

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

150178

**HİDROJEN PEROKSİT VERİLEN SIÇANLARIN, DOKU VE KAN
SERUMUNDAKİ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ
ÜZERİNE UBİQUINONE-10' UN ETKİSİ**

Hatice AKARÇAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

150178

ELAZIĞ - 2004

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİDROJEN PEROKSİT VERİLEN SIÇANLARIN, DOKU VE KAN
SERUMUNDAKİ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ
ÜZERİNE UBİQUINONE- 10' UN ETKİSİ**

Hatice AKARÇAY

Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı

Bu tez, tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği /oyçokluğu ile başarılı / başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Sait ÇELİK

Üye: Yrd. Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mustafa KARATEPE

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 26/07/2006 tarih ve 31/2 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının bütün aşamalarında benden destek ve ilgisini esirgemeyen; bilgi ve engin tecrübelerinden yararlandığım Hocam Sayın Prof. Dr. Sait ÇELİK'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmanın analizleri için Gaz kromatografi cihazını temin eden ve deney aşaması boyunca sağlamış olduğu laboratuvar imkânları için Sayın Yrd. Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ'a; serumların otoanalizörde analizini sağlayan Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ'a ve deney aşaması boyunca yardımlarını esirgemeyen Sayın Ahmet ÖZKAYA'ya, ve 782 nolu projeyle bu yüksek lisans çalışmasını destekleyen FÜBAP' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca manevi desteklerinden dolayı aileme ve özellikle varlığıyla bana güç katan sevgili yeğenim Emir'e de sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Elazığ, Temmuz-2004

Hatice AKARÇAY

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
TABLolar LİSTESİ	II
ŞEKİLLER LİSTESİ	III
GRAFİK LİSTESİ.....	III
KISALTMALAR LİSTESİ	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. OKSİJEN RADİKALLERİNİN OLUŞUMU VE FİZYOLOJİK İŞLEVLERİ	2
2.1 Tanımlama	2
2.2 Oluşum	4
2.2.1 Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları	4
2.2.1.1 Mitokondriler	4
2.2.1.2 Hücre Zarı	4
2.2.1.3 Sitokrom P-450	4
2.2.1.4 Aktive Lökositler	5
2.2.2 Serbest Radikallerin Eksojen Kaynakları	5
2.2.3 Metabolizma	5
2.3 Oksijen Radikalleri: Patolojik Etkiler.....	8
2.3.1 Oksidatif Stres ve Hücre Zarı	8
2.3.2 Oksidatif Stres, Protein ve Karbonhidratlar.....	9
2.3.2.1 Doğrudan Saldırı	9
2.3.2.2 Dolaylı Saldırı	9
2.3.2.3 Oksidatif Stres Hücre Çekirdeği ve Nükleik Asitler.....	10
2.3.2.4 Oksidatif Stres ve Korunma Mekanizması	10
3. MATERYAL VE METOT	13
4. BULGULAR	19
5. TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR.....	43

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Serum Varyans Analiz Sonuçları	19
Tablo 2. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Serum LSD t Testi Sonuçları	20
Tablo 3. Doku Kolesterol Düzeylerine İlişkin Varyans Analiz Sonuçları	21
Tablo 4. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Akciğer Dokusu Total Kolesterol LSD t Testi Sonuçları.....	22
Tablo 5. Doku Kolesterol Düzeylerine İlişkin Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%) ...	22
Tablo 6. Doku Total Lipid Düzeylerine İlişkin Varyans Analiz Sonuçları.....	23
Tablo 7. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Karaciğer ve Testis Dokusu Total Lipid LSD t Testi Sonuçları	24
Tablo 8. Doku Total Lipid Düzeylerine İlişkin Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)..	24
Tablo 9. Akciğer Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları	25
Tablo 10. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Akciğer Dokusu 20:4N6 LSD t Testi Sonuçları.....	26
Tablo 11. Akciğer Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)	26
Tablo 12. Beyin Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları	27
Tablo 13. Beyin Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%).....	27
Tablo 14. Dalak Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları	28
Tablo 15. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Dalak Dokusu 18:1N9 LSD t Testi Sonuçları	29
Tablo 16. Dalak Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%).....	29
Tablo 17. Göz Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları	30
Tablo 18. Göz Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma	30
Tablo 19. Kalp Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları	31
Tablo 20. Kalp Dokusuna İlişkin Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)	32
Tablo 21. Karaciğer Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları	32
Tablo 22. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Karaciğer Dokusu 16:0 18:0 18:1N9 LSD t Testi Sonuçları.....	33
Tablo 23. Karaciğer Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%).....	34
Tablo 24. Böbrek Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları.....	35
Tablo 25. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Böbrek Dokusu 16:0 LSD t Testi Sonuçları	35
Tablo 26. Böbrek Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%).....	36
Tablo 27. Kas Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları	36
Tablo 28. Kas Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Oksijen Radikallerinin Etkileri.....	3
Şekil 2. Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları	4
Şekil 3. Serbest Radikallerle Oluşan Doku Hasarı ve Hastalıklar	9
Şekil 4. Serbest Radikallerle Oluşan Hasar	10
Şekil 5. Koenzim Q	11

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Doku Lipitlerindeki Total Lipid Ölçümünde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi .	16
Grafik 2. Doku Lipitlerindeki Total Kolesterol Ölçümünde Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi	17
Grafik 3. Deneklerin Ağırlık Artışlarını Gösteren Değerler	19

KISALTMALAR LİSTESİ

Alkoksil Radikali	(RO [•])
Bütillenmiş Hidroksianisol	(BHA)
Bütillenmiş Hidroksitoluen	(BHT)
Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein	(VLDL)
Düşük Yoğunluklu Lipoprotein	(LDL)
Glutasyon Redüktaz	(GR)
Glutasyon-Peroksidaz	(GSH-Px)
Hidrojen Peroksit	(H ₂ O ₂)
Hidroksi Radikali	(OH [•])
Kontrol	(K)
Lipid Hidroperoksit	(ROOH)
Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat	NADP ⁺
Oksijen Radikalleri	(OR)
Peroksil Radikali	(ROO [•])
Süperoksit Radikali	(O ₂ ^{•-})
Ubikinon	(UB, CO-Q10)
Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein	(HDL)

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİDROJEN PEROKSİT VERİLEN SIÇANLARIN, DOKU VE KAN SERUMUNDAKİ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE UBİQUINONE- 10' UN ETKİSİ

Hatice AKARÇAY

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

2004, Sayfa: 47

Reaktif oksijen türleri yaşayan organizmalar tarafından üretilen, fizyolojik ve patolojik birçok etkileri olan maddelerdir. Koenzim Q (Ubikinon), esansiyel mitokondri redoks bileşenidir ve hücre içi bir antioksidandır. Bu çalışmanın amacı hidrojen peroksit verilen ratların serumlarında kolesterol, trigliserid, LDL, HDL, VLDL ile dokularındaki kolesterol, lipid, doymuş ve doymamış yağ asitleri üzerine koenzim Q' nun etkisini araştırmaktır. Serum trigliserid miktarı H_2O_2 grubunda kontrol grubuna göre azaldı. Benzer sonuçlar akciğer dokusu total kolesterol ve karaciğer dokusu total lipid miktarlarında da gözlemlendi. Serum, dalak, akciğer, karaciğer, beyin, kas, böbrek, kalp, göz ve testis dokularındaki total kolesterol miktarları kontrol ve ubikinon grupları arasında farklı olmadığı bulundu. Ubikinon grubundaki serum LDL ve VLDL miktarları kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı gözlemlendi. Akciğer dokusundaki araşidonik asit (20:4) seviyesinde kontrol ve H_2O_2 grupları arasında istatistiksel fark gözlenmezken bu, ubikinon grubunda önemli ölçüde artmıştır. Ubikinon grubunda dalak dokusundaki oleik asit (18:1) seviyesi kontrol, H_2O_2 ve H_2O_2 + ubikinon gruplarına göre azaldığı gözlemlendi. Stearik asit (18:0) seviyesi ise artmıştır. Karaciğer dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ubikinon grubundaki 18:1 seviyesi azalırken stearik asit (18:0) seviyesi ise artmıştır. Sonuç olarak enjeksiyonla ubikinon'un verilmesiyle LDL ve VLDL' nin oksitlenmesi azalmıştır. Ayrıca 18:1 yağ asidinin biyosentezi inhibe edilmiştir. Bu sonuç vücut ağırlığının düzenlenmesinde metabolik kontrol açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler: Ubikinon, hidrojen peroksit, LDL, VLDL, HDL, kolesterol, trigliserid, total lipid, yağ asitleri.

ABSTRACT

MASTER THESIS

EFFECT OF UBIQUINONE- 10 ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF TISSUES AND BLOOD SERUM OF RATS GIVEN HYDROGEN PEROXIDE

Hatice AKARÇAY

Firat University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

2004; Page: 47

Reactive oxygen species are known to play multiple roles in physiological and pathological state and are constantly produced by living organisms. Coenzyme Q 10 (Ubiquinone) is the essential mitochondrial redox-component and endogenous antioxidant. The purpose of the present study was to evaluate the effect of Coenzyme Q 10 on the levels in serum cholesterol, triglycerides, LDL, HDL, VLDL and tissue cholesterol, lipid, saturated and unsaturated fatty acid of given hydrogen peroxide in rats. The serum triglycerides content in the H₂O₂ group decreased when compared to the control. Similar results were observed from total cholesterol of lung tissues and total lipid of liver tissues. The level of total cholesterol in serum, spleen, lung, liver, brain, muscle, kidney, heart, eye and testis tissues did not differ between the control and ubiquinone groups. The amount of serum LDL and VLDL in ubiquinone groups significantly increased when compared to the control groups. While the level of arachidonic acid (20:4) did not differ between the control and H₂O₂ groups, it did increase significantly in the ubiquinone group when compared to the same groups in lung tissue. The level of oleic acid (18:1) in ubiquinone group decreased when compared to control, H₂O₂ and H₂O₂+ ubiquinone groups in spleen tissue. The level of stearic acid (18:0) increased. While the level of oleic acid (18:1) in ubiquinone group decreased, the level of stearic acid (18:0) increased in same group when compared to control group in liver tissue. We conclude that dietary supplementation with ubiquinone decreases LDL and VLDL oxidizability and inhibits biosynthesis of 18:1. This result is an important metabolic control point in body weight regulation.

Keywords: ubiquinone, hydrogen peroxide, LDL, VLDL, HDL, cholesterol, triglycerides, total lipid, fatty acid.

1. GİRİŞ

Organizmada oksidatif süreçlerin önemli roller oynadığının keşfedilmesinden sonra “oksijen radikalleri” ya da “serbest radikaller” kavramları neredeyse zararlı ya da patojen bir etkenle eşanlamlı hale gelmiştir. Çünkü bu kavramla sadece oksijen radikalleri kastedilmemekte, aynı zamanda çeşitli az ya da çok güçlü reaktifler, yani oksidatif etkili maddeler düşünülmektedir. Bu nedenle “reaktif oksijen türevleri” olarak adlandırılmaları daha uygun olur. Bu maddelerin aynı zamanda sağlıklı bir organizmanın normal işleyişinde de çok önemli fonksiyonları vardır.

Serbest radikaller, ortaklanmamış bir elektrona sahip son derece reaktif moleküllerdir. Bunlar ya mitokondrial solunum sisteminden sızarlar veya metabolizmanın yan ürünleri olarak hücrelerde sürekli olarak üretilirler. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Bunlar “Antioksidant Savunma Sistemleri” olarak bilinirler.

Oksijenden kaynaklanan serbest radikaller, hücre hasarı ve ölümünde son derece önemli rol alırlar. Pek çok immünolojik reaksiyon oksidasyon süreçlerine dayanmaktadır. Oksijen radikallerinin önem ve yararları çok büyüktür; sadece aşırı miktarlarda yapılmaları ya da uygun olmayan bölgelerde bulunmaları durumunda zararlıdır. Bunlar sadece yaşlanma proseslerinde önemli olmayıp, aynı zamanda direkt veya indirekt olarak ateroskleroz, reperfüzyon hasarı, kanser, Parkinson hastalığı, Down sendromu, Alzheimer hastalığı gibi pek çok hastalıkla yakından ilişkili bulunmuştur.

Hücre zarı oksidatif saldırıya özellikle duyarlı bir yapıdır. Zarın yapısal özellikleri, serbest radikallerin etkisiyle bir hücrenin neden zarar gördüğünü ya da ölebildiğini açıklamaktadır.

Hücre zarı, temel fonksiyonel birimi, bir ucu hidrofil, diğer ucu doymamış yağ asitlerini içeren lipofilik özelliği olan fosfolipidlerden (yağlar) meydana gelen bir biyolojik sistemdir. Serbest radikallerin varlığında lipid peroksidasyonu ve fosfolipaz-A₂ enzimi aracılığıyla doymamış yağ asitleri serbest hale gelir. Böylece zarın yapısı değişir; esneklik ve bariyer işlevi hasara uğrayarak hücre metabolizması (taşıma ve metabolik işlev) bozulur.

Lipid peroksidasyonu bu şekilde hücre ve/veya dokulardaki reversible ya da irreversible hasarların en önemli nedenlerinden birisidir. Aynı zamanda lipid zarın yıkılmasına, yıkım ürünlerinin hücre içi ya da hücre dışı hedeflerle karşılıklı etkileşimlerine ve daha fazla serbest radikal yapımına yol açar.

Lipid peroksidasyon olayı başlıca olarak doymamış yağ asitlerinin moleküler oksijen veya diğer reaktif oksijen türleriyle meydana getirdiği bir serbest radikal reaksiyonudur. Bu olay sonunda yağ asidi zincirinden hidrojen atomları koparılır ve bu şekilde yağ asidi zinciri bozularak lipid peroksit moleküllerinin oluşumuna neden olur. Yağ asidi zinciri doymamış çift bağ içeriyorsa ve özellikle çift bağ sayısı fazla ise, hidrojen atomlarının koparılması kolaylaşır ve peroksitlerin miktarı artar. Bundan dolayı özellikle hücre zarı ve organellerin yapısında yüksek miktarda bulunan doymamış yağ asitleri reaktif oksijen moleküllerinin ilk tercihleri arasında yer almaktadır [1, 2].

Oksidasyonla değişikliğe uğrayan düşük dansiteli lipoproteinler (LDL), arterioskleroz örneğinde olduğu gibi önemli bir rol oynamaktadır. Bu yapıları değişmiş LDL'ler damar cidarına çöker ve arteriosklerotik plakların oluşumunda ilk evre olarak kabul edilen 'yağ çizgileri'ni oluştururlar.

Lipidik oksidasyon aynı zamanda, merkezi sinir sisteminin yaşlanma sürecindeki önemli bir faktördür; serbest radikallerin kısmen hücre zarındaki hızlanmış araşidonik asit metabolizmasına bağlı olarak artmış olan üretimi damar lezyonlarına ve beyinde sekonder nörolojik bozukluklara yol açabilir. Bazı nöro-geriatrik hastalıklar (örn. Alzheimer hastalığı) benzeri şekilde 'oksidatif stres'lerle bağlantılıdır.

2. OKSİJEN RADİKALLERİNİN OLUŞUMU VE FİZYOLOJİK İŞLEVLERİ

2.1. Tanımlama

Oksijen radikalleri (OR) ya da serbest radikaller, moleküler oksijen (O_2)'den türemiş olan atomlar ya da atom gruplarıdır. Bu moleküller kimyasal olarak çok reaktiftirler. Bu yüzden de yaşam süreleri çok kısadır. Fiziksel açıdan bunlar serbest bir elektronları olan ve ikinci bir elektron ile birleşme yolunu arayan moleküllerdir. Bu mekanizma aracılığıyla diğer moleküllerin elektronlarını ayırır ve oksijenli biyokimyasal süreçlerde yeni serbest radikallerin ortaya çıktığı bir reaksiyonlar zincirini uyarırlar. Serbest radikaller saldırgan olup, hücreleri ya da hücre komponentlerini doğrudan oksitleme yeteneğine sahiptirler.

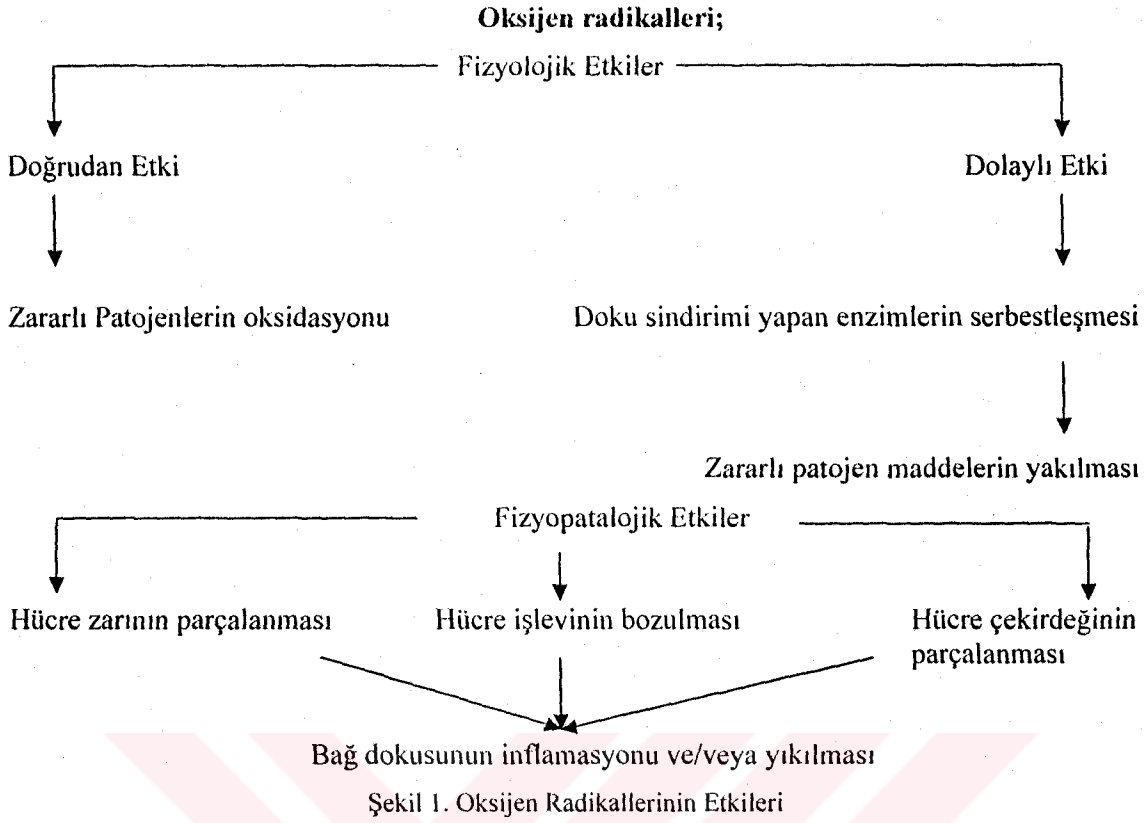
Reaktif Oksijen Türevleri

1-Radikaller

- Süperoksid Radikali ($O_2^{\cdot-}$)
- Hidroksi Radikali (OH)
- Alkoksil Radikali (RO)
- Peroksil Radikali (ROO)

2-Radikal olmayanlar

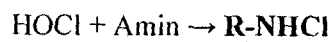
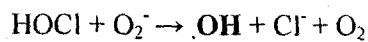
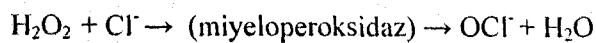
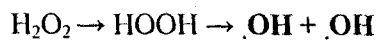
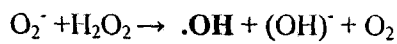
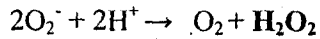
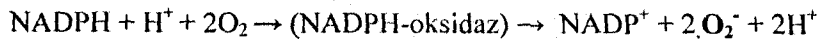
- Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
- Lipid Hidroksiperoksit (ROOH)
- Hipokloröz Asit (HOCl)



Serbest oksijen radikallerinden olan süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidroksil radikallerinin (OH) yaşam süreleri çok kısadır ve içlerinde geliştikleri organik materyali okside etme yeteneğine sahiptirler [3, 4].

Serbest oksijen radikallerine ek olarak, serbest elektronları bulunmadığı halde reaksiyonlarda bu şekilde davranabilen maddeler de bulunmaktadır. Kimyasal reaksiyonlar sırasında serbest radikalleri serbestleştirme (hidrojen peroksit, hipoklorik asit gibi) ya da doğrudan sitotoksik etkide bulunma yetenekleri karakteristiktir (hipoklorik asit ya da kloramin R-NHCl).

Biyokimyasal süreçlerdeki zincirleme reaksiyonlar sırasında, aşağıdaki örneklerin de gösterdiği gibi yeni reaktif maddeler oluşur:



Bu örneklerde çıkış noktası membranda bulunan NADPH-oksidazın aktivasyonu ile moleküler oksijenden gelişen süperoksit anyonudur (O_2^-).

Oksijen radikalleri hem endojen kaynaklardan hem de eksojen kaynaklardan köken alabilmektedir. Endojen kökenli oksijen radikalleri, normalde insan organizmasında oldukça az miktarlarda bulunur. Çevreden gelen oksijen radikalleri organizma üzerinde oksidatif stres yaratırlar. Organizmanın iç koruma mekanizmalarının bu oksijen radikallerini parçalamaya yeterli olabileceği de şüphelidir.

2. 2. Oluşum

2. 2. 1. Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları

Oksijen radikalleri ve diğer reaktif maddeler organizmada normal metabolizmanın yan ürünleri olarak sentezlenir. Bunlar aşağıda görüldüğü gibi farklı tipteki hücre ya da hücre yapılarında birçok biyolojik süreç sonucu ortaya çıkmaktadır.

ORGANİZMA			
Mitokondriler (Solunum Zinciri)	Hücre Zarı (Prostaglandin Sentezi)	Sitokrom P-450 (Detoksifikasyon reaksiyonları)	Aktive lökositler (Fagositoz)
$\cdot\text{O}_2^-$ $\cdot\text{OH}$			

Şekil 2. Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları

2. 2. 1. 1. Mitokondriler

Mitokondriler besin maddelerinin yıkılması ile biyosentez, hareket ve transport gibi tüm etkinlikler için kullanılan enerjiyi ATP şeklinde üretirler. Bu enerji solunum döngüsüne, bir dizi redoks reaksiyonu yoluyla enerjinin serbestleşmesini sağlayan ve ATP şeklinde depolanan bir enerjidir. Solunum döngüsünden de süperoksit anyonları (O_2^-) açığa çıkmaktadır.

2. 2. 1. 2. Hücre zarı

Prostaglandin sentezi sürecinde siklooksijenaz tarafından hücre zarı fosfolipidlerinden hidroksil radikalleri oluşturulmaktadır ($\text{OH}\cdot$).

2. 2. 1. 3. Sitokrom P-450

Sitokrom P-450 mikrozomal enzimlerde bulunur ve organizmaya yabancı çok sayıda maddenin, örneğin ilaçların, kimyasal maddelerin ya da pestisidlerin detoksifikasyon

reaksiyonlarında metabolize edilir. Bu kimyasal reaksiyonlar sırasında süperoksit anyonları da serbestleştirilmektedir($\cdot O_2^-$).

2. 2. 1. 4. Aktive lökositler

Makrofajlar ve polimorfonükleer lökositlerde (fagositler) özgün oksijen radikalleri üretimi gerçekleşmektedir. Bu üretim spesifik bir membran enzim sistemi üzerinden (NADPH-oksidad) çeşitli zararlı etkenlere karşı geliştirilmiş olan biyolojik savunma mekanizmaları çerçevesinde oluşur.

Fagosit, fagosit edilebilir bir zararlı maddeyle karşı karşıya geldiğinde, oksijen gereksinimini 10 kattan daha fazla artırır ve buna paralel olarak da oksijen radikallerinin üretimi artar. Bu radikaller zararlı maddeyi parçalar. Bu süreç bakteriler, virüsler, pek çok yabancı madde ve endojen ya da eksojen kimyasal madde tarafından uyarılmaktadır. Bir zararlı tarafından uyarılan oksijen gereksinimindeki artış "oksidatif patlama" kavramıyla tanınmaktadır. Yine de oksidatif patlamaya neden olan aşırı bir uyarı, inflamasyon ve ağrı formunda kendini gösterebilen önemli bir doku hasarına yol açabilir.

2. 2. 2. Serbest radikallerin eksojen kaynakları

Organizma üzerinde etkili olabilen oksijen radikallerini sadece endojen mekanizmalar üretmez; vücut hücreleri üzerinde oksidatif stres olarak etki edebilen bu tip faktörler çevreye ait eksojen kaynaklardan da gelir. Aşağıda gösterildiği gibi, serbest radikallerin çok sayıda eksojen kaynağı vardır.

Eksojen serbest radikallerin organizma üzerindeki yükü son yıllarda çok güçlü bir biçimde artmıştır. Bu durumun sonuçları bugün hala tartışmalara konu olmaktadır. Örneğin, özellikle havanın çok kirli olduğu bölgelerde solunum yolu hastalıklarının artışı kanıtlanmıştır. Örneğin, karsinogenik etki veya Alzheimer hastalığı ile ilişki gibi diğer etkileşimler de incelenmektedir. Hatta fizyolojik yaşlanma gibi doğal bir olgu da , kısmen de olsa oksijen radikallerinin varlığına bağlı olarak gelişiyor gibi görünmektedir

2. 2. 3. Metabolizma

Oksijen radikalleri ve benzer maddeler normal metabolizma içinde de oluştuğuna göre, organizma da bu radikallerin etkilerini yok edebilmek için gerekli spesifik olanaklara sahiptir. Bu kontrol mekanizmasının temel amacı bu radikallerin aşırı yapılmasını önlemek, aynı zamanda da sağlam olan komşu hücreleri korumaktır. Bunlar hem belirli maddeler (antioksidanlar), hem de serbest radikallerin tipine ve tutulan hücrenin içinde bulunduğu fizyolojik duruma göre aktive olan bütün kimyasal reaksiyon sistemleri olabilirler. Bunun

sonucu serbest radikallerin parçalanma mekanizmaları enzimatik ya da enzimatik olmayan sistemler şeklinde sınıflandırılabilir. Ayrıca antioksidantlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılırlar [5, 6].

A-Doğal (Endojen) Antioksidanlar

Enzimler

- Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- Süperoksid dismutaz
- Katalaz
- Glutasyon peroksidaz
- Glutasyon-S-transferaz
- Hidroperoksidaz

Enzim olmayanlar

a-Lipid fazda bulunanlar

- α - tokoferol (E-vitamini)
- β -karoten

b-Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar

Askorbik asid	Myoglobin	Laktoferrin
Hemoglobin	Melatonin	Albumin
Transferin	Metionin	Bilirubin
Ferritin	Glutasyon	Ürat
Sistein	Seruloplazmin	

B-Eksojen Antioksidantlar

- Ksantin oksidaz inhibitörleri
- NADPH oksidaz inhibitörleri
- Rekombinant süperoksid dismutaz
- Trolox-C: E vitamini analogu
- Endojen antioksidant aktiviteyi artıran maddeler
- Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları
- Demir redoks döngüsünün inhibitörleri
- Stokinler
- Barbitüratlar
- Demir şelatörleri

C-Gıda Antioksidantları

- Bütillenmiş hidrokstoluen (BHT)
- Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)

-Sodyum benzoat

-Etoksikuin

-Propilkuin

-Fe-süperoksid dismutaz

Antioksidant Etki Tipleri

1-Toplayıcı (Scavenging) etki

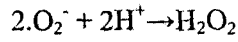
2-Bastırıcı (Quencher) etki

3-Onarıcı (Repair) etki

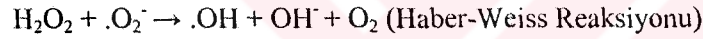
4-Zincir kırıcı (Chain Breaking) etki

Enzimatik Sistemler

Süperoksit dismutaz, metalloprotein olup sitoplazma ve mitokondrilerde bulunur. Bu enzim süperoksit anyonunun (O_2^-) hidrojen perokside (H_2O_2) dönüşümünü hızlandırır.

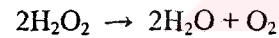


H_2O_2 bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü H_2O_2 süperoksid ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Katalaz, lizozomal bir kan proteinidir ve hidrojen peroksidin (H_2O_2) su ve oksijene dönüşmesini sağlar.

katalaz



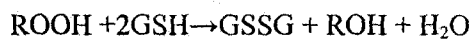
Glutasyon-peroksidaz (GSH-Px), sitoplazmik bir enzimdir. Hidrojen peroksidin (H_2O_2) su ve glutasyon okside dönüşümünü katalize eder. Tüm bu sistemler oksidatiflerin reaksiyon yeteneklerini çok düşük seviyelerde tutar. Örneğin inflamasyon gibi patolojik bir sürece bağlı olarak bu sistemlerde meydana gelen bir yetersizlik, yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik potansiyeli olan hidroksil radikalleri (OH), süperoksit anyonlar (O_2^-) ve hidrojen peroksidin (H_2O_2) birikmesine yol açar.

(GSH-Px)



(redükte) (okside)

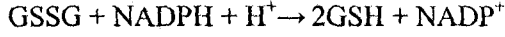
GSH-Px



(hidroperoksid)

H₂O₂ redükte olması ile meydana gelen GSSG, glutatyon redüktazın (GR) katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH'a dönüşür.

(GR)



Ne yazık ki, patolojik koşullardaki aşırı birikime karşı koruyucu bir sistem yoktur; işte bu durumda oksijeni indirgeyen eksojen maddeleri ortama sokmak gerekir.

2. 3. Oksijen Radikalleri: Patolojik etkiler

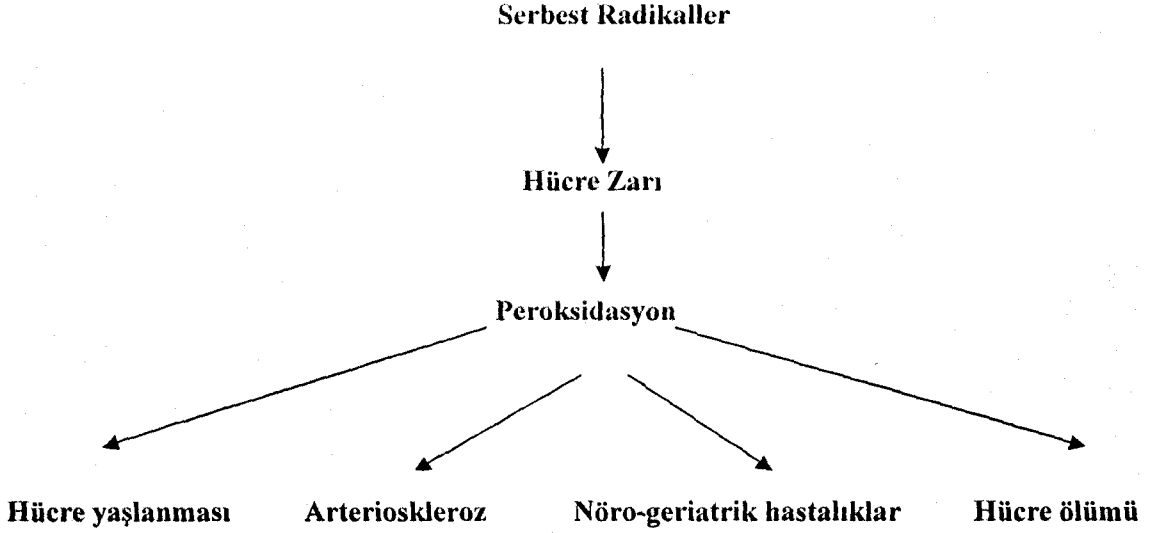
2. 3. 1. Oksidatif Stres ve Hücre Zarı

Oksijen Radikalleri sadece çeşitli fizyolojik metabolik reaksiyonlara katılmayıp, aynı zamanda çok sayıda doku hasarı ve hastalıklara yol açabilecek değişik fizyopatolojik süreçlerde de rol oynarlar.

Bugün serbest radikallerin pratik anlamda bilinen bütün hastalıklarda ve aynı zamanda fizyolojik yaşlanma sürecinde rol oynadıkları kabul edilmektedir. 1956 yılında **Denham Harman**, "yaşlanma sürecinin belli başlı nedeninin serbest oksijen radikallerinin sürekli oluşumu olduğu" düşüncesini ileri sürmüştür. Bu nedenle sentezleri ve/veya eliminasyonlarında oluşturulan değişiklikler sıklıkla önemli bir tedavi amacı haline gelmektedir.

İnflamasyon sürecinde aktive lökositler'den fizyolojik olarak salınan serbest radikaller fagosite olabilir zararlıları öldürmeye ya da yok etmeye yarar ve bu serbestleşme infeksiyöz ajanlara karşı savaşta oldukça yararlı bir mekanizmadır.

Serbest radikallerin üretimi, oksidatif etkilerini sadece dış saldırganlarla sınırlı tutmadıkları durumlarda daha farklı bir boyut kazanmaktadır. Bu gibi durumlarda oksidatif güçler doğrudan komşu dokular üzerine, hücrenin metabolizması ve genetik özelliklerinin bozulmasına yol açacak bir biçimde etkir. Dokuların hücre yapılarında (zarlar, nükleik asitler, proteinler, serbest aminoasitler, lipidler, lipoproteinler, karbonhidratlar, vb.) kısmen onarılamayan değişiklik ve mikro hasarlara yol açabilirler. Bu lezyonlar da hücrelerin hızla yaşlanmalarına, hatta ölmelerine neden olur.



Şekil 3. Serbest Radikallerle Oluşan Doku Hasarı ve Hastalıklar

2. 3. 2. Oksidatif Stres, Protein ve Karbonhidratlar

Lipidlerin dışında, hücrede DNA molekülündeki nükleotidler ve protein moleküllerindeki sülfidril bağları da serbest radikallerin zarar verdiği hedefler arasında yer almaktadır. Serbest radikaller, hücre içindeki normal metabolik oksidasyonlar sırasında meydana gelebildiği gibi, sigara dumanı ve diğer hava kirleticiler gibi dış kaynaklı maddelerin etkisiyle de oluşabilirler [1, 2, 7]. Hücre içinde meydana gelen herhangi bir radikal reaksiyonu engellenemediği zaman, hücre içinde lipid peroksidasyon olayını başlatır [2].

2. 3. 2. 1. Doğrudan Saldırı

Serbest radikallerin doğrudan saldırısı özellikle, radikallerin lizozomal proteazlarla birlikte yoğun serbestleşmesinin dokunun matriks proteinlerinin parçalanmasından sorumlu olduğu kronik inflamasyon sırasında söz konusudur.

2. 3. 2. 2. Dolaylı Saldırı

Serbest radikaller aynı zamanda, proteazlar ve bunların inhibitörleri (alfa-1 antitripsin) arasındaki dengenin bozulması yoluyla gerçekleşen dolaylı bir mekanizma ile de protein metabolizmasını etkileyebilirler. Bu şekilde hasarın olduğu bölgede artmış doku yıkımı ve eklem lezyonları meydana gelir.

Serbest radikaller:

- a) **Proteinler (Enzimler)-----Kronik inflamasyon-----Romatizmal hastalıklar**
- b) **Karbonhidratlar-----Romatizmal hastalıklar**

2. 3. 2. 3. Oksidatif Stres Hücre Çekirdeği ve Nükleik Asitler

Hücre zarı ve proteinlerine ek olarak hücre çekirdeği ve nükleik asitler de serbest radikallerin saldırısına özellikle duyarlıdır.

Hasar yaratmak için, pürin ve pirimidin bazlarında yıkım yapmak suretiyle mutasyonlara yol açan saldırı noktası temel olarak DNA molekülüdür. DNA'da meydana gelen bu denatürasyon ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan protein sentezi bozukluğu, genetik bilgi taşınması ve replikasyonda ağır sonuçlara (artmış kanserojenite gibi) yol açabilir.

Fizyolojik olarak bu bozukluklarla hızla başa çıkılmaktadır. Onarılmayan bozuklukların sadece küçük bir bölümü de, üreme aşamasında hatalı bilgiye bağlı olarak uzun vadede DNA'nın yapısında kalıcı değişikliklere neden oluşturabilir. Serbest radikallerin nükleik asitler üzerindeki etkisi, bazı kanser türlerindeki onkogeneze ile kuramsal bir model sunmaktadır.

Oksidatiflere bağlı olarak meydana gelen hücre değişiklikleri aynı zamanda "serbest radikallere bağlı yaşlanma" kuramına da temel oluşturur. Buna göre yaşlanma ile kronik "oksidatif stres" arasında bir bağlantı vardır.



Şekil 4 Serbest Radikallerle Oluşan Hasar

2. 3. 2. 4. Oksidatif Stres ve Korunma Mekanizması

Serbest radikaller organizmada normal koşullarda çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan korunma mekanizmalarını aktive etmektedirler (antioksidatifler).

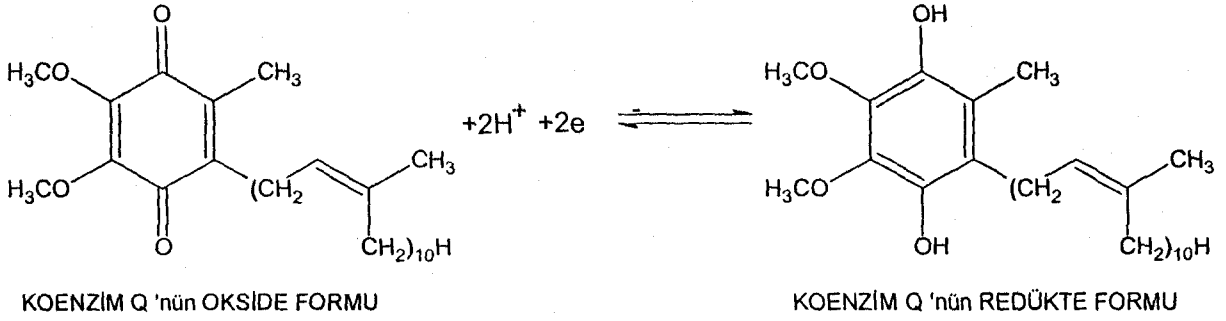
Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aracılığıyla gerçekleşen enzimatik hücre içi korunma mekanizmaları oksidatif lezyonların gelişimini başarıyla önlemektedir.

Buna karşılık enzimatik olmayan korunma mekanizmaları ise oksijen radikallerini moleküler oksijene çeviren ya da suya indirgeyen bileşiklerden oluşmaktadır.

Herhangi bir nedenle mekanizmaların yetersiz kaldığı (hastalık) ya da birçok serbest radikalin aşırı miktarlarda üretildiği (inflamasyon) durumlarda doku hasarları ortaya çıkar.

Koenzim Q (CO-Q10, Ubikinon)

Elektron-transport zincirinde elektronları taşıyan bir sistem olup, yağda çözünen bir kinondur ve gayet uzun bir izoprenoid yan zinciri ihtiva etmektedir.



Şekil 5 Koenzim Q

1957'de Fred Crane tarafından Wisconsin Üniversitesi'nde sığır kalbinden izole edilmiştir. Dr. Falkers ölümcül akciğer kanseri olan komşusu üzerinde bunu uygulamış ve tam bir remisyon sağlamıştır [8].

CO-Q10 (2,3-Dimetoksi-5-metil-1,4-Benzokinon); et, deniz ürünleri (yağlı balık) ve tüm hububattan elde edilen bir antioksidandır [9]. Ayrıca vücudumuzun her hücresinde enerji üretimi için doğal olarak da meydana gelir. Bitki ve hayvanlar topraktan elde ederken, biz CO-Q içeren maddeleri bitki ve hayvanlardan alırız. Kalp, karaciğer, böbrek ve pankreasta yüksek konsantrasyonda olurken, çoğu memeli organlarında doğal olarak bulunmaktadır [10].

Farklı büyüklüklerde yaygın olarak bilinen Q1' den Q10'a kadar 10 tane CO-Q vardır. İnsanda asıl aktivite CO-Q10' dadır. Karaciğer diğer CO-Q' lardan yararlanarak CO-Q10' u sentezler. Eğer karaciğer verimli bir şekilde bu fonksiyonunu yerine getiremiyorsa vücuttaki seviyesi azalır.

Bağışıklık sisteminin önemli bir parçasıdır. Antibiyotikler, bağışıklık sisteminin yeniden yapımına yardım edemezken CO-Q10, antibiyotik ve antiviral ilaçlardan daha fazla yardım eder. Öte yandan CO-Q10 bağışıklık sistemini doğal olarak uyarır ve sonuç olarak daha faydalı ve koruyucu etki sağlar.

CO-Q10 önce kalp kasında bulunmuştur ve bütün kaslar gibi kalp kası da işlevini yapabilmesi için uygun enerjiye ihtiyaç duyar ve CO-Q10 bu enerji üretimini kolaylaştırır. Vücudun bioenerjistik fonksiyonlarını destekler. Enerji fabrikası olarak bilinen mitokondri gibi çoğu vücut enerji sistemlerinde önem arz eder [9]. Enerji için ATP üretimine ilaveten , hücresel bakımı ve mitokondri membranının akışkanlığını da sağlar. Vitamin E ve Vitamin K gibi siklik kinon bileşiklerinin bir üyesi olan ubikinon, biyolojik olarak aktif moleküllerden oksijen tedarik eder [9].

CO-Q10 ile serbest radikaller arasındaki ilişki , 1960' larda Denham Harman tarafından ileri sürülen yaşlanma teorisinin önemini artırmıştır [11, 12]. CO-Q10 üretimi yaşla birlikte azalır. Bu nedenle yaşlandıkça diyetle daha fazla alınmalıdır. Endojen sentezle ve eksojen kaynaklardan tedarik edilen CO-Q10' nun sentezi 21 yaşından sonra giderek azalır. Yaşlanma, hastalık ve stresle kayıp olur ve bunun trajik bir sonucu olarak beyin, diğer organlar ve

mitokondrinin her yerinde dönüşümsüz hasarlar meydana gelir [13, 14]. Askorbik asit ve ubikinon eksikliğinde mitokondride yaşlılık mutasyonları çok yüksek oranda olur [15].

Yapılan çalışmalarda, CO-Q10' nun Vitamin E ile ilişkili olduğu, Vitamin E' den 50 kez daha fazla serbest radikalleri yatıştırıcı yeteneğe sahip olduğu ve yine serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif hasardan membran proteinleri ve DNA' yı koruduğu ifade edilmiştir [16]. Araştırmacılar CO-Q10' nun LDL oksidasyonunu önlediğini ve CO-Q10' nun LDL' ye Vitamin E tarafından bağlandığını belirtmişlerdir [9].

Laboratuvar hayvanlarının ömrünü uzattığı görülen CO-Q10' nun insan ve hayvanlar üzerinde toksik etkisine rastlanmamıştır [13]. Yan etkileri ise; iştahsızlık, ishal ve hafif mide bulantısıdır [10]. CO-Q10' nun etkili ölçüsü günde 2 kez 10-20 mgdır. Kalp damar hastalıklarının çözümü için önerilir. İlginç olan önceden dozajı belirlenmiş muhtemel kalp ilaçlarının kolesterol seviyesini azaltırken, CO-Q10 üretimini de bloke ettiğidir[9].

H₂O₂ verilerek oksidatif hasar oluşturulan sıçanlarda, ubikinon' un uygulanması sonucu, bu maddelerin serumda total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL ve VLDL miktarındaki değişimlerle, bazı dokulardaki (karaciğer, akciğer,kas, beyin, dalak, böbrek, kalp,göz, testis gibi) total lipid ve kolesterol miktarındaki değişimler ve bu dokulardaki (karaciğer, akciğer,kas, beyin, dalak, böbrek, kalp,göz) yağ asitleri üzerinde etkilerini incelemek çalışmanın başlıca amacını oluşturmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

-Kimyasal Maddeler Ve Organik Çözücüler:

Potasyum klorür, fosforik asit, vanilin, n-hekzan, izopropanol, etil alkol, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, sodyum sitrat, sodyum klorür, orto- fosforik asit, asetik asit, sülfürik asit, hidrojen peroksit, ubikinon.

-İnceleme materyali :

Bu çalışmada deney materyali olarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi' nden temin edilen 2-3 aylık sıçanlar kullanılmıştır.

-Kullanılan Alet ve Cihazlar:

Spektrofotometre, santrifuj, döner buharlaştırıcı, gaz kromatografisi, azot tüpü, vortex, dereceli su banyosu ve otomatik pipetler, derin dondurucu, sızdırma yapmayan vida kapaklı deney tüpleri ve santrifuj tüpleri, kan almak için kullanılacak vakumlu tüpler, mikser, teflon musluklu ayırma hunisi, siyah bant süzgeç kağıdı, deney hayvanların beslemesinde kullanılacak besin maddesi ve deneysel kısımda kullanılacak deney hayvanları.

-Deney Hayvanlarının Beslenmesi:

Deney hayvanlarının beslenmesinde kullanılan, Elazığ Yem Fabrikası' ndan satın alınan yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri:

<u>Yem Maddeleri</u>	<u>Yüzdesi (%)</u>
Melaslı Şeker Pancarı posası	65.0
Kuru Yonca	16.2
Saman	16.1
Nişasta	1.0
Mineral Karması	0.1
Vitamin Karması	0.5
Sodyum Sülfat	0.1

Vitamin Karması: A, D, E, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂ vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, biotin ve kolin klorit' ten oluşmaktadır.

Mineral Karması: Mineral karması ise mangan, demir, çinko, bakır, iyot ve kalsiyum' dan oluşmaktadır.

-Deneysel Uygulama:

Deneyde, her biri 10' ar adet sıçan içermek üzere 4 ayrı grup oluşturulmuştur. 1. grup Kontrol (K), 2. grup H_2O_2 (HPO), 3. grup Ubikinon (UB), 4. grup H_2O_2 + Ubikinon (HPO+ UB)

grubudur. 38 gün boyunca günaşırı intraperitoneal yapılacak enjeksiyonlardaki kimyasal maddelerin derişimleri şunlardır:

50 ml mısırözü yağında          4 gr ubikinon

50 ml suda          5 gr H₂O₂

Hazırlanan bu maddelerden kontrol grubuna sadece mısırözü yağı, H₂O₂ grubuna 10 mg H₂O₂ , H₂O₂ + Ubikinon grubuna 10 mg H₂O₂, 8mg ubikinon, Ubikinon grubuna ise 8 mg ubikinon enjekte edildi.

Doku ve Kan  rneklerinin Alınması

Kan  rneklerinin Alınması

Yukarıda belirtildiğı gibi belirli gruplara ayrılan, 38 gün boyunca beslenen ve enjeksiyonları yapılan sıçanlar bu s renin dolmasıyla boyun kemikleri kesilerek öldürüldü. Boyunlarından jelli tüplere kan örnekleri alındı ve Hettich Marka EBA 21 model santrifüj cihazı ile plazma ve kan hücreleri ayrıldı. Üstteki plazma örnekleri ependorflara alındı. Hem plazma örnekleri hem de kan hücreleri -20  C' de bekletildi. Total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL ve VLDL analizleri otoanalizörde yapıldı.

Diğ r Doku  rneklerinin Alınması

Kan  rneklerinin alınmasından sonra baş, karın ve göğüs bölgesi açılarak, beyin, karaciğ r, böbrek, testis, akciğ r, göz, kas, dalak ve kalp dokuları alındı. Bu doku kısımları % 0.9 serum fizyolojik ile yıkanarak, kandan temizlenmeleri sağlandı ve biyokimyasal işlemler yapılıncaya kadar -25  C' de saklandı. Bu dokularda total lipid ve kolesterol seviyeleri belirlendi.

Lipidlerin Ekstraksiyonu

Doku örneklerinden lipidlerin ekstraksiyonu için, 3:2 (v/v) oranındaki hekzan: izopropanol karışımının kullanıldığı Hara ve Radin [17] metodu kullanıldı. Bunun için: Dokular Micra-D.8 homojenizat r nde 11000 rpm' de 1 dk. süre ile 3:2 (v/v) oranında 50 ml hekzan izopropanol ile parçalandı. Homojen karışım Bunchner hunisi ile Nu e erlenine vakumlanarak s z ld  ve doku peletinden tamamıyla ayrıldı. Süzülme sırasında 10 ml 3:2 (v/v) oranında hekzan izopropanol karışımı ile, homojenizasyon yapıldığı homojenizatör kabı ve doku artığı peleti tekrar karıştırılarak s z lmeleri sağlandı. Bütün filtre edilmiş homojen karışım toplanarak          uçurma aşamasına getirildi.

Homojenize olmuş toplam filtratın          kısmen 35  C de uçurulduktan sonra 35 ml' lik KIMAX deney tüplerine alındı. Hacminin   '  kadar 0.88' lik KCl          ilave edilip, vorteksle iyice karıştırılarak lipid olmayan safsızlıkların uzaklaştırılması sağlandı. % 0.88' lik

KCl çözeltisi ilave edilip karıştırıldıktan sonra, fazların ayrılması için 10-12 saat dinlenmeye bırakıldı ve üst faz pipetle alınarak başka bir tüp içine aktarıldı.

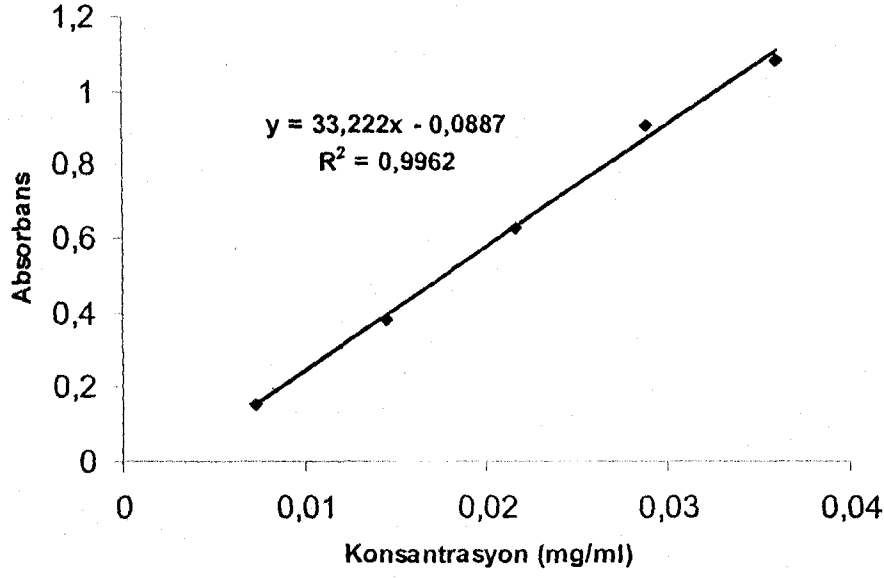
Yukarıdaki işlemten sonra bütün lipid ekstraktları susuz sodyum sülfat ile muamele edilerek kurutuldu. Hacimleri belirlenerek temiz tüplere alındı. Hazırlanan örneklerin total lipid ve total kolesterol miktarlarının belirlendiği spektrofotometrik analizler ve yağ asidi oranlarının belirlendiği gaz kromatografi analizi yapılana kadar -20°C ' de ki derin dondurucu ortamında muhafaza edildi.

Lipid Ekstraktlarındaki Total Lipid Miktarlarının Belirlenmesi

Dokulardan izole edilen lipid bileşenlerinin total miktarları Fring ve Dunn [18] tarafından geliştirilen ve daha sonra değişik araştırmacılar tarafından modifie edilen [19, 20] fosfovanilin reaktifi ile spektrofotometrik olarak belirlendi. Bunun için:

saflaştırılmış lipid ekstraktlarından uygun miktarda (5 μl) alınarak çözücüsü uçuruldu. Üzerine 0.5 ml konsantre sülfirik asit ilave edilerek $95-100^{\circ}\text{C}$ ' de 10 dk. ısıtıldı. Soğutulduktan sonra üzerine 5 ml fosfovanilin reaktifi ilave edildi ve vorteksle karıştırıldı. 20 dk. inkübasyondan sonra oluşan rengin yoğunluğu 540 nm' de okundu.

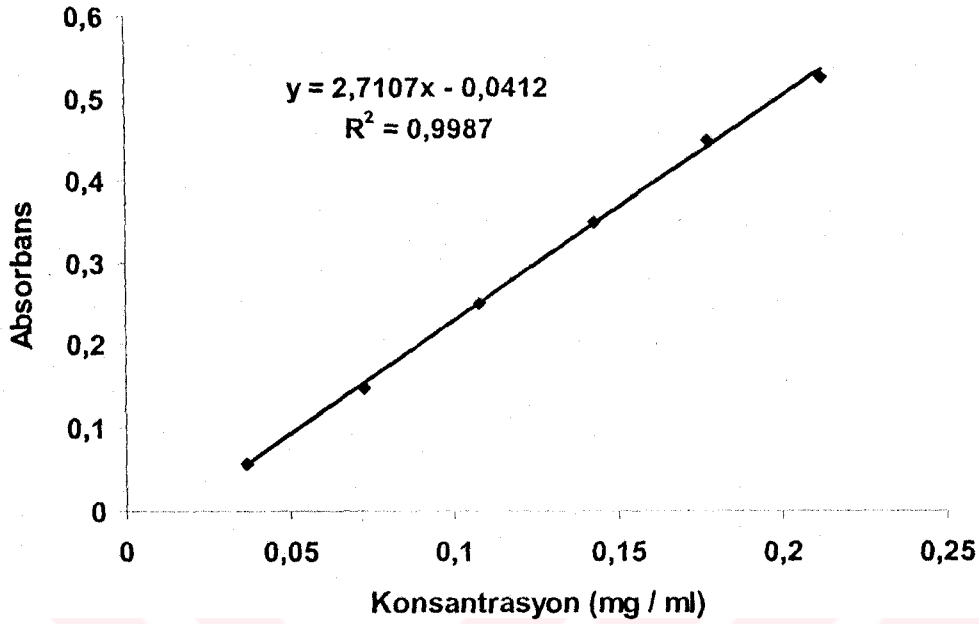
Dokulardaki lipid miktarları, örneklerle aynı şartlarda hazırlanan total lipid standartlarından elde edilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Total lipid standardı saf zeytin yağından (sigma) hazırlandı ve beş farklı konsantrasyonlara karşılık absorbanları okunarak çalışma grafiği çizildi. Çalışma grafiğinden örnek sonuçları hesaplandı. Elde edilen sonuçlar g yağ doku olarak ifade edildi.



Grafik 1. Doku lipidlerindeki total lipid ölçümünde kullanılan kalibrasyon eğrisi

Total Kolesterol Miktarının Belirlenmesi

Lipid ekstraktlar içindeki total kolesterol miktarı aşağıdaki metoda göre yapıldı: total lipid örneklerinden 250-300µl alındı ve çözücüsü uçuruldu. Geriye kalan lipid atığı üzerine 6 ml glacial asetik asit ilave edilerek vorteksle karıştırıldı. Bu karışım üzerine 4 ml $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + ortofosforik asit reaktifinden ilave edilip 5-10 dakika bekletilerek vorteksle karıştırıldı. Oluşan mavi-morumsu rengin yoğunluğu UV spektrofotometrede 550 nm'de ölçüldü. Doku örneklerindeki kolesterol miktarı saf kolesterol standardından hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.



Grafik 2. Doku lipidlerindeki total kolesterol ölçümünde kullanılan kalibrasyon eğrisi

Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

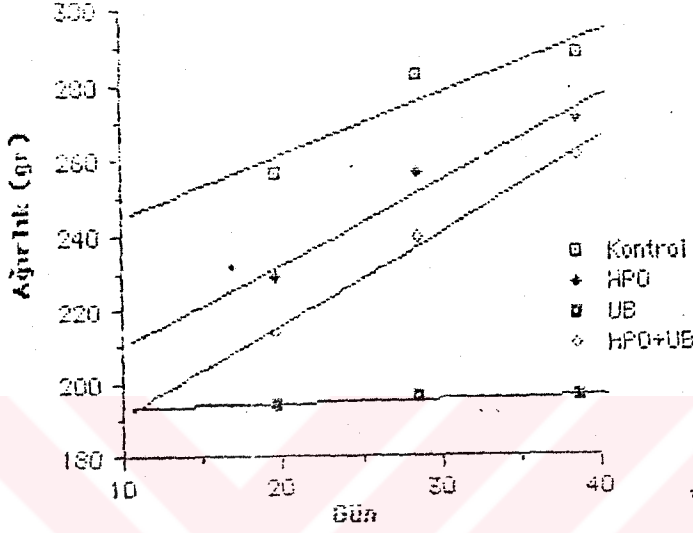
Lipidler içinde bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizlerinin yapılabilmesi için polar olmayan uçucu ve kararlı yapıya sahip olan metil esterleri gibi türevlerine dönüştürülmesi gerekir. Lipidler içindeki yağ asitlerini, metil esteri türevlerine dönüştürülmesinde değişik metodlar kullanılmasına rağmen, bu çalışmada Christie [21]' de ifade edildiği gibi uygulaması pratik ve verimi yüksek olan asit katalizli esterleştirme yöntemi kullanıldı. Bu yöneme göre: total lipid numunesinden 10 ml alınarak çözücüsü 50° C'de döner buharlaştırıcıda azot akımında uçuruldu. 3 ml hekzanda çözülerek üzerine % 2' lik metanollü sülfirik asitten 10 ml ilave edildi ve 50° C'de su banyosunda 12 saat süreyle metillendirilmeye bırakıldı. Üzerine oda sıcaklığında % 5' lik sodyum klorürden 5 ml ilave edildi ve oluşan yağ asidi metil esterleri 2 defa hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı ayırma hunisine alınarak 5 ml % 2' lik sodyum bikarbonat ile yıkandı ve organik faz alınarak susuz sodyum sülfatla suyu uzaklaştırıldı. Daha sonra çözücüsü döner buharlaştırıcıda azot akımında kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve 2 ml hekzanda çözülerek SHIMADZU GC 17 ver.3 gaz kromatografisinde analiz edildi. Bu analiz için 25 m uzunluğunda, 0,25 µm iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip MACHERY- NAGEL (Germany) kapiller kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120- 220 ° C/ dk, enjeksiyon sıcaklığı 240 ° C ve dedektör sıcaklığı 280 ° C' de tutuldu. Taşıyıcı

gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek (0,5- 1µl) her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlendi. Bu işlemden sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı.



4. BULGULAR

Grupları oluşturulan sıçanlar 38 gün boyunca zaman zaman tartıldı. Tartım sonuçları Grafik 3' de verilmiştir. Deneklerin ağırlıkları karşılaştırıldığında sadece UB grubunda ağırlık artışı gözlenmemiştir. Diğer gruplarda ağırlık artışı birbirine yakın olmakla birlikte en fazla ağırlık artışı HPO+ UB grubunda meydana gelmiştir.



Grafik 3 Deneklerin Ağırlık Artışlarını Gösteren Değerler

Serumlara ilişkin yapılan varyans analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Serum Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
TKOL	Gruplar arası	1570,13	3	523,38	7,163*	,003
	Gruplar içi	1169,07	16	73,07		
	Toplam	2739,20	19			
TRIG	Gruplar arası	15132,62	3	5044,21	6,410*	,005
	Gruplar içi	12590,38	16	786,90		
	Toplam	27723,00	19			
HDL	Gruplar arası	192,57	3	64,19	1,555	,239
	Gruplar içi	660,38	16	41,27		
	Toplam	852,95	19			
LDL	Gruplar arası	254,13	3	84,71	17,406*	,000
	Gruplar içi	77,87	16	4,87		
	Toplam	332,00	19			
VLDL	Gruplar arası	680,45	3	226,82	6,646*	,004
	Gruplar içi	546,09	16	34,13		
	Toplam	1226,55	19			

*P<.05 anlamlı

Yapılan varyans analizi sonucu analizler arasında farklılık olduğu belirlenmiştir. Total kolesterol, Trigliserid, LDL, VLDL açısından farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla LSD t testi uygulanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Serum LSD t Testi Sonuçları

TKOL			Gruplar				
n	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	48,60	6,69	K		*		
7	65,00	4,89	HPO	*		**	***
5	47,60	10,92	UB		**		
3	42,67	13,58	HPO+UB		***		
P*.005 **.003 ***.002							
TRIG			Gruplar				
n	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	142,80	8,73	K				*
7	121,57	25,58	HPO				**
5	143,60	43,14	UB				*
3	62,33	21,38	HPO+UB	*	**	*	
P*.001 **.007							
LDL			Gruplar				
n	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	8,00	1,00	K		*	*	*
7	15,00	2,31	HPO	*			
5	16,60	2,30	UB	*			
3	17,33	3,21	HPO+UB	*			
P*.000							
VLDL			Gruplar				
n	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	24,80	5,22	K				*
7	24,29	5,06	HPO				*
5	29,40	7,92	UB				**
3	10,67	4,04	HPO+UB	*	*	**	
P*.004 **.000							

Tablo 2'den görüldüğü gibi serumda kolesterol miktarı en yüksek H_2O_2 (HPO) grubunda bulunurken, en düşük H_2O_2 + ubikinon (HPO+UB) grubunda bulunmuştur. İstatistiksel olarak kontrol grubuyla ubikinon (UB) grubu arasında fark gözlenmezken bu gruplara göre HPO grubunda total kolesterol önemli ölçüde artmıştır ($P < 0,003$). HPO grubu ile HPO+UB grubu karşılaştırıldığında total kolesterol düzeyi HPO+UB grubunda önemli ölçüde azalmıştır. Serumda total trigliserid miktarı açısından kontrol grubuyla UB grubu arasında istatistiksel fark gözlenmezken HPO grubunda kısmen düşme HPO+UB grubunda ise önemli oranda düşme görülmüştür. LDL miktarı HPO, UB ve HPO+UB grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken bu gruplara göre sadece kontrol grubundaki miktar oldukça düşmüştür. Serumda HDL miktarlarında ise gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir.

Serumda VLDL miktarları açısından K, HPO ve UB grupları arasında istatistiksel bir fark gözlenmezken bu gruplara göre HPO+UB grubunda azalma görülmüştür ($P < 0,004$).

Tablo 3. Doku Kolesterol Düzeylerine İlişkin Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
DALAK	Gruplar arası	$3,412 \cdot 10^{-4}$	3	$1,137 \cdot 10^{-4}$	,378	,770
	Gruplar içi	$4,514 \cdot 10^{-3}$	15	$3,009 \cdot 10^{-4}$		
	Toplam	$4,855 \cdot 10^{-3}$	18			
AKCİĞER	Gruplar arası	$5,141 \cdot 10^{-3}$	3	$1,714 \cdot 10^{-3}$	3,701*	,034
	Gruplar içi	$7,409 \cdot 10^{-3}$	16	$4,631 \cdot 10^{-4}$		
	Toplam	$1,255 \cdot 10^{-2}$	19			
KARACİĞER	Gruplar arası	$1,476 \cdot 10^{-3}$	3	$4,921 \cdot 10^{-4}$	,717	,556
	Gruplar içi	$1,097 \cdot 10^{-2}$	16	$6,859 \cdot 10^{-4}$		
	Toplam	$1,245 \cdot 10^{-2}$	19			
BEYİN	Gruplar arası	$2,511 \cdot 10^{-2}$	3	$8,371 \cdot 10^{-3}$	1,514	,249
	Gruplar içi	$8,845 \cdot 10^{-2}$	16	$5,528 \cdot 10^{-3}$		
	Toplam	0,114	19			
KAS	Gruplar arası	$2,139 \cdot 10^{-2}$	3	$7,130 \cdot 10^{-3}$	1,273	,317
	Gruplar içi	$8,964 \cdot 10^{-2}$	16	$5,603 \cdot 10^{-3}$		
	Toplam	0,111	19			
BÖBREK	Gruplar arası	$6,117 \cdot 10^{-4}$	3	$2,039 \cdot 10^{-4}$	,830	,497
	Gruplar içi	$3,929 \cdot 10^{-3}$	16	$2,456 \cdot 10^{-4}$		
	Toplam	$4,541 \cdot 10^{-3}$	19			
KALP	Gruplar arası	$1,330 \cdot 10^{-3}$	3	$4,432 \cdot 10^{-4}$	1,937	,167
	Gruplar içi	$3,433 \cdot 10^{-3}$	15	$2,288 \cdot 10^{-4}$		
	Toplam	$4,762 \cdot 10^{-3}$	18			
GÖZ	Gruplar arası	$4,221 \cdot 10^{-3}$	3	$1,407 \cdot 10^{-3}$	1,935	,167
	Gruplar içi	$1,091 \cdot 10^{-2}$	15	$7,272 \cdot 10^{-4}$		
	Toplam	$1,513 \cdot 10^{-2}$	18			
TESTİS	Gruplar arası	$2,715 \cdot 10^{-2}$	3	$9,048 \cdot 10^{-3}$	1,077	,389
	Gruplar içi	,126	15	$8,401 \cdot 10^{-3}$		
	Toplam	,153	18			

* $p < .05$ anlamlı

Tablo 3’de dokulardaki varyans analiz sonuçlarından görüldüğü gibi akciğer dokusu dışındaki dokulardaki total kolesterol miktarlarında istatistiksel fark gözlenmemiştir. Akciğer dokusu total kolesterol miktarı farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla LSD t testi uygulanmıştır (Tablo 4). Tablo 4’den görüldüğü gibi K ve UB gruplarındaki total kolestrol miktarı aynı bulunurken HPO grubunda önemli ölçüde azalmıştır.

Tablo 4. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Akciğer Dokusu Total Kolesterol LSD t Testi Sonuçları

Akciğer			Gruplar				
n	$\bar{X}$	Ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	0,07	0,15	K		*		
7	0,03	0,29	HPO	*		**	
5	0,06	0,12	UB		**		
3	0,06	0,21	HPO+UB				
P*.009 **.023							

Tablo 5. Doku Kolesterol Düzeylerine İlişkin Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
DALAK	K	5	0,04	0,02
	HPO	6	0,04	0,02
	UB	5	0,04	0,01
	HPO+UB	3	0,05	0,01
AKCİĞER	K	5	0,07	0,02
	HPO	7	0,03	0,03
	UB	5	0,07	0,01
	HPO+UB	3	0,06	0,02
KARACİĞER	K	5	0,06	0,04
	HPO	7	0,04	0,02
	UB	5	0,04	0,01
	HPO+UB	3	0,03	0,03
BEYİN	K	5	0,25	0,03
	HPO	7	0,29	0,09
	UB	5	0,21	0,09
	HPO+UB	3	0,20	0,04
KAS	K	5	0,02	0,01
	HPO	7	0,03	0,02
	UB	5	0,03	0,03
	HPO+UB	3	0,03	0,01
BÖBREK	K	5	0,05	0,02
	HPO	7	0,06	0,01
	UB	5	0,06	0,01
	HPO+UB	3	0,04	0,03
KALP	K	4	0,04	0,01
	HPO	7	0,03	0,02
	UB	5	0,02	0,02
	HPO+UB	3	0,02	0,01
GÖZ	K	4	0,05	0,01
	HPO	7	0,01	0,01
	UB	5	0,01	0,01
	HPO+UB	3	0,01	0,003
TESTİS	K	5	0,11	0,01
	HPO	7	0,03	0,02
	UB	5	0,02	0,02
	HPO+UB	2	0,03	0,03

Tablo 6. Doku Total Lipid Düzeylerine İlişkin Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
DALAK	Gruplar arası	0,06	3	0,02	,462	,713
	Gruplar içi	0,68	16	0,04		
	Toplam	0,74	19			
AKCIGER	Gruplar arası	0,05	3	0,01	,710	,560
	Gruplar içi	0,34	16	0,02		
	Toplam	0,39	19			
KARACIGER	Gruplar arası	0,20	3	0,06	8,754*	,001
	Gruplar içi	0,12	16	0,007		
	Toplam	0,31	19			
BEYIN	Gruplar arası	0,32	3	0,1	1,247	,326
	Gruplar içi	1,35	16	0,08		
	Toplam	1,67	19			
KAS	Gruplar arası	0,16	3	0,05	1,528	,246
	Gruplar içi	0,56	16	0,03		
	Toplam	0,72	19			
BOBREK	Gruplar arası	0,04	3	0,01	,958	,436
	Gruplar içi	0,22	16	0,01		
	Toplam	0,26	19			
KALP	Gruplar arası	0,23	3	0,08	1,322	,302
	Gruplar içi	0,94	16	0,06		
	Toplam	1,17	19			
GOZ	Gruplar arası	0,58	3	0,19	1,094	,382
	Gruplar içi	2,63	15	0,18		
	Toplam	3,21	18			
TESTIS	Gruplar arası	1,22	3	0,41	5,208*	,012
	Gruplar içi	1,17	15	0,08		
	Toplam	2,40	18			

*p<.05 anlamlı

Dokulardaki total lipide ilişkin varyans analiz sonuçları Tablo 6’da, gruplar arasındaki farklılığı belirlemek amacıyla yapılan LSD t testi sonuçları da Tablo 7’de görülmektedir. Karaciğer dokusunda total lipid miktarı, HPO, UB ve HPO+ UB grupları arasında istatistiksel fark gözlenmezken kontrol grubunda önemli ölçüde yükselmiştir (Tablo 7). Testis dokusu total lipid miktarları K, HPO ve HPO+UB grupları arasında istatistiksel farklılık gözlenmezken UB grubunda önemli miktarda artmıştır.

Tablo 7. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Karaciğer ve Testis Dokusu Total Lipid LSD t Testi Sonuçları

Karaciğer			Gruplar				
n	$\bar{X}$	Ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	0,41	0,1	K		*	**	***
7	0,23	0,07	HPO	*			
5	0,18	0,06	UB	**			
3	0,15	0,13	HPO+UB	***			
P*.002 **.000 ***.001							
Testis			Gruplar				
N	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	H	UB	H+UB
5	0,23	0,31	K			*	
7	0,35	0,21	H			**	
5	0,85	0,35	UB	*	**		***
2	0,19	0,21	H+UB			***	
P*.003 **.009 ***.014							

Tablo 8.Doku Total Lipid Düzeylerine İlişkin Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
DALAK	Kontrol	5	0,51	0,31
	HPO	7	0,37	0,18
	UB	5	0,47	0,1
	HPO+UB	3	0,43	0,16
AKCIGER	Kontrol	5	0,55	0,25
	HPO	7	0,60	0,10
	UB	5	0,48	0,05
	HPO+UB	3	0,60	0,1
KARACIGER	Kontrol	5	0,41	0,1
	HPO	7	0,23	0,06
	UB	5	0,18	0,06
	HPO+UB	3	0,15	0,13
BEYIN	Kontrol	5	0,81	0,23
	HPO	7	0,86	0,40
	UB	5	0,57	0,19
	HPO+UB	3	0,61	0,12
KAS	Kontrol	5	0,41	0,26
	HPO	7	0,23	0,18
	UBIQ	5	0,20	0,14
	HPO+UBQ	3	0,17	0,07
BOBREK	Kontrol	5	0,44	0,17
	HPO	7	0,41	0,08
	UB	5	0,53	0,1
	HPO+UB	3	0,43	0,12
KALP	Kontrol	5	0,44	0,15
	HPO	7	0,31	0,26
	UB	5	0,36	0,32
	HPO+UB	3	0,64	0,14

Tablo 8'in Devamı

GÖZ	Kontrol	4	0,85	0,80
	HPO	7	0,44	0,32
	UB	5	0,40	0,12
	HPO+UB	3	0,45	0,17
TESTİS	Kontrol	5	0,23	0,31
	HPO	7	0,35	0,20
	UB	5	0,85	0,35
	HPO+UB	2	0,19	0,21

Tablo 9. Akciğer Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
14:0	Gruplar arası	0,13	3	0,04	,763	,540
	Gruplar içi	0,58	10	0,06		
	Toplam	0,71	13			
16:0	Gruplar arası	21,89	3	7,30	2,110	,148
	Gruplar içi	44,96	13	3,46		
	Toplam	66,85	16			
16:1N9	Gruplar arası	2,17	3	0,72	,812	,513
	Gruplar içi	9,81	11	0,89		
	Toplam	11,99	14			
18:0	Gruplar arası	46,51	3	15,50	1,489	,267
	Gruplar içi	124,95	12	10,41		
	Toplam	171,46	15			
18:1N9	Gruplar arası	23,55	3	7,85	,787	,522
	Gruplar içi	129,67	13	9,97		
	Toplam	153,22	16			
18:2N6	Gruplar arası	33,54	3	11,18	1,225	,343
	Gruplar içi	109,57	12	9,13		
	Toplam	143,11	15			
20:4N6	Gruplar arası	101,18	3	33,73	3,849*	,039
	Gruplar içi	105,16	12	8,76		
	Toplam	206,34	15			
22:4N6	Gruplar arası	1,69	3	0,56	1,566	,253
	Gruplar içi	3,95	11	0,36		
	Toplam	5,63	14			
22:6N3	Gruplar arası	10,85	3	3,62	2,444	,114
	Gruplar içi	17,75	12	1,48		
	Toplam	28,61	15			

*p<.05 anlamlı

Tablo 9'daki akciğer dokusu yağ asitlerine ilişkin varyans analiz sonuçlarından görüldüğü gibi 20:4 dışındaki yağ asitlerinde istatistiksel fark gözlenmemiştir. 20:4 yağ asidinde farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla LSD t testi uygulanmıştır (Tablo 10). Tablo 10'dan görüldüğü gibi 20:4, kontrol grubuna göre UB grubunda önemli ölçüde artarken ($P<0,006$), HPO grubuna göre ise kısmen artmıştır ($P<0,04$).

Tablo 10. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Akciğer Dokusu 20:4N6 LSD t Testi Sonuçları

20:4N6			Gruplar				
N	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
4	7,59	2,42	K			*	
5	9,97	2,84	HPO			**	
4	14,48	3,36	UB	*	**		
3	11,65	3,27	HPO+UB				
P*.006 ** .042							

Tablo 11. Akciğer Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
14:0	Kontrol	4	1,53	0,1
	HPO	4	1,54	0,24
	UB	3	1,29	0,16
	HPO+UB	3	1,45	0,41
16:0	Kontrol	4	25,63	2,34
	HPO	5	27,13	1,03
	UB	5	28,75	2,42
	HPO+UB	3	27,13	0,67
16:1N9	Kontrol	4	3,42	0,77
	HPO	5	3,28	0,68
	UB	3	2,37	0,60
	HPO+UB	3	3,08	1,65
18:0	Kontrol	3	9,88	2,96
	HPO	5	9,86	1,25
	UB	5	13,75	4,88
	HPO+UB	3	11,07	1,70
18:1N9	Kontrol	4	20,94	1,72
	HPO	5	18,48	2,51
	UB	5	18,55	4,63
	HPO+UB	3	17,57	2,21
18:2N6	Kontrol	4	20,35	4,32
	HPO	5	18,38	2,91
	UB	4	17,29	1,48
	HPO+UB	3	16,24	2,58
20:4N6	Kontrol	4	7,59	2,42
	HPO	5	9,97	2,84
	UB	4	14,48	3,36
	HPO+UB	3	11,65	3,27
22:4N6	Kontrol	3	1,32	0,47
	HPO	5	1,83	0,52
	UB	4	2,30	0,49
	HPO+UB	3	1,74	0,92
22:6N3	Kontrol	4	3,01	1,31
	HPO	5	3,41	0,88
	UB	4	5,07	1,40
	HPO+UB	3	4,48	1,35

Tablo 12. Beyin Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
16:0	Gruplar arası	11,66	3	3,89	1,247	,326
	Gruplar içi	49,85	16	3,12		
	Toplam	61,51	19			
18:0	Gruplar arası	8,74	3	2,91	2,368	,112
	Gruplar içi	18,46	15	1,23		
	Toplam	27,20	18			
18:1N9	Gruplar arası	99,16	3	33,05	2,105	,140
	Gruplar içi	251,27	16	15,70		
	Toplam	350,43	19			
18:2N6	Gruplar arası	3,55	3	1,18	1,006	,416
	Gruplar içi	18,84	16	1,18		
	Toplam	22,40	19			
20:1N9	Gruplar arası	1,09	3	0,36	,451	,721
	Gruplar içi	12,06	15	0,80		
	Toplam	13,15	18			
20:4N6	Gruplar arası	4,45	3	1,48	,907	,460
	Gruplar içi	26,20	16	1,64		
	Toplam	30,66	19			
22:4N6	Gruplar arası	0,82	3	0,27	1,365	,294
	Gruplar içi	2,80	14	0,20		
	Toplam	3,61	17			
22:6N3	Gruplar arası	5,21	3	1,74	1,019	,410
	Gruplar içi	27,30	16	1,71		
	Toplam	32,52	19			
24:1N9	Gruplar arası	0,58	3	0,19	,276	,842
	Gruplar içi	6,37	9	0,71		
	Toplam	6,96	12			

Beyin dokusu yağ asitlerine ilişkin yapılan varyans analizler gruplar arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığını göstermektedir (Tablo 12).

Tablo 13. Beyin Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
16:0	Kontrol	5	18,14	1,18
	HPO	7	16,97	2,40
	UB	5	18,84	1,39
	HPO+UB	3	17,27	0,96
18:0	Kontrol	4	19,96	,046
	HPO	7	18,76	1,40
	UB	5	20,20	1,09
	HPO+UB	3	18,71	0,82
18:1N9	Kontrol	5	18,47	0,38
	HPO	7	18,89	1,59
	UB	5	18,42	1,00
	HPO+UB	3	12,42	10,76

Tablo 13'ün Devamı

18:2N6	Kontrol	5	3,79	1,51
	HPO	7	2,88	0,54
	UB	5	3,45	0,89
	HPO+UB	3	3,93	1,55
20:1N9	Kontrol	5	1,71	0,55
	HPO	7	2,31	1,30
	UB	4	2,03	0,37
	HPO+UB	3	2,20	0,39
20:4N6	Kontrol	5	10,43	1,12
	HPO	7	9,29	1,18
	UB	5	10,18	1,50
	HPO+UB	3	9,79	1,38
22:4N6	Kontrol	4	2,37	0,76
	HPO	6	2,79	0,25
	UB	5	2,85	0,41
	HPO+UB	3	2,41	0,23
22:6N3	Kontrol	5	15,09	1,26
	Kontrol	7	14,86	1,10
	HPO	5	15,79	1,67
	UB	3	16,21	1,12
24:1N9	HPO+UB	3	2,17	1,34
	Kontrol	4	2,45	0,81
	HPO	3	2,05	0,29
	UB	3	2,60	0,56

Tablo 14. Dalak Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
16:0	Gruplar arası	0,89	3	0,29	,277	,841
	Gruplar içi	13,84	13	1,06		
	Toplam	14,73	16			
16:1N9	Gruplar arası	3,13	3	1,04	2,025	,164
	Gruplar içi	6,19	12	0,52		
	Toplam	9,32	15			
18:0	Gruplar arası	33,47	3	11,16	2,619	,095
	Gruplar içi	55,38	13	4,26		
	Toplam	88,84	16			
18:1N9	Gruplar arası	62,50	3	20,83	4,859*	,022
	Gruplar içi	47,16	11	4,29		
	Toplam	109,66	14			
18:2N6	Gruplar arası	45,93	3	15,31	2,801	,085
	Gruplar içi	65,60	12	5,47		
	Toplam	111,53	15			
20:4N6	Gruplar arası	82,89	3	27,6	3,081	,065
	Gruplar içi	116,57	13	8,97		
	Toplam	199,46	16			
22:4N6	Gruplar arası	2,83	3	0,94	2,425	,112
	Gruplar içi	5,05	13	0,39		

Tablo 14'ün Devamı

	Toplam	7,88	16			
22:5N3	Gruplar arası	0,45	3	0,15	1,830	,191
	Gruplar içi	1,06	13	0,08		
	Toplam	1,51	16			
22:6N3	Gruplar arası	9,60	3	3,20	1,921	,180
	Gruplar içi	19,98	12	1,66		
	Toplam	29,58	15			

*p<.05 anlamlı

Dalak dokusu yağ asitlerine ilişkin yapılan varyans analizler 18:1 dışındaki yağ asilerinde istatistiksel fark gözlenmemiştir (Tablo 14). 18:1 yağ asidinde farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirtmek için LSD t testi uygulanmıştır (Tablo15). 18:1 yağ asidinin miktarı K, HPO ve HPO+UB grupları arasında istatistiksel fark gözlenmezken bu gruplara göre UB. grubunda kısmen azalma gözlenmiştir.

Tablo 15. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Dalak Dokusu 18:1N9 LSD t Testi Sonuçları

18:1N9			Gruplar				
N	$\bar{X}$	Ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	13,89	2,26	K			*	
6	15,67	2,10	HPO			**	
2	9,43	0,66	UB	*	**		
2	12,50	2,04	HPO+UB				
P*.026 **004							

Tablo 16. Dalağa İlişkin Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
16:0	Kontrol	5	22,76	0,94
	HPO	7	23,30	0,98
	UB	3	23,02	1,25
	HPO+UB	2	22,96	1,21
16:1N9	Kontrol	5	2,01	0,58
	HPO	7	2,23	0,85
	UB	2	0,87	0,05
	HPO+UB	2	1,60	0,71
18:0	Kontrol	5	13,65	2,00
	HPO	7	12,53	2,48
	UB	3	16,29	0,81
	HPO+UB	2	15,11	1,03
18:1N9	Kontrol	5	13,89	2,26
	HPO	6	15,67	2,10
	UB	2	9,44	0,66
	HPO+UB	2	12,50	2,04
18:2N6	Kontrol	4	16,70	2,63
	HPO	7	16,89	2,64
	UB	3	12,91	0,95
	HPO+UB	2	13,62	1,16
20:4N6	Kontrol	5	17,13	2,48
	HPO	7	15,84	3,78

Tablo 16'nın Devamı

	UB	3	21,94	0,76
	HPO+UB	2	18,94	2,31
22:4N6	Kontrol	5	1,46	0,83
	HPO	7	1,96	0,51
	UB	3	2,67	0,59
	HPO+UB	2	2,14	0,18
22:5N3	Kontrol	5	1,26	0,27
	HPO	7	1,42	0,35
	UB	3	1,74	0,12
	HPO+UB	2	1,48	0,09
22:6N3	Kontrol	4	5,08	0,64
	HPO	7	4,24	1,45
	UB	3	5,51	1,05
	HPO+UB	2	6,55	1,98

Tablo 17. Göz Dokusu Yağ asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
16:0	Gruplar arası	34,53	3	11,51	3,206	,066
	Gruplar içi	39,49	11	3,59		
	Toplam	74,02	14			
18:0	Gruplar arası	47,27	3	15,76	1,127	,380
	Gruplar içi	153,76	11	13,98		
	Toplam	201,04	14			
18:1N9	Gruplar arası	5,30	3	1,77	,237	,869
	Gruplar içi	67,18	9	7,46		
	Toplam	72,48	12			
18:2N6	Gruplar arası	40,17	3	13,39	2,210	,144
	Gruplar içi	66,65	11	6,06		
	Toplam	106,82	14			
20:4N6	Gruplar arası	28,92	3	9,64	2,235	,137
	Gruplar içi	51,77	12	4,31		
	Toplam	80,69	15			
22:6N3	Gruplar arası	20,58	3	6,86	1,453	,285
	Gruplar içi	47,20	10	4,72		
	Toplam	67,78	13			

Tablo 18. Göz Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
16:0	Kontrol	2	23,82	2,99
	HPO	6	24,26	2,40
	UB	5	24,95	0,66
	HPO+UB	2	20,15	0,32
18:0	Kontrol	2	12,60	3,90
	HPO	6	14,45	3,36
	UB	5	13,24	4,50
	HPO+UB	2	8,88	1,04
18:1N9	Kontrol	2	19,13	0,52

Tablo 18'in Devamı

	HPO	5	19,46	3,49
	UB	4	20,24	1,40
	HPO+UB	2	18,31	3,51
18:2N6	Kontrol	2	17,73	1,85
	HPO	6	21,12	3,09
	UB	5	20,35	1,77
	HPO+UB	2	16,67	1,73
20:4N6	Kontrol	2	13,71	5,32
	HPO	7	12,32	1,53
	UB	5	9,82	1,01
	HPO+UB	2	11,05	2,30
22:6N3	Kontrol	2	8,67	2,31
	HPO	5	8,98	2,45
	UB	5	8,24	1,67
	HPO+UB	2	5,28	2,58

Göz dokusu yağ asitlerine ilişkin yapılan varyans analizler sonucunda gruplar arasında farklılık olmadığı görüldü (Tablo 17).

Tablo 19. Kalp Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
16:0	Gruplar arası	18,11	3	6,04	,984	,433
	Gruplar içi	73,60	12	6,13		
	Toplam	91,71	15			
16:1N9	Gruplar arası	3,04	3	1,01	1,268	,333
	Gruplar içi	8,80	11	0,80		
	Toplam	11,84	14			
18:0	Gruplar arası	10,40	3	3,47	1,110	,383
	Gruplar içi	37,46	12	3,12		
	Toplam	47,86	15			
18:1N9	Gruplar arası	5,34	3	1,78	,197	,896
	Gruplar içi	99,19	11	9,01		
	Toplam	104,53	14			
18:2N6	Gruplar arası	28,21	3	9,40	1,783	,204
	Gruplar içi	63,30	12	5,28		
	Toplam	91,51	15			
20:4N6	Gruplar arası	22,88	3	7,63	,947	,449
	Gruplar içi	96,62	12	8,05		
	Toplam	119,50	15			
22:5N3	Gruplar arası	0,16	3	0,05	,788	,534
	Gruplar içi	0,53		0,07		
	Toplam	0,69	11			
22:6N3	Gruplar arası	32,13	3	10,71	2,269	,133
	Gruplar içi	56,63	12	4,72		
	Toplam	88,76	15			

Tablo 19’da görüldüğü gibi kalp dokusu yağ asitlerinin varyans analiz sonucunda gruplar arasında istatistiksel bir farkın olmadığı bulundu.

Tablo 20. Kalp Dokusuna İlişkin Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	ss
16:0	Kontrol	4	16,28	2,07
	HPO	6	18,15	2,84
	UB	4	16,62	2,08
	HPO+UB	2	15,05	2,71
16:1N9	Kontrol	4	1,67	0,64
	HPO	6	2,38	1,18
	UB	3	1,31	0,48
	HPO+UB	2	1,41	0,43
18:0	Kontrol	4	14,85	1,62
	HPO	6	13,31	1,78
	UB	4	15,19	2,12
	HPO+UB	2	13,97	0,31
18:1N9	Kontrol	4	12,73	3,39
	HPO	5	12,61	2,01
	UB	4	12,47	4,01
	HPO+UB	2	10,87	0,58
18:2N6	Kontrol	4	24,80	0,76
	HPO	6	23,83	2,15
	UB	4	22,96	1,95
	HPO+UB	2	20,36	5,19
20:4N6	Kontrol	4	14,62	2,77
	HPO	6	12,18	2,70
	UB	4	14,50	3,08
	HPO+UB	2	14,96	2,96
22:5N3	Kontrol	3	0,95	0,12
	HPO	4	1,07	0,30
	UB	3	1,25	0,33
	HPO+UB	2	0,99	0,11
22:6N3	Kontrol	4	8,85	1,30
	HPO	6	8,74	1,87
	UB	4	11,57	3,18
	HPO+UB	2	11,96	1,93

Tablo 21. Karaciğer Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
16:0	Gruplar arası	28,43	3	9,48	3,617*	,036
	Gruplar içi	41,92	16	2,62		
	Toplam	70,35	19			
16:1N9	Gruplar arası	2,18	3	0,73	2,732	,090
	Gruplar içi	3,19	12	0,27		
	Toplam	5,36	15			
18:0	Gruplar arası	42,81	3	14,27	3,583*	,037

Tablo 21'in Devamı

	Gruplar içi	63,73	16	3,98		
	Toplam	106,54	19			
18:1N9	Gruplar arası	31,48	3	10,49	4,486*	,021
	Gruplar içi	32,75	14	2,34		
	Toplam	64,23	17			
18:2N6	Gruplar arası	8,32	3	2,77	1,346	,297
	Gruplar içi	30,90	15	2,06		
	Toplam	39,22	18			
20:3N6	Gruplar arası	0,06	3	0,02	,811	,509
	Gruplar içi	0,33	14	0,02		
	Toplam	0,39	17			
20:4N6	Gruplar arası	37,11	3	12,37	3,333	,050
	Gruplar içi	51,95	14	3,71		
	Toplam	89,06	17			
22:5N3	Gruplar arası	0,06	3	0,02	,584	,637
	Gruplar içi	0,38	12	0,03		
	Toplam	0,44	15			
22:6N3	Gruplar arası	28,49	3	9,50	2,192	,131
	Gruplar içi	64,99	15	4,33		
	Toplam	93,48	18			

*p<.05 anlamlı

Karaciğer dokusu yağ asitlerine ilişkin yapılan varyans analizler sonucunda 16:0, 18:0 ve 18:1 yağ asitlerinde istatistiksel fark gözlenmiştir (Tablo 21). Bu yağ asitlerinde farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirtmek için LSD t testi uygulanmıştır (Tablo 22).

Tablo 22. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Karaciğer Dokusu 16:0, 18:0, 18:1N9 LSD t testi Sonuçları

16:0			Gruplar				
N	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	21,3	1,82	K		*	**	***
7	18,6	1,47	HPO	*			
5	18,8	1,49	UB	**			
3	18,2	1,83	HPO+UB	***			
P*.012 ** .024 ***.019							
18:0			Gruplar				
N	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	15,84	1,04	K			*	**
7	18,01	1,69	HPO				
5	19,68	3,19	UB	*			
3	19,35	0,76	HPO+UB	**			
P*.008 ** .028							
18:1N9			Gruplar				
N	$\bar{X}$	ss	Gruplar	K	HPO	UB	HPO+UB
5	11,86	1,45	K		*	**	***
6	9,35	1,72	HPO	*			
4	9,32	1,71	UB	**			

Tablo 22'nin Devamı							
3	8,14	0,62	HPO+UB	****			
P*.017	**027	***.005					

16:0 yağ asidi en yüksek oranda kontrol grubunda bulunurken en düşük oranda HPO+UB grubunda bulunmuştur. HPO ve UB grupları arasında istatistiksel fark gözlenmezken bu gruplarda kontrol grubuna göre kısmen azalma olmuştur (Tablo 22). 18:0 yağ asidi oranı kontrol ve HPO grupları arasında istatistiksel fark gözlenmezken, kontrol grubuna göre UB ve HPO+UB gruplarında artışlar meydana gelmiştir ($P<0,008$, $P<0,028$). 18:1 yağ asidi ise en yüksek oranda kontrol grubunda, en düşük oranda da HPO+UB grubunda bulunmuştur. HPO ve UB grupları arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir.

Tablo 23. Karaciğer Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
16:0	Kontrol	5	21,33	1,82
	HPO	7	18,63	1,47
	UB	5	18,78	1,50
	HPO+UB	3	18,23	1,84
16:1N9	Kontrol	4	1,72	0,73
	HPO	6	1,17	0,51
	UB	3	0,77	0,30
	HPO+UB	3	0,77	0,21
18:0	Kontrol	5	15,84	1,04
	HPO	7	18,02	1,70
	UB	5	19,68	3,20
	HPO+UB	3	19,35	0,76
18:1N9	Kontrol	5	11,86	1,45
	HPO	6	9,35	1,72
	UB	4	9,32	1,71
	HPO+UB	3	8,14	0,62
18:2N6	Kontrol	5	18,56	1,55
	HPO	7	18,29	1,65
	UB	4	18,12	1,17
	HPO+UB	3	16,57	0,62
20:3N6	Kontrol	4	0,86	0,12
	HPO	7	0,99	0,14
	UB	4	0,88	0,23
	HPO+UB	3	0,95	0,06
20:4N6	Kontrol	5	17,18	1,44
	HPO	6	20,39	2,40
	UB	4	20,40	1,53
	HPO+UB	3	20,36	1,98
22:5N3	Kontrol	3	0,78	0,1
	HPO	6	0,90	0,23
	UB	4	0,83	0,08
	HPO+UB	3	0,75	0,20
22:6N3	Kontrol	5	6,99	1,00

Tablo 23'ün Devamı

	HPO	6	7,04	1,71
	UB	5	9,60	3,12
	HPO+UB	3	9,31	1,90

Tablo 24. Böbrek Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
16:0	Gruplar arası	24,25	3	8,09	4,545*	,017
	Gruplar içi	28,45	16	1,78		
	Toplam	52,70	19			
16:1N9	Gruplar arası	4,41	3	1,47	2,055	,149
	Gruplar içi	10,73	15	0,72		
	Toplam	15,14	18			
18:0	Gruplar arası	7,42	3	2,47	,384	,766
	Gruplar içi	103,20	16	6,45		
	Toplam	110,62	19			
18:1N9	Gruplar arası	12,51	3	4,17	,415	,745
	Gruplar içi	150,78	15	10,05		
	Toplam	163,29	18			
18:2N6	Gruplar arası	78,07	3	26,02	2,280	,121
	Gruplar içi	171,23	15	11,42		
	Toplam	249,30	18			
20:3N6	Gruplar arası	0,12	3	0,04	1,351	,313
	Gruplar içi	0,30	10	0,03		
	Toplam	0,42	13			
20:4N6	Gruplar arası	16,72	3	5,57	,276	,842
	Gruplar içi	322,89	16	20,18		
	Toplam	339,60	19			
22:6N3	Gruplar arası	7,00	3	2,34	1,692	,209
	Gruplar içi	22,08	16	1,38		
	Toplam	29,08	19			

*p<.05 anlamlı

Böbrek dokusu yağ asitlerine ilişkin yapılan varyans analizler 16:0 dışındaki yağ asitlerinde istatistiksel bir fark gözlenmemiştir (Tablo 24). 16:0 yağ asidinde farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla LSD t testi uygulanmıştır (Tablo 25). 16:0 yağ asidinin oranı kontrol ve HPO grupları arasında istatistiksel fark gözlenmezken bu gruplara göre UB grubunda önemli ölçüde azalma olmuştur ($P<0,006$). Kontrol grubuna göre HPO+UB grubunda ise kısmen azalma olmuştur ($P<0,026$).

Tablo 25. Gruplar Arasındaki Farklılıklara İlişkin Böbrek Dokusu 16:0 LSD t testi Sonuçları

16:0			Gruplar	Gruplar			
N	$\bar{X}$	ss		K	HPO	UB	HPO+UB

Tablo 25'in Devamı							
5	21,43	1,44	K			*	**
7	20,80	1,39	HPO			***	
5	18,78	1,40	UB	*	***		
3	19,05	0,59	HPO+UB	**			
P*.006 **026 ***019							

Tablo 26. Böbrek Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
16:0	Kontrol	5	21,43	1,44
	HPO	7	20,80	1,39
	UB	5	18,78	1,40
	HPO+UB	3	19,05	0,59
16:1N9	Kontrol	5	2,66	1,29
	HPO	7	2,30	0,78
	UB	4	1,44	0,22
	HPO+UB	3	1,57	0,36
18:0	Kontrol	5	12,78	2,83
	HPO	7	13,04	1,98
	UB	5	12,67	2,69
	HPO+UB	3	11,20	3,05
18:1N9	Kontrol	5	15,81	3,44
	HPO	6	15,05	2,72
	UB	5	16,69	3,90
	HPO+UB	3	14,37	1,69
18:2N6	Kontrol	4	19,36	2,13
	HPO	7	18,07	1,92
	UB	5	22,94	5,82
	HPO+UB	3	18,21	0,35
20:3N6	Kontrol	3	0,64	0,34
	HPO	6	0,64	0,06
	UB	2	0,91	0,1
	HPO+UB	3	0,73	0,13
20:4N6	Kontrol	5	17,32	5,55
	HPO	7	18,00	4,00
	UB	5	17,00	5,00
	HPO+UB	3	19,81	1,33
22:6N3	Kontrol	5	4,58	1,44
	HPO	7	5,61	1,05
	UB	5	5,74	1,33
	HPO+UB	3	6,40	0,30

Tablo 27. Kas Dokusu Yağ Asitleri Varyans Analiz Sonuçları

		Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık Düzeyi
14:0	Gruplar arası	0,28	2	0,14	,645	,558
	Gruplar içi	1,32	6	0,22		
	Toplam	1,60	8			

Tablo 27'nin Devamı

16:0	Gruplar arası	7,82	2	3,91	,860	,452
	Gruplar içi	45,42	10	4,54		
	Toplam	53,23	12			
16:1N9	Gruplar arası	2,45	2	1,23	1,066	,381
	Gruplar içi	11,50	10	1,15		
	Toplam	13,95	12			
18:0	Gruplar arası	1,50	2	0,75	,074	,930
	Gruplar içi	101,86	10	10,19		
	Toplam	103,36	12			
18:1N9	Gruplar arası	1,50	2	0,75	,037	,964
	Gruplar içi	203,14	10	20,31		
	Toplam	204,64	12			
18:1N7	Gruplar arası	1,67	2	0,83	,684	,555
	Gruplar içi	4,87	4	1,22		
	Toplam	6,53	6			
18:2N6	Gruplar arası	12,60	2	6,30	,397	,687
	Gruplar içi	111,10	7	15,87		
	Toplam	123,70	9			
18:3N3	Gruplar arası	0,98	2	0,49	1,981	,208
	Gruplar içi	1,74	7	0,25		
	Toplam	2,72	9			
20:4N6	Gruplar arası	9,14	2	4,57	,553	,594
	Gruplar içi	74,40	9	8,27		
	Toplam	83,54	11			
22:6N3	Gruplar arası	16,26	2	8,13	,506	,618
	Gruplar içi	160,77	10	16,08		
	Toplam	177,03	12			

Kas dokusu yağ asitlerine ilişkin yapılan varyans analizler gruplar arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığını göstermektedir (Tablo 27).

Tablo 28. Kas Dokusu Yağ Asitleri Aritmetik Ortalama ve Standart Sapma (%)

		N	$\bar{X}$	S
14:0	Kontrol	2	1,51	0,22
	HPO	4	1,20	0,36
	UB	3	1,02	0,66
16:0	Kontrol	3	20,57	3,15
	HPO	5	22,02	1,09
	UB	5	20,35	2,28
16:1N9	Kontrol	3	2,87	0,52
	HPO	4	3,02	0,65
	UB	6	2,09	1,39
18:0	Kontrol	3	8,21	1,79
	HPO	4	9,15	1,91
	UB	6	8,78	4,11
18:1N9	Kontrol	3	21,05	3,29
	HPO	4	20,34	2,90

Tablo 28'in Devamı

	UB	6	21,08	5,59
18:1N7	Kontrol	2	0,59	0,22
	HPO	2	1,88	1,62
	UB	3	1,20	1,05
18:2N6	Kontrol	2	23,05	4,67
	HPO	4	25,74	2,39
	UB	4	25,94	4,90
18:3N3	Kontrol	3	1,73	0,86
	HPO	3	1,11	0,20
	UB	4	1,01	0,25
20:4N6	Kontrol	2	4,15	1,13
	HPO	4	6,58	1,58
	UB	6	6,43	3,62
22:6N3	Kontrol	2	4,00	0,13
	HPO	5	7,15	2,10
	UB	6	7,05	5,35

5. TARTIŞMA

Serbest radikaller yaşayan hücreler tarafından sürekli olarak üretilen ve bir çok fizyolojik ve patolojik etkileri olan maddelerdir [22, 23]. Bir hücre organeli olan mitokondride solunum zinciri tarafından sürekli serbest radikal üretildiğinden bu organel reaktif oksijen türlerinden daha çabuk etkilenir [24]. Hücrelerin kullandığı oksijenin %85'inden daha fazlasını mitokondriyel elektron transfer sistemi tüketmektedir. Mitokondri tarafından tüketilen oksijenin tahminen %1-5 kadarı fizyolojik şartlarda, süperoksit, hidrojen peroksit ve diğer reaktif oksijen türlerine dönüşmektedir [25]. Hidroksil radikalının kaynağı olan hidrojen peroksit membranlardan geçebilen uzun ömürlü bir radikaldır [26]. Tablo 2'den görüldüğü gibi H_2O_2 verilen grupta, serum trigliserid düzeyinde azalma olması, H_2O_2 'nin trigliseridleri oksidasyona uğratarak bu etkiyi yaptığını düşündürmektedir. Benzer sonuçlar Akciğer dokusundaki total kolesterol ve karaciğer dokusu total lipid miktarlarında da görülmektedir (Tablo 4 ve Tablo 7). Bu dokularda H_2O_2 , dokulardaki lipid ve kolesterol sentezini engelleyerek veya sentezlenen molekülleri oksidasyona uğratarak miktarlarını düşürdüğünü akla getirmektedir. İstatistiksel fark gözlenmemekle birlikte aritmetik ortalamalara bakıldığında H_2O_2 verilen gruplarda kontrol grubuna göre dalak, kas, kalp ve göz dokularında total lipid miktarlarında azalma görülmektedir. Lloyd ve ark. [30] hidrojen peroksit toksisitesinin DNA'nın bir bölümündeki özel kısımları hasara uğratarak ortaya çıktığını ileri sürmüşlerdir. İn vitro ortamda kromatin ile yapılan çalışmalarda DNA'ya hasar veren başlıca reaktif oksijen türünün H_2O_2 'den oluşan hidroksil radikali olduğu iddia edilmiştir [28].

Ubikinon-10 (koenzim Q 10, ubikinon 50)'un mitokondrideki solunum zincirinde bir elektron taşıyıcısı olarak hareket ettiği çok iyi bilinen bir husustur. Yapılan çalışmalarda Ubikinon-10 ve kısmen de Ubikinon-10'un indirgenmiş bir şekli olan Ubikinol-10'un lipidlere zarar veren peroksidasyonu önlemede önemli bir antioksidan olduğu belirtilmektedir [29, 30]. Yaptığımız çalışmada 5 hafta boyunca gün aşırı 8 mg ubikinon-10 verilmesiyle serum, dalak, akciğer, karaciğer, beyin, kas, böbrek, kalp, göz ve testis dokularındaki total kolesterol miktarlarında kontrol grubuna göre değişiklik olmadığı görülmüştür (Tablo 2). Mortensen ve ark. [33] 55 kişiden oluşan yüksek kolesterolü hastalara çeşitli dozlarda koenzim Q vererek serumdaki kolesterol düzeylerini ölçtükleri çalışmalarında, serumdaki koenzim Q miktarının kolesterol miktarıyla orantılı olduğunu bulmuşlardır. Bir başka araştırma grubu ise 17 tane genç ve sağlıklı erkek üzerinde yaptıkları çalışmada 11 ve 20 gün boyunca 120 mg/gün koenzim Q vererek koenzim Q / total kolesterol oranını tayin etmişler ve bu oranın plazmada önemli ölçüde arttığını bulurken iskelet kasında ve iskelet kası mitokondrisinde ise önemli bir değişikliğe uğramadığını bulmuşlardır [32, 33, 34]. Tablo 2'den görüldüğü gibi serum trigliserid miktarında

da total kolesterolda olduğu gibi ubikinon verilen grupla kontrol grubu arasında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Okamoto ve ark. [35] yaptıkları çalışmada 7 gün süreyle günlük 60 mg ubikinon verilen kişilerde serum ubikinon miktarının iki kat arttığını fakat trigliserid miktarının değişmediğini bildirmişlerdir. Kaikkonen ve ark. [32] ise serum trigliserid miktarının plazma koenzim Q miktarıyla orantılı olduğunu bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada serum LDL ve VLDL miktarları UB gruplarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (Tablo 2). Koenzim Q, kolesterol' ün LDL+VLDL fraksiyonlarında paketlenen bir antioksidandır [33]. Raitakari ve ark. [36] diyetetik koenzim Q verilmesinin LDL içindeki koenzim Q seviyesini artırdığını ve böylece oksidasyona karşı LDL' nin direncini artırdığını iddia etmişlerdir. Aejmelaeus ve ark. [37] günlük 100 mg koenzim Q verdikleri sağlıklı ve yetişkin kişilerde LDL-ubikinon değişiminin önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır. Araştırmacılar koenzim Q ile beslenme sonucunda LDL moleküllerinin içindeki koenzim Q içeriğinin arttığını ve böylece LDL oksidasyonunun engellendiğini gözlemişlerdir. Bir başka araştırma grubu VLDL'nin radikal lipid peroksidasyon kinetiğinin LDL'ye benzediğini ve sonuç olarak etkili LDL antioksidanlarının VLDL içinde etkili koruyucu ajanlar olduğunu iddia etmişlerdir [38].

Literatürdeki veriler dikkate alınarak çalışmamızda, ubikinon verilen gruplarda LDL ve VLDL'nin artmasının bu grupların oksidasyona karşı ubikinon tarafından korunduğuna yorumlanabilir. LDL'nin oksidatif değişimi damar tıkanıklığının en erken neticeleriyle ilgili olduğundan dolayı dikkat çekmektedir [38]. Oksidatif teori tarafından açıklanan damar tıkanıklığının gelişmesinde koenzim Q' nun bir anti risk faktörü olduğu düşünülmektedir [31].

Yağ asit oranları ele alındığında, akciğer dokusu yağ asitlerinden araşidonik asit (20:4) dışında diğer yağ asitleri arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 9). Reaven ve ark. [39] doymuş yağ asitlerinin serbest radikal hücumuna daha dirençli olduğunu ifade etmişlerdir. Hidrojen peroksit ya doğrudan hücreye hücum ederek ya da hidroksil radikali gibi ikincil reaktif türlere dönüşerek moleküler seviyede toksik etki göstermektedir [28]. Doymamış yağ asitleri ve özellikle aşırı doymamış yağ asitleri serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı hedef teşkil ederler [1]. Yaptığımız çalışmada aşırı doymamış yağ asitlerinden olan 20:4, H_2O_2 grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark gözlenmezken ubikinon grubunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır ($P < 0,006$). Kombinasyon grubunda ise H_2O_2 ' nin radikal etkisinden dolayı ubikinon grubuna göre 20:4 kısmen azalmıştır (Tablo 9). Bu sonuç yağda çözünen bir antioksidan olan ubikinonun prostaglandinlerin sentezinde çıkış maddesi olan 20:4 yağ asidini koruduğunun delili sayılabilir.

Dalak dokusu yağ asitlerinden oleik asit (18:1) dışında yağ asitleri arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 14). HPO ve HPO+UB grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel fark gözlenmezken UB grubunda azalma olmuştur ($P<0,026$). Yine karaciğer dokusunda da 18:1 düzeyi, kontrol grubuna göre ubikinon grubunda azalma gösterirken ($P<0,017$), 18:0 yağ asidi düzeyinde ise artma gözlenmiştir ($P<0,008$). İstatistiksel fark gözlenmemekle birlikte aritmetik ortalamalara bakıldığında dalak dokusu 18:0 yağ asidinin kontrol grubuna göre UB grubunda arttığı görülmektedir. Bu sonuçlar 18:0 yağ asidinden 18:1 yağ asidinin sentezini gerçekleştiren stearoil-CoA desaturaz (SCD) enzimini akla getirmektedir. Stearoil-CoA desaturaz doymuş yağ asitlerinden tek çift bağ içeren yağ asitlerinin sentezini katalizleyen bir endoplazmik retikulum enzimidir [40]. SCD salınımı da, membran fosfolipidleri, trigliserit ve kolesterol esterlerinin oluşumunu etkileyip, membran akışkanlığı, lipid metabolizması ve şişmanlıkla ilgili bazı değişiklikler meydana getirir [41]. Muhtemelen ubikinon bu enzimi inhibe ederek 18:1 yağ asidi sentezini azaltmakta ve bunun sonucu olarak da ortamda 18:0 yağ asidi birikmektedir. Şişmanlık; yüksek tansiyon, diyabet, koroner kalp hastalıkları ve kalp yetmezliği gibi önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır. SCD ise vücut ağırlığının düzenlenmesinde kontrol noktasında bulunan bir enzimdir [40]. SCD, tek çift bağlı yağ asitlerinin sentezini sağlar. Bu yağ asitleri trigliseridlerin, kolesterol esterlerinin ve fosfolipidlerin en bol bulunan bileşenidir. Ubikinon verilen grupta kilo artışının da gözlenmemiş olması bize Ubikinon' un tek çift bağlı yağ asitlerinin sentezini ve sonuç olarak lipid sentezini engelleyerek zayıflatıcı etki gösterdiğini düşündürmektedir. Sonuçlarımızdan, dokulardaki total lipid miktarları da bu tezimizi güçlendirmektedir.

Karaciğer dokusunda K grubuna göre UB grubunda total lipid miktarı önemli ölçüde azalmıştır ($P<0,0001$). İstatistiksel fark gözlenmemekle birlikte aritmetik ortalamalar dikkate alındığında K grubuna göre UB grubunda total lipid miktarları dalak, akciğer, beyin, kas, kalp ve göz dokularında da azalmıştır.

Eskimolarda iskemik kalp hastalıklarının düşük olması kısmen n-6/ n-3 aşırı doymamış yağ asitlerinin düşük olmasına ve damar tıkanıklığının az olmasına bağlanmaktadır. Ayrıca Eskimoların kadın ve erkeklerinde koenzim Q seviyesi Danimarkalılarına göre oldukça yüksek bulunmuştur [42].

Sonuç olarak, ubikinon ve radikalik etkiye sahip H_2O_2 verdiğimiz sıçanlarda ubikinon verilen gruplarda LDL ve VLDL miktarlarının yüksek olması bu moleküllerin oksidasyonunun ubikinon tarafından engellendiğini ve böylece damar tıkanıklığına karşı damarları koruduğunu söyleyebiliriz. Aynı zamanda ubikinon' un Stearoil-CoA desaturaz enziminin aktivitesini azalttığını ve buna bağlı olarak 18:1 yağ asidi sentezinin azalıp kilo artışını engellediğini ileri

sürebiliriz. Ubikinon' un yağ asitlerine ve diğer moleküllere etkisini daha detaylı olarak gözlemleyebilmek için doza bağlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

1. Douillet, C. and et al (1993), High dosage vitamin E effect on oxidative status and serum lipids distribution in streptozotocin- induced diabetic rats. *Biochem. Med and Met. Biol.*, 50: 265-276.
2. Halliwell, B. and Chirico S., 1993, Lipid Peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J. Clin Nutr.* 57 (Suppl) 155-255 .
3. Pryor, W. A., 1986, Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes and Reactions. *Annu Rev Physiol.* 48: 657- 667.
4. Zwart, L. L., Meerman, J. H. N., Commandeur J N M and Vermeulen N P E.,1999, Biomarkers of Free Radical Damage Applications in Experimental Animals and in Humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 202-226.
5. Cheeseman, K.H., Slater, T.F.,1993, An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin.* 49: 481- 493 .
6. Freeman, B. A, Crapo, J. D., 1982, Biology of Disease, Free Radicals and Tissue Injury. *Lab. Invest.* 47: 412-426.
7. Machlin, L. J. and Bendich, A., 1987, Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.*, 1: 441- 445.
8. Whitaker, J., 1994, July, Coenzyme Q10: new hope for cancer. *Health & Healing* 4(7):1-2.
9. www.health-pages.com/cgi-local/mailinfo.PL?CoEnzymeQ10.
10. Fetrow, C.W., Avila, J.R., 1999, Professional's handbook of complementary and alternative medicines. Springhouse, Pennsylvania: Springhouse Corporation :178-80.
11. Harman, D., 1969, Prolongation of life: role of free radical reactions in aging. *J Am Geriatr Soc.* Aug; 17(8): 721-35.
12. Harman, D., 1981, The aging process. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Nov. 78(11): 7124-8.
13. Bliznakov, E., 1999, Aging, mitochondria, and coenzyme Q10: The neglected relationship. *Biochimie*, 81:1131-1132.
14. Linnane, A.W., Kovalenko, S., Gingold, E.B., 1998, The universality of bioenergetic disease: age associated cellular bioenergetic degradation and amelioration therapy. *Ann NY Acad Sci*, 854: 202-213.
15. Linnane, A.W., Marzuki, S., Ozawa, T., Tandka, M., 1989, Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to aging and degenerative diseases. *Lancet*, 25: 642-645.
16. Littarru, G.P., 1995, Energy and Defense. Roma, Casa Editrice Scientifica Internazionale. 91. ISBN 88-86062-24-9.

17. Hara A., Radin N.S. 1978 Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent. *Analitical Biochemistry* 90 (1): 420-426.
18. Frings, C. S., Frendly, T. W., Dunn, R. T. Queen, C. R., 1972, Improved determination of total serum lipids the sulfo- phosphovanilin reaction. *Clin Chem.* 18, 673-674.
19. El-Sayed, M. M., Ezzat, K., Kandeel, M., Shaban, F.A., 1984, Biochemical studies on the lipid content of *Tilapia nilotica* an *Sparatus auratus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 4: 589-594.
20. Yılmaz, Ö., Çelik, S., Çay, M., Nazıroğlu, M., 1997, Protective role of intraperitoneally administered vitamin E and selenium on the levels of total lipid, total cholesterol and fatty acid composition of muscle and liver tissues in rats. *J. Cell Biochem*, 64 (2), 233-241.
21. Chistie, W.W., 1992, *Gas Chromatography and lipids*. p.p.302, The Oil Pres, Glaskow :996-1002.
22. Darr, D.; Fridovich, i., 1994, Free Radical in Cutaneous Biology. *J. Invest. Dermatol.* 102: 671- 675.
23. Yaar, M., Gilchrest, B.A., 1990, Celluar and Molecular Mechanism of Cutaneous Ageing. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 16: 915- 922.
24. Turrens, J.F., 1997, Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Biose. Rep.* 17: 3- 8.
25. Shigenaga, M. K., Hagen, T.M., Ames, B. N. 1994, Oxidative damage and mitochondrial decay in ageing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 10771- 10778.
26. Guemouri, L., Lves, A., Herbert, B., 1991, Biological Variability of SOD, GSH- Px and in CAT in Blood, *clin. Chem.*, 37/ 11, 1932- 1937.
27. Lloyd, R. V., Hand, P.M. ND Mason, R.P., 1997. The Origin of the Hydroxyl Radical Oxigen in the Fenton Reaction. *Free Radical Medicine*, 22: (5) 885- 888.
28. Brenneisen, P., Briviba, K., Wlaschek, M., Wenk, J. and Kochanek, K. S. , 1997, Hydrogen Peroxide Increases the Steadystate mRNA Levels of Collogenase/ MMP- 1 in Human Demal Fibroblasts. *Free Radical and Medicine*, 22: 131, 515- 524.
29. Ernster, L., Dallner, G., 1995, Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone fuction. *Biochem Biophys Acta.* 24; 1271 (1) : 195- 204.
30. Frei, B., Kim, M. C., Ames, B. N., 1990, Ubiquinol- 10 is an effective lipid- soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87 (12) : 4879- 83.
31. Mortensen, S. A., Leth, A., Agner, E., rohde, M., 1997, Dose- related decrease of serum coenzyme Q-10 during treatment with HMG- CoA reductase inhibitors. *Mol Aspects Med.* 18 Suppl: 137- 144.

32. Kaikkonen, J., Tuomainen, T.P., Nyyssonen, K., Salonen, J. T., 2002, Coenzym Q- 10: absorbtion, antioxidative properties, determinants and plasma levels. *Free Radic. Res.* 36 (4): 389- 397.
33. Laaksonen, R., Ojala, J.P., Tikkanen, M. J., Himberg, J.J., 1994, Serum ubiquinone concentrations after short- and long term treatment with HMG – CoA reductase inhibitors. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 46 (4): 313- 317.
34. Svensson, M., Malm, C., Tonkonogi M., Ekblom, B., Sjodin, B., Sahlin, K., 1999. Effect of Q10 supplementation on tissue Q10 levels and adenine nucleotide catabolism during high- intensity exercise. *Int. J. Sport Nutr.* 9 (2): 166- 180.
35. Okamoto, T., Matsuya, T., Fukunaga, Y., Kishi, t., Yamagami, T., 1989, Human serum ubiquinol-10 level and relationship to serum lipids. *Int. J. Vitam. Nutr Res.* 59 (3) : 288- 292.
36. Raitakari, O.T., Mc Credie R. J., Witting, P. Griffiths, K. A., Letters, J., Sullivan, D., Stocker, R., Celermajer, D. S. 2000. Coenzym Q improves LDL resistance to ex vivo oxidation but does not enhance endothelial fuction in hypercholesterolemic young adults. *Free Radic. Biol. Med.* 28 (7): 1100- 1105.
37. Aejmelaesus, R., Metsa-Ketela, T., Laippala, P., Solakivi, T., Alho, H., 1997, Ubiquinol- 10 and total peroxyl radical trapping capacity of LDL lipoproteins during a ging: the effects of Q10 supplementation. *Mol Aspects Med* 18 Suppl:S113-20.
38. Mohr, D, Stocker, R., 1994. Radical- mediated oxidation of isolated human very- low-density lipoprotein. *Arterioscler Thromb.* 14 (7): 1186- 1192.
39. Reaven, P., Partasarathy, S., Grasse, B. J. , (1991). Feasibility of using an oleate. Rich Doiet to Reduce Susceptibility of Low Density Lipoprotein to oxidative Modification in Human. *Am. J. Clin. Nutr.* 54: 701- 706.
40. Dobrzyn, A., Ntambi, M. J., 2004. The role of Stearoyl- CoA desaturase in body weight regulation. *TCM.* 14 (2): 77- 81.
41. Ntambi, J. M.,Miyazaki, M., 2004, Regulation of stearoyl- CoA desaturases and role in metabolism. *Progress in lipid Research* 43: 91-104.
42. Pedersen, H.S., Mortensen, S. A., Rohde, M., Deguchi, Y., Mulvad, G., Bjerregaard, P., Hansen, J. C., 1999. High serum coenzyme Q10, positively corelated with age, selenium and cholesterol, in Inuit of Greenland. A pilot study. *Biofactors.* 9 (2-): 319- 323.
43. Bliznakov, E.G., Hunt, GL.,1987, The miracle nutrient: coenzyme Q10. Toronto: Bantam Boks.

44. Fulvio Ursini Department of Biological Chemistry, University of Padova, Italy In collaboration with the Department of Molecular Toxicology USC; Institute for Experimental Medicine C.N.R, Rome and Indena s.p.a. Milan.



ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Elazığ' da doğdum. İlk, orta ve liseyi Elazığ, Batman, K.Maraş ve Ş. Urfa illerinde tamamladım. 1997 yılında Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne girip, 2001 yılında bu bölümden mezun oldum. 2002 (Şubat) yılında Fırat Ünivrsitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisansa başladım.

Hatice AKARÇAY

