *J Proteome Res* 2014; 13: 3065-74.
27. Wang S, Lee Y, Kim J, et al. Potential role of hedgehog pathway in liver response to radiation. *PLoS One* 2013; 8: 74141.
28. O'Sullivan B, Levin W. Late radiation-related fibrosis: pathogenesis, manifestations, and current management. *Semin Radiat Oncol* 2003; 13: 274-89.
29. Obay B, Taşdemir E, Tümer C, et al. Dose dependent effects of ghrelin on pentylene-tetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 2008; 29: 448-55.
30. Xu Z, Lin S, Wu W, et al. Ghrelin prevents doxorubicin induced cardiotoxicity through TNF-alpha/NF-kB pathways and mitochondrial protective mechanisms. *Toxicology* 2008; 247: 133-8.
31. Moreno M, Chaves JF, Sancho-Bru P, et al. Ghrelin attenuates hepatocellular injury and liver fibrogenesis in rodents and influences fibrosis progression in humans. *Hepatology*.2010; 51: 974-85.
32. Li W, Zeng Y, Zhao J, et al. Upregulation and nuclear translocation of testicular ghrelin protects differentiating spermatogonia from ionizing radiation injury *Cell Death and Disease* Published. 2014; 5: 12.