

**TAKSOL VERİLMİŞ FARELERDE
(*Mus musculus*) KOENZİM Q'NUN
KARACİĞER RADİKAL SÜPÜRÜCÜ
ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

GÖKHAN ÇOKŞEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu Yüksek Lisans Tez Çalışması 19 Mayıs Üniversitesi PYO.FEN.1904.10.028 nolu Proje
ile Desteklenmiştir.**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENTİTÜSÜ

**TAKSOL VERİLMİŞ FARELERDE (*Mus musculus*) KOENZİM Q'NUN
KARACİĞER RADİKAL SÜPÜRÜCÜ ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

GÖKHAN ÇOKŞEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AKADEMİK DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. EMİNE DIRAMAN

SAMSUN - 2011

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından 27/10/2011 tarihinde yapılan sınav ile Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Zafer EREN

Üye: Prof. Dr. A. Nur ONAR

Üye: Yrd. Doç. Dr. Emine DIRAMAN

ONAY:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

../ .. /2011

Prof. Dr. Hasan GÜMÜŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TAKSOL VERİLMİŞ FARELERDE (*Mus musculus*) KOENZİM Q'NUN KARACİĞER RADİKAL SÜPÜRÜCÜ ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada, taksol verilmiş farelerin (*Mus musculus*) karaciğer radikal süpürücü enzim aktiviteleri üzerine antioksidan koenzim Q'nun etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Bu çalışmada, ağırlıkları 27-52 gr. arasında değişen 64 adet fare kullanıldı. Hayvanlar; koenzim Q, taksol, taksol+koenzim Q ve kontrol olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Her bir grup enjeksiyon sonrası kesim saatlerine göre 4 alt gruba ayrıldı (4, 8, 12 ve 24. saatler). Fareler enjeksiyon öncesi 24 saat aç bırakıldıktan sonra, koenzim Q ve taksol belirtilen dozlarda intraperitoneal olarak verildi. Kontrol grubuna ise herhangi bir madde verilmedi. Hayvanlar belirtilen saatlerde servikal dislokasyonla öldürüldükten sonra karaciğerlerinden doku örnekleri alındı. Sonra bu örneklerle sırasıyla homojenizasyon, sonikasyon ve sentrifugasyon işlemleri uygulandı. Elde edilen süpernatantlardan Lowry metodu ile total protein, malondialdehit (MDA) miktarları ile katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri ölçüldü.

Bulgular değerlendirildiğinde; tek başına koenzim Q verilen grubun karaciğer CAT ve GSH-Px aktivitelerinde inhibisyonlar gözlemlendi, MDA miktarının diğer tüm gruplardan tüm saat dilimlerinde düşük olduğu görüldü. Koenzim Q, taksol ile birlikte verildiğinde GSH-Px ve CAT aktivitelerinde inhibisyonlar gözlemlendi fakat bunlar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca taksol ve koenzim Q birlikte verildiğinde, MDA seviyesi tüm saatlerde kontrol grubundan yüksek ölçüldü fakat sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

Sonuç olarak, koenzim Q'nun karaciğer radikal süpürücü enzim aktiviteleri üzerine olumlu etkileri olduğu ve lipid peroksidasyonunu düşürdüğü söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Koenzim Q, Taksol, Karaciğer, Serbest Radikaller, Serbest Radikal Süpürücü Enzimler

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF COENZYME Q ON THE ACTIVITIES OF LIVER FREE RADICAL SCAVENGING ENZYMES IN TAXOL GIVEN MICE

ABSTRACT

In this study, the effects of antioxidant coenzyme Q were comparatively studied on the activities of the liver free radical scavenging enzymes in Taxol given mice.

64 mice (*Mus musculus*) weighing 27-52 g were used in the study. The mice were divided into 4 groups as CoQ, Tax, Tax + CoQ and control groups. Each group was further subdivided into four subgroups according to time of sacrificing (4., 8., 12. and 24. hours). Taxol and coenzyme Q were injected via intraperitoneally in the doses specified before. The animals in the control group were given no drug. The animals were sacrificed via cervical dislocation and liver samples were taken. The liver samples were then exposed to homogenisation, sonication and centrifugation processes respectively. The supernatants obtained were used to measure total protein levels by the Lowry method, malondialdehyde (MDA) levels, catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities.

When the results were evaluated; in the case of injection of coenzyme Q individually, it was determined that coenzyme Q inhibited liver catalase and glutathione peroxidase activities and MDA levels were the lowest than any other group. In the case of injection of taxol and coenzyme Q together there were inhibition effects in GSH-Px and CAT activities and MDA levels were higher than any other group in all hours. Nevertheless, it was not found statistically significant ($p>0,05$).

In conclusion, we can say that the usage of coenzyme Q has positive effects on the activities of liver free radical scavenging enzymes and on reducing of lipid peroxidation in liver.

Key words: Coenzyme Q, Taxol, Liver, Free Radicals, Free Radical Scavenging Enzymes.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, her türlü çalışmamda hiçbir zaman ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım, değerli hocam Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine DIRAMAN'a,

Çalışmalarında her zaman desteklerini hissettiğim değerli hocalarım, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Zafer EREN'e ve Genel Biyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Banu EREN'e,

İhtiyaçlarımızı ilettiğimizde daima yardımcı olan Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Nazmi POLAT ve tüm Biyoloji Bölüm hocalarına ve bölüm sekreterimiz Hatice ÖZDEMİR'e,

Laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan ve desteklerini esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Gönül AKBAL'a, Araş. Gör. Gülhan ATAGÜN'e, Araş. Gör. İrem GÜRKANLI'ya, Araş. Gör. Yeliz MİROĞLU'na, Araş. Gör. Günnur DEMİRCAN'a, Biyolog Ömür Gülsüm DENİZ'e, Biyolog Burcu DEMİREL'e,

Çalışmalarım sırasında ilgi, yardım ve anlayışlarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fak. Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Murat HÖKELEK'e ve tüm Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan ve desteklerini esirgemeyen, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Flow Sitometri Lab. çalışanı Biyolog Dilek USTA'ya ve tüm Kemoterapi Ünitesi çalışanlarına,

Çalışmam sırasındaki katkılarından dolayı Bend Medikal A.Ş'ye,

Her daim olduğu gibi, tez dönemimde de büyük fedakârlık ve anlayışla, maddi ve manevi beni destekleyen sevgili annem ve babam Nahide ve Metin ÇOKŞEN'e ve ablam Selma ÇOKŞEN YAZAR'a teşekkürler ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Karaciğer.....	4
2.2. Serbest Radikaller.....	6
2.2.1. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	7
2.2.2. Serbest Radikallerin Reaktivitesi ve Reaksiyonları.....	9
2.2.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Oksidatif Stres.....	10
2.2.3.1. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$).....	13
2.2.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	14
2.2.3.3. Hidroksil ($HO\cdot$).....	15
2.2.4. Serbest Radikallerin Zararları.....	16
2.2.4.1. Lipit Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA) Oluşumu..	17
2.3. Antioksidanlar.....	20
2.3.1. Doğal Antioksidanlar.....	22
2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	24
2.3.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	25
2.3.1.3. Katalaz (CAT).....	27
2.3.2. Sentetik Antioksidanlar.....	28
2.4. Koenzim Q.....	29
2.4.1. Koenzim Q'nun Kimyasal Yapısı.....	29
2.4.2. Vücut Koenzim Q Seviyesinin Ölçümü ve Dağılımı.....	30
2.4.3. Vücut Koenzim Q Seviyesindeki Değişiklikler.....	31
2.4.3.1. Karaciğer Hastalıklarında Koenzim Q Seviyesi.....	32
2.4.4. Koenzim Q'nun Biyokimyasal Özellikleri.....	32
2.4.4.1. Koenzim Q'nun Mitokondriyal Elektron Taşıma Zincirindeki Rolü.....	33
2.4.4.2. Koenzim Q'nun Uncoupling Proteinlerin Aktivasyonuna Etkisi.....	34
2.4.4.3. Koenzim Q'nun Transmembran Elektron Taşıma Zincirindeki Rolü.....	35
2.4.4.4. Koenzim Q'nun Apoptosis Sürecindeki Rolü.....	36

2.4.4.5. Koenzim Q'nun Antioksidan ve Prooksidan Fonksiyonu.....	37
2.4.5. Koenzim Q'nun Kanser Tedavisinde Kullanımı.....	39
2.5. Taksol (Paklitaksel).....	41
2.5.1. Taksolün Etki Mekanizması.....	43
2.5.2. Taksolün Yapı-Aktivite İlişkisi.....	45
3. MATERYAL ve METOT.....	46
3.1. Deneylerde Kullanılan Hayvanların Sağlanması.....	46
3.2. Farelere Uygulanan Kimyasal Maddeler.....	46
3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	47
3.4. Çalışmalarda Kullanılan Aletler.....	47
3.5. Deney Protokolü.....	47
3.5.1. Araştırma Grupların Oluşturulması	47
3.5.2. Enjeksiyon	48
3.5.3. Sakrifikasyon ve Sonrasındaki İşlemler.....	48
3.5.4. Aktivite Tayini Öncesi İşlemler.....	49
3.5.5. Total Protein Tayini.....	49
3.5.6. MDA Tayini.....	51
3.5.7. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	53
3.5.7.1. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini.....	53
3.5.7.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivite Tayini.....	54
3.6. İstatistiksel Analiz.....	55
4. BULGULAR	56
4.1. Taksol'ün Karaciğer MDA Miktarı Üzerine Etkisi.....	56
4.2. Koenzim Q'nun Karaciğer MDA Miktarı Üzerine Etkisi.....	56
4.3. Koenzim Q + Taksol'ün Karaciğer MDA Miktarı Üzerine Etkisi.....	57
4.4. Taksol'ün Karaciğer Katalaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	58
4.5. Koenzim Q'nun Karaciğer Katalaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	58
4.6. Koenzim Q + Taksol'ün Karaciğer Katalaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	59
4.7. Taksol'ün Karaciğer Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	60
4.8. Koenzim Q'nun Karaciğer Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	60
4.9. Koenzim Q + Taksol'ün Karaciğer Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	61

5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	68
7. KAYNAKLAR.....	69
8. ÖZGEÇMİŞ.....	80

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Normal karaciğerin üç boyutlu görünümü.....	4
Şekil 2.2. İki hidrojen radikalının kovalent bağ ile radikal özellikte olmayan moleküler hidrojen oluşturmaları.....	6
Şekil 2.3. Serbest radikaller ve hücre hasarı.....	8
Şekil 2.4. Reaktif oksijen ve membranda zincir reaksiyon.....	11
Şekil 2.5. Lipid peroksidasyonu.....	18
Şekil 2.6. Serbest radikalın antioksidan ile nötralize edilmesi.....	20
Şekil 2.7. Doğal antioksidan grupları ve görevleri.....	22
Şekil 2.8. Hücre içi enzimatik antioksidanların etki mekanizması.....	23
Şekil 2.9 Süperoksit dismutaz.....	24
Şekil 2.10. Glutasyon peroksidaz.....	26
Şekil 2.11. Glutasyon döngüsü.....	26
Şekil 2.12. Katalaz.....	27
Şekil 2.13. Koenzim Q'nun kimyasal yapısı.....	29
Şekil 2.14. Elektron taşıma zinciri ve koenzim Q'nun rolü.....	33
Şekil 2.15. Q döngüsü.....	34
Şekil 2.16. Koenzim Q etkisinde uncoupling protein aktivasyonu.....	35
Şekil 2.17. Koenzim Q bağımlı transmembran elektron taşıma sistemi	36
Şekil 2.18. Oksidatif stres yoluyla hücre ölümünde koenzim Q'nun düzenleyici rolü	37
Şekil 2.19. Paklitaksel'in kimyasal yapısı.....	41
Şekil 2.20. Paklitaksel'in (taksol) üç boyutlu yapısı.....	41
Şekil 2.21. Mikrotübüller.....	43
Şekil 2.22. Mikrotübülün şematik yapısı.....	44
Şekil 2.23. Taksolün yapı-aktivite ilişkisi.....	45
Şekil 3.1. Swiss albino tipi laboratuvar faresi (<i>Mus musculus</i>).....	46
Şekil 3.2. Perfüzyon öncesi ve perfüzyon sonrası görünüm.....	49
Şekil 3.3. Standart olarak kullanılan BSA'nın farklı konsantrasyonlardaki absorbansları.....	51
Şekil 3.4. Standart olarak kullanılan TMP'nin farklı konsantrasyonlardaki absorbansları.....	52

Şekil 4.1. Taksol ve koenzim Q verilmiş gruplarda karaciğer MDA miktarının zamana göre değişimi.....	56
Şekil 4.2. Taksol ve Koenzim Q + Taksol verilmiş gruplarda karaciğer MDA miktarının zamana göre değişimi.....	57
Şekil 4.3. Taksol ve Koenzim Q verilmiş gruplarda karaciğer katalaz aktivitesinin zamana göre değişimi.....	58
Şekil 4.4. Taksol ve Koenzim Q + Taksol verilmiş farelerde karaciğer katalaz aktivitesinin zamana göre değişimi.....	59
Şekil 4.5. Taksol ve Koenzim Q verilmiş gruplarda karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesinin zamana göre değişimi.....	61
Şekil 4.6. Taksol ve Koenzim Q + Taksol verilmiş farelerde karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesinin zamana göre değişimi.....	61

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Hücrelerde Serbest Oksijen Radikal Kaynakları.....	9
Çizelge 2.2. Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları	12
Çizelge 2.3. Reaktif Oksijen ve İlişkili Türevleri	13
Çizelge 2.4. Antioksidan Enzimlerin Sınıflandırılması	21
Çizelge 3.1. Araştırma gruplarının oluşturulması.....	48
Çizelge 4.1. Karaciğer MDA miktarına göre tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel ifadeleri (p değerleri).....	58
Çizelge 4.2. Karaciğer katalaz aktivitesine göre tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel ifadesi (p değerleri).....	60
Çizelge 4.3. Karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesine göre tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel ifadesi (p değerleri).....	62

KISALTMALAR

BHT	Bütil Hidroksitoluen
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HO [•]	Hidroksil radikali
⁻ OCl	Hipoklorit
CAT	Katalaz
CoQ	Koenzim Q, Ubikinon
LOO [•]	Lipit Peroksil radikali
LOOH	Lipid Hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Hidrojen
NDGA	Nordihidroguaiaretik asid
NOX	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Oksidaz
GSSG	Okside Glutasyon
HO ₂ [•]	Perhidroksi radikali
PMQR	Plazma Membranı Koenzim Q Redüktaz
BSA	Sığır Serum Albümin
¹ O ₂	Singlet oksijen
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
O ₂ ^{•-}	Süperoksit radikali
SOD	Süperoksit dismutaz
TBHQ	Tert-Bütilhidrokinon
TMP	1,1,3,3 tetrametoksipropan
TBA	2-Tiyobarbitürik Asit
QH ₂	Ubikinol
UCP	Uncoupling protein

1. GİRİŞ

Çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar sonucu hücre tarafından üretilen, yapısında eşleşmemiş elektron bulunduran, yüksek oranda reaktif moleküllere serbest radikal denir. Serbest radikaller başlıca DNA ve lipidler gibi önemli hücresel elemanlara ve diğer biyomoleküllere zarar verirler. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Yamamoto ve ark. 1998).

Reaktif oksijen türlerini ortadan kaldıran veya oluşumunu önleyen enzimatik ve nonenzimatik moleküllere antioksidan denir. Enzimatik antioksidanlara örnek olarak glutatyon peroksidaz, katalaz, tioredoksin redüktaz ve peroksiredoksin, nonenzimatik antioksidanlara örnek olarak ise E vitamini, C vitamini, karotenoidler, flavinoidler ve koenzim Q'nun indirgenmiş formu olan ubikinol verilebilir (Turunen ve ark. 2004).

Tüm canlılar için vazgeçilmez bir element olan oksijen; hidrojen, karbon, azot ile birlikte organik moleküllerin yapısına girerler. Anaerob canlılar dışındaki tüm bitki ve hayvanların enerji metabolizmalarında oksijenin hayati bir önemi vardır. Canlı metabolizmasında oksijenin kullanımı sırasında düşük konsantrasyonlarda reaktif oksijen türleri oluşmakta fakat enzimatik süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve enzimatik olmayan α - tokoferol, melatonin, askorbik asit gibi antioksidant sistemler tarafından etkisiz hale getirilerek uzaklaştırılmaktadır (Halliwell ve Arumoa, 1991).

Yaşadığımız modern çağın en ciddi hastalığı olan kanser, insanlarda ölümlere yol açan nedenler arasında önemli bir yer tutmaktadır. Gelişmiş toplumlarda kanser kaynaklı ölümler ilk sırada yer alırken, gelişmekte olan ülkelerde ise bu oran giderek artmaktadır. Kanser ile mücadelede günümüzde çok ciddi çabalar ve çok büyük bütçeler harcanmaktadır. Buna rağmen kanser, insan sağlığını tehdit eden birincil faktör olma özelliğini muhafaza etmektedir (McCormick, 1999).

Kemoterapi, kanser hücrelerini yok etme amacıyla sitotoksik ajanların kullanımıdır. Kemoterapik ajanların kullanımı ilk olarak 1500'lü yıllarda ağır metallerin kullanımına dayanırken, günümüzde halen daha kanser tedavisinde birincil olarak veya radyoterapi, immunoterapi ve cerrahi gibi tedavi yöntemlerine yardımcı olarak kullanımı devam etmektedir (Chabner, 2006). Diğer yandan antineoplastik ajanlar serbest radikallerin biyolojik kaynaklarındandır. Bu ajanlar sitotoksik etkilerine bağlı olarak lipid peroksidasyonunu artırmaktadırlar (Akkuş, 1995).

DNA bazlarının oksidasyonu zincirleme bir süreçtir. Kromatin, oksidatif DNA hasarına karşı bazı koruyucu ve tamir edici mekanizmalar geliştirebilir, oksidatif mutasyonları düzeltebilir ya da önleyebilir. Fakat, iç ve dış kaynaklı oksidanlar bu savunma mekanizmalarının üstesinden gelebilmekte ve mutasyonlar olabilmektedir. Oksidatif strese şiddetli ve uzun süreli maruz kalma, kanser oluşumunun tüm safhalarını etkileyebilmektedir (Guyton ve Kensler, 1993). Serbest radikal üreten birçok bileşiğin, *in vivo* şartlarda tümör oluşumunu ilerlettikleri görülmüştür. Peroksit ve hidroperoksitler de aynı etkiyi gösterirler (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Serbest radikal reaksiyonlarının ilk hedefi membran lipidlerindeki doymamış bağlardır. Meydana gelen peroksidasyon; membran akıcılığında, reseptör dizisinde ve hücresel dayanma potansiyelinde düşmeye neden olur (Baykal ve Kocabalkan, 2000). Eğer lipid peroksidasyonu sonlanmazsa bu zincir reaksiyon, hücre membranlarının yıkımına, lipozomal enzimlerin salınımına ve nihayetinde otolize neden olur (Mimić-Oka ve ark., 1999).

Taksol (Paklitaksel) klinikte kullanılan en önemli doğal antikanser ilaçlarından biridir. Ovaryum kanseri, metastazik göğüs kanseri, akciğer non-small cell karsinoma, AIDS'le ilişkili Kaposi Sarkoması, baş ve boyun tümörlerini de içeren geniş varyetede tümörlere karşı laboratuvar ve klinik araştırmalarda önemli etki göstermiştir (Guo ve ark., 2005). Bunun yanında önemli toksik yan etkileri de vardır. Taksolün rat karaciğerinde mitokondriyal geçirgenliği ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) salınımını anlamlı bir şekilde arttırdığı saptanmıştır (Varbiro, 2001).

Koenzim Q (CoQ, ubiquinone), tüm hayvansal hücrelerde ve dokularda bulunmaktadır. Mitokondri iç membranında önemli bir elektron taşıyıcısı olmasının yanında, önemli bir antioksidandır. İndirgenmiş formu olan ubiquinol (CoQH₂), zincir kırıcı bir antioksidan işlevi görerek lipid peroksidasyonunu azaltır ve indirekt olarak bir diğer antioksidan olan α -tokoferol'ün (E vitamini) geri dönüşümünü sağlar (James ve ark., 2003).

Koenzim Q'ya kanser tedavisinde tedavi edici bir ajan olarak yaklaşılabileceği fikri ilk kez 1961'de, göğüs kanserine yakalanmış İsveçli ve Amerikalı hastaların kanlarındaki koenzim Q eksikliğinin fark edilmesiyle başlamıştır (Folkers ve ark. 1997). Koenzim Q'nun kanser için teklif edilen etki mekanizmaları, onun antioksidan fonksiyonunun yanı sıra hücresel enerji üretimindeki temel rolünü ve bağışıklık sistemini uyarmasını kapsamaktadır (Iarussi ve ark. 1994).

Çeşitli metabolik etkenler sonucunda meydana gelen süperoksit radikalleri, canlılarda oksidatif hasarlara yol açarak canlı yaşamı üzerinde olumsuz etkiler bırakabilmektedir. Bu hasarların canlı yaşamının ilerleyen safhalarında oluşturacağı olumsuz sonuçları engelleyebilmek için serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve etki mekanizmalarının açığa çıkarılması, bu mekanizmaların nasıl bertaraf edilebileceğinin araştırılması günümüzde bilimin önemli bir alanını oluşturmaktadır.

Sözkonusu gerçekler ışığında bu çalışmada, kemoterapide yaygın olarak kullanılan ajanlardan biri olan taksol'ün fare karaciğeri radikal süpürücü enzim aktivitelerine olumsuz etkileri üzerine koenzim Q'nun muhtemel koruyucu veya iyileştirici etkilerini ortaya koymak amaçlanmıştır.

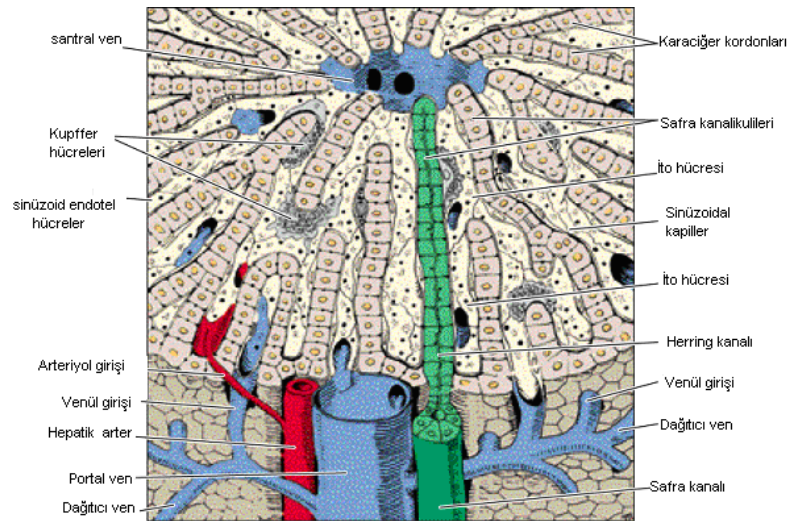
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

Vücuttaki en büyük bez olan karaciğer, insanda yaklaşık 1.5 kg olup diyaframın hemen altına yerleşmiştir (Gartner ve ark.,1997). Karın boşluğunun sağ alt kadranını safra kanalları ve safra kesesi ile birlikte dolduran karaciğerin kütlesi birkaç loba bölünmüştür, bunun sayısı ve boyutları türler arasında değişir. Etrafı ise fibröz bağ dokusu kapsülü ile örtülüdür (Kumar, 1999; Ross ve ark.,1995).

Sindirim kanalı ile vücudun diğer kısımları arasında tam bir kesişme noktasında yer alan karaciğer, vücudun metabolik dengesini sağlamada görevlidir. Bunlar, sindirilen aminoasitlerin, karbonhidratların lipidlerin ve vitaminlerin işlenmesi, serum proteinlerinin sentezi, endojen atık ürünlerin ve zararlı ksenobiyotiklerin detoksifiye edilip safra ile atılmasıdır (Kumar, 1999). Karaciğer, salgı yapma fonksiyonunun yanı sıra çok çeşitli işlevleri yerine getiren bir organdır. Besin maddelerinin barsaklardan emilen en basit kuruluştaki unsurları, karaciğerde vücuda uygun yapı maddeleri halinde tekrar sentezlenirler; örneğin glikoz glikojene, spesifik olmayan aminoasitler organizmaya uygun proteinlere çevrilirler (Tanyolaç, 1999).

Karaciğerde beş türde hücre bulunmaktadır. Bunlar hepatositler, endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, stellat hücreler ve safra kanalı epitel hücreleridir. Bu beş hücre türünün tamamı oksidatif stresle ilişkilidir (Şentürk, 2004). Şekil 2.1’de normal bir karaciğerin üç boyutlu görünümü görülmektedir (Junqueira ve ark., 2003).



Şekil 2.1. Normal karaciğerin üç boyutlu görünümü (Junqueira ve ark., 2003)

Hepatositler karaciğerin temel fonksiyonel hücreleridir. Oldukça fazla sayıda metabolik, endokrin ve salgı fonksiyonları gerçekleştirirler. Kabaca karaciğer kütlelerinin %80'ini teşkil eden hepatositler, organizmada yağ metabolizmasının merkezi konumundadırlar. Organizma, kas hücrelerinde karbohidratları enerji kaynağı olarak kullanırken, yağ asitlerini de yağ dokusunda trigliserit olarak depolayarak açlık esnasında enerji kaynağı olarak kullanmayı planlamaktadır. Bu arada yağ asitlerinin bir kısmı mitokondriler'de β -oksidasyon sürecine girmekte ve oluşan enerji organizmanın ısısının muhafazasını sağlamaktadır. Açlık durumunda ise yağ dokusundan serbestleşen yağ asitleri karaciğere taşınıp apolipoproteinlerle birleştirilerek, çok düşük yoğunluklu lipoproteinlere (VLDL) dönüştürülmekte ve bu yapılar da enerji kaynağı olarak kas dokusuna gönderilmektedirler (Şentürk, 2004; Başardı, 2006).

Karaciğer, yağ asitlerinin β -oksidasyonunu gerçekleştiren mitokondriler bakımından oldukça zengin bir organdır. Mitokondri'de dış ve iç olmak üzere iki membran bulunmaktadır ve yağ asitlerinin oksidasyonu iç membrana yakın bir bölgede yer almaktadır. Bilindiği gibi organizmada enerji açığa çıkmasını sağlayan süreçler metabolik süreçlerde ortaya çıkan serbest elektronların bir sistemden diğerine aktarılmasının sonucudur. Bu elektronlar nihai olarak sitokrom sisteminde oksijene aktarılmakta ve su oluşturulmaktadır. Her iki H_2O molekülü oluşumu için oksijene 4 elektron aktarılmaktadır. İşte henüz elektron sayısını tamamlayarak nötral hale gelmemiş ve tek elektron ihtiva eden oksijen molekülü, 1O_2 (Singlet oksijen) serbestleşmesi tehlikeli bir yapıdır ve sitokrom C sistemi içinde elektronları tamamlanincaya kadar sıkı bir şekilde tutulmaktadır. Serbestleştiği takdirde bu radikal bulabildiği her sistemden elektron kopartmaya çalışmakta ve özellikle mitokondriler ve hücre membranına lipid peroksidasyonu yoluyla hasar vermektedir. Ancak fizyolojik koşullarda da az miktarda serbestleşen oksijen radikallerini fizyolojik antioksidan defans, ciddi bir hasar oluşmadan nötralize edebilmektedir (Şentürk, 2004).

Hepatositlerdeki mitokondriler dışında, sitozolde bulunan P450E1 (CYP2E1) mikrozomal oksidasyon sistemi de, özellikle fazla miktarda alkol alımında ve ilaç metabolizması esnasındaki indüksiyonla önemli bir serbest radikal kaynağı haline gelebilmektedir. Hepatositin çeşitli nedenlerle strese maruz kalması (alkol, ilaç, hipoksi, viral enfeksiyon, immunolojik hasar) halinde serbestleşen oksijen radikalleri, antioksidan defansın koruma kapasitesini aştıklarında hücre hasarı ve ölümüne yol açabilmektedirler. Bunun nedeni oksidatif potansiyelin çok güçlü olması olabileceği gibi, antioksidan defansın zayıflığı da olabilir (Şentürk, 2004).

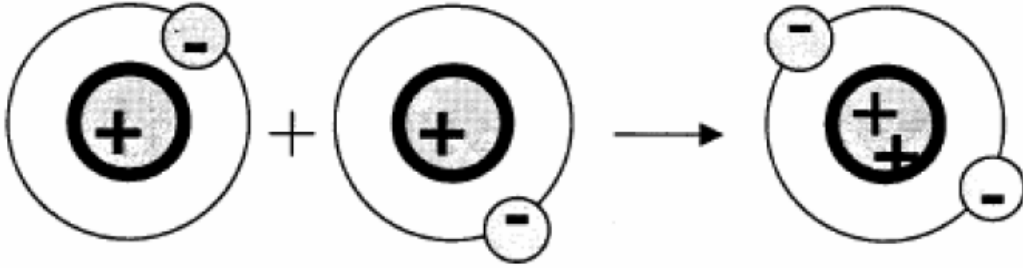
2.2. Serbest Radikaller

Elektronlar, her biri maksimum iki elektron taşıyan potansiyel alanları (orbitalleri) işgal eden negatif yüklü partiküllerdir (Horenstein ve ark., 2000).

Serbest radikaller, çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar sonucu hücre tarafından üretilen, yapısında eşleşmemiş elektron bulunduran, yüksek oranda reaktif moleküllerdir (Yamamoto ve ark. 1998).

Serbest radikallerin kimyasal varlığının ilk ortaya çıkışı, 1845 yılında $(\text{KSO}_3)_2\text{NO}$ (Fremy tuzu) oluşumunda nitroksil radikalının izolasyonu ile olmuştur. Serbest radikaller üzerine esas ilgi, 1900'lü yıllarda Gomberg'in trifenilmetil radikalının $(\text{OH}_3\text{C}^\bullet)$ varlığını göstermesi ile olmuştur. Serbest radikallerin varlığına dair ilk gerçek belirti ise, 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından, kırmızı kan hücrelerinden izole edilen, süperoksitin dismutasyonunu katalizleyen, bakır taşıyan bir protein olan eritrokupreinin keşfi ile olmuştur (Mimic-Oka ve ark., 1999).

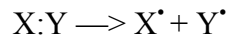
Radikaller, eşleşmiş elektron durumunu yeniden kazanmak için diğer moleküllerle etkileşebilirler. Örneğin radikal hidrojen atomu, bir orbitalde eşleşmemiş bir elektrona sahiptir. İki hidrojen atomu birleştiğinde elektronlarını paylaşırlar ve daha kararlı hidrojen atomu oluştururlar (Horenstein ve ark., 2000).



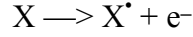
Şekil 2.2. İki hidrojen radikalının kovalent bağ ile radikal özellikte olmayan moleküler hidrojen oluşturması (Horenstein ve ark., 2000).

Radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşur (Onat ve ark., 2002);

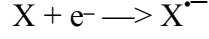
1. **Kovalent bağın homolitik yarılması:** Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yarılması sonucu eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması ile serbest radikaller meydana gelmektedir.



2. **Bir molekülün elektron kaybetmesi:** Molekülün yapısındaki atomlardan birisinden elektron uzaklaştırılması sonucu oluşmaktadır.



3. **Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi:** Bir molekülün yapısına elektron eklenmesi sonucu, reaktif özellik taşıyan yapılar oluşmaktadır.



Radikaller reaktif tabiatlarından dolayı in vivo'da kısa ömürlüdür ve oluşur oluşmaz çevrelerindeki diğer moleküllerle etkileşirler (Horenstein ve ark., 2000).

Serbest radikal reaksiyonları vücutta ilerleyici, istenmeyen bir takım değişiklikler yaratır. Bu değişiklikler normal yaşlanma süreci ile az veya çok tüm insanlarda benzerdir. Bu ortak süreç, genetik ve çevresel etmenlerin üzerine eklenmesiyle kişiden kişiye farklılıklar gösterebilir ve zamanla giderek daha farkedilebilir hale gelerek, bazı insanlarda hastalıkların oluşumuna yol açabilir (Derin ve ark., 2001).

2.2.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

Normal metabolizmada az miktarda serbest oksijen radikali oluşur. Diyetteki organik maddelerin (yağlar, karbohidratlar, proteinler) oksidatif yıkım sırasında, indirgeyici ekvalentler moleküler oksijene aktarılır. Tüketilen oksijenin bir kısmı (%1 civarı) stabil su ve karbondioksit oluşturmak yerine, süperoksit ve stabil olmayan diğer oksijen türevlerinin olumuna yol açar. Hücrede önemli miktarda bulunan süperoksit dismutaz, peroksidaz ve katalaz enzimleri ile birlikte, glutatyon ve diğer antioksidanlar, oluşan bu oksijen radikallerinin zararlarını önlerler. Normal metabolizma sonucu oluşan bu önemsiz miktarda serbest oksijen radikalının yanı sıra, inflamasyon, doku iskemisi, hiperoksi, bazı ilaçlar ve toksinler aşırı miktarda serbest oksijen radikali oluşumuna yol açarlar (Fridovich, 1978; Özben, 1989). Ayrıca, organizmanın iyonize edici radyasyona, oksitleyici özellik taşıyan ajanlara ve doğal durumda serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiyotiklere maruz kaldığı durumlarda da serbest radikaller meydana gelir (Erden, 1992).

Mitokondrideki serbest radikal kaynakları elektron taşıma zincirindeki elektron sızıntılarının yanında, monoamin oksidazlar tarafından peroksit oluşumdur. Peroksizomlardaki serbest radikal kaynakları çeşitli flavin oksidazlar, endoplazmik

retikulumdaki kaynağı ise sitokrom P450'den elektron sızıntısıdır (Turunen ve ark. 2004).

Klinik uygulamalarda kullanılan birçok preparat özellikle antineoplastik ajanlar, aktiviteleri için kinoid gruplar ya da metallere gereksinim duyan antibiyotikler oksijenin serbest radikallerini açığa çıkarabilirler. Bu preparatların kemoterapik etkilerinin ve sitotoksik yan etkilerinin pek çoğu oksijeni süperoksit radikallerine, hidrojen perokside ve hidroksil radikaline indirgeme yeteneklerine bağlanmaktadır (Erden, 1992)



Şekil 2.3. Serbest radikaller ve hücresel hasar

(<http://www.allnaturalhealthylife.com/wp-content/uploads/2010/10/wherefreeradicalscomefrom.jpg>)

Serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.1.) (Yanbeyi, 1999).

Çizelge 2.1. Hücrelerde Serbest Oksijen Radikal Kaynakları (Yanbeyi, 1999)

Endojen Kaynaklar	Ekzojen Kaynaklar
Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri	İlaç oksidasyonları
Mikrozomal Elektron Transport Zinciri	İyonize radyasyon
Kloroplast Elektron Transport Zinciri	Güneş ışığı
Oksidan Enzimler: Ksantin oksidaz	X-ışını
Siklooksijenaz	UV-ışını
Lipooksijenaz	Isı şoku
Mono aminooksijenaz	Glutasyonu okside eden maddeler
Fagositik hücreler: Nötrofiller	Ortam havası: Sigara dumanı
Monosit ve makrofajlar	Ozon
Eozinofiller	Kükürt dioksit
Endotelyal hücreler	Eksoz Gazları
Oto-oksidasyon reaksiyonları: Fe^{+2} , epinefrin	

Bazı atomlar bir yörüngesinde tek elektron bulundurmaları nedeniyle radikaldir. Örneğin; önemli bir hava kirliliği etkeni olan nitrit dioksit (NO_2) ve nitrik oksit (NO) bu tip radikallerdendir (Aslan ve Dünder, 1998). Demir, bakır, mangan, molibden gibi geçiş metalleri dış yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezler (Aslan ve ark., 1995). Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller, elektron konfigürasyonuna ek olarak termodinamik yapılan ve lokal kinetik aktiviteleriyle değerlendirilir (Aslan ve ark., 1995; Byung, 1994).

2.2.2. Serbest Radikallerin Reaktivitesi ve Reaksiyonları

Serbest radikallerin biyolojik reaksiyonlarını genel bir başlık altında incelemek oldukça güçtür. Çünkü organizmanın yaşamı boyunca karşılaştığı radikal türleri sürekli değişir (Erden, 1992).

Serbest radikaller, etkileşimde bulunduğu herhangi bir molekülle derhal reaksiyona girme yeteneğindedirler. Radikal oluştuğunda ya diğer radikallerle ya da radikal olmayan moleküllerle reaksiyona girerler. Eğer iki radikal karşılaşırsa, bu defa eşleşmemiş elektronlarını paylaşırlar ve kovalent bağ oluşur (Mimic-Oka ve ark., 1999).

Bir ya da birden fazla tek sayılı elektron içeren serbest radikaller hücrede ortaya çıktıktan sonra atom transferini içeren bir takım radikal reaksiyon dizileri başlar. Hücre içinde bir diğer önemli radikal reaksiyonu, doymamış bağlara radikal eklenmesidir. Serbest radikal reaksiyonları ilerleyerek hücresel hasarla sonuçlanabilir. Bu tür reaksiyonlar sonsuz olarak sürebildiği gibi serbest radikalleri kaldırıcı ya da temizleyici bileşiklerin etkisi ile ya kısmen veya tamamen ortadan kaldırılabirler (Erden, 1992).

Serbest radikallerin reaktivitesi, başlıca difüzyon mesafesi ile ilgilidir. Örneğin; hidroksil radikalının çok yüksek reaktivitesi vardır ve yapıldığı hücre bölümünden daha uzağa difüze olmadan derhal reaksiyona girebilmektedir. Oysa süperoksit radikali, hidroksil radikalinden daha az reaktiftir ve bu yüzden açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak noktalara rahatlıkla difüze olabilir. Hidrojen peroksit mitokondrial membranlar, peroksizomal membranlar ve plazma membranlarından kolaylıkla difüze olarak toksik etkilerini, açığa çıktıkları noktadan daha uzak hücre bölümlerine güçlü bir şekilde gösterebilir (Erden, 1992).

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA, karbondidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine karşı zararlı etkiler göstermektedir. Mitokondriyonlardaki permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

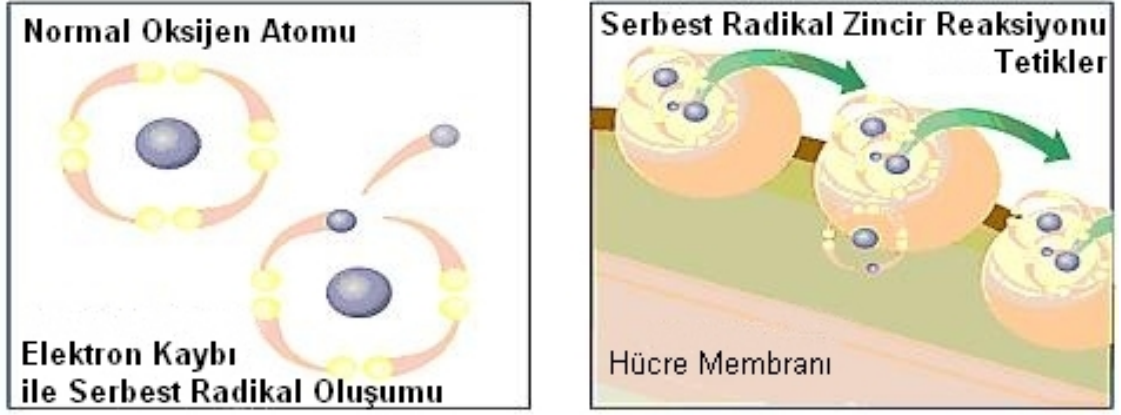
2.2.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Oksidatif Stres

Canlılar için oksijen, bir yüzü iyi diğer yüzü kötü denilebilecek “ikiyüzlü” bir bileşik olarak nitelenebilir. Moleküler oksijen bütün canlılar için toksik etkide olup, atmosferdeki değerinin %20 civarı artması, toksisite ile kendini gösterir (Fridovich, 1978).

Organizmalarda birçok tipte serbest radikal oluşabilir, ancak bunlar içerisinde serbest oksijen radikalleri en yaygın olanlarıdır (Bay, 2001). Serbest oksijen radikalleri ya da daha bilinen adıyla reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri ile birlikte sağlığa hem zararlı hem faydalı roller oynayan moleküllerdir (Valko ve ark., 2006). Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan oksijen radikalleri, sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidirler. Ancak, her bir radikalın yapısı ve etkili olduğu yere göre hücresel hedefler risk altındadır (Erden, 1992).

Reaktif oksijen türlerinin ikiyüzlü karakteri, kanser hücrelerinin onkojenik fenotipinin uyarılması ve devamlılığı ile ilgili hücresel sinyal mekanizmasında ikincil

mesajcı olarak davranmalarının kanıtlanması ile doğrulanmaktadır. Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin gerek iç kaynaklı, gerekse dış kaynaklı olarak giderek artan üretimi oksidatif stres olarak tanımlanır ve hücrel sinyal iletiminin değişen redoks düzenlemeleri ile bağıntılı çoğu kanser tipinde ortaktır. Oksidatif stres, normal hücrelerden farklı olarak birçok kanser hücresinde mevcut olduğu bulunmuş hücrel bir redoks dengesizliğini uyarır. Bu yüzden redoks dengesizliği ile onkojenik uyarılma bağlantılı olabilir (Valko ve ark., 2006).



Şekil 2.4. Reaktif oksijen ve membranda zincir reaksiyon

(<http://www.antioxidants-health-guide.com/images/how-antioxidants-fight-free-radicals.jpg>)

Moleküler oksijen, aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağıdır. Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) açığa çıkar. Bu radikalden kendiliğinden ya da enzimatik dismutasyon ile ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit oluşur. Yine süperoksit radikalının yer aldığı bir dizi reaksiyon sonucu, özellikle mitokondri içinde bir diğer radikal, hidroksil radikali ($HO^{\cdot}$) meydana gelir (Erden, 1992). Mitokondrideki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada reaktif oksijen partikülleri oluşur. In vivo ortamda reaktif oksijen partiküllerinin kaynakları, Çizelge 2.2’de (Çavdar, 1997) görülmektedir.

Çizelge 2.2 Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları (Çavdar, 1997)

I - Normal biyolojik işlemler
1 - Oksijenli solunum
2 - Katabolik ve anabolik işlemler
II - Oksidatif stres yapıcı durumlar
1 - İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite -intoksikasyon
2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
a-) İn hale edilenler
b-) Alışkanlık yapan maddeler
c-) İlaçlar
3 - Oksidan enzimler
a-) Ksantin oksidaz
b-) İndolamin dioksigenaz
c-) Triptofan dioksigenaz
d-) Galaktoz oksidaz
e-) Siklooksigenaz
f-) Lipooksigenaz
g-) Monoamino oksidaz
4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
5 - Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelyal hücreler)
6 - Uzun süreli metabolik hastalıklar
7 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara

Oksijen radikallerinin fazla yapımının neden olduğu etkilerin toplamı “oksidatif stres” olarak adlandırılır. Oksidatif hasar ise, süperoksitten kaynaklanan radikaller ile nitrik oksidin reaktif türlerinin neden olduğu hasarların bir toplamıdır (Kılınç, 1985). Oksidatif stresin ana kaynağı reaktif oksijen türleridir. Hücre dışı reaktif oksijen türevleri temel olarak oksijen ve geçiş metali iyonları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmakta iken, hücre içi kaynaklar ise oksijenin metabolize edildiği mitokondri ve peroksizom gibi organellerdir (Kagan, 2001). Reaktif oksijen türleri, Çizelge 2.3.’de (Pokorny ve ark., 2001) gösterilmektedir.

Çizelge 2.3 Reaktif Oksijen ve İlişkili Türevleri (Pokorny ve ark., 2001)

Radikaller		Radikal Olmayanlar	
$O_2^{\bullet -}$	Süperoksit	H_2O_2	Hidrojen peroksit
$HO^{\bullet}$	Hidroksil	1O_2	Singlet oksijen
$HO_2^{\bullet}$	Hidroperoksil	O_3	Ozon
$L^{\bullet}$	Lipid radikali	$LOOH$	Lipid hidroperoksit
$LO_2^{\bullet}$	Lipid peroksil	$Fe=O$	Demir-oksijen kompleksleri
$LO^{\bullet}$	Lipid alkoksil	$^{\bullet}OCl$	Hipoklorit
$NO_2^{\bullet}$	Azot dioksit		
$^{\bullet}NO$	Nitrik oksit		
$RS^{\bullet}$	Tiyil (Thiyl) radikali		
$P^{\bullet}$	Protein radikali		

Reaktif oksijen türleri, hücrel hasarlardan sorumlu ana etmenlerdir. Aktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin, lipid peroksidasyonu, protein modifikasyonu, enzim inaktivasyonu, DNA zincir kırıkları ve baz modifikasyonlarını uyardıkları ve oksidatif hasara neden oldukları gösterilmiştir (Camougrand, 2001).

Reaktif oksijen türlerinin düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Yaşlanma ile protein karboksilasyonunun artışı ve katalize edici tüm enzimlerin azalmasının bu dengesizlikte önemli rolleri vardır (Çavdar, 1997).

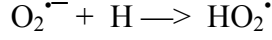
2.2.3.1. Süperoksit ($O_2^{\bullet -}$)

Reaktivitesi zayıf bir serbest radikal olan süperoksit anyonu, moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksit oluşumu özellikle mitokondri iç zarındaki solunum zincirinde elektrondan zengin aerobik ortamda kendiliğinden meydana gelir. Süperoksit radikali, ksantin oksidaz ve bir grup flavoenzimler tarafından oluşturulmaktadır. Diğer süperoksit üreten enzimler ise lipooksijenaz ve siklooksijenazdır. Fagositik hücrelerin NADPH bağımlı oksidaz enzim kompleksi fazla miktarda süperoksit radikali oluşturmaktadır. İki molekül süperoksit molekülü süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hızla hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşür (Nordberg ve Arner, 2001).

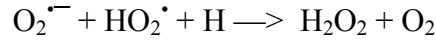
Süperoksit, yaşayan organizmalarda bulunan değişik sistemler tarafından oluşturulabilir. Örneğin; mitokondriyal elektron taşıma zincirinde akan elektronların bir kaçı sitokrom c oksidaza varmadan doğrudan moleküler oksijene (O_2) akar ve süperoksit radikali oluşur (Halliwell, 1987).

Ortamda biriken süperoksit radikallerinin girebileceği başlıca tepkimeler aşağıdaki gibi (Halliwell, 1984; Var, 1999) özetlenebilir.

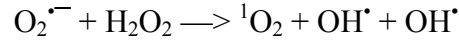
- 1- Ortamdan bir proton alarak perhidroksi ($HO_2^\bullet$) radikali oluşturabilir.



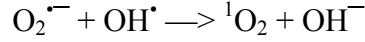
- 2- Ortamdan bir proton alarak perhidroksi radikali ile birlikte hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturabilir.



- 3- H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ($OH^\bullet$) ve singlet oksijen (1O_2) oluşturabilir.



- 4- Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek singlet oksijen yapımına neden olur.



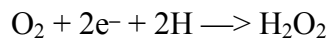
2.2.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 yapısında eşleşmemiş elektron taşımadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Bununla birlikte yüksek pKa değerine sahip olduğundan, nötral ve asidik koşullarda net yük taşımadığından dolayı biyolojik membranları kolayca geçebildiği için önemlidir (Nordberg ve Arner, 2001; Çebi, 2002).

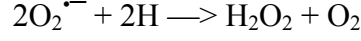
Hidrojen peroksitin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, Cu, Fe gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının öncülü olarak davranmasıdır. Hidrojen peroksit, özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril-demir (Fe^{IV}) ve perferril-demir ($Ferril^V$) oluşumuna neden olur. Bu formdaki reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir (Çebi, 2002).

Hidrojen peroksit iki yol ile oluşur (McCord, 2000).

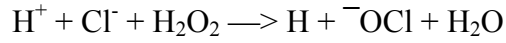
- 1- Oksijenin iki elektron ve iki protonla indirgenmesi sonucu ortaya çıkar.



2- Biyolojik sistemlerde sıklıkla görülen süperoksidin üretimi yoluyla, iki süperoksit anyon radikali birbiriyle, hidrojen peroksit ve oksijeni verecek şekilde reaksiyona girerler. Süperoksit radikallerinin temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) tarafından veya spontan olarak oluşabilir.



Hidrojen peroksit, nötrofil fagozomlarında bulunan myeloperoksidaz enziminin katalizörlüğünde çok reaktif bir serbest oksijen radikali olan hipoklorit (OCl^-) oluşumuna sebep olur.



H_2O_2 ayrıca, geçiş metallerinin varlığında en önemli serbest oksijen radikali olan $\text{OH}^\bullet$ radikalinin oluşumunu sağlar. H_2O_2 'nin diğer önemli bir görevi de hücre içi sinyal molekülü olarak rol almasıdır. H_2O_2 oluşuktan sonra katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksin enzim sistemleri tarafından uzaklaştırılır (Nordberg ve Arner, 2001).

2.2.3.3. Hidroksil ($\text{HO}^\bullet$)

Biyolojik sistemlere diğer reaktif oksijen türlerinden daha fazla hasar veren hidroksil ($\text{HO}^\bullet$), biyomoleküllerle reaksiyona girebilen, doğadaki en reaktif, güçlü bir radikaldir. Oluşması için ortamda geçiş metalleri gereklidir (Halliwell, 1987; Nordberg ve Arner, 2001).

$\text{HO}^\bullet$ oluşturmaının en basit yolu, su molekülünü yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz bırakmaktır. Su molekülü ikiye ayrılır ve $\text{HO}^\bullet$ radikali oluşur (Halliwell, 1987). Isı veya iyonize radyasyon sonucu H_2O_2 'deki O-O bağının hemolitik parçalanması da iki hidroksil radikali meydana getirmektedir (İnce, 2003).

Hücrede bulunan şekerler, aminoasitler, fosfolipidler, DNA bazları ve organik asitler gibi moleküllerin hemen hemen tümü, hidroksil radikalleri ile oldukça hızlı reaksiyon verirler (Halliwell ve Gutteridge, 1984). Hidroksil radikallerinin reaktivitesi epeyce yüksektir ve canlı sistemlerde oluştuğunda çevresindeki tüm biyolojik moleküllerle etkileşirler. Bunun sonucu olarak farklı reaktivitelere sahip ikincil radikaller meydana gelir (Anbar ve Neta, 1967).

$\text{HO}^\bullet$ radikali canlı hücrelerde bulunan bütün moleküllerle reaksiyona girebilmektedir. Lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara

neden olabilir ve hemen her organik molekülü ayırım yapmaksızın okside edebilir (Cheeseman ve Slater, 1993; McCord, 2000).

2.2.4. Serbest Radikallerin Zararları

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine karşı zararlı etkiler göstermektedirler. Mitokondrideki geçirgenliğini bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır (İnce, 2003).

Artan reaktif oksijen radikallerinin zararları şu şekilde sıralanabilir (Çavdar, 1997):

- DNA'yı tahrip ederler.
- Hücre içi yararlı enzimleri inaktive ederler.
- Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, indolamin dioksijenaz, triptofan dioksijenaz, galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive ederler.
- Hücre organelleri ve membranındaki lipid ve protein yapısını bozarlar.
- Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar.
- Hücrenin potasyum kaybını arttırırlar.
- Trombosit agregasyonunu arttırırlar.
- Dokulara fagosit toplanmasını kolaylaştırırlar.
- Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar.

DNA mutasyonu, kanser oluşumunda kritik bir süreçtir. Artan oksidatif DNA hasarı birçok tümörde bildirilmiştir ve kanserin seyrinde şiddetli hasarları kapsamaktadır. (Valko ve ark., 2006).

Serbest radikaller; proteaz, fosfolipaz, elastaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz, triptofan dioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktifleştirirken, α -1-antitripsin gibi bazı savunma sistemlerini inaktive ederler (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden bir diğeri olan lipid peroksidasyonu, çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Doğrudan membran yapısına ve dolaylı olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu şekilde birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden

reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

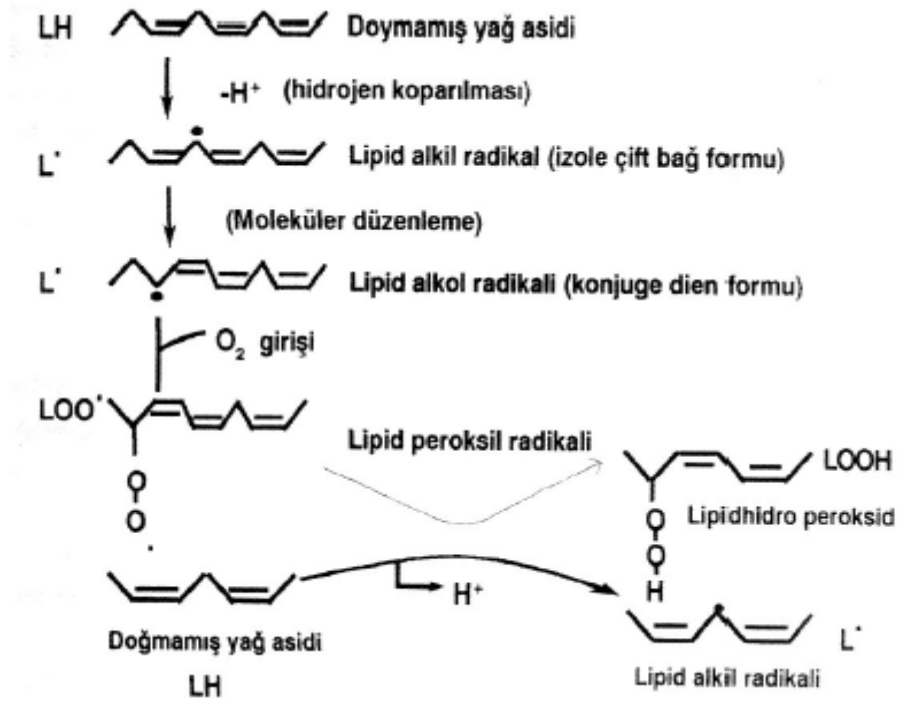
2.2.4.1. Lipit Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA) Oluşumu

Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Peroksidasyon, kendi kendini devam eden bir zincir reaksiyon şeklinde ilerler ve meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Sarı, 2008)

Biyomembranlar ve hücre içi organeller, membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı dolayısıyla oksidatif saldırılara duyarlıdırlar. Serbest radikal reaksiyonların ilk hedefi membran lipitlerindeki doymamış bağlardır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Meydana gelen peroksidasyon, membran akıcılığında, reseptör dizisinde ve hücresel dayanma potansiyelinde düşmeye neden olur (Baykal ve Kocabalkan, 2000).

Lipit peroksidasyonu, hücre membranının çevresinde oksijen türevli serbest radikaller oluştuğunda meydana gelir ve serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit veya hidroksil olduğu kabul edilmekte, lipid peroksidasyonunda asıl etkili radikalin hidroksil olduğu kabul edilmektedir (Akkuş, 1995; Horenstein ve ark., 2000). Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Oluşan lipit radikali, dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra lipit radikalin oksijen ile reaksiyona girmesiyle lipit peroksil radikali (LOO^*) meydana gelir. Bu radikal de zardaki doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlamakta ve kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlere dönüşmektedir. Bu olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (Akkuş, 1995; Uysal, 1998) Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır. Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir (Erden, 1992).

Aşağıda lipid peroksidasyonunun safhaları görülmektedir (Şekil 2.5) (Sarı, 2008).



Şekil 2.5. Lipid peroksidasyonu (Sarı, 2008)

Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan ürünler arasında en çok bilineni, aldehit grubu bir bileşik olan malondialdehittir (MDA). Malondialdehit, üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda meydana gelir (Erden, 1992).

Malondialdehit, membran bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da membran akışkanlığında azalmaya, deformasyona, spesifik olmayan iyon geçirgenliğinde artışa, membrana bağlı enzimlerin inaktivasyonuna neden olur ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler malonaldehitin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Şayet lipid peroksidasyonu sonlanmazsa bu zincir reaksiyon, hücre membranlarının yıkımına, kompartmanlaşmanın bozulmasına ve lipozomal enzimlerin salınarak hücrenin otolizine neden olur (Mimić-Oka ve ark., 1999).

Hemoglobin ve miyoglobin gibi hem içeren proteinler de hidrojen peroksit varlığında lipid peroksidasyonunu iki mekanizma ile uyarabilirler (Çavdar, 1997):

1- Proteinler ve hidrojen peroksit reaksiyonu ile OXO - hem radikali oluşur (özellikle tirozin peroksi radikali). Bu ise lipid peroksidasyonunu uyarır.

2- Aşırı hidrojen peroksit, miyoglobin ve hemoglobine etki ederek serbest demir iyonlarının açığa çıkmasına neden olur. Serbest demir iyonları ise lipid

peroksidasyonunu uyarır. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşümü ile sona ermektedir.

Lipid peroksidasyonunun organizmadaki etkilerinden bazıları (Baykal ve Kocabalkan, 2000;

- Lipit peroksidasyonu sonucu membran akışkanlığı azalır ve normalde hücre içine geçemeyen maddelerin hücre içine girişleri artar.
- Lipit peroksitler ve alkoksil radikaller, triptofan ve sistein gibi protein kısımlarına ataklar yaparak protein yapısını bozar ve hasar meydana getirirler.
- Lipit peroksidasyonu sırasında aktiviteleri için sülfidril ve amino grubuna gereksinim duyan, özellikle hormonal uyarılara hücrenin cevap verme imkanı sağlayan yüzey reseptörlerini inhibe ederler (G6P-az ve Na-K ATPaz gibi)
- Hücre membranına yakın yerleşimdeki DNA molekülleri de lipit peroksidasyonundan hasar görürler ve bazen DNA'nın replikasyonu yapılamaz.
- Bazı aldehitler biyolojik sıvılarda kemotaktik etki gösterirler.
- MDA gibi aldehitler, düşük yoğunluklu lipoproteinleri modifiye ederek metabolik yolu değiştirebilirler.

Lipid peroksidasyonu; yaşlanma, koroner kalp hastalıkları ve kanser başta olmak üzere birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır. Birçok çalışmada, tümörlerde lipid peroksidasyonunun arttığı belirlenmiştir (Demir, 2008).

MDA, lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar fakat spesifik değildir. MDA miktarı, tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipit peroksidasyonu düzeyinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Lipit hidroperoksitlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de, son yıllarda lipit peroksidasyonun ölçülmesinde gösterge olarak değerlendirilmektedir (Halliwell, 1996).

2.3. Antioksidanlar

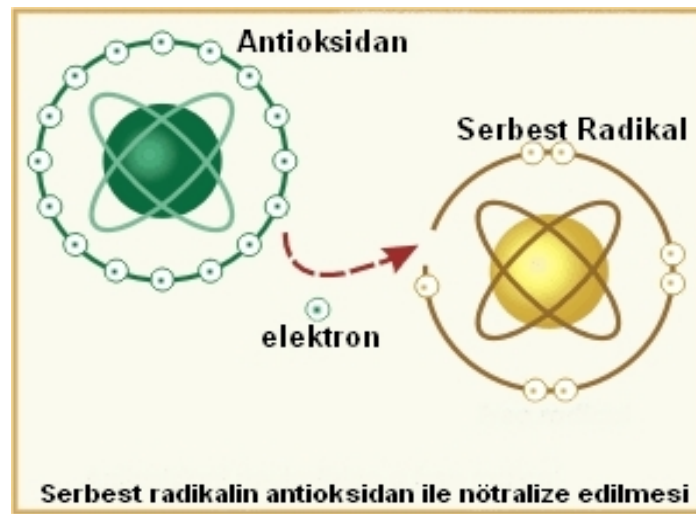
Evrım süresince tüm organizmalar serbest radikalleri inaktive etme zorunluluğu ile karşı karşıya gelmişlerdir. Bu nedenle oksidatif ataklardan kendilerini korumak için çeşitli yollar geliştirmişlerdir (Leutner ve ark., 2001). Serbest radikaller normal metabolizma sürecinde de oluştuğundan, tüm aerobik hücreler bunların yıpratıcı etkilerinden koruyacak mekanizmalara sahiptir. Hücreler serbest oksijen radikallerini ve bunların metabolitlerini ortadan kaldıracak enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan ve serbest radikal toplayıcı sistemlerle donatılmıştır (Derin ve ark., 2001).

Antioksidanlar, diğer moleküllerin oksidasyonunu önleme ya da yavaşlatma yeteneğine sahip bileşiklerdir (Suhaib, 2008).

Hücrelerde, oksidanları inaktif hale getirerek oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan maddelere antioksidan adı verilmektedir. Tüm antioksidanlar etkilerini başlıca dört farklı şekilde gerçekleştirmektedir (Onat ve ark., 2002);

1. Antioksidan enzimler, oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürürler.
2. Antioksidan vitaminler ve flavonoidler, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirirler.
3. Oksidanların oluşturduğu hasarı onarırlar.
4. Çeşitli oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engellerler.

Bir serbest radikalın antioksidan tarafından nasıl nötrale edildiği Şekil 2.6.'da verilmektedir.

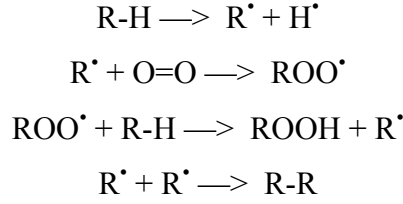


Şekil 2.6. Serbest radikalın antioksidan ile nötrale edilmesi

(<http://www.medicalinsider.com/images/freeradical.gif>)

Normal kişilerde antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin düşük durgun durum konsantrasyonlarında kalmalarını sağlar. Bu savunma sistemi organizmada oksidan stresin arttığı bazı klinik durumlarda da aktivitesini artırarak koruyucu etkinliğini sürdürmeye çalışır. Ancak, serbest radikallere uzun süre maruz kalınması hücrel hasarı önlemede yetersizlikle sonuçlanır (Erden, 1992; Camougrand ve Rigoulet, 2001).

Antioksidasyon, aşağıda verilen bir zincir reaksiyon şeklinde ifade edilebilir (Suhaib, 2008).



Zincir reaksiyonun sonlandırılabilmesi için iki yol vardır. Bunlardan ilki serbest radikal oluşumunu geciktirebilen reaktiflerin eklenmesi, ikincisi ise antioksidan olarak tanımlanan serbest radikal akseptörlerinin eklenmesidir (Suhaib, 2008).

Antioksidanlar, aşağıdaki kriterlere göre sınıflandırılabilir (Yalçın, 1998):

Çizelge 2.4. Antioksidan Enzimlerin Sınıflandırılması (Yalçın, 1998)

1. Yapılarına göre

- a. Enzim karakterli antioksidanlar
- b. Enzim karakterli olmayan, küçük moleküller

2. Kaynaklarına göre

- a. Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar)
- b. Dışarıdan alınanlar (eksojen antioksidanlar)

3. Çözünürlüklerine göre

- a. Suda çözünenler
- b. Lipidlerle çözünenler

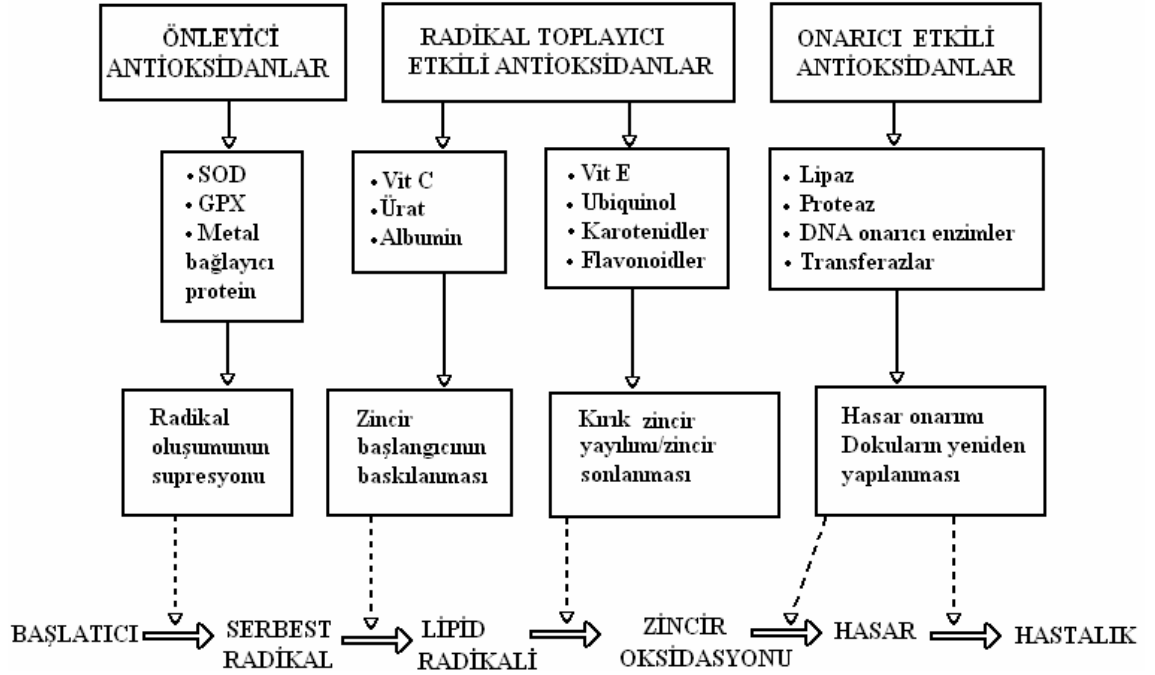
4. Yerleşimlerine göre

- a. Hücre içinde bulunanlar
- b. Plazma ve diğer ekstraselüler sıvılarda bulunanlar

Antioksidanlar, doğal ve sentetik antioksidanlar olarak iki grupta incelenebilir.

2.3.1. Doğal Antioksidanlar

Vücutta serbest radikaller meydana geldiğinde organizmayı oksidatif strese korumak için doğal antioksidan sistem devreye girer. Birinci defans hattını, peroksidaz ve metal bağlayan proteinlerin süpresyonu ile serbest radikallerin meydana gelmesini önleyen antioksidanlar oluşturur. İkinci defans hattını, C vitamini ve E vitamini gibi radikal temizleyici antioksidanların zincir reaksiyonun başlamasını inhibe etmesi ve yayılımını önlemesi oluşturmaktadır. Üçüncü olarak da hasarı onarma ve eski haline getirmeye çalışan onarıcı ve yeniden yapılandırıcı enzimler (lipazlar, proteazlar, DNA onarıcı enzimler ve transferazlar gibi) defansta rol alırlar. Aşağıdaki şekilde doğal antioksidan grupları ve görevleri belirtilmektedir (Willcox ve ark., 2004)



Şekil 2.7. Doğal antioksidan grupları ve görevleri (Willcox ve ark., 2004)

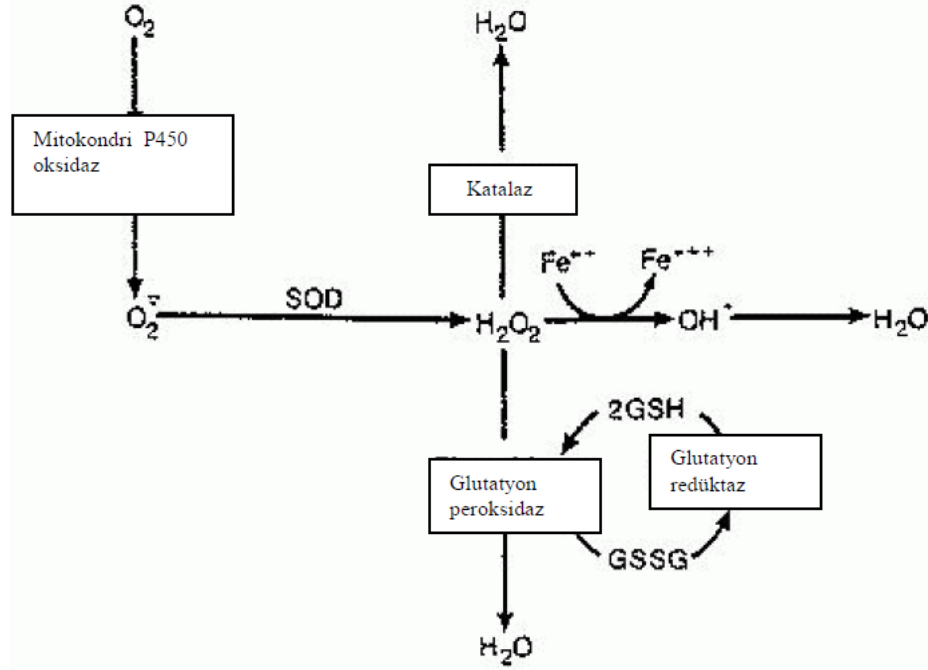
Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan

moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (Halliwell, 1991b).

Doğal antioksidanlar yüksek koruma sağlayabilmek için beraber çalışırlar. Doğal antioksidan, bir serbest radikali indirgediğinde, kendisi zayıf bir serbest radikal olur ve bir diğer antioksidan kendisinin yenilenmesinde yardımcı rol oynar (Suhaib, 2008).

İnsanda başlıca hücre içi doğal antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleridir. Süperoksit dismutaz'ın yapısında bakır, çinko ve mangan; glutatyon peroksidaz'ın yapısında ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar. (Halliwell, 1991a). Antioksidan enzimlerin, biyolojik makromolekülleri oksidatif hasardan koruyan primer defans mekanizması olduğu düşünülmektedir (Leutner ve ark., 2001).

Başlıca hücre içi enzimatik antioksidanların etki mekanizması, Şekil 2.8'de gösterilmektedir (Çelebioğlu, 2005).



Şekil 2.8. Hücre içi enzimatik antioksidanların etki mekanizması (Çelebioğlu, 2005)

A, C, E vitaminleri de antioksidan etkilidirler. Serbest oksijen radikallerini nötralize eden en güçlü antioksidan olan E vitamini, membran fosfolipidlerinin ve doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna engel olur, membran lipidlerinin stabilitesini artırır. E vitamininin hücre zarında özellikle serbest radikal oluşturan enzimlere yakın bölgelerde bulunduğu düşünülmektedir. E vitamini kadar güçlü etkide

olmamakla birlikte, A ve C vitaminlerinin de antioksidan etkileri vardır (Derin ve ark., 2001).

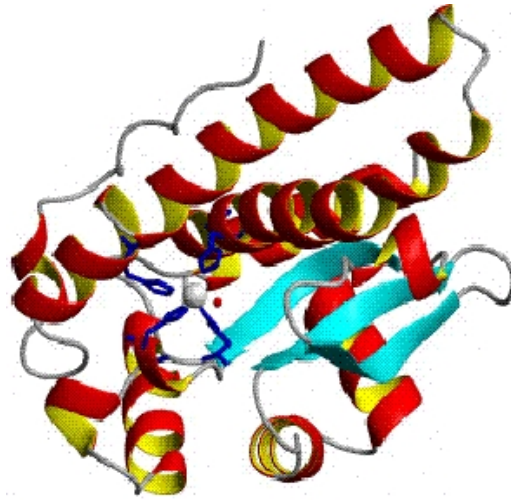
Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır. Bu nedenle hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan başlıca olarak E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, ürik asit, glukoz, sistein, trakeobronşial mukus, β -karoten ve α -1 antitripsin sorumludur (Halliwell, 1991a).

2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) (EC, 1.15.1.1.)

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimleri, süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısında enzimlerdir. (Erden, 1992). İnsan hücrelerinde özellikle sitozolde bulunan bakır ve çinko iyonu içeren SOD (Cu,Zn-SOD) ile manganez iyonu içeren mitokondrial SOD (Mn-SOD) olmak üzere SOD'un iki izoenzimi bulunur (Çavdar, 1997). Fareler üzerinde yapılan araştırmalarda, MnSOD bakımında eksik farelerin doğduktan kısa bir süre sonra öldükleri, Cu,Zn-SOD bakımından eksik farelerin ise yaşadıkları fakat düşük fertiliteye sahip oldukları görülmüştür (Wells ve ark., 1990; Padayatty ve ark., 2003).

Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ise glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir (Çavdar, 1997).

Süperoksit dismutaz'ın üç boyutlu yapısı Şekil 2.9'da görülmektedir.



Şekil 2.9. Süperoksit dismutaz

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0b/SOD.gif>)

Genel olarak süperoksit dismutaz enzim sistemi, antagonist etkili olmaktan çok, organizmayı serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir sistemdir. Katalaz ve peroksidazlar, hidrojen peroksidin durgun durum konsantrasyonunu düşürmeye yardım ettikleri için serbest radikal temizleyicileri olarak kabul edilirler. Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleriyle beraber çalışmaktadır (Erden, 1992)

SOD, organizmada oksidatif stresin arttığı bazı klinik durumlarda aktivitesini arttırarak koruyucu etkinliğini sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalmanın söz konusu olduğu klinik durumlarda SOD aktivitesinin arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir. Süperoksit dismutaz'ın koruyucu etkisi, klinik çalışmalara yeni ufuklar açmıştır. Gerek çeşitli hastalıkların patogenezinde serbest radikallerin yeri, gerekse süperoksit dismutaz'ın bu hastalıklarda profilaktik ve terapik olarak kullanımı, son yıllarda birçok çalışmanın en popüler konuları arasına girmiştir (Erden, 1992).

2.3.1.2. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) (EC, 1.11.1.19)

Substrat olarak glutatyonu (GSH) kullanan glutatyon peroksidaz (GSH-Px), hidrojen peroksit ve lipid hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlayarak memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyan bir selenoenzimdir (Mates, 1999).

Peroksidazlar hem grubu ihtiva eden proteinler olup, katalizledikleri reaksiyonla hidrojen peroksidi, H_2O ve O_2 'e ayırmaktadırlar. Başka bir deyişle, substrattan aldıkları elektronların H_2O_2 'e taşınmasını kataliz etmektedir (Gözükara, 2002).

Glutatyon peroksidaz enziminin selenyuma bağlı ve bağımsız iki izomeri mevcuttur. Selenyuma bağlı izoenzimi selenosistein formunda bulunmaktadır. Bu enzim hem hidrojen peroksiti hem de organik peroksitleri indirgeyebilir. Selenyumdan bağımsız GSH-Px ise hücrenin mitokondri (%30) ve sitosol (%70) fraksiyonlarında lokalize olup, yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir (Seven ve Candan, 1996).

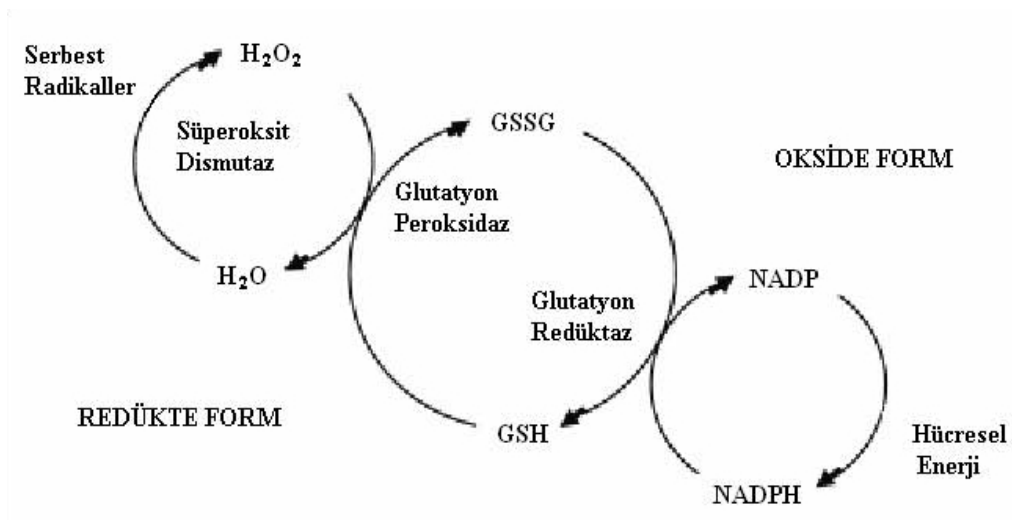
Glutatyon peroksidaz'ın üç boyutlu yapısı Şekil 2.10'da görülmektedir.



Şekil 2.10. Glutatyon peroksidaz

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/86/GlutPeroxidase-1GP1.png>)

Aşağıdaki şekilde (Şekil 2.11), süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz'ın rol aldığı glutatyon döngüsü gösterilmektedir. Hidrojen peroksit suya indirgenirken, redükte glutatyon (GSH) glutatyon peroksidaz'ın katalizörlüğünde okside glutatyona (GSSG) dönüşür. Glutatyon redüktaz, NADPH'nin elektronunu kullanarak okside glutatyonu redükte formuna geri dönüştürür (Erden, 1992; Çavdar, 1997).



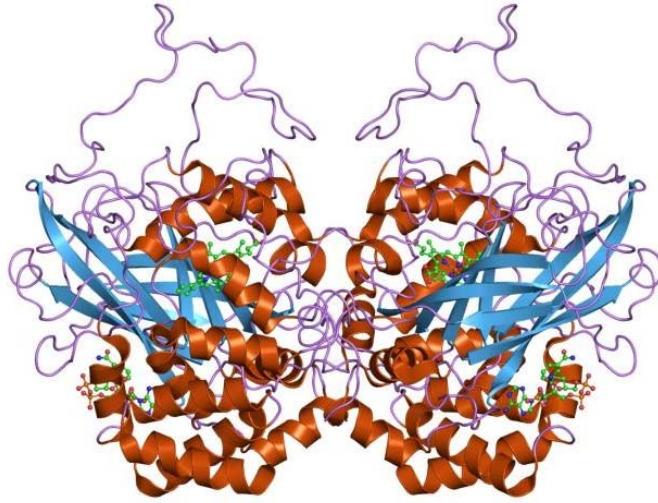
Şekil 2.11. Glutatyon döngüsü (Erden, 1992)

Redükte glutatyon (GSH), antioksidan savunma sisteminin normal işleyişi sırasında glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ile okside glutatyona (GSSG) dönüştürülerek, hidrojen peroksit detoksifiye edilir. Ayrıca glutatyon redüktaz da, hidrojen peroksiti redükte glutatyona dönüştürerek hidrojen peroksitin detoksifikasyonuna katkıda bulunmasından dolayı önemlidir (Çavdar, 1997).

Kırmızı kan hücrelerinde hemoglobinde bulunan demir normal olarak +2 değerliklidir. Fakat hidrojen peroksit tarafından +3 değerlikli hale dönüştürülmektedir. Bu durumdaki hemoglobin, methemoglobin adı verilen forma geçer ve oksijen taşıma kapasitesi mevcut değildir. Glutatyon peroksidaz hidrojen peroksit kullanarak hemoglobinin methemoglobin haline dönüşmesini engellemektedir (Erden ve Bor, 1984).

2.3.1.3. Katalaz (CAT) (EC, 1.11.1.6.)

60 kDa ağırlığında dört adet tetrahedral alt ünite içeren katalaz, 4 adet ferriprotoporfirin'den oluşmaktadır.

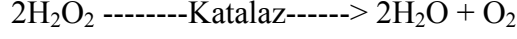


Şekil 2.12. Katalaz

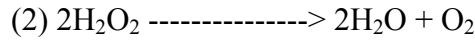
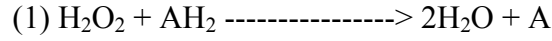
(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/86/PDB_7cat_EBI.jpg)

Yukarıdaki şekilde (Şekil 2.12), katalaz'ın üç boyutlu yapısı görülmektedir. Katalaz enziminde demir atomu aktif merkezin bir parçasıdır ve kataliz olayına bizzat katılmaktadır. Basit demir tuzu olan demir sülfat (FeSO_4) bazı katalitik aktiviteler göstererek hidrojen peroksidi su ve oksijene yıkmaktadır. Porfirin halkasının ve katalaz

enziminin protein kısmının, demirin katalitik aktivitesini artırdığına inanılmaktadır (Gözükara, 2002). Katalaz, süperoksit dismutaz'ın (SOD) oluşturduğu hidrojen peroksidi, oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizleyen bir hem-enzimdir (Mates, 1999).



Katalaz düşük hızlarda hidrojen peroksitin oluştuğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif tepkime ile;



reaksiyonunu katalizler (1). Hidrojen peroksit oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır (2) (Sözmen, 2002).

Katalaz, peroksizomlarda yerleşmiş olup kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Katalaz, hücrelere gelen hidrojen peroksidi yıkarak organizmayı toksik etkiden korumaktadır (Gözükara, 2002).

Katalaz ve peroksidazlar hidrojen peroksidin durgun durum konsantrasyonunu düşürmeye yardım ettikleri için serbest radikal temizleyicileri olarak kabul edilirler. Böylece hidrojen peroksidin sitotoksik gücü büyük ölçüde intrasellüler katalaz ve peroksidaz aktivitelerinin ve hidrojen peroksidi hidroksil radikale indirgeyebilen geçiş metallerinin bir fonksiyonu olmaktadır. Katalaz ve glutatyon peroksidazların sellüler aktivite farkları henüz tanımlanmamış olmakla birlikte peroksizomların yüksek katalaz aktivitesine sahip oldukları bilinmektedir (Sugmo ve ark., 1987; Gaetani ve ark., 1989).

2.3.2. Sentetik Antioksidanlar

Doğal antioksidanların çoğu besin maddelerinde bulunmakla birlikte zayıf antioksidan kapasiteye sahiptirler. Bu nedenle belirgin antioksidan kapasiteye sahip birçok bileşik geliştirilmiş ve besinsel olarak satışa sunulmuştur. Bu antioksidanlardan en bilinenleri başta TBHQ olmak üzere BHT, NDGA ve propil gallattır (Suhaib, 2008).

2.4. Koenzim Q

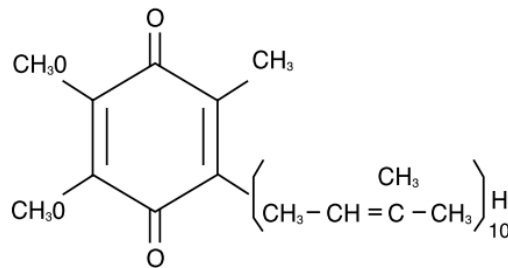
Koenzim Q vücut tarafından doğal olarak sentezlenen, organik, yağda çözünen, vitamin benzeri bir benzokinon bileşiğidir. Bir diğer adı olan ubikinon (ubiquinone), “her yerde bulunan kinon” manasına gelmektedir (Kuchel, 1998; Crane, 2001).

Koenzim Q, ilk kez 1957’de Frederick Crane tarafından sığır kalp kası mitokondrisinden izole edilmiş, kimyasal yapısı ise 1958’de Karl Folkers tarafından tanımlanmıştır. Koenzim Q’nun mitekondri dışında diğer membranlarda da var olduğu, 1962 yılında T. Ramasarma tarafından bulunmuştur. Koenzim Q’nun da rol aldığı hücrel enerji üretim mekanizmasının keşfi, Peter Mitchell’a 1978 Nobel Kimya Ödülünü kazandırmıştır (Sinatra, 1998).

Günümüzde pek çok yeni fonksiyonu keşfedilmekte olan koenzim Q’nun en iyi bilinen fonksiyonları, mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki rolü ve önemli bir antioksidan yenileyici olarak görev yapmasıdır. Yeterince açıklanamamış olan diğer fonksiyonları ise, hücrel redoks durumlarının kontrolü ve sinyallerin üretiminde yükseltgen olarak işlev görmesidir. Transmembran elektron sistemine katılarak, veziküllerin içine ya da hücrenin dışına azalan miktarda elektronları taşıyabilir. Bunun yanında koenzim Q’nun plazma membranında ve endomembranlarda bir proton gradienti oluşumunda rol oynadığına dair kanıtlar da mevcuttur. Ek olarak, koenzim Q’nun membran yapısı ve fosfolipid durumunun kontrolünde yer aldığı düşünülmektedir (Crane, 2001).

2.4.1. Koenzim Q’nun Kimyasal Yapısı

Saf haldeyken sarı-turuncu renkli toz kristaller halinde olan koenzim Q’nun kimyasal ismi 2,3-dimetoksi, 5-metil, 6-poliizopren, 1,4-benzokinon’dur. Kimyasal formülü ise Şekil 2.13’deki gibidir.



Şekil 2.13. Koenzim Q’nun kimyasal yapısı (Kagan, 2001)

Tamamen yerleşik olan benzokinon halkası hidrofilik karakterde olup, molekülün glutatyon, tiyoredoksin ya da tiyotik asit gibi hücredeki bir takım tiyol türevleri ile reaksiyonlarına engel olur. Kinon halkası ayrıca fonksiyonel gruptur ve kinol'e indirgenmesi ile elektron ve protonlar için taşıyıcı, serbest radikallere karşı ise antioksidan görevi üstlenir. Trans yapıdaki poliizopren zincir hidrofobik karakterdedir. Hücre membranının iç kısmı için bir affinite sağlayan bu alkil kuyruk, biyomembranlarda lateral difüzyonu kolaylaştırır ve asıl fonksiyonel kısım olan benzokinon'un redoks faaliyetleri ile ilişkisi yoktur. İkinci ve üçüncü karbona bağlı durumdaki iki adet metoksi grubu ise enzim işlevinde spesifiteyi sağlar (Crane, 2001).

Koenzim Q tüm hücrelerde sentezlenebildiği gibi, yıkımı da tüm hücrelerde yapılabilmektedir. Koenzim Q yıkım ürünlerinin büyük bir kısmı idrarla, bir miktarı ise dışkı ile atılmaktadır. Nispeten düşük yarı ömürlü, katabolizması hızlı bir bileşik olan koenzim Q'nun yarı ömrü, çeşitli organlarda farklı olup, 49 - 125 saat arasında farklılık göstermektedir (Thelin ve ark. 1992; Turunen ve ark. 2004).

2.4.2. Vücut Koenzim Q Seviyesinin Ölçümü ve Dağılımı

Koenzim Q'nun indirgenmiş formu olan ubikinol'ün plazmadaki seviyesi 4 farklı biçimde ifade edilmektedir.

- a) Kesin konsantrasyonu (plazmadaki ubikinol kütlesi / plazmanın hacmi)
- b) Lipid miktarına oranlanmış konsantrasyonu (plazmadaki ubikinol kütlesi / plazmadaki lipid kütlesi)
- c) Total koenzim Q miktarına oranı (plazmadaki ubikinol kütlesi / ubikinol + ubiquinon kütlesi)
- d) Ubiquinon miktarına oranı (plazmadaki ubikinol kütlesi / ubiquinon kütlesi)

Ubikinol plazma lipidleri ile taşındığı için, kesin konsantrasyon aynı zamanda plazma lipidlerinin miktarını vermektedir. Farklı bireylerde plazma lipidlerinin miktarları farklı olabileceği için, bir kıyaslama sözkonusu olduğunda lipid miktarına oranlanmış konsantrasyon kullanılır. Ubikinol'ün işaretçi (marker) olarak kullanımında, ubikinol'ün lipid miktarına oranlanmış konsantrasyon ve total koenzim Q miktarına oranlanmış konsantrasyon kullanılır (Kagan, 2001).

Miktarı çeşitlilik göstermekle birlikte, koenzim Q vücuttaki tüm dokularda bulunmaktadır. Koenzim Q'nun büyük çoğunluğu koenzim Q₁₀ şeklinde iken, % 2-7'lik

kısmı koenzim Q₉ şeklindedir (Turunen ve ark. 2004). İnsan vücudunda total olarak yaklaşık 1,6 g koenzim Q bulunmaktadır. Bunun %80'den fazlası indirgenmiş ubikinol (QH₂) formundadır (Kagan, 2001). Ubikinol oranı mitokondriyal enerji üretimi arttığında, uncoupling proteinler aktive edildiğinde ya da ubikinon redüktazlar inhibe edildiğinde düşerken, sitokrom oksidazların inhibisyonunda artmaktadır (James ve ark., 2003).

Vücuttaki en yüksek koenzim Q konsantrasyonları sırasıyla kalp (114 µg/g), böbrekler (67µg/g), karaciğer (55µg/g) ve pankreasta bulunurken, en düşük konsantrasyonu akciğerlerde (8 µg/g) bulunmaktadır (Hoppe ve ark., 1999). 1 mL kandaki normal koenzim Q seviyesi ise 0,3 – 3.84 µg. arasında değişmektedir (Jolliet ve ark., 1998).

Vücut koenzim Q miktarı yaşamın ilk 20 yılında hızla artarken, sonraları farklı organlarda farklı oranlarda düşmektedir. 80 yaşındaki bireylerin bazı organlarda yenidoğanlarda gözlemlenenden daha az koenzim Q'ya rastlamak dahi mümkündür (Kalén ve ark. 1989). Dokulardaki koenzim Q konsantrasyonunun yaş ilerledikçe azalmasında, zamanla artan gereksinimlerin yanı sıra, azalan üretim faaliyetleri ve koenzim Q sentezi için gerekli öncüllerin yetersiz alımının da etkili olduğu düşünülmektedir (Ernster ve ark. 1993).

İnsan vücudundaki koenzim Q'nun yarısı büyük oranda karaciğerde sentez edilirken, diğer yarısı besinler ile elde edilmektedir. Vücutta üretilmesi ve besinlerle sağlanması dışında, koenzim Q diyet ilave ürünü olarak da temin edilebilmektedir (Pressman, 1997; Overvad ve ark. 1999).

2.4.3. Vücut Koenzim Q Seviyesindeki Değişiklikler

Koenzim Q seviyesindeki değişiklikler, hücresel fonksiyonlar ve normal metabolizma üzerinde büyük etkilere sahiptir. Plazma ubikinol seviyesindeki düşüşler başlıca karaciğer fonksiyon bozukluklarında ve artan oksidatif stres durumlarında oluşmaktadır. Bu düşüşler, hiperlipidemi ve diyabet durumlarında gözlemlenen daha az belirgin oksidatif stres durumlarını da yansıtabilmektedir. Bu değişikliklerin ölçülmesi bazı hastalıklar için işaretçi (marker) olarak kullanılmaktadır (Sies, 2004; Kagan, 2001).

Artan oksidatif stres şartlarında plazma membranı koenzim Q miktarında artış gözlenmekte, fakat bu artışın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, endomembranlardan plazma membranına doğru özel proteinler ve koenzim Q

bakımından zengin veziküller yardımıyla koenzim Q transferi olduğu ya da yeni sentezlenen koenzim Q moleküllerinin plazma membranına yönlendirildiği düşünülmektedir. Ayrıca oksidatif stres şartlarında mitokondriyal koenzim Q miktarındaki düşüş ile plazma membranı koenzim Q miktarındaki artış arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir (Kagan, 2001).

2.4.3.1. Karaciğer Hastalıklarında Koenzim Q Seviyesi

Normal bir karaciğer vücudun ihtiyacı duyduğu ubikinol miktarının devamlılığını sağlayabilmektedir. Fakat plazmadaki ubikinol büyük oranda karaciğer orijinli olduğu için, karaciğer hastalıkları onun plazmadaki seviyesini etkileyebilmektedir (Kagan, 2001).

Yapılan araştırmalarda karaciğer hepatitleri, siroz ve karaciğer karsinoması gibi karaciğer hastalıklarında ubikinol seviyesinin önemli ölçüde düştüğü belirlenmiştir. Bunun dışında çeşitli karaciğer hasarlarında da plazma ubikinol ve total koenzim Q miktarı düşmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, azalan koenzim Q miktarının karaciğer hastalıkları için belirteç olarak kullanılabileceği anlaşılmaktadır (Kagan, 2001).

2.4.4. Koenzim Q'nun Biyokimyasal Özellikleri

Mitokondriyal solunum zincirindeki merkezi rolünün dışında, son zamanlarda koenzim Q'nun birtakım yeni fonksiyonları keşfedilmiştir (Turunen ve ark. 2004). Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

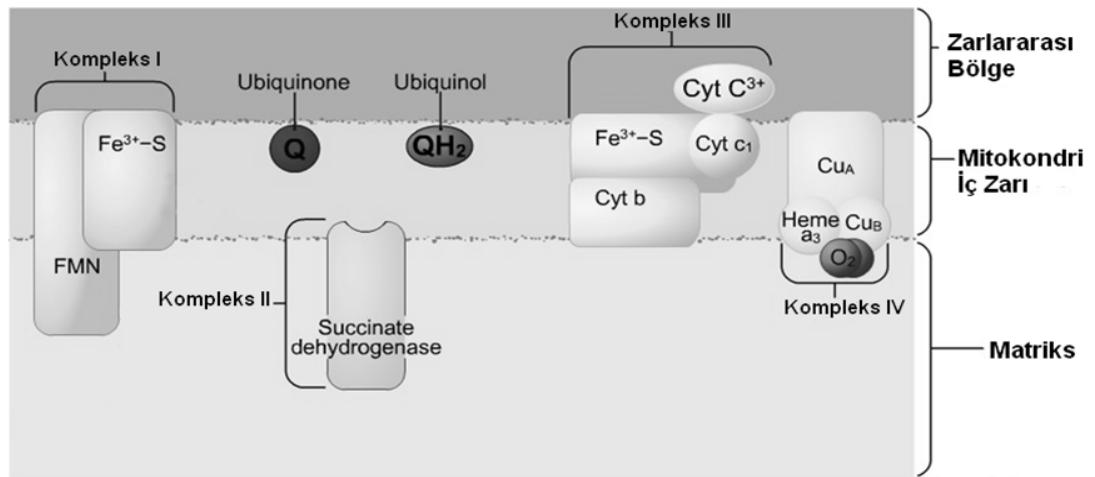
- 1- Mitokondriyal elektron taşıma zincirinde elektron taşıyıcı olarak görev alır.
- 2- Plazma membranı ve lizozomlar gibi mitokondri dışındaki membranlarda elektron taşıyıcı olarak görev alır.
- 3- Endojen olarak sentezlenen tek yağda çözünen antioksidandır.
- 4- Mitokondriyal porların geçirgenliğini düzenler.
- 5- Mitokondriyal uncoupling proteinlerin aktivasyonu için gereklidir.
- 6- Membranların fizikokimyasal özelliklerini düzenler.
- 7- Monosit hücrelerinin yüzeyindeki β 2-integrinlerin miktarının düzenlenmesini sağlar.
- 8- Endotelial fonksiyon bozukluklarının iyileştirilmesini sağlar.

- 9- Mayalarda sülfid'in oksidasyonunu sağlar.
- 10- Bakterilerde disülfid bağlarının oluşumunu başlatır.

2.4.4.1. Koenzim Q'nun Mitokondriyal Elektron Taşıma Zincirindeki Rolü

Koenzim Q'nun ilk keşfedilen ve en iyi tanımlanmış biyokimyasal fonksiyonu, mitokondri iç zarında bulunan, besin maddelerinin oksidatif degradasyonundaki son basamağı oluşturan elektron taşıma zincirindeki mobil elektron taşıyıcı rolüdür (Kagan, 2001).

Elektron taşıma zinciri, yüksek enerjili elektronları son elektron alıcısı olan moleküler oksijene (O_2) aktaran 4 adet kompleksten oluşur.

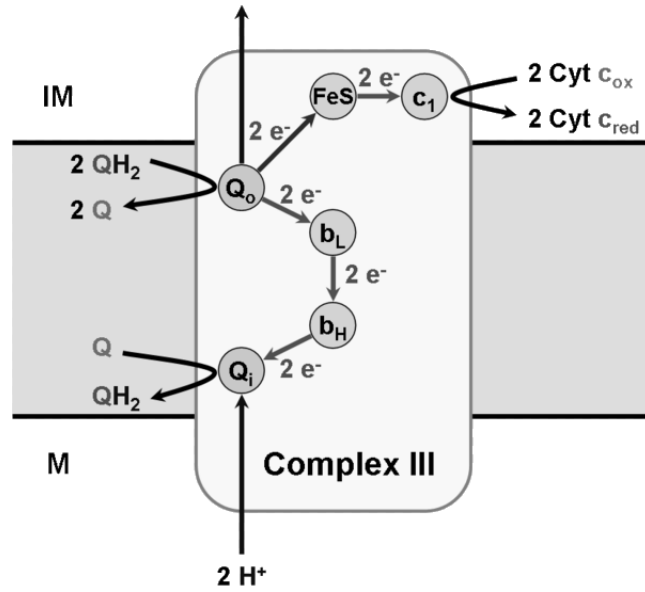


Şekil 2.14. Elektron taşıma zinciri ve koenzim Q'nun rolü

(<http://www.science.smith.edu/departments/Biology/Bio231/ets.html>)

Ubikinol'ün Kompleks I ve Kompleks II'den aldığı elektronları Kompleks III'e aktararak yükseltgenmesi ve zarlar arası bölgeye proton pompalanması "Q döngüsü" adı verilen bir mekanizma ile gerçekleştirilmektedir. Mitchell tarafından teklif edilmiş olan bu döngü, ubikinol'ün (QH₂) kompleks IV'e Q₀ bölgesinden kovalent olarak bağlanması ile başlar. Ubikinol, elektronlarından birini demir sülfür proteinine, diğerini ise sitokrom b'ye verir. İki adet protonu ise zarlar arası bölgeye bırakarak Q_i bölgesine geçer. Demir sülfür proteinine verilen elektron, önce sitokrom c₁ 'e oradan da sitokrom c 'ye geçer ve indirgenen sitokrom c yapıdan ayrılarak, aldığı elektronu kompleks IV'e aktarır. Sitokrom b'ye verilen diğer elektron ise Q_i bölgesine geçen ubiquinon'a geri verilerek yarı indirgenmiş form semiquinon oluşur. Bu kararsız molekülü ubikinol'e indirgemek

ve kompleks IV'e elektron akışını devam ettirmek için, ikinci bir ubikinol molekülü Q_0 bölgesine bağlanır ve yine protonlarını zarlararası bölgeye, elektronlarından birisini demir sülfür proteinine, diğerini sitokrom b'ye verir. Demir sülfür proteinine verilen elektron, kompleks IV'e aktarılmak üzere önce sitokrom c_1 sonra da sitokrom c'ye verilirken, sitokrom b'ye verilen elektron daha önceden oluşmuş semiquinon'u ubikinole indirgemedi kullanılır ve bu sistem döngü halinde devam eder (http://en.wikipedia.org/wiki/Q_cycle 25.02.2010). Q döngüsü, Şekil 2.15'te şematize edilmiştir.



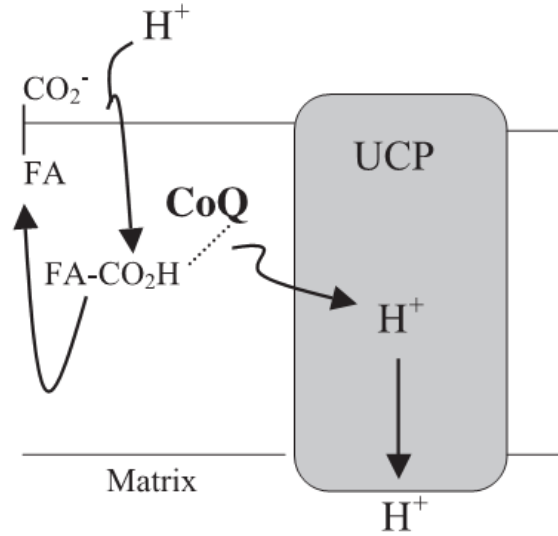
Şekil 2.15. Q Döngüsü (http://en.wikipedia.org/wiki/File:Complex_III.png)

2.4.4.2. Koenzim Q'nun Uncoupling Proteinlerin Aktivasyonuna Etkisi

Mitokondriyal taşıyıcılardan biri olan uncoupling proteinler, çoğu hayvan ve bitki hücrelerinde mevcuttur. Mitokondri iç zarında bulunan uncoupling proteinler, sitoplazmadan matrikse proton transferi yapabilmektedirler. İnsanlarda bilinen beş adet uncoupling proteinden UCP1 kahverengi yağ hücrelerinde, UCP2 çoğu hayvan dokusunda, UCP3 iskelet kasında bol miktarda bulunmaktadır. Uncoupling proteinler ısı üretiminde rol almalarının yanında, oksijen radikallerinin baskılanması ile ilişkili oldukları da düşünülmektedir. Ek olarak, değişen UCP ekspresyonunun obezite ve diyabet ile ilgili olabildiği teklif edilmektedir (Turunen ve ark. 2004).

Yapılan araştırmalarda koenzim Q'nun okside formu olan ubikinon'un, yağ asitlerinden aldığı protonu (H^+) uncoupling proteinlerin akseptör kısmına vererek bu

proteinlerin aktivasyonunu sağladığı bildirilmiştir (Echtay ve ark., 2000). Bu durum, Şekil 2.16’da şematize edilmiştir.



Şekil 2.16. Koenzim Q etkisinde uncoupling protein aktivasyonu (Echtay ve ark., 2000)

2.4.4.3. Koenzim Q’nun Transmembran Elektron Taşıma Zincirindeki Rolü

Yıllar boyu yapılan araştırmalar koenzim Q’nun mitokondri iç zarındaki elektron taşıma fonksiyonu üzerinde yoğunlaşmışken, koenzim Q’nun hayvansal hücrelerin plazma membranında, serum lipoproteinlerinde ve endomembranlardaki varlığının da kanıtlanmasıyla bu araştırmalar daha kapsamlı bir hale gelmiştir (Kalén ve ark. 1987).

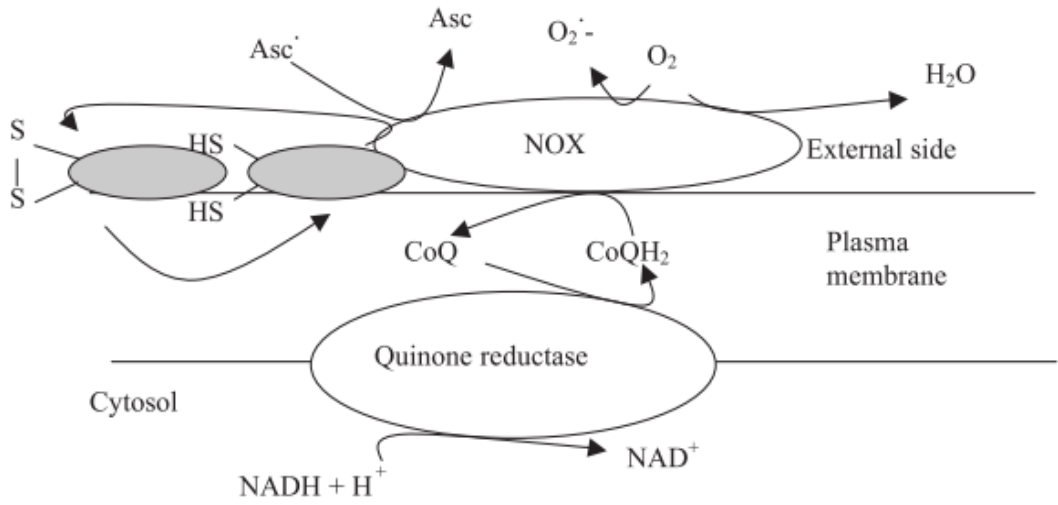
Takahashi ve ark. (1993) tarafından yürütülen bir araştırmada, hücrenin tüm alt elemanlarının önemli miktarlarda koenzim Q içerdiği doğrulanmıştır. Çoğu membranda total koenzim Q miktarının %70-80 oranında ubikinol formunda olduğu, bu oranın plazma membranında %30’a düştüğü belirlenmiştir.

Koenzim Q, farklı hücrel membranlarda eşit olmayan biçimde dağılmıştır. Bu durumun koenzim Q’nun farklı membranlarda farklı görevler üstlenmesinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Yapılan araştırmalarda oksidatif stresin memeli ve maya hücrelerinde koenzim Q’nun hücre içi dağılımını etkilediğini ortaya koymuştur (Crane ve ark. 1993).

Ekstramitokondriyal membranların başında gelen plazma membranı, çeşitli redox aktivitelere sahiptir. Bu aktivitelerin en önemlisi, NADH gibi hücre içi elektron

donörlerini kullanarak ferrisiyanit, diferrik transferin ve askorbil gibi çeşitli hücre dışı serbest radikallerin indirgenmesini sağlayan koenzim Q bağımlı transmembran elektron taşıma sistemidir (Kagan, 2001).

Plazma membranının sitosole bakan yüzeyinde, NADH varlığında koenzim Q'yu indirgeyen bir quinone redüktaz enzimi bulunur. Koenzim Q, bu enzimden aldığı proton ve elektronları plazma membranına dıştan bağlanmış elektron taşıyıcı NADH oksidaz (NOX) enzimine verir. NADH oksidaz ise, elektronları son alıcıları olan moleküler oksijene (O_2), askorbil radikallerine ve protein disülfidlerine verir (Turunen ve ark. 2004).



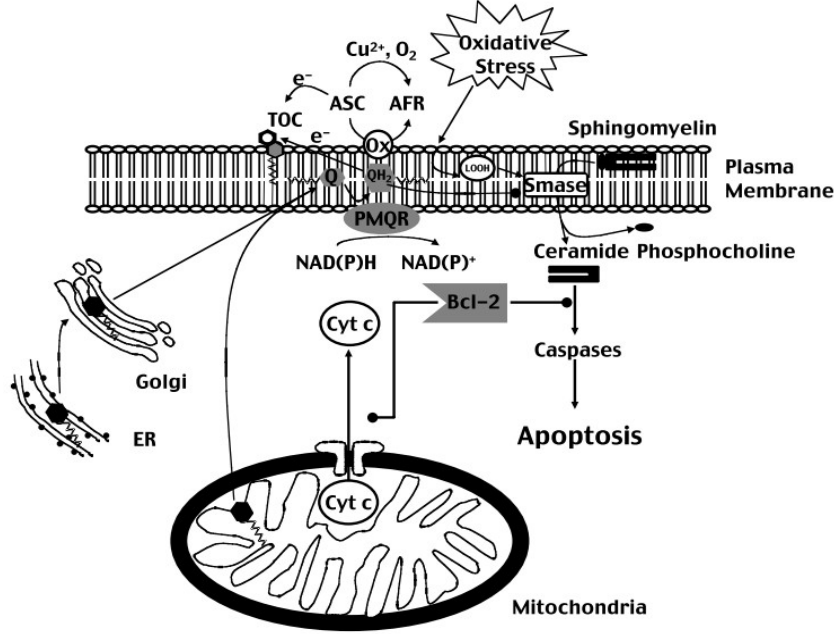
Şekil 2.17. Koenzim Q bağımlı transmembran elektron taşıma sistemi (Turunen ve ark. 2004)

Sun ve ark. (1992) tarafından yapılan bir araştırmada, heptan uygulaması ile koenzim Q'nun membrandan uzaklaştırılmasının NADH oksidaz aktivitesini inhibe ettiği, koenzim Q ilavesi ile enzimin yeniden aktive olduğu görülmüştür.

2.4.4.4. Koenzim Q'nun Apoptosis Sürecindeki Rolü

Oksidatif stresin uyarılması, plazma membranında lipid hidroperoksit (LOOH) seviyesinde bir artışa neden olur. Bu durum magnezyum bağımlı nötral sfingomyelinaz (Smase) enziminin aktivasyonuna yol açar ve sfingomyelin, fosfokolin ve seramid'e hidroliz olur. Seramid hücre içi sekonder haberci olarak davranır ve kaspaz enziminin aktivasyonuna yol açar ve süreç apoptozis ile sonlanır (Kagan, 2001)

Koenzim Q ve plazma membranı koenzim Q redüktazlar (PMQR), lipid peroksidasyonunu düşürmekte, dolayısıyla sfingomyelinaz aktivasyonunu önleyerek apoptosise karşı koruyucu rol üstlenmektedirler.



Şekil 2.18. Oksidatif stres yoluyla hücre ölümünde koenzim Q'nun düzenleyici rolü (Kagan, 2001)

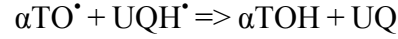
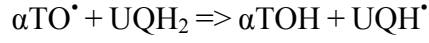
2.4.4.5. Koenzim Q'nun Antioksidan ve Prooksidan Fonksiyonu

Koenzim Q'nun antioksidan işlevi, tam indirgenmiş formu olan ubikinol ($\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$) ve yarı indirgenmiş formu olan semiubikinson ($\text{CoQ}_{10}\text{H}^*$) ile ilgilidir (Siemieniuk ve ark. 2005). Yağda çözünbilmesi, rejenerasyonunun devamlılığı ve lipid peroksidasyonunu hem başlangıç hem de gelişme safhasında engelleyebilmesi, biyolojik membranlarda üretilen radikallere karşı koenzim Q'yu yüksek oranda etkili bir antioksidan kılmaktadır (Turunen ve ark. 2004).

Antioksidan fonksiyonunun bir sonucu olarak indirgenmiş koenzim Q (ubikinol) yükseltgenmektedir. Fakat koenzim Q'nun antioksidan fonksiyonunu sürdürebilmesi için tekrar indirgenmesi gerekir. Bu yüzden plazma membranı, endomembranlar ve plazma lipoproteinlerindeki mevcut koenzim Q indirgenmiş olarak kalmaktadır (Takahashi ve ark. 1993). Bunun dışında diyetle alınan koenzim Q da indirgenmektedir (Stocker ve ark. 1993). Mitokondri iç zarındaki ubikinson'un indirgenmesi ETS dehidrogenaz enzimleri ve diğer enzimler yardımıyla gerçekleşirken,

plazma membranındaki ubikinon'un indirgenmesi çoğunlukla flavoenzimler yoluyla olmaktadır. Bu enzimler tek-elektron CoQ redüktazlar ve iki-elektron CoQ redüktazlar olarak iki gruba ayrılmaktadır. Tek-elektron CoQ redüktazlar elektronların ubikinon'a teker teker verilmesini, iki-elektron CoQ redüktazlar ise iki elektronun aynı anda verilmesini katalizler. Elektron ve proton kaynağı olarak sitoplazmadaki NADH ve NADPH kullanılmaktadır (Lind ve ark. 1990).

Koenzim Q, kendi antioksidan faaliyetleri dışında vitamin E (α -tokoferol) ve vitamin C gibi bazı antioksidanların indirgenmiş durumlarının devamlılığının sağlanmasında görev almaktadır (Beyer, 1994). Ubikinol ya da semiubikinon, α -tokoferoksil radikalleri ile etkileşime girerek vitamin E'nin aktif formuna geri dönüşünü sağlar.



Koenzim Q'nun bilinen antioksidan özelliklerine paradoksal biçimde, yarı indirgenmiş formu olan semiubikinon, oksijen ile tepkimeye girerek süperoksit radikalleri üretebilmektedir ve bu durum koenzim Q'nun "prooksidatif" özelliğe de sahip olduğunu gösterir (Siemieniuk ve ark. 2005). Semiubikinon, ubikinon'un bir e^- almasıyla ya da ubikinol'ün bir e^- vermesiyle oluşabilmektedir. Koenzim Q'nun antioksidatif ve prooksidatif formları arasındaki hassas dengenin kurulmasında, tek elektron ve iki elektron koenzim Q redüktazların yanı sıra, koenzim Q'nun diğer hidrofilik ve lipofilik antioksidanlarla olan ilişkileri de önemli rol oynamaktadır (Kagan, 2001).

Solunum zincirindeki koenzim Q'nun süperoksit radikali üretimindeki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. Süperoksit oluşumu, kompleks III'te Q döngüsü esnasında görülmektedir. Fakat semiubikinon oluşumu ubikinol'ün proton kaybetmesine bağlı olduğu ve mitokondri iç zarında bu durum güç olduğu için, mitokondriyal koenzim Q'nun süperoksit oluşumundaki rolü olası görünmemektedir. Bununla beraber mitokondriyal çift tabaka fosfolipid zarın tahribatı deprotonasyonu kolaylaştırmaktadır. Alternatif biçimde, koenzim Q'nun reaktif oksijen türleri (ROS) ile etkileşimi, çift kat fosfolipid içerisinde sırasıyla semiubikinon ve hidroperoksil radikalleri üretebilir. Oluşan hidroperoksil radikalleri mitokondri matriksine geçerek hidrojen peroksite dönüştürülürler (James ve ark. 2003).

2.4.5. Koenzim Q'nun Kanser Tedavisinde Kullanımı

Koenzim Q'nun kanser için teklif edilen etki mekanizmaları, onun antioksidan fonksiyonunun yanı sıra hücresel enerji üretimindeki temel rolünü ve bağışıklık sistemini uyarmasını kapsamaktadır. Koenzim Q, kısmi immunostimulatör potansiyeli nedeniyle çeşitli kanser tiplerinde “adjuvant madde” olarak kullanılmaktadır.

Koenzim Q'nun immun sistem üzerindeki uyarıcı etkisi nedeniyle kansere karşı indirekt olarak etki gösterirken, bu bileşiğin analoglarının kanser gelişimini direkt olarak baskılayabildiğine dair kanıtlar da mevcuttur. Koenzim Q analoglarının, in vitro şartlarda kanserli hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiği ve kanserli hücre nakledilmiş fare ve ratlarda ise kanserli hücrelerin gelişimini önlediği gösterilmiştir. Bu yüzden bu analogların normal biyokimyasal reaksiyonları bozan antimetabolitler olduğu, dolayısıyla kısa süreli periyotlarla kemoterapik ajan olarak kullanılabileceği teklif edilmiştir (Folkers, 1974).

Koenzim Q'ya kanser tedavisinde tedavi edici bir ajan olarak yaklaşılabileceği fikri ilk kez 1961'de, göğüs kanserine yakalanmış İsveçli ve Amerikalı hastalar üzerinde yapılmış bir araştırmada, hastaların kanlarında koenzim Q eksikliğinin fark edilmesiyle başlamıştır (Folkers ve ark. 1997). Bunu izleyen bir başka araştırmada, göğüs kanseri prognozu ve plazmadaki koenzim Q seviyesi arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (Jolliet ve ark. 1998). Göğüs kanseri dışında, akciğer, karaciğer, pankreas, prostat, böbrek, kolon ve beyin kanserli hastalar ile lenfoma ve miyeloma gibi kötü huylu tümörlere sahip hastaların da kanlarındaki koenzim Q seviyesinin düştüğü belirtilmiştir (Folkers ve ark. 1997).

Koenzim Q'nun, kanser tedavisinde kullanılan antrasiklin grubu antibiyotiklerin yol açtığı kardiyotoksisteden kalbi koruduğu ve bağışıklık sistemini uyardığı görülmüştür. (Iarussi ve ark., 1994). Anthracycline grubu bir kanser ilacı olan Doxorubicin, kalp kası mitekondrilerindeki enerji üretiminin koenzim Q ile ilgili kısmını inhibe etmekte ve kardiyotoksisteye yol açmaktadır (Folkers ve ark., 1985). Yapılan araştırmalarda, Doxorubicin verilmiş fare, rat ve tavşanlarda koenzim Q'nun kalp kasını koruyucu bir etki gösterdiği görülmüştür (Combs ve ark., 1977; Choe ve ark., 1979; Usui ve ark., 1982).

Koenzim Q ve radyasyon terapisinin birlikte uygulanmasını inceleyen bir başka çalışma, koenzim Q'nun radyasyon terapisinin etkinliğini azalttığını göstermiştir (Lund ve ark., 1998). Bu çalışmada, insandan alınmış küçük hücreli akciğer kanseri (small-cell

lung cancer) hücreleri bir grup fareye inoküle edilmiş, tedavide koenzim Q ve tek doz radyasyon terapisi kombine olarak uygulanmıştır. Fakat bu uygulamanın, tek doz radyasyon terapisi uygulanmış kontrol grubuna göre daha az etkin olduğu görülmüştür. Radyasyonun serbest radikal üretimine yol açtığı bilindiği için, koenzim Q'nun bir antioksidan olarak davranıp, kanserli hücreleri radyasyonla oluşturulmuş serbest radikallerden koruduğu anlaşılmıştır (Folkers, 1974).

Lockwood ve ark. (1994a) tarafından yürütülen bir araştırmada, 32 göğüs kanseri hastası 18 ay boyunca incelenmiştir. Bu hastalarda, hastalık koltuk altı lenf nodüllerine kadar yayılmış ve çok sayıda metastaz oluşumu gözlemlenmiştir. Hastalara cerrahi müdahale, radyoterapi ve kemoterapi gibi standart yöntemlerin yanında, besinsel ilave olarak C vitamini, E vitamini, beta-karotenler gibi antioksidanlar, diğer bazı vitaminler ve iz elementleri, esansiyel yağ asitleri ve günlük 90 mg. dozda koenzim Q verilmiştir. Altı hastada hiçbir ileri metastaz belirtisi gözlemlenmemiş ve hastalıkta gerileme belirtileri görülmüştür. 32 hastanın tümü ele alındığında daha az ağrı kesici ilaç kullanımı, yaşam kalitesinde ilerleme ve kilo kaybında durma gözlemlenmiştir.

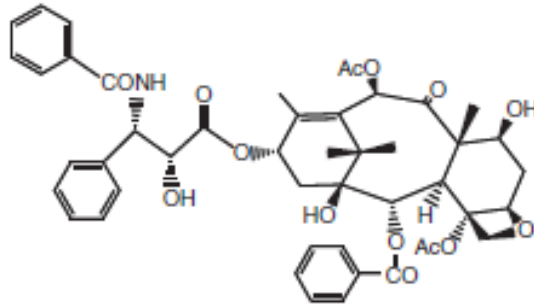
Bu çalışmanın devamı niteliğindeki bir başka araştırmada, hastalığında gerileme gözlemlenen altı hastadan bir tanesine ve yeni bir göğüs kanseri hastasına birkaç ay boyunca, sırasıyla günde 390 ve 300 mg. olmak üzere daha yüksek dozlarda koenzim Q uygulanmıştır. Yüksek dozda koenzim Q 'nun 3 – 4 ay arası uygulanmasının sonucu olarak, her iki hastadan da cerrahi operasyonla tam olarak alınmamış olan primer göğüs tümörünün gösterdiği gerileme, klinik yoklamalar ve mamografi sonuçları ile ortaya konulmuştur (Lockwood ve ark., 1994b).

Aynı araştırmacılar tarafından yürütülen bir başka araştırmada, üç göğüs kanseri hastasına, günde 390 mg koenzim Q, 3-5 yıl arası değişen sürelerde verilmiştir. Hastalardan birinde karaciğere ve diğerinde göğüs duvarına metastaz yapan tümörler gerileme göstermiş ve üçüncü hastada ise mastektomiden sonra mikroskopik bir tümör belirtisine rastlanmamıştır (Lockwood ve ark., 1995).

2.5. Taksol (Paklitaksel)

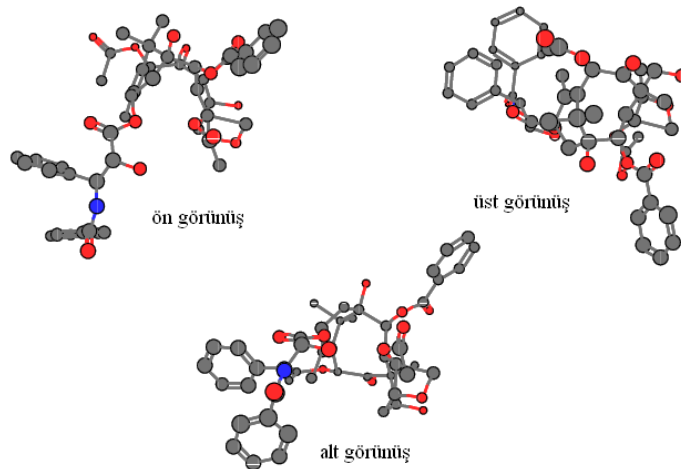
Kompleks, natürel bir bileşik olan paklitaksel (taksol), ilk defa 1962 yılında *Taxus brevifolia* (porsuk ağacı)'ndan elde edilmiştir. Taksol, fonksiyonel bir amid grubu olarak nitrojen atomunu içeren tetrasiklin bir alkoldür (Król, 1998). Taksol, diterpenoid taksanlar içerisinde günümüzde en iyi bilinen ve en çok çalışılan üyesidir. Klinikte kullanımı yararlı, doğal ürünlerden izole edilen antikanser ilaçları arasında en önemli üye taksoldür (Baloğlu, 2001; Itokawa ve Lee, 2003).

Kimyasal olarak taksol, taksan diterpenoidler olarak bilinen kompleks doğal ürünlerin geniş bir ailesi içerisinde yer alır. β -fenilizoserin yan zincir ile köprü oluşturmuş bir tetrasiklik iskelete sahip olan taksol, hiç alışılmadık bir yapıya sahiptir. (Şekil 2.19) (Baloğlu, 2001).



Şekil 2.19. Paklitaksel'in kimyasal yapısı (Itokawa ve Lee, 2003)

Taksolün üç boyutlu yapısı tersyüz edilmiş fincan gibidir (Şekil 2.20) (Baloğlu, 2001).



Şekil 2.20. Paklitaksel'in (taksol) üç boyutlu yapısı (Baloğlu, 2001)

Taksol metabolizması ratlarda ve insanlarda çalışılmış, sonuçlar değerlendirildiği vakit esas bileşiğe plazma, idrar ve safrada rastlanırken, artık taksol metabolitlerine yalnız safrada rastlanılmıştır. İnsan ve ratlardaki metabolitlerin ise birbirlerinden büyük oranda farklı oldukları, taksol'ün hepatik metabolizmasının sitokrom P450 enzimlerinin katalizörlüğünde monooksijenaz sistemi yoluyla yapıldığı görülmüştür (Cresteil ve ark., 1994).

Taksol, kemoterapide kullanılan ilaç sınıflarından mitotik inhibitörler sınıfına girer. Etki mekanizması kolşisin ve vinka alkaloidler gibi antimikrotübül ajanlarından farklıdır (Baloğlu, 2001). Diğer antimikrotübül ajanları mikrotübül dağılımını uyarırken, taksol oluşan mikrotübülü stabilize ederek dağılmasını engeller, yani bu ajanlara zıt yönde aktivite gösterir (Atas ve ark., 2006).

Paklitaksel, başta meme ve ovaryum tümörleri olmak üzere solid tümörlerin tedavisinde kullanılır (Baloğlu, 2001). Rahim karsinoması ve küçük hücreli akciğer kanseri vakalarında, radyoterapi veya cerrahi müdahalelerin uygun görülmediği hastalarda, cisplatin ile birlikte taksol kullanımı ilk başvurulacak yöntemlerden biridir. Aynı şekilde, refraktör metastazik rahim karsinoması vakaları ve kombine terapinin başarısızlıkla sonuçlandığı metastazik hastalıklar için veya adjuvant kemoterapi sonrası dönemlerde taksol birinci derecede önem kazanmıştır. Bunun dışında, AIDS'e bağlı Kaposi sarkomasında ikinci derecede önemlidir (Stohs, 2005). Taksolün, pediatrik yaş grubunda olduğu gibi yetişkin popülasyonda da akciğer non-small cell karsinoma meme, baş, boyun kanserini kapsayan çeşitli kanserlere karşı etkili olduğu rapor edilmiştir (Sakai ve ark., 1984; Perez ve ark., 2001; Dunphy ve ark., 2001).

Diğer antineoplastik ajanlara benzer olarak taksol nötrofeni (kanda nötrofil sayısının ileri derecede azalması), nötropati (sinirsel hastalık) gibi bazı yan etkilere sahiptir (Atas ve ark., 2006). Başlıca gastrointestinal yan etkiler; bulantı, kusma, ishal, mukoza iltihabı ve ağız iltihabıdır. İlacın hastaya parental olarak verilmesi direk histamin salınımından dolayı A tip I hipersensitivite oluşturabilir. Bu yüzden taksolün hastaya antihistaminik ve kortikosteroid ajanlarının kombinasyonu ile verilmesi tavsiye edilmektedir (Rowinsky ve ark., 1992).

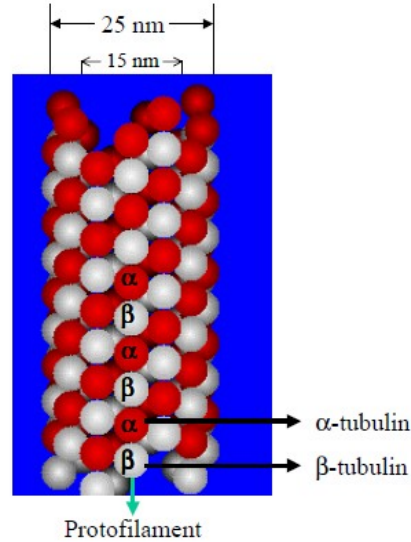
Taksolün klinik doz kullanımı 130 ve 275 mg/m² arasındadır. Yavaş infüzyonla tek doz verilir. Taksolün farmakodinamikleri; hem metabolizma hem de safra kesesi eliminasyonu ekstrarenal mekanizmalara bağlıdır ve yarı ömrü 2–5 saattir. Terapi üç haftalık bölümlerle 6–9 doz tekrarlanır. Genellikle platin bir ajanla birlikte verilir (Atas ve ark., 2006).

Varbiro ve ark. (2001), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada taksolün, mitokondriyal geçirgenliği ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) salınımını anlamlı bir şekilde arttırdığını saptamışlardır. Ayrıca bu değişikliklerin ilacın toksik etkisine bağlı olarak meydana gelen biyokimyasal değişiklikler olduğunu ve ilaç dozuna bağlı olarak değiştiğini göstermişlerdir.

2.5.1. Taksolün Etki Mekanizması

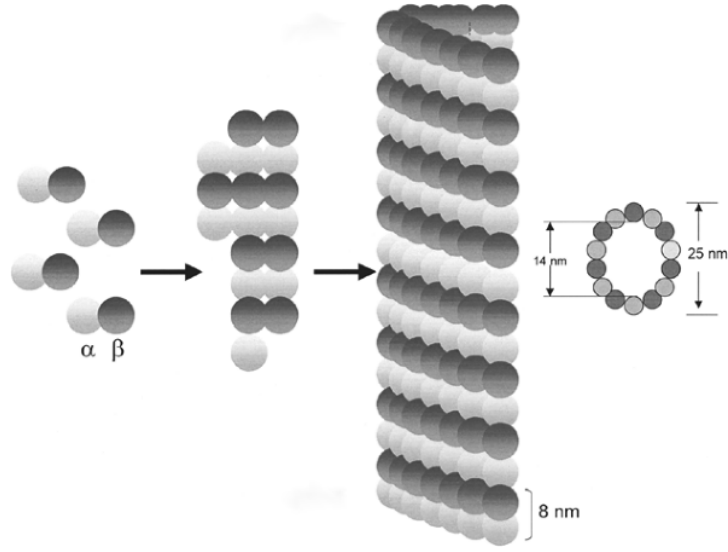
Taksol, ovaryum, göğüs ve akciğer kanserlerinde aktivite gösteren bir antikanser ajanıdır. Taksol'ün aktivitesinin hem insanlarda hem de hayvanlarda incelenmesine karşın, diğer ilaçlar ve patolojik durumların, bu bileşiğin tedavi edici etkilerini ne ölçüde değiştirebileceği şimdilik açıklığa kavuşmamıştır (Baloğlu, 2001).

Tüm ökaryotik hücreler hücre iskeleti denilen bir iç iskelete sahiptir. Bu iskelet hücre içi transportta görev alır, sil ve flagellanın hareketinde rol oynar, mitoz sırasında kromozomların ayrılmasında, hücre şeklinin belirlenmesinde ve korunmasında işlev görür. Hücre iskeleti oldukça dinamik bir yapıdadır ve protein filamentlerinin bir ağından oluşur. Bu protein filamentleri; aktin filamentleri, ara filamentler ve mikrotübüllerdir (Baloğlu, 2001).



Şekil 2.21. Mikrotübüller (<http://nessie.bch.ed.ac.uk/PAUL/TEACHING/IF/mt.htm>)

Mikrotübüller; tübülün moleküllerinden oluşan, uzun, içi boş silindirlere. Dış çapı 25 nm ve iç çapı yaklaşık olarak 14 nm'dir ve aktin filamentlerinden daha serttirler (Kleinsmith ve ark., 1988).



Şekil 2.22. Mikrotübülün şematik yapısı (Chabner ve Longo, 2006)

Mikrotübülün duvarı, tübülün moleküllerinin doğrusal polimerlerinden ibaret protofilamentlerden oluşur. Tübülün, α ve β -tübülün olmak üzere benzer fakat ayrı yapıda iki polipeptit alt ünitesinden oluşan heterodimerik bir proteindir. Bu alt ünitelerin her biri diğerine sıkıca bağlanmıştır. (Şekil 2.22) (Karol ve ark., 1995).

Spesifik olarak antimitotik ilaçlara duyarlı olan mikrotübüller, yüksek derecede değişken yapılardır (Sakai ve ark., 1984). Taksol varlığında, mikrotübül hücre iskeleti yeniden yapılandırılır ve stabil mikrotübül bantları oluşur. Hücre döngüsünün G_2/M fazında, taksol, hücreleri bloke eder. Replikasyon inhibe edilir veya çok yavaş devam eder. Taksol, bu özelliğinden dolayı oldukça ilgi çekicidir.

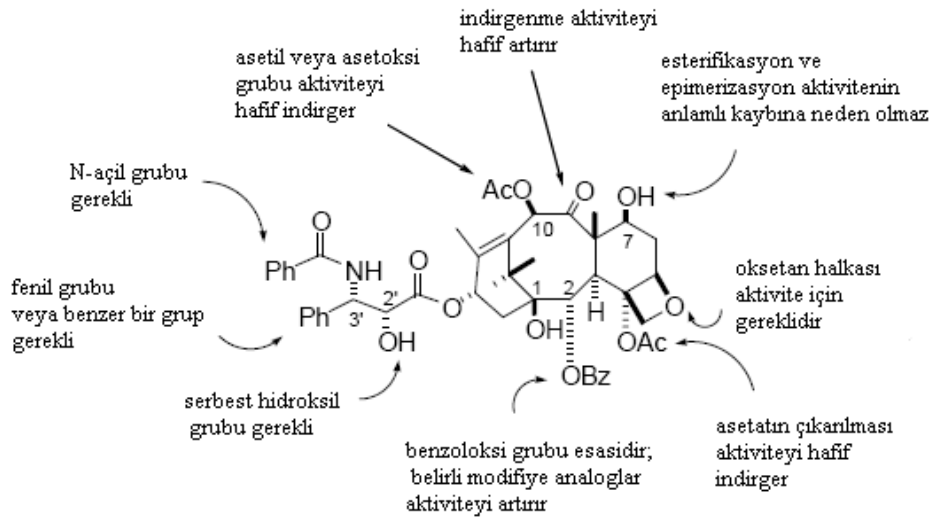
Taksol'un etki mekanizmasının aydınlatılması, bu sitotoksik ajanın klinik araştırmalarda kullanılmasında öncü olmuştur. İlk araştırmalar, taksol'un bir mitotik inhibitör olarak etki ettiğini göstermiştir (Fuchs ve Johnson, 1978). Sonraki yıllarda yapılan araştırmalar, taksol'un mikrotübülleri stabilize ettiğini ve bunların tekrar tübüline geri depolimerizasyonunu engellediğini göstermiş, bu bakımdan kolşisin, vinkristin, vinblastin ve podofilotoksin gibi diğer antimitotik ajanların etki mekanizmalarından çok farklı bir yol takip ettiğini göstermiştir (Schiff ve ark., 1979; Horwitz, 1992).

Taksol, bir ilaç gibi aktivite göstermesinin yanında bir toksin gibi bölge defektleri oluşturabilmektedir. Bu da hücrede anormal olarak değişen veya bozulan organelerin kümelenmesine neden olmaktadır (Król, 1998).

2.5.2. Taksolün Yapı-Aktivite İlişkisi

Bileşenlerin yapı-aktivite ilişkisi üzerindeki çalışmalar, molekülün etki tarzı, molekülün aktivitesindeki konformasyonlar, belirli fonksiyonel grupların rolü gibi biyolojik aktivitenin devam etmesi için esasi yapısal ihtiyaçları ile ilgili yararlı bilgi sağlar (Baloğlu, 2001).

Taksolün yapı-aktivite ilişkisi 20 yıldan fazla bir süredir araştırılmaktadır. Şekil 2.23’de bu yapı-aktivite ilişkisi gösterilmektedir. Taksol’ün yapı-aktivite ilişkisinin bilinmesi; onun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleriyle yeni analoglarının sentezine ve düzenlenmesine yardımcı olacaktır (Kingston, 1994).



Şekil 2.23. Taksolün yapı-aktivite ilişkisi (Kingston, 1994).

C-2 pozisyonundaki serbest bir hidroksil grubuyla C-13 yan zinciri, C-2 ve C-4’deki ester grupları, kseton halkası ve sert taksan yapısı aktivite için çok önemlidir. Molekülün kuzey yarım küresindeki modifikasyonlar (C-6 ve C-12’den oluşan) aktivitede güçlü değişimlere neden olur. Karbon 14 ve 1-5’den oluşan güney yarım küresindeki modifikasyonlar; taksolün güçlü antikanser aktivitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Örneğin; oksetan halkası biyolojik aktivite için esasi olarak kabul edilen 4 yapısal özellikten biridir ve birçok araştırmacı için oldukça ilginçtir (Baloğlu, 2001).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneylerde Kullanılan Hayvanların Sağlanması

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun izni ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmamızda Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarında üretilen, ağırlıkları 27-52 gr. arasında değişen, 32 adet erkek ve 32 adet dişi Swiss albino tipi laboratuvar fareleri (*Mus musculus*) kullanıldı. Kullanılan farelerin aynı jenerasyondan olmalarına dikkat edildi.

Fareler, hava sirkülasyonu mevcut 18–22 °C oda sıcaklığında, plastik kafeslerde ve Samsun Yem Fabrikası tarafından üretilen standart fare yemi ile beslendi. Su, serbest olarak verildi.



Şekil 3.1. Swiss albino tipi laboratuvar faresi (*Mus musculus*)

3.2. Farelere Uygulanan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullandığımız Taksol (Paklitaksel); etanol/kremoform EL formunda (30mg/5mL), enjeksiyona hazır olup farelere 20 mg/kg (Atas ve ark., 2006) olarak tek enjeksiyonda verilmiştir. Koenzim Q ise, fareler için 10 mg/kg (Sutken ve ark., 2007) dozda kullanılmıştır.

Taksol ve koenzim Q, 1 mL'lik plastik insülin enjektörleri ile, intraperitoneal enjeksiyon yoluyla verilmiştir.

3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Araştırmamızda kullanılan kimyasal maddelerden;

- Sodyum Hidroksit (NaOH), Hidrojen Peroksit (H_2O_2), Bakır Sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) Carlo Erba Reagents firmasından;
- Sükroz, Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4), Dipotasyum Hidrojen Fosfat (K_2HPO_4), Disodyum Hidrojen Fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Sodyum Karbonat (Na_2CO_3), 2-Tiyobarbitürik Asit (TBA) ve Asetik Asit (HAc) Merck firmasından;
- Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Hidrojen ($\beta\text{-NADPH}$), Sodyum azid (NaN_3), Kümene Hidrojen Peroksit [$\text{C}_6\text{H}_5\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OOH}$], Folin ciocalteu's fenol, Glutasyon Redüktaz (GR), L-Glutasyon ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$), Sığır Serum Albümin (BSA), Sodyum Dodesil Sülfat (SDS), n-bütanol, piridin, 1,1,3,3 tetrametoksipropan (TMP) ve Koenzim Q (CoQ) Sigma-Aldrich London England firmasından;
- Sodyum-Potasyum Tartarat [$\text{COOK}(\text{CHOH})_2\text{COONa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] Pancreac - Mantplet Esteban Barcelona Madrid firmasından,
- Taksol Bristol-Myers Squibb firmasından sağlanmıştır.

3.4. Çalışmalarda Kullanılan Aletler

Çalışmalarda OMÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarında bulunan Ohaus Adventure Pro AV264C hassas terazi, Jenway 6105 UV-VIS spektrofotometre, MeterLab PHM210 pH metre, Sonics Vibrocell VCX 130 ultrasonik homojenizatör, Kubota 3500 soğutmalı santrifüj aleti, Elektro.mag M 4812 M santrifüj aleti, Elektro.mag M2535-(6) su banyosu, Fissans WhirliMixer vorteks cihazı, Jencons Autostill 8000 distile su cihazı, Sanyo Ultra Low derin dondurucu kullanılmıştır.

3.5. Deney Protokolü

3.5.1. Araştırma Gruplarının Oluşturulması

Araştırmamızda aşağıda çizelgede gösterildiği gibi Kontrol, Taksol, Koenzim Q, Taksol + Koenzim Q olmak üzere dört grup oluşturulmuştur (Çizelge 3.1). Her grupta,

belirlenen her saat için ikisi erkek ve ikisi dişi olmak üzere toplam dört fare kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Araştırma gruplarının oluşturulması

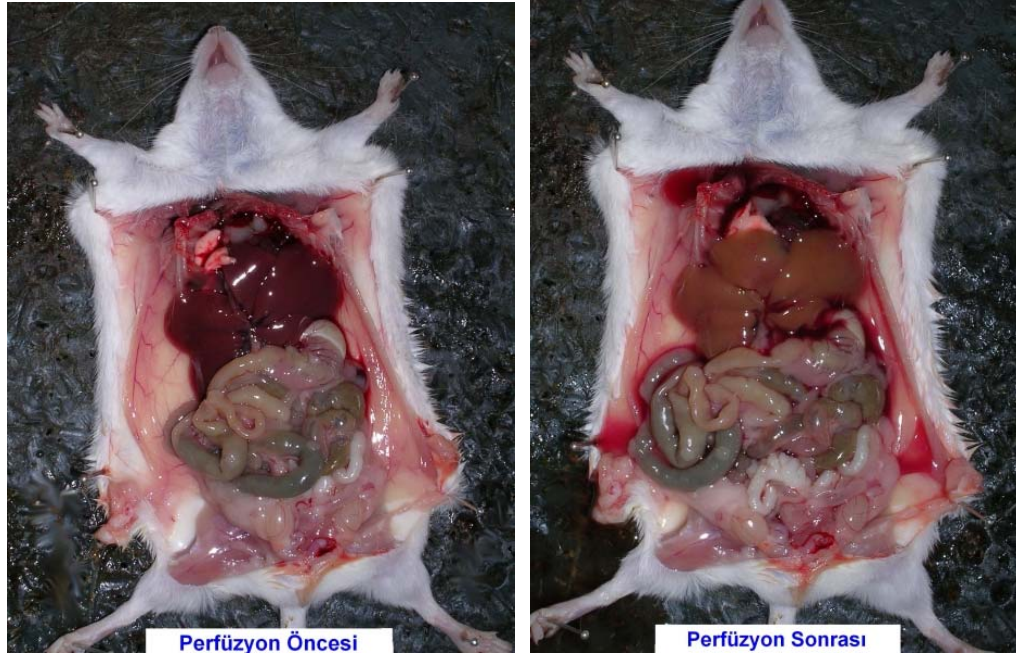
	Kontrol (K)	Taksol (T)	Koenzim Q (Q)	Taksol + Koenzim Q (TQ)
4. Saat	4	4	4	4
8. Saat	4	4	4	4
12. Saat	4	4	4	4
24. Saat	4	4	4	4

3.5.2. Enjeksiyon

Enjeksiyondan önceki 24 saat aç bırakılan, 4 ayrı çalışma grubuna ayrılmış farelerden Taksol ve Taksol + Koenzim Q gruplarındaki farelere 24.09.2010 tarihinde saat 08.55'den itibaren, 20 mg/kg dozdaki (Atas ve ark., 2006) Taksol intraperitoneal olarak enjekte edildi. Taksol enjeksiyonunun hemen ardından Koenzim Q ve Taksol + Koenzim Q grubu farelere 10 mg/kg dozdaki Koenzim Q (Sutken ve ark., 2007) yine intraperitoneal olarak enjekte edildi. Enjeksiyon işlemi 11.00'de tamamlandı. Kontrol gruplarına ise hiçbir işlem uygulanmadı.

3.5.3. Sakrifikasyon ve Sonrasındaki İşlemler

Son enjeksiyon işleminden sonra her grup için 4, 8, 12 ve 24. saatlerde, belirtilen sayılardaki fareler servikal dislokasyon işlemi ile sakrifiye edildiler. Sakrifiye edilen farelerin karın ve göğüs kısımları makasla açıldı ve karaciğerleri ortaya çıkarıldı. % 0.9'luk NaCl (serum fizyolojik), enjektör yardımıyla karaciğer ana arterinden verilerek perfüzyon işlemi gerçekleştirildi. Karaciğer soluk renk alana kadar içerisindeki kanın perfüzyon ile tahliye edilmesine azami özen gösterildi (Şekil 3.2). Sonrasında karaciğer disekte edilerek 0,25 M süktroz çözeltisi içeren kaplara konuldu, enzimatik aktivite tayini yapılncaya kadar -80°C 'de muhafaza edildi.



Şekil 3.2. Perfüzyon öncesi ve perfüzyon sonrası görünüm

3.5.4. Aktivite Tayini Öncesi İşlemler

Enzim aktivite tayinine başlanmadan önce doku örnekleri -80°C 'den çıkarıldı ve oda ısısında çözülmesi sağlandı. Sonra karaciğer örnekleri hassas terazide tartılarak ağırlıkları belirlendi. Sonrasında doku örneklerine 1 g : 2 mL olacak şekilde, doku ağırlıklarının iki katı kadar 0,25 M süktroz çözeltisi eklenerek aşağıdaki işlemlere geçildi.

1. **Homojenizasyon + Sonikasyon:** Buzlu ortamda, 4 defa olmak koşuluyla 20 s işlem – 10 s bekleme şeklinde yapıldı.

2. **Santrifüj:** 15000 rpm dönüş hızında, 20 dakika boyunca yapıldı.

Santrifüj işleminden sonra, ependorfların dibine çöken pelletlerin üst kısmında bulunan sıvı süpernatantlar alındı. Temiz, etiketlenmiş ependorflara aktarılan süpernatantlar ile total protein, total MDA analizleri ve enzim aktiviteleri ölçümleri yapıldı.

3.5.5. Total Protein Tayini

Total protein tayini, sığır serum albüminin (BSA) standart olarak kullanıldığı Lowry ve ark. (1951)'nin yöntemine göre yapıldı. Lowry metodu, bakır iyonlarının protein peptidleri ile alkali ortamda kompleks oluşturması sonucu meydana gelen

tungsten mavisi-mor rengin, 645 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümü esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

A Çözeltisi:

- 1 mL %1'lik $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (distile suda çözündürülerek hazırlandı)
- 1 mL %2'lik $\text{COOK}(\text{CHOH})_2\text{COONa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (distile suda çözündürülerek hazırlandı)
- 98 mL %2'lik Na_2CO_3 (0,1 N NaOH içerisinde çözündürülerek hazırlandı)

Belirtilen hacimlerde karıştırılan A çözeltisi, oda sıcaklığında korundu.

B Çözeltisi:

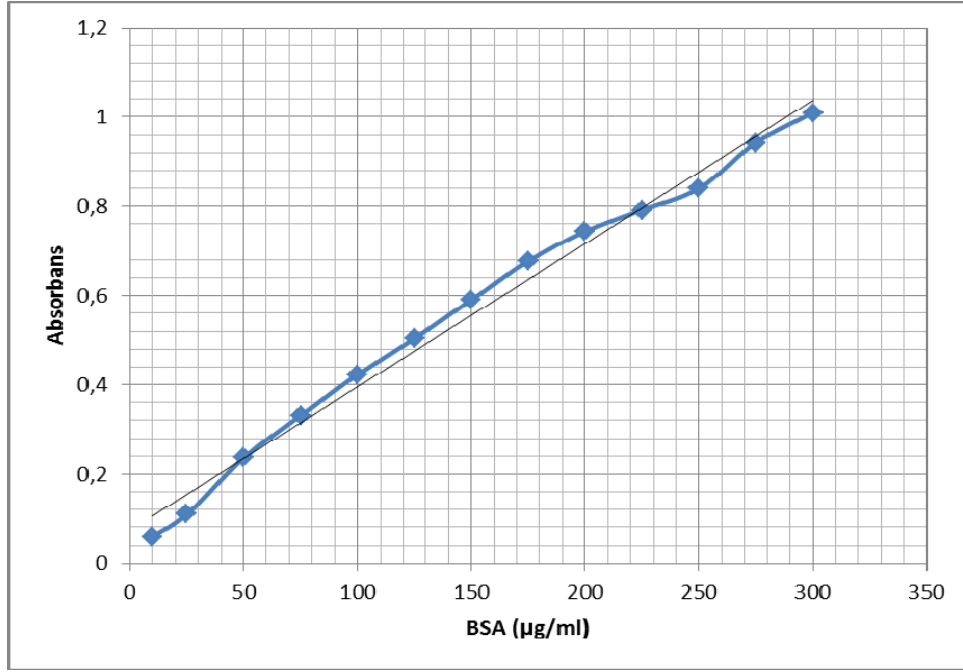
- 2 N Folin ciocalteu's fenol reaktifi, distile su ile 1:1 hacim oranında sulandırıldı.
- *Standart:* 0.1 gr 100 mL BSA (distile suda çözündürülerek hazırlandı).

Taze olarak hazırlanan B çözeltisi karanlıkta muhafaza edildi.

Prosedür:

Bir deney tüpünde 10 μL süpernatant üzerine 990 μL distile su eklenerek örnekler 1/100 oranında seyreltildi. Sonra bu tüpe 2,5 mL A çözeltisi eklendi ve vorteks yapılarak çalkalandı. Oda sıcaklığında, 10 dakikalık inkübasyondan sonra 250 μL B çözeltisi eklenerek iki kere kuvvetli vorteks yapıldı. 45 dakika karanlıkta bekletildikten sonra, tüp içeriği spektrofotometre küvetine dökülerek, 695 nm dalga boyunda köre karşı absorbansı okundu. Sonuçların daha güvenilir olması açısından tüm örnekler iki kez çalışıldı.

Çeşitli konsantrasyonlardaki BSA'nın daha önceden ölçülmüş absorbansları, standart olarak kullanıldı (Şekil 3.3)



Şekil 3.3. Standart olarak kullanılan BSA'nın farklı konsantrasyonlardaki absorbanları

3.5.6. MDA Tayini

Karaciğer MDA tayini, Ohkawa ve ark. (1979) tarafından belirlenmiş modifiye TBA testi uygulanarak yapıldı. Lipit peroksidasyonu son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA), aerobik şartlarda ve 90°C inkübasyonda TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturur. Yöntem, bu kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

- % 8,1'lik SDS (distile suda çözündürülerek hazırlandı)
- 1 M NaOH (distile suda çözündürülerek hazırlandı)
- % 20'lik Asetik asit (distile su ile sulandırıldıktan sonra, 1 M NaOH ile pH seviyesi 3,5'e ayarlandı)
- % 0,8 TBA (distile su ile sulandırıldıktan sonra, 1 M NaOH ile pH seviyesi 3,5'e ayarlandı)
- n-bütanol/Piridin karışımı (sırasıyla 15:1 hacimde karıştırıldı)
- *Standart:* 400 nmol/mL TMP (distile su ile sulandırıldı)

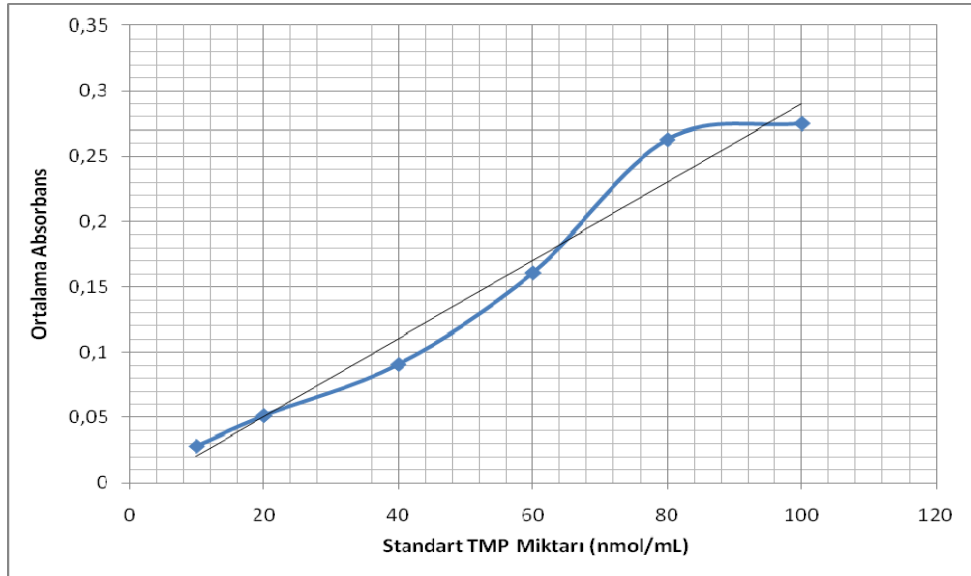
Prosedür:

Örneklerin MDA düzeylerinin hesaplanabilmesi için öncelikle bir seri standart hazırlandı ve absorbansları ölçüldü. Standart olarak TMP kullanıldı.

Standart: 400 nmol/mL TMP içerek stoktan, 10, 20, 40, ... 120 nmol/mL TMP içeren bir seri seyreltme yapıldı. Sonra bunların her birinden ısıya ve santrifüje dayanıklı deney tüplerine 0.1 mL aktarıldı. Tüp içerikleri aşağıdaki gibiydi:

0.1 mL TMP, 0.2 mL SDS, 1.5 mL Asetik asit, 1.5 mL TBA, 0.7 mL distile su.

Tüm tüpler 95°C'de 60 dakika inkübe edildikten sonra 15 dk buzda bekletildi. Daha sonra tüm tüplere 1 mL distile su ve 5 mL nBütanol-piridin karışımı eklenerek kuvvetlice vortekslendi. 4000 rpm de 10 dakika santrifüj işleminden sonra, üstteki organik faz alınarak bunların 532 nm'de absorbansları ölçüldü (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Standart olarak kullanılan TMP'nin farklı konsantrasyonlardaki absorbansları

Kör: 0.2 mL SDS, 1.5 mL Asetik asit, 1.5 mL TBA, 0.8 mL distile su santrifüje ve ısıya dayanıklı tüp içerisinde birleştirildi. Standart için uygulanan prosedür uygulandı.

Örnek: 0.1 mL süpernatant, 0.2 mL SDS, 1.5 mL Asetik asit, 1.5 mL TBA, 0.7 mL distile su santrifüje ve ısıya dayanıklı tüp içerisinde birleştirildi. Sonrasında standart için uygulanan prosedür uygulandı.

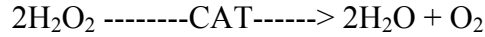
Hesaplama:

$$\text{nmol MDA/mg protein} = \frac{(\text{Absorbans}/0,003 \times 10) \text{ nmol MDA/mL}}{\text{mg protein/mL}}$$

3.5.7. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi**3.5.7.1. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini**

Katalaz (CAT) aktivitesi, Lück (1963) metoduna göre yapıldı.

Katalaz, süperoksit dismutaz'ın (SOD) oluşturduğu hidrojen peroksidi (H_2O_2), oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler.

Kullanılan Çözeltiler:

- o pH:7,0'de 1/15 M Fosfat Tamponu (hazırlanmasında KH_2PO_4 ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ kullanıldı)
- o A Çözeltisi: 0,160 mL H_2O_2 , tamponla 100 mL'ye tamamlandı.

Prosedür:

Spektrofometre, dalga boyu 240 nm olarak ayarlandıktan sonra 2,9 mL tampon ve 1/100 oranında sulandırılmış 0,1 mL örnek içeren kör tüp ile kalibre edildi.

Kuvars tüpe 2,9 mL A çözeltisi eklenerek spektrofotometreye yerleştirildi ve absorbansın sabitlenmesi beklendi. Absorbans sabitlendikten sonra 0,1 mL örnek koyuldu. Absorbanstaki azalma, 3 dakika boyunca 15 saniye ara ile ölçüldü. Özgül enzim aktivitesi, IU/mg protein olarak ifade edildi.

Hesaplama:

Enzim aktivitesi Lück (1963)'e göre hesaplanmıştır.

Bir ünite katalaz aktivitesi, 1 dakikada 1 μmol H_2O_2 parçalanmasını katalizleyen enzim miktarı olarak tanımlanır.

$$\text{Özgül CAT (IU/mg protein)} = \frac{\Delta\text{OD} \times t \times \text{S.F.} \times 1000}{0.036 \times V_o \times \text{Lowry } (\mu\text{mol/mg protein})}$$

ΔOD : Zamana göre absorbans değişimi

t: Reaksiyon süresi

S.F. : Sulandırma faktörü

0.036: H_2O_2 'nin ekstinksiyon katsayısı ($mL\mu mol^{-1}cm^{-1}$)

Vö: Örnek hacmi

3.5.7.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivite Tayini

GSH-Px aktivitesi, Paglia ve Valentine (1967) metoduna göre yapıldı.

Substrat olarak glutasyonu kullanan glutasyon peroksidaz (GSH-Px), katalizlediği reaksiyonla hidrojen peroksidi, H_2O ve O_2 'e ayırmaktadırlar. Oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar kullanılabilmesi için redükte forma (GSH) dönüştürülmesi gerekir. Glutasyon redüktaz, NADPH'ın elektronunu kullanarak okside glutasyonu redükte formuna geri dönüştürür.

Kullanılan Çözeltiler:

- pH:7,0'de 50 mM Fosfat Tamponu (hazırlanmasında K_2HPO_4 ve KH_2PO_4 kullanıldı).
- 5 mM EDTA (Fosfat tamponda seyreltildi)
- 1 M NaN_3 (EDTA'lı tamponda çözündürülerek hazırlandı)
- 3 mM β -NADPH (EDTA'lı tamponda çözündürülerek hazırlandı)
- 50 mM Kümene H_2O_2 (EDTA'lı tamponda seyreltildi)
- 150 mM GSH (EDTA'lı tamponda çözündürülerek hazırlandı)
- 1 EU/10 μL GR (EDTA'lı tamponda seyreltildi)

Prosedür:

Blank: Blank küvetine 2.68 mL EDTA'lı fosfat tamponu, 0.1 mL GSH (glutasyon), 0.1 mL β -NADPH, 0.01 mL GR (glutasyon redüktaz), 0.01 mL NaN_3 (sodyum azid) eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakikalık inkübasyona bırakıldı.

Spektrofotometrenin dalga boyu 340 nm olarak ayarlandı ve 3 mL EDTA'lı fosfat tamponu ile kalibre edildi. 5 dakikalık süre sonunda blank küvetine 0.1 mL H_2O_2 eklenerek reaksiyon başlatıldı ve küvet spektrofotometreye konularak 3 dakika boyunca 30 sn aralıklarla absorbanstaki azalma kaydedildi.

Örnek: 2.67 mL EDTA'lı fosfat tamponu, 0.1 mL GSH, 0.1 mL β -NADPH, 0.01 mL GR, 0.01 mL NaN_3 , 0.01 mL süpernatant (10 kat sulandırılmış) eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakikalık inkübasyona bırakıldı.

Sonrasında blank için uygulanan spektrofotometrik işlemler yapıldı.

Hesaplama:

Enzim aktivitesi Paglia ve Valentine (1967)'e göre hesaplanmıştır.

Aktivite, 1 dakikada 1 μmol NADPH'ın oksidasyonu olarak tanımlandı ve IU/mg protein olarak ifade edildi.

$$\text{Özgül GPx (IU/mg protein)} = \frac{\Delta\text{OD}/t \times V_t \times \text{S.F.}}{6.22 \times V_o \times \text{Lowry } \mu\text{mol/mg protein}}$$

ΔOD = Örnek ΔOD – Blank ΔOD (Zamana göre absorbans değişimi)

t: Reaksiyon süresi

V_t : Toplam hacim

S.F. : Sulandırma faktörü

6.22: NADPH'in ekstinksiyon katsayısı ($\text{mL}\mu\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

V_o : Örnek hacmi

3.6. İstatistiksel Analiz

Tüm çalışmalarda elde edilen verilerden yola çıkarak; gruplar arasındaki farklılıklar, Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Taksol'ün Karaciğer MDA Miktarı Üzerine Etkisi

Taksol'ün karaciğer MDA miktarı üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 37 ve 8.saatte % 39 artış gözlenmiştir. 12. saatte % 49 artış gözlemlenirken, 24.saatte % 41 artış görülmüştür.

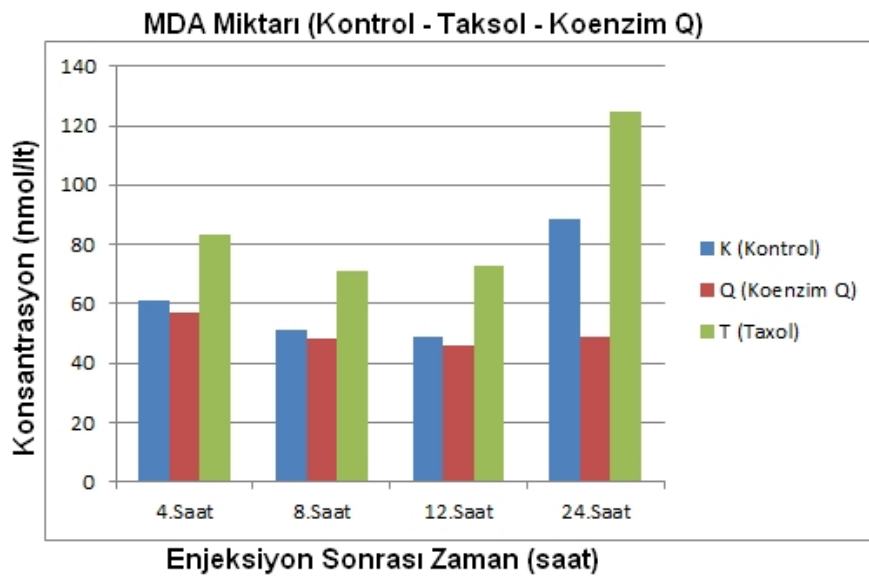
Taksol'ün karaciğer MDA miktarı üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; saatlere göre farklılıklar görülmesine rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.2. Koenzim Q'nun Karaciğer MDA Miktarı Üzerine Etkisi

Koenzim Q'nun karaciğer MDA miktarı üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 6 ve 8.saatte % 5 azalma gözlenmiştir. 12. saatte % 6 azalma gözlemlenirken, 24.saatte % 44 azalma görülmüştür.

Koenzim Q'nun karaciğer MDA miktarı üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 24. saatte anlamlı bir farklılık görülürken ($p=0,021<0,05$), diğer saatlerde görülen farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Taksol ve koenzim Q verilmiş gruplarda karaciğer MDA miktarının zamana göre değişimi, Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



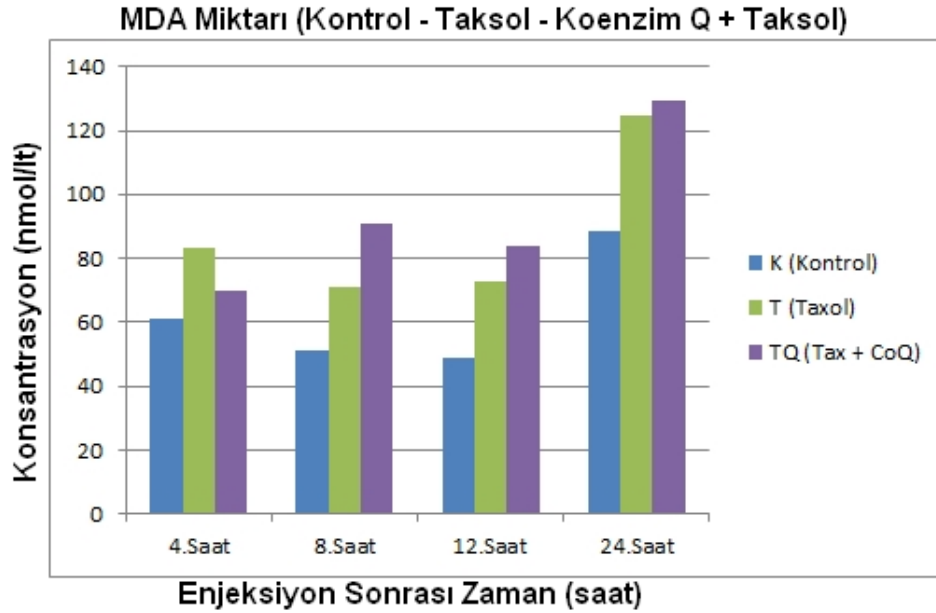
Şekil 4.1. Taksol ve koenzim Q verilmiş gruplarda karaciğer MDA miktarının zamana göre değişimi

4.3. Koenzim Q + Taksol'ün Karaciğer MDA Miktarı Üzerine Etkisi

Taksol ve koenzim Q birlikte verilmiş hayvanların karaciğer MDA miktarı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 15 ve 8.saatte % 77 artış gözlenmiştir. 12. saatte % 73 artış gözlemlenirken, 24.saatte % 46 artış görülmüştür.

Taksol + koenzim Q'nun karaciğer MDA miktarı üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; saatlere göre farklılıklar görülmesine rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Taksol ve koenzim Q birlikte verilmiş gruplarda karaciğer MDA miktarının zamana göre değişimi, Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Taksol ve Koenzim Q + Taksol verilmiş gruplarda karaciğer MDA miktarının zamana göre değişimi

Karaciğer MDA miktarına göre tüm gruplar arasındaki farklılıklarının istatistiksel ifadeleri (p değerleri) Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Karaciğer MDA miktarına göre tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel ifadeleri (p değerleri)

	4 Saat	8 Saat	12 Saat	24 Saat
Kontrol – Koenzim Q	0,773	0,99	0,99	0,021
Kontrol – Taksol	0,564	0,386	0,149	0,083
Kontrol – (Koenzim Q + Taksol)	0,564	0,248	0,149	0,149
Koenzim Q – Taksol	0,564	0,248	0,149	0,021
Koenzim Q – (Koenzim Q + Taksol)	0,386	0,191	0,149	0,021
Taksol – (Koenzim Q + Taksol)	0,386	0,773	0,663	0,773

4.4. Taksol'ün Karaciğer Katalaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Taksol'ün karaciğer katalaz aktivitesi üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 48 ve 8.saatte % 6 inhibisyon gözlenmiştir. 12. saatte de % 4,7 inhibisyon gözlemlenirken, enzim 24.saatte % 65 aktivasyon göstermiştir.

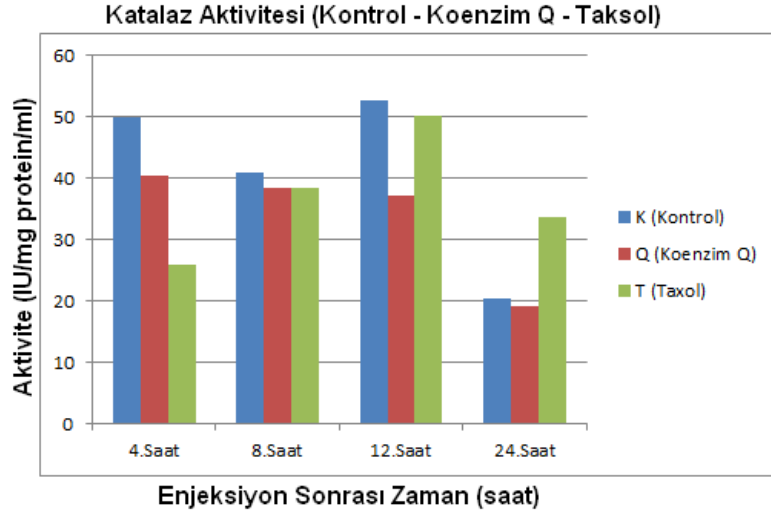
Taksol'ün katalaz aktivitesi üzerine etkileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, saatlere göre farklılıklar görülmesine rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.5. Koenzim Q'nun Karaciğer Katalaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Koenzim Q'nun karaciğer katalaz aktivitesi üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 19 inhibisyon ve 8.saatte % 6 inhibisyon gözlenmiştir. 12. saatte % 29 inhibisyon gözlemlenirken, 24.saatte % 6 inhibisyon görülmüştür.

Koenzim Q'nun katalaz enzim aktivitesi üzerine etkileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, saatlere göre farklılıklar görülmesine rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Taksol ve koenzim Q birlikte verilmiş gruplarda karaciğer katalaz aktivitesinin zamana göre değişimi, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

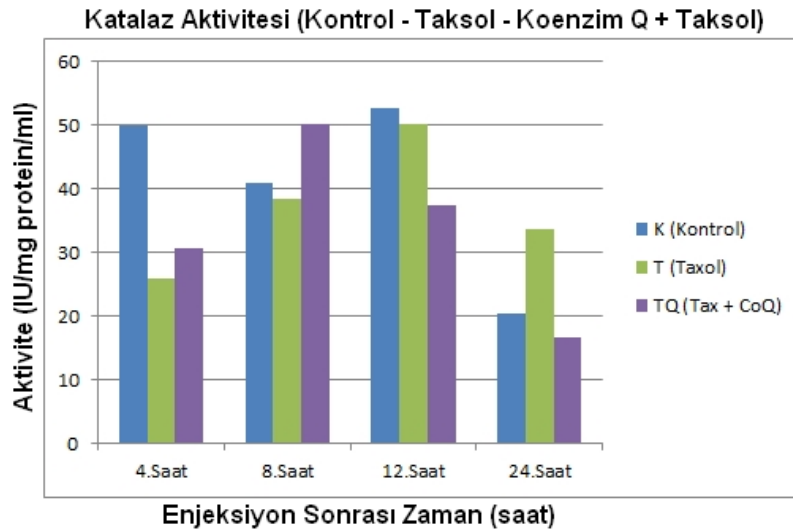


Şekil 4.3. Taksol ve Koenzim Q verilmiş gruplarda karaciğer katalaz aktivitesinin zamana göre değişimi

4.6. Koenzim Q + Taksol'ün Karaciğer Katalaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Taksol ve Koenzim Q'nun birlikte verildiği gruplarda karaciğer katalaz aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 39 inhibisyon ve 8.saatte % 22 aktivasyon gözlenmiştir. 12. saatte % 29 inhibisyon gözlemlenirken, 24.saatte % 18 inhibisyon görülmüştür.

Taksol ve Koenzim Q'nun katalaz enzim aktivitesi üzerine etkileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, saatlere göre farklılıklar görülmesine rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.4. Taksol ve Koenzim Q + Taksol verilmiş farelerde karaciğer katalaz aktivitesinin zamana göre değişimi

Karaciğer katalaz aktivitesine göre tüm gruplar arasındaki farklılıklarının istatistiksel ifadeleri (p değerleri) Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Karaciğer katalaz aktivitesine göre tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel ifadesi (p değerleri)

	4 Saat	8 Saat	12 Saat	24 Saat
Kontrol – Koenzim Q	0,564	0,99	0,149	0,773
Kontrol – Taksol	0,083	0,773	0,564	0,149
Kontrol – (Koenzim Q + Taksol)	0,149	0,99	0,149	0,564
Koenzim Q – Taksol	0,386	0,773	0,083	0,248
Koenzim Q – (Koenzim Q + Taksol)	0,386	0,99	0,773	0,99
Taksol – (Koenzim Q + Taksol)	0,773	0,773	0,083	0,083

4.7. Taksol’ün Karaciğer Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Taksol’ün karaciğer glutasyon peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 31 ve 8.saatte % 1 inhibisyon gözlenmiştir. 12. saatte de % 5 inhibisyon gözlemlenirken, enzim 24.saatte % 13 aktivasyon göstermiştir.

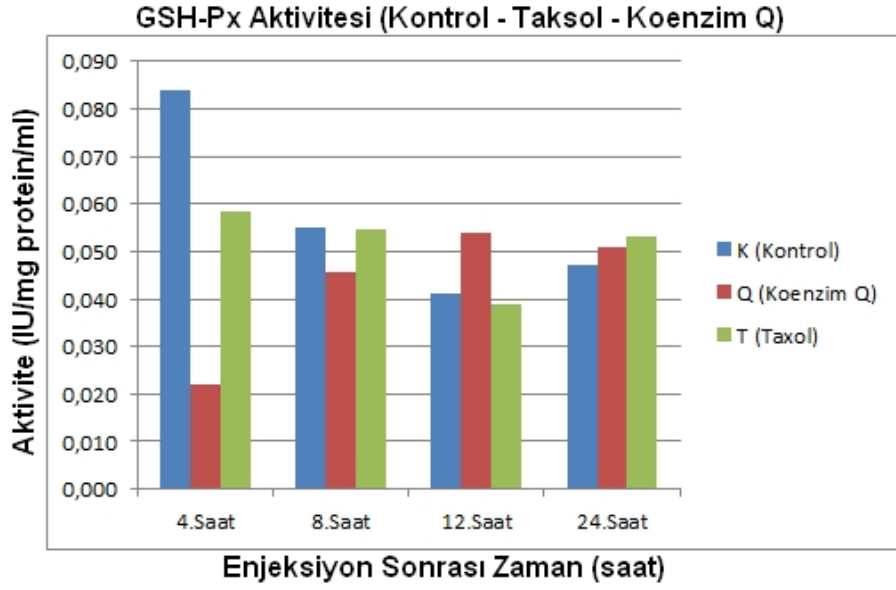
Taksol’ün glutasyon peroksidaz aktivitesi üzerine etkileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 4. saatte anlamlı bir farklılık gözlemlenirken ($p=0,021<0,05$), diğer saatlerde görülen farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.8. Koenzim Q’nun Karaciğer Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Koenzim Q’nun karaciğer glutasyon peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 73 ve 8.saatte % 17 inhibisyon gözlenmiştir. 12. saatte ise % 32 aktivasyon gözlemlenirken, aktivasyon oranı 24.saatte % 8’e gerilemiştir.

Koenzim Q’nun glutasyon peroksidaz aktivitesi üzerine etkileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 4. saatte anlamlı bir farklılık gözlemlenirken ($p=0,021<0,05$), diğer saatlerde görülen farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

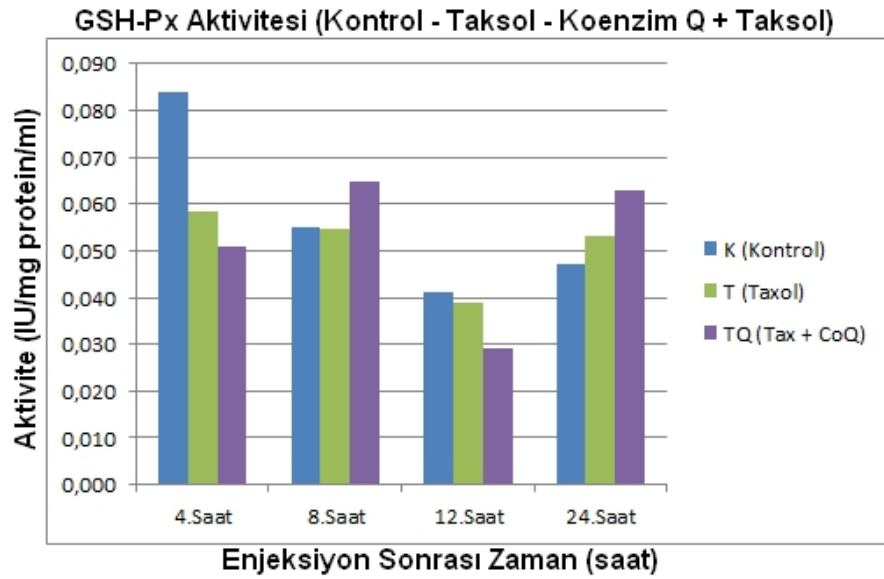
Taksol ve koenzim Q birlikte verilmiş gruplarda karaciğer glutasyon peroksidaz aktivitesinin zamana göre değişimi, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6’da gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Taksol ve Koenzim Q verilmiş gruplarda karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesinin zamana göre değişimi

4.9. Koenzim Q + Taksol'ün Karaciğer Glutatyon Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Taksol ve Koenzim Q'nun birlikte verildiği gruplarda karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 4.saatte % 39 inhibisyon, 8.saatte % 17 aktivasyon gözlenmiştir. 12. saatte tekrar % 29 inhibisyon gözlemlenirken, 24.saatte % 34 aktivasyon görülmüştür.



Şekil 4.6. Taksol ve Koenzim Q + Taksol verilmiş farelerde karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesinin zamana göre değişimi

Taksol ve koenzim Q'nun glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi üzerine etkileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 4. saatte ($p=0,018<0,05$) ve 24. saatte ($p=0,042<0,05$) görülen farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, 8. ve 12. saatte görülen farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesine göre tüm gruplar arasındaki farklılıklarının istatistiksel ifadeleri (p değerleri) Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Karaciğer glutatyon peroksidaz aktivitesine göre tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel ifadesi (p değerleri)

	4 Saat	8 Saat	12 Saat	24 Saat
Kontrol – Koenzim Q	0,021	0,561	0,309	0,146
Kontrol – Taksol	0,021	0,564	0,381	0,772
Kontrol – (Koenzim Q + Taksol)	0,018	0,564	0,146	0,042
Koenzim Q – Taksol	0,021	0,554	0,083	0,77
Koenzim Q – (Koenzim Q + Taksol)	0,018	0,146	0,02	0,144
Taksol – (Koenzim Q + Taksol)	0,139	0,386	0,384	0,074

5. TARTIŞMA

Oksijenli solunum yapan metabolizmalar, fizyolojik şartlarda, yapısında eşleşmemiş elektron bulunduran reaktif oksijen türleri üretirler. Oksijen kaynaklı radikaller ya da serbest oksijen radikalleri, bilhassa metal iyonların varlığında protein, lipid ve nükleik asit gibi makromoleküllere ve diğer biyomoleküllere zarar vererek hücrel hasara neden olurlar. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Yamamoto ve ark. 1998; Portakal ve ark., 2000; Karabulut ve ark., 2001; Çakatay ve ark., 2003).

Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının en önemli mekanizması hücre zarlarında bulunan lipidlerin peroksidasyonudur. Sağlıklı dokularda çok düşük düzeylerde olan lipid peroksidasyonun artışı serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının göstergesi olarak kullanılabilir. Lipid peroksidasyonu yıkım ürünlerinden birisi de malondialdehiddir (MDA) (Nielsen ve ark., 1997).

Kanser; başlangıç, ilerleme ve malign dönüşüm basamaklarından oluşan uzun bir süreçtir. Serbest radikallerin bu süreçte yer aldığı ve tüm basamakları etkilediği bilinmektedir (Guyton ve Kensler, 1993). Özellikle DNA hasarındaki artışın, karsinojeneze olan katkısı oldukça önemlidir (Portakal ve ark., 2000).

Oksidatif stresi azaltmak için kullanılabilecek en uygun yöntem antioksidan maddelerin kullanılmasıdır (Quiles, J.L., 2002). Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerini ortadan kaldıran veya oluşumunu önleyen enzimatik ve enzimatik olmayan molekulldir. Enzimatik antioksidanlara örnek olarak; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), tioredoksin redüktaz ve peroksiredoksin; enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak E vitamini, C vitamini, karotenoidler, flavinoidler ve koenzim Q verilebilir (Turunen ve ark. 2004).

Serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma mekanizması dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık antioksidan savunma azalır veya zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (Uysal, 1998).

Taksol, günümüzde kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan antineoplastik ajanlardan birisidir. Özellikle ovaryum ve periton kanserinde, karboplatin ile birlikte kombine olarak uygulanması kabul edilmiş bir standarttır. Buna karşın taksol'ün, tedavi esnasında görülen şiddetli miyelosüpresyon, alopesi ve periferik sinir sisteminde patolojik bozukluklar gibi yan etkileri de mevcuttur. Ayrıca diğer taksan sınıfı bileşikler

gibi nörotoksisite'ye yol açtığı bilinmektedir (Rose ve Smrekar, 2003; Hilken ve ark., 1997).

Koenzim Q; tüm organizmalarda sentezi yapılabilen, yağda çözünebilir tek antioksidandır (Kagan, 2001). Yağda çözünebilmesi, rejenerasyonunun devamlılığı ve lipid peroksidasyonunu hem başlangıç hem de gelişme safhasında engelleyebilmesi, biyolojik membranlarda üretilen radikallere karşı koenzim Q'yu yüksek oranda etkili bir antioksidan kılmaktadır (Turunen ve ark. 2004).

Tüm bu gerçekler ışığında; çalışmamızda, antioksidan etkisi birçok alanda denenmiş olan, fakat taksol hepatotoksitesisi üzerine etkisi henüz yeterli düzeyde çalışılmamış olan koenzim Q kullanılmıştır. Bu amaçla; koenzim Q'nun, karaciğerde taksol kaynaklı serbest radikallerin süpürülmesinde karaciğer radikal süpürücü enzim aktiviteleri ve radikal kaynaklı MDA oluşumu üzerine etkileri zamana bağlı olarak araştırılmıştır.

Ramanathan ve ark. (2005) taksolün; süperoksit, hidrojen peroksit ve nitrik oksit gibi bir takım oksiradikallerin oluşumuna yol açtığını, buna bağlı olarak oluşan DNA hasarı ve apoptosis sürecinin piruvat ve selenyum gibi bazı antioksidanlar uygulandığında baskılanabildiğini bildirmişlerdir.

Alexandre ve ark. (2007) taksolün, plazma membranı NADPH oksidaz aktivitesi artırarak başlıca hücre dışı ortamda süperoksit ve hidrojen peroksit üretimini artırdığını belirlemişlerdir.

Varbiro ve ark. (2001) taksolün, mitokondriyal geçirgenliği ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) salınımını direk olarak ve anlamlı bir şekilde artırdığını saptamışlardır. Araştırmacılar, bu değişikliklerin ilacın toksik etkisine bağlı olarak meydana gelen biyokimyasal değişiklikler olduğunu ve bunların ilacın dozuna bağlı olduğunu göstermişlerdir.

Karaduman ve ark. (2010), serbest radikal oluşumu sonucu taksolün karaciğer dokusunda yol açtığı hepatotoksitesiyi ve dejenerasyonları histolojik olarak araştırmışlar, antioksidan β -1,3-D-glukan uygulaması ile bu bozuklukların rejenere edilebileceğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, taksol grubu hayvanlarda MDA miktarının kontrol grubundaki hayvanlara göre, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ($p>0,05$), tüm saatlerde arttığı yönündedir. Bu artış, 24.saatte maksimum düzeydedir.

Taksolün; serbest radikal üretimi ve MDA oluşumu ile karakterize lipid peroksidasyonuna yol açtığına ilişkin elde ettiğimiz sonuçlar, Ramanathan ve ark. (2005), Alexandre ve ark. (2007), Varbiro ve ark. (2001) ve Karaduman ve ark. (2010)'nın bildirdiği sonuçlarla uyum göstermektedir.

Huertas ve ark. (1999), ham zeytinyağı ve koenzim Q takviyesinin mitokondriyal membranları serbest radikallerin yıkıcı etkisinden koruduğunu bildirmişlerdir.

Solaini ve ark. (1987), vücut kaynaklı koenzim Q'nun; adriyamin-demir kompleksi etkisinde oluşturulmuş lipid peroksidasyonundan mitokondrileri etkin biçimde koruduğunu, NADH ve süksinat oksidaz sistemlerinin inaktivasyonunu azalttığını belirlemişlerdir.

Kalpravidh ve ark. (2005), β -talasemi hastalarına koenzim Q uygulandıktan sonra hastaların plazma koenzim Q seviyesinin arttığını, MDA seviyesinin ise azaldığını bildirmişlerdir.

Sena ve ark. (2008), diyabette reaktif oksijen türleri artarken, plazma koenzim Q seviyesinin düştüğünü belirlemişlerdir. Araştırmacılar, koenzim Q uygulamasının pankreas dokusundaki koenzim Q içeriğini artırdığını, diyabet belirteçlerinden biri olan glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) seviyesini ve pankreas dokusundaki MDA miktarını düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Akbal (2010), sisplatin verilmiş ratların karaciğer dokusunda MDA miktarının kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu, koenzim Q uygulanmış grupta ise MDA miktarının tüm saatlerde kontrol grubundan daha az olduğunu bildirmiştir.

Akbal (2010) ayrıca, sisplatin ve koenzim Q'nun birlikte verildiği hayvanlarda karaciğer dokusu MDA miktarının; 4., 12., ve 24. saatlerde kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, koenzim Q grubu hayvanlarda karaciğer dokusu MDA miktarının diğer tüm gruplardan, tüm saat dilimlerinde düşük olduğu ve bu düşüklüğün 24.saat diliminde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olduğu yönündedir.

Taksol ve koenzim Q'nun birlikte verildiği hayvanlarda karaciğer dokusu MDA miktarı ise, kontrol grubuna göre tüm saat dilimlerinde yüksek gözlenmiş, fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunmamıştır.

Koenzim Q'nun hücre membranlarında lipid peroksidasyonunu ve MDA oluşumunu azalttığına ilişkin elde ettiğimiz sonuçlar; Huertas ve ark. (1999), Solaini ve

ark (1987), Kalpravidh ve ark. (2005), Sena ve ark. (2008)'nın elde ettiği sonuçlar ile uyum göstermektedir.

Taksol ve koenzim Q birlikte verildiğinde, karaciğer dokusu MDA miktarının kontrol grubuna göre yüksek olması ise, Akbal (2010)'ın çalışması ile uyumludur.

Rauscher ve ark. (2001), diyabetik ratların karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonunda ve GSH-Px aktivitesinde artış, GSH miktarında azalma tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, koenzim Q ilavesi ile bu etkileri tersine çevirdiklerini bildirmişlerdir.

Lakomkin ve ark. (2005), kalp kası dokusuna H₂O₂ enjeksiyonunun SOD, GSH-Px ve katalaz enzim aktivitelerinde azalmaya neden olduğunu bildirmişler, buna neden olarak da aşırı H₂O₂ birikiminin enzimlerin triptofan rezidülerinde yıkımlara neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar, koenzim Q'nun hem bizzat antioksidan olarak hem de antioksidan enzimlerin korunmasını sağlayarak, kalp kasında oksidatif strese karşı olan direnci artırdığını bildirmişlerdir.

Ognjanović ve ark. (2006), kadmiyum verilmiş ratların kalp dokularında antioksidan enzimlerin aktivitelerinin (CuSod, ZnSOD, GSH-Px, GST ve GR) arttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, koenzim Q ve E vitamini uygulandığında ise antioksidan enzim aktivitesindeki bu artışta bir gerileme tespit etmişlerdir. Araştırmacıların elde ettiği bir başka sonuç ise, koenzim Q'nun E vitamini ile birlikte ve ayrı ayrı olarak uygulandığı durumlarda, E vitamini ve C vitamini gibi antioksidanların seviyelerindeki değişimlerin geri dönüştürüldüğüdür.

Akbal (2010), sisplatin verilmiş ratlarda katalaz aktivitesinin 4. saatten 12. saate doğru anlamlı bir artış gösterdiğini bildirmiş, sisplatin ile birlikte koenzim Q verilmiş ratların katalaz aktivitesinde ise anlamlı inhibisyonlar gözlemlemiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre; taksol verilmiş grupta katalaz aktivitesi, 4.saatten 12.saate doğru düzgün biçimde artış gösterip 12.saate maksimum seviyeye ulaşmış, 24.saatte ise bir miktar inhibisyon göstermiştir.

Taksol ve koenzim Q'nun birlikte verildiği grupta ise katalaz aktivitesi; 4. saatten 8.saate doğru artış göstermiş olup, 8.saatte tüm gruplardan yüksek olarak ölçülmüştür. 8. saatten sonra ise aktivasyonda düşüş gözlenmiş olup, enzim aktivitesi 24. saatte tüm gruplardan düşük olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar, Akbal (2010)'ın bildirdiği sonuçlar ile uyum göstermektedir.

Bununla birlikte, katalaz aktivitesinde gözlemlenen tüm düşüş ve artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Taksol verilmiş grubun glutatyon peroksidaz aktivitesinde, 4.saatte kontrol grubuna göre anlamlı bir inhibisyon gözlenmiş, diğer saatlerde ise anlamlı olmayan aktivasyon ve inhibisyonlar gözlenmiştir.

Koenzim Q verilmiş grubun glutatyon peroksidaz aktivitesinde ise, 4.saatte anlamlı bir inhibisyon gözlemlenmiş, diğer saatlerde ise anlamlı olmayan aktivasyon ve inhibisyonlar gözlenmiştir.

Taksol ve koenzim Q'nun birlikte verildiği grupta glutatyon peroksidaz aktivitesi incelendiğinde, 4. saatte enzimin anlamlı inhibisyon gösterdiği, 12.saatte ölçülen enzim aktivitesinin diğer tüm gruplardan düşük olduğu belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde; koenzim Q'nun karaciğer dokusunu serbest radikal hasarından koruduğu, antioksidan enzimlerin aktivitelerinde inhibisyona neden olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla çalışmamız; Rauscher ve ark. (2001), Lakomkin ve ark. (2005), Ognjanović ve ark. (2006)'nın ve Akbal (2010)'ın çalışmaları ile uyum göstermektedir.

Eren (1997) ve Dıraman (1994), antioksidantların radikal süpürücü enzim aktiviteleri üzerine etkilerini uzun yıllar araştırmışlar ve antioksidantların radikal süpürücü enzimlerin aktivitelerinde inhibisyona neden olduğunu rapor etmişlerdir. Eren ve Dıraman'ın çalışmalarından yola çıkarak, çalışmamız sonucunda gözlemlediğimiz enzim inhibisyonlarını, koenzim Q'nun antioksidan etki göstermesine dayandırabiliriz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda taksol verilmiş grubun, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin 4. - 12. saatler arasında kontrol grubundan düşük olduğu, 24. saatte ise her ikisinin de kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiştir. MDA miktarının ise, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, tüm saatlerde kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüştür.

Tek başına koenzim Q verilen grubun glutatyon peroksidaz aktivitelerinde 4.saatte istatistiksel olarak anlamlı, diğer saatlerde istatistiksel olarak anlamsız inhibisyonlar gözlenmiştir. Tek başına koenzim Q verilen grubun katalaz aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan inhibisyonlar gözlenmiştir.

Koenzim Q'nun taksol ile birlikte verildiği grubun; glutatyon peroksidaz aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı, katalaz aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan inhibisyonlar, MDA miktarında anlamlı azalmalar kaydedilmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlardan; intraperitoneal yolla verilen koenzim Q'nun, hücrelere girebildiği ve hücredeki radikal reaksiyonlarını etkilediği görülmektedir. MDA'nın serbest radikal hasarının göstergesi olduğu desteklenmektedir. Koenzim Q'nun ise dokuyu radikal hasarından koruduğu söylenebilir.

Bu doğrultuda, koenzim Q'nun farklı doz kombinasyonları denenerek kanser tedavisinin iyileştirilmesinde en doğru sonuca ulaşılabilir. Taksol ve koenzim Q; birlikte ve aynı anda verildiğinde lipid peroksidasyonunu artırmasının mekanizması araştırılabilir, veriliş sırası değiştirildiğinde aynı etkiyi gösterip göstermeyeceği sıranabilir. Ayrıca, yapılacak histokimyasal çalışmalar ile koenzim Q'nun hücre hasar koruyucu etkilerine netlik kazandırılabilir.

Böylece, günümüzde sayısı giderek artan kanser hastalarının tedavisine olumlu katkılar sağlanabileceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- Anonymous**, http://en.wikipedia.org/wiki/Q_cycle (25.02.2010).
- Akbal, G., 2010.** Sisplatin Verilmiş Farelerde Karaciğer Radikal Süpürücü Enzim Aktiviteleri Üzerine Koenzim Q ve cAMP'nin Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 68s.
- Akkuş İ., 1995.** Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri (1. Baskı). Mimoza Yayınları, 110 s., Konya.
- Alexandre, J., Hu, Y., Lu, W., Pelicano, H., Huang, P., 2007.** Novel Action of Paclitaxel against Cancer Cells: Bystander Effect Mediated by Reactive Oxygen Species. *Cancer Res*, 67, 3512-3517.
- Anbar, M., Neta, P., 1967.** A compilation of specific bimolecular rate constants for the reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms, and hydroxyl radicals with inorganic and organic compounds in aqueous solution. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 18, 495-523.
- Andree, P., Dallner, G., Ernster, L., 1998.** Ubiquinol: an endogenous lipid-soluble antioxidant in animal tissues. In: Özben, T. (Ed.), *Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants*. s:293-314, Plenum Press, New York.
- Aslan, R., DüNDAR, Y., 1998.** Nitric oxide as a biophysiological component and a radical metabolite. *Hay. Arat. Ens. Derg.*, 1-2, 35-38.
- Aslan, R., Şekercioğlu, M.R., Bayiroğlu, F., 1995.** Serbest radikal türlerin lipid peroksidasyonuna etkileri ve antioksidan savunma. *Sağlık Bilg. Der.*, 2, 137-142.
- Atas, A., Ağca, O., Saraç, S., Poyraz, A., Akyol, M. U., 2006.** Investigation of Ototoxic Effects of Taxol on a Mice Model. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 70 (5), 779-784.
- Baloğlu, E., 2001.** Synthesis and Biological Evaluation of Paclitaxel Analogs, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia.
- Bay, C., 2001.** Anti-Aging Advances. *Global Cosmetic Industry*, 168, 3, 44-52.
- Baykal Y., Kocabalkan F., 2000.** Serbest radikalleri ve hücre hasarı. *Sendrom*. 9, 31-36.

- Beyer, R.E., 1994.** The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q. *J. Bioenerg. Biomembr*, 26, 349-348.
- Byung, P.Y., 1994.** Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews*, 74(1), 139-172.
- Camougrand N., Rigoulet, M., 2001.** Aging and oxidative stress: studies of some genes involved both in aging and in response to oxidative stress. *Respiration Physiology*, 128, 393-401.
- Chabner, B.A., Longo D.L., 2006.** *Cancer Chemotherapy & Biotherapy: Principles & Practices* (4th edition). Lippincott Williams & Wilkins, 848s, Philadelphia.
- Cheeseman, K.H., Slater T.F., 1993.** An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull*, 49, 481-493.
- Choe, J.Y., Combs, A.B., Folkers, K., 1979.** Prevention by coenzyme Q₁₀ of the electrocardiographic changes induced by adriamycin in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 23 (1), 199-202.
- Combs, A.B., Choe, J.Y., Truong, D.H., 1977.** Reduction by coenzyme Q₁₀ of the acute toxicity of adriamycin in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 18 (3), 565-568.
- Çakatay, U., Telci, A., Kayali, R., Tekeli, F., Akçay, T., Sivas, A., 2003.** Relation of aging with oxidative protein damage parameters in the rat skeletal muscle. *Clin Biochem.*, 36, 51-55.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997.** Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92-95.
- Çebi, A., 2002.** Selenyum, E vitamini ve aspirin verilmiş farelerde karaciğer selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz aktivitelerinin zamana bağlı değişimi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 55s.
- Çelebioğlu, İ., 2005.** Aspirin ve Antioksidant β-d-glukan'ın Farelerde (*Mus musculus*) Yaşlanma Üzerine Etkilerinin Enzimatik Düzeyde Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 64s.
- Crane, F., 2001.** Biochemical functions of Coenzyme Q₁₀. *J Am Coll Nutr*, 20 (6), 591-598.

- Crane, F., Sun, I.L., Sun, E.E., 1993.** The essential functions of coenzyme Q. Clin. Investig, 71, 55-59.
- Cresteil, T., Monsarrat, B., Alvinerie, P., Trluyer, J.M., Vieira, I., Wright, M., 1994.** Taxol Metabolism by Human Liver Microsomes: Identification of Cytochrome P450 Isozymes Involved in Its Biotransformation. Cancer Research, 54, 386-392.
- Demir, R., 2008.** Ratlarda random paternli cilt fleplerinde sildenafil'in antioksidan etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 90s.
- Derin, D., Yazıcı, A., Erkoç, Ş., 2001.** Şizofrenik Bozukluğu Olan Hastalarda Serbest Radikal Metabolizması ve Nonenzimatik Antioksidan Savunma Sistemi Elemanlarının İncelenmesi. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, Cilt: 11, Sayı: 3, 174-182
- Dıraman, E., 1994.** Aspirin ve antioksidantların (Butylated Hydroxyanisole ve askorbik asit) Farelerde (*Mus musculus*) benzo(a)pyrene hidroksilaz aktivitesi üzerine etkileri. Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 53.
- Dunphy, F.R., Dunleavy, T.L., Harrison, B.R., Trinkaus, K.M., Kim, H.J., Stack Jr, B., Needles, CB., Boyd, J.H., 2001.** Induction Taxol and Carboplatin for Patients with Head and Neck Carcinoma: Analysis of 62 Patients Treated between 1994 and 1999. Cancer, 91, 940—948.
- Echtay, K.S., Winkler, E., Klingenberg, M., 2000.** Coenzyme Q is an obligatory cofactor for uncoupling protein function. Nature, 408, 609–613.
- Erden, M., 1992.** Serbest Radikaller. T Klin Tıp Bilimleri, 12, 201-207.
- Eren, Z., 1997.** The effects of aspirin and antioksidant butylated hydroxy anisole on the liver microsomal benzo(a) pyrene hydroxylase activity in mice (*Mus musculus*). Biochemical Archives, Vol.13,43-52.
- Ernster, L., Forsmark-Andrée, P., 1993.** Ubiquinol: an endogenous antioxidant in aerobic organisms. Clin Investig, 71(8), 60-65.
- Folkers, K., 1974.** The potential of coenzyme Q₁₀ in cancer treatment. Cancer Chemother Rep, 24 (4), 19–22.
- Folkers, K., Wolaniuk, A., 1985.** Research on coenzyme Q in clinical medicine and in immunomodulation. Drugs Exp Clin Res, 11 (8), 539-545.

- Folkers, K., Osterborg, A., Nylander, M., 1997.** Activities of vitamin Q₁₀ in animal models and a serious deficiency in patients with cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 34 (2), 296–299.
- Fridovich, I., 1978.** The Biology Of Oxygen Radicals, Science, Vol: 201, 875-880.
- Fuchs, D. A., Johnson, R. K., 1978.** Cytologic evidence that taxol, an antineoplastic from *Taxus brevifolia*, acts as a mitotic spindle poison, *Cancer Treat. Rep.*, 62, 1219.
- Gaetani, G.F., Galiano, S., Canepa, L., Ferraris, A.M., Krikman, H.N., 1989.** Catalase and Glutathione Peroxidase are Equally Active in Detoxification of Hydrogen Peroxide in Human Erythrocytes. *Blood*, 73, 334-339.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L., 1997.** *Color Textbook of Histology*. W.B.Saunders Company, 355 s., Philadelphia
- Gözükara, E.M., 2002.** *Biyokimya I-II*. Enzimler. s: 572-675, Nobel Tıp Yayınevi, 1117 s, Ankara.
- Guo, Y., Niiya, H., Azuma, T., Uchida, N., Yakushijin, Y., Sakai, I., Hato, T., Takahashi, M., Senju, S., Nishimura, Y., Yasukawa, M., 2005.** Direct recognition and lysis of leukemia cells by WT1-specific CD4⁺ T lymphocytes in an HLA class II-restricted manner. *Blood*, 106(4), 1415-1418.
- Guyton, K.Z., Kensler, T.W., 1993.** Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bull*, 49, 523-544.
- Halliwell, B., 1987.** Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc Nutr Soc*, 46, 1, 13-26.
- Halliwell B., 1991a.** Drug antioxidant effects. *Drugs*, 42(4), 569 - 605.
- Halliwell B., 1991b.** Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med.*, 91, 14-21.
- Halliwell B., 1996.** Oxidative stress, nutrition and health: Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res.*, 25, 57–74.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1984.** Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.*, 219, 1-14.
- Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., 1989.** Production of hydroxyl radicals in living systems. *Free Radicals in Biology and Medicine*. s:254-300, Clarendon Press, Oxford.

- Halliwell, B., Arumoa, O.I., 1991.** DNA damage by oxygen derived species. FEBS Lctt., 281, 9-19.
- Halliwell, B., Chirico, S., 1993.** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. Am J Clin Nutr., 57(5 Suppl), 715-724.
- Hilkens, P.H., Verweij, J., Vecht, C.J., Stoter, G., van den Bent, M.J., 1997.** Clinical characteristics of severe peripheral neuropathy induced by docetaxel (Taxotere). Ann Oncol., 8(2), 187–190.
- Hoppe, U., Bergemann, J., Diembeck, W., Ennen, J., Gohla, S., Harris, I., Jacob, J., Kielholz, J., Mei, W., Pollet, D., Schachtschabel, D., Sauermann, G., Schreiner, V., Stäb, F., Steckel, F., 1999.** Coenzyme Q₁₀, a cutaneous antioxidant and energizer. Biofactors, 9 (2-4), 371-378.
- Horenstein, M. S., Heide R.S.V., L'Ecuyer, T.J., 2000.** Molecular basis of anthracycline-induced cardiotoxicity and its prevention. Molecular Genetics and Metabolism, 71, 436-444.
- Horwitz, S. B., 1992.** Mechanism of action of taxol. Trends Pharmacol. Sci., 13(4), 134-136.
- Huertas, J.R., Martinez-Velasco, E., Ibáñez, S., López-Frias, M., Ochoa, J.J., Quiles, J., Mataix, J., Lenaz, G., 1999.** Virgin olive oil and coenzyme Q₁₀ protect heart mitochondria from peroxidative damage during aging. Biofactors, 9(2-4), 337-343.
- Iarussi, D., Auricchio, U., Agretto, A., 1994.** Protective effect of coenzyme Q₁₀ on anthracyclines cardiotoxicity: control study in children with acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. Mol Aspects Med, 15, 207-212.
- Itokawa, H., Lee, K.H., 2003.** *The genus Taxus*. Taylor & Francis, 453s, London.
- İnce, İ.A., 2003.** Nikotin ve Melatoninin Swiss Albino Tipi Laboratuvar Farelerinde Karaciğer Antioksidant Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 77s.
- James, A.M., Smith, R.A.J., Murphy, M.P., 2003.** Antioxidant and prooxidant properties of mitochondrial Coenzyme Q. Archives of Biochemistry and Biophysics, 423, 47–56.
- Jolliet, P., Simon, N., Barré J., 1998.** Plasma coenzyme Q₁₀ concentrations in breast cancer: prognosis and therapeutic consequences. Int J Clin Pharmacol Ther, 36 (9), 506-509.

- Jungueira, L.C., Carneiro, J., 2003.** *Basic Histology* (10th ed.), Lange Medical Books McGraw-Hill, 494 s., New York.
- Kagan, V.E., 2001.** *Coenzyme Q: molecular mechanisms in health and disease*. CRC Press, 390 s, Boca Raton, London, New York
- Kalén, A., Appelkvist, E.L., Dallner, G., 1989.** Age-related changes in the lipid compositions of rat and human tissues. *Lipids*, 24, 579–584.
- Kalpravidh, R.W., Wichita, A., Siritanaratkulb, N., Fucharoen, S., 2005.** Effect of coenzyme Q₁₀ as an antioxidant in β -thalassemia/Hb E patients. *BioFactors*, 25, 225–234.
- Karabulut, A.B., Bayındır, Y., Öztürk, Ç., Bacioğlu, K., Sönmez, E., Gözükar, E.M., 2001.** Akut, kronik ve interferon alfa tedavisi alan hepatit B'li hastalarda eritrosit süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri. *Klinik Gelişim*, 14, 41-45.
- Karaduman, D., Eren, B., Keleş, O.N., 2010.** The protective effect of β -1,3-d-glucan on taxol-induced hepatotoxicity: a histopathological and stereological study. *Drug and Chemical Toxicology*, 33(1), 8–16.
- Karol, S., Ayvalı, C., Suludere, Z., 1995.** *Hücre Biyolojisi* (3. Baskı), 266-267, Ankara.
- Kılınç, K., 1985.** Oksijen Radikalleri: Üretilmeleri, Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. *Biyokimya Der.*, 10, 2, 60-89.
- Kingston, D.G.I., 1994.** Taxol the Chemistry and Structure-Activity Relationships of a Novel Anticancer Agent. *Trends Biotechnol.*, 12(6), 222-227.
- Kleinsmith, J.L., Kish, M.V., 1988.** *Principles Of Cell Biology*. Benjamin Cummings, 352 s, New York.
- Król, T., 1998.** Activity of Lysosomal System in Mouse Liver After Taxol Administration. *Gen. Pharmac*, 30 (2), 239-243.
- Kuchel, P.W., 1998.** Oxidative Phosphorylation. *Schaum's Outline Of Theory And Problems Of Biochemistry*. s: 402-414. McGraw-Hill, New York.
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S., 1999.** *Basic Pathology*, W.D.Saunders Company, Çeviri: Çevikbaş, U., 2000. *Temel Patoloji*, s:4-24 Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.

- Lakomkin, V.L., Konovalova, G.G., Kalenikova, E.I., Zabbarova, I.V., Kaminnyi, A.I., Tikhaze, A.K., Lankin, V.Z., Ruuge, E.K., Kapelko, V.I., 2005.** Changes in Antioxidant Status of Myocardium during Oxidative Stress under the Influence of Coenzyme Q₁₀. *Biochemistry (Moscow)*, 70, 1, 79-84.
- Leutner, S., Ecker, A., Müller, W.E., 2001.** ROS generation, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the aging brain, *J. Neural Transm*, 108, 955-967.
- Lind, C., Cadenas, E., Hochstein, P., Ernster, L., 1990.** DT-diaphorase: purification, properties and function. *Methods in Enzymol*, 186, 287-301.
- Lockwood, K., Moesgaard, S., Hanioka, T., 1994a.** Apparent partial remission of breast cancer in 'high risk' patients supplemented with nutritional antioxidants, essential fatty acids and coenzyme Q₁₀. *Mol Aspects Med*, 15, 231-240.
- Lockwood, K., Moesgaard, S., Folkers, K., 1994b.** Partial and complete regression of breast cancer in patients in relation to dosage of coenzyme Q₁₀. *Biochem Biophys Res Commun*, 199 (3), 1504-1508.
- Lockwood, K., Moesgaard, S., Yamamoto, T., 1995.** Progress on therapy of breast cancer with vitamin Q₁₀ and the regression of metastases. *Biochem Biophys Res Commun*, 212 (1), 172-177.
- Lowry, O.H., Rosebrough, Farr, A.L., Randal, R.J., 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. *T. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- Lund, E.L., Quistorff, B., Spang-Thomsen, M., 1998.** Effect of radiation therapy on small-cell lung cancer is reduced by ubiquinone intake. *Folia Microbiol (Praha)*, 43 (5), 505-506.
- Lück, H., 1963.** In *methods of enzymatic analysis* 2nd edition Edn. Bergmeyer H.U.; pp.885-888; Verlag Chemie New York, Weinheim and Academic Press.
- Mates, J.M., Sanchez-Jimenez, F., 1999.** Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci.*, 4, 339-345.
- McCord, J.M., 2000.** The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med*, 108, 652-659.
- McCormick F., 1999.** Signalling networks that cause cancer. *Trends Cell Biol.*, 12, 53-56.
- Mimić-Oka, J., Simić, D.V., Simić, T., 1999.** Free radicals in cardiovascular diseases. *Medicine and Biology*, 6, 1, 11-22.

- Nielsen, F., Mikkelsen, B.B., Nielsen, J.B., Andersen H.L., Grandjean, P., 1997.** Plasma Malondialdehyde as a Biomarker for Oxidative Stress: reference interval and effects of life style factors. *Clinical Chemistry*, 43(7), 1209-1214.
- Nordberg, J., Arner, E.S., 2001.** Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.*, 31, 1287–1312.
- Ognjanović, B. I., Marković, S.D., Pavlović, S.Z., Žikić, R.V., Štajn, A.S., Saičić, Z.S., 2006.** Combined effects of coenzyme Q₁₀ and Vitamin E in cadmium induced alterations of antioxidant defense system in the rat heart. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 22, s:219–224
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.*, 95, 351-358.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., 2002.** *İnsan Biyokimyası*. Palme Yayıncılık, 711 s., Ankara.
- Overvad, K., Diamant, B., Holm, L., 1999.** Coenzyme Q₁₀ in health and disease. *Eur J Clin Nutr*, 53 (10), 764-770.
- Özben, T., 1989.** Serbest Oksijen Radikalleri. *Akd. Ü. Tıp Fak. Dergisi*, Cilt VI, Sayı:4, 131-134
- Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S., Corpe, C., 2003.** Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22 (1), 18–35.
- Paglia D.E., Valentine, W.N., 1967.** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.*, 70(1), 158-169.
- Perez, E.A., Vogel, C.L., Irwin, D.H., Kirshner, J.J., Patel, R., 2001.** Multicenter Phase II Trial of Weekly Taxol in Women with Metastatic Breast Cancer. *J. Clin. Oncol.*, 19, 4216-4223.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M., 2001.** *Antioxidants In Food*. Woodhead Publishing Ltd, 373 s, Boca Raton.
- Portakal, O., Özkaya, Ö., Erden İ., M., Bozan, B., Koşan, M., Sayek, İ., 2000.** Coenzyme Q₁₀ Concentrations and Antioxidant Status in Tissues of Breast Cancer Patients. *Clinical Biochemistry*, Vol. 33, No. 4, 279–284.
- Pressman, A.H., 1997.** *CoQ What?*. The Complete Idiot's Guide to Vitamins and Minerals. s: 290-294, Macmillan Inc., New York.

- Quiles, J.L., Huertas, J.R., Battino, M., Mataix, J., Ramirez-Tortosa, M.C., 2002.** Antioxidant Nutrients and Adriamycin Toxicity. *Toxicology*, 180, 79-95.
- Ramanathan, B., Jan, K.Y., Chen, C.H., Hour, T.C., Yu, H.J., Pu, Y.S., 2005.** Resistance to paclitaxel is proportional to cellular total antioxidant capacity. *Cancer Res*, 65, 8455-8460.
- Rauscher, F.M., Sanders R.A., Watkins J.B., 2000.** Effects of Coenzyme Q₁₀ Treatment on Antioxidant Pathways in Normal and Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *J Biochem Molecular Toxicology*, Vol.15, No.1, 41-46.
- Rose, P.G., Smrekar, M., 2003.** Improvement of paclitaxel-induced neuropathy by substitution of docetaxel for paclitaxel. *Gynecologic Oncology*, 91, 423–425.
- Ross, M.H., Romrell, L.J., Kaye, G.I., 1995.** *Histology: A Text and Atlas. Third Edition*. 496-507, Williams & Wilkins, Baltimore.
- Rowinsky, E.K., Onetto, N., Canetta, R.M., Arbuck, S.G., 1992.** Taxol: The First of the Taxanes, an Important New Class of Antitumor Agents. *Semin. Oncol*, 19, 646-662.
- Sakai, H., Yoneda, S., Tamura, T., Nishiwaki, Y., Yokoyama, A., Watanabe, K., Salmon, E.D., McKeel, M., Hays, T., 1984.** Rapid Rate of Tubulin Dissociation From Microtubules in the Mitotic Spindle in vivo Measured by Blocking Polymerization with Colchicine. *J. Cell. Biol.*, 99, 1066-1075.
- Sarı, S., 2008.** Farelde Ehrlich Asit Solid Tümör Modelinde Thymus Sipyleus ve Taurinin, Böbrek MDA, Glutasyon, AOPP Düzeylerine ve SOD Aktivitesine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 94s.
- Schiff, P. B., Fant, J., Horwitz, S. B., 1979.** Promotion of Microtubule Assembly in vitro by Taxol. *Nature*, 277, 665-667.
- Sena, C.M., Nunes, E., Gomes, A., Santos, M.S., Proença, T., Martins, M.I., Seiça, R.M., 2008.** Supplementation of coenzyme Q₁₀ and α -tocopherol lowers glycated hemoglobin level and lipid peroxidation in pancreas of diabetic rats. *Nutrition Research*, 28, 113– 121.
- Seven A., Candan G., 1996.** Antioxidan Defense Systems. *Cerrahpasa J Med.*, 27, 41– 50.
- Shoaib M., 2008.** Antioxidant Activity Evaluation of Methanolic Extracts of *Brassica napus* by Different Assays. Yüksek Lisans Tezi, Sargodha Üniversitesi Kimya Bölümü, Sargodha - Pakistan, 53s.

- Siemieniuk, E., Skrzydlewska, E., 2005.** Coenzyme Q₁₀: its biosynthesis and biological significance in animal organisms and in humans. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 59, 150-159.
- Sies, H., Packer, L., 2004.** *Quinones and Quinone Enzymes*. Methods In Enzymology (Vol 378). 409 s., Elsevier, Amsterdam
- Sinatra, S.T., 1998.** *The Coenzyme Q₁₀ Phenomenon*. 176 s, NTC Contemporary, Los Angeles.
- Solaini G, Landi L, Pasquali P, Rossi CA., 1987.** Protective effect of endogenous coenzyme Q on both lipid peroxidation and respiratory chain inactivation induced by an adriamycin-iron complex. *Biochem Biophys Res Commun.*, 15, 147(2), 572-580.
- Stocker, R., Suarna, C., 1993.** Extracellular reduction of ubiquinone-1 and 10 by human Hep G2 and blood cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1158, 15-22.
- Stohs, S.J., 2005.** Taxol in Cancer Treatment and Chemoprevention. In: *hytopharmaceuticals in Cancer Chemoprevention*, Debasis Bagchi and Harry G. Preuss (Eds.), CRC Pres, 632s, Boca Raton, London, New York
- Sugino, K., Dohi, K., Yamada, K., Kawasaki, T., 1987.** The Role of Lipid Peroxidation in Endotoxin-Induced Hepatic Damage and The Protective Effect of Antioxidants. *Surgery*, 101, 746-752.
- Sun, I.L., Sun, E.E., Crane, F.L., Morre, D.J., Lindgren, A., Löw, H., 1992.** Requirement for coenzyme Q in plasma membrane electron transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 89, 11126– 11130.
- Sutken E., Aral E., Ozdemir F., Uslu S., Alatas O., Colak O., 2007.** Protective Role of Melatonin and Coenzyme Q₁₀ in Ochratoxin A Toxicity in Rat Liver and Kidney. *International Journal of Toxicology*, 26, 81–87.
- Şentürk, H., 2004.** Serbest Radikal Hasarının Hepato-Biliyer Sistem Hastalıklarındaki Rolü. *Kocatepe Tıp Dergisi*. Cilt 5, Ek Sayı 1-8, 1-8.
- Takahashi, T., Okamoto, T., Mori, K., Sayo, H., Kishi, T., 1993.** Distribution of ubiquinone and ubiquinole homologues in rat tissues and subcellular fractions. *Lipids*, 28, 803-807.
- Tanyolaç, A., 1999.** *Özel Histoloji*. s:99-106, Ank.Ün.Vet.Fak., Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd., Ankara.
- Thelin, A., Schedin, S., Dallner, G., 1992.** Half-life of ubiquinone-9 in rat tissues. *FEBS Lett*, 313, 118–120.

- Turunen, M., Sindelar, P., Dallner, G., 1999.** Induction of endogenous coenzyme Q biosynthesis by administration of peroxisomal inducers. *Biofactors* 9, 131–140.
- Turunen, M., Olsson, J., Dallner, G., 2004.** Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1660(1-2), 171-199.
- Usui, T., Ishikura, H., Izumi, Y., 1982.** Possible prevention from the progression of cardiotoxicity in adriamycin-treated rabbits by coenzyme Q₁₀. *Toxicol Lett*, 12 (1), 75-82.
- Uysal M., 1998.** Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidanantioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*, 11, 336–341.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 10, 160(1), 1-40.
- Var, A., 1999.** Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda oksidan ve antioksidan sistemlerin incelenmesi. Uzmanlık Tezi, Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümü, Elazığ, 74 s.
- Varbiro, G., Veres, B., Gallyasjr, F., Sumegi, B., 2001.** Direct Effect of Taxol on Free Radical Formation and Mitochondrial Permeability Transition. *Free Radic Biol Med*, 31(4), 548-558.
- Wells, W.W., Xu, D.P., Yang, Y., Rocque, P.A., 1990.** Mammalian thioltransferase (glutaredoxin) and protein disulfide isomerase have dehydroascorbate reductase activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 265 (26), 15361–15364.
- Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L., 2004.** Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 44, 275–295.
- Yamamoto, Y., Yamashita, S., Fujisawa, A., 1998.** Oxidative stress in patients with hepatitis, cirrhosis and hepatoma evaluated by plasma antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun*, 247 (1), 166-170.
- Yalçın A.S., 1998.** Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, 11, 342 –334.
- Yanbeyi, S., 1999.** Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole’ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 78s.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Gökhan Çokşen

Doğum Yeri: Samsun

Doğum Tarihi: 12.08.1984

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Samsun Veteriner Sağlık Meslek Lisesi (Tarım Meslek Lisesi) (1998-2001)

Lisans: O.M.Ü. Biyoloji (2003-2007)

Yüksek Lisans: O.M.Ü. Fen Bilimleri Ens. (2008-...)

Çalıştığı Kurumlar

- Samsun Mehmet Aydın Devlet Hast. (gönüllü) (2007-2008)
- Medikal Sektörü (özel) (2011-...)

İletişim Bilgileri

GSM: 0543 838 27 97

email: g.coksen@gmail.com