

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

7,12-DİMETİL BENZ[A]ANTRASEN VERİLEN RATLARIN
LİPİD BİLEŞENLERİ ÜZERİNE TROLOX VE
HİDROKİNON'UN ETKİSİ

116633

Mustafa GÜNDÜZ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

ELAZIĞ

2002

116633

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

7,12-DİMETİL BENZ[A]ANTRASEN VERİLEN RATLARIN
LİPİD BİLEŞENLERİ ÜZERİNE TROLOX VE
HİDROKİNON'UN ETKİSİ

Mustafa GÜNDÜZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

Bu Tez, Tarihinde Aşağıda Belirtilen Jüri Tarafından Oy Birliği/Oy Çokluğu ile Başarılı/Başarısız Olarak Değerlendirilmiştir.

(İmza)

(İmza)

(İmza)

Danışman

Doç.Dr.Sait ÇELİK

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

7,12-DİMETİL BENZ[A]ANTRASEN VERİLEN RATLARIN LİPİD BİLEŞENLERİ
ÜZERİNE TROLOX VE HİDROKİNON'UN ETKİSİ

Mustafa GÜNDÜZ

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
2002, Sayfa: 57

Bu çalışmanın amacı kanserojen bir madde olan 7,12-Dimetilbenz [a] antrasen verilen ratların doymuş ve doymamış yağ asitleri üzerine Trolox (Vitamin E analogu) ve Hidrokinonun etkisini araştırmaktır. Bütün dokulardaki 20:4 (araşidonik asit)ve 22:6 (dokosahegzaenoik asit) yağ asitlerinin oranları kontrol grubuna göre DMBA grubunda önemli ölçüde azalmıştır. 20:4 ve 22:6 doymamış yağ asitlerinin beyin dokusundaki yüzdesi DMBA+Trolox grubuyla karşılaştırıldığında DMBA grubunda azalırken, 18:1(oleik asit) yağ asidi artmıştır. 18:0 (stearik asit), 20:4, 22:6 ve toplam PUFA'ların (çoklu doymamış yağ asitleri) karaciğer dokusundaki yüzdesi DMBA+Trolox grubuyla karşılaştırıldığında DMBA grubunda azalırken, 18:1 ve 18:2 (linoleik asit) yağ asitleri artmıştır. 20:4, 22:6 ve toplam PUFA yağ asitlerinin kas dokusundaki yüzdesi DMBA+Trolox grubu ile karşılaştırıldığında DMBA grubunda azalmıştır.

Sonuç olarak, intrapritonal olarak verilen troloxun beyin, karaciğer ve kas dokusu PUFA'ları üzerine koruyuculuk özelliği gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Trolox, Hidrokinon, 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen, Serbest Radikal, Antioksidan, Lipid peroksidasyonu, Çoklu Doymamış Yağ Asitleri (PUFA), Rat,

ABSTRACT
MASTER THESISEFFECT OF TROLOX AND HYDROQUINONE ON LIPID SPECIES OF RATS
GIVEN 7,12-DIMETHYLBENZ[A]ANTHRACENE

Mustafa GÜNDÜZ

Fırat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

2002, Page: 57

The aim of this work was to determine the effects of trolox (water-soluble vitamin E analogue) and hydroquinone on saturated and unsaturated fatty acids of rats given 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, which a carcinogenic substance (DMBA). The proportion of 20:4 (arachidonic acid) and 22:6 (docosahexaenoic acid) in all tissues were significantly decreased in the DMBA group as compared to the control group. The level of 20:4 and 22:6 unsaturated fatty acids were reduced in the DMBA group and 18:1 (oleic acid) were high in same group as compared to DMBA+Trolox in brain tissues. The level of 18:0 (stearic acid), 20:4, 22:6 and total PUFA fatty acids were reduced in the DMBA group and 18:1 and 18:2 (linoleic acid) were high in same group as compared to DMBA+Trolox in liver tissues. The level of 20:4, 22:6 and total PUFA fatty acids were reduced in the DMBA group as compared to DMBA+Trolox in muscle tissues.

In conclusion, the protective effect of intraperitoneally administrated trolox on the polyunsaturated fatty acids (PUFAs) of brain, liver and muscle tissues was observed.

Key Word: Trolox, Hydroquinone, 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene, Free Radical, Antioxidant, Lipid peroxidation, Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA), Rat

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, yürütülmesinde ve çalıőmalarım süresince destek ve ilgisini esirgemeyen bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım Sayın Hocam Doç. Dr. Sait ÇELİK'e sonsuz saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Mustafa GÜNDÜZ



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	II
SUMMARY	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
KISALTMALARIN LİSTESİ	IX
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	6
2.1.1.Süperoksit Radikali (O_2^{\bullet})	6
2.1.2.Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	7
2.1.3.Hidroksil Radikali (OH^{\bullet})	8
2.1.4.Singlet Oksijen (1O_2)	8
2.2.Serbest Radikallerin Oluşumu	9
2.3.Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları	9
2.4.Serbest Radikallerin Reaksiyonları ve Etkileri	11
2.4.1.Oksijen Radikallerinin Biyolojik Sistemdeki Etkileri	13
2.4.1.1.Membran Lipitlerine Etkileri	13
2.4.1.2.Proteinlere Etkileri	16
2.4.1.3.Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri	16
2.4.1.4.Karbonhidratlara Etkileri	17
2.4.1.5.Ekstrasellüler Boşluk	17
2.4.1.6.Mitokondri	17
2.4.1.7.Çekirdek	18
2.4.1.8.Sitozol	18
2.5.Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Etkileyen Koşullar	19
2.6.Serbest Radikallerin Hücre ve Dokularda Yol Açtığı Zararlar	19
2.6.1.Serbest Radikallerin Etkili Olduğu Patolojik Durumlar	20
2.6.1.1.Serbest Radikallerin Kanserdeki Rolü	21

2.6.1.2.DMBA (7,12-Dimetil Benz [a] Antrasen)	22
2.6.1.3.Serbest Radikallerin Ateroskleroz Oluşumundaki Rolü	22
2.7.Organizmanın Antioksidan Savunma Mekanizmaları	23
2.7.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)	25
2.7.2.Katalaz (CAT)	26
2.7.3.Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	27
2.7.4.Glutatyon Redüktaz (GSH-RED)	29
2.7.5.Glutatyon (GSH)	29
2.7.6.Vitamin E (Tokoferoller)	30
2.7.7.Vitamin C (Askorbik Asit)	32
2.7.8.Vitamin A (Karotenler)	33
2.8.Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-Tetramethylchroman-2-Carboxylic Acid)	34
2.9.Hidrokinon	39
3.MATERYAL VE METOD	43
3.1.Kullanılan Maddeler ve Organik Çözücüler	43
3.2.Kullanılan Alet ve Cihazlar	43
3.3.İnceleme Materyali	43
3.4.Materyal	43
3.4.1.Rat Yeminin Bileşimi	44
3.5.Metot	44
3.5.1.Metil Esterlerinin Hazırlanması	45
4.SONUÇLAR VE TARTIŞMA	46
5.KAYNAKLAR	52

TABLOLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri ve ortalama yarı ömürleri	8
Tablo 2.2. Serbest radikal kaynakları	11
Tablo 2.3. Serbest oksijen radikallerinin yol açtığı doku hasarı	19
Tablo 2.4. Organizmada serbest radikal reaksiyonlarını artıran faktörler	19
Tablo 2.5. Kanser oluşumuna neden olabilen bazı ekzojen oksidatif stres nedenleri	22
Tablo 2.6. Enzimatik antioksidanlar	24
Tablo 3.1. Rat yeminin bileşimi	44
Tablo 4.1. Beyin dokusu yağ asidi seviyeleri (%)	47
Tablo 4.2. Karaciğer dokusu yağ asidi seviyeleri (%)	48
Tablo 4.3. Kas dokusu yağ asidi seviyeleri (%)	49

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.(a) Oksijen moleküllerinin orbital yapısı	
(b)Oksijen moleküllerinden türeyen oksidan moleküller	4
Şekil 2.2.Oksijen molekülünün suya indirgenmesi esnasında serbest	
radikallerin oluşumu	6
Şekil 2.3.Oksidatif stres sonucu oluşan doku hasarı	18
Şekil 2.4. Dimethyl benz [a] antrasen	22
Şekil 2.5.İndirgenmiş ve yükseltgenmiş glutatyon oluşumu	28
Şekil 2.6. (a) γ -Glutamilsisteinglisin (b) Glutatyon disülfid	30
Şekil 2.7.Trolox	34
Şekil 2.8. Trolox ve Vitamin E (α -tokoferol)	35
Şekil 2.9.Trolox ve Vitamin E'nin serbest radikallerle etkileşimi	39
Şekil 2.10. Hidrokinon	40
Şekil 2.11. (a)(b) ETZ'de bulunan benzokinin, semikinin ve	
hidrokinon molekülleri arasındaki elektron alış-verişi	42

KISALTMALARIN LİSTESİ

16:0	: Palmitik Asit
18:0	: Stearik Asit
18:1	: Oleik Asit (Cis Δ^9)
18:2	: Linoleik Asit (Cis $\Delta^{9,12}$)
18:3	: Linolenik Asit (Cis $\Delta^{9,12,15}$)
20:4	: Araşidonik Asit (Cis $\Delta^{5,8,11,14}$)
22:6	: Dokosahegzaenoik Asit (Cis $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$)
$^1\text{O}_2$: Singlet Oksijen
AOP	: Antioksidan güç (Antioxidant Power)
ATP	: Adenozintrifosfat
CAT	: Katalaz
DMBA	: 7,12-Dimetilbenz [a] antrasen
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
FAD	: Flavinamid Adenindinükleotid
FRAP	: Ferric Reducing Ability
GLA	: γ -linolenik asit
GSH	: İndirgenmiş Glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz
GSH-RED	: Glutatyon Redüktaz
GSSG	: Glutatyon disülfid
H_2O_2	: Hidrojen Peroksit
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HO_2^\bullet	: Hidroperoksil Radikali
IgG	: İmmünoglobulin G
L^\bullet	: Lipid Radikal
LDL	: Düşük dansiteli lipoprootein
LOOH	: Lipid Hidroperoksit
NAD	: Nikotinamid Adenindinükleotid
NO^\bullet	: Nitrik Oksit
$\text{O}_2^{\bullet-}$: Süperoksit Radikali

OFR	: Serbest Oksijen Radikali (Oxygen Free Radical)
OH [•]	: Hidroksil Radikali
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity
PDT	: Fotodinamik terapi (Photodynamic Therapy)
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi (Polyunsaturated Fatty Acid)
Q [•]	: Semikinon
R [•]	: Serbest Radikal
RNA	: Ribonükleik Asit
RO [•]	: Alkoksil radikali
ROO [•]	: Peroksit Radikali
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TEAC	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

1.GİRİŞ

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içerirler (Maestro, 1980). Hem organik hem de anorganik moleküller halinde bulunurlar. Serbest radikaller hücredeki doymamış yağ asitlerini, DNA moleküllerini ve protein moleküllerindeki sülfhidril bağlarıyla reaksiyona girerek hücre ve dokulara zarar verirler (Machlin and Bendich, 1987). Radikallerin aktif olma özelliği difüzyon mesafesiyle ilişkilidir. Hidroksil radikali son derece yüksek aktifliğe sahip olduğundan meydana geldiği hücre bölümünden daha uzağa difüzyona gerek kalmadan derhal oluştuğu yerde reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise mitokondrial membranlar ve plazma membranlarından kolayca diffüze edilerek toksik etkisini açığa çıktığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde gösterebilir (Yu, 1994; Dormandy, 1980). Serbest radikaller hücrenin tüm fonksiyonlarında oluşabilme özelliğindedir. Radikal oluşumu hücre tiplerine göre değişiklik göstermesine rağmen tüm aerobik hücrelerde belirli düzeylerde radikal oluşmaktadır (Nohn ve diğ.,1981). Bunun dışında organik maddelerin havada çürümesi, plastiklerin işlenmesi, ısı, ağır egzersiz, inflamasyon, radyasyon, hava kirliliği, sigara, pestisitler, kanserojen maddeler ve ilaç kullanma gibi etkiler de serbest radikal oluşumunu başlatabilir (Dergel, 1992).

Vücudumuzu oluşturan her hücrede serbest radikallere karşı, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-RED) vb. gibi enzimlerden oluşan savunma mekanizmaları vardır. Bunun yanında A, E, C ve lipoik asit gibi antioksidan vitaminlerden oluşan yardımcı savunma mekanizmaları bulunur. Fakat bu savunma mekanizmaları kirli hava, sigara, radyasyon gibi faktörlerle beraber dış ve iç faktörlerin yanında yetersiz kalmakta ve bunun sonucunda oluşan serbest radikaller kanser, diyabet, ateroskleroz, akciğer rahatsızlıkları, kas ve göz hastalıkları ve daha birçok organda dejeneratif rahatsızlıklar oluşturabilmektedir.

Genel olarak oksidan türlerin oluşturduğu oksidatif hasar, oksidan-antioksidan dengesinin peroksidasyon yönünde değişmesiyle meydana gelir (Dergel, 1992).

Vitamin E analogu olan Trolox bugün antioksidanlarla ilgili çalışmalarda standart olarak kullanılmaktadır. Güçlü bir antioksidan özellik gösterir ve hücreyi korur. Lipit peroksidasyonunu önler. Elektron transportu zincirinde görev alan hidrokinonda

ATP üretiminde görev alır ve mitokondrial zarlardan elektron kaçağını önler. Ayrıca gıda maddelerine antioksidan olarak eklenmektedir. Bunun yanında plastik sanayiinde ve fotoğrafçılıkta kullanılır.



2.GENEL BİLGİLER

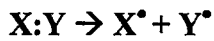
Atom yapısı, bir çekirdek ve çevresinde bulunan değişik sayıda elektronlardan oluşmaktadır. Enerji düzeylerine göre belirli bir düzeyde yerleşen elektronlar, orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedirler. Her orbitalde yerleşik iki elektron, birbirine zıt yönde kendi eksenini etrafında dönmektedir. Buna uygun olarak her bir orbitale bir tane aynı yönde dönen elektron yerleşmekte ve atom numarasına göre sayıları artan aynı sıra ile ters yönde dönecek şekilde orbitale yerleşmektedir.

Oksijen atomunun atom numarası 8, elektron sayısını vermektedir. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p orbitali önem taşımaktadır. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron bir orbitalden diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde farklı yönde döndüğünde singlet oksijen oluşmaktadır. Orbitallerden birine veya ikisine ters dönüşlü iki elektron yerleştirilmesi ile radikal elde edilmektedir (Onat ve Emerk, 1997). Doğal oksijen molekülündeki değişik sayıda oksidan molekülü meydana gelmektedir (Şekil 2.1.a, b).

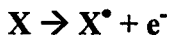
Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Bu moleküller organizmada normal metabolik yolun işleyişi sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkilerin etkisiyle de oluşmaktadır. Bunları ekzojen ve endojen faktörler olarak ikiye ayırıyoruz. Ancak bu faktörler genellikle birlikte etkilidir.

Serbest radikal, oksidan molekül veya en doğru adlandırma ile reaktif oksijen partikülleri, atomik veya moleküler yapılarında eşlenmemiş tek elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir. Bunlar organik veya anorganik yapılabilmektedirler. Stabil olmayıp sisteme yoğun bir kararsızlık veren yük dengesizliklerini giderebilmek için yani elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengeleyebilmek için oldukça aktif bir yapı özelliği gösterirler. Serbest radikaller başlıca üç şekilde oluşabilmektedir.

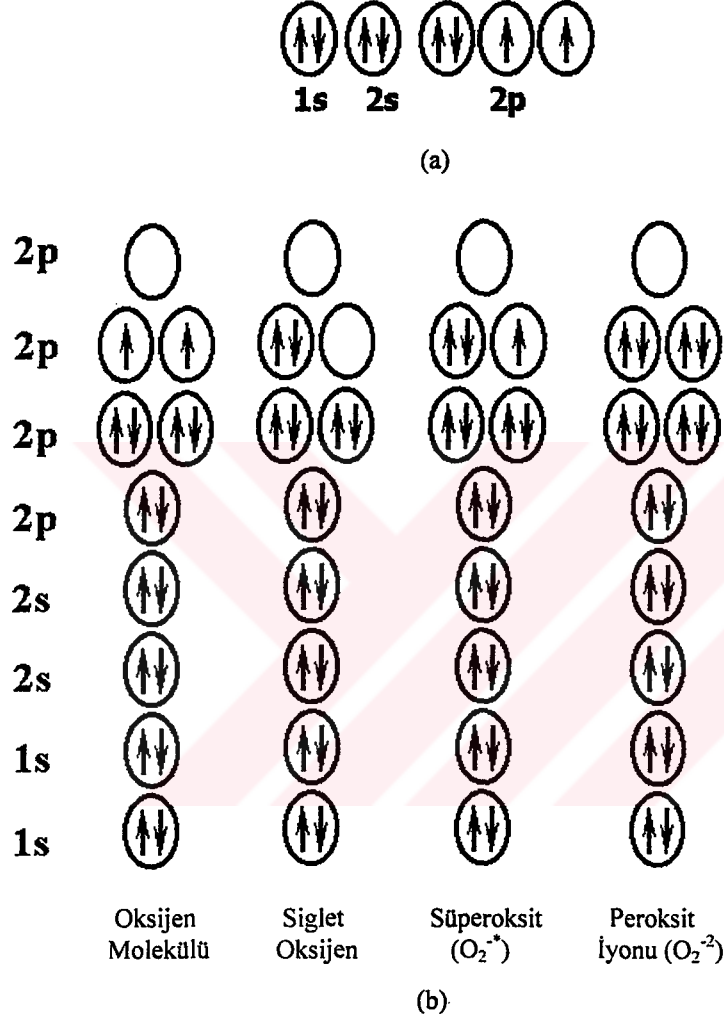
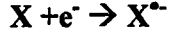
1.Bir molekülü oluşturan kovalent bağın kopması sonucu eşlenmemiş elektronlardan her birinin ayrı parçaya kalması ile meydana gelmektedir.



2.Bir molekülün elektron kaybetmesi sonucu oluşabilmektedir.



3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile elde edilebilmektedir.



Şekil 2.1.(a) Oksijen atomunun orbital yapısı, (b) Oksijen moleküllerinden türeyen oksidan molekülleri

Negatif yüklü elektron sayısının çekirdekdeki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküller oldukları için dayanıklı olmayan serbest radikaller, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengelemeleri gerektiğinden çok reaktiftirler. Tek elektronunu bir başka moleküle verebilen bu radikaller, bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti, oluşturabilmektedirler. Sonuçta radikal olmayan bir yapı, radikal şekline dönüşebilmektedir

Serbest radikaller, çeşitli patolojik durumların ortaya çıkmasında rol oynarlar. Bunlar; inflamasyon, karsinogenez, miyokard reperfüzyon hasarı, şok, ateroskleroz, diyabet, kas hastalıkları, akciğer hastalıkları, karaciğer hasarı, beyin hasarı, böbrek hastalıkları, yaşlanma ve prematüre doğumdur.

Hücrede ve ekstrasellüler sıvıda sitotoksik oksijen radikallerini zararsız duruma getirmeye çalışan savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmaların başlıcaları şunlardır;

1. Reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-RED) enzimleri,

2. Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler Vitamin A, E, C örnek verilebilir.

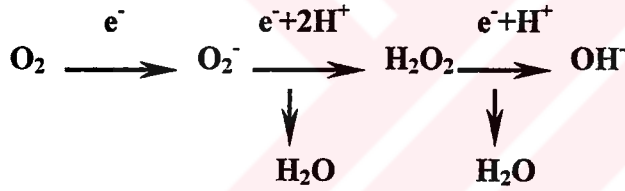
Ayrıca indirgenmiş glutatyon (GSH), ürik asit, β -karoten (provitamin-A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albüminde bu gruba dahil edilebilir.

Antioksidan vitaminler olan β -karoten, E vitamini ve C vitamini bazı metabolik olaylar sonucu oluşan oksijen moleküllerinin aktivasyonunu engeller ve serbest radikallerin dokulara vereceği zararı önleyerek kanser riskini azaltır.

sırasında oksidoredüksiyon olaylarının ürünleri olan serbest oksijen radikallerinin oluşması biyolojik bir bozukluk olarak değerlendirilmemelidir. Serbest radikaller diğer moleküllerle birleşerek dış yörüngelerindeki elektron sayısını çiftleştirmeye ve böylece kararlı bileşiklere dönüşmeye çalışırlar. Ancak hiperoksi, inflamasyon, iskemi, radyasyon, antibiyotik tedavisi gibi bazı hücre metabolizmasını etkileyen durumlarda büyük oranda üretilen serbest oksijen radikalleri membranlar, enzimler, nükleik asitler ve polisakkaritler üzerinde toksik etki yaparak çeşitli doku hasarlarına neden olmaktadır.

2.1.Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları sonucu sonuncusu meydana gelir (Şekil 2.2).

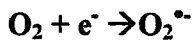


Şekil 2.2. Oksijen molekülünün suya indirgenmesi esnasında serbest radikallerin oluşumu

Metabolik olayların sıralanımında oksijen toplam dört elektron kabul edebilir. Oksijene bir elektron eklenmesi süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi su oluşumuna neden olur. (Şekil 2.2).

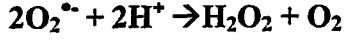
2.1.1.Süperoksit Radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksit radikal anyonu meydana gelir.



Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak asıl zarardan sorumlu değildir. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasından kaynaklanır.

İki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri oksitlenirken diğeri ise indirgenir ve böylece H_2O_2 ve O_2 meydana gelir.



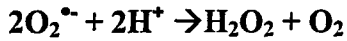
Süperoksit radikallerinin ortamdan temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu spontan olabileceği gibi, süperoksit dismutaz enzimi vasıtasıyla da katalize edilebilir.

2.1.2.Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen molekülüyle birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir. Hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır.



Ancak biyolojik sistemlerde Hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



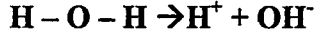
Hidrojen peroksit serbest bir radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz cereyan eder.

2.1.3.Hidroksil Radikali (OH[•])

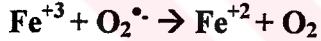
Hidroksil radikali, hidrojen peroksidin geçiş metalleri varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu ile) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur.



Oksijen radikalleri arasında en reaktif olanı, bu nedenle de en toksik etkili olanı hidroksil radikalidir. OH[•] radikali üretildiği yerde hemen her molekülle tepkimeye girebilir ve radikal tepkimelerini başlatabilir. Yarılanma ömürleri çok kısadır. Haber-Weiss tepkimesi ile hidrojen peroksit ve oksijen radikallerinin tepkimesi sonucu bu radikal oluşmaktadır.



Metaloprotein varlığında ise aynı tepkime geçiş metalleri aracılığıyla gerçekleşir ve Fenton tepkimesi olarak adlandırılır.



2.1.4.Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen (¹O₂), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur.

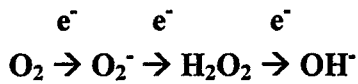
Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri ve ortalama yarı ömürleri

Molekül formülü	Molekülün adı	Yarı ömrü (saniye)
OH [•]	Hidroksil radikali	Lexp-9
RO [•]	Alkoksil radikali	Lexp-6
ROO [•]	Peroksit radikali	7
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit	Enzimatik
O ₂ ^{•-}	Süperoksit anyonu	Enzimatik
¹ O ₂	Singlet oksijeni	Lexp-6
Q [•]	Semikinon	Günler
NO [•]	Nitrik oksit	1-10
ONOO [•]	Peroksinitrit	0.05-1

2.2. Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikaller yapılarında bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden moleküllerdir. Bunlar normal veya patolojik metabolizma sonucu oluşur. Özelliklerinden bir tanesi de kısa ömürlü olmalarıdır. Bir diğeri ise, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek yeni radikaller oluşturmaları ve zincir reaksiyon başlatabilmeleridir.

Elektron alabilen moleküller, örneğin moleküler oksijen radikallerle kolaylıkla reaksiyona girer ve OFR (oksijen serbest radikalleri) oluştururlar. Bu da moleküler oksijenin bulunduğu ortamda OFR hücrel serbest radikal reaksiyonlarının primer başlatıcısı olduğunun izahıdır.



Birinci e^- süperoksit radikalini oluşturur ki bu da % 1-2 oranındadır. Süperoksit radikalinin reaktivitesi ve toksisitesi az olmasına karşın hücrede ikinci haberci olarak fonksiyonu olduğu gösterilmiştir. Süperoksit dismutasyonu sonucu hidrojen peroksit oluşur. Bu reaksiyon spontan ve süperoksit dismutaz katalizörlüğünde gerçekleşir. Hidrojen peroksit fenton fazlar reaksiyonuna katılır. Cu^+ veya Fe^{++} gibi metal iyonlarıyla hidroksil radikali oluşturur ki radikaller arasında en toksik olanıdır.

Bunlardan başka hücrede oksidatif hasar yapabilen organik radikallerde vardır. Metal iyonlarının mevcudiyetinde oksidanlar lipit peroksidasyonu başlatır ki bunun sonucunda çeşitli mutajenler ve kanserojenler oluşur. Sindirim sistemi de lipitlerden türeyen bu karsinom genlerin etkisi altındadır. Yağ asidi hidroperoksitleri, kolesterol ve yağ asidi epoksitleri, kolesterol hidroperoksitleri, endoperoksitler, enol ve diğer aldehit türevleri, alkoksil, hidroperoksit radikalleri reaktif oksijen bileşikleri bunların arasında sayılabilir.

2.3. Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları

Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı oksijendir. Normal metabolizma da moleküler oksijenin % 98 'i oksidaz yoluyla suya indirgenirken kalanı oksigenez yoluyla potansiyel olarak toksik reaktif türlere dönüşür.

Oksijenin bir elektron alarak redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olan, orbitalinde çiftleşmemiş elektron

çifti içeren süperoksit anyon radikali açığa çıkar. Sitoplazmadaki oksijenin başlıca kaynağı endoplazmik retikulumdaki sitokrom P450 sistemidir. Çok toksik etkili olmayan süperoksit radikali asıl etkisini daha güçlü oksijen metabolitlerinin açığa çıkmasına yol açarak gösterir.

Hidrojen peroksit ise serbest radikal değildir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda güçlü oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına yol açarak toksik etki gösterebilir.

Oksijenin protonlanmasıyla da hidroperoksil (HO_2^\bullet) radikali oluşur. Bu radikalın herhangi bir biyolojik sistemde sitotoksik etkisi kanıtlanmamasına rağmen biyolojik membranları kolayca geçebilmesi ve yağ asitleriyle direkt etkileşime girebilmesi yönünden önemlidir.

Diğer bir fizyolojik serbest radikal nitrik oksittir (NO^\bullet). Kan basıncını düzenleme ve hücreler arası sinyal oluşumu gibi yararlı fonksiyonlarının yanı sıra fazla NO^\bullet toksik etkili olabilir. NO^\bullet septik şok oluşumunda önemli bir doku hasar mekanizmasıdır.

Hücrede zara bağlı veya serbest olarak bulunan değişik enzimlerin etkisi ile de serbest radikaller oluşmaktadır. Bu oluşum;

- a. Mitokondrideki ETS zinciri reaksiyonlarını,
- b. Endoplazmik retikulumdaki karma fonksiyonlu oksidaz sistemini,
- c. Ksantin oksidaz, dopamin B-hidroksilaz, D-amino asit oksidaz gibi enzimlerin etkinliğini,
- d. Hücre zincirine bağlı NADPH oksidaz, prostaglandin sentez ve lipoksigenazların etkinliğini,
- e. Peroksizomlarda ve lizozomlardaki metabolik olayları kapsamaktadır.

İzole edilmiş mitokondrilerde yapılan çalışmalarda organizmanın temel radikal kaynağının iç membranlarda yerleşen solunum zinciri olduğu anlaşılmıştır. Normal süperoksit ve hidrojen peroksit yapımı mitokondrial oksijen sarfının yaklaşık % 1-2 kadarını oluşturmaktadır.

Peroksizomlar hidrojen peroksidin hücredeki en önemli kaynağıdır. Peroksizomlarda bulunan D-amino asit oksidaz 1- α -hidroksi asit oksidaz enzimleri hidrojen peroksit açığa çıkarıcı özelliğe sahiptirler.

Çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamda oksidoredüksiyon reaksiyonlarına girebilen hücre bileşenlerinin çoğu serbest radikalleri açığa çıkarır.

Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahidroproteinler bu gruba dahildirler.

Tabii kaynaklar dışında serbest radikaller, endüstriyel işlemler sırasında da oluşmaktadır. Organik maddelerin havada çürümesi, plastiklerin işlenmesi, boyaların kuruması sırasında serbest radikaller oluşmaktadır. Ayrıca ısı, ağır egzersiz, radyasyon, hava kirliliği, sigara, pestisitler, karsinojenler, asbestos, fenobarbitat, bazı kanser ilaçları, diyet yağlar gibi birçok faktör radikal oluşumunu başlatabilir.

Tablo 2.2. Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik kaynaklar	Hücre içi kaynaklar
Aktive olmuş fagositler	Küçük moleküllerin otooksidasyonu
Kemoterapötik ilaçlar	Enzim ve proteinler
Radyasyon	Mitokondriyel elektron transportu
Alkol ve uyuşturucu maddeler	Endoplazmik retikulum ve nükleer membran
Çevresel ajanlar	elektron transport sistemleri (sitokrom p-450)
Stres (Katekolamin düzeyini artırır)	Peroksizomlar
	Plazma membranı
	Oksidatif stres oluşturan durumlar

2.4.Serbest Radikallerin Reaksiyonları ve Etkileri

İki serbest radikal karşılaştığında eşleşmemiş elektronları birleştirerek bir kovalent bağ oluşturur. Bu şekilde süperoksit ve nitrikoksit çok hızlı reaksiyona girer.



Fizyolojik pH'da peroksinitril direkt olarak proteinlerde hasar oluşturur ve nitronyum iyonu, nitrojen dioksit gazı, ve hidrojen peroksit gibi toksik etkili bileşiklere parçalanır. Bu şekilde fazla nitrik oksitin toksisitesi oksijen ile etkileşimine bağlıdır.

Bir radikalin radikal olmayan başka bir madde ile reaksiyona girmesine serbest radikal zincir reaksiyonu denir ve yeni radikaller oluşur.

Serbest radikal zincir reaksiyonları atom transferini içerir. Yağ asitleri ve aromatik halkalarda olduğu gibi doymamış bağlara radikal eklenmesi de hücre içinde gerçekleşen diğer bir radikal reaksiyonudur.

Çeşitli patolojik durumlarda normalden fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşmasıyla veya organizmanın antioksidan sisteminin yetersiz kalmasıyla artan serbest radikaller, hücrenin çeşitli bileşenleri ve hücre dışı makromoleküller ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar. Oksijen radikallerinden etkilenebilecek başlıca vücut kimyasal maddeleri arasında proteinler, nörotransmitterler,

nükleik asitler, DNA ve hücre membranlarının başlıca bileşenleri olan yağ asitleri bulunmaktadır.

Serbest radikallerin proteinleri etkileme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein hücre lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişir. Sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere duyarlılığı daha fazladır. Sistin, histidin, methionin, triptofan ve tirozin içeren proteinler oksidanlara karşı en duyarlı olanlardır. Serbest radikaller amino asitlerin oksidasyonu yanında peptit bağlarının hidrolizine, disülfid bağlarının oluşumuna ve çapraz bağlanmalara yol açabilirler.

Enzimler fonksiyon kaybına uğrayabilirler. Ca-ATPaz ve Na-K-ATPaz enzimlerinin tiyol gruplarının oksidasyonu aktive kaybına neden olur. Hücre içi ve dışı iyon dağılımı bozular. Serbest radikaller glutamin sentetaz, pirüvat kinaz, kreatin kinaz, LDH (düşük dansiteli lipoprotein) gibi enzimlerde de aktivite kaybı ve buna bağlı metabolik fonksiyonel bozukluklara yol açarlar.

Serbest radikaller α -1-antitripsin ve α -2-makroglobin gibi hücre dışı proteinlerde de aktivite kaybı sonucu doku hasarına yol açarlar. Serbest radikallerin oluşturduğu harabiyetten en çok etkilenen hücre dışı doku bileşenleri kollagen hyaluronik asittir. Kollagen, süperoksit radikalının jelasyonu engellemesi sonucu tahrip olur.

Nötrofiller ve diğer aktivite olmuş fagositik hücreler bakterileri öldürmek üzere oksijen radikalleri üretirler. Bu radikaller enfeksiyona bağlı doku hasarında rol oynarlar. Nötrofilleri enfeksiyon veya doku hasarı olan bölgeye yönlendirilen kemotaktik madde üretmek için plazma faktörüyle reaksiyona giren serbest radikaller akut inflamatuvar cevabın oluşumunda etkilidirler.

Serbest radikallerin hücre çekirdeğinde ve DNA' da etkileri genotoksik ve mutajenik değişikliklere yol açar. DNA' ya yakın bir yerde hidroksil radikali oluşumu pürin ve primidinlerin modifikasyonuna veya DNA ipliklerinin kırılmasına neden olur. Serbest radikaller DNA polimerazı inhibe ederler. Oksijen radikallerinin kansere primer etkisinin tümörün ilerleyici basamağında olduğu, başlangıç ve ilerleme basamağında etkinin kısmen daha az olduğu bildirilmiştir. Oksijen ve hidrojen peroksit, DNA ve kromozom kırılmasını onkogen aktivasyonuna sebep oldukları için karsinogenezde önemlidir.

T-lenfositleri genelde serbest radikal saldırısına karşı daha hassastırlar. İn vitro deneylerde serbest oksijen radikallerinin, T-supressör hücreleri için, T-helper hücrelerine göre daha sitotoksik oldukları gösterilmiştir. Bu bulgular serbest radikal reaksiyonlarının, immün supressör hücrelerinin otoimmün reaksiyonları kontrol etmelerini engelleyebilecekleri tarzındaki görüşü desteklemektedir.

Hidroksil radikalleri ters bağlanma yolu ile siklooksigenaz enzimini inhibe ederek prostaglandin oluşum zincirini bozarlar.

Stres ülseri, etanol, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlara bağlı mide mukoza hasarının oluşumundaki faktörlerden biri serbest oksijen radikalleridir.

Serbest radikaller potansiyel sitotoksik mekanizma ile ilişkilidirler. Serbest radikallerin kan damarlarında kasıcı etkisi vardır.

Oksijen kaynaklı serbest radikaller egzersiz metabolizmasına bağlı olarak da artış gösterebilirler. Egzersizler süre ve şiddetlerine göre metabolik hızı artırarak serbest radikal oluşum hızını savunma mekanizmalarının kapasitelerini aşan oranlarda artırabilirler. Serbest radikal oluşum hızı, dokuların oksijen kullanımı ile paraleldir. Egzersizin ubisemikinon ve süperoksit dolanımını hızlandırarak süperoksit seviyesinde artışa yol açtığı bilinmektedir.

2.4.1.Oksijen Radikallerinin Biyolojik Sistemdeki Etkileri

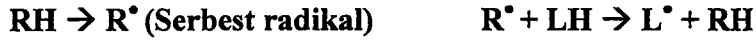
Serbest radikallerin etkileri sonucu aşağıdaki hücre bölümlerinde değişik hasarlar ortaya çıkmaktadır.

2.4.1.1.Membran Lipitlerine Etkileri (Lipit Peroksidasyonu)

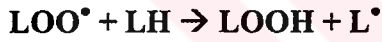
Lipit peroksidasyonu, membranlarda bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlarının, serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri olan peroksitler, alkoller, aldehitler, yağ asitleri etan ve pentan gibi ürünlere yıkılmasıdır. Lipit peroksidasyonu, başlangıç, ilerleme ve bitiş reaksiyonlarını kapsamaktadır.

a.Başlama : Peroksidasyon serbest radikallerin poliansatüre yağ asitlerinin yan zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Demir ve bakır gibi eşleşmemiş elektronlara sahip olan geçiş metal iyonlarının varlığı peroksidasyonun başlaması için gereklidir.

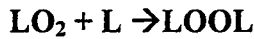
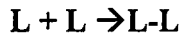
Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, yağ asit zincirinin radikal haline dönüşmesine neden olmaktadır. Oluşan bu lipit radikal (L^{\bullet}) dayanıksız bir bileşik olup molekül içi çift bağ aktarılması sonucunda dien konjugatlarına dönüşmektedir. Daha sonra moleküller oksijenin katılması ile lipit peroksit (LOO^{\bullet}) radikali oluşmaktadır.



b.Yayılmaması : Bu peroksi radikali diğer bir peroksi radikaliyle birleşebilir ya da membran proteinleriyle etkileşebilir. Fakat en önemlisi, peroksi radikallerinin membrandaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece yan zincirlerden hidrojen atomunun çıkarılmasıyla her defasında lipit hidroperoksitleri ($LOOH$) ve yeni bir lipit radikali oluşmaktadır. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asit zinciri lipit hidroperoksitlerine çevrilmektedir.



c.Sonlanması : Lipit peroksidasyonu lipit hidroperoksitlerin etan, pentan gibi hidrokarbon gazları, ROH , $ROOH$, $RCHO$ ve $RCOOH$ gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitlerine dönüşmesiyle sona ermektedir.



Lipit peroksidasyonu ya toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam eder.

Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine enzimatik lipit peroksidasyonu denir. Diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna da nonenzimatik lipit peroksidasyonu denir. Lipit peroksitleri ve lipit peroksi radikalleri serbest oksijen radikalleri gibi hücrenin birçok komponenti ile reaksiyona girerek membran permeabilitesini ve mikrovizkositesini etkilemekte, hücrel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkiler göstermektedirler.

Peroksidasyon sonucu oluşan yağ asidi hidroperoksitlerinin başka bir toksik etkisi de araşidonik asit metabolizmasında görülmektedir. Lipooksijenaz ve

siklooksijenaz gibi mikrozomal ve plazma membranlarıyla ilişkili enzimlerin substradı olan araşidonik asit, prostaglandin, prostasiklin, tromboksan, lokotrien, gibi biyolojik olarak aktif ürünlere çevrilmektedir. Prostaglandin ve lokotrienlerin biyosentezinde ara bileşikler olarak ortaya çıkan hidroperoksitler , prostasiklin ve tromboksan sentezinden sorumlu sentez enzimlerini, farklı feed-back mekanizmalarla inhibe etmektedirler. Yüksek lipit peroksit seviyeli, prostasiklin sentezini güçlü şekilde inhibe edeceğinden araşidonik asit metabolizması tromboksan sentezine doğru yeniden düzenlenecektir. Böylece nötrofil sitimülasyonu, süperoksit anyon üretimi ve trombositlerin agregasyonu düzenlenebilmektedir.

Peroksidasyonda oluşan malondialdehit membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi bileşenlerinin agresyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, malondialdehidin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar.

Memeli hücre membranları peroksidatif hasara karşı çok duyarlı olan büyük miktarda çok doymamış yağ asidi (PUFA) içermektedir. Bu yağ asitlerinin peroksidasyonu en çok araştırılan radikal tepkimeleri arasında yer almaktadır.



Yağ asidi ile birleşen radikal, yukarıdaki tepkimeler dizisini başlatmaktadır (1). Radikal yağ asidinin oksijen ile birleşmesi sonucu lipit peroksit radikal (LOO^{\bullet}) oluşmaktadır (2). Lipit peroksit radikalleri, başka bir yağ asidinin yan zincirleri ile tepkimeye girerek lipit hiperoksitleri meydana getirmektedir (3). Metal iyonları varlığında bu peroksit ürünleri bazı enzimatik tepkimeler ile etan, pentan, malondialdehit benzeri yıkım ürünlerinin yanı sıra kelimunesans ve flüoresans veren bileşikler oluşturmaktadırlar (4). Lipit peroksidasyonu ve kükürt içeren proteinlerin oksidasyonu sonucu membran geçirgenliği ve kırılabilirliğinin artmasına bağlı olarak membran enzimlerinin aktivitesi azalmakta ve hücreye Ca^{+2} girişi artmaktadır. Hücre içi serbest Ca^{+2} miktarının artması, fosfolipaz aktivitesi ile fosfolipid kaybında artış, membran geçirgenliğinde değişik ve potansiyel kaybına bağlı toksik etkinin çoğalması,

proteaz aktivasyonu ile proteolitik etkinin şiddetlenmesi, katabolik enzimlerin aktivitesinde artışa ve endonükleaz aktivitesi ile DNA kırılmalarının oluşumu gibi pek çok hasar yapıcı olayı başlatmaktadır.

2.4.1.2. Proteinlere Etkileri

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenmeleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, methionin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Bu reaksiyonlar sonucu proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Proteinlerde kırılmalar, çapraz bağlanmalar ve agregasyonlar oluşabilir. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Nitekim serum proteinlerinde kataraktlı lens proteinlerinde ve inflamatuvar eklem hastalığı olan kişilerin sınırlarındaki IgG' lerinde serbest radikal hasarı tespit edilmiştir.

Hem-proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin oksijen veya su ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur.

2.4.1.3. Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Serbest radikal etkisi ile DNA zincirinde kopmalar, bazlarda ve deoksiribozlarda hasar oluşur. Sonuçta mutajenaz, karsinojenaz, kromozomal değişimle, hücre büyümesi ve farklılaşmasında değişiklikler görülür.

Serbest radikal etkisi sonucu DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkogenlerde aktivasyon meydana gelir. Süperoksit üretimi özellikle mitokondride fazla olduğundan mitokondrial DNA daha fazla zarar görür. DNA yakınlarında sentezlenen hidroksil radikalleri pürin ve pirimidin bazlarına saldırarak mutasyona sebep olur. Oksidatif stresten en çok etkilenen bazlar, DNA'daki guanin ve sitozindir. Deoksiguanozindeki 8 nolu karbona bir oksijen atomunun bağlanması ile 8-hidroksiguanozin oluşur. Bu bileşik fizyolojik pH'da 8-oxoguanozin'e dönüşür ki, bu da DNA'da anormal baz

dizilişine ve böylece mutasyona neden olur. Aynı şekilde oksidatif şartlarda deoksisitozinden 5-hidroksisitozin meydana gelir (Gold and Slone, 1992).

2.4.1.4.Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir.

Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. Poliansatüre yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glioksalın hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir.

Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkariti olan hyaluronik asit, sinoviyal sıvıda da bol bulunur. İnflamatuvar eklem hastalıklarında sinoviyal sıvıya çok sayıda polimorf hücreler geçerler ve muhtemelen immün komplekslerle aktivasyonu sonucu ekstrasellüler sıvıya su ve oksijen salgırlar. Bu radikallerin etkilediği moleküller içinde hyaluronik asitte vardır.Hyaluronik asidin oksidatif hasarı da katarakt oluşumuna katkıda bulunur.

2.4.1.5.Ekstrasellüler Boşluk

Oksidatif indirgenme, depolimerizasyon tepkimeleri olarak tanımlanan bir dizi tepkime ile reaktif oksijen metabolitleri hyaluronik asit ve kollojenin yıkımı, yaşayan dokuların yapısal özellikleri ile membran geçirgenliklerini belirgin olarak değiştirmektedir.

2.4.1.6.Mitokondri

Normal koşullarda mitokondri, sitokrom oksidaz sistemi ile oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Elektron transport sisteminde yer alan pek çok bileşik, (NAD, FAD, Koenzim Q gibi) oksijen ile tepkimeye girerek tek değerli oksijen kaçağı adı verilen $O_2^{\cdot-}$ salınımına neden olmaktadır. Normal koşullarda hücrenin savunma sistemleri ile yok edilebilen bu kaçağa neden olan faktörler bilinmemektedir. Ancak oksidan stres durumunda savunma sistemleri yetersiz kalmakta ve mitokondride hasar oluşmaktadır. Bu hasar sonucu hücrenin enerji sisteminin etkilenmesine bağlı olarak ATP kullanımında artma ve ATP sentezindeki azalma ile bağlantılı olarak

hücredeki ATP düzeyi hızla düşmektedir. ATP sentezi iki -SH grubunu kaybeden gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaza NAD bağlanamadığı için engellenmektedir. Ayrıca ATP sentetaz aktivitesinin inhibe olması ile ATP üretimi azalmaktadır

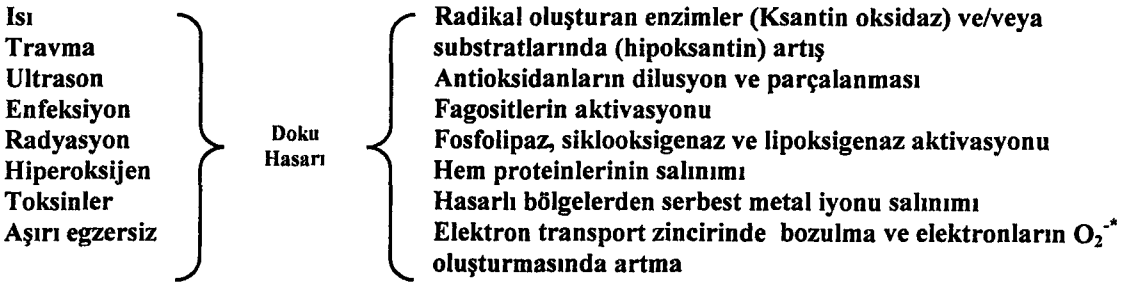
2.4.1.7.Çekirdek

Herhangi bir yolla meydana gelen serbest radikaller ve özellikle malondialdehit, hücre çekirdeğine başlıca DNA ile tepkimeye girmektedir. Nükleik asit yapısındaki baz değişimleri veya DNA zincir kopması sonucu kromozomal yapıda değişiklikler oluşturarak sitotoksositeye neden olmaktadır. Sonuçta mutajenik ve karsinojenik etkiler gözlenmektedir.

2.4.1.8.Sitozol

Sitoplazmada bulunan proteinlerin çoğu ile oksihemoglobin, katalaz gibi hemoproteinler serbest radikallere karşı özellikle duyarlıdırlar. Antioksidan bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) katalitik aktivitesi için gerekli olan histidin kalıntısı, radikaller ile bloke edilerek aktivitesi inhibe edilmektedir.

Oksidatif stres sonucu çeşitli dokular hasar görmektedir (Şekil 2.3). Kemoterapötik ilaçlar, iyonizan radyasyon, nitrofurantasyon, karbontetraklorür, parakuat, kimyasal karsinojenler (benzpiren, sigara, ozon, NO₂) ve alloksan gibi toksik bileşiklerin etkisi ile oluşan hasarın yanı sıra serbest radikallerin neden olduğu doku hasarı ile ilgili çok sayıda klinik tablo bulunmaktadır (Tablo 2.3).



Şekil 2.3. Oksidatif stres sonucu oluşan doku hasarı

Tablo 2.3. Serbest oksijen radikallerinin yol açtığı doku hasarı

Hiperoksijenasyon sendromları	İskemi/Reperfüzyon sendromları	İnflamatuar hastalıklar	Toksik Doku Hasarı	Diğerleri
Akciğerde oksijen toksisitesi, retrorenal fibroplazi	Miyokard İnfarktüsü, kardiopulmoner bypass, organ transplantasyonu, mide mukozasında hasar (stres ülseri), barsak iskemisi, nekrotizan enterokolit, şok sonrası karaciğer yetmezliği, beyin iskemisi, akut renal tübuler nekroz, serbest flep transferleri (deri)	Nötrofil fagositosisi, artrit, inflamatuvar kemik hastalığı, bağ doku hastalıkları, immün yetmezliği	Aspirasyon, pnömonisi, pankreatit, özofajit	Yaşlanma, dolaşım şoku, periferik ödem, kanser, amiloidoz, ateroskleroz, diabetes mellitus

2.5. Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Etkileyen Koşullar

Organizmanın prooksidan-antioksidan dengesi birçok faktöre bağlıdır. Bunlar ekzojen ve endojen olarak iki ana bölümde incelenebilir. Ancak bu faktörler genellikle birlikte etkilidir.

Tablo 2.4. Organizmada serbest radikal reaksiyonlarını artıran faktörler

Ekzojen Faktörler			Endojen Faktörler
Diyetsel faktörler	Çevresel faktörler	İlaçlar	
Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin beslenme Alkol Fazla kalorili beslenme (Obesite) Hayvansal proteince zengin beslenme Aşırı demir ve bakır alınması Az sebze ve meyve yenilmesi Yiyeceklerin uygun olmayan koşullarda hazırlanması ve saklanması Yemek pişirme yöntemlerindeki hatalar	Sigara dumanı Hava kirliliği Diğer kirleticiler Radyasyon	Antikanser ilaçlar Glutasyon tüketen ilaçlar	Fiziksel egzersiz Sedanter yaşam Stres Yaşlılık Doku hasarı Kronik hastalıklar Diyetsel antioksidanların sağlanmasını etkileyen koşullar

2.6. Serbest Radikallerin Hücre ve Dokularda Yol Açtığı Zararlar

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir.

- DNA'nın tahrip olması,
- Nükleotid yapılı enzimlerin yıkımı,
- Tiollere bağlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/sülfid oranının değişmesi,
- Protein ve lipitlerle kovalent bağlantılar yapması,
- Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler,

- Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
- Proteinlerin tahrip olması ve protein turnoverinin artması,
- Lipit peroksidasyonu, zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,
- Kollojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerde de aterofibrotik değişikliklerin olmasıdır.

2.6.1.Serbest Radikallerin Etkili Olduğu Patolojik Durumlar

Serbest radikallerin çeşitli hastalıkların oluşumunda önemli rol oynadıkları kabul edilmektedir. Bunlar şöyle özetlenebilir.

- Yaşlanma,
- Ateroskleroz,
- Kanser,
- Radyasyon hasarı,
- İskemi-reperfüzyon hasarı,
- İnflamasyon,
- Romatoid artrit ve diğer otoimmün hastalıklar,
- Diyabet,
- Akciğer hastalıkları,
- Beyin bozuklukları,
- Böbrek bozuklukları (otoimmün nefroz, aminoglikozid nefrotoksisitesi, ağır metal nefrotoksisitesi),
- Keshan hastalığı (kardiyak miyopati),
- Kas hastalıkları (kas distrofisi, multipl skleroz, egzersiz),
- Göz bozuklukları(maküler dejenerasyon, katarakt),
- Cilt bozuklukları (solar radyasyon, yanıklar, kontakt dermatit),
- Karaciğer bozuklukları (endotoksin, alkol, halojenli hidrokarbonlar, asetaminofen, demir),
- Kan hastalıkları (fenilhidrazin, primaquin, sülfonamid gibi kimyasal bileşikler, protoporfirin fotooksidasyonu, malarya, orak hücre anemisi, favizm),
- Gastrointestinal bozukluklar (ülseratif kolit, steroid olmayan inflamatuvar droglara bağlı hasar),

- Beslenme yetersizlikleri (Kwashiorkor, vitamin-E eksikliği).

2.6.1.1.Serbest Radikallerin Kanserdeki Rolü

Birçok ekzojen ve endojen kanser risk faktörlerinden in vivo OFR oluşmaktadır. Kanser başlama ve ilerlemesi sırasında OFR ile ilgili mutasyonlar insanda gösterilmiştir. OFR ile başlayan tümörlerin gelişmesi insanlarda direkt olarak gösterilememiştir. Tümör hücrelerinin poliferasyonunda OFR'lerin etkili olduğu bazı deneysel çalışmalarla belirtilmiştir. Bugünkü bilgilerimize göre OFR kanser oluşumunu uyaran karsinogenleri en önemlilerinden sayılabilir. Yine karsinogenezin herhangi bir safhasında oksidatif stresin etkisi, etki eden OFR'nin bileşimine ve miktarına bağlıdır.

OFR'lere etkili antioksidan enzimler veya enzimatik olmayan antioksidanlarla oksidatif stresin etkisini kaldırmaya çalışmak iki tarafı keskin bir kılıçtır. İyi doze edilmemiş bir antioksidan bir sistemle OFR'ye karşı korunmak, kanser gelişmesini, tümör hücrelerinin ömrünü uzatarak stimüle edebilir.

Onkogenlerin OFR ile oluşan karsinogenezin her safhasında etkili olduğu düşünülürse zaman içinde gen terapisi gelişecektir. Yaşlılarda artan kanser insidansı OFR kaynakları azaltılarak önlenabilir. OFR ile ilgili DNA hasarı onarım mekanizmalarıyla kısmen düzeltilmektedir. İnsanlarda bu konu ile ilgili bilgiler yeterli değildir. Tümör supressör genlerle veya antionkogenlerle yapılan çalışmalarda kanser araştırmaları ümit vermektedir. Aynı zamanda antioksidan enzimlerin genleri antionkogenlerden biri olabilir ve karsinogenez sırasında bu genlerden birinin inaktivasyonu tümör gelişimine neden olabilir. Bu konuda yoğun çalışmalarda yapılmaktadır.

Şimdi için oksidatif strese sebep olacak (özellikle kronik inflamasyon) ve ekzojen kaynakları azaltmak ve çevre karsinogenlerinden uzak kalmak OFR ile ilgili kanserden korunmada önemlidir diyebiliriz.

Serbest oksijen radikalleri, karsinogenezin ilerleme basamağında çok daha fazla rol oynamaktadır. Çeşitli klinik epidemiolojik çalışmalar, serbest oksijen radikalleri, lipit peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile karsinogenezin arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bir çok karsinogen maddenin hücre etrafındaki oksidatif stresi artırarak kansere sebep olduğu anlaşılmıştır. Bu maddeler, SOD, GSH-Px, ve CAT aktiviteleri dahil, hücrenin antioksidan savunmasında, ani ve sürekli bir azalmaya sebep olurlar. Serbest radikaller, kanserin başlangıç, ilerleme ve gelişme safhalarında etkili

olmakla beraber bu etki ilerleme safhasında daha belirgin, diğer safhalarda ise nispeten azdır (Babs, 1990).

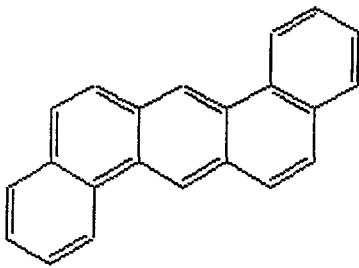
Tablo 2.5. Kanser oluşumuna neden olabilen bazı ekzojen oksidatif stres nedenleri

Oksidatif stres	OFR	Oluşan kanser
Ultra viyole	OH [*] , organik radikaller	Melanoma ve diğer deri kanserleri
Sigara	NO [*] , OH [*]	Bronşiyal karsinoma
Besin yağları	Lipit peroksitleri	Kolorektal kanser, meme kanseri
Demir ve bakır iyonları	OH [*]	Kobrektal karsinoma
Alkol	Lipit peroksitleri	Meme kanseri, hepatosellüler karsinoma

2.6.1.2.DMBA (7, 12-Dimetil Benz [a] Antrasen)

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ilk olarak tanınan kanserojenlerdir (Bloch and Drefuss, 1921). Bu madde potansiyel kanserojen etkiye sahiptir. DMBA vücutta tümör oluşumuna neden olmaktadır (Bowden ve diğ., 1974). DMBA yüksek dozda alındığında hem kanserin başlatıcısı hem de genişlemesine sebep olan oldukça güçlü bir kanserojendir. DMBA'nın rat karaciğerinde serbest radikallerin seviyesini önemli ölçüde yükselttiği bildirilmiştir (Lesko ve diğ., 1982).

Maruyama ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada DMBA kısa ve uzun süreli olarak ratlara verildiklerinde karaciğerde hiperoksitlerin arttığını bulmuşlardır (Maruyama ve diğ., 1991).



Şekil 2.4. Dimethyl benz [a] antrasen

2.6.1.3.Serbest Radikallerin Ateroskleroz Oluşumundaki Rolü

Yüksek kolesterol ve özellikle LDL ve düşük HDL/LDL oranı ateroskleroz için risk faktörüdür. Kolesterol seviyesindeki %5'lik azalma, kardiyovasküler hastalık riskinde %10'luk bir azalmaya yol açmaktadır.

Düşük antioksidan seviyesi potansiyeli, ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür. Antioksidan gücün (AOP) düşmesine yol açabilen (özellikle antioksidan bakımından yetersiz beslenenlerde) sigara, vasküler ölüm oranını %80 artırmaktadır. Aynı şekilde diastolik kan basıncındaki 5-6 mm Hg'lık basınç azalması, miyokardial infarktüs (MI) riskinde %17'lik azalmaya yol açmaktadır.

Antioksidan takviyesi, antioksidan potansiyeli düşük kişiler için koruyucu fonksiyon görür.

Antioksidan potansiyeli normal olan şahıslara antioksidan takviyesinin herhangi bir faydası olmaz. Aksine yüksek miktarlarda alınan yağda çözünen vitaminler (A,D,E,K) karaciğer, C vitamini ise böbrekler için zararlı etkiler oluşturabilir.

Özellikle E vitamini tedavisinin başlangıç dönemlerinde daha dikkatli olunmalı ve ilgili şahıslar yakından takip edilmelidir.

Tavsiyeler :

- Kan kolesterol seviyenizi 200 mg/dl'nin altında tutunuz.
- Sigarayı bırakınız.
- Beslenmenizde sebze ve meyvelere ağırlık veriniz. Yemeklerde zeytin yağını tercih ediniz.
- Antioksidan vitaminleri doğal yollardan alınız.
- Fiziksel aktivitenizi ihmal etmeyiniz. Spor yapınız.
- Her ne sebeple olursa olsun, oksidan stres dahil hiçbir stres altında kalmayınız. Her türlü stres sağlık için zararlıdır.

2.7.Organizmanın Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Hücrelerde ve ekstrasellüler sıvıda sitotoksik oksijen radikallerini zararsız duruma getirmeye çalışan antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmaların başlıcaları şunlardır.

Reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri; Süper oksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon redoks siklüsü enzimleri (glutatyon peroksidaz, GSH redüktaz, Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz v.b.) bu gruba dahil edilebilir.

Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler; α -tokoferol (vitamin-E) ve askorbik asit (vitamin-C) antioksidan vitaminler olarak fonksiyon gösterirler.

Ayrıca indirgenmiş glutatyon (GSH), ürik asit, β -karoten (provitamin A) taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albüminde bu gruba dahil edilebilirler.

Tablo 2.6. Enzimatik antioksidanlar

Enzim	Katalizlediği reaksiyon
Süperoksit dismutaz (SOD)	$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$
Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$
Glutatyon-S-transferaz	$ROOH + 2GSH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$
Katalaz (CAT)	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Mitokondriyel sitokrom oksidaz	$4O_2^- + 2H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$

Reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını önleyen ve oluşanın yayılmasını engelleyen sistemlerdir ki bunlar ; hidrojen peroksit ve süperoksit anyonundan hidroksil radikali oluşmasını sağlayan Haber-Weiss reaksiyonunu katalizleyen demir ve bakır iyonlarını plazmada ve hücrede bağlayan bakır transport proteini serüloplazmin, ferritin, transferrin, laktoferrin ve mitokondrilerde doğal olarak oluşan serbest radikalleri suya indirgeyen mitokondriyel sitokrom oksidazdır. Ayrıca bu grupta yer verebileceğimiz insan plazmasında ekstrasellüler antioksidan savunma mekanizmaları olarak bilinen diğer maddeler haptogloblin-hemopeksin, glikoz ve taurin, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), α -1-antitripsin, γ -globulin, fibronektin ve IgG dir.

Antioksidanları görev önceliği sırasına göre dizdiğimizde primer antioksidanlar olarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, serüloplazmin, transferrin ferritin sayılabilir. Vitamin E, C, β -karoten, ürik asit, bilirubin ve albümin seconder antioksidanlara, DNA onarım enzimleri, metiyonini süperoksit redüktaz da tersiyer antioksidanlara örnek verilebilir.

İnsan organizmasında hücresel boyutta oksidan ürünlere karşı savunma, şu prensipler çerçevesinde gerçekleşmektedir;

1.Oluşan serbest radikalleri toplayıcı ve giderici etkileri ile bağlayarak veya kararlı hale getirerek (Zintzen, 1977),

2.Zincir kırıcı etki ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak(Van-Der-Meulen, 1997),

3.Baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak (Packer, 1991),

4.Onarıcı etki ile lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşmakta olan biyolojik moleküler hasarı rejenere ederek (Evelson ve diğ., 1997),

5.HücreSEL kinaz kayıplarını önleyip oksidan reaksiyonu durdurarak (Van-Der-Meulen, 1997),

6.Organizmadaki SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini artırarak etkilerini gösterirler (Stratton and Liebler, 1997).

Oksijen radikallerine karşı öncelikli savunma sistemi enzim sistemleridir. Bu sistem içinde görev alan enzimlerin aktivitesi serbest radikallerin sentez ve yıkılma hızına, beslenme ve eser elementlerin alınmasına bağlıdır.

Ayrıca proteinlerin sülfhidril gruplarının antioksidan kapasitesine anlamlı katkıda buldukları ileri sürülmüştür.

2.7.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

Serbest radikallere karşı organizmada ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinden farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır. SOD süper oksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir.



Bu reaksiyon için pH=7,1' de hız sabiti $k= 2.10 \times 10^5 \text{ l/M.s}$ 'dir.

Bugüne kadar süperoksit dismutazın beş farklı şekli bulunmuştur. Ökaryot hücrelerin sitozolünde ve mitokondrinin intermembran aralığında bulunan ve molekül ağırlığı 31,2 kDa olan bu enzim her bir dimerik protein için birer molekül bakır ve çinko içermektedir (Cu-Zn-SOD). Çinkonun dayanıklılığı sağladığı, bakırın ise aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çinko geri dönüşümsüz olarak yapıdan ayrılmakta, geri dönüşümlü olarak ayrılan bakır ise tekrar aynı veya farklı bir reseptöre bağlanabilmektedir. İki tip SOD yapısında her bir molekülü başına iki adet manganez bulundurmaktadır (Mn-SOD). Bu enzimlerden biri mitokondri matriksinde (molekül ağırlığı=75 kDa), diğeri ise E.coli gibi bakterilerin sitozolünde (molekül ağırlığı = 40 kDa) bulunur. Cu-Zn-SOD siyanür ile inhibe edilmekte, Mn-SOD ise siyanür ile inhibe edilememektedir. E.coli periplazmik aralığında bulunan ve molekül ağırlığı 40 kDa olan dördüncü tip SOD, demir içermektedir. 1984'de tanımlanan son tip 135 kDa molekül

ağırlığında bir tetramerdir. Ekstrasellüler sıvı, ekstrasellüler matriks ve hücrelerin yüzeyinde bulunan bu tip kısaca EC-SOD olarak adlandırılmaktadır.

SOD enziminin bütün izoenzimlerinde enzimin aktif merkezinde bulunan metalin kelat yapıcı ajanlar ile uzaklaştırılması katalitik kaybına yol açar, metalin yerine konması ile aktivite yeniden kazanılmaktadır. Cu-Zn-SOD enziminde Cu'nun katalitik, Zn'nin ise esas olarak yapısal fonksiyonu vardır.

Süperoksit radikalleri spontan olarak dismutasyona uğrayabilirler. SOD enzimi dismutasyon hızını 10 kat artırır. Böylece oksijenin başka substradlarla reaksiyona girmesi ve daha toksik hidroksil radikallerinin oluşumu SOD tarafından engellenir.

Süperoksit dismutazın süperoksit anyonuna olan etkisi şu şekildedir; süperoksit anyonu Cu^{+2} ve bir anjinin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda süperoksitten bir elektron Cu^{+2} ye transfer olurken Cu^+ ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir süperoksit anyonu Cu^+ dan bir elektron, bağlanma ortamından ise iki proton alarak hidrojen peroksidi oluştururken enzim tekrar Cu^{+2} formuna dönmüş olur. Bilindiği gibi süperoksit radikalleri kendiliğinden dismutasyona uğrayabilirler. Bu nedenle süperoksit radikalleri sulu ortamda fazla birikemezler ve bu nedenle SOD ile katalizlenen dismutasyon önemsiz gibi görülebilir. Oysa iki önemli faktör enzimatik katalizin önemini belirgin şekilde ortaya koyar. Birincisi SOD ile enzimatik dismutasyonun hız sabiti $\text{pH}=7,4$ 'te $2 \times 10^9 \text{ l /M.s'}$ dir. Bu da kendiliğinden dismutasyonundan 10.000 kez daha hızlı bir dismutasyon avantajı sağlar. İkinci bir avantaj ise hücrelerde SOD derişiminin oksijen radikallerinin steadistate derişiminden yaklaşık 100.000 kez daha fazla olmasıdır.

Organizmada oksidan stresin arttığı klinik durumlarda SOD enzimi aktivitesini artırarak koruyucu etkinliğini devam ettirir. Özellikle antioksidan etkili diğer enzimlerin aktivitelerinde azalmalarının söz konusu olduğu klinik durumlarda SOD enziminin aktivitesinin artığı çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir.

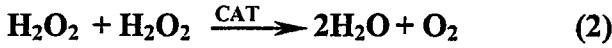
2.7.2.Katalaz (CAT)

CAT tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan bir Hem enzimdir. %20 oranında sitoplazmada ve %80 oranında peroksizomlarda lokalizedir. Molekül ağırlığı 248 kDa olup 4 alt birimden oluşmaktadır. Her bir alt birim aktif merkeze bağlı bir Hem (IX Fe) grubu içerir. Molekülün alt birimlerinin ayrılması enzim

aktivitesinin azalmasına yol açar. Asit, siyanür, 3-amino-1,2,4-trizol, indirgenmiş glutatyon ve ditiyotreitol katalazı inhibe ederler.

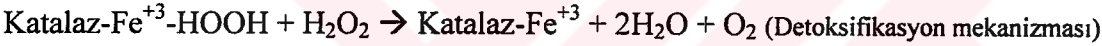
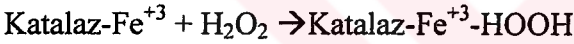
Katalaz H_2O_2 ' nin oluşum hızının düşük olduğu veya elektron vericisinin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu durumlarda peroksidatik reaksiyonlarda (1),

H_2O_2 ' nin oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik reaksiyonlarla hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (2).

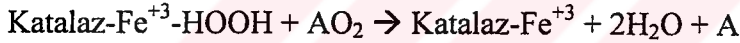


Kono ve Fridovich süperoksit radikallerinin katalazı inhibe ettiklerini göstermişlerdir. İndirgenmiş glutatyonun da doza bağımlı olarak katalazı inhibe ettiği bildirilmiştir.

En yüksek katalitik dönüşüm hızına sahip enzim olduğu bilinen katalazın aktivitesi için demir gerekmektedir. Aktif kısmı olan Fe^{+3} -protoporfirin iki fonksiyonel döngüsü bulunmaktadır.



Ortamda hidrojen peroksit düzeyi çok düşük olduğundan, aktif olmayan enzim bileşiği ile elektron alıcısı tepkimeye girmektedir.



2.7.3.Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Normal koşullarda hücrede bulunan H_2O_2 ' nin detoksifikasyonundan esas olarak glutatyon peroksidaz sorumludur. GSH-Px lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engelleyici özellikte olan bir enzimdir. Selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki farklı tipi vardır. Selenyuma bağımlı olan GSH-Px hem hidrojen peroksidi hem de lipid hidroperoksitlerini metabolize ettiği halde, hücrenin mitokondri ve Sitozol fraksiyonlarında lokalize olan selenyumdan bağımsız GSH-Px ise yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize etmektedir. Aktivitesi selenyuma bağlı olmayan GSH-Px enzimleri GSH-S transferazlardır. Bu enzimler biyotransformasyon yolu ile oluşan çeşitli elektrofil bileşiklerle glutatyon arasındaki konjugasyonu sağlar. GSH ile bağlanan bu bileşikler bir dizi reaksiyonla merkapturik asite dönüşürler. Molekül ağırlığı 50.000 olan GSH-S transferazların 7 farklı alt birimi ve 8 izoenzimi vardır.

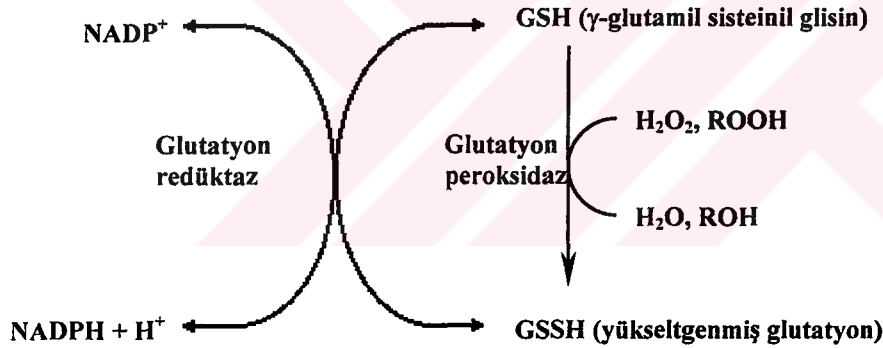
İnsan eritrositleri sadece GSH-S-T-Pi kapsar. GSH-S-T-Pi düşük aktiviteli bir transferazdır. En önemli fonksiyonu ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu ve karsinogenlerin detoksifikasyonudur.

H_2O_2 ve çeşitli organik hidroperoksitlerin GSH-Px ile indirgenmeleri reaksiyonunda indirgenmiş GSH kosubstrat olarak görev alır.



Katalitik reaksiyon sonucu H_2O ve oksitlenmiş glutatyon disülfit (GSSG) oluşur.

HücreSEL GSH'ın eksikliğine yol açan GSSG eflusu GSH-Px aktivitesindeki artışın bir sonucudur. Eritrosit veya karaciğer hücrelerinde oluşan GSSG' nin minör bir konsantrasyonu hücreler tarafından atılır. Bu miktar hidroperoksit metabolizması sırasında yükselir. GSSG'nin hücre içinde birikimi ve eflusu hücreSEL NADPH/NADP⁺ redoks oranı ile ilişkilidir. sitozolik NADPH/NADP⁺ azaltan metabolik olaylar GSSG/GSH oranını artırarak hücreden GSSG eflusunun hızlanmasına yol açar.



Şekil 2.5. İndirgenmiş ve yükseltgenmiş glutatyon oluşumu

İodoasetat, siyanür ve süperoksit radikali GSH-Px enziminin inhibitörleridir. H_2O_2 ' nin sitotoksik etkinliği büyük ölçüde hücre içi katalaz ve peroksidaz aktivitelerinin ve H_2O_2 ' yi hidroksil radikaline indirgeyebilen geçiş metallere bir fonksiyonudur.

GSH-Px ve katalaz enzimleri hücrenin farklı bölümlerinde lokalize olmalarından dolayı karaciğerde endojen oluşan H_2O_2 seviyesini düzenlemede birlikte etkinlik gösterirler.

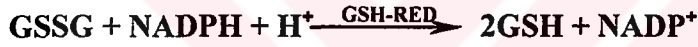
Eritrositlerde GSH-Px aktivitesinin azalması prematüre bebeklerde hemolitik anemi ile ilişkilidir. Eritrosit GSH-Px aktivitesi selenyum statüsünün bir indeksidir.

Selenyum eksikliği olan kişilerde kanda GSH-Px aktivitesindeki düşüklüğe bağlı olarak kalp rahatsızlıkları sık görülür.

E vitamini takviyesi, demir eksikliği, ağır metal iyonları toksisitesi ve hormonal denge GSH-Px aktivitesin etkileyen parametrelerdir.

2.7.4. Glutasyon Redüktaz (GSH-RED)

Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz NADPH varlığında oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler. Bu oksidoredüksiyon enziminin koenzimi NADPH, prostetik grubu ise FAD' dır. Dimerik bir yapıda bulunan GSH-RED' in molekül ağırlığı yaklaşık 104.800' dür. Sitozol ve mitokondride lokalizedir. GSH-RED bir flavin enzimi olup FAD ile aktive edilir. GSH-RED oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizlerken, elektronlar önce NADPH' dan FAD yolu ile GSSG' ye daha sonra ise iki sistein kalıntısı arasındaki disülfid bağlarına en son ise oksitlenmiş glutatyona transfer olmaktadır.



Sitoplazmik ara ürünler olan NADPH ve GSH konsantrasyonları hücrenin redoks durumunun akut değişikliklerini yansıtır. NADPH/NADP⁺ ve GSH/GSSG oranlarındaki değişiklikler akut prooksidan stres ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin belirtisidirler.

Oluşan NADP⁺' nin NADPH' a dönüşmesi için glikoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimine gerek duyulur. pH=7,8' de ve iyonik gücün 0,1 olduğu durumlarda insan eritrositlerinde bulunan glikoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimi molekül ağırlığı 210.000 olan tetramer yapı ile molekül ağırlığı 105.000 olan dimer yapı arasında bir denge halinde bulunur. Kelat yapıcı ajanlar ve steroid hormonlar glikoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimini inhibe ederler.

2.7.5. Glutasyon (GSH)

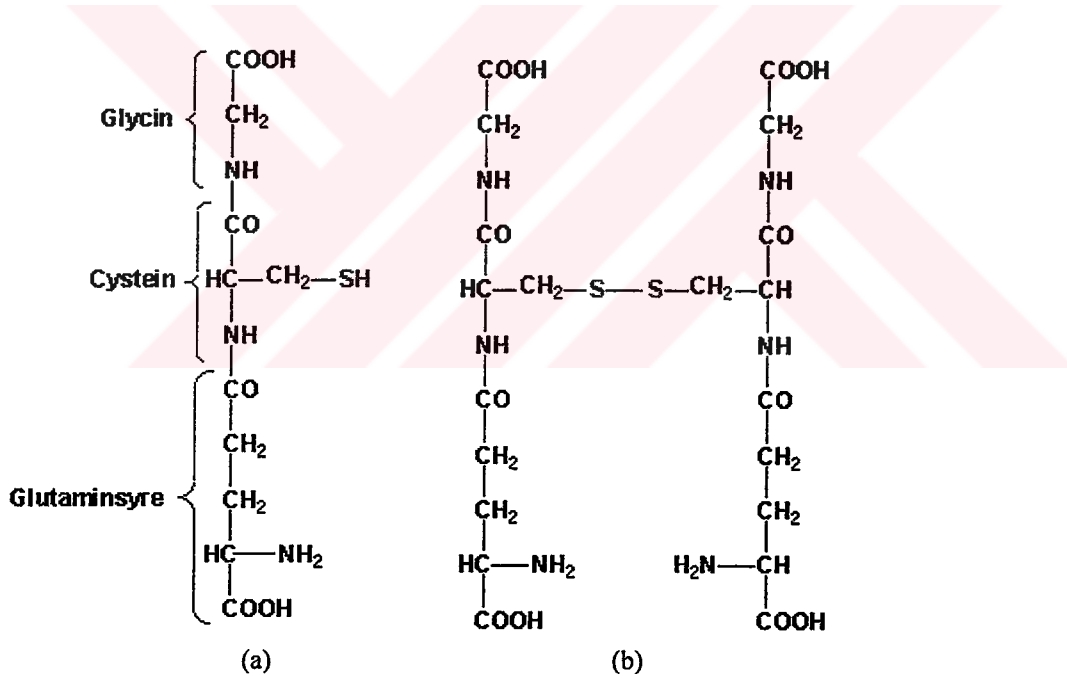
GSH organizmanın tüm hücrelerinde bulunan hücrenin yapısı dışındaki sülfhidril grubu içeriğinin %90' ını oluşturan tripeptittir. Glutamik asit sistein ve glisin amino asitlerinden γ -glutamil sistein sentetaz ve glutasyon sentetaz enzimleriyle oluşur.

Serbest bir sülfhidril grubuna sahip olan indirgenmiş GSH hücre içi bir sülfhidril tamponu olarak etkilidir ve bu hücreleri oksidatif ve toksik etkilere karşı korur. Eritrositlerde bulunan indirgenmiş GSH hemoglobinin sistein gruplarını ve diğer hücre proteinlerinin tiol gruplarını indirgen şekilde tutar. Böylece hemoglobini oksidasyondan koruyarak hücrenin bütünlüğünü sağlar.

Nükleofilik bir yapıya sahip olan indirgenmiş glutatyon elektrofilik karakterde karbon atomları ve Zn, Cd, Hg, Cu, Pb gibi atomlarla kompleks oluşturarak ağır metal iyonlarının vücuttan atılmasına yardımcı olur.

GSH bazı amino asitlerin hücre içine taşınmasına yardımcı olur. Bu sırada hücre membranlarından transloke olan GSH- γ -glutamil transferaz enzimiyle parçalanır.

GSH biyotransformasyon ile oluşan zehirli maddelerin detoksifikasyonunda rol oynar. Zehirsizleştirme reaksiyonlarına doğrudan katıldığı gibi bazı enzimlerin aktivatörü veya substradı olarak görev yapar.



Şekil 2.6. (a) γ -glutamilsisteinilglisin (b) Glutatyon difülfid

2.7.6. Vitamin E

E vitamini terimi yapısal olarak birbiri ile bağlantılı bir grup bileşiği kapsar. Bunlar temelde 2-metil-kroman halkası içerirler ve 2 karbona bağlı 16 karbonlu fitil yan zincir kapsar. Vitamin E benzeri etkiye sahip bileşikler iki grupta toplanır. Birinci grup tokoferoller, ikinci grup tokotrienoller olarak adlandırılır (Benedich, 1990).

Tokoferoller α , β , γ ve δ olarak 4 çeşit molekül ve bunların stereoizomerlerinden oluşur. Vitamin E membranda düşük konsantrasyonda bulunmasına rağmen lipitte çözünen zincir kırıcı başlıca antioksidanlardır. Biyolojik membranlarda vitamin E'nin koruyucu rolü yağ asitlerindeki peroksil radikalleri ile reaksiyonlaşarak kromanoksil radikali oluşturmasıdır (Slater and Morris, 1983).

Vitamin E'nin halka yapısındaki oksijenin 2p-tip elektron çiftleri aromatik düzeye ne kadar dik bulunursa türevin antioksidan özelliği o derece artar. Bu durumda hidrofuranlar dihidropiranlardan daha aktiftirler. Aromatik halkanın ve 2.karbonun elektrondan zenginliği antioksidan etkiyi artırır. E vitamini türevlerindeki reaktivite farklılıkları fenol O-H bağının enerjisini kontrol eden stereoelektronik etkilerin sonucudur.

Tokoferol homologlarının singlet oksijen ile belirgin kimyasal reaktivitesi daha düşük hızda ve α , β , γ , δ azalan sırasıyla gerçekleşir. Tokoferollerin biyolojik oksidasyon ürünleri de antioksidan aktivite gösterir.

Önemli bir endojen ve ekzojen antioksidan olarak hücrel ve hücre altı membranların bütünlüğünün korunması α -tokoferolün başlıca fonksiyonlarından biridir.

Lipitte çözünürlüğün yüksek olması nedeniyle kolayca membran fosfolipidlerine diffüze olabilmekte ve 20 karbonlu doymamış yağ asitleri indirgeyerek serbest oksijen radikallerinin biyomembranlarda oluşturabileceği lipit peroksidasyonunu önlemektedir. Böylece eikosanoid oluşumu başlangıç aşamasında engellenmektedir.

Membranların E vitamini miktarı mikrozomal membranların, LDL'nin hepatositlerin ve organların perokside edici ajanlar (hidroksil, alkoksil, ve peroksil radikalleri, singlet oksijen, oksijen-metal kompleksleri) tarafından hasarını belirler. Bu ajanların etkisiyle oluşan lipit hidroperoksitler alkoksil ve organik peroksil radikallerine parçalanarak lipit peroksidasyon zincir reaksiyonuna yol açarlar. Tokoferoller bu reaksiyonun yayılma basamağını engeller. Peroksil radikallerini yakalayıp lipitleri korurlar.



Vitamin E radikali nispeten stabil reaktivitesi az olan bir radikaldir. Vitamin E midede nitritlerin nitroz aminlere dönüşümünü engelleyerek antikanserojen olarak etki eder. Kanser insidansını ve tümör hücrelerinin gelişimini azaltır.

E vitamini takviyesi ile artritte görülen serbest radikal konsantrasyonundaki artışın engellendiği deneysel çalışmalarla gösterilmiştir.

İn vivo ve in vitro çalışmalar α -tokoferol ve glutatyon peroksidaz arasındaki karşılıklı bağıllığı göstermişlerdir. İnsan ve hayvan deneyleri doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu engellemek ve membran bütünlüğünü sağlamak için her iki antioksidanın gerekliliğini göstermişlerdir.

Bitkisel kaynaklı yağlarda tabii olarak bulunan tokoferol ve tokotrienler esansiyel diyet bileşenleridir.

2.7.7. Vitamin C (Askorbik Asit)

Kimyasal yapı bakımından monosakkaritlere benzeyen C vitamini 2-ketoglukono laktonun okside edilmesiyle oluşmaktadır. Askorbik asit dayanıklı değildir. Bir hekzonik asit olan L-askorbik asidin γ -laktonu 2. ve 3. karbon atomunda bir enodiol yapısı gösterir. Bu yapı gayet kararsızdır ve okside olarak 1-dehidroaskorbik asit meydana getirmektedir.

Askorbik asit ihtiva ettiği enodiol grubundan dolayı hem asit özellik gösterir, hem indirgenir. Askorbik asit indirgen olarak etki ettiği zaman enodiol grubundaki 2H atomunu vererek dehidroaskorbik aside yükseltgenir ve dehidroaskorbik asitte askorbik aside indirgenebilir. Buna göre dehidroaskorbik asit ile askorbik asit bir redoks sistemi oluştururlar. Dehidroaskorbik asit kolaylıkla askorbik aside çevrildiğinden C vitamini gibi etki eder. Dehidroaskorbik asit alkali çözeltilerde dayanıksız olup lakton halkasının açılmasıyla hidrolize uğrar ve biyolojik bakımdan etkisiz olan 2,3-diokso L-glonik asit meydana gelir. Hayvan organizması bunu tekrar laktone dönüştüremez parçalanmasıyla okzalik asit oluşur. Okzalik asit hava oksijeni karşısında tersinmez olarak yükseltgendiği ve bu yükseltgenme ısı ile arttığı için besin maddelerinin havanın oksijeni karşısında pişirilmesinde içerdikleri askorbik asidin büyük bir kısmı kaybolur. Askorbik asit özellikle meyve ve sebzelerde bol bulunur. Limon, portakal, çilek domates yeşil biber vb. fazla miktarda askorbik asit içerir.

C vitamininin herhangi bir kofaktör etkisi bilinmediği halde hücre içi oksidoredüksiyon olaylarında hidrojen taşıyıcı ödevi ile ilgisi olduğu sanılmaktadır. C vitamininin metabolizmadaki etki tarzı henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla beraber bağ dokusu, dentin, kemik dokusu gibi kollojen proteininin biyosentezi için gerekli olduğu bilinmektedir. Günlük C vitamini ihtiyacı 50-100 mg kadardır.

Askorbik asit insanlar, maymunlar ve kobaylar tarafından sentezlenemez. Uzun süre alınmaması durumunda skorbüt hastalığı ortaya çıkar. Ayrıca organizma enfeksiyonlara karşı dirençsiz hale gelir.

2.7.8. Vitamin A (Karotenler)

A vitaminin ön maddesi olan β -karoten önemli bir singlet oksijen ve radikal tutucu antioksidandır. β -karoten ve diğer biyolojik karotenoidlerin singlet oksijeni tutmaları difüzyon kontrolüne yaklaşan hız sabitinde gerçekleşir. β -karotenin açık zincirli analogu olan likopenin hız sabiti en yüksektir. Biyolojik kaynaklı karotenoidler en etkin singlet oksijen tutucu likopendir.

Karotenoidlerin serbest radikal reaksiyonlarını inhibe ettiği gözlenmiştir. β -karoten çok etkin olarak triklorometil peroksil radikallerini indirger. Fizyolojik şartlarda dokuların çoğunda hakim olan kısmi oksijen basıncında ve düşük oksijen konsantrasyonlarında β -karoten tetralin ve metil linoleatın oksidasyonunu peroksil radikalleri ile inhibe eder. β -karotenin bu antioksidan aktivitesi rezonansla stabilize karbon merkezli bir radikal oluşumuna dayanır ve membranların lipid peroksidasyonundan korunmasına yardımcı olur. β -karotenin sağladığı antioksidan savunma normal fizyolojik oksijen basıncı sınırlarında bulunan herhangi bir dokuda gözlenir. β -karotenin otooksidasyonu β -ionon halkasında yerleşik epoksitlerin, ketonların ve aldehitlerin oluşumuna yol açar. Son yıllarda yapılan çalışmalar β -karotenin peroksil radikal serbestleştiricisi ile inkübasyonun polien zincirinin merkezi çift bağında epoksid oluşumuna yol açtığı gözlenmiştir.

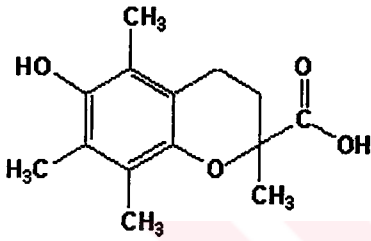
β -karotenin Vitamin E' den farkı düşük oksijen basıncında daha etkili olmasıdır. Bu şekilde yüksek oksijen basıncında etkili olan α - tokoferolün antioksidan etkisini tamamlar. β -karoten LDL partikülü içinde taşınır ve oksidatif hasara karşı LDL' ye savunma sağlar. LDL' de bulunan α - tokoferolün konsantrasyonu β -karotenden 20 kat daha fazla olmasına LDL oksidasyonunu inhibe etmede β -karoten 2 kat daha güçlüdür. β -karoten aterosklerotik lezyonun gelişmesini önler.

β -karotenin yalnız koroner olaylarda değil tüm damarsal problemlerde etkili olduğu gösterilmiştir.

LDL' yi oksidatif hasara karşı savunmada en etkin antioksidan terapinin suda çözünen askorbat ile yağda çözünen α -tokoferolün ve β -karotenin birlikte verilmesi olduğu ileri sürülmüştür.

2.8. Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-Tetramethylchroman-2-Carboxylic Acid)

Trolox sentetik bir madde olup vitamin E analogudur. Beyaz toz şeklindedir ve suda çözünür. Moleküler formülü $C_{14}H_{18}O_4$ şeklindedir. Molekül ağırlığı 250,3 tür. Açık formülü şekildeki gibidir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-Tetramethylchroman-2-carboxylic acid)

Kimyasal olarak "Chroman Carboxylic Acid" sınıfındadır. Yandığında CO_2 ve CO açığa çıkar. Erime noktası $188-190^{\circ}C$ dir. Farmakolojik olarak antioksidan özellik gösterir. Direkt olarak solunduğunda üst solunum yollarının mukoz membranlarında ve gözde tahriş nedeni olabilir. Ekolojik yönden zararları henüz bilinmemektedir.

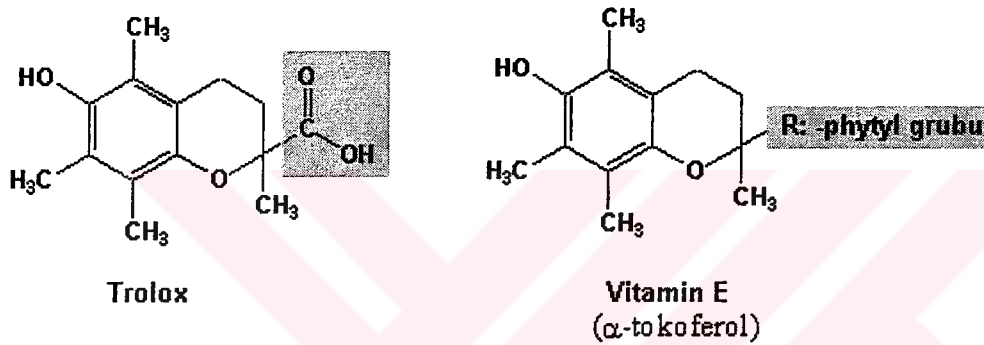
Ratlarda 4300 mg/kg, farelerde 1630 mg/kg, tavşanlarda 2 g/kg dan daha fazla miktarda oral yolla alındığında toksik etki gösterir. İntraperitoneal olarak verildiğinde ratlarda 1800 mg/kg, farelerde 1700 mg/kg değerlerinin üzeri toksiktir.

Trolox oksijen radikallerine karşı hücre bütünlüğünü korur. Antioksidanlarla yapılan çalışmalarda total antioksidan kapasitesini tespit etmek için kullanılan metodlar arasında en çok kullanılanları Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) ve Ferric Reducing Ability (FRAP) tır. Buradan da anlaşılacağı gibi trolox antioksidanlarla yapılan çalışmalarda pozitif kontrol olarak kullanılmaktadır (Guohua ve diğ., 1998).

Trolox Vitamin E analogu olup güçlü antioksidan özellik gösterir. Lipid peroksidasyonunu ve sitotoksisiteyi önler. Diğer antioksidanların verimliliği ölçülürken trolox standart olarak kullanılır. Naguib, yaptığı çalışmada değişik antioksidan moleküllerin (sırayla; Trolox, Astaxantin, α -Tokoferol, Lycopene, β -Carotene, Lutein

ve α -Carotene) peroksil radikallerini süpürücü etkisini incelemiş ve kullandığı antioksidanlar arasında şu ilişkiyi bulmuştur. 1.0, 1.0, 1.3, 0.5, 0.4, 0.3 ve 0.2. Görüldüğü gibi troloxun peroksil radikallerini süpürücü aktivitesi diğer antioksidanlara göre oldukça yüksektir. Naguib, aynı çalışmasında bu antioksidanların reaksiyona girme hızını da belirlemiş ve şu sonuçları bulmuştur. Trolox; 1.0, Astaxantin; 1.3, α -Tokoferol; 0.9, α -Carotene; 0.5, Lutein; 0.4, β -Carotene; 0.2 ve Lycopene 0.4 (Naguip 2000).

Yapısal olarak Vitamin E (α -tokoferol)' den farkı; vitamin E'nin "phytyl" grubu yerine "-COOH" bağlanmasıdır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Trolox ve Vitamin E (α -Tokoferol)

Trolox kullanılarak bugün çok değişik çalışmalar yapılmaktadır. Farriol yaptığı çalışmalarda fibroblast hücrelerini önce oksidatif strese maruz bırakmış daha sonra trolox kullanarak etkisini ölçmüştür. Yaşayan fibroblast sayısının troloxla ilişkili olduğunu göstermiştir (Farriol, 1994).

Melnikova ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, deney farelerine önce insandan kolon adenokanser dokusu nakledilmiş, tedavi içinde fotodinamik terapi (PDT) ve meta-tetrahidroksimetilklorin (mTHPC) kullanmışlardır. Daha sonra farelere intraperitoneal olarak günlük 250 mg/kg oranında Trolox enjekte edilmiş ve bu işlemten sonra kolon adenokanser hücrelerinin bölünme süresi 13-19 gün uzamıştır (Melnikova ve diğ., 2000).

Peroksinitrit (ONOO⁻) güçlü bir antioksidan ajandır. NO ve O₂⁻ nin reaksiyonu ile oluşur. Bu reaksiyon elektron transferi ile gerçekleşir. pH:7' de peroksinitritin oksidan özelliğini fenolik bir antioksidan olan trolox, ortadan kaldırmıştır (Indira 1999).

Butterfield, alzheimer hastalığının tedavisinde trolox ve combative enzim kullanmıştır. Bunun sonucunda troloxun neuroprotectant (nöron koruyucu) etki gösterdiğini belirtmiştir.

Kardiopulmoner baypasın olumsuz etkilerine bağlı olarak miyokarda ve diğer tüm vücut dokularında iskemi-reperfüzyon hasarı görülebilir. Miyokardial reperfüzyon hasarı ile ilgili değişik görüşler olmakla birlikte bu olayda en çok suçlanan oksijen radikalleridir. Serbest radikal hipotezine göre bunun sebebi vücudun kendi savunma sisteminin etkisizleştirebileceğinden daha fazla miktarda zararlı maddenin oluşmasıdır(Gaudel and Duvelloy, 1984). Dışardan antioksidan madde verilerek ameliyat sırasındaki lipid peroksidasyonu azaltılabilir. Troloxun malondialdehit üretimini ve miyokardial enzimlerin kan düzeylerini azalttığı dolayısıyla da lipid peroksidasyonunu ve miyokarda bağlı hücre hasarını engellediği görülmüştür (Cavarocchi ve diğ., 1986; Yau ve diğ., 1994).

Anneye damar yolu ile verilen trolox ve askorbik asit (vitamin C) kompozisyonu sonucu fetal plazmada, antioksidan aktivitede artış ve hipoksiye bağlı gelişen mitokondrial hasarda azalma görülmüştür (Tan ve diğ., 1996). Buradan trolox ve askorbik asit kompozisyonunun kalbi iskemi-reperfüzyona bağlı hasardan koruduğu sonucuna varılmıştır.

Ko ve arkadaşları yaptıkları çalışmalar sonucunda fitik asit ve güçlü demir şelatörlerinin prooksidan aktivitelerinin trolox tarafından baskılandığını belirtmişlerdir (Ko ve diğ., 1994).

Diyabetik retinopati başlangıcında meydana gelen ilk histolojik değişme perisit hücrelerinin dejenerasyonudur. Ansari ve ark. yaptıkları çalışmalarda hiperglisemik bir ortamda reaktif bir madde olan tiyobarbitürik asidi ratlara vermişlerdir. Daha sonra trolox verilen ratlardaki serbest radikal miktarının önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Başlangıçta seçilen üç grup ratın (normal beslenen ratlar, diyabetik ratlar, troloxla beslenen diyabetik ratlar) endotel hücrelerinin (E) perisit hücrelerine oranı şu şekilde bulunmuştur;

	Endotel/perisit (E/P)
Normal Rat	1,74±0,186
Diyabetik Rat	3,78±0,47
Troloxla Beslenen Diyabetik Rat	2,32±0,24

Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi trolox, diyabetik retinopatiji ve/veya perisit hücrelerinin ölümünü önemli ölçüde engellemiştir (Ansari ve diğ., 1998).

Vartak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda Trolox ve γ -linolenik asidin (GLA) 36B10 hücrelerinde sitotoksitesiteyi bloke ettiğini bildirmiştir (Vartak ve diğ., 1998).

Trolox (α -tokoferol homologu olduğu için), bulunduğu biyolojik ortamlardaki serbest radikal türlerini toplayarak peroksidasyonun erken döneminde zar fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerini korumada oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur (Stratton and Liebler, 1997; Van-Der-Maulen, 1997). Bir diğer yol ile de singlet oksijen, süperoksit ve daha çok hidroksil radikallerini indirger (Packer, 1991). Bu işlevini peroksidasyon reaksiyon zincirini sonlandırarak gerçekleştirir. Bugün vitamin E analogu olan Trolox, radikal giderme, baskılama, onarma ve endojen savunmayı artırma mekanizmalarının tümünü kullanabildiği, bu nedenle çok hızlı ve geniş bir antioksidan etki kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir (Stratton and Liebler, 1997).

Hücre genetik yapısı açısından güçlü bir mutajen oksidan metabolit olan peroksinitritin oluşum reaksiyonlarının önlenmesinde ve hem peroksil hem de nitrik oksitin toplanmasında γ -tokoferol bir antioksidan olarak görev yapmaktadır (Christe ve diğ., 1997). Trolox katkılı yemlerle beslenen ratlarda intrasellüler antioksidan enzimler olan SOD ve CAT düzeylerinin arttığı gösterilmiş, bu yolla troloxun endojen savunma performansını yükselttiği ileri sürülmüştür. Troloxun antioksidan aktivitesi, birçok antioksidan savunma elemanının yetersiz kaldığı, oksijenin yüksek konsantrasyonunda bile etkilidir. Eritrositler ve alveolar membranlar bu durumu açıklayan önemli örnekler olarak gösterilebilir (Zintzen, 1997; Packer, 1997; Evelson ve diğ.,1997).

Trolox üzerine yoğun olarak devam eden tartışma konularından biriside “antioksidan etkinliğin gerçekleşebilmesi için gerekli doz” hakkındadır. Bu alanda türlere, cinsiyete, yaşa ve patolojilere göre değişen miktarlar ortaya konulmaya başlanmıştır. Yayınların önemli bir kısmında insanlarda 50, 100, 250, 400, 800 ve 1000 IU/günlük dozların araştırıldığı görülmektedir (Jialal, 1995; Hodis, 1996).

Jialal'in “günlük 50 IU Trolox katkısıyla antioksidasyon işleminin gerçekleşmesi beklenemez” şeklindeki yaklaşımı hemen herkes tarafından kabul görmektedir (Jialal, 1995). Bir çok yayın normal antioksidan etkinin 400 IU/gün ile maksimum etkinin ise

800 IU/gün ile meydana geldiğini ileri sürmektedirler. 1000 IU/gün megadoz olarak tanımlanmakta, bu tür uygulamalarda troloxun diğer maddelerle oluşturdukları kombinasyonlar nedeni ile sinerjik toksisiteye yol açabileceği ifade edilmektedir (Hodis, 1996). Diğer yandan doğal besinlerle alınan vitamin E'nin troloxa göre daha güçlü antioksidan özellik gösterdiği ileri sürülmüştür (Zino ve diğ.,1997).

Palmoki ve arkadaşlarına göre, cilt yaşlanmasında ve ışığın deri üzerindeki yıpratıcı etkilerine karşı daha güçlü bir koruma oluşturmasında Vitamin E ve analoglarının kombinasyonu önemli düzeyde etkilidir (Palomaki ve diğ., 1997).

Biyolojik membranlardaki oksidatif bozulmalarda esas olan maddeler fosfolipidlerdir. Söz konusu fosfolipidlerdeki yapısal değişiklikler ise membranın yapısal harabiyetine ve hücre bütünlüğünün bozulmasına yol açmaktadır. Membranların lipid peroksidasyonundan fazla etkilenmeleri, fosfolipid bileşiklerinin çoklu doymamış yağ asidi taşımalarından kaynaklanmaktadır.

Peroksidasyon oranı, fosfolipidlerde bulunan yağ asitlerindeki çift bağların sayısı ile doğrudan ilgilidir. Bu nedenle fosfolipidlerinde çoklu doymamış bağ içeren yağ asitlerini bulunduran membranlar özellikle lipid peroksidasyonuna dayanıksızdır.

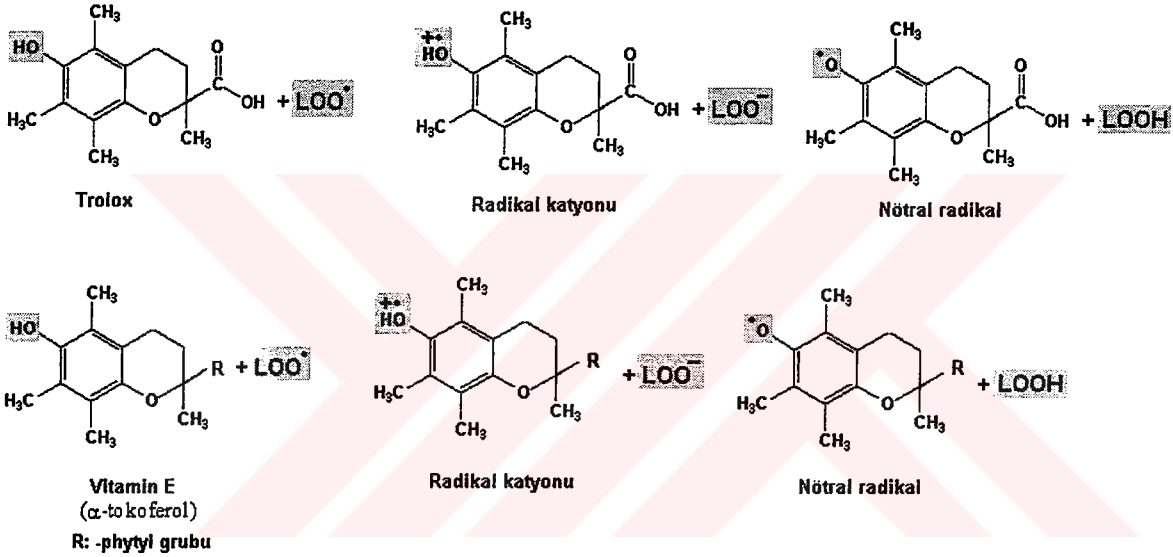
Hayvan ve insanlarda yapılan çalışmalarda tokoferollerin deri, mide, mesane, kolon, karaciğer, akciğer, meme ve prostat kanseri gibi deneysel olarak oluşturulan veya sponstan meydana gelen tümörlerin gelişmesini geciktirici hatta iyileştirici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Morreale and Livrea, 1997; He ve diğ.,1997; Mooney, 1997; Sigounas, 1997). Henning ve arkadaşları oksidatif stres oluşturulan ratlarda kanser gelişimi ve başta α -tokoferol olmak üzere tüm antioksidanlarda yetmezlik gözlediklerini bildirmişlerdir (Henning ve diğ.,1997). Erişkin bireylerin %30'unun sorunu olan hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar antioksidanlardan yetersiz beslenme ile ilişkilendirilmekte, özellikle Vitamin E eksikliğinin rolü üzerinde durulmaktadır (Galley ve diğ., 1997).

Troloxun hücre içi kinaz kayıplarını önleyerek ya da en aza indirgeyerek oksidasyonu ve diğer yıkımları önleyebileceği şeklinde bir mekanizmadan söz edilmektedir (Van-Der-Meulen, 1997). Aynı yolla kaslarda egzersize bağlı oksidatif stresin giderildiği, kasların fiziksel performansının artırıldığı, ve dejeneratif nörolojik hastalıkların önlenildiği sanılmaktadır (Hirose ve diğ., 1997; Westermarck ve diğ., 1997). Günümüzde farklı hekimlik disiplinleri bu doğrultuda, cerrahi girişimlerin öncesinde ve

sonrasında antioksidan kapasiteyi güçlendirmeye yönelik uygun tedavi alternatiflerini önermektedir.

Troloxun antioksidan etkisinin tartışıldığı bir alan da senil fizyolojisindeki rolüdür. Yaşlanma ile birlikte bozulan oksidan-antioksidan denge sinir hücreleri dejenerasyonunun hızlanmasında etkindir. Bu nedenle pek çok bilimsel çalışma Trolox gibi güçlü antioksidanların alımı ile yaşlılıkta görülebilen sinirsel sorunların ve hafıza kaybının azaldığını ileri sürmektedir (Van-Derm-Meulen ve diğ., 1997; Wen ve diğ., 1997; Westermarck ve diğ., 1997).

Troloxun radikallerle etkileşimi şu şekilde olmaktadır. (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Trolox ve Vitamin E'nin serbest radikallerle etkileşimi

2.9.Hidrokinon

Hidrokinon kokusuz, renksiz, prizmalı kristalize, beyaz ve katı bir maddedir. Hava ve ışık etkisi ile hafifçe sararır. Suda, alkol, aseton ve klorlu hidrokarbonlarda çözünür. Higroskopik bir madde olan hidrokinon, açıkta havanın etkisiyle havanın su buharını çekerek okside olur ve sarı-kahverengi renkli benzokinona dönüşür.

Molekül formülü HO-C₆H₄-OH şeklinde olup rölatif ağırlığı 110,1' dir. Erime noktası 172-175 °C, kaynama noktası 285 °C' dir. Gaz haldeyken yoğunluğu havanın 3,81 katıdır. Katı haldeki yoğunluğu ise 1,3 g/cm³' tür. Kararlı ve yanıcı bir maddedir. Işığa ve havaya (neme) duyarlıdır. 15 °C de 100 ml suda 6 g hidrokinon çözünür. Sucul organizmalar için iyi bir toksik maddedir.

Hidrokinon besin endüstrisinde, yağ, boya ve kauçuk üretiminde antioksidan olarak fotoğrafçılıkta da banyo işlemlerinin yapılmasında kullanılır. Akrilik ve vinilik monomerler için polimerizasyon inhibitörü, sentetik madde üretimi, ilaç sanayii ve bazı organik madde sentezi de diğer kullanım alanları arasındadır. Moleküler yapısı şekildeki gibidir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Hidrokinon

Hidrokinon mukozalarda ve ciltte iritasyon yapar, alerjik reaksiyonlara yol açar. Özellikle gözde önemli zararlara neden olur. Kornea ve lensi leze ederek görme bozuklukları ve körlüğe kadar varan kalıcı rahatsızlıklara neden olur. Alkali doku sıvılarında okside olarak benzokinona dönüşür. Hidrokinon için peroral letal doz 5-12 g dır. Peroral 1 g hidrokinonla bile genel belirtiler ortaya çıkar. Bunlar; bulantı, kusma, anemi, miyoklonik kas krampları ve konvülsiyonlar, dispne,, siyanoz, delir, kollaps, bazen hemoliz krizi, methemoglobinemi, diyare, göz zararları fotofobi, iritasyon belirtileri ve keratokonjuvit şeklinde ortaya çıkabilir. Hidrokinonla çalışırken koruyucu elbise, eldiven, gözlük ve gaz maskesi önerilmektedir. Ayrıca çalışılan ortamın havalandırma koşulları da uygun olmalıdır.

Günümüzde hidrokinonlu kremler hiperpigmentasyonda deri tedavisinde kullanılmaktadır.

Günümüzde yapılan çalışmalarda hidrokinonun kötü huylu kanser dokusunun gelişmesinde etkili olduğu gözlenmiştir. Ratlarda ise; mesane, mide, karaciğer, özafagus, pankreas, akciğer karsinogenezinde artış gözlenmiştir. Farelerde hepatosellüler adenomlara neden olurken, ratlarda renal tübül adenomlarının oluşumunu sağlamıştır. Ayrıca renal hücre tümörlerini ilerletirler. Başlıca böbrek ve ön midede toksik etki gösterir.

İntraperitoneal olarak verildiğinde genotoksisiteye neden olmuş ve kromozomların yapısında deformasyon oluşturmuştur. Tüm bunlara rağmen hidrokinonun insan karsinogenezindeki rolü tam olarak ispatlanamamıştır.

Karrer ve arkadaşları 1938 de phytylbromid ile trymethylhydroquinonu birleştirerek ilk olarak α -tokoferolü sentezlemişlerdir.

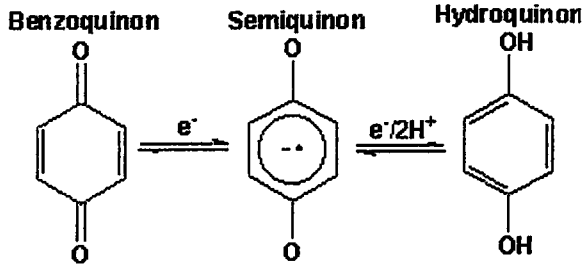
Kanın pıhtılaşmasının gerçekleşebilmesi için vitamin K gereklidir. Burada vitamin K'ya bağlı faktörlerin aktif olabilmesi için vitamin K'nun hidrokinon formu gereklidir. Hidrokinon-vitamin K, oksidasyon yoluyla epoksit-vitamin K'ya bu da daha sonra tekrar siklik form olan hidrokinon formuna iki ayrı redüktaz tarafından döndürülür.

Hidrokinon ayrıca fotoğrafçılıkta yüksek kontrast sonuç elde etmek için kullanılan maddedir. Metol/fenidol adlı maddelerle birlikte kullanıldığında ise genel amaçlı ince gren boyaların yapılmasına yarar.

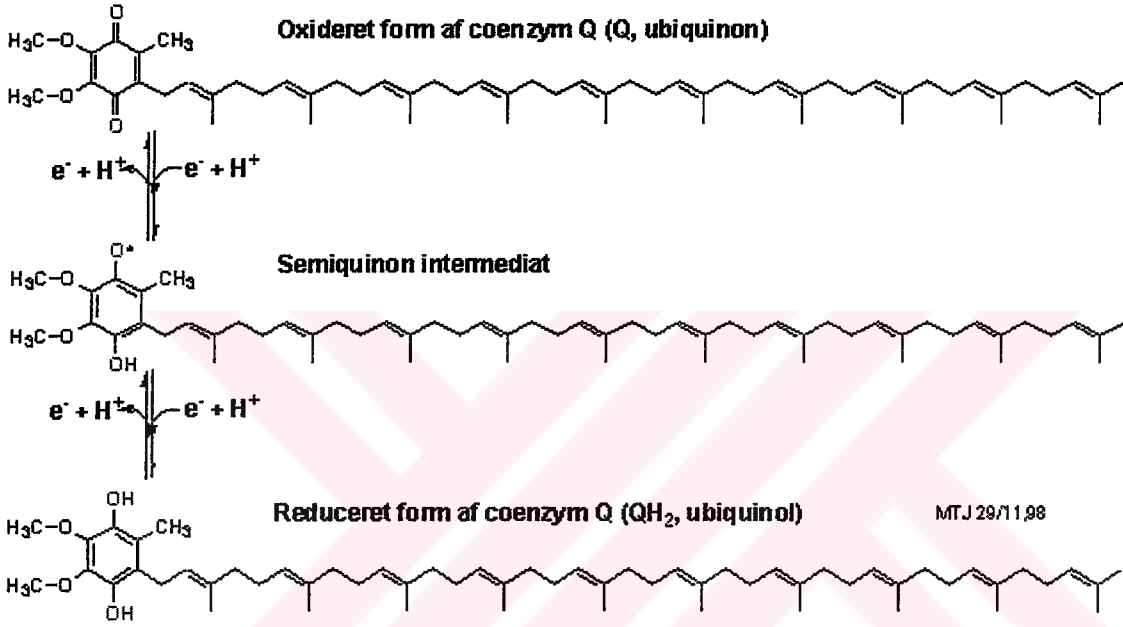
Hidrokinonun en önemli görevlerinden biri de mitokondri iç zarlarına yerleşmiş olan ETS (elektron taşıma sistemi) deki e^- taşıma görevidir. Bu şekilde oksijen kaçağını önleyerek antioksidan savunmaya yardım eder. Bir molekülden diğer moleküle hidrojen atomu yahut e^- verilirse bu reaksiyona oksidasyon-redüksiyon denir. Hidrojeni yahut e^- veren molekül okside olmuştur. Bunları alan molekül ise redükte olmuştur (indirgenmiştir). Bir madde okside olmuş ise, diğer madde de redükte olmuştur.

Mitokondride sitrik asit döngüsündeki çeşitli kimyasal değişimler sırasında glikozun karbon zinciri kırılır, karbondioksit meydana gelir ve ayrılan hidrojenler NAD^+ tarafından tutulur. Bir molekül NAD^+ iki elektron ve iki proton alır. Proton ve elektronun birisi NAD^+ 'ın bir karbon atomuna bağlanır, diğer elektron molekülün pozitif yükünü nötralize eder.

Ubikinon membran lipidleri arasında erir ve bu nedenle mobil olabilir. Yani membran içinde hareket edebilir. Şimdi iki hidrokinon membranın iç yüzünden dış yüzüne doğru hareket eder. Burada iki hidrokinon birer elektronlarını sitokrom C_1 'e verirler ve her biri birer protonu mitokondri dışına bırakırlar. Hidrokinonlar semikinon haline dönüşürler. Buraya kadar mitokondri dışına verilen proton sayısı dördür. Birer proton taşıyan semikinonlar bu protonlarını mitokondri dışına verirler. Elektronlarını da sitokrom-b 'ye vererek tekrar kinon haline dönüşürler ve tekrar ubikinon döngüsüne girerler. Böylece altı proton mitokondri dışına verilmiş olur. Hidrokinonun buradaki görevi ETS de görev olarak canlının yaşamını devam ettirmesi için gerekli olan ATP'nin üretilmesidir (Noyan, 1998).



Şekil 2.11. (a)



Şekil 2.11. a.b. ETS de bulunan benzokinon, semikinon ve hidrokinon molekülleri arasındaki elektron alış-verişi

Şekil 2.11.(b)

Hidrokinon şu şekillerde de adlandırılmaktadır;

Hydroquinol, quinol, p-benzenediol, 1,4-benzenediol, p-dihydroxybenzen, p-hydroxyphenol, 1,4-dihidihydroxybenzen, dihydroxybenzen.

Hidrokinon için toksik olarak şu veriler verilmiştir.

Oral yola hamsterlarda LD₅₀: 29 mg/kg, oral yolla ratlarda LD₅₀: 320 mg/kg intraperitonal yolla tavşanlarda : 125 mg/kg, memelilerde 5970 mg/kg değerlerinin üzeri toksiktir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Kullanılan Maddeler ve Organik Çözücüler

7,12-dimetil benz[a]antrasen, trolox, hidrokinon, metanol, kloroform, n-hekzan, susuz sodyum sülfat, sülfürik asit, doymuş ve doymamış yağ asidi metil esteri standartları, sodyum klorür, susuz sodyum bikarbonat.

3.2.Kullanılan Alet ve Cihazlar

Mikser, teflon, musluklu ayırma hunisi, beyaz bant, süzgeç kağıdı, otomatik pipetler, su banyosu, evaporatör, gaz kromatografisi, derin dondurucu, su trompu, nuçe erleni, nuçe hunisi, mezür, balon joje, pipet, deney tüpleri.

3.3.İnceleme Materyali

Bu çalışmada deney materyali olarak Elazığ Hayvan Sağlığı ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen 28 adet 9-11 aylık beyaz renkli ratlar kullanılmıştır.

3.4.Materyal

Deneyde, her grup 7 adet rat içermek üzere 4 ayrı grup oluşturuldu. Gruplardan birincisi kontrol, ikincisi DMBA , üçüncüsü DMBA+Trolox, dördüncüsü ise DMBA+Hidrokinon grubu olarak kullanıldı. Bu gruplara 2 ay boyunca yapılacak enjeksiyonlardaki kimyasal maddelerin derişimleri şunlardır:

Mısırözü yağında çözünmüş 1 g/100 ml DMBA

Mısırözü yağında çözünmüş 8 g/100 ml Trolox

Mısırözü yağında çözünmüş 1 g/100 ml Hidrokinon

Hazırlanan bu maddelerden gün aşırı olmak şartıyla kontrol grubuna mısır özü yağı verildi. İkinci gruba 6mg/kg DMBA, Üçüncü gruba 6mg/kg DMBA+48 mg/kg trolox ve dördüncü gruba 6mg/kg DMBA+48 mg/kg hidrokinon ratların karın boşluğuna enjekte edildi.

3.4.1.Rat Yeminin Bileşimi

Ratlar iki ay boyunca Tablo 3.1.'de bileşimi belirtilen rat yemi ile beslendi.

Tablo 3.1.Rat yeminin bileşimi

YEM MADDELERİ	YÜZDESİ(%)	
Buğday	10	* Deneysel hayvanların içeriği belli olan bir vitamin karışımı ile beslendi. Vitamin karışımı A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12 vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, d-biotin ve kolin klorit'ten oluşmaktadır.
Mısır	22	
Arpa	15	
Kepek	8	
Soya küspesi	26	
Balık unu	8	
Et-kemik unu	5	
Melas	5	
Tuz	5	
*Vitamin karışımı	1.25	
**Mineral karışımı	1.25	** Mineral karışımı ise Manganez, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum, antioksidan ve kalsiyumdan oluşmaktadır.

3.5.Metot

İki ay boyunca yukarıda belirtildiği şekilde muamele edilen ratlar alınarak eterle bayıldıktan sonra boyun kemikleri kesilerek öldürüldü. Ratların karaciğer, kas ve beyin dokuları çıkarıldı. Çıkarılan bu dokular kanından temizlendikten sonra alüminyum folyoya sarılarak -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Deneysel için derin dondurucudan çıkarılan organların oda sıcaklığında çözünmesi sağlandı.

Bu dokuların total lipit ekstraksiyonu Christie (1992)'de belirtilen Folch ve arkadaşlarının metoduna göre kloroform-metanol (v/v, 2:1) ile yapıldı. Lipit olmayan safsızlıkları uzaklaştırmak için ekstrakt, hacminin ¼'ü kadar % 0.88'lik KCl ile yıkandı. Faz ayırımından sonra altta kalan kloroform fazı ¼'ü kadar metanol - % 0.88'lik KCl (v/v, 1:1) ile yıkanarak elde edilen lipit ekstraktı tamamıyla diğer safsızlıklardan uzaklaştırıldı. Susuz sodyum sülfat ile suyu uzaklaştırıldıktan sonra döner buharlaştırıcıda 45 °C' de vakumlanarak kurutuldu. Geriye kalan lipit kısmı 30 ml kloroformda çözülerek elde edilen total lipit içinde bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizi yapılabilmesi için metil esterleri hazırlandı.

3.5.1. Metil Esterlerinin Hazırlanması

Total lipit numunesinden 10 ml alınarak çözücüsü 50 °C'de döner buharlaştırıcıda azot akımında uçuruldu. 3 ml toluende çözülerek üzerine % 2'lik sülfürik asitli metanol'den 10 ml ilave edildi ve 50 °C'de su banyosunda 12 saat süreyle metillendirilmeye bırakıldı. Üzerine oda sıcaklığında % 5'lik sodyum klorürden 5 ml ilave edildi ve oluşan yağ asidi metil esterleri 2 defa 5 ml'lik hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı ayırma hunisine alınarak 5 ml % 2'lik potasyum bikarbonat ile yıkandı ve hekzan fazı alınarak susuz sodyum sülfat ile suyu uzaklaştırıldı. Daha sonra çözücüsü döner buharlaştırıcıda azot akımında kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve 2 ml hekzanda çözülerek gaz kromatografisinde analiz edildi (Unicam 610 Gas Chromatography).

Gaz kromatografisinin çalışma şartları şunlardır:

Dedektör: FID

Kolon: 25 m uzunluğunda 0.22 mm iç çapında BPX-70 kapiler kolon

Taşıyıcı Gaz : Hidrojen

Sıcaklık Programı:

Enjektör: 240 °C

Dedektör: 280 °C

Kolon: 190 °C

Split Oranı: 60:1

Enjeksiyon Miktarı: 0.2 µl

Bu şartlarda ölçümler yapıldıktan sonra sonuçlar tablo haline getirildi ve bir bilgisayar programı olan SPSS (Statistical Packages for Social Science) ile grup verileri arasındaki istatistiksel ilişkiler bulundu.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada ratlar ; kontrol, DMBA, DMBA + Trolox ve DMBA + Hidrokinon gruplarına ayrılarak beyin, karaciğer ve kas dokularında 16:0 (palmitik asit), 18:0 (stearik asit), 18:1 (oleik asit), 18:2 (linoleik asit), 18:3 (linolenik asit), 20:4 (araşidonik asit) ve 22:6 (dokosahegzaenoik asit) yağ asitleri analiz edildi.

Tablolar incelendiğinde (Tablo 4.1., Tablo 4.2., Tablo 4.3.) doymuş yağ asidi miktarlarının en çok kas dokusunda, en az ise beyin dokusunda olduğu gözlenmektedir. Kas dokusunda doymuş yağ asidi oranının fazla olmasının temel nedeni doymuş yağ asitlerinin enerji elde etmek amacıyla depolanmasıdır. Ayrıca doymamış yağ asidi miktarı incelendiğinde ise en çok beyin dokusunda, en az ise kas dokusunda olduğu tespit edilmiştir. Yağ asitleri arasında özellikle 22:6'nın beyin dokusunda diğer dokulara göre çok daha fazla olduğu göze çarpmaktadır. Yapılan bir çok çalışmada beyin dokusunun gelişiminde ve işlevini yerine getirmesinde dokosahegzaenoik asit ve araşidonik asidin önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Gibson and Makrides 1998; Green and Yavin 1998; Youdim ve diğ., 2000; Carlson 2001; Uauy ve diğ., 2001; Wainwright 2002). Toplam PUFA miktarlarına bakıldığında beyin dokusunda diğer iki dokuya göre PUFA miktarının da oldukça fazla olduğu gözlenmektedir. Bu da beyin dokusunun PUFA yönünden oldukça zengin olduğunu göstermektedir (Gibson and Makrides 1998; Green and Yavin 1998; Youdim ve diğ., 2000; Carlson 2001; Uauy ve diğ., 1996, 2000, 2001; Wainwright 1992-a, 2002-b; Innis 2000).

Tablo 4.1 incelendiğinde 16:0 ve 18:0 oranları için gruplar arasında istatistiksel bir fark yoktur. 18:1 oranı DMBA grubunda artmasına karşılık DMBA + Trolox ve DMBA + Hidrokinon gruplarında bu oran kontrol grubu değerine daha yakındır. Aynı durum 18:2 içinde geçerlidir. Fakat 18:2 için gruplar arasında istatistiksel bir fark yoktur. Bilindiği gibi 18:1 ve 18:2 yağ asitleri diğer PUFA'ların sentezinde öncü madde olarak kullanılırlar. 18:1 ve 18:2 miktarlarının artmasının muhtemel nedeni DMBA'nın 18:1 ve 18:2'yi diğer PUFA'lara dönüştüren enzimin çalışmasını engellemesidir (Kevin ve diğ., 1988). Tablo 4.1. incelendiğinde 18:3, 20:4 ve 22:6 oranlarının da düştüğü gözlenir. Bu verilerden yola çıkarak özellikle troloxun koruyuculuk etkisinden söz etmek mümkün olabilir. Bilindiği gibi PUFA'lar birden fazla çift bağ taşıdıklarından dolayı oksidasyona oldukça açıktırlar. 18:3 oranları için gruplar arasında istatistik bir fark gözlenmemiştir. 20:4 miktarı DMBA grubunda oldukça düşmüştür. Buradan

DMBA'nın beyin dokusundaki PUFA'ları lipid peroksidasyonuna uğrattığı veya DMBA'nın 20:4 sentezinde kullanılan enzimlerin çalışmasını inhibe ettiği söylenebilir. DMBA+Trolox grubunun 20:4 değerlerine baktığımızda bu değer DMBA grubuna göre oldukça yükseldiğini görmekteyiz ($p<0,01$). Bu da troloxun lipid peroksidasyonunu önlemesinin veya inhibe olan enzimleri aktive etmesinin bir göstergesi olabilir. Aynı durum 22:6 içinde geçerlidir. DMBA grubunda 22:6 miktarı oldukça düşmektedir. Bu sonuçlarda DMBA'nın 22:6'yı ya lipid peroksidasyonuna uğrattığını ya da 22:6 sentezini engellediğini düşündürmektedir. Bu engellemede DMBA'nın 22:6'nın sentezinde görev alan enzimlerin inhibe edilmesiyle olabilir. DMBA+Trolox grubunun değerleri incelendiğinde 22:6 oranının tekrar kontrol grubu değerlerine çekilmeye çalışıldığı görülür (Tablo 4.1.). Bu verilerden yararlanılarak troloxun DMBA'nın zararlı etkilerini ortadan kaldırmada başarılı olduğu söylenebilir. Toplam doymuş ve toplam PUFA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Toplam doymamış yağ asidi oranları incelendiğinde DMBA grubunda istatistiksel bir düşüş vardır. DMBA ve DMBA+Trolox grupları karşılaştırıldığında DMBA+Trolox grubunun kontrol değerlerine çok yakın olduğu gözlenir. Bu verilerde troloxun doymamış yağ asitlerini korumaya çalışmasının bir göstergesi olabilir.

Tablo 4.1. Beyin Dokusu Yağ Asidi Seviyeleri (%)

Yağ asitleri	Kontrol	DMBA	DMBA+Trolox	DMBA+Hidrokinon
16:0	22.46±1.70 ^a	24.01±1.63 ^a	21.92±1.13 ^a	23.98±1.74 ^a
18:0	18.36±1.09 ^a	19.00±1.14 ^a	19.76±1.48 ^a	18.75±1.07 ^a
18:1	14.12±0.87 ^a	17.46±2.00 ^b	16.39±0.76 ^b	16.28±1.14 ^b
18:2	24.16±2.01 ^a	26.41±1.43 ^a	23.95±1.46 ^a	27.01±1.61 ^a
18:3	0.81±0.01 ^a	0.78±0.03 ^a	0.70±0.08 ^a	0.80±0.01 ^a
20:4	8.40±0.19 ^d	4.49±0.42 ^a	7.36±0.18 ^c	5.12±0.35 ^a
22:6	11.69±0.26 ^c	7.85±0.76 ^a	9.63±0.46 ^b	8.06±0.87 ^a
Σ Doymuş	40.82±2.12 ^a	43.01±2.26 ^a	41.68±2.01 ^a	42.73±2.38 ^a
Σ Doymamış	59.18±1.75 ^b	56.99±1.98 ^a	58.43±2.04 ^b	57.27±1.51 ^a
Σ PUFA	45.06±1.72 ^b	39.53±1.66 ^a	41.64±2.08 ^a	40.99±2.32 ^a
^a $p>0.05$ ^b $p<0.05$ ^c $p<0.01$ ^d $p<0.001$				

Tablo 4.2. Karaciğer Dokusu Yağ Asidi Seviyeleri (%)

Yağ asitleri	Kontrol	DMBA	DMBA+Trolox	DMBA+Hidrokinon
16:0	30.46±2.05 ^a	31.07±1.98 ^a	30.37±2.16 ^a	32.35±2.31 ^a
18:0	14.25±1.01 ^c	8.26±0.93 ^a	13.76±0.75 ^c	9.13±0.86 ^a
18:1	18.24±1.09 ^a	23.36±1.28 ^b	21.02±1.60 ^b	25.80±1.46 ^c
18:2	23.46±2.03 ^a	26.13±1.35 ^b	23.14±1.70 ^a	25.28±1.49 ^b
18:3	-	0.63±0.01 ^a	0.57±0.03 ^a	-
20:4	8.80±0.30 ^d	4.44±0.28 ^a	6.63±0.34 ^b	4.18±0.26 ^a
22:6	4.79±0.10 ^b	3.11±0.18 ^a	5.21±0.13 ^c	3.26. ±0.21 ^b
Σ Doymuş	44.71±1.86 ^b	39.33±1.79 ^a	44.13±2.17 ^b	41.48±2.01 ^a
Σ Doymamış	55.29±1.75 ^a	57.67±2.19 ^a	56.57±2.22 ^a	58.52±1.88 ^a
Σ PUFA	37.05±2.01 ^b	34.31±1.91 ^a	35.55±1.69 ^a	32.72±1.08 ^a
^a p>0.05 ^b p<0.05 ^c p<0.01 ^d p<0.001				

Tablo 4.2 incelendiğinde gruplarda ölçülen 16:0 oranlarında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Yağ asitleri miktarları incelendiğinde özellikle 16:0 oranının diğer yağ asitlerine göre oldukça yüksek seviyede bulunduğu görülmektedir. Bunun muhtemel sebebi karaciğerin yağ asitlerinin depo edildiği yer olmasıdır. Çünkü bilindiği gibi diğer bir çok yağ asidi 16:0 kullanılarak vücutta sentezlenmektedir. 18:0 oranlarına bakıldığında DMBA grubunda anlamlı bir düşüşün olduğu görülür. DMBA+Trolox grubundaki 18:0 miktarı ise kontrol grubuna daha yakındır ve DMBA grubu ile anlamlı bir istatistik fark vardır ($p<0,01$). Bu sonuçlardan yola çıkarak troloxun koruyuculuk özelliğinden bahsetmek mümkün olur. 18:0 oranının DMBA grubunda azalmasının nedeni DMBA'nın 18:0'ı lipid peroksidasyonuna uğratması olabilir. 18:1 miktarları incelendiğinde ise DMBA grubunda anlamlı bir artış görülmektedir. DMBA+Trolox grubunda ise normale yakın bir değer vardır fakat DMBA grubu ile arada istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. DMBA+Hidrokinon grubunda DMBA grubuna göre daha fazla meydana gelen artış beklenmeyen bir durumdur. Fakat buradan çıkarılabilecek sonuç DMBA ve Hidrokinonun birlikte 18:1'in diğer yağ asitlerine çevrilmesini engelleyerek birikmesini sağlamış olması olabilir. 18:2 oranları incelendiğinde DMBA grubunda anlamlı bir artış görülürken DMBA+Trolox grubunda

kontrol grubuna daha yakın değerlerin olması troloxun koruyuculuk özelliğini akla getirmektedir. Bu koruyuculuk ya lipid peroksidasyonunu engelleyerek ya da 18:2'den diğer yağ asitlerinin sentezinde görev alan enzimleri aktive ederek gerçekleşebilir. DMBA+Hidrokinon grubunda hidrokinonun olumlu bir etkisi gözlenmemektedir. 18:3 açısından gruplar arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Ayrıca kontrol ve DMBA+Hidrokinon gruplarında 18:3 oranı dedeksiyon sınırı altında olduğu için ölçülememiştir. Dikkat edilirse karaciğer dokusunda 20:4 ve 22:6 oranları oldukça düşüktür. Daha önce de belirtildiği gibi 20:4 ve 22:6 yağ asitleri özellikle sinir dokuda yoğun bulunmaktadır. 20:4 oranlarına bakıldığında DMBA grubunda anlamlı bir azalma vardır. DMBA+Trolox grubu ise kontrol grubuna daha yakın bir değerdedir. DMBA+Hidrokinon grubunda ise DMBA grubundan daha fazla bir düşüş gözlenmektedir. Yine bu sonuçlardan yola çıkarak troloxun lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde önlemeye çalıştığı söylenebilir ($p<0,05$). 22:6 içinde aynı durum söz konusudur. DMBA grubunda miktarı düşen 22:6, DMBA+Trolox grubunda tekrar yükselmiştir ($p<0,01$). Bu da troloxun lipid peroksidasyonunu engellediğinin göstergesi olabilir. Toplam doymuş, toplam doymamış yağ asitleri ve PUFA oranlarında gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur.

Tablo 4.3. Kas Dokusu Yağ Asidi Seviyeleri (%)

Yağ asitleri	Kontrol	DMBA	DMBA+Trolox	DMBA+Hidrokinon
16:0	34.15±2.06 ^a	35.02±2.16 ^a	35.26±2.30 ^a	34.46±1.87 ^a
18:0	12.01±1.03 ^a	11.71±1.26 ^a	10.16±0.39 ^a	13.01±0.76 ^a
18:1	17.01±0.46 ^a	18.20±1.09 ^a	19.31±1.38 ^a	18.21±1.16 ^a
18:2	19.34±2.05 ^a	19.33±1.36 ^a	18.21±1.08 ^a	19.48±2.86 ^a
18:3	0.60±0.03 ^a	0.63±0.02 ^a	0.58±0.04 ^a	0.70±0.02 ^b
20:4	11.26±0.38 ^b	09.95±0.78 ^a	10.30±0.46 ^a	10.16±0.28 ^a
22:6	05.53±0.26 ^b	05.16±0.36 ^a	6.18±0.45 ^b	3.98±0.73 ^a
Σ Doymuş	46.16±1.87 ^a	46.73±1.63 ^a	45.42±1.26 ^a	47.47±1.92 ^a
Σ Doymamış	53.74±2.05 ^a	53.27±1.87 ^a	54.58±1.59 ^a	52.53±2.03 ^a
Σ PUFA	36.73±1.19 ^b	35.07±1.71 ^a	37.27±1.19 ^b	34.32±1.44 ^a
^a $p>0.05$ ^b $p<0.05$ ^c $p<0.01$ ^d $p<0.001$				

Tablo 4.3. incelendiğinde doymuş yağ asidi oranı beyin ve karaciğer dokularına oranla daha fazla olduğu görülür. Bunun muhtemel nedeni kas dokusunda depolanan yağ asitlerinin doymuş olmasıdır. DMBA+Hidrokinon grubunda 18:3 oranının yükselmesi 18:3'ün ortamda biriktiğinin bir göstergesidir. 18:3'ün ortamda birikmesinin muhtemel nedeni 18:3'ü diğer PUFA'lara çeviren enzimlerinin işleyişinin bozulmasıdır. Zaten DMBA+Hidrokinon grubuna bakıldığında 20:4 ve 22:6 oranlarının da azaldığı görülür. 20:4 oranları incelendiğinde DMBA grubunda kontrol grubuna göre bir azalma görülür. Bu azalmanın DMBA+Trolox ve DMBA+Hidrokinon gruplarında azaldığını görmekteyiz. Fakat gruplar arasında DMBA grubu ile anlamlı bir fark yoktur. 22:6 oranları için troloxun koruyucu etkisinden söz etmek mümkündür. 22:6 oranının DMBA+Trolox grubunda kontrol grubu ile dengede olduğu görülmektedir. DMBA grubu ile DMBA+Trolox grupları arasında anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$). Bu verilerde troloxun 22:6 üzerine koruyuculuk etkisini akla getirmektedir. Toplam doymuş ve doymamış yağ asitlerinin oranları arasında istatistiksel bir fark gözlenmezken toplam PUFA oranları incelendiğinde troloxun koruyuculuk etkisinden söz etmek mümkün olabilir. Çünkü DMBA grubunda azalan PUFA miktarı DMBA+Trolox grubunda tekrar kontrol değerlerine yakın seviyeye çekilmektedir.

Yağ asitleri, hidrokarbon zincirindeki bağlara göre doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere iki grupta incelenebilir. Doymamış yağ asitleri kolaylıkla okside olabilirler. Özellikle çift bağın sayısının artması oksidasyonu kolaylaştırmaktadır. Yani PUFA'lar (çoklu doymamış yağ asitleri) daha kolay okside olmaktadır. Bilindiği gibi 16:0 (palmitik asit) ve 18:0 (stearik asit) hayvansal lipidlerde en çok bulunan yağ asitleridir. Hayvansal lipidlerde en çok bulunan doymamış yağ asitleri oleik asit (18:1), linoleik asit (18:2) araşidonik asit (20:4) ve dokosahegzaenoik asit (22:6) tir. Birden fazla çift bağa sahip yağ asitleri organizmada sentez edilemez ve mutlaka dışardan alınması gerekmektedir. Aksi durumda büyüme durur, dermatisit oluşur, böbreklerde harabiyet ve hematüri görülür. Ayrıca çoklu doymamış yağ asitleri prostaglandinlerin yapısına katılmaktadır. Hormon özelliği gösterirler yani metabolizmada düzenleyici görev yaparlar. Ayrıca kanın pıhtılaşmasında ve beyin hücrelerinin oluşumunda görevlidirler.

Bilindiği gibi PUFA'lar vücutta sentezlenmez ve dışarıdan alınmak zorundadırlar. Bu yağ asitleri vücutta birçok metabolik faaliyetin gerçekleşebilmesi için elzemdir. W-3 olarak adlandırılan linolenik asit ve dokosahegzaenoik asit beyin dokusu ve göz retinasının oluşumunda majör eleman olarak görev yaparlar. Sinir sistemi içinde

sinir impluslarının transferinde ve özellikle çocukların zeka fonksiyonlarının gelişiminde W-3 yağ asitlerinin etkisi kanıtlanmıştır. Bilindiği gibi kalp hastalıkları ve bazı kanser türleri olmak üzere bir çok hastalıkla aşırı yağlanmanın münasebeti gözlenmiştir. W-3 miktarının fazla olması kötü kolesterol olarak bilinen LDL'yi azaltarak HDL/LDL oranını iyi huylu kolesterol lehine çevirir. W-3 yağ asitleri kan basıncını düzenlemeye yardımcı olur ve kanda akışkanlığı sağlayıcı etkiye sahiptir. W-3 yağ asitlerinin kalp ve koroner hastalıklara karşı koruyucu, meme, barsak ve prostat kanserinde, bağışıklık sistemi hastalıklarında önleyici ve tedavi edici rolü vardır. Atopik egzema gibi bazı deri hastalıklarında tedavi edicidir. Hipertansiyon tedavisinde yararları gözlenmiştir. Ayrıca W-6 olarak bilinen araşidonik asit pek çok fizyolojik sistemi düzenleyen, fizyolojik olarak aktif eikosanoidlerin başlıca ön maddesidir. Bilindiği gibi eikosanoidler hormon özelliği gösteren maddelerdir.

Tüm bunlar göz önüne alındığında, elde edilen verilerin troloxun DMBA'nın zararlı etkilerine karşı özellikle araşidonik asit ve dokosahegzaenoik asit gibi W-6 ve W-3 yağ asitlerini korumaya çalıştığı gözlenmektedir. Troloxun araşidonik asit ve dokosahegzaenoik asit gibi PUFA'ların peroksidasyonu veya ortamda azalmasını engellenmesi özellikle merkezi sinir sistemi, görme ve kalp sorunlarının ortaya çıkmasını önleyecektir. Ayrıca eğer bu azalma DMBA'nın PUFA'ları lipid peroksidasyonuna uğratarak gerçekleşiyorsa oluşan serbest radikallerin diğer zararlı etkilerine karşıda trolox canlıyı korumuş olacaktır. Trolox bilindiği gibi antioksidanlara yapılan çalışmalarda pozitif kontrol olarak kullanılmaktadır (Guohua ve diğ., 1998). Antioksidan olduğu sanılan maddelerin verimliliği ölçülürken trolox standart olarak kullanılmaktadır (Naguip, 2000). Farriol, troloxun oksidatif stresi engellediğini belirtmiştir (Farriol, 1994). İndıra yaptığı çalışmada troloxun peroksinitritin oksidan özelliğini ortadan kaldırdığını belirtmiştir (İndıra, 1999). Ayrıca troloxun neuroprotectant (nöron koruyucu) etkisi vardır. Anneye damar yoluyla verilen trolox ve askorbik asit kompozisyonu sonucu fetal plazmada, antioksidan aktivitede artış ve hipoksiye bağlı gelişen mitokondrial hasarda azalma görülmüştür (Tan ve diğ., 1996)

Sonuçlar bize kanserojen bir madde olan DMBA'nın zararlı etkilerine karşı troloxun koruyucu özelliği olduğunu düşündürmektedir. Bu etki özellikle lipid peroksidasyonuna çok açık olan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) üzerinde daha belirgin olarak görülmektedir. Hidrokinon ise trolox kadar koruyucu özellik göstermezken bazı durumlarda DMBA ile birlikte dokulardaki yağ asidi oranlarını olumsuz yönde etkilemiştir.

5.KAYNAKLAR

- Ansari, N.H., Zhang, W., Fulep, E., Mansour, A., 1998, Prevention of pericyte loss by trolox in diabetic rat retina. University of Texas Medical Branch, 619 Basic Science Bldg., Galveston, TX 77555-0647, USA. Pages 467-475
- Aust, S.D., Svingen, B.A., 1982, Free radical biology, academ. press., 5:1-28
- Babs, C.F., 1990, Free radical and etiology of cancer, Biol. Med., 8, 191-200
- Benedic, A., 1990, Antioxidant vitamins and their functions in immune responses, Adv. Exp. Med. Biol., 262,35-55.
- Bloch, B., Drefuss, W., 1921, Ueber die experimentelle erzeugung carcinomen mit lymphdrüsen und lungmetastasen durch teerbestandteile, Schweiz Med. Wochenschr, 5, 1033-1037
- Bowden, G.T., Slaga, T.J., Shaper, B.G., Boutwell, R.K., 1974, The role of aryl hydrocarbon hydroxylase in skin tumor initiation by 7,12-dimethyl benz[a]anthracene and 1,2,5,6-dibenz[a]anthracene using dna binding and thymidine h incorporation into dna as criteria, Cancer Research, 34, 2634-2642
- Carlson, SE., 2001, Docosahexaenoic acid and arachidonic acid in infant development. Semin Neonatal. Oct;6(5):437-49
- Cavarocchi, NC., England, MD., O'Brien, JF., et al: 1986, Superoxide generation during cardiopulmonary by-pass: is there a role for vitamin E? J Surg Res. 40:519-27
- Christen, S., Woodall, AA., Shigenaga, MK., Southwell, PT., Duncan, MW., Ames, BN., 1997, Gamma-tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO and complements alpha-tocopherol: Physiological Implications. Proc Natl Acad Sci ;1:3217-22.
- Christie, WW., 1992, Gas chromatography and lipids, The Oily Press, Glasgow,307-320
- Connor, WE., Neuringer, M., 1988, The effects of n-3 fatty acid deficiency and repletion upon the fatty acid composition and function of the brain and retina. Prog Clin Biol Res 282:275-94

- Dergel, R., 1992, Lipid peroxidation a common pathogenetic mechanism, *Exp. Toxicol Pathol.*, 44(4): 169-181
- Dormandy, T.L., 1980, Free radical reaction in biological systems, *Ann. Roy. Coll. Surg.*, 82:188-193
- Evelson, P., Ordonez, CP., Llesuy, S., Boveris, A., 1997, Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in mouse skin exposed to UVA radiation. *J Photochem Photobiol B* ;38:215-9.
- Farriol, M., Mourelle, M., Schwartz, S., 1994, Effect of vitamin C and vitamin E analog on aged fibroblasts. *Rev Esp Fisiol* ; 50(4):253-7
- Galley, HF., Thornton, J., Howdle, PD., Walker, BE., Webster, NR., 1997, Combination oral antioxidant supplementation reduces blood pressure. *Clin Sci Colch* ;92:361-5.
- Gaudel, Y., Duvelleroy, M., 1984, Role of oxygen radicals in cardiac injury due to reoxygenation. *Jmol Cell Cardiol*; 16:459-70
- Gibson, RA., Makrides, M., 1998, The role of long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) in neonatal nutrition. *Acta Paediatr Oct*;87(10):1017-22
- Gold, L.S., Slone, T.H., 1992, Rodent Carcinogens, *Setting Priorities Science*, 258, 261-265
- Green, P., Yavin, E., 1998, Mechanism of docosahexaenoic acid accretion in the fetal brain. *J Neurosci Res Apr* 15;52(2):129-36
- Guemouri, L., Lves, A., Herbert, B., 1991, Biological Variability of SOD, GSH-Px and CAT in Blood, *Clin.Chem.*, 37/11, 1932-1937
- Guohua, C., Robert, M., Russell, N., Lischner, L., Ronald, L., 1998, USDA-ARS, Jan Mayer USDA Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University, Boston, MA 02111 and Nutritional Science Department, University of Connecticut, Storrs, CT 06269.
- He, Y., Root, MM., Parker, RS., Campbell, TC., 1997, Effects of carotenoid-rich food extracts on the development of preneoplastic lesions in rat liver antioxidant status. *Nutr Cancer* ;27:238-44.
- Henning, SM., Swendseid, ME., Ivandic, BT., Liao, F., 1997, Vitamins C, E and A and heme oxygenase in rats fed methyl/folate-deficient diets. *Free Radic Biol Med* ;23:936-42.

- Hirose, J., Yamaga, M., Ide, J., Tanoue, M., Takagi, K., 1997, Reduced ischemia-reperfusion injury in muscle: Experiments in rats with EPC-K1, a new radical scavenger. *Acta Orthop Scand* ;68:369-73.
- Hodis, HN., 1996, Effect of alpha tocopherol in patients with coronary artery disease. *JAMA* ;3:91-101.
- Indira, P.K., 1999, Peroxynitrite induced oxidation reactions of two phenolic antioxidants RC & CD Division, Bhabha Atomic Research Centre Trombay, Mumbai-400085, India
- Innis, SM., 2000, The role of dietary n-6 and n-3 fatty acids in the developing brain. *Dev Neurosci Sep-Dec;22(5-6):474-80*
- Jialal I., 1995, The use of vitamin E in cardiovascular disease. *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biol.* 3:110-5
- Kevin H.C., Sean E., Susan P.M., Trevor F.S. 1988, Studies on lipid peroxidation in normal and tumour tissues. *Biochem j.* 250: 247-252
- Ko, KM., Yick, PK., Poon, MK., Ip, SP., 1994, Prooxidant and antioxidant effects of Trolox on ferric ion-induced oxidation of erythrocyte membrane lipids. Department of Biochemistry, Hong Kong University of Science and Technology, Clear Water Bay, Kowloon. *Mol Cell Biochem*, 141:1, 65-70
- Lesko, S.A., Ts'o, P., Yang, S., Zheng, R., 1982, Benzo(a)pyrene radical and oxygen radical involvement in DNA damage, cellular toxicity and carcinogenesis. in free radicals lipid peroxidation and cancer, McBrien D.C.H. And Slater, T.F.(eds.) Academic Press, 401-420 New York
- Machlin, L.J. And Bendich, A., 1987, Free radical tissue damage: protective role of nutrients, *Fabas J.*, 1: 441-445
- Maestro, R.F., 1980, An approach to free radicals in medicine and biology, *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 492:153-168
- Maruyama, H., Watanabe, K., Yamamoto, I., 1991, Effect of dietary kelp on lipid peroxidation and glutathion peroxidase activity in livers of rats given breast carcinogen DMBA, *Nutr. Canc.*, 15, 221-228
- Melnikova, VO., Bezdetsnaya, LN., Brault, D., Potapenko, AY., Guillemin, F., 2000, Enhancement of meta-tetrahydroxyphenylchlorin-sensitized

- photodynamic treatment on human tumor xenografts using a water-soluble vitamin E analogue, Trolox. *Int J Cancer* 1;88(5):798-803
- Mooney, LA., 1997, Contribution of genetic and nutritional factors to DNA damage in heavy smokers. *Carcinogenesis* ;18:503-9.
- Morreale, M., Livrea, MA., 1997, Synergistic effect of glycolic acid on the antioxidant activity of alpha-tocopherol and melatonin in lipid bilayers and in human skin. *Biochem Mol Biol Int* ;42:1093-102.
- Naguib, Y.M.A., 1998, A fluorometric method for measurement of peroxy radical scavenging activities of lipophilic antioxidants *Phytochem Technologies*, 22 Alpha Road, Chelmsford, MA 01824, USA Pages 290-298
- Nohn, N., Jordan, W., Hegner, D., 1981, Identifications of Free Radicals in Respiring Heart Mitochondria by Spin Trapping with the Nitron DMPO, *Febs. Lett.*, 123:241
- Noyan, A., 1998, Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji, Sayfa:68
- Onat, T., Emerk, K., 1997 *Temel biyokimya*, Başsaray Basımevi, İzmir
- Packer, L. 1991, Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr*;53:1050-5.
- Palomaki, A., Malminiemi, K., Metsa-Ketela, T. 1997, Enhanced oxidizability of ubiquinol and alpha-tocopherol during lovastatin treatment. 410:254-8.
- Sigounas, G., Anagnostou, A., Steiner, M., 1997, dl-alpha-tocopherol induces apoptosis in erythroleukemia, prostate, and breast cancer cells. *Nutr Cancer* ;28:30-5.
- Slater, A., Morris, R.S., 1983, Vitamin E and lipid metabolism, *Adv. Lipid. Res.*, 1, 183-185.
- Stratton, SP., Liebler, DC., 1997, Determination of singlet oxygen-specific versus radical-mediated lipid peroxidation in photosensitized oxidation of lipid bilayers: Effect of beta-carotene and alpha-tocopherol. *Biochemistry* ;36:12911-20.
- Tan, S., Liu, YY., Nielsen, VG., Skinner, K., Kirk, KA., Baldwin, ST., Parks, DA., 1996, Maternal infusion of antioxidants (Trolox and ascorbic acid) protects the fetal heart in rabbit fetal hypoxia. Department of Pediatrics, School of Medicine, University of Alabama at Birmingham, 35233-7335,

USA. Division of Neonatology, 525 NHB, Birming (USA), 39/3 (499-503)

- Uauy, R., Hoffman, DR., Peirano, P., Birch, DG., Birch, EE., 2001, Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids Sep*;36(9): 885-95
- Uauy, R., Mena, P., Rojas, C., 2000, Essential fatty acids in early life: structural and functional role. *Proc Nurt Soc Feb*;59(1):3-15
- Uauy, R., Peirano, P., Hoffman, D., Mena, P., Birch, D., Birch, E., 1996, Role of essential fatty acids in the function of the developing nervous system. *Lipids Mar*;31 Suppl:S167-76
- Van-Der-Meulen, JH., McArdle, A., Jackson, MJ., Faulkner, JA., 1997, Contraction-induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats: The role of vitamin E. *J Appl Physiol* ;83:817-23.
- Vartak, S., McCaw, R., Davis, C.S., Robbins, M.E., Spector, A.A., 1998, Gamma-linolenic acid (GLA) is cytotoxic to 36B10 malignant rat astrocytoma cells but not to 'normal' rat astrocytes. Radiation Research Laboratory, Department of Radiology, University of Iowa, Iowa City 52242, USA. Pages 1612-1620
- Wainwright, PE., 1992-a, Do essential fatty acids play a role in brain and behavioral development? *Neurosci Biobehav Rev Summer* ;16(2):193-205
- Wainwright, PE., 2002-b, Dietary essential fatty acids and brain function: a developmental perspective on mechanisms. *Proc Nutr Soc. Feb*;61(1):61-9
- Wen, Y., Doyle, MC., Harrison, RF., Feely, J., 1997, The effect of hormone replacement therapy on vitamin E status in postmenopausal women. *Maturitas* ;26:121-4.
- Westermarck, T., Aberg, L., Santavuori, P., Antila, E., Edlund, P., Atroshi, F., 1997, Evaluation of the possible role of Coenzy Q10 and vitamin E in juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Mol Aspects Med*; 18:259-62.
- Yau, TM., Weisel, RD., Mickle, DAC., et al. 1994, Vitamin E for Coronary By-pass Operations. *J Thorack Cardiovasc. Surg.* 108: 302-10
- Youdim, KA., Martin, A., Joseph, JA., 2000, Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci Jul-Aug*;18(4-5):383-99

- Yu, PB., 1994, Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species, *Physiol. Rev.*, 74:1
- Zino, S., Skeaff, M., Williams, S., Mann, J., 1997, Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants. *BMJ* ;21:1787-91.
- Zintzen, H. 1977, Fat-soluble vitamins in nutrition of ruminants. Basel: La Roche.



ÖZGEÇMİŞİM

1978 yılında Ankara İli Bala İlçesinde doğdum. İlköğrenimimi Bala Duatepe ilkokulunda, ortaokulu Bala Tuna İlköğretim okulunda, lise tahsilimi de Bala Lisesinde 1995 yılında tamamladım. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım. 1999 yılında mezun oldum. 1999 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Şuan İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilimdalı Laboratuvarında biyolog olarak çalışmaktayım.

Mustafa GÜNDÜZ

