

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK
EKSTRAKTLARININ *IN VIVO* ANTİOKSİDANT ENZİM
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet TOKA

Kimya Anabilim Dalı

EKİM 2016
SAMSUN



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KİMYA ANABİLİM DALI

**GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK
EKSTRAKTLARININ *IN VIVO* ANTİOKSİDANT ENZİM
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Mehmet TOKA
13210118**

Tezin Savuma Tarihi : 3 Ekim 2016

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tefvık ÖZEN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalında

Mehmet TOKA Tarafından Hazırlanan

**GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK
EKSTRAKTLARININ *IN VIVO* ANTİOKSİDANT ENZİM
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 03 / 10 / 2016 tarihinde yapılan sınav ile
YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.**

Başkan :

Jüri Üyeleri :

.....

03/10/2016

Prof. Dr. Hüseyin DEMİR

Enstitü Müdürü



ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

Tarih :

İmza:

Tezi hazırlayanın Adı Soyadı





T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 –33
Konu : Araştırma Projeniz hk.

29/05/2014

Doç. Dr. Tefik ÖZEN
Fen – Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

2014/18 numaralı “Güz yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) meyvesi ve yaprağının kimyasal içeriği, antikanser, biyotransformasyon enzimleri ve antioksidant aktivitelerine etkilerinin araştırılması (hayvan deneyi)” konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 28.05.2014 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılara ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.

Prof. Dr. R. Cankon GERMİANOĞLU
HADYEK Başkanı

Alınan kararlar Kurul kararıdır. Kararla ilgili Kurul üyelerinin aranması etik değildir. İtirazlarınızı yazılı olarak Etik Kurul sekreterliğine başvurmanız gerekmektedir.



**GÜZ YEMİŞİ (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) MEYVE VE YAPRAK
EKSTRAKTLARININ IN VIVO ANTİOKSİDANT ENZİM
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Güz yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) *Elaeagnus* cinsine ait bir iğde türüdür. Tez çalışmasında, güz yemişi meyve (GYMSU) ve yapraklarının (GYYSU) sulu ekstraktlarının iki farklı dozu (50 ve 100 mg/kg vücut ağırlığı/14 gün) grupları ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) grubu farenin (*Swiss albino*) karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularındaki *in vivo* antioksidant enzimlerin [katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP), glutatyon redüktaz (GR)] aktivitelerine ve lipid peroksidasyon (LPO) düzeyine etkileri spektrofotometrik olarak kontrol grubu ile karşılaştırılarak tayin edildi.

Karaciğerde, KAT ve SOD' nin aktiviteleri GYYSU grubunun düşük dozunda, GP' nin aktivitesi GYYSU grubunun yüksek dozunda, GR' nin aktivitesi GYMSU grubunun yüksek dozunda ve LPO' nin GYMSU grubunun düşük dozunda önemli derecede artış göstermiştir. Böbrekte, KAT, SOD ve LPO' nin aktiviteleri GYMSU grubunun yüksek dozunda, GP' nin aktivitesi GYMSU grubunun düşük dozunda ve GR' nin aktivitesi GYYSU grubunun yüksek dozunda önemli bir artış gözlenmiştir. Beyinde, KAT, SOD, GP ve LPO' nin aktiviteleri GYMSU grubunun düşük dozunda önemli derecede artış gözlenmesine karşın, GR' nin aktivitesi GYYSU ve GYMSU grubunun her iki dozunda da azalma olduğu gözlenmiştir. Akciğerde, KAT ve LPO' nin aktiviteleri, GYYSU grubunun yüksek dozunda önemli derecede artış gözlenmesine karşın, SOD, GP ve GR' nin aktiviteleri GYYSU ve GYMSU gruplarının her iki dozunda da azalma olduğu gözlenmiştir. Özofagus, KAT ve LPO' nin aktiviteleri GYMSU grubunun düşük dozunda önemli bir artış gözlenirken, SOD, GP ve GR' nin aktiviteleri, GYYSU ve GYMSU gruplarının her iki dozunda da azalma olduğu gözlemlendi. Kalpte, SOD, GP ve LPO' nin aktiviteleri, GYMSU grubunun düşük dozunda önemli derecede artış göstermesine karşın, KAT ve GR' nin aktiviteleri GYYSU ve GYMSU gruplarının her iki dozunda da azalma olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada, pozitif kontrol grubu olarak BHA kullanıldı. Karaciğer, böbrek ve akciğerde, KAT ve SOD' nin aktiviteleri GYYSU ve GYMSU gruplarının düşük ve

yüksek dozları BHA ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kalp, beyin ve böbrekte, GP, GR ve LPO' nin aktiviteleri GYMSU grubunun iki dozu ve yaprak ekstraktın yüksek dozu BHA ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Bu *in vivo* çalışmanın sonuçları SPSS (Statistical Packages for the social sciences) 20 paket programındaki MANOVA testindeki DUNNET-T ve TAMHANE testleri kullanılarak sonuçlar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı değerlendirildi.

Sonuç olarak GYYSU ve GYMSU ekstraktlarının *in vivo* antioksidant profile ve kimyasal koruyucu potansiyeli hakkında önemli sonuçları göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Güz yemişi (*E. umbellata* Thunb.), KAT, SOD, LPO, GP, GR, sulu ekstrakt.



THE INVESTIGATION OF AUTUMN OLIVE (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) FRUIT AND LEAF EXTRACTS *IN VIVO* ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY

ABSTRACT

Autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) is a kind of angustifolia which belongs to the *Elaeagnus* genus. In this study, the effects of two different doses of (50 and 100 mg/kg body weight/14 days) Autumn olive fruit (AOFW) and leaves (AOLW) aqueous extract groups and butylated hydroxyanisole (BHA) group were investigated for *in vivo* antioxidant enzyme activities [catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), lipid peroxidation (LPO) and glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR)] in liver, kidney, brain, lung, forestomach and heart of mice (Swiss albino) compared with control group.

The activities of CAT and SOD at low-dose of AOLW group, activity of GP at high-dose of AOLW group, activity of GR at high-dose of AOFW group and activity of LPO at low-dose of AOFW group a significant increase were observed in the liver. The activities of CAT, SOD and LPO at the high-dose AOFW group, GP at low-dose AOFW group and GR at high-dose of AOLW group showed a significant increase in the kidney. In the brain, the activities of GR activity at both high and low-doses of AOLW and AOFW groups was observed to be decrease, although the activities of CAT, SOD, GP and LPO at low-dose of AOFW group showed an increase significant. The activities of CAT and LPO exhibited at high dose of AOLW group a notable increase, although the activities of SOD, GP and GR at both dose levels of AOFW and AOLW groups were found to be decrease in the lung. While the activities of CAT and LPO were observed a significant increase at low doses of AOFW group in the forestomach, activities of SOD, GP and GR at both high and low-doses of AOFW and AOLW groups were found to be a significant decline. In the heart, the activities of CAT and GR at both high and low-doses of AOFW and AOLW groups were observed to be decrease, although the activities of SOD, GP and LPO at low dose of AOFW group exhibited a significant increase.

In this study, BHA was used as a positive control group. In the liver, kidney and lung, the activities of CAT and SOD at low and high doses of AOFW and AOLW groups were observed to be higher compared with BHA treated mice. The activities of GP, GR and LPO at low and high doses of AOFW and AOLW groups



were found to be higher than compared with BHA group in the heart, brain and kidney.

The results of the present *in vivo* study were evaluated the using DUNNET-T and TAMHANE tests of MANOVA tests in the SPSS (Statistical Packages for the Social Sciences; 20.0) software package whether or not significant difference between results.

As a result, AOLW and AOFW extracts indicate important implications on the *in vivo* antioxidant profiles and chemopreventive potentials.

Key Words: Autumn olive (*E. umbellata* Thunb.), CAT, SOD, LPO, GP, GR, aqueous extract.







Aileme,



ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğreniminde bilgilerini benimle paylaşan, tez çalışmalarım süresince anlayış gösterip, destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman Hocam Doç. Dr. Tefik ÖZEN'e,

Laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan ve maddi manevi her türlü desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Semiha YENİGÜN, Kemal YILDIRIM'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyip, tez çalışmam için de ihtiyaç duyduğum her konuda elinden gelen her türlü yardımı yapan aileme ve Samsun' da bulunduğum sürece bana hep destek olan hocam, çok yakın arkadaşım Arş.Gör. Taşkın BASILI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu Yüksek Lisans Tez Çalışması TÜBİTAK 114Z683'nolu Proje ile desteklenmiştir.

Ekim 2016

Mehmet TOKA



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK BEYAN.....	xix
HAYVAN KURULU ETİK RAPORU	vii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	xiii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	xix
İÇİNDEKİLER	xxi
KISALTMALAR	xxvii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	xxvii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xxxx
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı.....	2
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Serbest radikaller	4
2.2 Serbest radikal kaynakları	5
2.3 Serbest radikal türleri	6
2.3.1 Süperoksit radikali	8
2.3.2 Hidrojen peroksit.....	9
2.3.3 Hidroksil radikali	10
2.3.4 Singlet oksijen	11
2.3.5 Hipokloröz asit	11
2.3.5.1 Hipokloröz asit oluşum mekanizması	12
2.3.6 Alkil radikali	13
2.3.7 Hidroperoksit radikali	13
2.3.8 Alkoksil radikali.....	13
2.3.9 Thiyl radikali	13
2.3.10 Sülfonil radikali.....	14
2.3.11 Thiyl peroksil radikali	14
2.3.12 Peroksinitrit	14
2.3.13 Nitrik oksit radikali.....	14
2.4 Serbest radikallerin etkileri	15
2.4.1 Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkisi.....	16
2.4.1.1 Proteinlerin oksidasyonu	17
2.4.1.2 Metiyonin oksidasyonu	20
2.4.1.3 Protein ana yapısının oksidasyonu	21
2.4.1.4 Amino asit yan zincir oksidasyonu	23
2.4.1.5 Peroksinitrit radikali aracılığıyla protein oksidasyonu.....	26
2.4.1.6 Amino asit ile hipokloröz asitin reaksiyonu.....	27
2.4.1.7 Protein ile hipokloröz asitin reaksiyonu.....	28
2.4.2 Serbest radikallerin lipidler üzerindeki etkisi	29
2.4.2.1 Serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonu	30
2.4.2.2 Enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu	31



2.4.2.3 Enzimatik lipid peroksidasyonu	32
2.4.2.4 Kolesterolün oksidasyonu	32
2.4.2.5 Lipidler ile hipokloröz asitin reaksiyonu	33
2.4.3 Serbest radikallerin nükleik asitler üzerindeki etkisi	35
2.4.3.1 8-hidroksiguaninin oluşum mekanizması.....	37
2.4.3.2 Nükleotidler ve nükleik asitin hipokloröz asit ile reaksiyonu	38
2.4.3.3 Hidroksil radikalının DNA üzerindeki etkisi.	39
2.5 Antioksidant savunma sistemi	40
2.5.1 Endojen antioksidantlar.....	42
2.5.1.1 Süperoksit dismutaz (E.C.1.15.1.1.)	43
2.5.1.1.1 Mangan süperoksit dismutaz	43
2.5.1.1.2 Bakır, çinko süperoksit dismutaz	44
2.5.1.1.3 Hücre dışı süperoksit dismutaz	45
2.5.1.1.4 Nikel süperoksit dismutaz	45
2.5.1.2 Katalaz (E.C.1.11.1.6.)	45
2.5.1.3 Glutasyon peroksidaz (E.C.1.1.1.9.).....	46
2.5.1.4 Glutasyon redüktaz (E.C.1.6.4.2.)	47
2.5.2 Enzimatik olmayan antioksidantlar.....	47
2.5.2.1 E vitamini	47
2.5.2.2 Karotenoidler ve retinol	48
2.5.2.3 Ubikinonlar	49
2.5.2.4 Flavonoidler	49
2.5.2.5 Melatonin	50
2.5.2.6 C vitamini	51
2.5.3 Sentetik antioksidantlar	52
2.5.3.1 Bütillenmiş hidroksitoluen	52
2.5.3.2 Bütillenmiş hidroksianisol	53
2.5.3.3 Tert-butil hidrokinon	54
2.5.3.4 Gallatlar	54
2.6 Güz Yemişi (<i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb.).....	55
2.6.1 Güz yemişin biyokimyasal özellikleri	56
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	58
3.1 Kullanılan kimyasallar maddeler.....	58
3.2 Kullanılan cihazlar	58
3.3 Güz yemişi örnekleri	58
3.4 Yöntemler.....	58
3.4.1 Ekstraksiyon.....	58
3.4.2 Deney hayvanları.....	59
3.4.3 Deney hayvanı yem bileşeni	59
3.4.4 Deney hayvanlarına GYMSU, GYYSU ve BHA uygulanması.....	59
3.4.5 Doku homojenizasyonu ve hücrel fraksiyonların elde edilmesi	60
3.4.6 Protein tayini	61
3.4.7 Katalaz aktivitesinin tayini	62
3.4.8 Süperoksit dismutaz aktivitesinin tayini	62
3.4.9 Glutasyon peroksidaz aktivitesinin tayini.....	63
3.4.10 Glutasyon redüktaz aktivitesinin tayini	64
3.4.11 Lipid peroksidasyon inhibisyon tayini	65
4. BULGULAR	66
4.1 Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları	66
4.2 Deney hayvanlarının doku ağırlıkları.....	67



4.3 Deney hayvanlarının bağıl doku ağırlıkları.....	69
4.4 Deney hayvanlarının protein miktarı	72
4.5 Deney hayvanlarının katalaz aktivitesi	74
4.6 Deney hayvanlarının süperoksit dismutaz aktivitesi	76
4.7 Deney hayvanlarının glutatyon peroksidaz aktivitesi	78
4.8 Deney hayvanlarının glutatyon redüktaz aktivitesi	80
4.9 Deney hayvanlarının lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi.....	83
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	86
5.1 İstatistiksel analiz	86
5.2 Deney hayvan ağırlıklarının sonuçları.....	86
5.3 Doku ağırlıklarının sonuçları.....	88
5.4 Bağıl doku ağırlıklarının sonuçları	91
5.5 Protein tayin sonuçları.....	94
5.6 Katalaz aktivitesi sonuçları.....	97
5.7 Süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları.....	102
5.8 Glutatyon peroksidaz aktivitesi sonuçları	107
5.9 Glutatyon redüktaz aktivitesi sonuçları.....	112
5.10 Lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi sonuçları.....	116
ÖNERİLER	122
KAYNAKLAR	124



KISALTMALAR

AFMK	: Asetil-N-formil-5-metil kinürenin
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
Ch	: Kolesterol
EC-SOD	: Hücre dışı süperoksit dismutaz
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
G6 PD	: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
GP	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GYMSU	: Güz yemişi meyve su ekstraktı
GYYSU	: Güz yemişi yaprak su ekstraktı
KAT	: Katalaz
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MetSO	: Metiyonin sülfoksit
MP	: Myelo peroksidaz
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyoarbütirik asit



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Biyolojik önemi olan bazı serbest radikaller	6
Çizelge 2.2. Oksidasyona yatkın olan amino asitler ve bu amino asitlerin yan zincir oksidasyon ürünleri	24
Çizelge 2.3. Endojen ve Ekzojen antioksidantlar	42
Çizelge 3.1. Deney hayvanları yem bileşeni.....	59
Çizelge 3.2. Deney hayvanlarına GYMSU, GYYSU ve BHA uygulanması	60
Çizelge 3.3. Katalaz aktivitesi tayini reaksiyon karışımı.....	62
Çizelge 3.4. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini reaksiyon karışımı	63
Çizelge 3.5. Glutasyon peroksidaz aktivitesi tayini reaksiyon karışımı	64
Çizelge 3.6. Glutasyon redüktaz aktivitesi tayini reaksiyon karışımı	64
Çizelge 3.7. Lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi tayini reaksiyon karışımı	65

TABLoların LİSTESİ

Tablo 4.1. Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları sonuçları	66
Tablo 4.2. Deney hayvanlarının doku ağırlıkları sonuçları	68
Tablo 4.3. Deney hayvanlarının bağıl doku ağırlıkları sonuçları.....	70
Tablo 4.4. Protein tayin sonuçları	73
Tablo 4.5. Katalaz aktivitesi sonuçları	75
Tablo 4.6. Süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları	77
Tablo 4.7. Glutasyon peroksidaz aktivitesi sonuçları	79
Tablo 4.8. Glutasyon redüktaz aktivitesi sonuçları.....	81
Tablo 4.9. Lipid peroksidasyon düzeyi sonuçları.....	84



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Enerji transferi sırasında çeşitli oksijen radikallerinin oluşumu	7
Şekil 2.2. Reaktif oksijen türlerin oluşumun orbital gösterimi	7
Şekil 2.3. Bazı nitrojen türlerinin oluşumu	8
Şekil 2.4. MPO halojenasyon ve peroksidan döngüsünün şeması	13
Şekil 2.5. Nitrik oksitin L- argininden sentez reaksiyonu	14
Şekil 2.6. Radikallerin, farklı hücresel makromoleküllerle reaksiyonu sonucunda oluşan hasarlı ürünler	16
Şekil 2.7. Proteinlerdeki lizin, arginin ve prolin köklerinin oksidasyonu sonucu glutamik ve aminoadipik semialdehit oluşumu.	19
Şekil 2.8. Metiyonin oksidasyonu	20
Şekil 2.9. Proteinlerin serbest radikal bağımlı oksidasyonu ve protein karbonil ürünlerin oluşumu	22
Şekil 2.10. Proteinlerde be peptidlerde C-3 konumunda alkoksil radikallerinin oluşum mekanizması ve bu radikallerin α -karbon merkezli	23
Şekil 2.11. Aromatik amino asitlerin reaktif oksijen tarafından oksidasyonu	25
Şekil 2.12. Histidinin metal iyonları aracılığıyla oksidasyonu	26
Şekil 2.13. Nitrik oksit ile süperoksit radikalının reaksiyonu sonucu daha reaktif peroksinitrit oluşumu (A), peroksinitritin proteinlerin tirozin köküne saldırı ile orto-nitrotirozin oluşumu (B)	27
Şekil 2.14. Hipokloröz asit ile α -amino gruplarının reaksiyonu	27
Şekil 2.15. Hipokloröz asit ile lizin amino asit reaksiyonu	27
Şekil 2.16. Amino asitin NH_2 grubu ile hipokloröz asit reaksiyonunda serbest radikal oluşumu	28
Şekil 2.17. Peptid bağı ile hipokloröz asit tepkimesi sonucu N- ve C- merkezli radikal oluşumu ile peptid bağı parçalanması	29
Şekil 2.18. Yan zincirindeki lizinin NH_2 grubu ile hipokloröz asit reaksiyonu esnasında N- ve C- merkezli radikal oluşumu ve polipeptidin parçalanması	29
Şekil 2.19. Serbest radikal aracılı lipid peroksidasyon	31
Şekil 2.20. Lineolatın peroksidasyon mekanizması	32
Şekil 2.21. Kolesterolün oksidasyonu	33
Şekil 2.22. Lipidler ile hipokloröz asitin reaksiyonu	34
Şekil 2.23. Aktifleştirilmiş nötrofillerin HOCl üretiminin başlatılması ve serbest radikal aracılı LPO zincirleri	35
Şekil 2.24. 8-hidroksipürinlerin ve formamidoprimidinlerin oluşumu	36
Şekil 2.25. 2-deoksiguaninin moleküller içi halkalaşma mekanizması	38
Şekil 2.26. Nükleotidler ile hipokloröz asit reaksiyonu	39
Şekil 2.27. Nükleik asit ile hipokloröz asit reaksiyonu	39
Şekil 2.28. DNA ile hidroksil radikalının etkileşmesi	40
Şekil 2.29. Antiokisant savunma mekanizması	41
Şekil 2.30. E vitamini antioksidant aktivitesi	48
Şekil 2.31. β -karoten yapısı	49
Şekil 2.32. Flavonoidlerin kimyasal yapısı	49
Şekil 2.33. Melatonin kimyasal yapısı	51
Şekil 2.34. Askorbik asitin radikal süpürme aktivitesi mekanizması	52
Şekil 2.35. BHT'nin antioksidant aktivitesi	53
Şekil 2.36. BHA'nın kimyasal yapısı	54
Şekil 2.37. Gallatların kimyasal yapısı	55



Şekil 4.1. BSA kalibrasyon grafiği	72
Şekil 4.2. MDA kalibrasyon grafiği.....	83
Şekil 5.1. Deney hayvanı vücut ağırlıklarının karşılaştırılması.....	87
Şekil 5.2. Deney hayvan doku ağırlıklarının karşılaştırılması.....	90
Şekil 5.3. Deney hayvan bağıl doku ağırlıklarının karşılaştırılması.....	93
Şekil 5.4. Protein miktarının karşılaştırılması	96
Şekil 5.5. Katalaz aktivitesinin karşılaştırılması.....	100
Şekil 5.6. Süperoksit dismutaz aktivitesinin karşılaştırılması	106
Şekil 5.7. Glutasyon peroksidaz aktivitesinin karşılaştırılması.....	109
Şekil 5.8. Glutasyon redüktaz aktivitesinin karşılaştırılması	113
Şekil 5.9. Lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyinin karşılaştırılması	118





1.GİRİŞ

Oksijen birçok biyolojik olayda önemli rol oynar ve yaşam için gerekli olmasına karşın, oksidatif olaylarda hücrelerde hasara neden olabilir. Oksijen, hücrelerde enerji üretmek için kullanır ve serbest radikaller çoğunlukla mitokondrinin ATP üretiminde oluşur. Reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) hücrelerdeki redoks işlemlerin sonucunda yan ürün olarak oluşmaktadır (Pham-Hu vd, 2008). Bu reaktif türler hem toksik hemde faydalı bileşikler olarak ikili bir rol oynar. Onların iki zıt etkileri arasındaki denge kuşkusuz yaşam için önemlidir. Reaktif türler düşük veya orta düzeyde hücresel redoks sinyalizasyon ve bağışıklık fonksiyonu üzerine olumlu etkiler gösterebilir, ancak yüksek konsantrasyonlarda, oksidatif stres, hücre fonksiyonu ve yapılarına zarar verebilir (Sen vd, 2010) .

Serbest radikal ve oksidatif stres teorisinin kökeni, 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. Fenton, (1976) hidrojen peroksit ile Fe^{2+} iyonlarının varlığında tartarik asitin oksidasyonunu keşfi bu yolda atılan ilk adımdır. Fenton 1894 yılında yayımlanan makalesinde, demirin bu reaksiyonda katalizör görevini üstlendiğini bildirmiştir. 1900 yılında Michigan Üniversitesinde organik kimya profesörü olarak çalışan Moses Gomberg (1866-1947) tarafından organik serbest radikal yapısındaki trifenilmetil radikalinin keşfi, serbest radikallerle ilgili araştırmaların başlamasına yol açmıştır. II. Dünya Savaşı sırasında (1939-1945) iki atom bombasının (6 Ağustos 1945, Hiroşima ve 9 Ağustos 1945, Nagasaki) patlamasının yol açtığı toplu ölümler ve hayatta kalanların kısa yaşam süreleri, direkt olarak serbest radikal biyokimyasının doğmasına yol açmıştır (Devasagayam vd, 2004). Serbest radikallerin toksik ajanlar olduğu düşüncesi ilk defa Gerschman vd, (1954). tarafından ortaya atılmıştır. Denham Harman öne sürdüğü bu teori kapsamında serbest radikalleri Pandora'nın "Felaketler kutusuna" benzeterek, biyolojik oksidasyonlar sonucu oluşan serbest radikallerin tesadüfi ve birikimsel hücre hasarı oluşturarak, doku ve organ yaşlanmasına yol açtığını bildirmiş, radikallerin büyük çaplı hücresel hasar, mutagenез, kanser ve yaşlanmanın dejeneratif sürecinden sorumlu olabileceği görüşünü öne sürmüştür (Devasagayam vd, 2004). Serbest radikallerin biyolojik sistemlerdeki önemi, 1970'lerin başlarına kadar genel olarak

bilim çevrelerinde kabul görmemiştir. Bunun nedeni, radikallerin çok dayanıksız yapılı olmaları ve buna bağlı olarak tespit edilmeleri için ileri tekniklerin gerekli olmasıdır. 1980'lerin başlarında elektron paramanyetik rezonans spektroskopisi ve floresans problemlerin kullanılması serbest radikal biyokimyası alanındaki çalışmaları olanaklı kılmış, serbest radikallerin yapılarının yanı sıra, lipid ve protein oksidasyonu ile ilgili *in vitro* ve *in vivo* araştırmalar sonucunda önemli bilgilerin elde edilmesini sağlamıştır. Oksijenin dış yörüngesine bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron eklenmesiyle bu molekül güçlü bir toksine yani bir serbest oksijen radikaline dönüşür. Bu bileşikler de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içerdikleri için kolayca diğer moleküllerle reaksiyona girerek onları tahrip edebilen bileşikler oluştururlar ve organizmada çok etkili bir hasar meydana getirirler (Slater, 1984). İnsan metabolizmasında oksidasyonun gerçekleşmesi son derece doğal bir olaydır. Oksidasyon ürünlerinin aşırı derecede birikimine bağlı olarak doku zararlanmaları ve bunların sonucunda da çeşitli hastalıklar ile doğal yaşlanma ortaya çıkmaktadır. Antioksidantlar serbest radikal hasarına karşı savunma ve uygun sağlıklı bir koruma için büyük bir öneme sahiptir. Yeterli miktarda antioksidant alımı ile serbest radikallerin olumsuz etkileri ortadan kaldırılarak, daha sağlıklı bir yaşam mümkündür. Oksijen radikallerinin etkisiyle ortaya çıkabilecek oksidatif hasarları önlemek amacıyla canlı sistem tarafından gerçekleştirilen pek çok korunma mekanizması vardır. Bunlar intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. İlk ve temel antioksidant savunma, enzimatik olarak yapılmaktadır. En önemli intrasellüler enzimlerin; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz (KAT) olduğu bilinmektedir. Sonraki savunma hattı ise ekstrasellüler nonenzimatik antioksidantlar tarafından oluşturulur. Bunlar; E vitamini, C vitamini, β -karoten, transferrin, seruloplazmin, albumin, haptogloblin gibi bileşiklerdir (Bast vd, 1991).

1.1 Tezin Amacı

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri (ROT), normal metabolik olaylar sırasında veya X ışınları, ozon, sigara dumanı, hava kirliliği ve endüstriyel kimyasallara maruz kalması sonucunda oluşabilir (Bagchi & Puri, 1998). Serbest radikal oluşumu enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarının her ikisinin bir sonucu olarak, hücrelerde sürekli olarak ortaya çıkar. Serbest radikallerin kaynağı

olarak enzimatik reaksiyonlar, solunum zinciri, prostaglandin sentezi, fagositoz ve sitokrom P450 sistemi olarak sayılabilir (Liu vd, 1999). Serbest radikaller, enzimatik olmayan organik bileşikler ile oksijen reaksiyonları yanı sıra iyonize reaksiyon başlatıcılar tarafından oluşturulabilir. Antioksidantlar, serbest radikallerle hasara uğramış hücrelerimizi koruyan maddelerdir. Endojen ve eksojen antioksidantlar, serbest radikalleri nötralize etmek için kullanılır ve redoks dengesini koruyarak vücudu serbest radikallere karşı korur (Halliwell & Gutteridge, 1999). Oksidatif stres, oksidatif metabolizma artışı sonucu oluşabilecek pro-oksidan/antioksidant dengenin pro-oksidanlar yönünde bir kayma olarak tanımlanan bir durumdur. Oksidatif dengenin bozulması sonucunda serbest radikal üretimi artar. Oksidatif stres, membran lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonuna, DNA hasarına neden olarak çeşitli hastalıklara neden olabilir.

Sentetik ve doğal antioksidantlar özellikle katı ve sıvı yağ içeren gıdalarda oksitlenmeyi engellemek için kullanılır. Bu amaçla çok sayıda fenolik, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi antioksidantlar baskın örnekler arasındadır. Bu bileşikler gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde antioksidant olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak BHT ve BHA gibi bazı antioksidantların yüksek sıcaklıklarda kararsız olmasından, sentetik gıda katkı maddelerinin kullanılmasını zorlaştıran sıkı mevzuattan, bazı sentetik antioksidantların kanser yapıcı olmalarından ve tüketici tercihlerinden dolayı üreticilerin ilgisini yapay antioksidantlardan çok doğal antioksidantlar çekmiştir.

Serbest radikaller, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, mide-bağırsak bozuklukları, göz hastalıkları, yaşlanmaya ve daha birçok çeşitli hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (Rahimi vd, 2005).

Bu çalışmanın amacı, Samsun İlkadım ilçesi Doğupark'ta yetişen güz yemişi meyve ve yaprak ekstrelerinin iki farklı dozlarının (50 ve 100 mg/kg vücut ağırlığı) hücre içi antioksidant enzimlerine (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz) ve lipid peroksidasyon düzeyine düzenleyici etkisi olup olmadığı fare (*Swiss albino*) karaciğer, böbrek, akciğer, özofagus, beyin ve kalp dokularında belirlemektir. Ayrıca güz yemişi yaprak ve meyvesinin antioksidant enzimlerine ve lipid peroksidasyonuna etkisini sentetik

antioksidant olan BHA (% 0,75) kullanılarak değerlendirmektir. Güz yemişi meyve ve yaprakları yüksek oranda fenolikler, flavonoidler, antosiyoninler, C vitamini, β -karoten ve likopen içermektedir ve etkili *in vitro* antioksidant aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Yenigün, 2015). Böylece yapılan bu tez çalışmasıyla güz yemişinin *in vivo* antioksidant aktivitesinin araştırılmasıyla elde edilen sonuçları fizyolojik şartlarda oksidatif hasarına karşı koruyucu ve tedavi edici etkiye yeni bir boyut getireceği amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Serbest radikaller

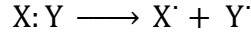
Yapılarında eşleşmemiş elektron içeren atom veya bileşikler serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır (Kopani, 2006). Başka bir deyişle serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküllerdir (Uzun vd, 2000). Her türden kimyasal ve biyokimyasal tepkime daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar sayesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini olağanüstü artırdığı için, serbest radikaller kimyasal aktifliği yüksek moleküllerdir (Mcgee vd, 2003). Biyolojik sistemlerde önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır. Hücreler hasta veya yaşı olduğu zaman çok miktarda serbest radikal üretir (McCord, 1993).

Radikal ve serbest radikal terimleri sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılmakla beraber, radikal terimi, serbest radikalın su molekülleri tarafından tutulmuş bağlı formunu ifade etmek için kullanılmaktadır. Tarihsel olarak ise “radikal” terimi, reaksiyon sırasında değişmeden kalan atom gruplarını tanımlamaktadır. Günümüzde ise bu tanım sıklıkla kullanımdan kalkmıştır.

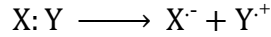
Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres (hasar) meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücresel metabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır (Staroverov & Davidson, 2000).

Bir serbest radikal 3 yolla meydana gelebilir (Halliwell & Gutteridge, 2001).

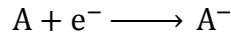
1.Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).



2.Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağ oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3.Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (Akkuş, 1995).

2.2 Serbest radikallerin kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller normal metabolik olayların sırasında oluşacağı gibi çeşitli dış etkenlerin maruz kalmasıyla da oluşabilir. Bu nedenle serbest radikallerin oluşumu endojen ve ekzojen kaynaklı olarak isimlendirilebilir. Canlılığın devam edebilmesi için gerekli olan serbest radikal yapısına sahip ara ürünler, normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda meydana gelmekte ve endojen kaynak olarak isimlendirilmektedir.

Endojen kaynak olarak serbest radikal üreten metabolik faaliyetler, bazı küçük moleküllerin (tiyoller, hidrokinonlar ve flavinler) otooksidasyonu, bazı enzimlerin (ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz) katalitik döngüsü ve mitokondriyal elektron transferi gibi olaylar sonucunda oluşmaktadır. Biyokimyasal tepkimelerde kullanılabilmesi için reaktif formlara çevrilmesi zorunlu olan oksijen, mitokondride aerobik solunum sırasında kullanılmakta ve toplam oksijenin % 2-5'i reaktif oksijen radikallerine dönüşmektedir (Kumar, 2011; Halliwell vd, 1995).

Serbest radikallerin ekzojen kaynakları ise; İlaçlar; Aminotriazol, asetaminofen, bleomisin, doksorubisin, hiperbarikoksijen, klonazin, klosapin, 3,4-metilendioksimetamfetamin, nitrofurantoin, siprofloksasin, siklosporin, trisiklik antideprezanlar, troglitazon. Metal iyonları; demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa. Kirleticiler; Asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbon monoksit, nitrik oksit,

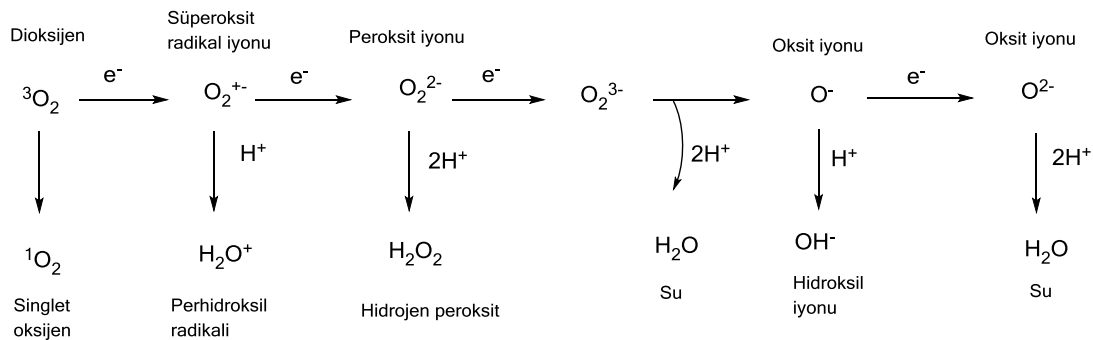
nitrojen dioksit, silika, bazı solventler, toksinler, hipoklorit, kükürt dioksit, yangın, parakuat, dikuat, plumbagin, juglone. Radyasyon; Ultraviyole ışık, x-ray, gama radyasyon (Abdollahi vd, 2004).

RADİKALLER	NON-RADİKALLER
Superoksit, $O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidrojen atomu, $H^{\cdot}$	Hipobromöz asit, $HOBr$
Hidroksil, $HO^{\cdot}$	Hipokloröz asit, $HOCl$
Triklorometil, $CCl_3^{\cdot}$	Nitröz asit, HNO_2
Peroksil, $RO_2^{\cdot}$	Ozon, O_3
Alkoksil, $RO^{\cdot}$	Singlet oksijen, $O^{\cdot}$
Hidroperoksit, $HO_2^{\cdot}$	Peroksnitrit, $ONOO^{\cdot}$
Nitrik oksit, $NO^{\cdot}$	Hidroperoksit, $LOOH$
Tiyil, $RS^{\cdot}$	Peroksinitröz asit, $ONOOH$
Azotdioksit, $NO_2^{\cdot}$	Nitronyum iyonu, $NO_2^{\cdot}$
Nitrozil katyonu, $NO^{\cdot +}$	Alkilperoksi nitritleri, $ROONO$

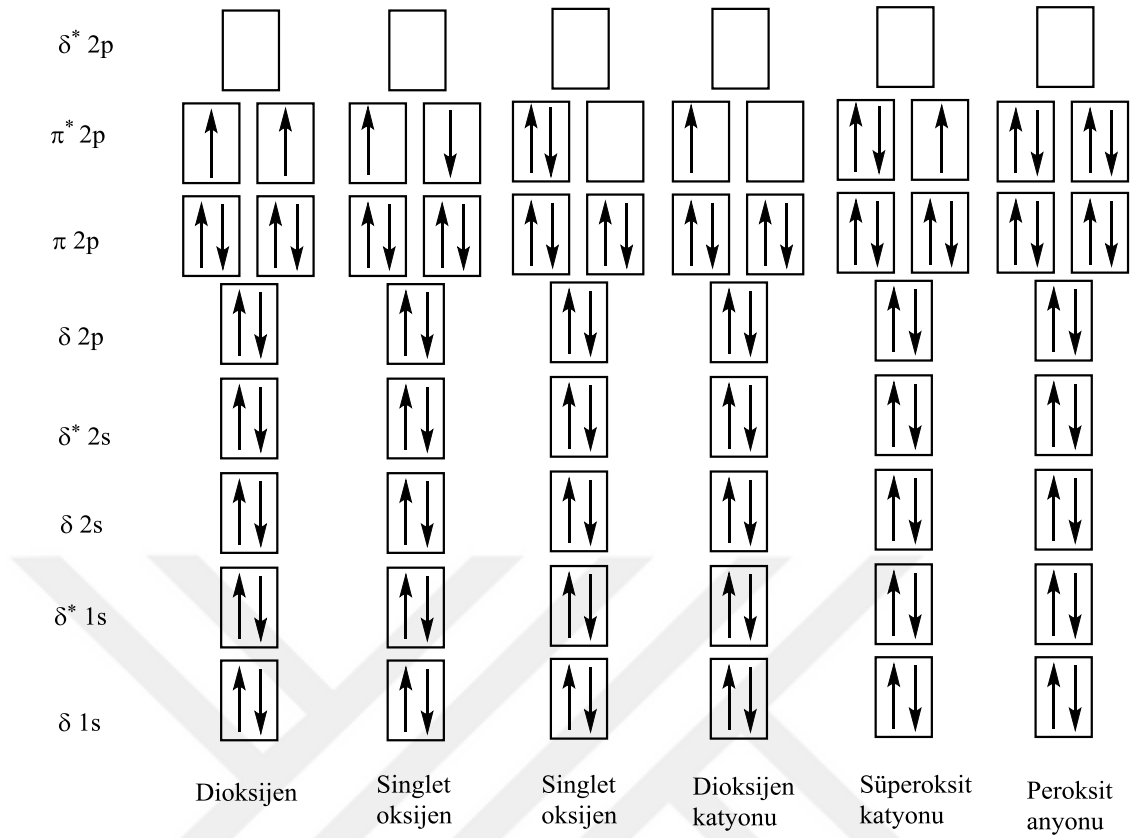
Çizelge 2. 1. Biyolojik önemi olan bazı serbest radikaller

2.3 Serbest radikal türleri

Serbest radikaller genellikle oksijen kaynaklı olduğu için reaktif oksijen türleri denilmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROT) superoksit, $O_2^{\cdot -}$, hidroksil $OH^{\cdot}$, peroksil $RO_2^{\cdot}$, hidroperoksit $HO_2^{\cdot}$ gibi radikaller düşünüleceği gibi radikalik olmayan bazı oksitleyici hidrojen peroksit H_2O_2 , hipokloröz asit $HOCl$ ve ozon O_3 gibi oksitleyici bileşiklerde radikallere kolayca dönüşebilmektedir (Halliwell & Gutridge, 1989).

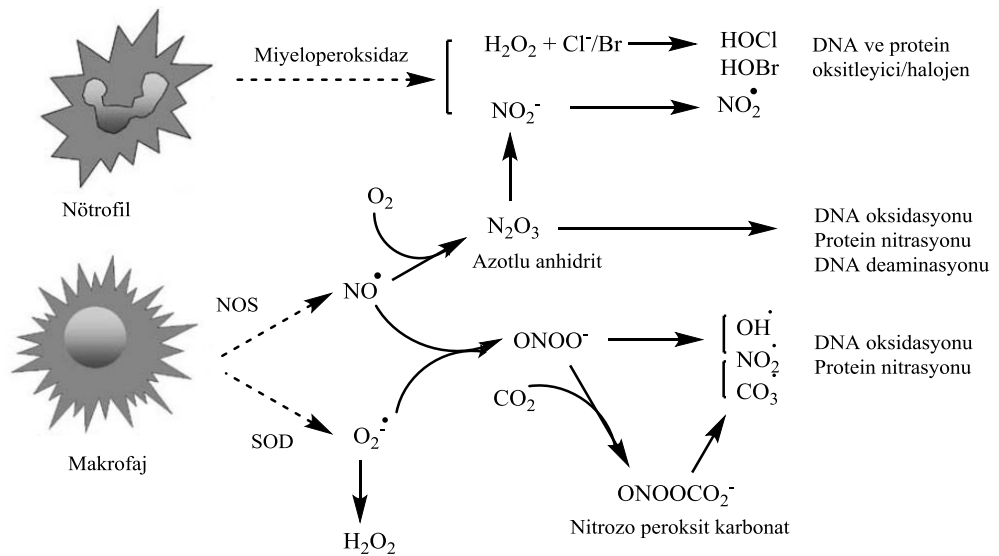


Şekil 2.1. Enerji transferi sırasında çeşitli oksijen radikallerin oluşum (Apel & Hirt, 2004).



Şekil 2.2. Reaktif oksijen türlerin oluşumunun orbital gösterimi (Valko vd, 2004)

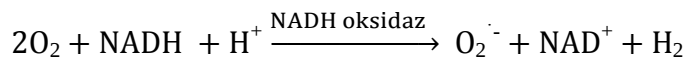
Daha çok oksijen kaynaklı serbest radikaller bulunmasına rağmen $\text{NO}^\bullet$, $\text{NO}_2^\bullet$ gibi nitrojen kaynaklı radikallerde vardır.



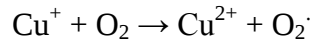
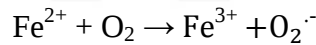
Şekil 2.3. Bazı nitrojen türü radikallerin oluşum (Dedon & Tannenbaum, 2004)

2.3.1 Süperoksit radikali (O₂^{·-})

Süperoksit radikali moleküller oksijenin indirgenmesi sonucunda oluşan ara bir basamaktır. Oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan O₂^{·-} mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'ın okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺)'a okside olması ile üretilir. Solunum zincirine giren elektronların yaklaşık olarak % 4 'ü süperoksit radikallinin oluşmasına yol açar (Fridovich, 1995).



Süperoksit radikalleri oldukça reaktiftirler ve oksijen türleri içerisinde en uzun ömürlü olanıdır ve bir hücreden diğerine geçebilme yeteneğine sahiptirler. Süper oksit genel olarak O₂^{·-} anyon şeklinde gösterilmesine rağmen ortamın pH'sına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüştürülebilir. Bu durumda perhidroksi radikali (HO[·]) ismini alır (Cherubini vd, 2005). Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemli olan, H₂O₂ kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (Memisogullari vd, 2003).



Hücrel koşullarda üretilen süperoksit hem oksitleyici hem de indirgeyici olarak görev yapar. Örneğin; ferrisitokrom c ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve oksijene dönüşür. Epinefrin oksidasyonunda ise oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve H₂O₂'ye indirgenir .

Süperoksit radikalleri başlıca şu yollarla oluşabilir:

1. İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri yükseltgenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokarbonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi biyolojik moleküller yükseltgenirken süperoksit oluşumuna neden olurlar.

2. Başta çeşitli dehidrojenazlar ve oksidazlar olmak üzere enzimlerin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.

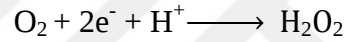
3. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında kullanılan oksijene NADH dehidrojenaz ve koenzim A gibi elektron taşıyıcılarından elektron transferinden dolayı tüketilen oksijenin % 1–5 kadarı süperoksit oluşumuna neden olur.

4. Aktive edilen fagositik lökositler süperoksit üreterek fagozomlar içine ve bulundukları ortama verilirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal üretimi daha reaktif türlerin oluşumunu da katalizler.

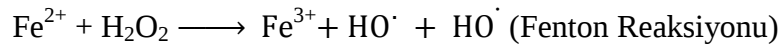
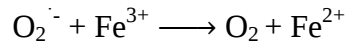
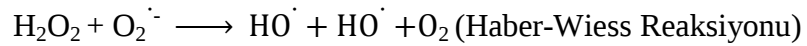
2.3.2 Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit (H₂O₂), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin (O₂⁻²) proton (H⁺) ile birleşmesi sonucu oluşur (Cheeseman & Slater, 1993).

Hidrojen peroksitin oluşmasında neden olan diğer bir olay da kendiliğinden veya süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenen dismutasyon tepkimesidir. İki süper oksit molekülü iki proton alarak hidrojen hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşturulabilir.



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O₂⁻) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Hidrojen peroksit bir serbest radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranda geçen ve sitozole difüze olan uzun ömürlü bir oksidandır ve bu yüzden serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe²⁺ veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin (O₂⁻) varlığında Haber-Weiss Reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (HO[•])

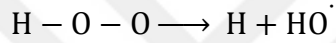
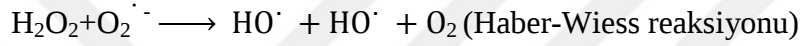
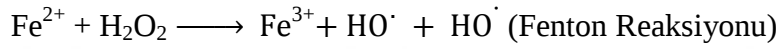


Hidrojen peroksitin hücre içindeki kaynağı peroksizomlardır. Bu organeldeki D-amino asid oksidaz, ürat oksidaz, L-hidroksil asid oksidaz ve yağ asidi açıl CoA oksidaz gibi oksidazlar süperoksit üretmeden, bol miktarda H₂O₂ üretimine sebep olurlar (Oyanagui, 1991).

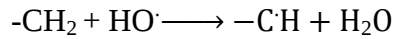
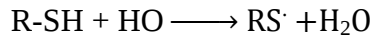
2.3.3 Hidroksil radikali (HO[·])

Hidroksil radikali çok reaktif ve hasar verici bir radikal türüdür. Aminoasitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerle kolayca reaksiyona girebilirler.

Hidroksil radikali hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton Reaksiyonu), Hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu (Haber-Weiss Reaksiyonu) ve suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda meydana gelir (Song, 2004).



Hidroksil radikali reaktif oksijen türleri içerisinde en güçlü radikaldır. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS[·]), karbon merkezli organik radikaller (R[·]), organik peroksitler (RCOO[·]) gibi yeni radikallerin oluşmasına neden olur.



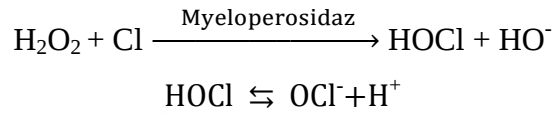
2.3.4 Singlet oksijen (¹O₂)

Moleküler oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spinin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Dış orbitaldeki elektronların spinleri zıt yöndedir. Ortaklanmamış elektronu içermediği için radikal olamayan aktif bir oksijen molekülüdür.

Singlet oksijen süperoksit radikalının nitrik oksit ile reaksiyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir (Wright vd, 2002). Singlet oksijen bazı bileşiklerin oksijen varlığında ışığa maruz kalmaları sonucunda da oluşur. Böyle fotosensitize edici ajanlar arasında boyalar (eozin), bazı ilaçlar (tetrasiklinler) ve insan vücudundaki bazı maddeler (porfirinler, riboflavin, bilirubin) gelir.

2.3.5 Hipokloröz asit (HOCl)

Hipokloröz asit (HOCl), (Hipoklorit (OCl⁻) tuzu olarak adlandırılan vücutta serbest radikallerin önemli bir moleküler öncülerinden biridir. HOCl, memeli heme peroksidaz ailesine ilişkili bir enzim tarafından katalize edilen tepkimesi ile meydana getirilir. Bağışıklık sistemine ait fagositik özellikli nötrofiller içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla O₂⁻ 'nin dismutasyonu ile oluşan H₂O₂'i, klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'ye dönüştürürler (Güngör vd, 2010).



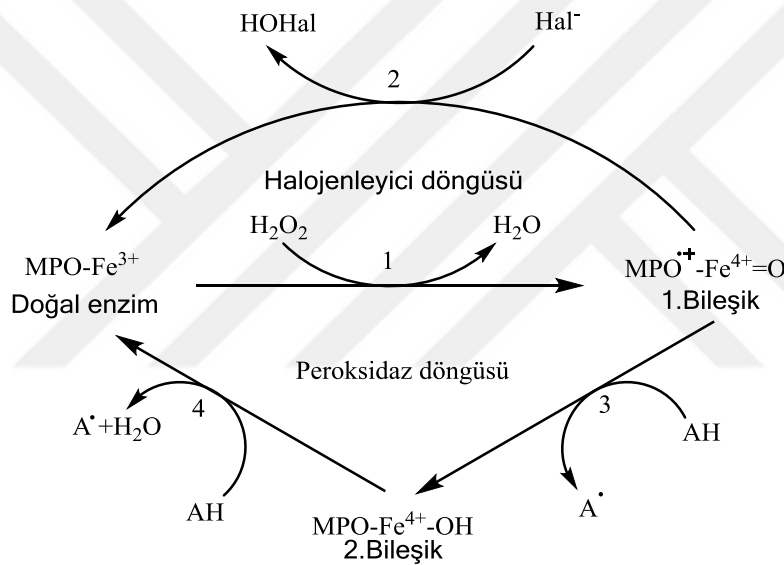
HOCl, memeli heme peroksidaz ailesine ilişkili bir enzim tarafından katalize edilen tepkimesi ile meydana getirilir. Hipokloröz asitin pH' sı 7,5 tir. Diğer bir yandan, güçlü bir oksidan olan HOCl insan ve diğer memelilerin organlarının bakterisidal sistemin en önemli bileşenidir. Öte yandan, yüksek reaktivite ve bir çok biyolojik olarak önemli moleküller ile reaksiyona sokulması, serbest radikal ön rolünü gerçekleştirmek yeteneği nedeniyle HOCl, sitotoksik bir etkiye sahiptir ve birçok hastalık gelişimine neden olabilir (kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diğer hastalıklar) (Panassenko & Sergienko, 2010).

2.3.5.1 Hipokloröz asitin oluşum mekanizması

Memeli heme peroksidazlar ailesi (donör: H₂O₂ oksidoredüktaz EC 1.11.1.7) olmak üzere dört ana enzim oluşur: mieloperoksidaz (MPO), eozinofil peroksidaz (EPO), laktoperoksidaz ve tiroid peroksidaz.

Memeli heme peroksidazlarla katalize ana enzimatik reaksiyon şeması şekil 2.4'de gösterilmektedir. Katalitik çevrimin bir sonucu olarak, heme demir birbirini takip eden oksidasyon ve indirgeme işlemine tabi tutulurlar. Doğal enzim (MPO-Fe³⁺) ferri hızlı bir şekilde (2x10⁷ M⁻¹-S⁻¹), hidrojen peroksit ile oksitlenir bileşik I haline (MPO^{•+}-Fe⁴⁺ = O) dönüşür (Marquez vd, 1994; Kettle & Winterbourn, 1997). Bu oksiferil-porfirin-kasyon radikalidir, oksijen feril durumdaki demire çifte bağlıdır (Şekil 2.4'de reaksiyon 1). Bileşik I, 1.16 V redoks potansiyeline sahip iki

elektron ve normal ferri enzim oluşumu ile hipokloröz asitlerin (HOCl, hipobromus (HOBr'nin) ve hipoiodik (HOI) asitleri) oluşumu için halojenür iyonlarının (Cl^- , Br^- , I^-) oksidasyonun katalizleyen yüksek reaktivliğe sahiptir (Furtmüller vd, 2004). Reaksiyon 1 ve 2 toplam denklem denilen halojenleme döngüsü olarak adlandırılır (Vladimirov, 1998). Elektron vericilerin (Tyr askorbat, seçme, nitrit, katekolaminler ve birçok aromatik ksenobiyotik), varlığında bileşik 1, bileşik II ($\text{MPO-Fe}^{4+} - \text{OH}$)' e dönüşebilir ve $\text{A}^\bullet$ radikal oluşumu ile tek elektron transferi ile AH okside olabilir (reaksiyon 3). Bileşik II Bileşik I'in gibi, hipokloröz asit oluşumu katalitik inaktif, ancak bu doğal enzim rejenerasyon ile substart (AH) bir-elektron oksidasyona neden olabilir (reaksiyon 4).



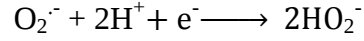
Şekil 2.4. MPO halojenasyon ve peroksidaz döngüsünün şeması (Panassenko vd, 2013)

2.3.6 Alkil radikali ($\text{R}^\bullet$)

Hidroksil radikali; yağ asitleri, nükleik asitler, karbonhidratlar ve proteinler gibi çeşitli moleküllerden bir proton çıkarıp karbon merkezli organik radikallerin oluşmasına neden olur (Mugnaini & Lucarini, 2007).

2.3.7 Hidroperoksil radikali ($\text{HO}_2^\bullet$)

Süperoksit radikalinin düşük pH'da (pKa 4.8) protonlanmasıyla oluşur ve daha kuvvetli bir oksidandır (Sharp vd, 2008).



2.3.8 Alkoksil radikali (RO[•])

Peroksil radikalinden bir oksijen atomunun çıkarılması sonucu oluşur.

2.3.9 Thiyl radikali (RS[•])

Hidroksil radikalının tioller ile reaksiyona girerek bir proton koparması sonucu merkezinde sülfür atomu içeren bu radikal oluşur.

2.3.10 Sülfonil radikali (RSO[•])

Thiyl radikallerinin oksijeni ile reaksiyonu sonucu oluşur.

2.3.11 Thiyl Peroksil radikali (RSO₂[•])

Sülfonil radikalleri oksijenle tekrar reaksiyona girerek Thiyl peroksil radikalini meydana getirir.

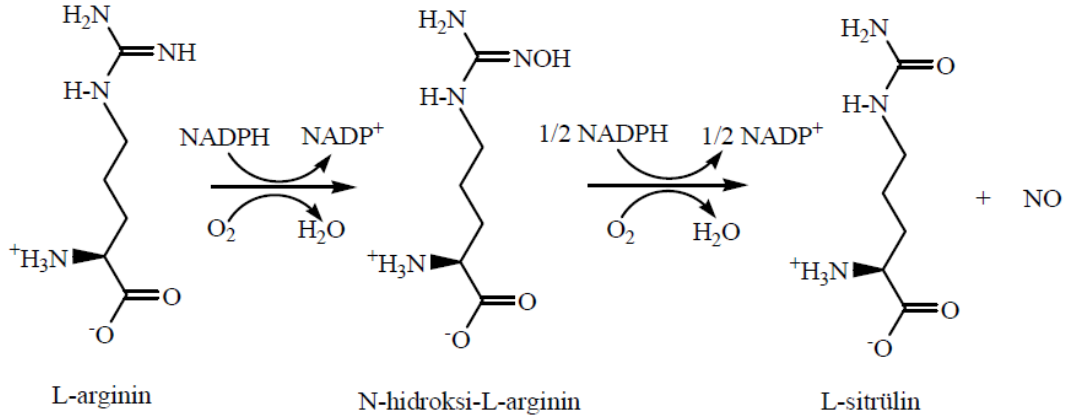
2.3.12 Peroksinitrit (ONOO[•])

Süperoksit anyonu nitrik oksitle reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturur. Hem –SH gruplarını güçlü oksidandır, hem de HO[•] vermek için parçalanabilir.

2.3.13 Nitrik oksit (NO[•])

Nitrik oksit (NO), zehirli serbest radikal bir gazdır. Hemen hemen her hücre tarafından üretilir ve her hücre üzerine etkinlik gösterir. Bu nedenle, NO genel aracı bir moleküldür. Diğer serbest oksijen radikalleri her konsantrasyonda zararlı iken, NO düşük konsantrasyonlarda kan basıncı ve sindirim düzenlenmesinde konak savunması ve özgül olmayan immüniteye kadar birçok önemli fizyolojik olayların

düzenlenmesinde rol oynar. Ancak uygunsuz yerde ve aşırı miktarda üretildiğinde, birçok patolojik durumun ortaya çıkmasına neden olur.



Şekil 2.5. Nitrik oksidin L-argininden sentez reaksiyonu (Burgner vd, 1999).

Nitrik oksit (NO) radikali, nitrik oksit sentaz (NOS) denilen enzim tarafından, bir aminoasit olan L-arginin'in terminal guanidin grubunun NO'e çevrilmesiyle, üretilir. (L-arginin → NO + L-sitrulin). Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ile kofaktör olarak, nikotinamid adenin dinükleoit (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ihtiyaç vardır (Star, 1993; Tayeh & Marlette, 1989).

Nitrik oksidin süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit (ONOO⁻) oluşur, oluşan peroksinitrit, nitrik oksitin toksisitesinden sorumlu başlıca bileşiktir (Murray vd, 1996).

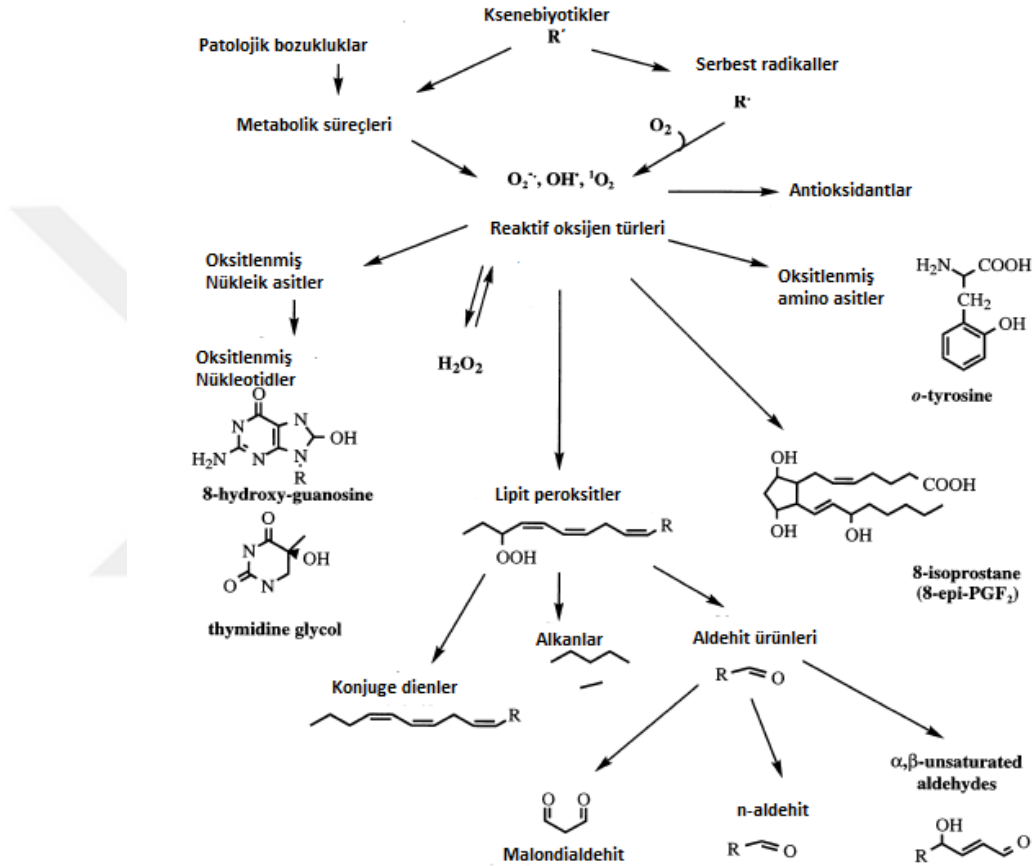
2.4 Serbest radikallerin etkileri

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller ile bunlara karşı süpürücü etkiye sahip antioksidantlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır.

Oksidatif stresteki artış sonucunda oluşan reaktif oksijen türleri hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına saldırır ve bir hidrojen atomu kopararak zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar. Sonuçta hücre içi lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllere etki ederek hücre zedelenmesi veya hücre ölümü meydana gelir.

Reaktif oksijen türleri oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup başta mitokondri olmak üzere hücre organellerinde gerçekleşen normal metabolizmanın

sonucu olarak veya iskemi-reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebepler bağlı olarak üretilirler (Yan, 2014; Dokuyucu vd, 2014). Oksidatif stres, başta kanser olmak üzere diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinin sorumludur (Berlett & Stadtman, 1997; Motor vd, 2014).



Şekil 2.6. Serbest radikallerin, farklı hücresel makromoleküller ile reaksiyonu sonucunda oluşan hasarlı ürünleri (Yan & Sohal, 2014).

2.4.1 Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Serbest radikallerin proteinlere saldırıları sonucunda proteinlerde birçok yapısal değişikliklere neden olurlar. Bu yapısal değişiklikler aminoasitlerin modifikasyonları, proteinlerin fragmentasyonları ve proteinlerin agregasyonları ve çapraz bağlanmaları olmak üzere üçe ayrılabilir. Doymamış aminoasitlerin (triptofan,

tyrozin, fenilalanin, metiyonin, sistein, histidin) ve kükürt içeren amino asitler (sistein ve sistin) radikallerin saldırısına karşı oldukça hassastırlar. Radikaller membran proteinlerede etki edebilir ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerin fonksiyonlarını bozabilir.

Serbest radikal türleri hücre içi proteinler üzerinde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz modifikasyonlara ve hasara yol açar (Prokai vd, 2007; Rao & Moller, 2011).

Proteinler okside olduklarında yan zincirleri (prolin, arginin, lizin, ve treonin) üzerinde karbonil gruplar oluşur. Ayrıca proteinlerin karbonil yapıların α -amidasyon yolağı ve glutamil yan zincirlerinin oksidasyonu sonucunda proteinlerin parçalanması ile ortaya çıkar (Dalle-Donne vd, 2003).

2.4.1.1 Proteinlerin oksidasyonu

Proteinlerin oksidasyonu, ROT ($\text{OH}^\cdot$, H_2O_2 gibi) ile doğrudan veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu dolaylı olarak indüklenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (Gülbahar, 2007). Serbest radikallerin oksidan etkisi sonucu meydana gelen oksidatif protein modifikasyonu ve bunun sonucu oksitlenmiş proteinlerin fazla miktarda birikmesi hücre ve doku hasarına bağlı olarak çeşitli patolojik durumlara ve gittikçe yaşlanmaya neden olur (Stadtman, 1992). Sohal ve çalışma arkadaşlarının Meyve sineği *Drosophila melanogaster* üzerinde yaptığı çalışmalar sonucunda yaşlanmayla birlikte oksidan üretiminin arttığı bununla birlikte protein karbonil ve DNA hasarı ürünlerinin yükseldiği gösterilmiştir (Sohal vd, 1994; Sohal vd, 1990).

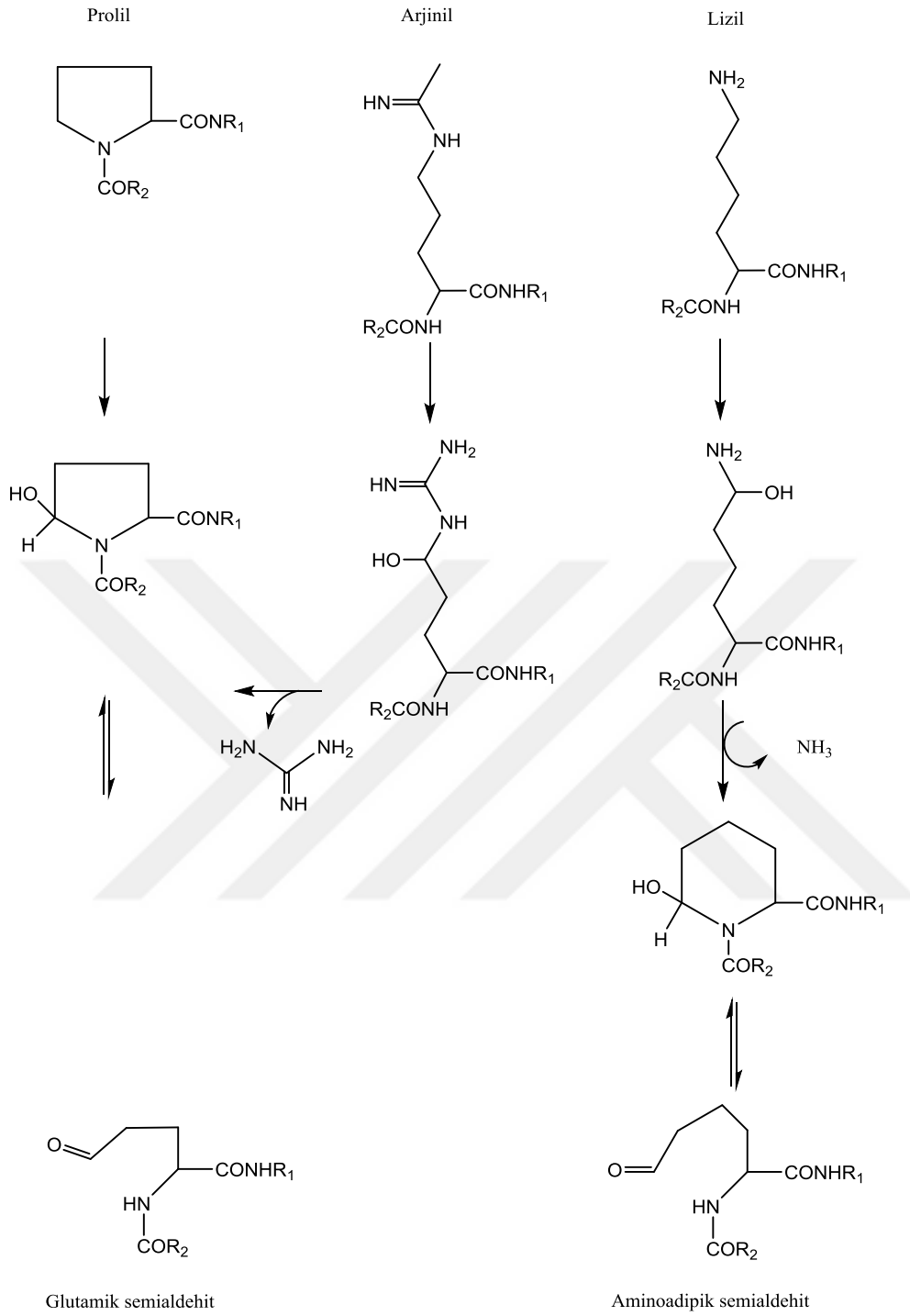
Oksidatif protein hasarı sonucunda birçok hücresel fonksiyonlar etkilenir. Reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının, yapısal proteinlerin, taşıma sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücresel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir (Reznick & Packer, 1994).

Protein oksidasyonu birçok mekanizmayla gerçekleşir ve amino açıl yan zincirlerinin hepsi oksidatif olarak modifiye olabildiği için çok farklı tipte oksidatif protein modifikasyonları vardır. Proteinlerin modifikasyonlarının birçok biyokimyasal sonuçları vardır bunlar; yan zincir gruplarının oksidasyonu, omurganın fragmentasyonu, yeni reaktif türlerin oluşumu (DOPA, peroksit), fazla miktarda radikal oluşumu ve zincir reaksiyonu şeklinde devam ettirilmesi, protein ya da amino

asitlerde dimerleşme, çökelme, proteinin normal katlanmasının bozulması veya konformasyon değişimi, yapısal bozulmaya bağlı işlevsel kayıp, enzim gibi işlevsel proteinlerin çevirim sayısının değişmesi, gen düzenlenmesinin ve ifadesinin değişimi, hücre sinyal yollarında modifikasyon, apoptoz ve nekrozun uyarılması, çapraz bağlanmalar, yanlış katlanmalar, konformasyon ve hidrofobik yapıda değişiklikler ve proteolitik enzimlerde aktivite kaybı olarak sıralanabilir (Hawkins & Davies, 2001).

Serbest radikal türlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin, ve lizin gibi çok sayıda aminoasit kalıntısında veya peptid omurgasında meydana gelen hasar sonucunda protein karbonil (PCO) ürünleri meydana gelir. Protein oksidasyonunun en yaygın olarak ölçülen ürünü protein karbonilleridir. PCO düzeylerinin saptanması, oksidatif protein hasarını belirlemede duyarlı bir yöntem olmasına rağmen belirli bir aminoasit için spesifik değildir (Evans vd, 1999). Proteinler serbest radikal saldırılarına doymamış yağ asitlerinden daha az duyarlıdır. Çok yoğun bir saldırı olmadıkça fazla hasar görmezler (Chesemann & Slater, 1993). Protein, geçiş metal iyonunu özel bir bölgeden bağlarsa, geçiş metal iyonu H_2O_2 ile reaksiyona girerek $HO^\cdot$ radikalini oluşturur. $HO^\cdot$ radikali de hasar verici etkisini metal bağlanma bölgesinde veya ona yakın bölgelerde meydana getirir. Proteinlere olan serbest radikal atakları peroksitlerin ve karbonillerin oluşumu ile sonuçlanır. Karbonillerin tespiti proteinlerde oluşan oksidatif hasarın ölçülmesi için kullanılabilir.

Fazla miktarda ROT üretimi veya ROT üretiminin sürekli yüksek olması sonucu oluşan protein oksidasyonu, birçok hastalıkla ilişkilidir. Bunlar, nörodejeneratif hastalıklar olan Alzheimer ve Parkinson hastalığı, iskemi-reperfüzyon hasarı, kalp-damar sistemi hastalıkları, kanser, protein glikozilasyon veya glikoksidasyon son ürünlerinin artmasına bağlı olarak diyabet, protein nitrotirozin hasarının artmasına bağlı olarak aterosklerosis, iltihaplı eklem romatizması ve iskemi-reperfüzyon hasarıdır (Stadtman, 2001).



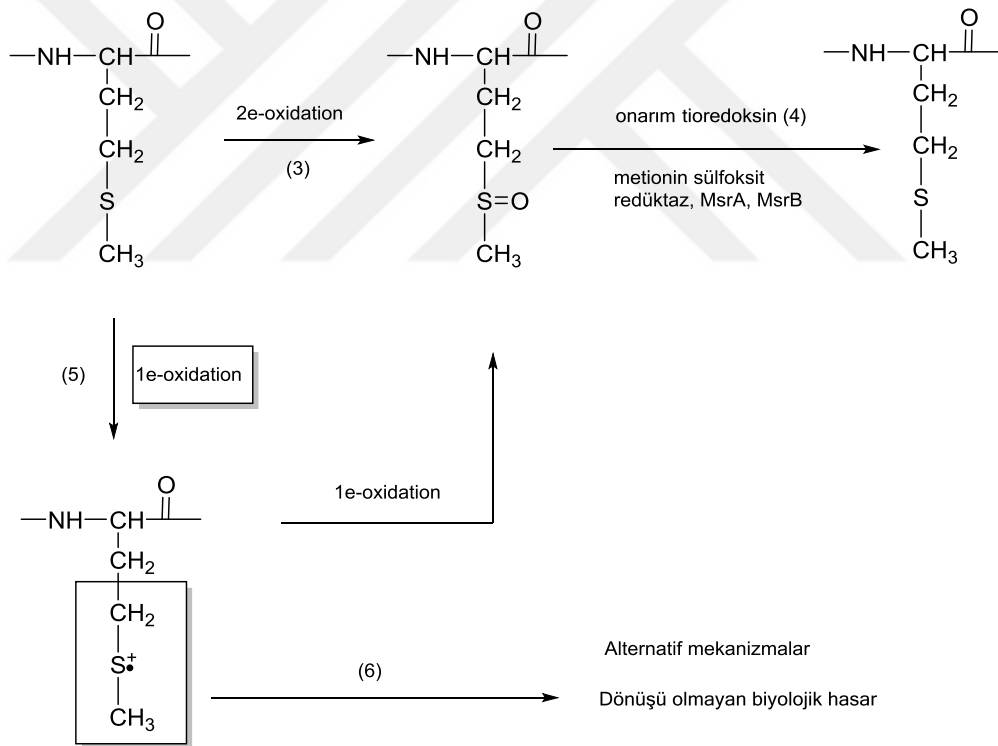
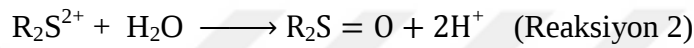
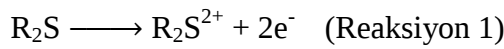
Şekil 2.7. Proteinlerdeki prolil, arjinil ve lizil köklerinin oksidasyonu sonucunda glutamik ve aminoadipik semialdehit oluşumu (Requena vd, 2003).

Proteinlerin oksidasyonu sonucu karbonil bileşikler oluşmaktadır. Şekil 2.7' de arginin, lizin ve prolilin aminoasit kalıntılarının oksidasyonu sonucu oluşan ürünler gösterilmiştir. Glutamik semialdehit argini ve prolilin birer oksidasyon ürünü olup, Aminoadipik semialdehit lizinin oksidasyon ürünüdür.

2.4.1.2 Metiyonin aminoasitin oksidasyonu

Metiyonin oksidasyon *in vitro* protein kararlılığı yanı sıra, biyolojik koşullar oksidatif stres sırasında, *in vivo* olarak önemli bir rol oynar. Metiyonin redoks işlemleri (Met) oksidatif stres ile ilişkili patolojik koşullara sırasında önemli bir rol oynar (Vogt, 1995).

Met ve sülfür oksidasyonu iki büyük yolları tek ve iki-elektron oksidasyonu, ayırt edilebilir. Bir organik sülfür iki elektronla oksidasyonuyla sülfide dönüşür (Reaksiyon 1) (Musker vd, 1978). Su içerisinde, karşılık gelen sülfoksit dönüşecek (Reaksiyon 2) (Gellman, 1991).



Şekil 2.8. Metiyonin oksidasyonu (Schfneich, 2005).

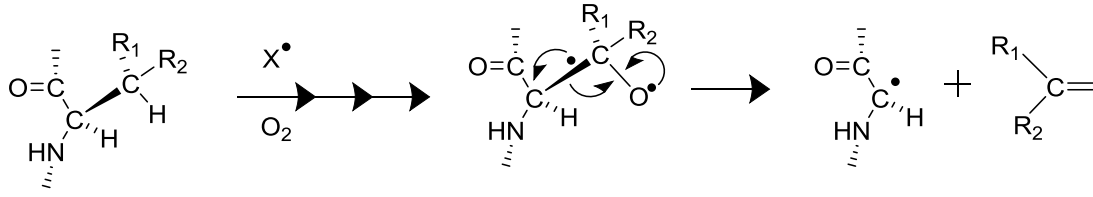
Birçok yükseltgen formal oksijen transferi üzerinde metiyonin met sulfoksida (MetSO) yükseltger. Proteinlerin konformasyonel geçişleri metiyonin met sulfoside (metSO) yükseltgenmesiyle başlatılır ve tersinebilirlik metiyonin sulfoksitin iki sınıfında sağlanır bunlar MsrA ve MsrB dir. Bu redüktazlar sülfür atomu üzerinde S ve R konfügrasyonu gösteren metSO diastomerleri ile diastreo spesifik olarak

reaksiyona girer. MsrA ve MsrB sistemleri için eşdeğer indirgenler tioredoksim reduktazlardan sağlanır. Eğer Fizyolojik seviyelerde MsrA ve MsrB ve tioredoksim önemli bir seviyede indirgenmese alzheimer ve yaşlanma gibi patolojik koşullar doğurur.

Proteinlerdeki tüm aminoasit kalıntıları bir veya daha fazla reaktif oksijen türleri tarafından oksidatif modifikasyona karşı duyarlıdır (Brot & Weissbach, 1983). Proteinlerdeki metiyonin kalıntıları neredeyse tüm reaktif oksijen türleri ile oksidasyona karşı çok duyarlıdır.

2.4.1.3 Proteinin ana yapısının oksidasyonu ve peptid bağlarının kırılması

Polipeptit omurgasındaki herhangi bir amino asit kökünün birinden α -karbon atomundan HO $\cdot$ radikali ile α -hidrojen atomunun çıkarılması sonucunda amino asit kökü karbon merkezli radikal haline dönüşür (Reaksiyon c). Daha sonra alkil-peroksil radikalini (Reaksiyon d) oluşturmak üzere O₂ ilave edilir. Bunu süperoksit anyonunun protonlanmış formu olan HO₂ $\cdot$ ile alkil peroksit radikalini oluşumu takip eder (Reaksiyon f). Bu peroksitin HO₂ $\cdot$ ile etkileşimi protein alkoksil radikalini oluşturur (Reaksiyon h). Bu alkoksil radikali daha sonra peptid bağının kopmasına sebep olur veya bir hidroksil türevi oluşturmak üzere daha fazla HO₂ $\cdot$ ile reaksiyona girer (Reaksiyon j). Aynı reaksiyonlar H₂O₂'in Fe²⁺'e bağımlı olarak yıkıldığı bir reaksiyon ile üretilen HO $\cdot$ radikali tarafından da başlatılabilir (reaksiyon b). Fe²⁺, f, h ve j reaksiyonlarında HO₂ $\cdot$ ile de yer değiştirebilir. Bu durum daha sonra üzerinde durulacağı gibi metal arcılığıyla protein oksidasyonunun önemini vurgulamaktadır (Şekil 2.9).



Şekil 2.10. Peptit ve proteinlerde C-3 konumunda alkoksil radikallerinin oluşma mekanizması ve bu radikallerin α -karbon merkezli radikaller vermek ve karbonil oluşturmak üzere β - kırılmaları (Headlam vd. 2000).

2.4.1.4 Amino Asit Yan Zincirlerinin Oksidasyonu

Proteinlerin oksidasyonu sonucu sadece karbonil bileşikleri oluşmaz. Amino asitlerin oksidatif parçalanması sonucu karbonil gruplarının oluşmadığı ve farklı ürünlerin olduğu bir çok protein oksidasyonu da mevcuttur. $\text{HO}^\bullet$ radikali ile valin ve lösin gibi alifatik amino asitlerin oksidasyonu sırasında özellikle yan zincirlerin oksitlenmesi ile hidroksillenmiş türevler oluşur (Dean vd, 1997).

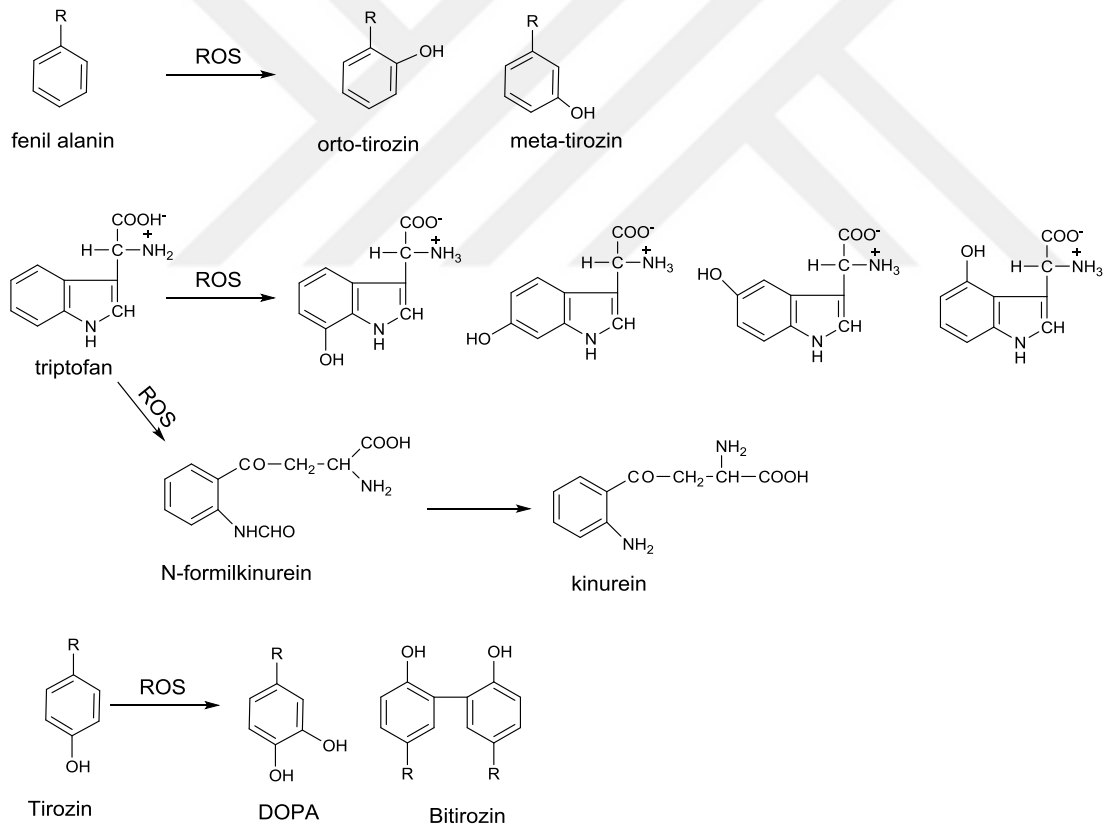
Amino Asit	Oksidatif saldırı	Oksidasyon ürünleri
Sistein	HO·, diğer hidrojen atomu çıkaran diğer türler	Sistein disülfidler, sülfenik asit
Metiyonin	HO·, bir elektron oksidasyonu	Metiyonin sülfoksit, metiyonin sülfon
Triptofan	HO·, bir elektron oksidasyonu	2-,4-,5-,6- ve 7-hidroksitriptofan, nitrotriptofan, kinürenin ve formil.
Fenilalanin	HO·, bir elektron oksidasyonu	2,3-Dihidroksifenilalanin, 2-,3-,ve 4-hidroksifenilalanin
Tirozin	HO·, RNT, HOCl	3,4- Dihidroksifenilalanin, tirozin-tirozin çapraz bağları, Try-O-Try, çapraz bağlı nitotirozin.
Histidin*	HO·, bir elektron oksidasyonu	2-okso-histidin, aspartat, aspartil üre
Arginin*	O ₂ varlığında HO·	Glutamik semialdehit, 5-hidroksi-2-amino valerik asit
Lizin	O ₂ varlığında HO·	Lizin hidroperoksitler ve hidroksitler, 2-aminoapidik semialdehit karbonil bileşiği
Glisin	α -C H atomu çıkarılması	Amino maleik asit
Prolin*	O ₂ varlığında HO·	2-pirrolidon, 4- ve 5-hidroksiprolin, piroglutamik asit
Valin*	O ₂ varlığında HO·	Valin hidroperoksitler ve hidroksitleri
Lösin*	O ₂ varlığında HO·	Lösin hidroperoksitleri ve hidroksitleri izovalerik asit.
İzolösin	O ₂ varlığında HO·	İzolösin hidroperoksitleri

*Protein karbonil gruplarının oluşmasına yol açan aminoasitler.

Çizelge 2.2 Oksidasyona yatkın olan amino asitler ve bu amino asitlerin yan zincir oksidasyon ürünleri (Çakatay & Telci, 2000).

Fenil alanin, tirozin, triptofan, histidin gibi aromatik yapıya sahip amino asitler de reaktif oksijen türlerinin etkisiyle değişime uğrayabilir. Proteinlerin fenil alanin köklerinin sonucu orto- ve meta-tirozin türevleri tirozin bakiyelerinin oksidasyonu sonucu ise 3,4-hidroksifenilalanin (DOPA) ve ditirozin gibi (karbon-karbon dimer) okside ürünler oluşur. Bununla beraber triptofan kökleri, radikal aracılı oksidasyonla 2-, 4-, 5-, 6-, 7-hidroksi türevlerine veya N-formilkinurein ya da kinurein türevlerine dönüşür.

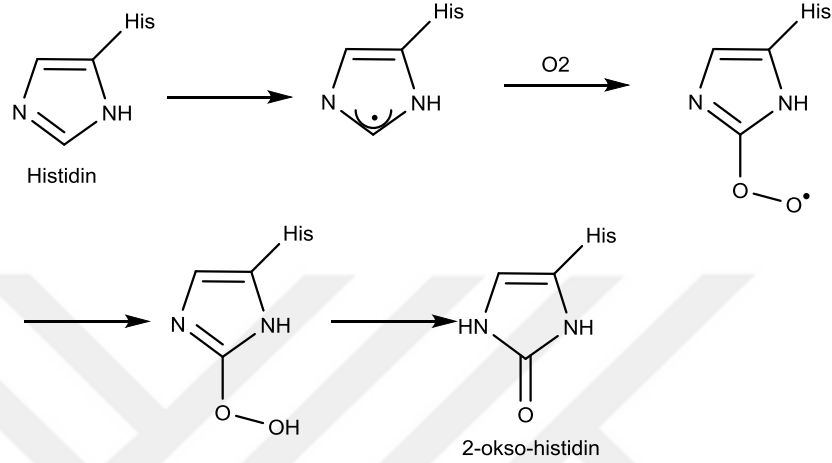
Aromatik amino asitlerin oksitlenmesi sırasında tirozin radikallerinin tamiri için gerekli bir redükleyicinin (tiyol, vitamin E) bulunmadığı durumda tirozinden fenoksil radikalının oluşumu ve tirozinin ditirozine dönüşümü gerçekleşir. Fenil alanin, tirozin ve triptofanın hidroksilasyonu hidroksil radikallerinin karakteristik reaksiyonudur.



Şekil 2.11. Aromatik amino asitlerin reaktif oksijen tarafından oksidasyonu (Stadtman & Levine, 2000).

Aromatik bir aminoasit olan histidin, 2-okso-histidin ve halka yapısının bozulması ile oluşan ürünler meydana getiren metal iyonları aracılığıyla oksidasyona

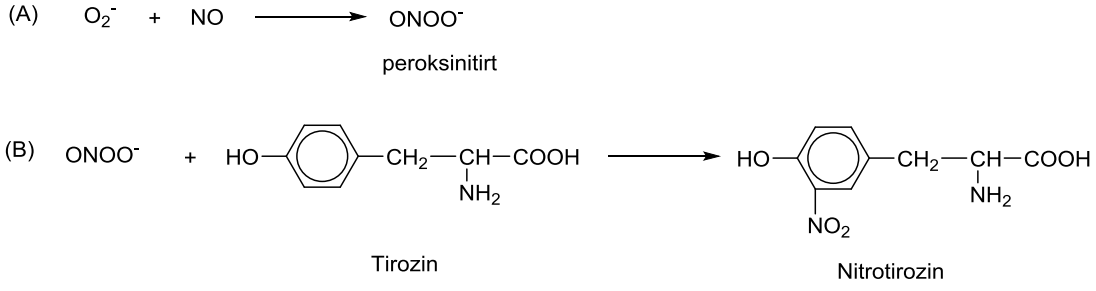
oldukça hassastır (Requena vd, 2003). Histidin metal ile katalizlenen oksidasyon sistemi (O_2/Cu^{2+} /askorbat) ile inkübe edildiğinde 2-okso-histidin ana oksidasyon ürünü olduğu belirlenmiştir. 2-okso-histidin daha sonra aspartat, aspartilüre ve formil asparajin gibi açık zincir ürünlerini meydana getirmek üzere daha fazla okside olmaktadır.



Şekil 2.12. Histidin metal iyonları aracılığıyla oksidasyonu (Uchida, 2003).

2.4.1.5 Peroksinitrit Radikali Aracılığıyla Protein Oksidasyonu

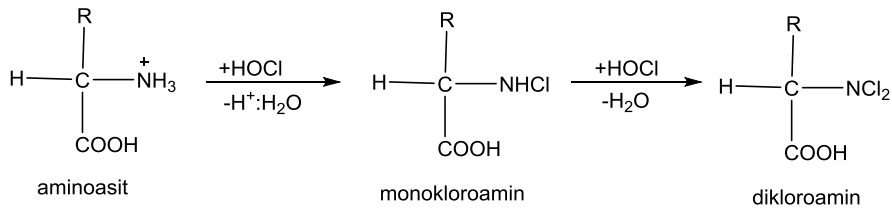
Peroksinitrit ($ONOO^-$) radikali, nitrik oksidin (NO) ile süperoksit reaksiyonu sonucu oluşur (Stadtman & Levine, 2000). Süperoksit ve nitrik oksit radikallerinin peroksinitrite göre nispeten daha dayanıklı olmalarına karşılık, peroksinitrit daha reaktif bir türevidir. Süperoksit düzeyleri çok artmışsa ya da fazla miktarda nitrik oksit radikali meydana gelmişse, nitrik oksidin süperoksit radikali ile tepkimesi sonucu daha reaktif peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit radikali sistemin sülfidril gruplarının nitrolanmasına, tirozin ve triptofana nitrat grubunun eklenmesine ve metiyoninin oksitlenmesine sebep olur. Peroksinitrit'in proteinler üzerine atağının ana ürünü tirozinin orto pozisyonunda nitrolanmasıdır (Şekil 2.13). Peroksinitrit, DNA'yı, enzimleri, proteinleri, lipidleri ve tiyol gruplarını okside edebilmesinden dolayı yüksek toksisiteye sahiptir.



Şekil 2.13. Nitrik oksit ile süperoksitin reaksiyonu sonucu daha reaktif peroksinitritin oluşumu (A). Peroksinitrit'in proteinlerin tirozin köküne saldırısı ile orto nitrotirozinin oluşumu (B) (Kayalı & Çakatay, 2004).

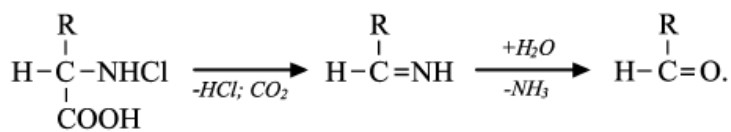
2.4.1.6 Amino asitler ile hipokloröz asit reaksiyonu

Hipokloröz asit, amino asit yan zincirinin bazı fonksiyonel grupları ve α -amino gruplarıyla reaksiyona girer (Pattison ve Davies, 2001). Yan zincirinde fonksiyonel grup olamayan amino asitlerin (Gly, Ala, Val, Ser) amino grubu ile hipokloröz asit reaksiyonu sonucu monokloramin oluşur ve α -amino gruplarıyla reaksiyon ilerler ortamdaki aşırı hipokloröz asiten dolayı dikloramin oluşmaktadır.



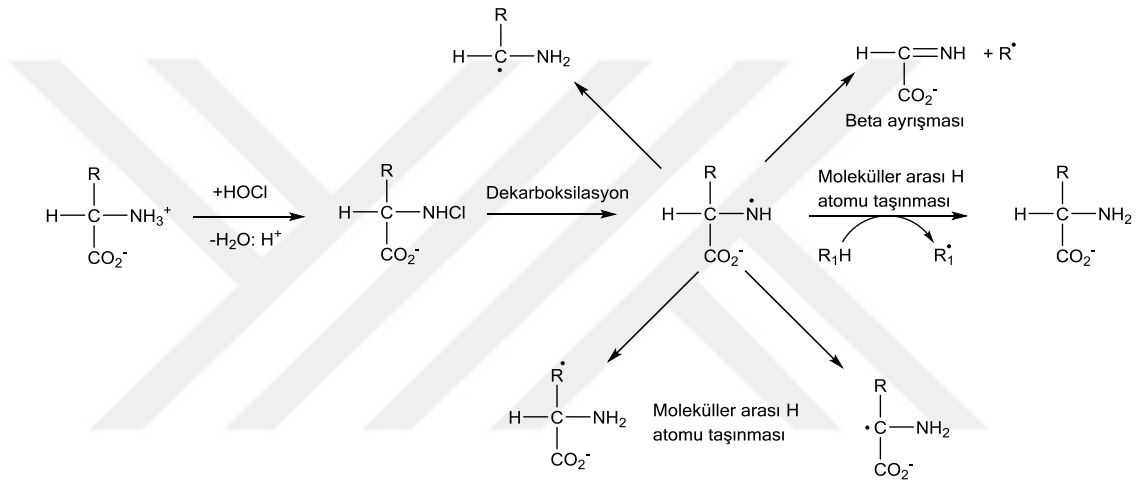
Şekil 2.14. Hipokloröz asit ile α -amino gruplarıyla reaksiyonu (Panassenko, 2013)

Kloroaminler, α -karboksil grubu dekarboksilasyon ve deamiansyon ile aldehitlerin ayrışan karasız (yarılanma ömrü aralıkları birkaç saat ve birkaç dakikadır) oluşan yapılardır.



Şekil 2.15. Hipokloröz asit ile lizin aminoasitin reaksiyonu (Panassenko, 2013).

Lizin ve diğer amino asitler ile yapılan deneylerde, α -amino asitler, kloramin N-merkezli radikaller bulunmaktadır ve moleküler içi veya arası H atomu transferi, dekarboksilasyon ile β -ayrışması ve yeniden düzenlenmeyle oluşmaktadır (Hawkins & Davies, 1998). Bazı durumlarda, C-merkezli radikaller oluşur. Şekil 2.15'te α -amino asit kloraminler, deaminasyon ve dekarboksilasyon ek olarak, serbest radikal oluşumu aşamalarında ayrışma geçirebilen ve sitotoksik etki, çeşitli hastalıklara neden olan, doku ve organların hasarına katkıda bulunmaktadır (Hazell vd, 1994; Hazen vd, 1998; Hawkins & Davies, 2005; Hawkins & Davies, 2001; Davies vd, 1993).

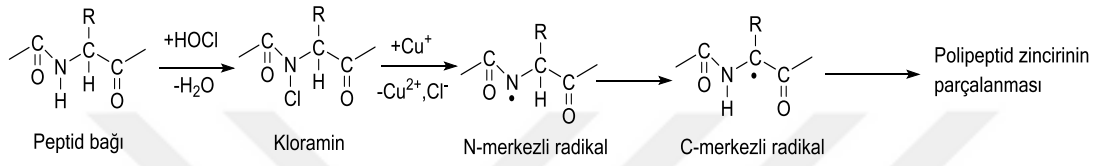


Şekil 2.16. Bir amino asitin NH_2 grubu ile HOCl reaksiyonda serbest radikal oluşumu (Panassenko, 2013).

2.4.1.7 Proteinlerin ile hipokloröz asit reaksiyonları

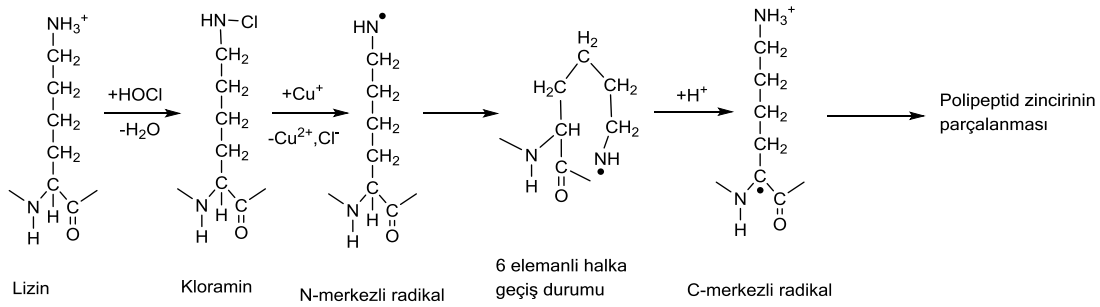
Amino asitlerin yan zincirlerinde bulunan işlevsel gruplar ile HOCl arasına gerçekleşen tüm reaksiyonlar proteinler ve polipeptidlerde oluşabilir. Bir amino asit yan zincirdeki fonksiyonel grup ve polipeptid zincir yapısındaki aynı grupların tepkimesi önemli ölçüde değişebilir. Globüler proteinler denilen insülin (5.7 kDa) ve lizozim (14.4 kDa), artan HOCl konsantrasyonlarda amino asit kalıntıları (His, Lys, Arg, Tyr) modifikasyonlara yol açar. Albumin ve diğer proteinlerin (miyogloblin, ribonükleaz A, histonlar, vb) üzerine HOCl eklenmesi spin tuzağında 5,5-dimetil-1-pirolin-N-oksit (DMPO) varlığında, N- ve C- merkezli radikaller oluşur. Protein ve izole edilmiş amino asitlerin serbest radikallerin oluşumuna yol açan ana reaksiyonu, NH_2 -grupları ile HOCl reaksiyonudur ve ilk olarak oluşturulan,

N-merkezli radikal C-merkezli radikale dönüştürülebilir. HOCl-protein arasındaki etkileşiminin sonucu olarak, bir peptit bağının parçalanması meydana gelmesidir. HOCl peptid bağı ile etkileşime geçtiğinde, kloramid oluşur (Şekil.2.17’de). Sulu ortamda, kloraminler protein parçalanması ve peptid bağ bölünmesi ile yavaş yavaş hidrolize edilir (Thomas, 1979). N-C bağı geçiş metali iyonları varlığında, N-merkezli radikal oluşumu ile homolitik bölünme geçirebilmektedir. N-merkezli radikal, molekül içi düzenlenmesi sonucu bir C-merkezli radikali dönüşürken, polipeptid zincirinin parçalanmasına yol açar (Şekil 2.17).



Şekil 2.17. Peptid bağı ile HOCl tepkimesi sonucu N- ve C- merkezli radikal oluşumu ve polipeptitin parçalanması (Panassenko, 2013).

Peptid bağının bölünmesinin bir başka nedeni, aminoasit yan zincirindeki lizin amino grubu ile HOCl reaksiyonda kloroamid ya da kloramin oluşumu olabilir (Şekil 2.18).



Şekil 2.18. Yan zincirdeki lizin NH₂ grubu ile HOCl reaksiyonu esnasında N- ve C- merkezli radikali oluşumu ve polipeptitin parçalanması (Panassenko, 2013).

2.4.2 Serbest radikallerin lipitlere etkisi

Lipid peroksidasyonu (LPO), serbest radikallerin reaksiyonlarının kimyası üzerinde dikkat çekici gelişmeler yapıldığından, 1930'larda gıdaların bozulma ile ilişkili olarak incelenmiştir (Walling, 1955). LPO, biyolojide serbest radikallerin artan

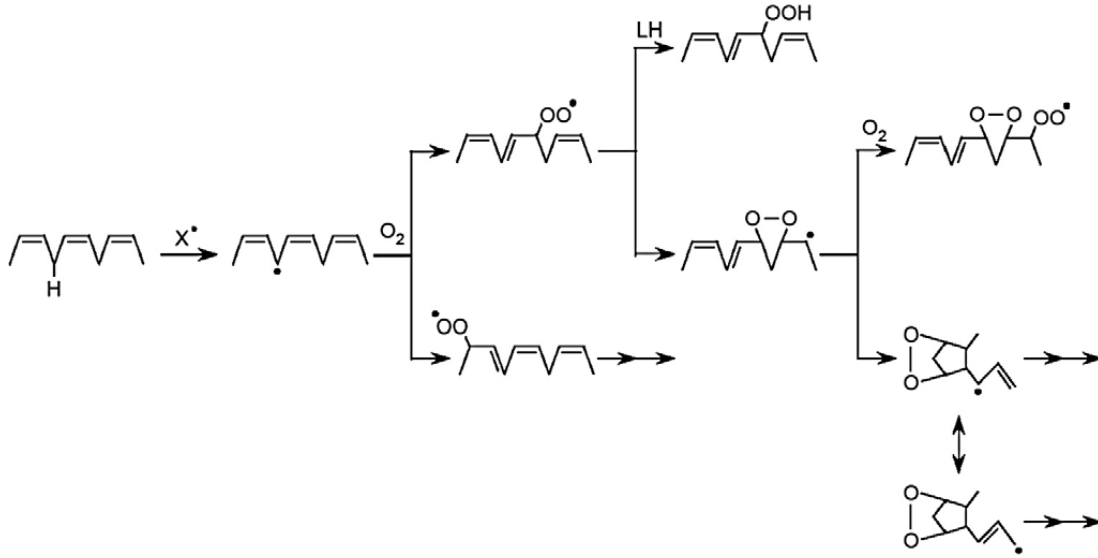
kanıtlarla biyoloji, beslenme ve tıpta, biyokimya ve kimya alanlarında geniş bakış açılarında ilgi görmüştür (Harman, 1956). Serbest radikallerden en çok etkilenen yapı membranda bulunan lipidlerdir (Cheeseman & Slater, 1993). Serbest radikallerin biyolojik membranlarda bulunan doymamış yağ asitlerinde oksidasyona yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar (Gupta vd, 2014). Yağ asitinde bulunan çift bağ, kendisine bitişik karbon ile hidrojen arasındaki bağı zayıflattığından dolayı (C-H) hidrojenin koparılması kolaylaştırmış olur (Gutteridge, 1995). Bu nedenle özellikle hücrel membran lipidlerinin doymamış yağ asiti zincirleri peroksidasyona daha fazla duyarlıdır. Hidrojen kaybeden yağ asiti moleküler olarak yeniden düzenlenir ve konjuge dien yapısı oluşur. Bu nedenle özellikle hücrel membran lipidlerinin doymamış yağ asiti zincirleri peroksidasyona daha fazla duyarlıdır. Oluşan konjuge dien yapı oksijenle birleşir ve lipid peroksil radikallerine (LOO•) dönüşür. Bu peroksil radikalleri diğer yağ asitlerinden hidrojen kopararak zincirleme peroksidasyon reaksiyonlarını başlatır. Daha sonraki çalışmalar ortaya koymuştur lidipler gibi proteinler, karbohidratlar ve nükleik asitler çeşitli reaktif okijen ve nitrojen türlerinin okside ürünler vermeyi hedefler. LPO ince yapılı biyomembranın bütünlük, akışkanlık ve geçirgenlik gibi fonksiyon kaybı, proaterojenik düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), proinflamatuvar formları ve potansiyel olarak toksik ürünler üretir (Greenberg vd, 2008). Bu nedenle, *in vivo* LPO kalp-damar hastalıkları, kanser, nörolojik bozukluklar ve yaşlanma gibi çeşitli bozukluklar ve hastalıkların altında yatan mekanizmalar olarak işaret edilmiştir.

LPO üç farklı mekanizmayla ilerler; (1) serbest radikal aracılı oksidasyon, (2) serbest radikal bağımsız, enzimatik olmayan oksidasyon ve (3) enzimatik oksidasyon (Niki vd, 2005).

2.4.2.1 Serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonu (LPO)

Serbest radikal aracılı LPO, bir zincir mekanizması ile ilerler, yani birçok lipid molekülü serbest radikal oksidasyonu başlatabilir. Bu zincir reaksiyonları biyolojik membranların ve oldukça uzun kinetik zincir uzunluğu ile *in vitro* düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu ilerlemek olduğunu deneysel olarak gösterilmiştir, ancak *in vivo* LPO kinetik zincir uzunluğunu tahmin etmek zordur (Noguchi vd, 1993). Ana zincir reaksiyonu dört aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada poli-doymamış yağ asitlerinden hidrojen kopararak karbon-merkezli daha kararlı cis, trans-pentadienil

yapısında düzenlenmiş radikaller elde edilir. İkinci aşamada pentadienil radikaline oksijen ilavesi ile lipid peroksil radikalleri elde edilir. üçüncü aşamada ise peroksil radikalinden oksijen ayrılması ile oksijen ve pentadienil radikallerinin oluşumu gerçekleşir. Burada oluşan radikaller oksijen ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek cis-trans formuna göre termodinamik olarak daha kararlı olan trans-trans formunu oluştururlar. Dördüncü aşamada ise peroksil radikallerinin çifte moleküller arası eklenmesi sonucu bisiklik prostaglandin tipi ürünler elde edilir.

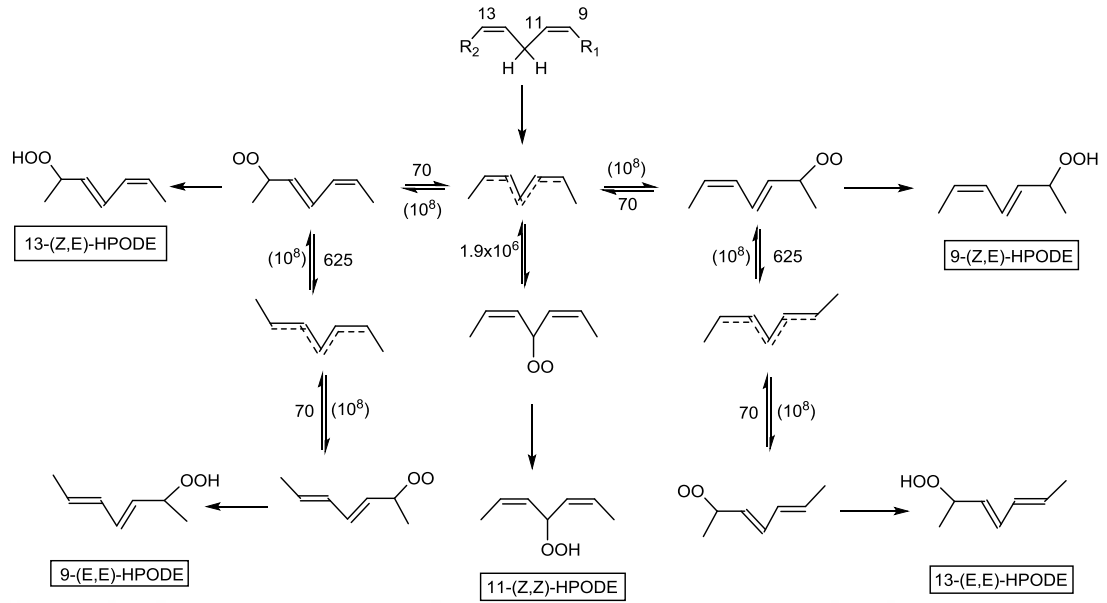


Şekil 2.19. Serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonu (LPO) (Niki, 2009).

2.4.2.2 Enzimatik olmayan oksidasyon

Singlet oksijen ve ozon radikalik olmayan mekanizma ile lipidleri oksitler (Pryor vd, 2006). Singlet oksijen fotodinamik terapide kullanılabilir ya da deri üzerinde zararlı hastalık olan porfiri gibi hasara neden olabilir.

Singlet oksijen doymamış lipidleri daha çok en reaksiyonu ile hidroperoksit vermek üzere oksitler ve bu reaksiyona çifte bağın göçü eşlik eder. Bu reaksiyonların yanında kemilüminesans ile karbonil bileşiklerinin oluştuğu 1,4-endoperoksiti vermek üzere 1,4 katılması ve dioksetan vermek üzere 1,2 katılması gibi yan reaksiyonlarda meydana gelir.



Şekil 2.20. Lineolatın peroksidasyon mekanizması (Niki vd, 2005).

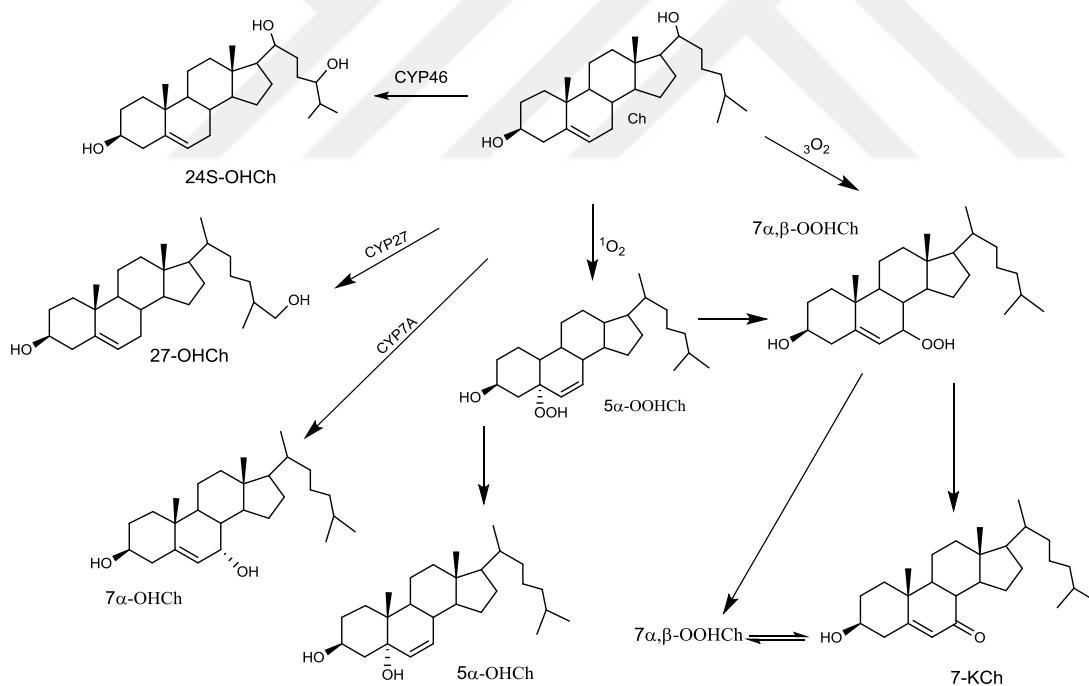
2.4.2.3 Enzimatik lipid perosidasyonu (LPO)

Enzimatik lipid peroksidasyonu diğer önemli bir oksidasyon lipoksigenaz (LOX) ve siklooksijenaz (COX) araşidonik asiti, hidroperoksieikosatetraenoik asit (HPETE), prostaglandinler, prostasiklin, tromboksan ve lökotrien okside ettiği bilinmektedir. LOX özgülüğü azaltmasına karşın doğrudan LDL parçacıklarının ve serbest yağ asitlerinde fosfolipitler ve kolesterol esterler oksitlenmiştir (Kuhn, 2005; Noguchi vd, 2002). Ayrıca, hidroksieikosatetraenoik asit (HETE), hidroksieikosatetraenoik asit ve araşidonik asit vermek üzere sitokrom P-450 (CYP) de okside olduğu bilinmektedir (Roman, 2002). Fosfolipid moleküler çeşitliliği *in vivo* olarak yapısal ve fizyolojik işlevleri için çok önemlidir. Serbest radikaller fosfolipid moleküllerine de etki etmektedir.

2.4.2.4 Kolesterolün oksidasyonu

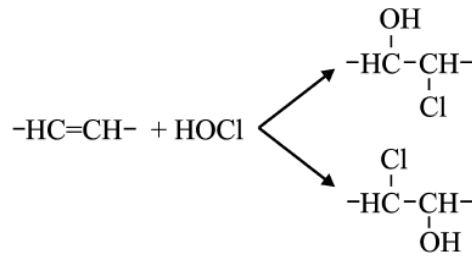
Kolesterol önemli bir substrat ve yukarıda belirtilen üç mekanizmayla oksidasyonu olur (Brown, 1999; Russell, 2000.). Kolesterol oksidasyon ürünleri oksisteroller adlandırılır. Kolesterol, serbest radikal aracılı oksidasyonu 7-hidroperoksikolestreol (7-OOHCh), 7-hidroksikolesterol (7-OHCh), 7-ketokolesterol (7-KCh), kolesterol-

Enzimlerden birçoğu sitokrom P450 ailesine aittir ve hepatositlerde mevcuttur. Ancak 24 hidroksilaz ve CYP46A1, beyin ve retina içerisindeki nöronal hücrelerde bulunur ve spesifik bir ürün olarak 24 (S) -OHCh verir (Pikuleva, 2006). Safra asidi biyosentezinde önemli bir ara ürün 7 α -hidroksikolesterol, 7 α -hidroksilaz (CYP7A1) tarafından serbest radikal oksidasyonu ile birlikte oluşturulur. İlaç metabolize enzim CYP3A4 4 β -hidroksikolesterol vermek için kolsetrole oksitlenir. Mitokondriyal enzim CYP27A1 27-hidroksikolesterolu verir. 25-hidroksikolesterol sitokrom P450 enzimi olmayan kolestrol 25-hidroksilaz tarafından oluşturulur. 7 β -OHCh ve 7-KCh serbest radikal aracılı oksidasyon ile oluşan özel ürünlerdir.



2.4.2.5 Lipidler ile HOCl reaksiyonları

HOCl, doymuş yağ asitleri ve doymuş fosfatidilkolin ile reaksiyona girmemektedir. HOCl' nin lipidler üzerinde iki önemli hedefi vardır bunları doymamış açıl veya kolesterol (-CH = CH-'dir) zincirleri ve fosfatidiletanolamin ve fosfatidilserin polar uçlarının NH₂-grubu üzerinde etkilidir. Doymamış bağlar ile ilgili olarak, moleküler (serbest radikallerin katılımı olmadan) ve serbest radikal katılması olmak üzere iki mekanizma vardır. Denklem toplamına göre olan bir çift bağ HOCl elektrofilik ilave mekanizmasıyla devam ettiği saptanmış ve klorohidrin izomerlerinin oluşur (Marquez vd, 1994).



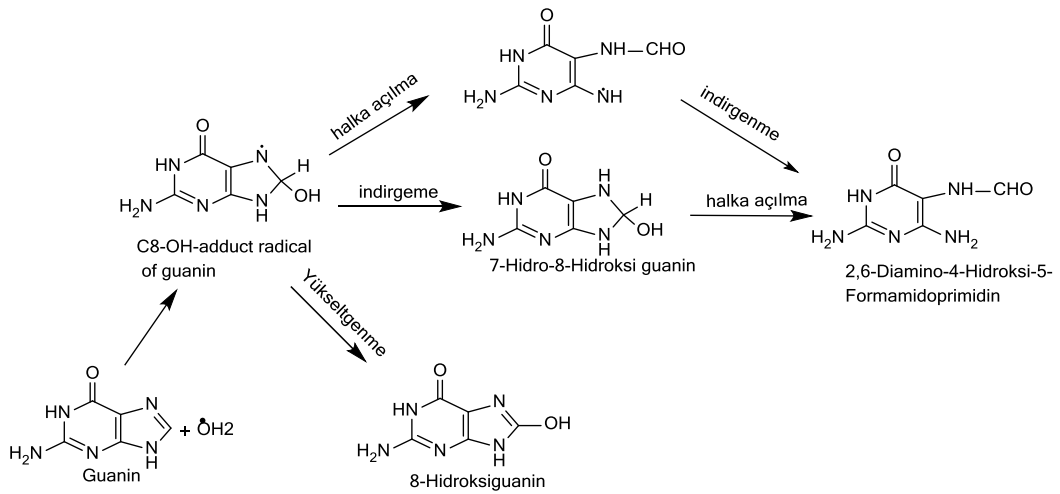
Şekil 2.22. Lipidler ile hipokloröz asitin reaksiyonu (Panasenko, 2013).

Lökositlerin uyarılması ile membran bağlı enzim NADPH-oksidaz aktivasyonu süperosit anyonun (O₂⁻) oluşumunu kataliz eder. H₂O₂ içine ikincisi dismutazlar kendiliğinden veya başka bir enzim (SOD) etkisi altındadır. MPO, lökositlerin aktivasyonu ile hücre dışı boşluğa salgılanır. Daha sonra bir substrat olarak H₂O₂ kullanarak HOCl' ye Cl⁻ oksidasyonunu katalize eder. Belirtilen bileşiklerin her biri (O₂⁻, HOCl ve H₂O₂) hidroksil (HO[•]) ve singlet oksijenin (¹O₂) nin bir kaynak olarak fenton reaksiyonları ile oluşabilir. HO[•] radikali doymamış, lipit (L) 'den, bir hidrojen atomu kopararak, bir alkil kökü (L[•]) oluşturur ve böylece LPO başlatır. Son olarak, H₂O₂ veya yağ asidi zincir hidroperoksitleri HOCl reaksiyonunda meydana gelen singlet oksijenin (¹O₂) doymamış yağlarla reaksiyonundan sonra (serbest radikallerin katılımı olmadan) moleküler bir mekanizma yoluyla oluşturulabilir. Hidroperoksit, alkoksi (LO[•]) radikali oluşumu ile Fe²⁺ indirgenebilir ve peroksil radikali oluşumuyla HOCl ile oksitlenebilir.

hasarı" olarak adlandırılır ve aynı zamanda mutagenез, karsinogenез ve yaşlanmada da etkilidir (Halliwell & Gutteridge, 1999). Hidroksil radikalleri, DNA daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla reaksiyon verirler. Reaksiyon sonucu, DNA bazlarını modifiye eder ve riboz-fosfat zincirinin kırılmasına yol açar. DNA oksidatif hasarın hücrel onarım sistemleri karşılaştığı ve tamir edilebilir.

Oksidatif DNA çeşitli analitik teknikler ile ölçülebilir ve bu tekniklerin avantajları ve dezavantajları vardır (Collins vd, 1997). Bu tekniklerden çoğu tanımlanması için bir spektroskopik kanıt sadece tek bir ürün ölçer. Kütle spektrometresi tekniklerini kullanmak açık kimlik ve DNA hasarının ölçümü sağlar. On yılın üzerinde gaz kromatografisi / kütle spektrometrisi (GC / MS) hücrelerin ve *in vitro* DNA baz ve şeker lezyonları ve DNA-protein çapraz bağların ölçümü için kullanılmıştır. Son zamanlarda, sıvı kromatografi / tandem kütle spektrometrisi (LC / MS / MS) ve sıvı kromatografisi / kütle spektrometrisi (LC / MS) DNA modifiye nükleosit ölçümü için yeni teknikler olarak ortaya çıktı.

Genel olarak, hidroksil radikali, (i) hidrojen ayırma, (ii) elektron transferi ve (iii) reaksiyona ilave edilme gibi reaksiyonları ile reaksiyona girebilir. Hidroksil radikali, DNA bazları için ilaveli çeşitli oksidasyon ürünlerinin oluşmasına yol neden olur. Guanin ile HO[•] etkileşimi sonucu 8-okso-7,8-dihidro-20- deoksiguanozin (8-okso-dG) ve 2,6-diamino-5-formamido- 4-hidroksipirimidin (FAPy-G) üretimine yol açmıştır (Boiteux & Radicella, 2000). Adenin, HO[•] ile reaksiyona guanin benzer bir şekilde ancak oksidatif adenin lezyonlar DNA hasarı daha az yaygındır (Jaruga vd, 2001).

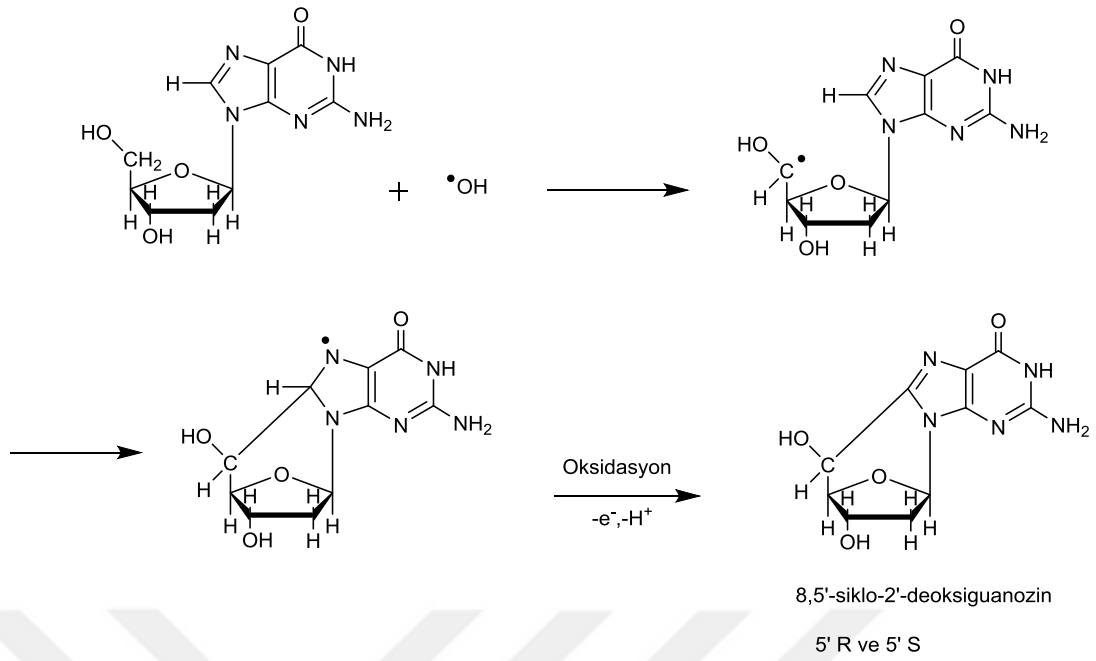


Şekil 2.24. 8-Hidroksipürinlerin ve formamidoprimidinlerin oluşumu (Valko vd, 2004).

Hidroksil radikalleri pürinlere bağlanarak C4-OH, C5-OH ve C8-OH bağlı radikalleri oluştururlar. C4-OH VE C5-OH bağlı radikaller dehidrasyona girerek indirgenme üzerinde pürinleri bir araya getirir oksitlenmiş pürin radikalleri oluşturur. C8-OH bağlı radikallerin bir elektron yükseltgenmesi ve indirgenmesi 8-hidroksipurinler ve formamidoprimidinler oluşumuna sebebiyet verir. Şekil 2.24' de 8-hidroksiguanin ve 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) oluşumu gösterir. Adenin analog reaksiyonları 8-hidroksiadenin (8-OH-Ade) and 4,6-diamino-5-formamidopirimidin (FapyAde) verir. Bu ürünlerin her ikisinde oksijen yokluğunda veya varlığında oluşur. indirgen ajanlar formamidoprimidinlerin verimini artırırken. 8-hidroksipurinler ise oluşumu için oksijen ortamı seçerler.

2.4.3.1 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ve 8-hidroksiguanin (8-OHGua)'in oluşum mekanizması

Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır. Modifiye bir baz olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden biri olup guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. ROT'un DNA'da yaptığı bu baz hasar ürünlerinden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen 8-OHdG'dir. Bu ürün, normal oksidatif metabolizma sırasında üretilen endojen ROS veya ekzojen kaynaklı ROS tarafından DNA'da şekillenen bir mutajendir. HO[•] radikali, guaninin 4, 5 ve 8. pozisyonlarındaki karbon atomları ile reaksiyona girer ve DNA ürün radikallerini oluşturur. OH[•] radikalının C-8'e katılması ile oluşan katılma ürünü radikali (C8-OH) bir elektron ve proton kaybederek 8-OHGua'e okside olur. DNA replikasyonu sırasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır. Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır (Helbock vd, 1998).



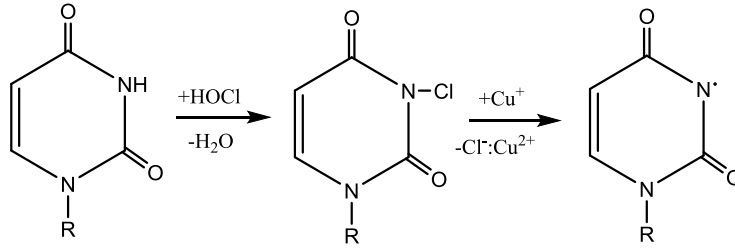
Şekil 2.25. 2-deoksiganin moleküler içi halkalaşmasının mekanizması (Yokuş & Çakır, 2002).

DNA' daki şeker grubunun C5 merkezli radikalinin bir özgü reaksiyonda pürün zincirine aynı nükleositten C-8 pozisyonuna bağlanmasıdır. Bu bağlanma moleküller içi halkalaşmaya öncelik eder.

Şekil 2.25' te 2-deoksiganin moleküller içi halkalaşmasının mekanizması göstermektedir. Bu reaksiyon oksijen tarafından inhibe edilir. Çünkü oksijen C-5 merkezli şeker radikali, difüzyon kontrolü reaksiyonu moleküler içi halkalaşmaya daha baskındır. DNA-protein çapraz bağlanmaları serbest radikallerinin reaksiyonu ile de oluşur. DNA-protein çapraz bağlanması timin alil radikalının protein üzerindeki tirozin halkasına C-3 pozisyona bağlanmasını içerir.

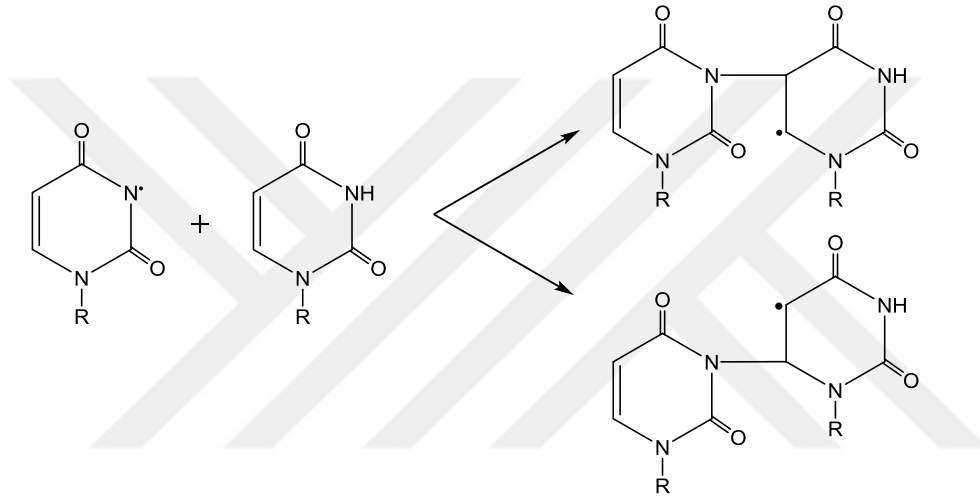
2.4.3.2 Nükleotid ve nükleik asitler ile HOCl reaksiyonları

HOCl ile riboz reaksiyona girmediği bilinmektedir ve bu nedenle nükleotidlerde HOCl için en olası hedef azot içeren bazlardır. HOCl birinci hedef amino grubundaki azot sitosin, guanozin ve adenosin (-NH₂) veya ikinci hedef olarak üridin, timidin ve guanozinin heterosikli imino grubundaki azot olarak görülüyor.



Şekil 2.26. Nükleotidler ile hipokloröz asitin reaksiyonu (Panasenko, 2013).

Nükleotidler ile HOCl nin reaksiyona girmesi sonucu adenozin veya guanozin kloroamin oluşur ve daha sonra ayrışma sonucunda ise N-merkezli radikaller oluşur.



Şekil 2.27. Nükleik asitler ile hipokloröz asitin reaksiyonu (Panasenko, 2013).

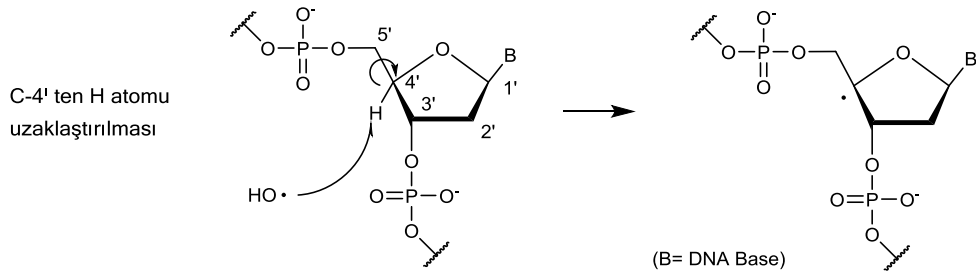
Oluşan N-merkezli radikalın başka bir nükleotidle etkileşmesi sonucu C-merkezli radikal oluşmasına yol açar (Hawkins & Davies, 2001).

2.4.3.3 Hidroksil radikalının DNA üzerindeki etkisi

Hidroksil radikali reaktifliği yüksek elektrofilik bir radikaldır. Hidrojen atomunu etkili bir şekilde koparır ve iki katı daha hızlı bir şekilde çifte bağlara bağlanır. Ancak DNA da bulunan fosfat gruplarıyla daha yavaş reaksiyon vermektedir. Bu nedenle DNA iki şekilde saldırır:

1. DNA bazlarındaki π bağların bağlanır.
2. DNA daki deoksiriboz şeker ünitelerinden hidrojen koparır.

DNA yapısında bulunan şekerin C-4 deki C-H bağı daha zayıf olduğu için hidroksil radikali C-4 hidrojeni koparır ve C-4 merkezli radikal oluşur (Şekil 2.29).



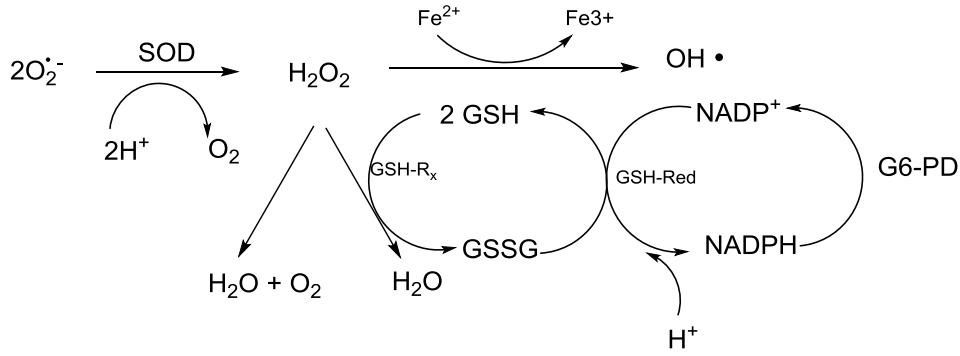
Şekil 2.28. DNA ile hidroksil radikalının etkileşmesi (Valko vd, 2004).

2.5 ANTİOKSİDANT SAVUNMA SİSTEMİ

İnsan sağlığı üzerindeki oksidatif stresin olumsuz etkileri ciddi bir sorun haline gelmiştir. Vücudumuz stres altında reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonu (superoksit anyon radikali, hidroksil radikali, singlet oksijen ve hidrojen peroksit) enzimatik antioksidant (superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz) ve enzimatik olamayan antioksidantlar (askorbik asit, vitamin E ve glutatyon) konsantrasyonundan daha yüksektir (Ferreira & Abreu, 2007).

Oksidatif stresin artması sonucu oluşan reaktif oksijen türleri hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına saldırır ve bir hidrojen atomu kopararak zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar. Sonuçta serbest radikeller, oksidatif reaksiyonlar sonucu, lipid, protein ve nükleik asitler gibi vücutta bulunan bileşiklere zarar vermekte ve birçok biyolojik sorunlara neden olmaktadır.

Organizma serbest radikallere ve bunların neden olduğu zararlara karşı bir savunma sistemine sahiptir. Serbest radikalleri ve bunların meydana getirdiği zararları önleyen maddeler antioksidantlar olarak adlandırılırlar. Tüm hayvansal ve bitkisel organizmalar serbest radikallerin etkilerini önlemek için antiosidan savunma sistemlerine sahiptir.



Şekil 2.29. Antioksidantların savunma mekanizması

Serbest radikal kaynaklı oksidatif hasara karşı savunma mekanizmaları şunlardır:

1. Oksijeni ortamdan uzaklaştırır veya lokal olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltırlar
2. Katalitik metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırırlar.
3. Süperoksit veya hidrojen peroksit gibi anahtar role sahip ROT'u ortamdan uzaklaştır veya daha zayıf moleküllere çevirirler.
4. Serbest radikal hasarına yol açan zincirleme reaksiyonların başlamasını engellerler.
5. Serbest radikallere bağlı oluşan hasarı onarıcı etkiler gösterirler.

Antioksidant savunma sistemi endojen (enzimatik ve enzimatik olmayan) ve ekzojen (vitaminler) olmak üzere ikiye ayrılabilir (Gupta vd, 2014).

Enzimatik antioksidantlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP) ve katalaz gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayanlar ise tokoferol, β karoten, askorbik asit, ürat, sistein, seruloplasmin, transferrin ve albümindir.

Enzimatik Olmayan Eksojen Antioksidant Etki mekanizması

Askorbik asit	Hidroksil radikallerini (HO [•]) temizler.
B-Karoten	Yağda çözünür, radikaller ile singlet oksijeni temizler.
Vitamin E	Yağda çözünür, zincir kırıcı etki gösterir.
Albumin	Bakır ve hem grubunu bağlar, Cl ortamdan uzaklaştırır.
Seruloplazmin	Bakır iyonlarını bağlar, H ₂ O ₂ kullanarak bakırın reoksidasyonunu sağlar.
Transferrin	Ferrik haldeki demir iyonlarını (Fe ³⁺) bağlar.
Bilirubin	Peroksil radikallerini temizler.
Üreat	Radikalleri temizler ve metalleri bağlar.
Melatonin	Hidroksil radikalini temizler.

Enzimatik yapıda olan Endojen Antioksidantlar

Superoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikalini temizler (O ₂ ^{•-}). $O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$
Katalaz (KAT)	Hidrojen peroksiti (Yüksek konsantrasyonda) uzaklaştırır. $H_2O_2 + O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$
Glutasyon peroksidaz (GP)	$H_2O_2 + GSH \longrightarrow GSSG + H_2O$ Hidrojen peroksiti (Düşük konsantrasyonda) uzaklaştırır.
Glutasyon redüktaz (GR)	$GSSG + NADPH + H \longrightarrow 2GSH + NADP +$

Çizelge 2.3. Endojen ve ekzojen antioksidantlar

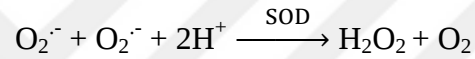
2.5.1 Endojen antioksidantlar

Tüm hayvansal ve bitkisel organizmalar serbest radikallerin etkilerini önlemek için endojen antioksidant sistemlere sahiptirler. Bu sistemler enzimatik olan ve olmayan diye iki kısma ayrılabilir. Enzimatik antioksidantlar süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GP) ve katalaz gibi enzimlerdir (Çizelge 2.2).

2.5.1.1 Süperoksit dismutaz (EC.1.15.1.1)

1967 yılında biyokimyacı Irwin Fridovich ve Joe McCord serbest radikal hasarına karşı hücrel savunmaya sağlayan önemli bir antioksidant enzim olan SOD' u keşfetti. Tıbbi bilim adamlarının bu keşfi serbest radikallere ciddi bakılmaya başlandı. Çoğu durumda, işlem otomatik olarak kontrol edilir ve serbest radikallerin tehlikesi yüksek olmaz (Mccord, 1969).

Süperoksit düşük seviyesi sürekli aerobik solunum tarafından oluşturulur. Mitokondri, elektron taşıma zinciri su oluşturmak üzere moleküler oksijene dört elektron eşlik eder ve bazen tek bir elektronu aktarır. Süperoksit, hidrojen peroksit ile reaksiyona girebilmesi ve hidroksil radikalleri oluşturabilmesi depo formundaki Fe(III) ün Fe (II) ye indirgenir. SOD (EC 1.15.1.1) son derece reaktif süperoksit anyon O_2^- ve daha az reaktif tür olan H_2O_2 katalize antioksidant enzimdir. Peroksit KAT veya GP reaksiyonu ile yok edilebilir (Sandalio, 1997).



Süperoksit dismutaz diğer bir fonksiyonu dehidratazları (dihidroksi asit dehidrataz, akonitaz, 6-fosfoglukonat dehidrataz ve fumaraz A ve B) serbest superoksit radikal inaktivasyonuna karşı korumaktır (Benov & Fridovich, 1998). SOD ya çekirdekli Cu, Zn içeren ya da mononükleer Fe, Mn ve Ni kofaktör olarak dört sınıfta tanımlanmıştır. İnsanlarda, SOD un sitozolik Cu, Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD, ve hücre dışı-SOD (EC-SOD) üç formu vardır (Majima vd, 1998). SOD oldukça yüksek reaksiyon oranlarının pinpon mekanizmaya aktif bölgesinde birbirini takip eden oksidasyon ve geçiş metali iyonu indirgenmesiyle dismutazını katalize eder (Hsieh vd, 1998).

2.5.1.1.1 Manganez süperoksit dismutaz

Mn-SOD süperoksit iki aşamalı dismutasyon sırasında ve Mn döngüleri (III) -Mn (II) alt birimi için bir manganez atomunu ihtiva eden bir homotetramer (96 kDa) dir. Mitokondri solunum zinciri oksijen radikallerinin önemli bir kaynağıdır. Mn-SOD, bu superoksit radikali işlevleri kaldırmak için bir nükleer kodlanmış birincil antioksidant enzimdir (Guan vd, 1998).

Mn-SOD biyolojik açıdan birçok önemi vardır bunlar (Mates & Sanchez-Jimenez, 1999).

1.Mn SOD E. Coli aerobik şartlar altında yetiştirildiğinde genlerinin mutasyon sıklığı artığında inaktivasyonu sağlamak.

2.Saccharomyces cerevisiae genin ortadan kaldırılması oksijen hassasiyetini arttırmaktadır.

3.Tümör nekroz faktörü (TNF) Mn-SOD seçici olarak indükler, çeşitli fare dokusu ve kültürlenmiş hücreler Cu, Zn-SOD, katalaz veya GP mRNA ise indüklenmez.

4.Transjenik farelerde insan Mn-SOD genlerinin sentezlenmesi, oksijen ile tetiklenen akciğer hasarı ve adriamisin kaynaklı kalp toksisiteye karşı koruma sağlar. Böylece, Mn-SOD aerobik koşullarda hayatta kalması ve oksijen kaynaklı radikalin toksik hücrel direncin gelişimi için gereklidir.

2.5.1.1.2 Bakır, çinko süperoksit dismutaz

Cu, Zn-SOD (SOD-1), genellikle, bir bakır ve bir çinko atomu ile köprü oluşturan ortak bir ligantı: his 61, her biri yaklaşık olarak 32 kDa, bir metal küme, aktif bölgenin, iki özdeş alt birimlerine sahip olan bir başka sınıfı vardır (Banci vd, 1998). H_2O_2 ile bakır ve çinko ihtiva eden SOD inaktivasyonu birkaç sıralı reaksiyonlar sonucudur. İlk olarak, H_2O_2 ile Cu (I) 'in, Cu (II) indirgenmesi; İkinci olayda H_2O_2 ile Cu (I) 'in daha sonra oksidasyonu, bu şekilde, güçlü oksitleyici üreten, Cu (I) O, Cu (II) OH ya da Cu (III), ve histidin son olarak oksidasyonu, SOD aktivitesi kaybına neden olur. Mn-SOD tüm tümörlerde bulunan ve oysa Cu, Zn-SOD ve Mn-SOD aktiviteleri arasındaki oran normal dokulardan farklıdır değildi , tümörler Cu, Zn-SOD dokularda normal metabolik olaylarda daha az sahiptir. Bu enzimden yoksun fareler parakuat toksisiteye karşı belirgin bir duyarlılık göstermişlerdir. Daha şaşırtıcı olan, vahşi tipteki ve heterozigot farelerle kıyaslandığında, dişi homozigot fareler önemli derecede azalmış bir doğurganlık sergilemişlerdir. Ayrıca, embriyonik letalitede önemli bir artış sergilemişlerdir. Bu bilgi memelilerde, dişilerin üremesinde anormalliklere neden olan serbest oksijen radikallerinin rolünü ortaya koymaktadır (Seo vd, 1997).

2.5.1.1.3 Hücre dışı süperoksit dismutaz

EC-SOD plazma, lenf ve sinoviyal sıvı oluşturan dokuların geçiş alanlarda ve aynı zamanda hücre dışı sıvılarda bulunan SOD aktivite gösteren çoğunluğu (heparin ve heparan sülfat gibi belirli glikozaminoglikanlar için yüksek afiniteye sahip) bir salgı, tetramerik, bakır ve çinko içeren glikoproteindir (Adachi & Wang, 1998). Kan damar duvarı interstisyumda önemli bir antioksidantdır ve süperoksit anyon temizlemek için tasarlanmış olan bilinen bir hücre dışı bir enzimdir (Enghild vd, 1999). EC-SOD olarak, alt-tabaka ya da diğer oksidanlar indüklenmemiştir (ksantin oksidaz artı hipoksantin, paraquat, pyrogallol, a-naphthoflavone, hidrokinon, katekol, Fe^{2+} iyonlar, Cu^{2+} iyonlar, butiyonin sulfoksimin, diethylmaleate, t-butil hidroperoksit, Kümen hidroperoksit, selenit, sitiolone ve yüksek oksijen kısmi basınç) ve memeli dokularında düzenlenmesi, en başta, oksidanlara tek tek hücrelerin bir tepki olarak daha sitokinler tarafından koordine bir şekilde meydana gelir. (Buschfort vd, 1997). EC-SOD nitrik oksit inaktive vasıtasıyla da dahil olmak üzere, çeşitli fizyolojik yollarının için önemli olan hücre dışı süperoksit kullanılabilirliğini denetler.

2.5.1.1.4 Nikel süperoksit dismutaz

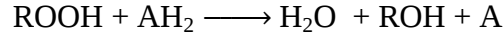
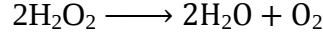
Ni-SOD *Streptomyces* sp. ve *Streptomyces coelicolor* sitozolik fraksiyondan saflaştırılmasıyla elde edilmiştir. pH 4.0-8.0 ve 70 °C üzerinde 13.4 kDa, dört özdeş alt birimden oluşur. Siyanür ve H_2O_2 tarafından inhibe edilir ve ancak çok az azid tarafından inhibe edilir. Amino asidi bileşimi, demir, manganez ve çinko-bakır SOD' lardan farklıdır.

2.5.1.2 Katalaz (E.C 1.11.1.6)

KAT hidrojen peroksitin bozulmasından sorumlu bir enzimdir. Neredeyse tüm canlı hücrelerde koruyucu bir enzim mevcuttur.

Katalaz reaksiyonu iki adımda gerçekleşir. Hidrojen peroksit molekülü, bir oksiferil türene heme okside eder. Bir porfirin katyonu kökü bir oksidasyon eşdeğeri porfirin halkasına demir ve bir çıkarıldığında kökü bir porfirin katyonu oluşturulur.

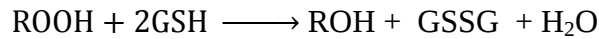
İkinci bir hidrojen peroksit molekülü oksijen ve su molekülü üreten, dinlenme durumu enzim yeniden oluşturmak için bir indirgeyici madde olarak işlev görür.



KAT (EC 1.11.1.6), bir alt birim için tek ferriprotoporfirindir grubu içeren 60 kDa dört aynı tetrahedral düzenlenmiş alt birimleri içeren bir tetramerik enzimdir, ve yaklaşık 240 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahiptir. Katalaz, peroksidaz aktivitesi gösteren H vericiler (metanol, etanol, formik asit ya da fenol) ile H_2O_2 ve moleküler oksijen vermek üzere reaksiyona girerler. Hayvanlarda, hidrojen peroksit KAT ve GP ile detoksifiye edilir. KAT içlerinde oluşturulan hidrojen peroksiti hücreleri korur. KAT, normal koşullar altında, bazı hücre türleri için gerekli olmasa da, bu hücrelerin uyarlanabilir karşılık oksidatif strese tolerans gelişiminin önemli bir rol oynar. SOD ve KAT içeren lipozomlar önce ve maruz kalma sırasında damardan enjekte edildiğinde % 100 oksijene maruz bırakılan sıçanların hayatta kalması arttı (Aebi, 1980).

2.5.1.3 Glutasyon peroksidaz (E.C 1.11.1.9)

Glutasyon peroksidaz (GP) hidrojen ve lipid peroksitleri gibi serbest radikalleri kaynaklı hücre hasarlarına karşı koruyan sorumlu bir enzimdir. GP (EC 1.11.1.19) dört aynı alt birim ve her biri tek bir selenosistein (Sec) kalıntısı içermektedir ve enzim aktivitesi için gereklidir. GP (80 kDa), GSH ile hidroperoksitlerin indirgenmesini katalizlemekte, böylece oksidatif hasara karşı memeli hücrelerini korumaktadır. Glutasyon metabolizması en önemli antioksidant savunma mekanizmalarından biridir.

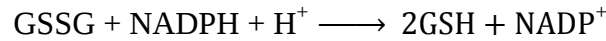


Memelilerde izoformun düzeyleri doku tipine bağlı olarak değişmesine rağmen, beş tane glutasyonun izoenzimi vardır. Sitozolik ve mitokondriyal glutasyon peroksidaz (GP veya GP1) glutatyona gider yağ asidi hidroperoksitler ve H_2O_2 azalır. GP1 ve fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (GP ya GP4) pek çok dokuda bulunurlar. GP4 sitosol ve membran fraksiyonların ikisinde de yer almaktadır. PHGP fosfolipid hidroperoksitler, yağlı asit hidroperoksitler ve kolesterol hidroperoksitler

ile bunların üretilen peroksid membranlar ve okside lipoproteinler doğrudan azaltılabilir (Tappel, 1978). GP1 eritrosit, böbrek ve karaciğerde baskın olarak ve GP4 yüksek böbrek epitel hücreleri ve testislerde ifade edilir. Sitozolik GP2 veya GP-G1 ve hücre dışı GP3 veya GP-P ise sırasıyla gastrointestinal sistem, böbrek, haricinde pek çok dokuda tespit edilmiştir. GP, katalaz ile H_2O_2 ile substrati paylaşmasına rağmen, ancak tek başına lipid ve diğer organik hidroperoksitlerle etkili reaksiyona girebilir. Glutasyon döngüsü düşük seviyelerdeki oksidatif strese karşı önemli bir savunma kaynağı, oysa ciddi oksidatif strese karşı katalaz daha önemli bir koruma sağlar. GP uzun zaman katalaz gibi hayvan hücrelerinde ve özellikle insan eritrositlerinde H_2O_2 detoksifikasyon için başlıca önemli bir antioksidant enzim olarak düşünülüyordu, ancak GP, H_2O_2 ye afinitesi katalazdan düşüktür (Izawa vd, 1996).

2.5.1.4 Glutasyon redüktaz (E.C.1.6.4.2.)

Glutasyon redüktaz sitozolde ve mitokondride yükseltgenmiş halde bulunan glutasyonun (GSSG) NADPH veya NADH ile indirgenmiş glutatyon (GSH) indirgenmesini katalizler.



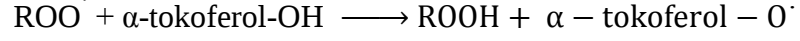
Tepkimede yükseltgenmiş glutasyon (GSSG) indirgenirken, NADPH ise yükseltgenir. Riboflavin yükseltgenmiş glutasyon için önemli bir kofaktör ve bu yüzden hücre içinde indirgenmiş glutasyon (GSH) seviyesini ve glutasyon peroksidaz aktivitesini etkileyebilir. Riboflavin eksikliğinde eritrositler oksidatif strese karşı duyarlı olur.

2.5.2 Enzimatik olmayan enzimler

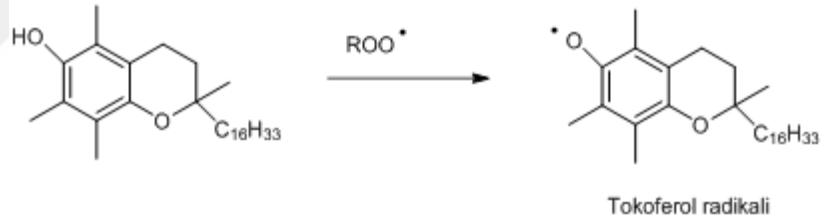
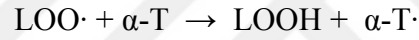
2.5.2.1 E vitamini

E vitaminleri 8 adet doğal mevcut tokoferollerdir. Bunlardan en aktif olanı α -tokoferoldür. Özellikle α -tokoferol çok kolay oksitlenebilme özelliğine sahiptir. Antioksidant özelliğinden dolayı E vitamini serbest radikallerle tepkimeye girerek oksidasyona duyarlı moleküler yapıların istenmeyen oksidasyonların önlenmesi veya azaltılmasında etkili olur (Jilal & Fuller, 1993). Başlıca fonksiyonları; hücre

membran yapısında bulunan fosfolipitlerin serbest radikallerin oksidasyonlarından korumaktır. zincir kırıcı bir antioksidant olarak bilinir. Lipit peroksit radikali ($\text{ROO}\cdot$) parçalayarak lipit peroksidasyon zincir reaksiyonları sonlandırır.



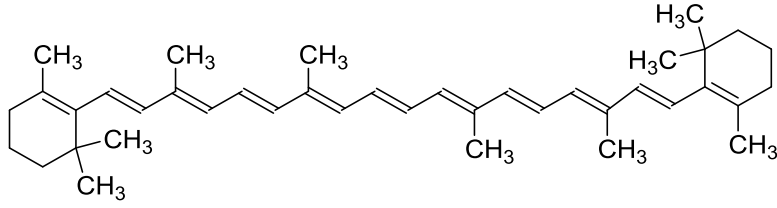
Oluşan tokoferoksil radikali glukronik aside konjuge edilerek safra yoluyla atılır. E vitamini okside olduktan sonra askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenmektedir. Glutatyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini emilimi için selenyum gereklidir. Güçlü ve doğal bir antiosidant olan E vitamini süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni ve lipid perosit radikallerini süperme yetenekleri vardır. Yapısındaki fenolik hidrojeni bir radikal şeklinde peroksidasyona uğramış çok doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikallerine aktararak serbest radikal zincir reaksiyonlarını durdurmaktadır.



Şekil 2.30. E vitaminin antioksidant aktivitesi (Lubin & Machlin, 1982)

2.5.2.2 Karotenoidler ve retinol

Bitkilerde karotenoidler, hayvanlarda ise retinol esteri bulunur. Karotenoidler başlıca, A vitaminin öncül maddesi olan β -karotendir. β -karotenin singlet oksijeni baskılama, süperoksit radikalini temizleme ve peroksit radikali ile etkileşerek antioksidant etki gösterirler. Özellikle havuçta bol bulunan bu antioksidant molekül izoprenoid sistemine sahip hidrofobik yapıya sahiptir. β -karoten düzeyi ile kanser ve kalp-damar hastalıkları riskinde güçlü bir ilişki olduğu, yeterli miktarda domates, marul-kıvırcık, havuç, margarin ve peynir tüketiminin akciğer kanseri gelişimini belirgin dercede engellemektedir (Omoni & Aluko, 2005).



Şekil 2.31. β -karotenin yapısı

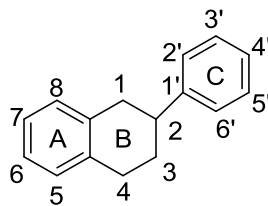
2.5.2.3 Ubikinonlar

Lipitlerde çözünen ve izoprenoid içeren kinon türevleridir. Koenzim Q10 bir antioksidan olarak, serbest radikalleri süpürür, lipit ve protein peroksidasyonunu baskılar. İndirgenmiş formu, ubikinol (CoQH_2), bir lipofilik antioksidan olarak hareket eder ve elektron taşıma sisteminde elektron ve proton taşınmasına katılır. Ubikinol, oksidanları nötralize etmek için elektron verir ve çok güçlü bir antioksidan aktivitesi gösterir. Böylece koenzim Q10, H_2O_2 ve $\text{O}_2^{\cdot\cdot}$ gibi toksik ROS'lara karşı etkin bir koruma sağlar. Koenzim Q10, vitamin E' ye benzer oranlarda lipid peroksidasyonunu önler. Koenzim Q10, α -tokoferol ile sinerjik olarak çalışır, aktif formlarını yeniden oluşturur ve vitamin C ile benzer bir mekanizmayla etkisini gösterir (Gürkan & Bozdağ-Dündar, 2005).

2.5.2.4 Flavonoidler

Bitkilerdeki kırmızı, sarı ve mavi renk pigmentlerini, oluşturan polifenollerdir. Başlıca; elma, portakal, limon gibi meyveler; patates, karnabahar gibi sebzelerde bulunur. Flavonoidler farklı yollarla lipid peroksidasyonunu engellediği belirlenmiştir (Stavric, 1994).

1. Peroksidasyonu başlatan radikali tutar.
2. Metal iyonlarını bağlar.
3. Radikal oluşturuucu enzimleri inhibe eder.

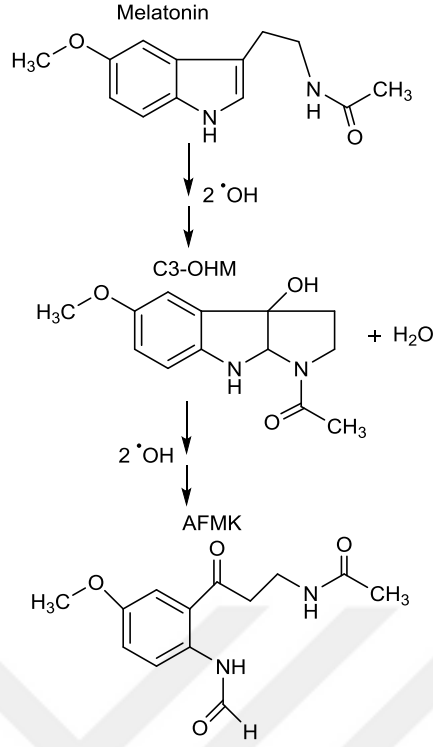


Şekil 2.32. Flavonoidlerin kimyasal yapısı

2.5.2.5 Melatonin

Melatonin karaciğerde metabolize edilir ve idrarla atılır. Melatonin kanser önleyici etkileri, hücresel hasarın onarımındaki rolü ve bağışıklık sistemini destekleyici etkileri vardır. Melatonin lipit çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle hücrelere rahatça girebilmektedir. Melatonin güçlü bir radikal süpürücüsü olduğu gibi, radikaller üzerinde dolaylı etkilere de sahiptir. Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GP enzimini aktive ederek, O_2 radikalini H_2O_2 'ye kataliz eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek, antioksidant etki gösterir.

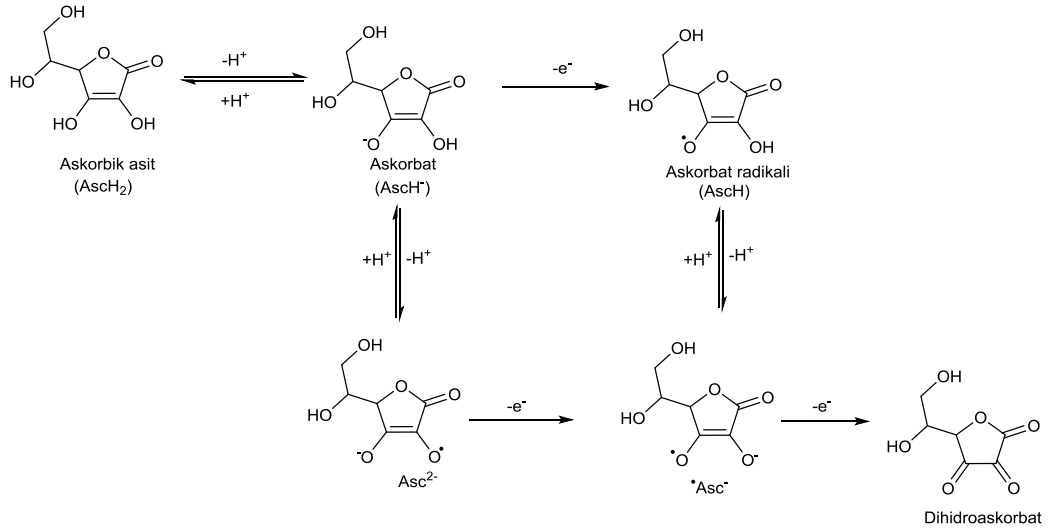
En zararlı radikallerden hidroksil radikalini ortadan kaldıran güçlü bir antioksidantır. Melatonin hidroksil radikalleri ile reaksiyona girdikten sonra indoil katyon radikaline dönüştüğü ve bu radikallerinde süperoksit radikalini tutarak antiosidant etki yaptığı bildirilmiştir. Diğer bir önemli özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin bütün önemli organellerine ve çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin engelini de kolay geçer. Melatonin'in yüksek dozda ve uzun süreli kullanımında bile toksik etki görülmemiştir. Ayrıca bazı antiosidantlar gibi prooksidan aktiviteside yoktur. Melatonin elektron taşıma sisteminin etkinliğini artırarak serbest radikal üretilmesini ve elektron kaçaklarını azaltır (Reiter vd, 2006).



Şekil 2.33. Melatonin antioksidant aktivitesi (Hardeland vd, 1993)

2.5.2.6 C vitamini (askorbik asit)

Suda çözünen bir vitamin olan C-vitamini vücut sıvısında genellikle askorbat olarak bulunur. Kolayca elektron vererek dehidro askorbik asite kendiliğinden okside olur ve superoksit, hidrogen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikali, peroksil radikali ve singlet oksijeni süpürücü etki gösterir. Askorbik asit olarak da bilinen C vitamini kimyasal olarak bir ketolaktondur. C-vitamini lipid peroksidasyonunu başlatmadan peroksil radikallerini su fazında inhibe ederek, biyolojik membranları peroksidatif hasardan korur. C vitamini suda çözünen güçlü bir antioksidandır. Vücudumuzdaki tüm doku ve parçaları onarılması için C vitaminine ihtiyaç duyulur. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girer ve ortamdan uzaklaştırılır. Süperoksit radikali gibi ferri demiri ferro demire indirgeyen ikinci sellüler ajandır ve bu nedenle peroksidan olarak değerlendirilir. C Vitamini lipitlerde çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen α -tokoferoksil radikallerinden α -tokoferolü yeniden oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilir (Carr & Frei, 1999)



Şekil 2.34. Askorbik asit radikal süpürücü aktivite mekanizmaları (Carr & Frei, 1999).

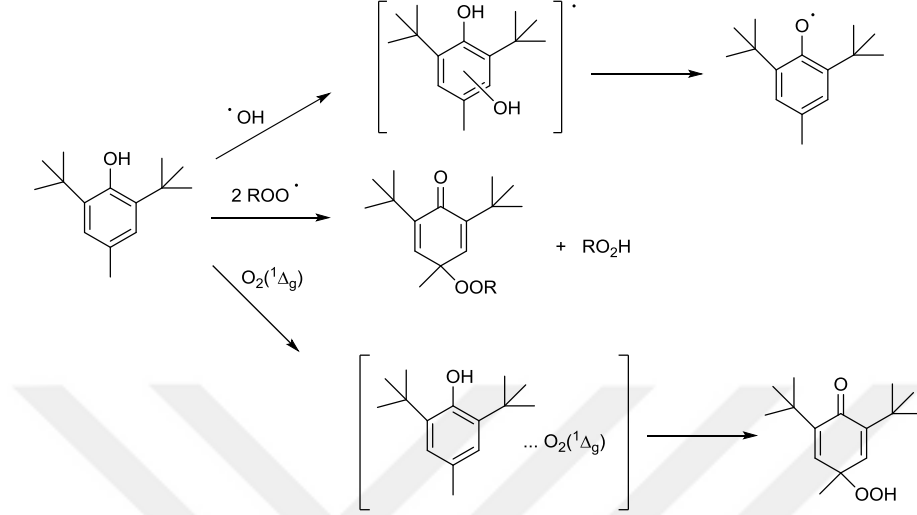
2.5.3 Sentetik antioksidantlar

Sentetik antioksidantlar butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillatlı hidroksianisol (BHA), yaygın gıda koruyucu olarak kullanılır ve bu nedenle insanlar tarafından kayda değer miktarlarda tüketilir (Verhagen vd, 1990). Bununla birlikte, bu bileşiklerin gıdalarda kullanım üzerinde sıkı düzenlemelerde elde edilen sağlık riskleri ile ilgili olmuştur (Hettiarachchy vd, 1996). BHA sıçanların mide lezyon oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. Fare ve kobay üzerinde yapılan çeşitli çalışmalar BHT nin yüksek dozlarda iç ve dış kanamaları neden olarak ölüme neden olacağı gösterilmiştir. Gıda sanayisinde yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidantlar; PG (propil gallat), BHA (bütıl hidroksianisol), BHT (bütıl hidroksitoluen) ve TBHQ (tersiyer bütılhidrokinon)'dır.

2.5.3.1 Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

1954 yılında gliseridler üzerinde etkili ve koruyucu bir antioksidant olduğu belirlenmesi sonucunda gıda olarak tüketilen yağlarda ve diğer bazı gıdalarda kullanılmaya başlanmıştır. BHT, yağlarda iyi çözünebilen ancak suda çözünmeyen, beyaz renkli ve kristal yapıda bir madde olup, 760 mmHg basıncında kaynama noktası 265 °C' dir. Erime noktası 69,7 °C' dir. Bu madde BHA gibi bitkisel yağlarda

düşük aktiviteye sahip olmasına karşın diğer antioksidantlar ile birlikte kullanıldığında yağın ilave edildiği gıdaya koruma özelliğinden yararlanılmaktadır. BHT, BHA ile sinerjik etki gösterirken, gallatlar ile sinerjik etki meydana getirmemektedir.

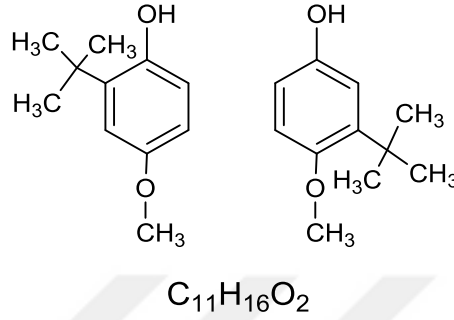


Şekil 2.35. BHT nin antioksidant aktivitesi (Homer, 2002)

2.5.3.2 Bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA)

BHA beyaz, mumsu katı bir yapıya sahip, erime nokatsı yaklaşık 48-63 °C olan ve hem hayvansal hemde bitkisel yağlarad çözünebilen ancak suda çözünmeyen bir antioksidanttır. Gıdalarda kullanımı ilk olarak 1948 yılında ABD’ de izin verilmiş ve günümüzde de pek çok ülkede gıda olarak tüketilen katı ve sıvı yağlarda kullanılmaktadır. Bazı durumlarda tersiyer butil grubunun, fenolik hidroksil (-OH) grubu üzerinde koruma meydana getirdiği ileri sürülmektedir. Bu durum molekülü dış reaksiyonlardan korumakta ve daha az uçucu ve daha çok yağda çözünür forma dönüşmektedir. Yapısındaki hidroksil gruba karşı orto veya meta pozisyonunda yer alan tersiyer butil grup nedeni ile BHA’ya engelleyici fenol adı verilmektedir. Bu sterik engellenmenin, tersiyer butil grubunu fenolik yapının antioksidatif aktivitesi ile girişim meydana getirmesi ve bu nedenle BHA’nın bitkisel yağlarda etkisinin az olmasına neden olduğu söylenmektedir. BHA, bitkisel yağlarda etkin bir antioksidant olamamasına karşın, genellikle diğer antioksidantlar ile (gallatlar) beraber kullanıldığında hem fenolik yapıda bulunan antioksidantların bir arada kullanılması ile elde edilen sinerjik etkiden, hemde BHA’nın yağın kullanıldığı

ürünü koruyucu etkisinden faydalanmaktadır. BHA fırınlama ve kızartma gibi yüksek sıcaklık işlemleri uygulanan yağlarda kullanıldığında, kolaylıkla algılanabilen keskin bir fenolik koku oluşmaktadır. BHA'nın dezavantajı ise kızartma sıcaklıklarındaki uçuculuğudur ve bu kayıp bazen son ürünü etkileyebilecek kadar çok olabilir (Uğuzlar, 2009).



Şekil 2.36. BHA'nın kimyasal yapısı

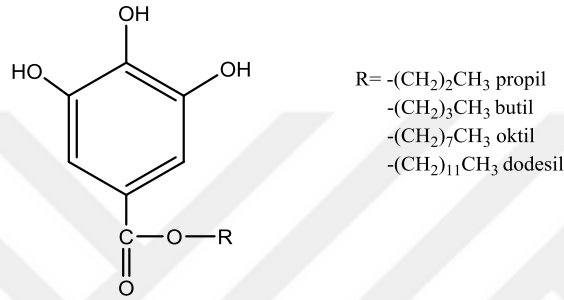
2.5.3.3 Tert-Bütil Hidrokinon (TBHQ)

ABD Gıda ve İlaç İdaresi' nin (FDA) yaptığı çalışma sonucunda etkili bir antioksidant olduğu belirlenen tert-bütilhidrokinonun (TBHQ) kullanımı ilk kez 1972 yılında izin verilmiştir. Mono-tert butilhidrokinon ($C_{10}H_{14}O_2$) yapısında olan bu antioksidant beyaz, kristalimsi ve karakteristik kokusu olan bir maddedir. Son yıllarda özellikle gıdaların işlenmesinde ve insan beslenmesinde yer alan bitkisel yağlar oksidasyona karşı oldukça duyarlı oldukları için kuvvetli antioksidantlara olan gereksinimleri artmıştır. Günümüzde tert-butilhidrokinonun (TBHQ) bitkisel yağlarda stabiliteyi artırmak amacı ile kullanımına birçok ülke tarafından izin verilmektedir. TBHQ 'un bitkisel yağlardaki antioksidatif etkisi diğer antioksidantlara göre daha fazladır. Tek başına veya BHA ve BHT ile kombine olarak kullanımı daha uygundur. Kullanım sınırı, yağ miktarı üzerinden en fazla % 0,02'dir (200 ppm). PG ile birlikte kullanımı, etkiyi azaltığından tavsiye edilmez.

2.5.3.4 Gallatlar

Gallatlar, trihidroksil yapılarına bağlı olarak yüksek antioksidant potansiyeline sahiptir (Şekil 2.37). Oktıl gallat ($C_{15}H_{12}O_5$) ve dodesil gallat ($C_{19}H_{30}O_5$) katı ve sıvı yağlarda yüksek çözünürlüğe sahip iken, propil gallat ($C_{15}H_{12}O_5$) suda iyi çözünürlük

göstermektedir. Bütün gallatlar, özellikle alkali ortamlarda ısıya karşı oldukça dirençli olup ateş, fırında pişirme ve kızartma sırasında gallatlarda fark edilebilir. Derecede kayıplar olmaktadır. Gallatlar antioksidant olarak oldukça etkili maddelerdir. Yiyeceklerin, yağların ve medikal preparatların tazeliğini, besin değerini, aromasını ve rengini korumak ve dengelemek için yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır Ancak bunların metal iyonları ile özellikle demir iyonları ile koyu renki kompleksler oluşturma özellikleri, yağda ve substrat istenmeyen renk değişikliklerine neden olamakta ve bu yüzden de kullanımları sınırlandırılmaktadır (Zurita vd, 2007).



Şekil 2.37. Gallatların kimyasal yapısı

2.6 Güz yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.)



Şekil 2.39. Güz yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.)

Güz yemiş genellikle geniş çalı veya ufak ağaçlar şeklinde kendini gösteren, zarif sarı çiçekleriyle, gümüş noktalı yaprak ve kırmızı zms meyveleriyle peyzaj değeri çok yüksek bir bitkidir. *E. umbellata* genellikle yüksekliği 3,5-5,5 m, genişliği 3,5-5,5 mm olan dikenli bir çalı türüdür (Eckardt, 1987) (şekil 2.39). Gz yemişi meyvesi eylül-ekim aylarında olgunlaşır (Sternberg, 1982). Özellikle ilk donlar başlamadan önce toplanan meyvelerin çok sulu ve en mükemmel tada ulaştığı, hafif ağız buran, Frenk zm, cranberry ve şeftaliyi andıran bir tadı olduğu söylenmektedir. Çin, Kore ve Japonya’da doğal olarak yetişir, 1800’l yıllarda Amerika’ya getirilmiş ve yaygınlaşarak birçok yerde doğal olarak yetişmeye başlamıştır. Ülkemizde 2000’ li yıllarda yetiştirilmiştir ve karadeniz bölgesinde yaygınlaştırılmıştır (Çelik vd, 2012). Son yıllarda yapılan araştırmalar gz yemişi meyvelerinin yüksek miktarlarda besleyici elementler içerdiği saptanmıştır. *Elaeagnus umbellata* meyvesinin likopen içeriği domatesten 17 kat fazla olduğu saptanmıştır (Kohlmeier vd, 1997). Likopenin prostat kanseri riskini azalttığı üzerine ciddi araştırmalar olduğu düşünüldüğünde gz yemişin iyice ön plana çıkmaktadır. Aynı zamanda gz yemişinin meyve ve çekirdeklerinde insan vücudu için gerekli A, C, E vitaminleri, protein, esansiyel yağ asitleri, flavonidler, β-karotene ve likopen içeriği çok zengin olduğu saptanmıştır (Chopra vd, 1986). Bol salkımlar halinde oluşan gz yemişin meyveleri taze olarak tketelebildiği gibi, reel ve jel yapımında da kullanılabilir.

2.6.1 Gz yemişin biyokimyasal zellikleri

Anavatanı asya olan gz yemişi, yetiştirildiği ülkelerde büyük ilgi gören bir bitkidir. Eksi 40 dereceye kadar soğuğa ve kurak koşullara dayanabilmektedir. Çin, Japonya ve Güney Kore gibi Asya lkelerinde “*E. umbellata*” Türkiye’de ise Gz Zeytini, Gz Yemişi, Çıngıl iğde adıyla bilinmektedir. Gz yemişi bitkisi, Asya lkelerinde meyve, meyve suyu, reel, jöle, sos ve kuru meyve olarak tüketiliyor. Ayrıca yaprak, kök ve çiçeklerinden de ilaç sanayiinde yararlanılıyor. şimdi bu bitkinin sağlık için önemli bir enerji kaynağı olduğu ortaya çıktı. Prostat kanseri, pankreas kanseri gibi birçok kansere yakalanma riskini azaltmaktadır. Ayrıca kalp kaslarını güçlendiren ve kolesterolü düşüren bir meyvedir. Ayrıca hücrelerin yenilenmesini sağlar (Fordham vd, 2003).

Domatesten 17 kat daha fazla likopen içeren g z yemişi, yetiŐtirildiĐi ülkelerde büyük ilgi gören ve ekonomik getirisi yüksek olan g zyemiŐi ülkemizde peyzaj bitkisi olarak yetiŐtirilmektedir. 2010 Yılında Ondokuz Mayıs  niversitesi tarafından Samsun İli 2 köyünde deneme üretimine baŐlanılmıŐtır.

Sabir vd (2007) *E. Umbellata*'nın antibakteriyel özelliği ile ilgili çalışma yapmıŐlardır.

Clinton (1998) likopenin insan sağlığı ve hastalıkları üzerindeki etkisin araştırmışlardır.

Aziz (2015) biyoaktif bileşikler, esansiyel yağ asitleri, beta karoten, lutein, A, C ve E vitaminleri ile yağ asitlerince zengin olan g z yemişinin erkek kısırlığına da iyi geldiği belirtilmektedir.



3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Sigma Aldrich: SOD, ksantin oksidaz, glutatyon redüktaz, GSH (ind), kümenhidroperoksit, sodyum azid (NaN_3), glutatyon (yük), TCA (trikloroasetik asit), K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , hidrojen peroksit, BSA, NADP^+ .

Merck: Sodyum hidroksit, Folin & Ciocalteu's reaktifi, EDTA, tris, potasyum klorür.

Serva: Cyt.c, NADPH,

Across: TBA, MDA

Carlo erba: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Panreac: Na-K tartarat

3.2 Kullanılan cihazlar

pH metre (Eutech Instruments pH 7), liyofilizatör (Alpha 1-2 LD Plus), laboratuvar blender (Waring Commercial), ayarlanabilir ısıtmalı karıştırıcı (EMS 300 HS), ultrasonik banyo (Kudos), vorteks (Velp Scientifica), etüv, ısıtıcı (Electomantle), santrifüj (MSE Mistral 2000), sallantılı su banyosu (Clifton), UV-Vis spektrofotometre (Thermo UV/Vis), 0,00001 g duyarlılıkta terazi (Radwag), soğutmalı ultrasantrifüj (Beckman Coulter), soğutmalı ultrasantrifüj (SIGMA 3K30)

3.3 Güz yemişi örnekleri

Güz yemişinin meyve ve yaprakları 2015 sonbahar mevsiminde Samsun 'un İlkadım ilçesi Doğu Park'ta toplandı. Güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri fanlı etüvde kurutuldu. Laboratuvar blenderından geçirilip toz haline getirildi ve $-20\text{ }^\circ\text{C}$ de saklandı.

3.4 Yöntemler

3.4.1 Ekstraksiyon

Güz yemişi meyve ve yaprakları ekstraksiyonu deiyonize su ile yapıldı. Sulu ekstrakt için önce deiyonize su kaynatıldı ve güz yemişi meyve ve yaprak örnekleri yavaş

yavaş eklendi, beş dakika karıştırıldı ve Watman no:1 süzgeç kağıdında süzme işlemi yapıldı. Daha sonra elde edilen sulu ekstrakt karışımı liyofilizatörde liyofilize edilerek toz ham ekstraktlar elde edildi. Güz yemişi meyve (GYYSU) ve yaprak (GYYSU) sulu ekstrakt örnekleri -20 °C’ de çalışmalarda kullanılmak üzere saklandı.

3.4.2 Deney hayvanı

Tez çalışması, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu’ndan (OMÜHAYDEK) B.30.ODM.020.09.00-050.04-33 no’lu izin alınarak çalışma *Swiss albino* (Mice) türü *in vivo* çalışmalar yapıldı. Deney hayvanları hava sirkülasyonu ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olan ortamda çalışmalar gerçekleştirildi.

3.4.3 Deney hayvanı yem bileşeni

Deney hayvanları Bil Yem Şirket tarafından üretilen standart fare pellet yem verildi (Çizelge 3.1).

Yem Bileşeni	Miktarı (%)
Ham protein	23
Nem	12
HCl’ de çözülmeyen ham kül	8
Ham selüloz	7
Ham yağ	3
Kalsiyum	1,0-2,5
Sodyum	0,5-1
Fosfor	0,9

Çizelge 3.1. Deney hayvanı yem bileşeni

3.4.4 Deney hayvanlarına GYYSU, GYMSU ve BHA uygulanması

Güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının deney hayvanları karaciğer, böbrek, akciğer, beyin, özofagus ve kalp dokularının hücresel fraksiyonlarındaki süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz aktivitelerine ve lipid

peroksidasyonun düzeyine *in vivo* etkilerini belirlemek için 6 grup oluşturuldu ve *in vivo* çalışmalar gerçekleştirildi (Çizelge 3.2).

Grup No	Uygulama Grupları	Uygulama Dozu ve Şekli	Deney Hayvanı Sayısı
1.	Kontrol	Bu grup kontrol grubudur. Deney hayvanlarına pellet yem ve ağızdan destile su verildi (14 gün).	8
2.	Güz yemişi meyve ekstraktı	50 mg/kg vücut ağırlığı dozu; 0,1 mL destile su içinde çözülmüş ekstrakt ağız yoluyla verildi. Deney hayvanlarına pellet yem ve destile su serbest verildi (14 gün).	8
3.	Güz yemişi meyve ekstraktı	100 mg/kg vücut ağırlığı dozu; 0,1 mL destile su içinde çözülmüş ekstrakt ağız yoluyla verildi. Deney hayvanlarına pellet yem ve destile su serbest verildi (14 gün).	8
4.	Güz yemişi yaprak ekstraktı	50 mg/kg vücut ağırlığı dozu; 0,1 mL destile su içinde çözülmüş ekstrakt ağız yoluyla verildi. Deney hayvanlarına pellet yem ve destile su serbest verildi (14 gün).	8
5.	Güz yemişi yaprak ekstraktı	100 mg/kg vücut ağırlığı dozu; 0,1 mL destile su içinde çözülmüş ekstrakt ağız yoluyla verildi. Deney hayvanlarına pellet yem ve destile su serbest verildi (14 gün).	8
6.	BHA (standart madde)	% 0,75 BHA ve günlük tüketilen yem ile BHA verildi (14 gün) . Destilesu serbest verildi. Bu grup pozitif kontrol grubudur.	8

Çizelge 3.2. Deney hayvanlarına GYYSU, GYMSU ve BHA uygulanması

3.4.5 Doku homojenizasyonu ve hücresel fraksiyonların elde edilmesi

Deney hayvanlarına Çizelge 3.2’ de belirtildiği gibi 14. gün boyunca günün belirli saatlerinde güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları verildi. Güzyemişi meyve ve yaprak ekstraktları hergün ağırlıkları tartılan hayvanların ağırlıklarına göre hesaplama yapılarak güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktları miktarı hesaplanarak gavaj iğnesi ile verildi. Standart antioksidant olan BHA deney hayvanları ağırlıklarına göre miktarı hesaplanarak toz halindeki yeme katılarak pellet haline getirildi ve ayrı kafeslerdeki deney hayvanlarına verildi. Her gruptaki deney

hayvanlarına 15. günde hayvanlara sadece yem verilmiştir ve dokuları almak için hazırlıklar yapıldı. Deney hayvanlarına ketamin ve ksilazin hayvanlara intraperitoneal uygulandı. Steril edilmiş malzemeler ile göğüs kafesi açıldı ve kalbin sol ventrikülünden heparin verildi. Daha sonra % 0,9 luk NaCl çözeltisiyle sol ventrikülünden perfüzyon yapılarak dokulardaki kan sağ ventrikülünden çıkış verilerek temizlendi. Daha sonra deney hayvanların dokuları ayrı ayrı propilen tüplere alındı. Dokular sıvı azot içerisinde Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarına getirilerek -80 °C'de saklandı. Daha sonra derin dondurucuda bekletilen dokular 0-4°C de bekletilerek dokuların tamamen gevşetildi ve dokulara bağlı yağlı dokular soğuk deiyonize su ile uzaklaştırıldı. Yıkama ve homojenizasyon işlemleri 0 °C deki ortamda yapıldı. Dokular tekrar soğuk 0.15 M Tris-KCl tampon (0.15 M KCl + (10 mM Tris-HCl, pH 7.4) çözeltisi ve soğuk deiyonize su ile yıkanarak süzgeç kağıdında kurutuldu. Dokular tartıldı ve sıvı azot kullanılarak dokuların tamamen parçalanması sağlandı. Dokular ağırlığının iki katı kadar soğuk Tris-KCl tampon çözeltisi ile homojenize edildi. Homojenat karışımı yaklaşık olarak bir dakika 0-4°C de sonikasyon işlemi uygulandı.

Karaciğer doku homojenatı ilk önce 10000 x g' de yüksek devirli +4°C'de soğutmalı santrifüj ile 20 dakika santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant 100000 x g' de +4 °C' de yüksek devirli soğutmalı santrifüjle 60 dakika santrifüjlenerek sitozolik ve mikrozomal fraksiyonlar ayrı ayrı elde edildi. Elde edilen hücresel fraksiyonlar -80 °C'de küçük hacimlerde saklandı ve enzim aktivite tayinlerinde kullanıldı.

Böbrek, akciğer, özofagus, kalp ve beyin doku homojenatları +4 °C'de yüksek devirli soğutmalı santrifüj kullanılarak 15000 x g' de 30 dakika santrifüjlendi. Elde edilen sitozolik hücresel fraksiyonlar -80 °C'de küçük hacimlerde saklandı ve enzim aktivite tayinlerinde kullanıldı.

3.4.6 Protein tayini

Karaciğer, böbrek, akciğer, özofagus, beyin ve kalp dokularına ait hücresel fraksiyonlarının protein içeriği Lowry Metodu ile tayin edildi (Lowry vd, 1951).

Stok çözeltiler;

A) 0,1N NaOH de hazırlanmış % 2 Na₂CO₃

B) % 1 CuSO₄.5H₂O; 0,5mL

% 1 Na-K Tartarat; 0,5mL

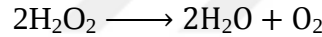
C) 50 mL A + 1 mL B

D) folin C reaktifi: Folin reaktifinden 1 hacim alınıp 1 hacim dd H₂O ile seyreltildi. **Bovin Serum Albumin (BSA):** Konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde 5 mL kadar hazırlandı.

Hazırlanan BSA çözeltilerine ve örnekler 2,5 mL C ilave edilip oda sıcaklığında 10 dakika kadar bekletildi ve daha sonra da 0,25 mL D çözeltisinden ilave edilip hemen vortekslendi. 30 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra 660 nm’ deki absorbanlar sırasıyla kaydedildi. BSA standartları için belirlenen konsantrasyonlara göre standart kalibrasyon eğrisi çizildi ve çizilen eğri bir doğru verecektir. Protein tayini, kalibrasyon eğrisinin denkleminde ($y=mx +n$) hesaplandı.

3.4.7 Katalaz aktivitesinin tayini

Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edildi (Abei, 1984). Çizelge 3.3’ de belirtilen reaksiyon karışımı kullanıldı. Normal deneme şartlarında enzim aktivitesi pH 7 ve 25 °C ‘ de $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ’in tüketilmesi sonucunda, 1 cm yolu bulunan 2 mL’ lik cam kuvarst küvetlerde 240 nm’ de absorbanstaki değişim takip edildi.



Ünite/mg = ($A_{240}/\text{dakika} \times 100$)/($43,6 \times \text{mg enzim/mL reaksiyon karışımı}$)

Bileşen	Stok çözelti	Kör (mL)	Örnek (mL)
Fosfat tamponu	50mM	1	1
H ₂ O ₂	30 mM	1,99	,99
Sitozolik protein	5-15 mg/mL	-	0,01
Deiyonize su	-	0,01	-
Toplam inkübasyon hacmi		3	3

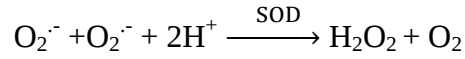
Çizelge 3.3. Katalaz aktivitesi tayini reaksiyon karışımı

3.4.8 Süperoksit dismutaz aktivitesinin tayini

Çizelge 3.4’ de belirtildiği gibi reaksiyon karışımı kullanıldı (Folhe & Otting, 1984). Normal deneme şartlarında enzim aktivitesi pH 7,8 ve 25 °C de süperoksit radikali etkisiyle cyt.c nin indirgenmesi sonucu O₂⁻ radikal kaynağı olan ksantin-ksantin oksidaz oluşumu sonucu gözlemlendi. Süperoksit dismutazın değişik konsantrasyonlarda

(ng/mL) standart çözeltileri hazırlandı. Tayinde standart süperoksit dismutaz çözeltileri (50 µL) veya örnekler (50 µL), çözelti A (2,9 mL) ve çözelti B (50 µL) ile karıştırıldı. Artan SOD miktarına (ng/mL) karşı % inhibisyon kalibrasyon eğrisi çizilerek değişik sitozolik örneklerdeki SOD aktivitesi U/mg olarak tayin edildi.

Süperoksit dismutazın bir ünitesi uygun şartlar altında % 50 cyt c nin inhibe ettiği enzim miktarı olarak tanımlanır.



Reaktifler;

Çözelti A: 0,76 mg (5 µmol) ksantin 10 mL 1 mM NaOH de çözülür ve 24,5 mg (2 µmol) cyt.c ile karıştırılarak 50 mM potasyum fosfat tamponu, pH 7.8 (0,1 mM EDTA içerir) ile 100 mL ye tamamlanır.

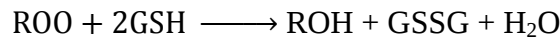
Çözelti B: 0.2 U/mL ksantin oksidaz 0,1 mM EDTA hazırlanır.

Bileşen	Kör (mL)	Standart (mL)	Numune (mL)
Çözelti A	2,90	2,90	2,90
Çözelti B	0,05	0,05	0,05
Sitozolik protein	-	-	0,05
SOD	-	0,05	-
Deiyoize su	-	-	-
Toplam inkübasyon hacmi	3	3	3

Çizelge 3.4. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini reaksiyon karışım

3.4.9 Glutatyon peroksidaz aktivitesinin tayini

Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edildi (Leopold & Wolfgang, 1984). Çizelge 3.5’ de belirtildiği gibi reaksiyon karışımı kullanıldı. Normal deneme şartlarında enzim aktivitesi, pH 7.0 ve 25 °C de glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyon üzerinde NADPH oksidasyonunun, 1 cm yolu olan 1.0 mL lik disposable küvetlerde 340 nm de, 6,22 mM⁻¹.cm⁻¹ değerine bağlı olarak hesaplandı.

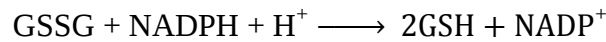


Bileşen	Stok çözelti	İlave edilecek hacim (mL)
Potasyum fosfat tampon, pH 7.0	0,1 M	0,500
Glutasyon redüktaz	0,24 U/mL	0,100
GSH (ind)	0,3 mM	0,100
NADP ⁺	0,2 mM	0,100
Kümene hidroperoksit	1,2 mM	0,090
NaN ₃	1,12 M	0,010
Sitozolik protein	10-50 mg/mL	0,10
Deiyonize su	-	0,100
Toplam inkübasyon hacmi	-	1,00

Çizelge 3.5. Glutasyon peroksidaz aktivitesi tayinin reaksiyon karışımı

3.4.10 Glutasyon redüktaz aktivitesinin tayini

Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edildi (Beutler, 1975). Çizelge 3.6' da belirtildiği gibi reaksiyon karışımı kullanıldı. Normal deneme şartlarında enzim aktivitesi, pH 8,0 ve 25 °C de enzim yükseltgenmiş glutasyon NADPH veya NADH ile indirgenmiş glutatyonla indirgenmesini katalizler. Başka bir ifadeyle indirgen her 1,0 mol GSSG başına 1,0 mol NADPH yükseltgenir. Enzim aktivitesi, 1 cm yolu olan 1,0 mL lik dispoisiblle küvetlerde 340 nm de ve NADPH'ın oksidasyonu takip edilerek hesaplandı.



Bileşen	Stok çözelti	İlave edilecek hacim (mL)
Tris.HCl tamponu, pH 8.0	1,0 M	0,20
EDTA	0,2 M	0,10
Glutasyon (yük)	50 mM	0,20
NADPH	2,0 mM	0,20
Sitozolik protein	10-50 mg/mL	0,20
Deiyonize su	-	0,10
Toplam inkübasyon hacmi	-	1,00

Çizelge 3.6. Glutasyon redüktaz aktivitesinin tayini reaksiyon karışımı

3.4.11 Lipid peroksidasyonu tayini

Çizelge 3.7’ de belirtildiği gibi karışımlar ayrı ayrı vorteks cihazında karıştırıldı (Varshney ve Kale; 1990). Sallantılı su banyosunda 90 °C de 45 dakika inkübe edildi. Karışım buz banyosunda bekletilerek oda sıcaklığında getirildi. Daha sonra karışımlar 20 °C de 10 dakika 3,000 rpm de santrifüjlendi. 532 nm de köre karşı standart ve numune absorbands değeri okundu.

Karaciğer mikrozomlardaki lipid peroksidasyonu, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan MDA (10 mM-10 µM) ve absorbands (532 nm) kalibrasyon eğrisi çizildi. Elde edilen standart değerlerden kalibrasyon eğrisi çizilerek mikrozomlardaki lipid peroksidasyonu değerleri belirlendi.

Bileşen	Kör (mL)	Standart (mL)	Numune (mL)
0,15 M Tris KCl, pH 7,5	1,9	1,9	1,9
MDA	-	0,1	-
% 30 TCA	0,5	0,5	0,5
52 mM TBA	0,5	0,5	0,5
Mikrozomal protein	-	-	0,1
Deiyonize su	0,1	-	-
Toplam inkübasyon hacmi	3	3	3

Çizelge 3.7. Lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi tayini reaksiyon karışımı

4. BULGULAR

4.1 Deney hayvanlarının vücut ağırlığı

Deney hayvanların 0. ve 15. gün ağırlıkları kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre değişimi Tablo 4.1’ de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları sonuçları

Gruplar	Uygulama	Vücut Ağırlığı (g)	
		0. gün ağırlığı	15. gün ağırlığı
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	45,63±1,77	44,50±1,31
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	42,00±3,63 ^a (%6,72 ↓)	39,00±2,62 ^a (%12,41 ↓)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	41,63±1,55 ^b (%8,84 ↓)	39,3±1,55 ^b (%12,14 ↓)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	38,38±2,67 ^b (%12,03 ↓)	37,63±3,42 ^b (%15,40 ↓)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	37,88±3,24 ^d (%16,90 ↓)	36,75±3,24 ^b (%17,4 ↓)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	40,88±1,36 ^e (%10,42 ↓)	40,88±1,81 ^{ab} (%8,12 ↓)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Deney hayvanların düzenli olarak ağırlıkları her gün tartıldı. Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre 0. ve 15. gün vücut ağırlığındaki değişimler belirlendi. Vücut ağırlığındaki bu değişimler kontrol grubuna göre kıyaslandı.

1.gün vücut ağırlığı, kontrol grubuna göre kıyaslandığında meyve ekstraktının düşük dozu % 6,7 azalma, yüksek dozunda ise % 8,8 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 12,0 azalma, yüksek dozunda % 16,9 azalma olmuştur ve BHA grubunda ise % 10,4 azalma olmuştur.

15.gün vücut ağırlığı, kontrol grubuna göre kıyaslandığında meyve ekstraktının düşük dozu % 12,4 azalma, yüksek dozunda ise % 12,1 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 15,4 azalma, yüksek dozunda % 17,4 azalma olmuştur ve BHA grubunda ise % 8,1 azalma olmuştur.

4.2 Deney hayvanlarının doku ağırlıkları

Deney hayvanların dokuları deiyonize su ve soğuk 0.15 M Tris-KCl tamponu ile yıkama işleminden sonra süzgeç kağıdında kurutuldu ve daha sonra ağırlıkları tartıldı. 15.günde deney hayvanlarının doku ağırlıklarının Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına ait ortalama ağırlıklarının değişimi Tablo 4.2' de gösterilmiştir.



Tablo 4.2. Deney hayvanlarının doku ağırlıkları sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR					
		Karaciğer*	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol	(2,61±0,33) ^a	0,80±0,09 ^a	0,42±0,02 ^a	0,34±0,06 ^a	0,11± 0,02 ^a	0,22±0,03 ^a
	(deiyonize su ve yem)						
II	GYMSU-50	2,00±0,56 ^{ab}	0,75±0,09 ^{ab}	0,41± 0,03 ^a	0,36± 0,10 ^a	0,10 ± 0,02 ^a	0,22±0,03 ^{ab}
	(50 mg/kg vücut	(% 15,52 ↓)	(%6,25 ↓)	(%2,42 ↓)	(%5,90↑)	(%9,11 ↓)	(%0)
III	ağırlığı)						
	GYMSU-100	2,29±0,31 ^a	0,75±0,08 ^{ab}	0,41± 0,04 ^a	0,35± 0,08 ^a	0,10± 0,02 ^a	0,19 ± 0,01 ^{ab}
IV	(100 mg/kg vücut	(%13,80 ↓)	(%6,25↓)	(%2,43 ↓)	(%2,93 ↑)	(%9,11 ↓)	(%13,64 ↓)
	ağırlığı)						
V	GYYSU-50	1,89±0,29 ^b	0,61±0,07 ^b	0,43± 0,03 ^a	0,36 ± 0,05 ^a	0,08±0,02 ^a	0,17 ± 0,02 ^b
	(50 mg/kg vücut	(%27,61 ↓)	(%23,75 ↓)	(%2,40↑)	(%5,95↑)	(%27,33 ↓)	(%22,32 ↓)
VI	ağırlığı)						
	GYYSU-100	1,78±0,20 ^b	0,59±0,09 ^b	0,45±0,03 ^a	0,27± 0,04 ^a	0,08 ±0,03 ^a	0,18 ± 0,02 ^b
VII	(100 mg/kg vücut	(%31,83 ↓)	(%26,20 ↓)	(%7,11 ↑)	(%20,61↓)	(%27,33↓)	(%18,24 ↓)
	ağırlığı)						
VIII	BHA	2,73±0,35 ^{ab}	0,82±0,08 ^{ab}	0,45±0,03 ^a	0,40 ± 0,04 ^a	0,09±0,04 ^a	0,24 ± 0,03 ^{ab}
	(% 0,75 ve yem)	(%4,61 ↑)	(%2,53 ↑)	(%7,11 ↑)	(%17,64 ↑)	(%18,21 ↓)	(%9,12 ↑)

*15. Gün doku ağırlıkları (g)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer dokusu ağırlığı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 15,5 azalma, yüksek dozunda ise % 13,8 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 27,6 azalma, yüksek dozunda ise %31,8 azalma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 4,6 artma olmuştur.

Böbrek dokusu ağırlığı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 6,25 azalma, yüksek dozunda ise % 6,25 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 23,75 azalma, yüksek dozunda ise % 26,2 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 2,5 artma olmuştur.

Beyin dokusu ağırlığı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 2,4 azalma, yüksek dozunda ise % 2,4 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 2,4 artma, yüksek dozunda ise % 7,1 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 7,1 artma olmuştur.

Akciğer dokusu ağırlığı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 5,9 artma, yüksek dozunda ise % 2,9 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 5,9 artma, yüksek dozunda ise % 20,6 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 17,4 artma olmuştur.

Özofagus dokusu ağırlığı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 9,1 azalma, yüksek dozunda ise % 9,1 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 27,3 azalma, yüksek dozunda ise % 27,3 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 18,2 artma olmuştur.

Kalp dokusu ağırlığı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda değişim olmamıştır, yüksek dozunda ise % 13,6 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 22,3 azalma, yüksek dozunda ise % 18,2 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 9,1 artış olmuştur.

4.3 Deney hayvanlarının bağıl doku ağırlığı

15. günde Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına ait deney hayvanlarının vücut ağırlıklarına bağlı bağıl doku ağırlıkları hesaplandı. Bağıl doku ağırlıklarının gruplara göre değişimi Tablo 4.3' te verimiştir.

$$\text{Bağıl doku ağırlığı (g)} = \frac{\text{Doku ağırlığı}}{15.\text{gün hayvan ağırlığı}} \times 100$$

Tablo 4.3. Deney hayvanlarının bağıl doku ağırlıkları sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR					
		Karaciğer*	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	5,86±0,79 ^a	1,79±0,18 ^a	0,94± 0,07 ^a	0,76 ±0,14 ^a	0,25±0,04 ^a	0,50±0,06 ^a
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	5,88± 0,95 ^a (%0,34↑)	1,93±0,29 ^{ab} (%7,82↑)	1,06±0,07 ^{ab} (%12,82↑)	0,92±0,26 ^{ab} (%21,11↑)	0,26± 0,05 ^a (%4,00↑)	0,56 ± 0,08 ^{ab} (%12,12↑)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	5,74± 0,70 ^a (%2,00 ↓)	1,91±0,14 ^{ab} (%6,72↑)	1,05±0,07 ^{ab} (%11,74↑)	0,88±0,17 ^{ab} (%15,76↑)	0,25± 0,05 ^a (%00)	0,50±0,04 ^{ab} (%00)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	5,01 ± 0,42 ^a (%14,51↓)	1,61±0,15 ^b (%10,11↓)	1,14±0,1 ^b (%21,33↑)	0,96±0,14 ^{ab} (%26,29↑)	0,22± 0,04 ^a (%12,00↓)	0,46±0,03 ^{ab} (%8,00↓)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	4,84 ±0,43 ^a (%17,44↓)	1,61± 0,14 ^b (%10,11↓)	1,22±0,07 ^b (%29,46↑)	0,75±0,11 ^{ab} (%1,28↓)	0,23± 0,06 ^a (%8,00↓)	0,49± 0,07 ^{ab} (%2,00↓)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	6,68±0,49 ^a (%13,91↑)	2,00± 0,22 ^b (%11,73↑)	1,11±0,04 ^b (%18,12↑)	0,97±0,11 ^b (%27,63↑)	0,22± 0,10 ^a (%12,13↓)	0,59±0,07 ^b (%18,14↑)

*15. gün bağıl doku ağırlıkları (g)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer bağıl doku ağırlığında, kontrol grubuna göre meyve ekstraktının düşük dozunda % 0,34 artma, yüksek dozunda ise % 2 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın ise düşük dozunda % 14,5 azalma, yüksek dozunda ise % 17,4 azalma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 13,9 artma olmuştur.

Böbrek bağıl doku ağırlığında, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 7,82 artma, yüksek dozunda ise % 6,7 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 10,1 azalma, yüksek dozunda ise % 10,1 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 11,73 artma olmuştur.

Beyin bağıl doku ağırlığında, kontrol grubuna göre meyve ekstraktının düşük dozunda % 12,8 artma, yüksek dozunda ise % 11,7 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 21,3 artma, yüksek dozunda ise % 29,4 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 18,1 artma olmuştur.

Akciğer bağıl doku ağırlığında, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 21,1 artma, yüksek dozunda ise % 15,8 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 26,3 artma, yüksek dozunda ise % 1,3 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 27,6 artma olmuştur.

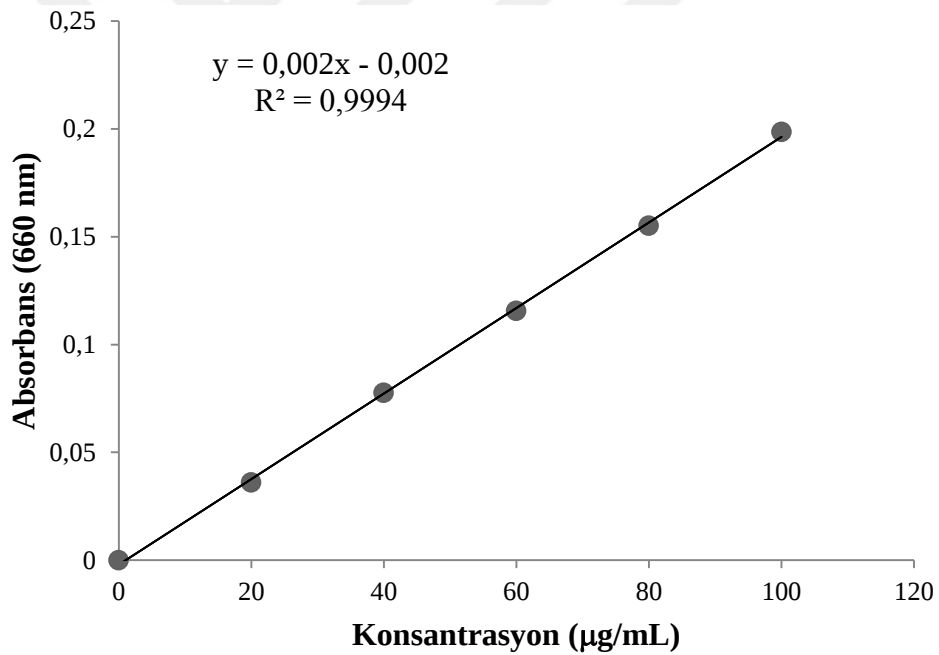
Özofagus bağıl doku ağırlığında, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 4 artma, yüksek dozunda ise değişim olamamıştır. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 12 azalma, yüksek dozunda ise % 8 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 12 artma olmuştur.

Kalp bağıl doku ağırlığında, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda %12 artma, yüksek dozunda değişim olmamıştır. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 8 azalma, yüksek dozunda ise % 2 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 18 artma olmuştur.

4.4 Deney hayvanlarının protein miktarı

Farklı konsantrasyonda hazırlanan BSA çözeltilerinin, Folin & Ciocalteu's reaktifi kullanılarak belirlendi. UV-Vis spektrofotometresi ile 660 nm'de BSA çözeltisinin absorpsiyonu okundu. BSA çözeltileri için kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4.1). Kalibrasyon eğrisinin ($y=mx+n$) denkleminde yararlanılarak protein miktarı hesaplandı.

Kontrol, güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarının iki farklı doz grupları ve BHA gruplarının karaciğer, böbrek, akciğer, özofagus, beyin ve kalp dokularına ait hücre sitozollerinin protein içeriği BSA kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak mg protein/mL olarak hesaplandı ve enzim aktivite tayinlerinde kullanıldı.



Şekil 4.1. BSA çözeltisinin kalibrasyon eğrisi

Deney hayvanının dokulardaki protein spektrofotometrik olarak tayin edildi. Dokulardaki protein miktarı Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre değişimi Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4 Protein tayini sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR						
		Karaciğer* (sitozol)	Karaciğer* (mikrozom)	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	48,60±1,77 ^a	30,59±6,90 ^a	54,35±7,98 ^a	24,71±3,51 ^a	24,49±2,12 ^a	8,91±1,11 ^a	23,36±2,56 ^a
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	45,63±4,49 ^{ab} (%6,11↓)	26,47±7,21 ^{ab} (%13,42↓)	48,21±6,17 ^a (%11,33↓)	12,49±3,23 ^b (%49,54↓)	11,64±3,13 ^a (%52,51↓)	6,47±1,14 ^{ab} (%27,40↓)	10,79±1,64 ^b (%53,82↓)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	65,81±4,70 ^{ab} (%35,39↑)	35,27±11,93 ^{ab} (%15,25↑)	41,27±5,92 ^a (%24,14↓)	23,33±2,12 ^{ab} (%5,63↓)	24,85±3,56 ^a (%1,53↑)	9,22±4,00 ^{ab} (%3,52↑)	24,51±3,17 ^{ab} (%4,97↑)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	67,67±8,66 ^b (%39,22↑)	43,38±7,13 ^b (%41,78↑)	44,16±6,04 ^a (%18,73↓)	25,47±2,19 ^{ab} (%3,12↑)	27,31±6,16 ^a (%11,46↑)	10,22±0,84 ^{ab} (%12,74↑)	14,73±4,13 ^{ab} (%36,90↓)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	56,20±5,23 ^b (%15,64↑)	41,71±5,51 ^b (%36,32↑)	39,31±5,94 ^a (%27,68↓)	17,82±2,99 ^{ab} (%27,89↓)	17,93±2,54 ^a (%26,81↓)	6,54±3,60 ^b (%26,65↓)	16,12±1,96 ^{ab} (%30,91↓)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	54,18±5,01 ^b (%11,47↑)	32,11±6,70 ^{ab} (%4,91↑)	43,29±6,16 ^a (%21,11↓)	21,34±3,05 ^{ab} (%13,58↓)	20,36±2,12 ^a (%16,92↓)	8,72±2,01 ^b (%2,10↓)	17,18±3,52 ^{ab} (%26,41↓)

*Protein miktarı (mg/mL)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer sitozolde protein miktarı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 6,1 azalma, yüksek dozunda ise % 35,4 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 39,2 artma, yüksek dozunda ise % 15,6 artma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 11,5 artma olmuştur.

Karaciğer mikrozomda protein miktarı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 13,47 azalma, yüksek dozunda ise % 15,29 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 41,84 artma, yüksek dozunda ise % 36,35 artma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 4,98 artma olmuştur.

Böbrek dokusundaki protein miktarı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 11,3 azalma, yüksek dozunda ise % 24,1 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 18,7 azalma, yüksek dozunda ise % 27,7 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 21,1 azalma olmuştur.

Beyin dokusundaki protein miktarı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 49,5 azalma, yüksek dozunda % 5,6 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 3,1 artma, yüksek dozunda ise % 27,9 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 13,6 azalma olmuştur.

Akciğer dokusundaki protein miktarı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 52,5 azalma, yüksek dozunda ise % 1,5 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 11,5 artma, yüksek dozunda ise % 26,8 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 16,9 azalma olmuştur.

Özofagus dokusundaki protein miktarı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 27,4 azalma, yüksek dozunda ise % 3,5 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 12,7 artma, yüksek dozunda ise % 26,6 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 2,1 azalma olmuştur.

Kalp dokusundaki protein miktarı, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 53,8 azalma, yüksek dozunda ise % 4,9 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 36,9 azalma, yüksek dozunda ise % 30,9 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 26,41 azalma olmuştur.

4.5. Deney hayvanlarının katalaz aktivitesi

Deney hayvanı dokularındaki katalaz aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edildi. Dokulardaki katalaz aktivitesinin Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre değişimi Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. Katalaz aktivitesi sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR					
		Karaciğer*	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	0,14±0,02 ^a	0,20±0,04 ^a	0,03±0,00 ^a	0,05±0,00 ^a	0,02±0,00 ^a	0,09±0,03 ^a
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	0,10±0,01 ^b (%37,52↓)	0,15±0,017 ^a (%26,5↓)	0,08±0,01 ^{ab} (%166,00↑)	0,015±0,00 ^b (%70,00↓)	0,03±0,001 ^a (%72,20↑)	0,031±0,00 ^{ab} (%53,82↓)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	0,13±0,00 ^b (%12,54↓)	0,26±0,05 ^a (%30,00↑)	0,06±0,01 ^{ab} (%100,00↑)	0,05±0,00 ^{ab} (%0,00)	0,02±0,00 ^a (%11,14↑)	0,02±0,001 ^b (%4,92↑)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	0,17±0,02 ^{ab} (%17,36↑)	0,24±0,03 ^a (%20,00↑)	0,05±0,00 ^b (%63,32↑)	0,04±0,00 ^{ab} (%28,00↓)	0,02±0,001 ^a (%16,72↑)	0,02±0,00 ^b (%36,87↓)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	0,13±0,011 ^{ab} (%12,52↓)	0,12±0,011 ^a (%42,00↓)	0,01±0,00 ^{ab} (%80,00↓)	0,07±0,02 ^{ab} (%32,00↑)	0,028±0,01 ^a (%55,65↑)	0,02±0,00 ^b (%30,93↓)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	0,14±0,048 ^{ab} (%2,14↓)	0,19±0,02 ^a (%5,00↓)	0,02±0,00 ^{ab} (%33,32↓)	0,02±0,011 ^{ab} (%58,00↓)	0,015±0,025 ^a (%16,72↓)	0,061±0,003 ^{ab} (%26,41↓)

*Katalaz aktivitesi (U/mg sitozolik protein)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 37,5 azalma, yüksek dozunda ise % 12,5 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 17,36 artma, yüksek dozunda ise % 12,5 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grup (BHA grubu) da ise % 2,1 azalma olmuştur.

Böbrek dokusundaki katalaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 26,5 azalma, yüksek dozunda ise % 30 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 20 artma, yüksek dozunda ise % 42 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 5 azalma olmuştur.

Beyin dokusundaki katalaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 166 artma, yüksek dozunda ise % 100 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 63,3 artma, yüksek dozunda ise % 80 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 33,3 azalma olmuştur.

Akciğer dokusundaki katalaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 70 azalma, yüksek dozunda ise bir değişme olmamıştır. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 28 azalma, yüksek dozunda ise % 32 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 58 azalma olmuştur.

Özofagus dokusundaki katalaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 72,2 artma, yüksek dozunda ise % 11,1 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 16,7 artma, yüksek dozunda ise % 55,6 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 16,7 azalma olmuştur.

Kalp dokusundaki katalaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 53,8 azalma, yüksek dozunda ise % 4,9 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 36,9 azalma, yüksek dozunda ise % 30,9 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 26,41 azalma olmuştur.

4.6 Deney hayvanlarının süperoksit dismutaz aktivitesi

Deney hayvanı dokularındaki süperoksit dismutaz aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edildi. Dokulardaki süperoksit dismutaz aktivitesinin Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre değişimi Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR					
		Karaciğer*	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	11,62±3,80 ^a	5,18±1,66 ^a	5,89±2,95 ^a	7,01±1,9 ^a	12,37±1,76 ^a	12,22±1,67 ^a
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	7,41±3,35 ^{ab} (%36,23↓)	4,81±2,10 ^a (%7,14↓)	2,33±1,16 ^{ab} (%60,44↓)	5,19±1,65 ^{ab} (%13,32↓)	4,91±1,8 ^b (%60,31↓)	22,93±2,49 ^b (%87,64↑)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	6,46±2,06 ^b (%44,42↓)	7,25±3,06 ^a (%39,92↑)	1,35±0,35 ^{ab} (%78,90↓)	5,94±1,88 ^{ab} (%10,30↓)	4,8±1,92 ^b (%61,23↓)	13,49±1,67 ^{ab} (%10,39↑)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	16,34±2,89 ^{ab} (%40,56↑)	5,28±1,39 ^a (%1,93↑)	9,44±5,09 ^{ab} (%60,27↑)	5,32±1,6 ^{ab} (%37,82↓)	9,23±1.85 ^{ab} (%25,38↓)	13.11±3,00 ^{ab} (%7,28↑)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	11,65±1,46 ^{ab} (%0,26↑)	6,26±2,67 ^a (%20,80↑)	3,06±1,61 ^b (%48,22↓)	4,44±2,21 ^{ab} (%32,00↓)	18,98±1,65 ^b (%53,44↑)	13,24±2,96 ^{ab} (%8,35↑)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	9,03±2,79 ^{ab} (%22,29↓)	3,06±1,90 ^a (%40,93↓)	2,07±0,46 ^{ab} (%61,97↓)	1,19±0,74 ^b (%84,69↓)	20,97±1,92 ^b (%69,52↑)	26,10±2,95 ^b (%113,75)

*SOD aktivitesi (U/mg sitozolik protein)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer dokusundaki süperoksit dismutaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 36,23 azalma, yüksek dozunda ise % 44,4 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 40,6 artma, yüksek dozunda ise % 0,26 artma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 22,29 azalma olmuştur.

Böbrek dokusundaki süperoksit dismutaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 7,14 azalma, yüksek dozunda ise % 39,9 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 1,93 artma, yüksek dozunda ise % 20,8 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 40,93 azalma olmuştur.

Beyin dokusundaki süperoksit dismutaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 60,44 azalma, yüksek dozunda ise % 78,9 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 60,27 artma, yüksek dozunda ise % 48,22 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 61,97 azalma olmuştur.

Akciğer dokusundaki süperoksit dismutaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 13,32 azalma, yüksek dozunda ise % 10,3 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 37,8 azalma, yüksek dozunda ise % 32,0 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 84,69 azalma olmuştur.

Özofagus dokusundaki süperoksit dismutaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 60,31 azalma, yüksek dozunda ise % 61,2 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 25,38 azalma, yüksek dozunda ise % 53,44 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 69,62 artma olmuştur.

Kalp dokusundaki süperoksit dismutaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 87,64 artma, yüksek dozunda ise % 10,39 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 7,38 artma, yüksek dozunda ise % 8,35 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 113,75 artma olmuştur.

4.7 Deney hayvanlarının glutatyon peroksidaz aktivitesi

Deney hayvanı dokularındaki glutatyon peroksidaz aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edildi. Dokulardaki glutatyon peroksidaz aktivitesinin Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre değişimi Tablo 4.7’ de verilmiştir.

Tablo 4.7. Glutasyon peroksidaz aktivitesi sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR					
		Karaciğer*	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	11,23±3,02 ^a	12,84±2,61 ^a	3,24±1,31 ^a	9,19±2,77 ^a	3,58±1,44 ^a	1,69±0,44 ^a
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	5,04±1,85 ^b (%55,12↓)	13,05±5,06 ^{ab} (%1,64↑)	3,53±3,03 ^a (%8,95↑)	6,26±2,25 ^b (%31,88↓)	3,46 ±1,13 ^{ab} (%3,35↓)	4,22±1,28 ^b (%149,72↑)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	5,44±2,05 ^{ab} (%51,56↓)	5,25±1,6 ^b (%59,11↓)	2,82±0,97 ^a (%12,96↓)	3,71±0,78 ^b (%59,63↓)	2,12±1,19 ^{ab} (%34,36↓)	2,56±1,40 ^{ab} (%51,48↑)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	8,09±2,41 ^{ab} (%27,96↓)	5,80±1,89 ^b (%54,83↓)	2,71±0,06 ^a (%13,36↓)	3,22±1,06 ^b (%64,54↓)	1,40±0,72 ^b (%60,89↓)	1,63±0,6 ^{ab} (%3,68↓)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	14,08±3,74 ^{ab} (%25,38↑)	5,38±2,74 ^b (%58,10↓)	1,18±0,58 ^a (%63,59↓)	4,28±1,81 ^b (%53,42↓)	1,68±1,32 ^b (%53,07↓)	1,48±0,65 ^{ab} (%12,43↓)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	19,77±4,54 ^{ab} (%76,04↑)	12,64±2,34 ^{ab} (%1,56↓)	4,13±1,23 ^a (%27,47↑)	6,23±1,92 ^b (%32,21↓)	3,22±1,16 ^{ab} (%10,06↓)	2,92±0,63 ^{ab} (%72,78↑)

*Glutasyon peroksidaz aktivitesi (nmol GSH/dak/mg protein)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer dokusundaki glutatyon peroksidaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 55,12 azalma, yüksek dozunda ise % 51,6 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 27,96 azalma, yüksek dozunda ise % 25,38 artma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 76,04 artma olmuştur.

Böbrek dokusundaki glutatyon peroksidaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 1,64 artma, yüksek dozunda ise % 59,11 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 54,83 azalma, yüksek dozunda ise % 58,1 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 1,56 azalma olmuştur.

Beyin dokusundaki glutatyon peroksidaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 8,95 artma, yüksek dozunda ise % 12,95 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 13,36 azalma, yüksek dozunda ise % 63,59 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 27,47 artma olmuştur.

Akciğer dokusundaki glutatyon peroksidaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 31,88 azalma, yüksek dozunda ise % 59,63 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 64,5 azalma, yüksek dozunda ise % 53,4 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 32,21 azalma olmuştur.

Özofagus dokusundaki glutatyon peroksidaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 3,35 azalma, yüksek dozunda ise % 34,36 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 60,89 azalma, yüksek dozunda ise % 53,7 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 10,06 azalma olmuştur.

Kalp dokusundaki glutatyon peroksidaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 149,15 artma, yüksek dozunda ise % 51,48 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 3,68 azalma, yüksek dozunda ise % 12,43 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 72,78 artma olmuştur.

4.8 Deney hayvanlarının glutatyon redüktaz aktivitesi

Deney hayvanı dokularındaki glutatyon redüktaz aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edildi. Dokulardaki glutatyon redüktaz aktivitesinin Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre değişimi Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Glutatyon redüktaz aktivitesi sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR					
		Karaciğer*	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	1,82±0,65 ^a	1,85±0,19 ^a	1,84±0,52 ^a	2,09±0,67 ^a	1,42±0,52 ^a	3,77±0,92 ^a
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	1,76±0,29 ^a (%4,25↑)	1,56±0,29 ^a (%15,68↓)	1,61±0,55 ^{ab} (%12,46↓)	1,15±0,29 ^a (%81,74↓)	1,09±0,60 ^a (%23,24↓)	2,31±0,73 ^{ab} (%38,73↓)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	2,51±0,45 ^a (%37,92↑)	2,56±0,39 ^a (%38,38↑)	0,41±0,23 ^b (%76,21↓)	1,34±0,68 ^a (%40,76↓)	1,04±0,34 ^a (%26,76↓)	2,28±0,74 ^b (%39,52↓)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağırlığı)	1,27±0,56 ^a (%30,22↓)	1,74±0,37 ^a (%5,94↓)	1,06±0,65 ^{ab} (%42,39↓)	1,40±0,62 ^a (%33,01↓)	1,39±0,25 ^a (%2,11↓)	1,59±0,67 ^b (%57,82↓)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağırlığı)	1,25±0,22 ^a (%31,32↓)	2,61±1,37 ^a (%41,08↑)	1,22±0,49 ^{ab} (%33,69↓)	1,26±0,48 ^a (%39,71↓)	1,04±0,34 ^a (%26,76↓)	1,62±0,49 ^b (%57,03↓)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	1,74±0,20 ^a (%4,39↓)	2,93±0,56 ^a (%58,38↑)	1,92±0,54 ^{ab} (%4,34↑)	1,76±0,77 ^a (%15,79↑)	1,6±0,80 ^a (%12,68↑)	2,75±0,63 ^b (%27,06↓)

*Glutatyon redüktaz aktivitesi (nmole NADPH/dak/mg protein)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer dokusundaki glutatyon redüktaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 4,25 artma, yüksek dozunda ise % 37,9 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 30,22 azalma, yüksek dozunda ise % 31,32 azalma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 4,39 azalma olmuştur.

Böbrek dokusundaki glutatyon redüktaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 15,68 azalma, yüksek dozunda ise % 38,38 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 5,94 azalama, yüksek dozunda ise % 41,08 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 58,38 artma olmuştur.

Beyin dokusundaki glutatyon redüktaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 12,5 azalma, yüksek dozunda ise % 72,6 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 42,39 azalma, yüksek dozunda ise % 33,69 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 4,39 artma olmuştur.

Akciğer dokusundaki glutatyon redüktaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 81,74 azalma, yüksek dozunda ise % 40,70 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 33,01 azalma, yüksek dozunda ise % 39,71 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 15,79 azalma olmuştur.

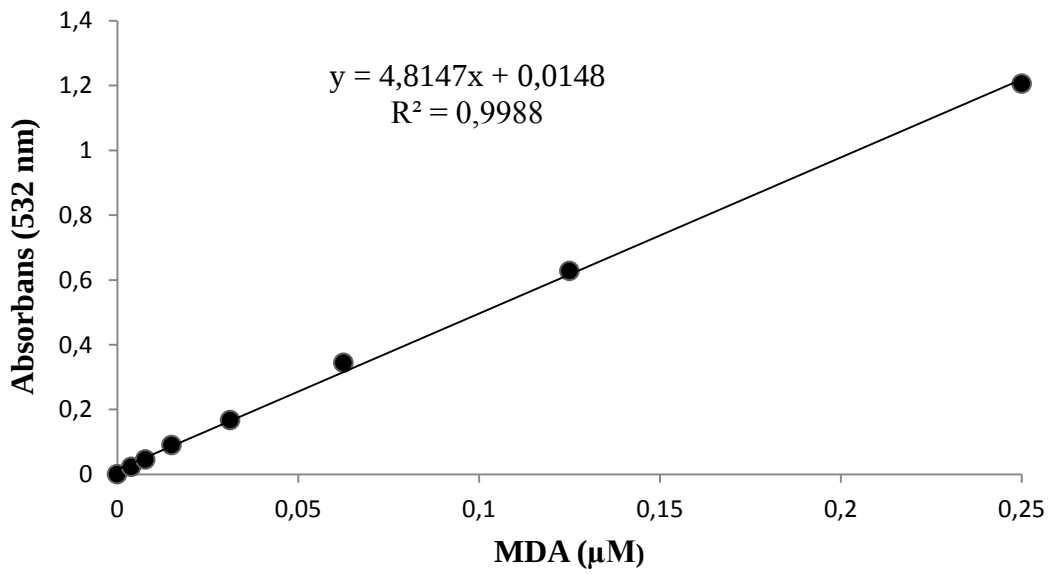
Özofagus dokusundaki glutatyon redüktaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 23,29 azalma, yüksek dozunda ise % 26,26 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 2,1 azalma, yüksek dozunda ise % 26,76 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 12,76 azalma olmuştur.

Kalp dokusundaki glutatyon redüktaz aktivitesi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 38,73 azalma, yüksek dozunda ise % 39,52 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 57,87 azalma, yüksek dozunda ise % 57,03 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 27,06 azalma olmuştur.

4.9 Deney hayvanlarının Lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi

Dokulardaki lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi spektrofotometrik olarak tayin edildi. Dokulardaki lipid peroksidasyon inhibisyonu Kontrol, GYMSU-50, GYMSU-100, GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA gruplarına göre değişimi Tablo 4.9'da verilmiştir.

Farklı konsantrasyonda hazırlana MDA çözeltisinin UV-Vis spektrofotometresi ile 532 nm deki absorpsiyonları okundu.



Şekil 4.2. MDA çözeltisinin kalibrasyon grafiği

Elde edilen standart değerlerden kalibrasyon eğrisi çizilerek lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi hesaplandı (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi sonuçları

Gruplar	Uygulama	DOKULAR						
		Karaciğer* (mikrozom)	Karaciğer* (sitozol)	Böbrek*	Beyin*	Akciğer*	Özofagus*	Kalp*
I	Kontrol (deiyonize su ve yem)	2,46±0,72	1,27±0,25	3,68±2,04	6,69±3,29	8,42±4,58	32,83±27,16	9,97±4,09
II	GYMSU-50 (50 mg/kg vücut ağ.)	4,05±1,73 ^a (%64,63↑)	1,29±0,25 ^a (%1,57↑)	3,43±1,07 ^a (%6,79↓)	13,24±4,57 ^a (%97,91↑)	9,24±5,92 ^a (%9,74↑)	68,19±61,42 ^a (%107,72↑)	20,95±7,31 ^a (%110,13↑)
III	GYMSU-100 (100 mg/kg vücut ağ.)	3,62±1,05 ^b (%47,15↑)	0,95±0,36 ^b (%25,22↓)	4,54±1,79 ^b (%23,37↑)	5,45±1,91 ^b (%18,54↓)	6,84±2,4 ^b (%1,58↓)	37,39±9,99 ^b (%13,91↑)	6,28±2,24 ^b (%37,00↓)
IV	GYYSU-50 (50 mg/kg vücut ağ.)	1,49±0,28 ^c (%39,43↓)	4,07±1,62 ^c (%120,47↑)	14,67±7,19 ^c (%425,15↑)	9,05±4,31 ^c (%35,28↑)	8,28±6,19 ^c (%1,66↓)	38,51±14,01 ^c (%17,32↑)	13,49±3,55 ^c (%35,30↑)
V	GYYSU-100 (100 mg/kg vücut ağ.)	1,65±0,29 ^d (%32,93↓)	1,51±0,61 ^d (%18,89↑)	5,70±4,17 ^d (%54,89↑)	11,18±6,38 ^d (%67,12↑)	11,30±6,63 ^d (%34,24↑)	37,56±34,09 ^d (%14,39↑)	9,24±2,49 ^d (%7,32↓)
VI	BHA (% 0,75 ve yem)	2,68±0,43 ^e (%8,94↓)	1,65±0,54 ^e (%29,92↑)	5,64±2,73 ^e (%53,26↑)	8,91±2,48 ^e (%33,18↑)	8,82±4,41 ^e (%4,75↑)	36,94±24,21 ^e (%12,50↑)	11,59±4,71 ^e (%16,25↑)

*Lipid peroksidasyon (nmol MDA/mg protein)

a: Kontrol grubu, ab: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktur, b: Kontrol grubuna göre anlamlı bir fark vardır (p <0,05).

Karaciğer mikrozomunda lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 65,04 artma, yüksek dozunda ise % 37,15 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 39,43 azalma, yüksek dozunda ise % 49,09 azalma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 8,94 artma olmuştur.

Karaciğer sitoplazmasında lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 1,57 artma, yüksek dozunda ise % 25,2 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 115,74 artma, yüksek dozunda ise % 18,89 artma olmuştur ve pozitif grup (BHA grubu) da ise % 29,92 artma olmuştur.

Böbrek dokusunda lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 6,79 azalma, yüksek dozunda ise % 23,37 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 140,45 artma, yüksek dozunda ise % 54,89 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 53,26 artma olmuştur.

Beyin dokusundaki lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 88,79 artma, yüksek dozunda ise % 18,54 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 35,28 artma, yüksek dozunda ise % 67,12 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 33,18 artma olmuştur.

Akciğer dokusundaki lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 9,74 artma, yüksek dozunda ise % 1,58 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 1,66 azalma, yüksek dozunda ise % 34,2 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 4,75 artma olmuştur.

Özofagus dokusundaki lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 90,09 artma, yüksek dozunda ise % 13,91 artma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 17,32 artma, yüksek dozunda ise % 8,9 artma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 16,80 artma olmuştur.

Kalp dokusundaki lipid peroksidasyon inhibisyonu düzeyi, kontrol grubuna göre meyve ekstraktın düşük dozunda % 82,35 artma, yüksek dozunda ise % 37 azalma olmuştur. Yaprak ekstraktın düşük dozunda % 35,30 artma, yüksek dozunda ise % 7,32 azalma olmuştur ve pozitif kontrol grubunda ise % 16,25 artma olmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 İstatistiksel Analiz

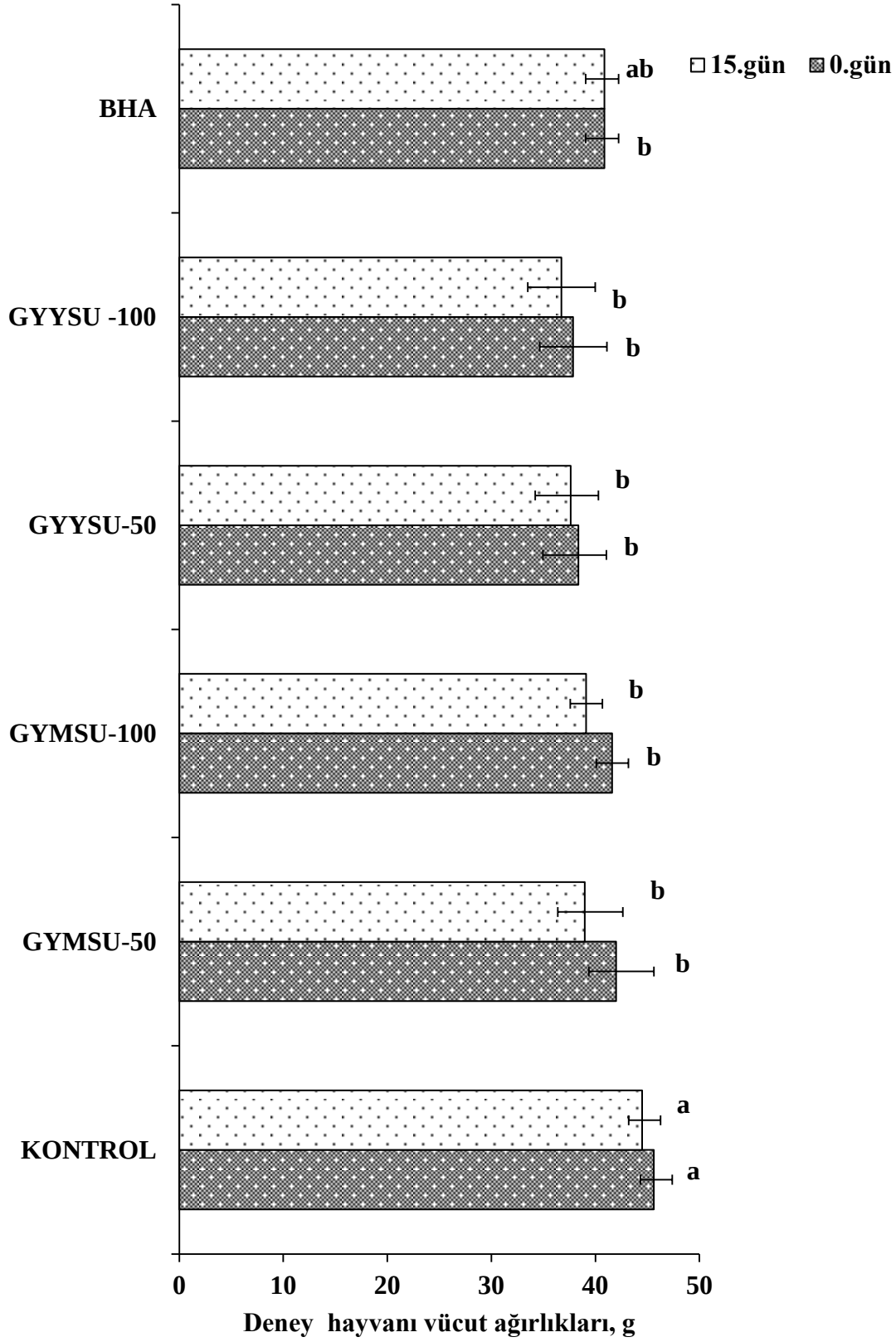
Hayvan ağırlıkları, doku ağırlıkları, bağıl doku ağırlıkları ve enzim aktivite sonuçları arasında anlamlı fark olup olmadığı SPSS (Statistical Packages for the social sciences) 20 paket programında uygulanan MANOVA testindeki DUNETT T ve TAMHANE testleri kullanılarak değerlendirildi. Testlerin analiz sonuçlarına göre kontrol, güz yemişi meyvesi ve yaprak ekstraktların dozları ve BHA gruplarına ait analiz sonuçları a, ab, b ile harflendirildi. Farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda p değerleri 0,05' den küçük olduğu için anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0,05$).

5.2 Deney hayvanı vücut ağırlıkları

Deney hayvanları I., II., III., IV., V., VI gruplarına ayrılmış olan hayvanlara güz yemişi meyvesi, yaprak ekstraktı ve BHA uygulamaları Çizelge 3.2'de belirtilen dozlarda düzenli olarak uygulandı ve değişimler takip edildi. Deney hayvanların ağırlıkları her gün düzenli olarak tartıldı. Deney hayvan ağırlıklarının gruplara göre değişimi belirlendi.

Deney hayvanların I., II., III., IV., V. ve VI. gruplara göre ağırlıkları için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.1).

15. gün hayvan ağırlığı, güz yemişi meyvesinin düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre anlamlı bir azalışın olduğu gözlenmiştir. Yaprak ekstraktın yüksek ve düşük dozlarında da kontrol grubuna göre anlamlı bir azalışın olduğu gözlenmiştir. BHA grubundaki hayvan ağırlığı ise, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve anlamlı bir azalışın olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 5.1. Deney hayvanı vücut ağırlıkları karşılaştırılması

5.3 Doku ağırlıklarının sonuçları

Deney hayvanlarının karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularının tampon çözelti ve deiyonize su ile yıkama ve kurutma işlemlerinden sonra tartıldı. I., II., III., IV., V. ve VI. gruplarındaki deney hayvanların karaciğer doku ağırlığı değişimi belirlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve anlamlı azalışın olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda ise anlamlı azalışın olduğu gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve bu değişimlerin kontrol grubuna göre anlamlı olduğu gözlenmiştir. BHA grubundaki doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve bu değişimin kontrol grubuna göre anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

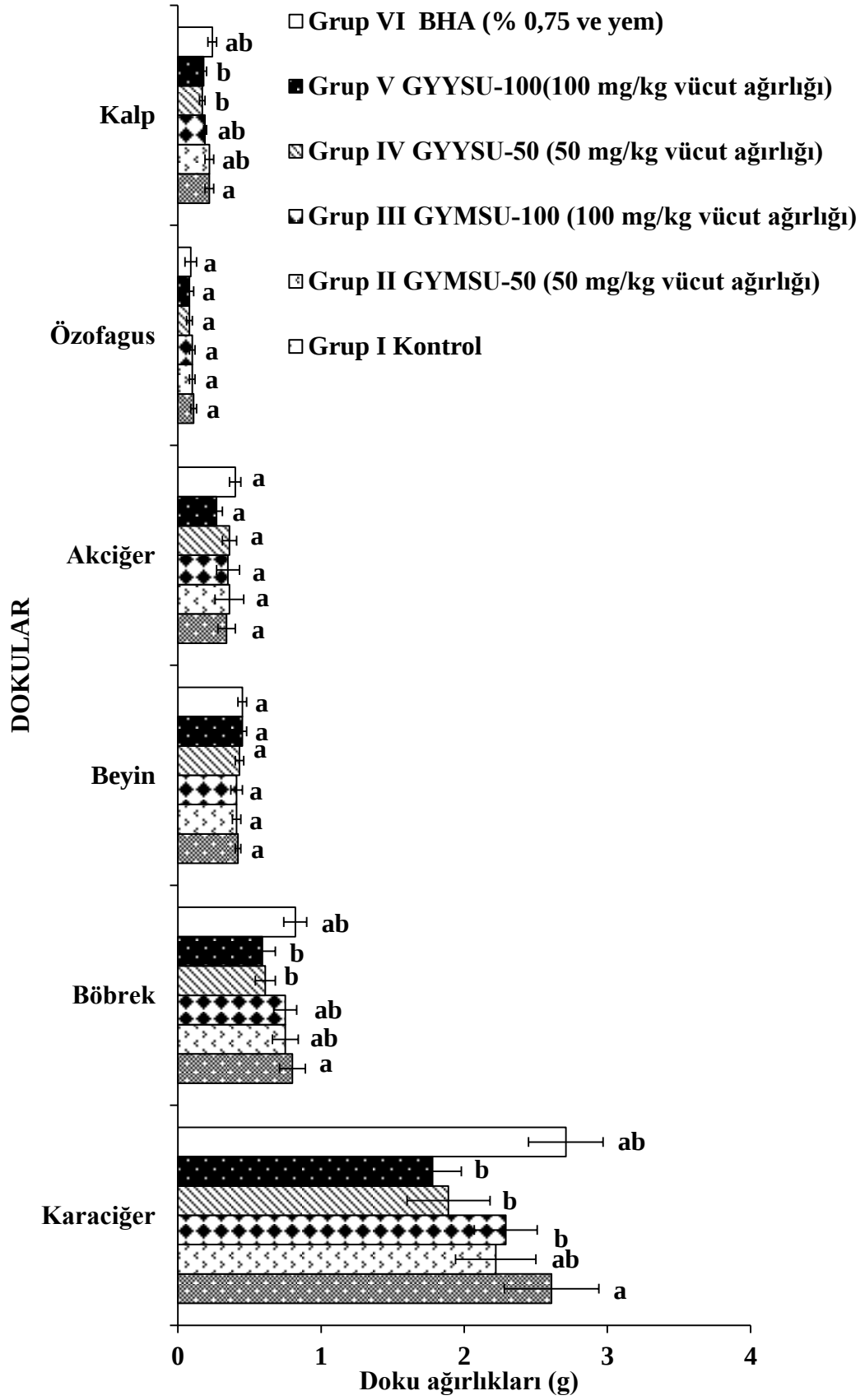
Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının doku ağırlığı için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.2).

Böbrek doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlemlendi. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve bu değişimin anlamlı olduğu belirlendi. BHA grubundaki doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Beyin doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre azalmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlemlendi. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre artmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre anlamlı artmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Akciğer doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre artmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve bu değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Özofagus doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Kalp doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu ile kontrol grubunun ağırlığı eşit olduğu belirlendi. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve bu değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. BHA grubundaki doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 5.2. Deney hayvanı doku ağırlıkları karşılaştırılması

5.4 Bağıl doku ağırlığının sonuçları

Bağıl doku ağırlığı karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularının tampon çözelti ve deiyonize su ile yıkama ve kurutma işlemlerinden sonra hesaplandı. I., II., III., IV., V. ve VI. gruplarındaki deney hayvanların karaciğer bağıl doku ağırlığı değişimi belirlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozun bağıl doku ağırlığı ise kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki bağıl doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının bağıl doku ağırlığı için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 3.5).

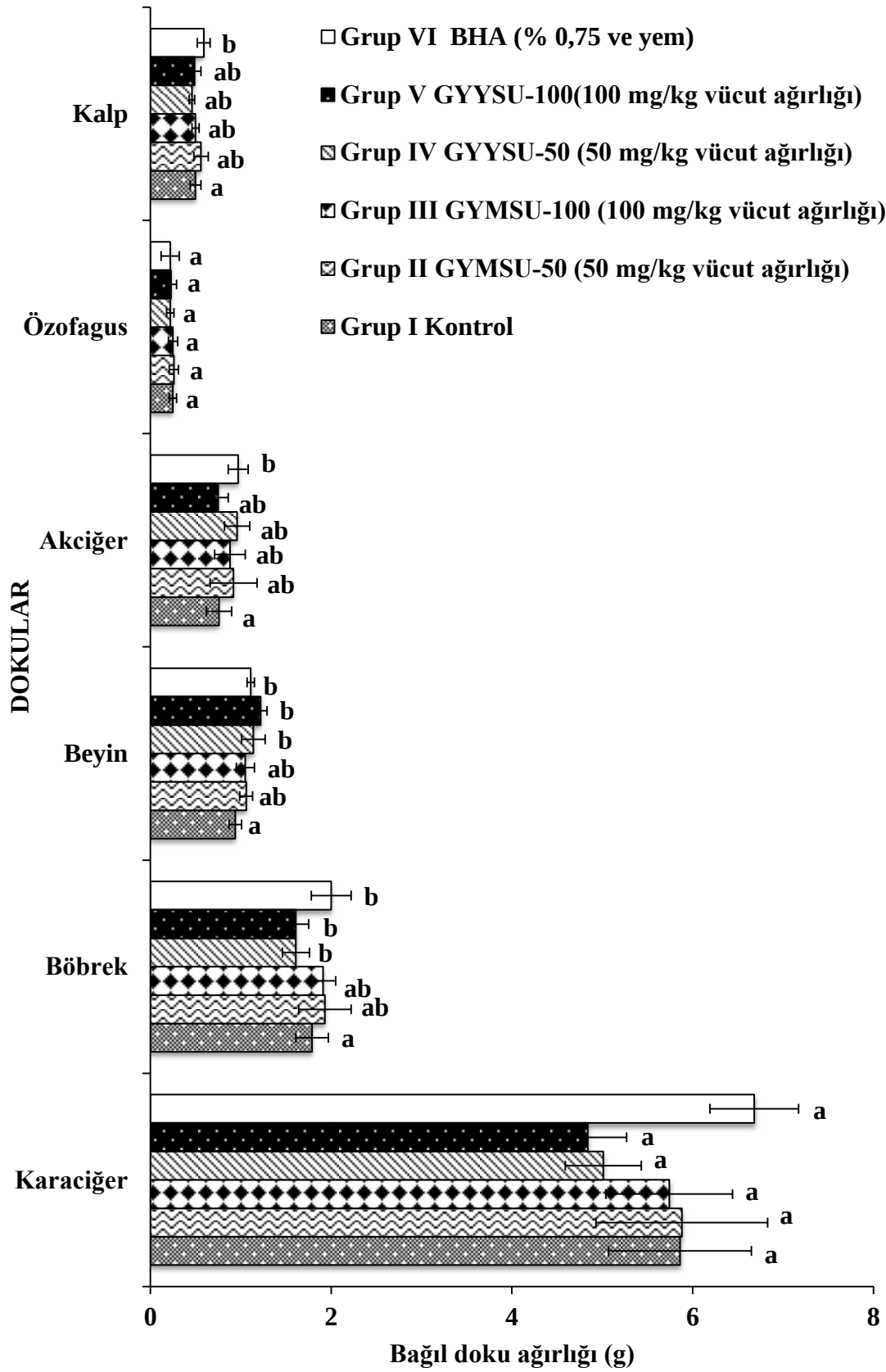
Böbrek bağıl doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük dozu kontrol grubuna artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktın yüksek dozu kontrol grubuna artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. BHA grubundaki bağıl doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir.

Beyin bağıl doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. BHA grubundaki bağıl doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir.

Akciğer bağıl doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktın yüksek dozu kontrol grubuna azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki bağıl doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir.

Özofagus bağıl doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozunun bağıl doku ağırlığında ise değişim olmamıştır. Güz yemişi yaprak ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki bağıl doku ağırlığı ise, kontrol grubuna azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Kalp bağıl doku ağırlığı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozunun bağıl doku ağırlığında ise değişimin olmadığı belirlendi. Güz yemişi yaprak ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki bağıl doku ağırlığı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 5.3. Deney hayvanı bağıl doku ağırlıkları karşılaştırılması

5.5 Protein tayini sonuçları

Karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularındaki protein miktarı homojenizasyon, sonikasyon ve santrifüjleme işlemlerinden sonra sitozolde spektrofotometrik olarak tayin edildi. I., II., III., IV., V. ve VI. gruplarındaki deney hayvanlarının karaciğer dokularındaki protein miktarının değişimi belirlenmiştir.

Karaciğer sitozol protein miktarı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozun protein miktarı kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. BHA grubundaki protein miktarı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir.

Karaciğer mikrozom protein miktarı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozun protein miktarı kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. BHA grubundaki protein miktarı ise, kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının protein tayini için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.4).

Böbrek protein miktarı, güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki protein miktarı ise, kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

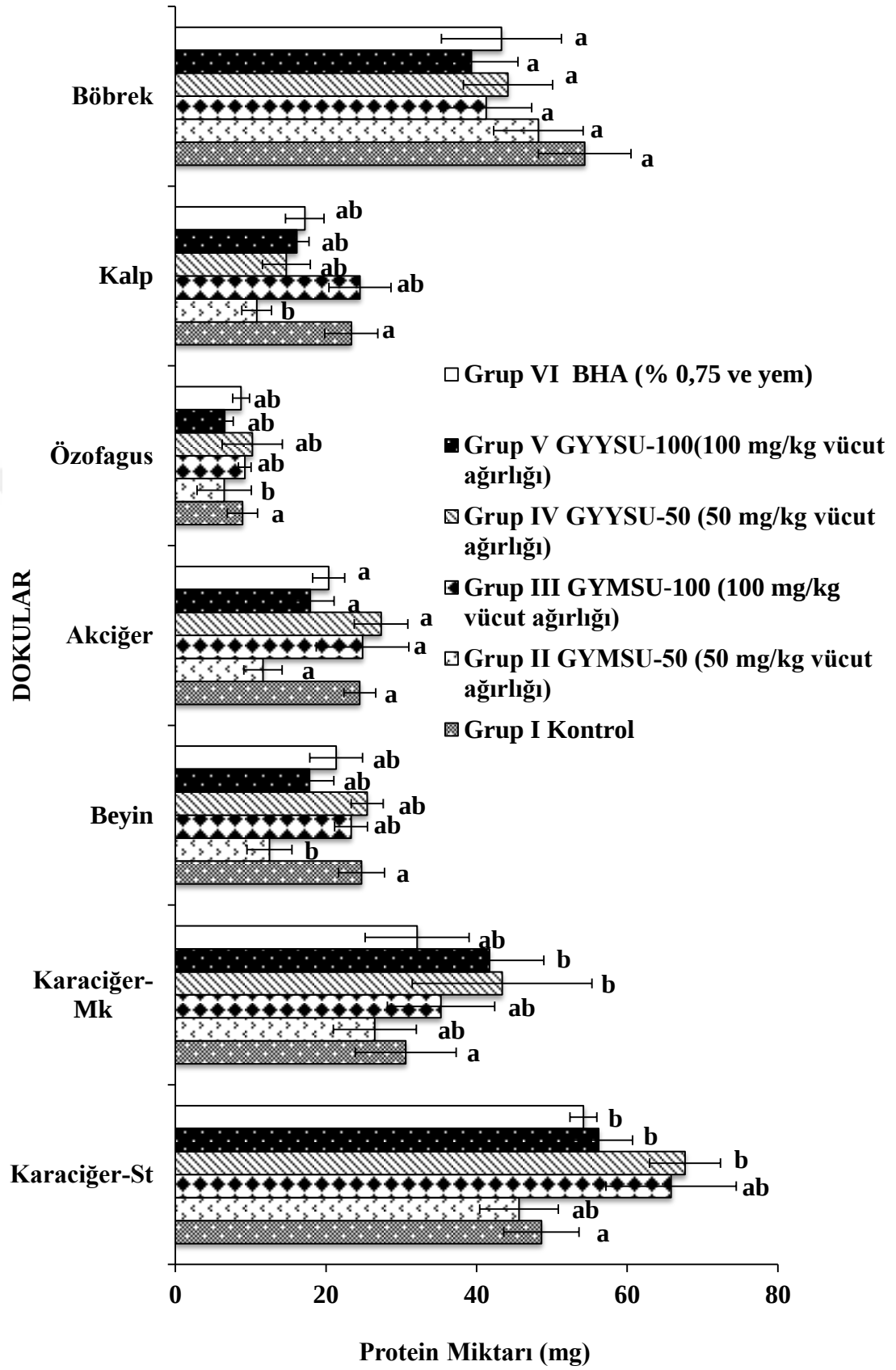
Beyin protein miktarı, güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA

grubundaki protein miktarı ise, kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Akciğer protein miktarı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozunun protein miktarı kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozunun protein miktarı kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki protein miktarı ise, kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Özofagus protein miktarı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozunun protein miktarı kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozunun protein miktarının kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki protein miktarı ise, kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Kalp protein miktarı, güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olduğu gözlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozunun protein miktarı kontrol grubuna göre artmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir. BHA grubundaki protein miktarı ise, kontrol grubuna göre azalmıştır ve değişimin anlamlı olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 5.4. Dokulardaki protein miktarının karşılaştırılması

5.6 Katalaz aktivitesi sonuçları

Katalaz (KAT) hidrojen peroksiti oksijen ve suya metabolize eder ve dokuların hidroksil radikale karşı koruyarak antioksidant savunma sisteminde önemli bir rol oynayan enzimdir (Eliza ve diğ; 2010). H_2O_2 redoks sürecinde oluşurlar ve hücre sinyal iletiminde görev almaktadır (Rhee, 1999). H_2O_2 ' in oksidatif stres kaynaklarının neredeyse hepsinden oluştuğu ve DNA zararı ve LPO ile birçok hücre türünde apoptozu artırdığı iyi bilinmektedir (Li ve diğ; 2003).

KAT karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularının homojenizasyon, sonikasyon ve santrifüjleme işlemlerinden sonra sitozolde spektrofotometrik olarak tayin edildi. I., II., III., IV., V. ve VI. gruplarındaki deney hayvanlarının karaciğer dokularındaki katalaz aktivitesine güz yemişi meyve (GYMSU) ve yaprak (GYYSU) su ekstraktlarının etkisi belirlenmiştir.

Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının katalaz aktivitesi için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.5).

Karaciğer katalaz aktivitesi, güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu belirlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozların kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlemlenmiştir ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki katalaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen anlamlı bir farklılık yoktur.

Böbrek katalaz aktivitesi, güz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu ise kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki katalaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Beyin katalaz aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktın düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Gz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki katalaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre düşük daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Akciğer katalaz aktivitesi, gz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Gz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozunda bir değişimin olmadığı gözlenmiştir. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozun kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki katalaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Özofagus katalaz aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki katalaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Kalp katalaz aktivitesi, BHA grubunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Gz yemişi yaprak ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük oluğu belirlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. BHA grubundaki katalaz aktivitesi ise,

kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Güz yemişin katalaz aktivitesi ile ilgili çalışma olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin katalaz aktivitesi vurgulanması açısından diğer bitki türlerin ve meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Semiz & Sen (2007) *Momordica charantia* L. (kavun özü) antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yaptıkları çalışmada kavun özünün katalaz aktivitesi (nmole/min/mg protein) kontrol grubuna göre yüksek çıkarak katalaz aktivitesini artırmıştır. Yapılan bu tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktı karaciğerdeki katalaz aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. Kavun özü böbrekte yapılan çalışmada katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında ise güz yemişi meyve ekstraktı katalaz aktivitesini artırmıştır. Kavun özü akciğerde yaptıkları çalışmada katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktı katalaz aktivitesini azaltmıştır.

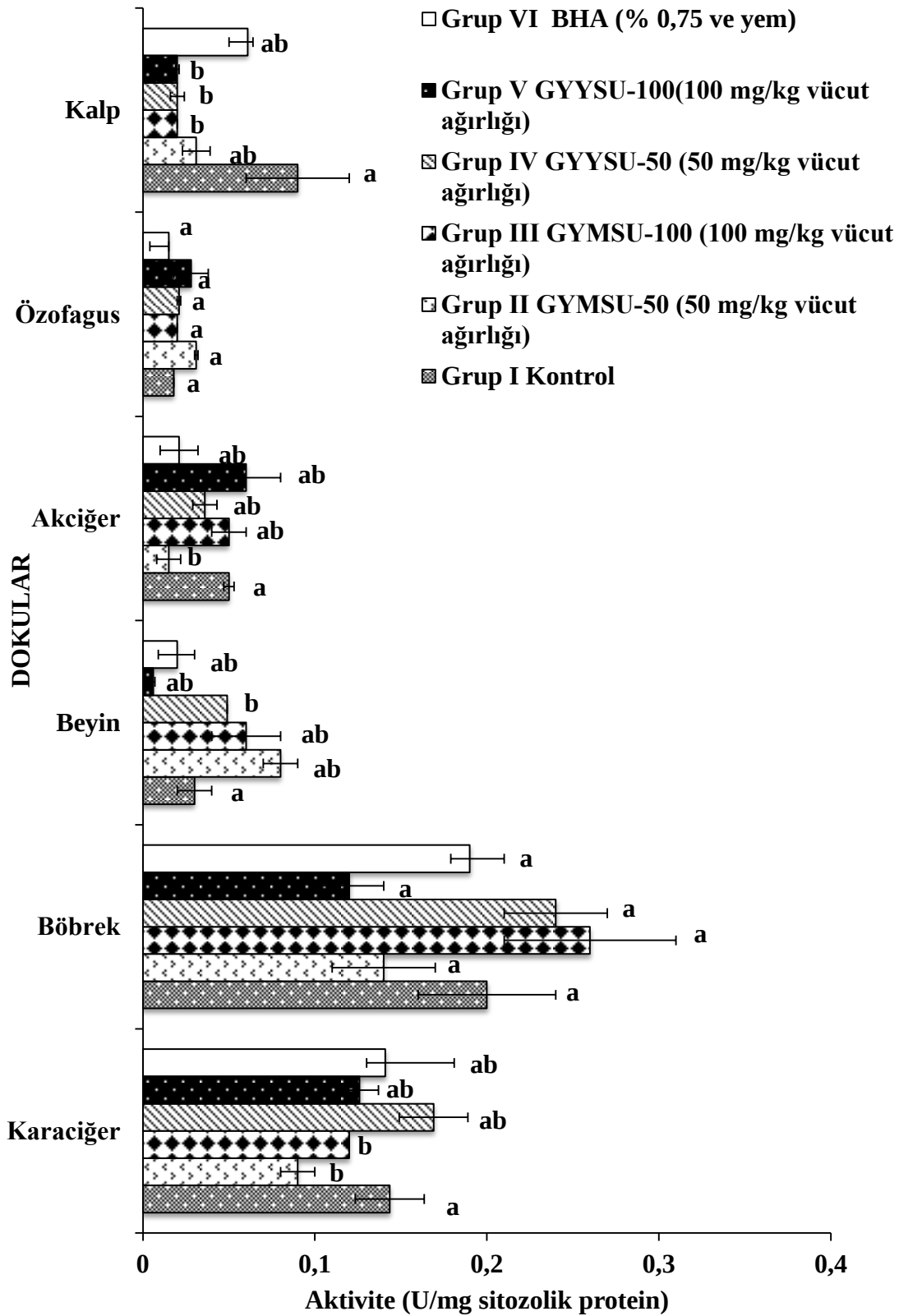
Singh vd (2000) *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktlarının antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yapılan çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları yüksek olduğu tayin edilmiştir. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu katalaz aktivitesini artırdığı tayin edildi. Böbrekte yaptıkları çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları yüksek bulunmuştur. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu katalaz aktivitesini artırdığı bulunmuştur. Akciğerde yaptıkları çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları yüksek bulunmuştur. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktının 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu katalaz aktivitesini artırmıştır.

Huang vd (2011) *Halenia elliptica* ekstraktının antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yapılan çalışmada *Halenia elliptica* ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı), 100 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 200 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları düşük olduğu tayin edilmiştir. Test çalışmasında ise güz yemişi meyve ekstraktının 50 (mg/kg vücut

ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları katalaz aktivitesini azalttığı tayin edilmiştir. Böbrekte yaptıkları çalışmada *Halenia elliptica* ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı), 100 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 200 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları düşük bulunmuştur. Tezde yapılan çalışmada güz yemişi meyve ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu katalaz aktivitesini azalttığı tayin edilmiştir.

Ananthan vd (2004) *Gymnema montanum* yapraklarının etanol ekstraktının katalaz aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yapılan çalışmada *Gymnema montanum* etanol ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise, güz yemişi yaprak ekstraktı katalaz aktivitesini artırdığı tayin edilmiştir. Böbrekte yapılan çalışmada *Gymnema montanum* etanol ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise, güz yemişi yaprak ekstraktı katalaz aktivitesini artırdığı tayin edilmiştir.

Kumarappan vd (2012) *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının katalaz aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yapılan çalışmada *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise, GYMSU benzer etki göstermiştir. Böbrekte yapılan çalışmada, *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktı katalaz aktivitesini artırdığı tayin edilmiştir. Kalpte, *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktın katalaz aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tezde ise, GYMSU katalaz aktivitesini azalttığı tayin edilmiştir.



Şekil 5.5. Dokulardaki katalaz aktivitesinin karşılaştırılması

5.7 Süperoksit dismutaz aktivitesi sonuçları

Süperoksit dismutaz (SOD) önemli bir endojen antioksidant enzim ve çeşitli yaygın formları vardır. SOD, süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) molekülünün H_2O_2 (reaktif bir molekül) suya ve O_2 dismutasyonunu katalizler. İnsanlar SOD üç formları içerir: SOD1 sitoplazmada bulunur, SOD2 mitokondri ve SOD3 hücre dışında bulunur (Valko vd, 2007).

Süperoksit dismutaz aktivitesi karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularının homojenizasyon, sonikasyon ve santrifüjleme işlemlerinden sonra sitozolde spektrofotometrik olarak tayin edildi. I., II., III., IV., V. ve VI. gruplarındaki deney hayvanlarının karaciğer dokularındaki SOD aktivitesine güz yemişi meyve (GYMSU) ve yaprak (GYYSU) su ekstraktlarının etkisi belirlenmiştir.

Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının SOD aktivitesi için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.6).

Karaciğer SOD aktivitesi, güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktın yüksek dozu ise kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki SOD aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Böbrek SOD aktivitesi, güz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktın yüksek dozu ise kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının SOD aktivitesi kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki SOD aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Beyin SOD aktivitesi, gz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. BHA grubundaki SOD aktivitesi ise, kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Akciğer SOD aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki SOD aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır.

Özofagus SOD aktivitesi, gz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktın düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. BHA grubundaki SOD aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır.

Kalp SOD aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre yüksek olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Gz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu ise kontrol grubuna göre yüksek daha olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki SOD aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır.

Güz yemişinin süperoksit dismutaz aktivitesi ile ilgili çalışma olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin süprosit dismutaz aktivitesinin vurgulanması açısından diğer bitki türlerin ve meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Semiz & Sen (2007) *Momordica charantia* L. antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yapılan çalışmada kavun özünün süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek çıkarak süperoksit dismutaz aktivitesini artırmıştır. Tez çalışmasında ise, güz yemişi yaprak ekstraktı karaciğerdeki süperoksit dismutaz aktivitesini artırmıştır. Böbrekte yapılan çalışmada süperoksit dismutaz enzim aktivitesi kontrol grubuna göre daha yüksek çıkarak süperoksit dismutaz aktivitesini artırmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada güz yemişi meyve ekstraktı süperoksit dismutaz aktivitesini artırmıştır.

Singh vd (2000) *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktlarının antioksidant enzimler etkisini incelemişlerdir. Karaciğerdeki çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozların etkili olduğu gözlenmiştir. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları süperoksit dismutaz aktivitesi etkileri benzer bulunmuştur. Akciğerdeki çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları düşük olduğu tayin edilmiştir. Tez çalışmasında ise, güz yemişi yaprak ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları süperoksit dismutaz aktivitesini azalttığı bulunmuştur. Böbrekteki çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozlarında aktiviteyi artırmıştır. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları süperoksit dismutaz aktivitesini artırdı. Özofagusta yaptıkları çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozlarında aktiviteyi artırmıştır. Tez çalışmasında ise güz yemişi yaprak ekstraktının 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu süperoksit dismutaz aktivitesini artırdığı belirlendi.

Wang vd (2008) *Choerospondias axillaris* meyvesinin su ekstraktının deney hayvanların beynindeki SOD aktivitesin etkisi araştırmışlardır.

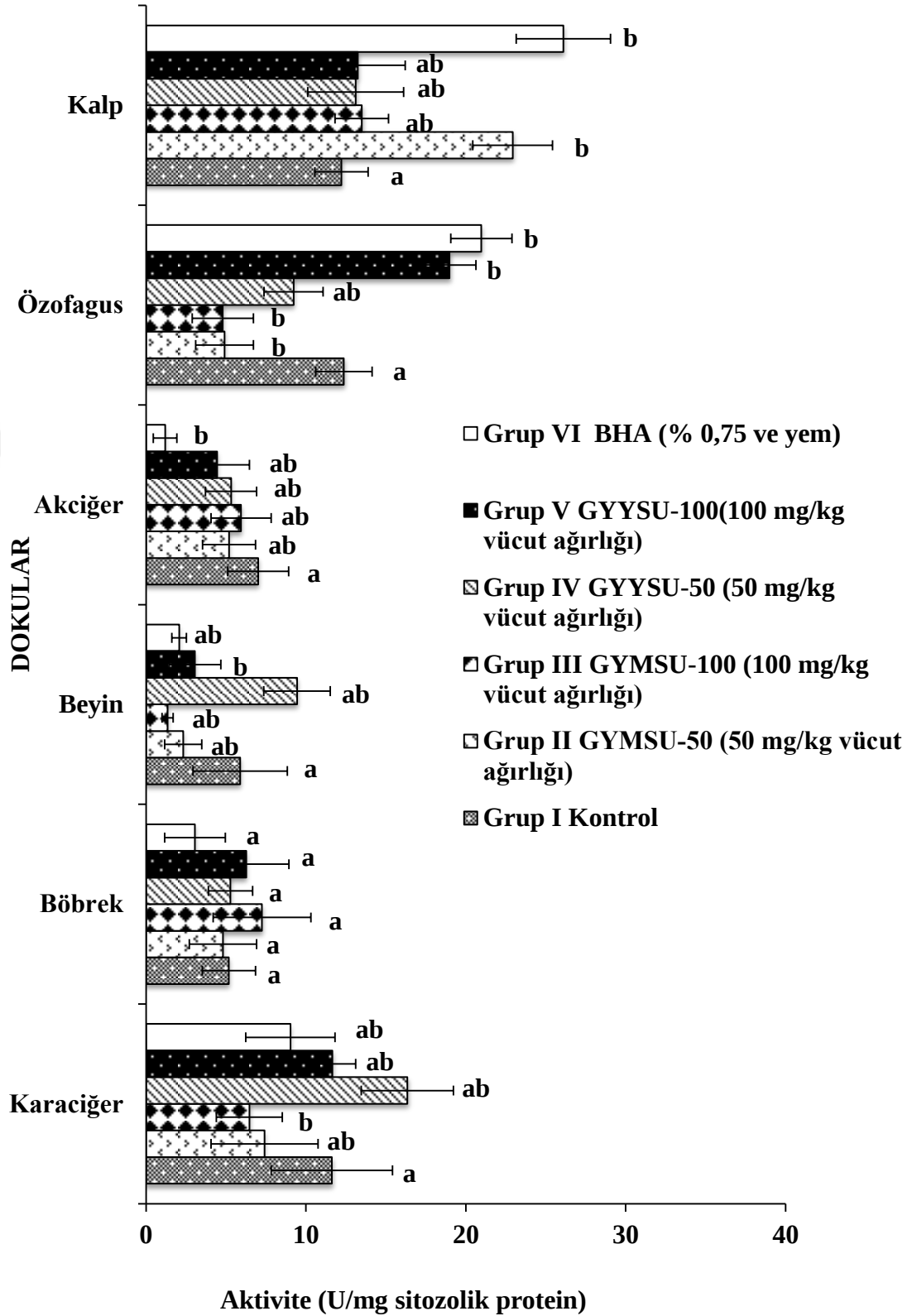
Meyve ekstraktın 250 mg/kg, 750 mg/kg ve 2250 mg/kg dozları kontrol grubuna göre SOD aktivitesini düşürdüğünü tayin etmiştir. Tezde güz yemişi meyvesinin 50 (mg/kg) ve 100 (mg/kg) dozları kontrol grubuna göre SOD aktivitesini düşürdüğü belirlendi.

Huang vd (2011) *Halenia elliptica* ekstraktının antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişler. Böbrekte yapılan çalışmada *Halenia elliptica* ekstraktının süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı), 100 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 200 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları aktiviteyi düşürdüğünü tayin etmişlerdir. Tezde ise, güz yemişi meyve ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu SOD aktivitesini düşürdüğü belirlendi.

Ananthan vd (2004) *Gymnema montanum* yapraklarının etanol ekstraktının SOD aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yapılan çalışmada *Gymnema montanum* etanol ekstraktının SOD aktivitesi kontrol grubuna göre aktiviteyi artırdığını bulmuşlardır. Tez çalışmasında ise, güz yemişi yaprak ekstraktı SOD aktivitesini artırdığı tayin edilmiştir. Böbrekteki çalışmada *Gymnema montanum* etanol ekstraktının SOD aktivitesi kontrol grubuna göre aktiviteyi artırdığını bulmuşlardır. Tez çalışmasında güz yemişi yaprak ekstraktı SOD aktivitesini artırdığını tayin etmişlerdir.

Kumarappan vd (2012) *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının SOD aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerdeki çalışmada *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının SOD aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tezde, GYMSU benzer etki göstermiştir. Böbrekte yapılan çalışmada *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının SOD aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise, GYMSU'nun düşük dozu SOD aktivitesini azaltığı tayin edilmiştir. Kalpte, *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktın SOD aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında ise GYMSU ve GYYSU SOD aktivitesini artırdığı tayin edilmiştir.

Su vd (2009) *Pinus koraiensis* tohum ekstraktının SOD aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Karaciğerdeki çalışmada *Pinus koraiensis* tohum ekstraktının SOD aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tezde GYMSU benzer etki göstermiştir.



Şekil 5.6. Dokulardaki süperoksit dismutaz aktivitesinin karşılaştırılması

5.8 Glutasyon peroksidaz aktivitesi sonuçları

Glutasyon peroksidaz (GP) hücrelerin sitoplazmasında bulunan ve H_2O_2 neden olduğu oksidatif hasarına karşı hücreyi korur ve H_2O_2 'ten hidroksil radikal oluşumunu önler. Dört alt protein birimden oluşur ve her alt birimi aktif bir selenyum element atomu içerir (Fang vd, 2002).

GP aktivitesi karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularının homojenizasyon, sonikasyon ve santrifüjleme işlemlerinden sonra sitozolde spektrofotometrik olarak tayin edildi. I., II., III., IV., V. ve IV. gruplarındaki deney hayvanlarının karaciğer dokularındaki glutasyon peroksidaz aktivitesine güz yemişi meyve (GYMSU) ve yaprak (GYYSU) su ekstraktlarının etkisi belirlenmiştir.

Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının glutasyon peroksidaz aktivitesi için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.7).

Karaciğer GP aktivitesi, güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktın düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi meyvesi ekstraktın yüksek dozu kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki GP aktivitesi ise, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur

Böbrek GP aktivitesi, güz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu ise kontrol grubuna göre daha düşük gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek ve düşük dozlarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. BHA grubundaki GP aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Beyin GP aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu ise kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki GP aktivitesi ise, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Akciğer GP aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre aktiviteleri daha düşük olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. BHA grubundaki GP aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır.

Özofagus GP aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. BHA grubundaki GP aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Kalp GP aktivitesi, gz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gz yemişi meyvesi ekstraktın düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Gz yemişi meyvesi ekstraktın yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Gz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki GP aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Gz yemişin glutatyon peroksidaz aktivitesi ile ilgili çalışma olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin

glutasyon peroksidaz aktivitesinin vurgulanması açısından diğer bitki türlerin ve meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Semiz & Sen (2007) *Momordica charantia* L. antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Karaciğerde yaptıkları çalışmada kavun özünün GP aktivitesi (nmol/dak/mg protein) kontrol grubuna göre yüksek olduğunu tayin etmişlerdir. Tezde ise, GYYSU karaciğer GP aktivitesini artırmıştır. Böbrekte yaptıkları çalışmada *Momordica charantia* L. glutasyon peroksidaz aktivitesi kontrol grubuna göre GP aktivitesini artırdığını belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında ise, güz yemişi meyve ekstraktı böbrekte GP aktivitesini artırmıştır. Akciğerde yaptıkları çalışmada *Momordica charantia* L. GP aktivitesi kontrol grubuna göre aktiviteyi artırdığı bulunmuştur. Tez çalışmasında ise, güz yemişi meyve ekstraktı akciğer GP aktivitesini artırmıştır.

Singh vd (2000) *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktlarının antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerde yaptıkları çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının GP aktivitesi (nmol tüketilmiş NADPH/dak/mg protein) kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları yüksek olduğu belirlemişlerdir. Tezde, güz yemişi yaprak ekstraktının 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozunda GP aktivitesi artırmıştır.

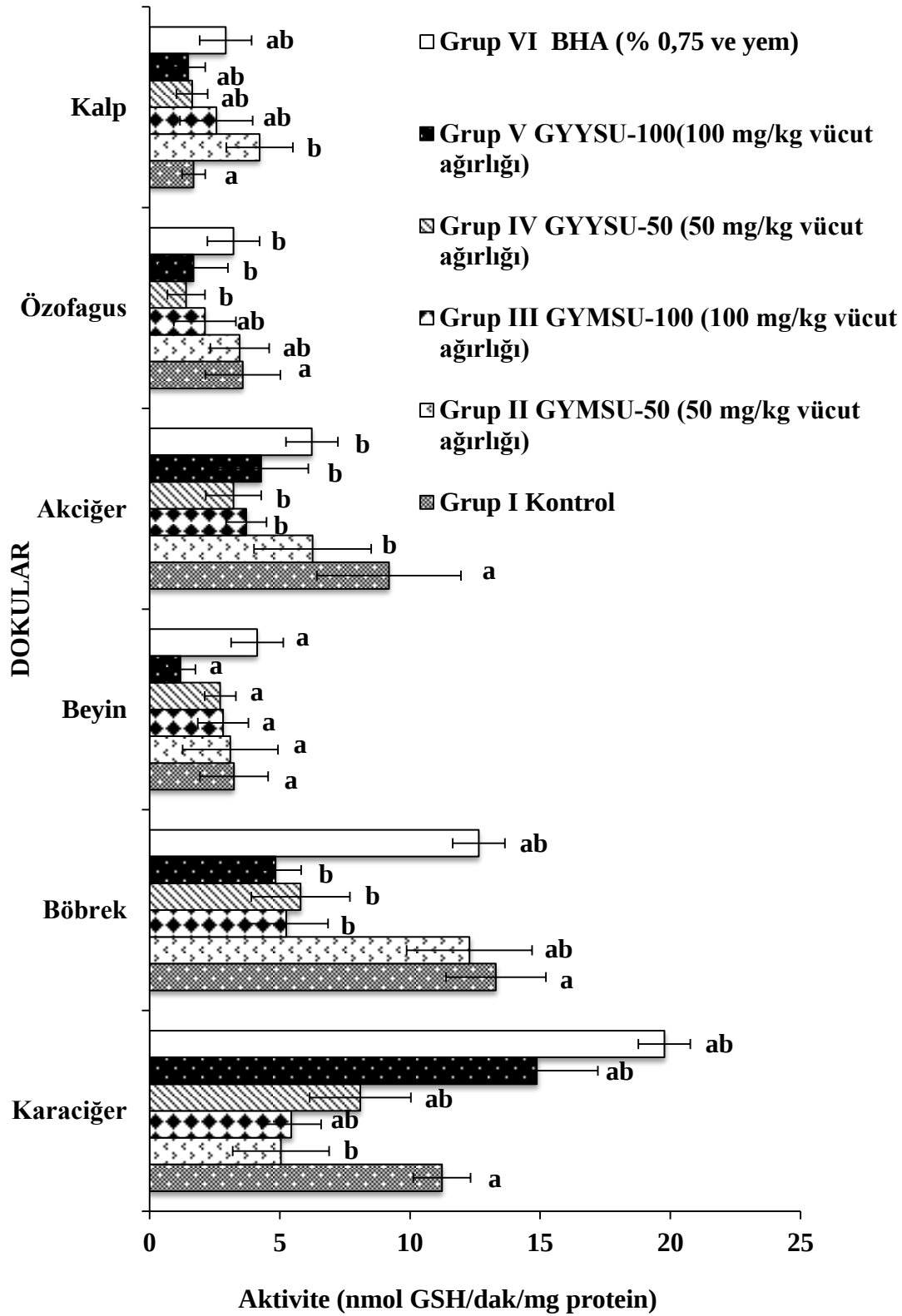
Wang vd (2008) *Choerospondias axillaris* meyvesinin su ekstraktının beyindeki GP aktivitesine etkisini incelemişlerdir. Meyve ekstraktının 250 mg/kg, 750 mg/kg ve 2250 mg/kg dozları kontrol grubuna göre GP aktivitesini düşürdüğünü belirlemişlerdir. Tez çalışmasında ise, meyve ekstraktın 50 ve 100 mg/kg dozları kontrol grubuna göre GP aktivitesinde azalma gözlemlendi.

Ananthan vd (2004) *Gymnema montanum* yapraklarının etanol ekstraktının glutasyon peroksidaz aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Karaciğerde yapılan çalışmada *Gymnema montanum* etanol ekstraktının GP aktivitesini (μ g tüketilmiş GSH/dak/mg protein) kontrol grubuna göre artırdığını bulmuşlardır. Tez çalışmasında ise, güz yemişi yaprak ekstraktın düşük dozu GP aktivitesini artırmıştır. Böbrekteki çalışmada *Gymnema montanum* etanol ekstraktının GP aktivitesi (μ g tüketilmiş GSH/dak/mg protein)) kontrol grubuna göre aktiviteyi artırdığını belirlemişlerdir. Tez çalışmasında ise, güz yemişi yaprak ekstraktın düşük ve yüksek dozları GP aktivitesini azalttığını tayin etmişlerdir.

Su vd (2009) *Pinus koraiensis* tohum ekstraktının GP aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişler. Karaciğerdeki çalışmada *Pinus koraiensis* tohum ekstraktının

GP aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir. Tezde, GYMSU benzer etki göstermiştir.





Şekil 5.7. Dokulardaki glutatyon peroksidaz aktivitesinin karşılaştırılması

5.9 Glutasyon redüktaz aktivitesi sonuçları

Glutasyon redüktaz (GR), GSH dönüşümü için gerekli olan hücresel önemli bir antioksidandır ve flavoprotein olan bir enzimdir. Oksitlenmiş glutasyon bir elektron vericisi olarak NADPH kullanan ve GR enzimin varlığında tekrar indirgenmiş glutatona dönüşür (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Glutasyon redüktaz aktivitesi karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularının homojenizasyon, sonikasyon ve santrifüjleme işlemlerinden sonra sitozolde spektrofotometrik olarak tayin edildi. I., II., III., IV., V. ve IV. gruplarındaki deney hayvanlarının karaciğer dokularındaki Glutasyon redüktaz aktivitesine güz yemişi meyve (GYMSU) ve yaprak (GYYSU) su ekstraktlarının etkisi belirlenmiştir.

Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının glutasyon redüktaz aktivitesi için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.8).

Karaciğer glutasyon aktivitesi, güz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki glutasyon redüktaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Böbrek glutasyon redüktaz aktivitesi, güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu ise kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki glutasyon

redüktaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Beyin glutatyon redüktaz aktivitesi, güz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki glutatyon redüktaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Akciğer glutatyon redüktaz aktivitesi, güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki glutatyon redüktaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Özofagus glutatyon redüktaz aktivitesi, güz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki glutatyon aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

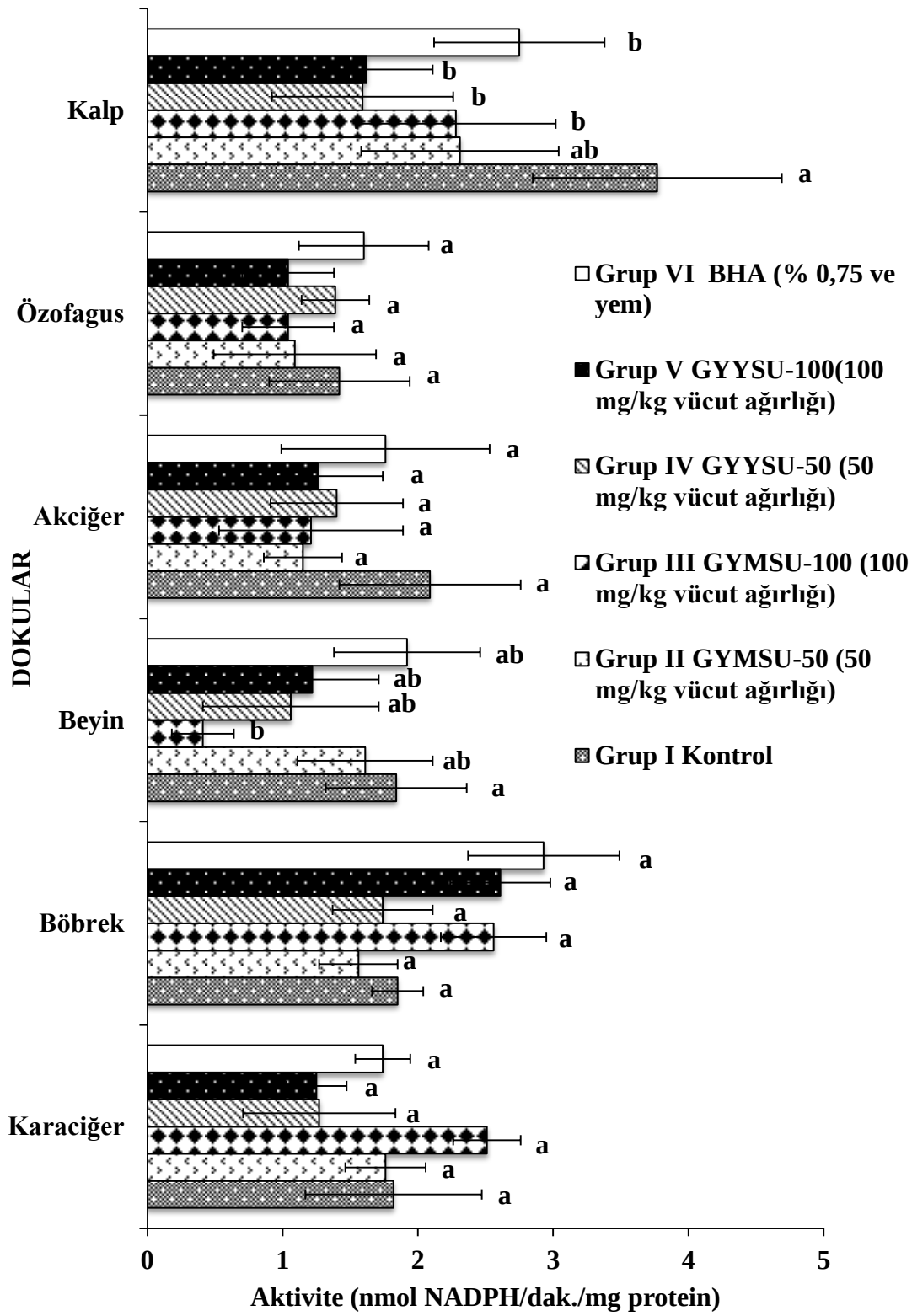
Kalp glutatyon redüktaz aktivitesi, güz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir

farklılık vardır. BHA grubundaki glutatyon redüktaz aktivitesi ise, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır.

Güz yemişin glutatyon redüktaz aktivitesi ile ilgili çalışma olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin glutatyon redüktaz aktivitesinin vurgulanması açısından diğer bitki türlerin ve meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Singh vd (2000) *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktlarının antioksidant enzimler üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Karaciğerde *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının GR aktivitesi ($\mu\text{mol/mg}$ protein) kontrol grubuna göre 50 ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozlarında artırmıştır. Tezde güz yemişi yaprak ekstraktının 50 ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları GR aktivitesini azalttığı gözlemlenmiştir.





Şekil 5.8. Dokulardaki glutatyon redüktaz aktivitesinin karşılaştırılması

5.10 Lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyi sonuçları

LPO, MDA standart olarak kullanılarak ekstratların ve BHA'nın etkisi karşılaştırılarak analiz edildi. TBA reaktifi ile MDA pembe renkli bir kompleks verir ve 532 nm spektrofotometrik olarak ölçüldü. LPO'nun ana ürünü olan MDA karaciğer ve birçok dokulara zarar verebilir ve hücre zarının bütünlük kaybına neden olabilir (Thabrew vd, 1987).

Lipid peroksidasyonu aktivitesi karaciğer, akciğer, böbrek, özofagus, kalp ve beyin dokularının homojenizasyon, sonikasyon ve santrifüjleme işlemlerinden sonra sitozolde spektrofotometrik olarak tayin edildi. I., II., III., IV., V. ve IV. gruplarındaki deney hayvanlarının karaciğer dokularındaki lipid peroksidasyonuna güz yemişi meyve (GYMSU) ve yaprak (GYYSU) su ekstraktlarının etkisi belirlenmiştir.

Karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, özofagus ve kalp dokularının lipid peroksidasyonu için yapılan MANOVA istatistiksel olarak gruplar arasında elde edilen deneysel sonuçlar değerlendirildi (Şekil 5.9).

Karaciğer mikrozom LPO düzeyi, güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozunda ölçülen MDA düzeyi diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ölçülen MDA'nın kontrol grubuna göre düşük olması lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermektedir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki LPO düzeyi ise, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Karaciğer sitoplazma LPO düzeyi, güz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda ölçülen MDA içeriği diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının

yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki LPO düzeyi ise, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Böbrek LPO düzeyi, güz yemişi meyve ekstraktının düşük dozunda ölçülen MDA miktarı diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu ise kontrol grubuna daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki LPO düzeyi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Beyin LPO düzeyi, güz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda ölçülen MDA içeriği diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu ise kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki LPO düzeyi ise, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Akciğer LPO düzeyi, güz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda ölçülen MDA miktarı diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozunun kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA

grubundaki LPO düzeyi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Özofagus LPO düzeyi, güz yemişi meyve ve yaprak ekstraktlarında ölçülen MDA miktarı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük ve yüksek dozlarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük ve yüksek dozları kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki LPO düzeyi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Kalp LPO düzeyi, güz yemişi meyve ekstraktının yüksek dozunda ölçülen MDA miktarı diğer gruplara göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Güz yemişi meyvesi ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ve kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık vardır. Güz yemişi meyvesi ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının düşük dozu kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. Güz yemişi yaprak ekstraktının yüksek dozu kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur. BHA grubundaki LPO düzeyi ise, kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktur.

Güz yemişin lipid peroksidasyonu ile ilgili çalışma olmaması elde ettiğimiz değerlerin karşılaştırılmasına olanak sağlamamaktadır. Buna karşın bitkinin lipid peroksidasyon vurgulanması açısından diğer bitki türlerin ve diğer meyvelerin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

Singh vd (2000) *Ahatoda vesica* yaprak ekstraktlarının LPO düzeyine etkisini incelemişlerdir. Karaciğerde yapılan çalışmada *Adhatoda vesica* yaprak ekstraktının kontrol grubuna göre 50 ve 100 (mg/kg vücut ağırlığı) dozlarının LPO (μmol MDA/mg protein) düzeyini azaltmıştır. Ölçülen MDA'nın düşük olması lipid peroksidasyonun baskılandığını gösterir. Tezde güz yemişi GYYSU nun LPO da etkili olduğu ortaya koymaktadır.

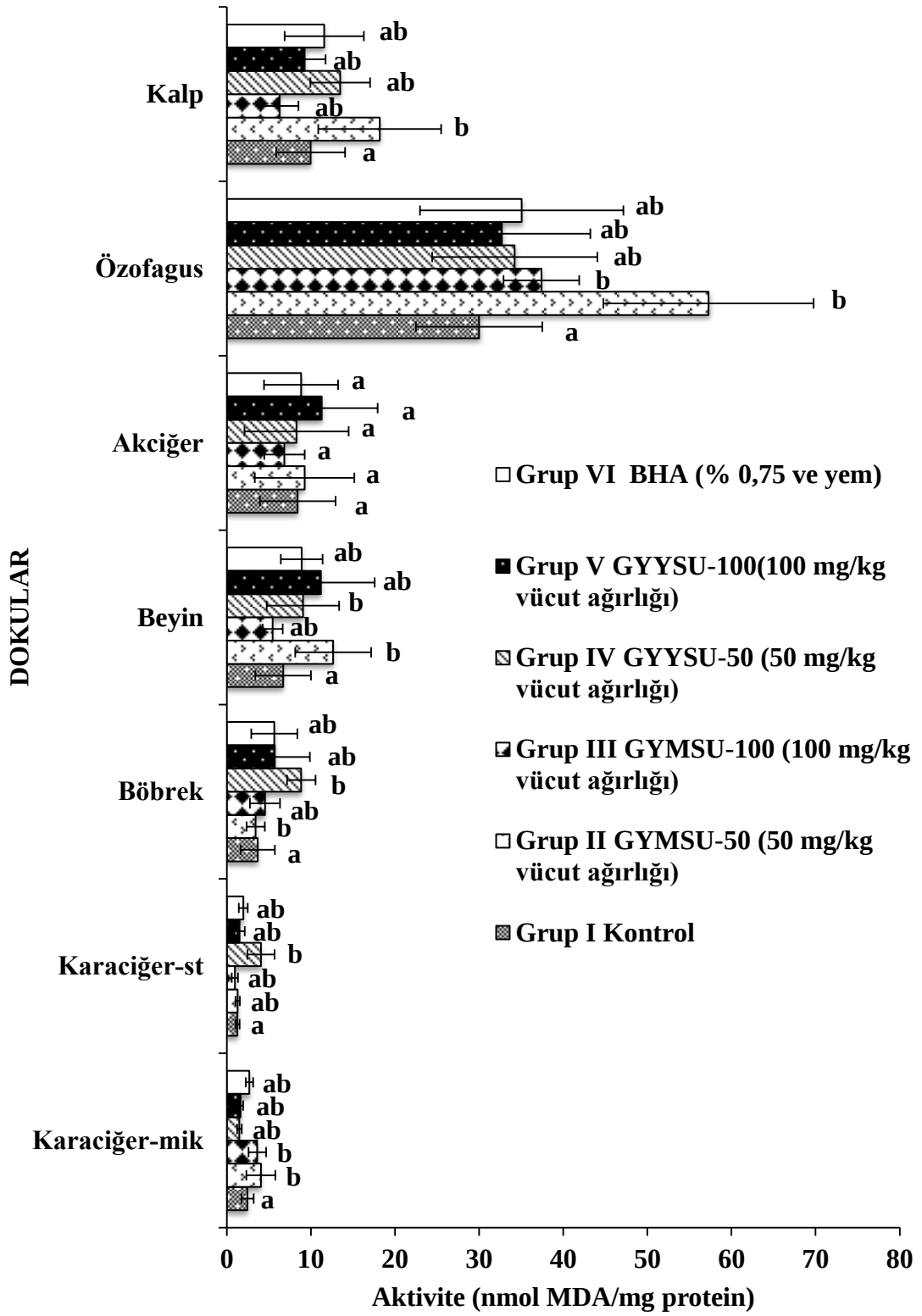
Wang vd (2008) *Choerospondias axillaris* su ekstraktının beyinde MDA düzeyine etkisini incelemişlerdir. Meyve ekstraktının 250 mg/kg, 750 mg/kg ve 2250 mg/kg dozları beyindeki MDA (nmol/mg protein) düzeyini kontrol grubuna göre

artırmıştır. Tezde ise, meyve ekstraktın düşük dozu MDA düzeyini artırmıştır ve etkili olmadığını göstermektedir.

Huang vd (2011) *Halenia elliptica* ekstraktının MDA düzeyi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Karaciğerde yapılan çalışmada *Halenia elliptica* ekstraktının MDA (nmol/mg protein) düzeyi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı), 100 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 200 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları MDA düzeyini artırmıştır. Tezde ise, güz yemişi meyve ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu MDA düzeyini artırmıştır ve etkili olmadığını göstermektedir. Böbrekte *Halenia elliptica* ekstraktının MDA (nmol/mg protein) düzeyi kontrol grubuna göre 50 (mg/kg vücut ağırlığı), 100 (mg/kg vücut ağırlığı) ve 200 (mg/kg vücut ağırlığı) dozları MDA düzeyini artırmıştır. Tezde ise, güz yemişi meyve ekstraktının 50 (mg/kg vücut ağırlığı) dozu MDA düzeyini artırmıştır ve etkili olmadığını göstermektedir.

Kumarappan vd (2012) *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının MDA düzeyi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Karaciğerdeki çalışmada *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktın MDA düzeyini kontrol grubuna göre artırmıştır. Tezde GYMSU düşük dozu MDA düzeyini artırmıştır ve etkili olmadığını göstermektedir. Böbrekte yapılan çalışmada *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktının MDA düzeyini kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Tezde ise, GYMSU'nun düşük dozu LPO düzeyini artırmıştır. Kalpte, *Ichnocarpus frutescens* polifenol ekstraktın MDA düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında GYMSU düşük dozu MDA düzeyini artırmıştır ve etkili olmadığını göstermektedir.

Su vd (2009) *Pinus koraiensis* tohum ekstraktının MDA düzeyi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Karaciğerdeki çalışmada *Pinus koraiensis* tohum ekstraktının MDA düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir ve düşük dozu MDA düzeyini azaltmıştır. Tezde GYMSU' un düşük dozu MDA düzeyini artırmış ve yüksek dozu azaltmıştır.



Şekil 5.9. Dokulardaki lipid peroksidasyon inhibisyon düzeyinin karşılaştırılması

Tez çalışmasında fare vücut ağırlıkları 15. gününde tüm gruplarda azalmış olarak gözlemlense de ağırlık değişimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Bu farklılığın nedeni, farklı dozlarda kullanılan GYYSU ve GYMSU ekstraktlarının uygulama dozu ve ekstraktlarının eldesinde kullanılan ekstraksiyon işlemi, güz yemişi yaprak ve meyvelerinin kurutulularak kullanılması, değişik sindirim sistemine sahip deney hayvanları ve bunların sindirim sistemi enzimlerinin etkilerinden kaynaklanıyor olabilir. Çalışmada elde edilen bu veriler, uygulanan dozda sadece güz yemişi sulu ekstraktlarının farelerin canlı ağırlığı üzerine koruma kapasitesine sahip olabileceğine ancak günlük ağırlık ölçümü kaydedilerek yapılacak daha spesifik çalışma ile güz yemişi sulu ekstraktlarının ağırlık değişimi ve yem fare kalitesi gibi parametrelere etkilerinin etkin olabileceğini düşünülmektedir.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre, GYYSU ve GYMSU nin farklı dozlarının deney hayvanları organlarının sitozolik fraksiyonlarındaki SOD, KAT, GP ve GR farklı düzeylerde istatistiksel anlamda bir değişiklikler gözlenmiştir. Deney gruplarındaki SOD, KAT, GP ve GR aktivitelerinde, control gruplarına göre GYYSU uygulamalarında belirgin bir artış saptanmıştır. Bu antioksidant enzimler oksidatif stres veya birçok etkinin sonucu enzim aktivitelerinin düzeyini etkilemektedir. Tezde, kimyasal madde, ilaç veya radyasyon gibi indükleyiciler kaynaklı oksidatif stres bulunmadığından enzim seviyelerinde istatistiksel anlamda control grubuna göre aktivitede artış veya yakın sonuçların elde edilmesi GYYSU ve GYMSU ekstraktlarının *in vivo* antioksidant kapasiteyi güçlendirmiş veya düzenleyici etkisinin olabileceğini kabul edebilir.

MDA düzeyi karaciğer mikrozom GYYSU-50, GYYSU-100 ve BHA, karaciğer sitozol GYYSU-100, böbrek GYMSU -50, beyin GYMSU-100, akciğer GYYSU-50 ve GYYSU-100, kalp GYMSU-100 ve GYYSU-100 gruplarında anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. GYYSU ve GYMSU uygulama grupları arasındaki MDA düzeyindeki azalma istatistiksel anlamda baskılandığını göstermektedir. Ayrıca GYYSU ve GYMSU uygulanan bazı gruplarda MDA içeriği artmıştır ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu artmıştır. Bu artış gastrik gavaj yapılması farelerde stres yarattığı düşünülerek ekstrakt uygulama gruplarında MDA nın artması normal kabul edilebilir. Özellikle BHA grubunda MDA düzeyinin artması ise BHA toksik etkisi olabileceği beklenmektedir.

6. ÖNERİLER

Güz yemişinde, birçok kanser türünü önlediği ve kalp sağlığına iyi geldiğini bilinen likopenin yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Likopen, sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten familyasına ait bir pigmenttir. Birçok araştırma göstermiştir ki likopen prostat kanseri, sindirim sistemi, göğüs kanseri, akciğer kanseri ve yaşlılıktan dolayı oluşan kalp dejenerasyonunu aktif olarak engelleyebilir. Likopen domatesin dışında, karpuz, pembe greyfurtta bulunuyor. Ayrıca, likopen miyokard enfaktüsü ve prostat kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerine karşı koruduğunu kanıtlamıştır (Clinton, 1998).

Antioksidantlar vücutta özellikle protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi yapısal ve fonksiyonel moleküllerin hasar görmesini engelleyen, düşük konsantrasyonlarda bile oksidan denen substratlara karşı etkili olan maddelerdir. Yapılan çalışmalar antioksidant tüketimindeki artışın, serbest radikal mekanizması üzerinde etkili olduğu daha uzun ve kaliteli bir yaşam üzerinde de etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Son yıllarda çoğunluğu bitkisel kaynaklı olan yüzlerce madde gıdalarda antioksidant olarak kullanımı artmaktadır. Doğal maddelerin önemli antioksidant etki gösterdikleri ve bazen sentetik antioksidanlardan daha etkin olduklarına ilişkin çok sayıda çalışma yapılmıştır. Baharatlar, şifalı otlar, kakao kabukları, kahve çekirdekleri, yulaf, çay, fasulye, bakla, bezelye, domates, kızılcık, sebzeler (özellikle soğan ve biber), zeytin yaprağı ve soya fasulyesi gibi bitkisel ürünlerde etkin antioksidan etki olduğu bildirilmiş ve ticari açıdan en fazla ümit verici olanların biberiye ve yulaf ekstraktları olduğu belirtilmiştir (Sherwin, 1990).

Vareltzis vd (1997) biberiye ekstraktının, dondurularak muhafaza edilen istavrit ve berlam balığı fileto ve kıymalarının oksidasyonu önemli düzeyde geciktirdiğini saptamışlardır. Faray ve diğ 400 ppm düzeyindeki zeytin serbest fenoliklerinin ayçiçeği yağının ransiditesini geciktirmede BHT'den daha etkili olduğunu bulmuşlardır.

Glutation, askorbik asit, α -tokoferol, β -karoten, bilirubin, selenyum, NADPH, butillenmiş hidroksianisol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), benzoat, histidin, koenzim Q10, melatonin ve ürik asit hücre metabolizmasında oluşan reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu rol oynamaktadır. Bunlar arasında direk olarak etkili olanı glutation olduğu belirtilmektedir. Bunlara ilaveten fenolik bileşenler ve

C vitamini de enzimatik olmayan antioksidan sınıfında yer almaktadır. Özellikle son yıllarda gıdaların antioksidan özellikleri ve bunların gıda endüstrisinde kullanım olanakları üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır.

Tıbbi ve aromatik bitkiler hastalıkları tedavi etmenin yanında uzun süreli etkileri ile hastalıkları önlenmesi, sağlıklı ve zinde bir yaşam için yüzyıllarca güvenilir tamamlayıcı ve düzenleyici unsurlar olarak kullanılmaktadır. Sadece hastalık gelince değil, hasta olmamak için çaylar, yemekleri, masaj ürünleri ile hayat boyu yanımızda bulunan bitkiler, bu özellikleri ile ilaçlara göre daha avantajlar sağlarken, insanların çoğu bitkisel ürünlere güvenmede (genellikle farklı alternatifler olmadığına) veya bitkisel ilaçların genel tıpa alternatif olarak bilicli seçilmesinde ilk sırada yer almaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerde sürdürebilir üretim ve Pazar potansiyelini yeterince değerlendirmek için doğal ürünlerin istenen miktar ve kalitede olması beklenmektedir. Böylece, güz yemişinin biyoaktif bileşiklerinin izole edilerek daha spesifik *in vivo* araştırmalar yapılarak gıda ve sağlık uygulamalarına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S & Rezaie A (2004). Pesticides and oxidative stress : a review. *Medical Science Monitor.*, 10: 141-147.
- Abei H (1984). Catalase in vitro. Methods in Enzymology Vol 105: 121-126. acyclic dithioether cation radicals and dications, *Journal of the American Chemical Society*, 100: 6416-6421.
- Adachi T & Wang X L (1998). Association of EC-SOD phenotype with the endothelial constitutive NO synthase polymorphism. *FEBS Lett.*, 433: 166-168.
- Aebi HE (1980). Enzymes 1: oxidoreductases, transferases. In: Bergmeyer H, Ed. Methods of enzymatic analysis, vol. III., pp. 273-82.
- Akkuş İ (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
- Ananthan R, Latha M, Ramkumar K M, Pari L, Baskar C & Narmatha V (2004). Modulatory Effects of *Gymnema montanum* Leaf Extract on Alloxan-Induced Oxidative Stress in Wistar Rats, *Nutrition*, 20: 280-285.
- Apel K & Hirt H (2004). Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55: 373-99.
- Aziz S, Rehman H & Andleeb S (2015) Biological Screening of *Elaeagnus umbellata* Thunb., *Pakistan journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(1): 65-70.
- Bagchi K & Puri S (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease. *East Mediterranean Health Jr.*, 4: 350-60.
- Banci L, Benedetto M, Bertini I, Del Conte R, Piccioli M & Viezzoli M S (1998). Solution structure of reduced monomeric Q 133M2 copper, zinc superoxide dismutase (SOD). Why is SOD a dimeric enzym *Biochemistry*, 37: 11780-11791.
- Bast A, Haenen G R M & Cees J A D (1991). Oxidants and antioxidants:State of the art. *The American Journal of Medicine*, 91(3): 2-13.
- Benov L & Fridovich I (1998). Growth in iron-enriched medium partially compensates *E. coli* for the lack of Mn and Fe SOD. *Journal of the American Chemical Society*. 273, 10313-10316.
- Bera D, Lahiri D & Nag A (2006). Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J. Food Engineering*, 74: 542-545.

- Berlett B S & Stadtman E R (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of the American Chemical Society*. 272: 20313-20316.
- Beutler E (1975). Red Cell Metabolism "Manual of Biochemical Methods", Second Edition, Grune and Stratton, Inc., New York.
- Boiteux S & Radicella J P (2000). The human OGG1 gene: Structure, functions, and its implication in the process of carcinogenesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 377: 1-8.
- Brot N & Weissbach H (1983). Biochemistry and physiological role of methionine sulfoxide reductase in proteins, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 223: 271-281.
- Brown A J & Jessup W (1999). Oxysterols and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 142: 1-28.
- Burgner D, Rockett K & Kwiatkowski D (1999). Nitric oxide and infectious diseases. *Archives of Disease Childhood*., 81:185-188.
- Buschfort C M, Muller R, Seeber S, Rajewsky M F & Thomale J (1997). DNA excision repair profiles of normal and leukemic human lymphocytes: functional analysis at the single-cell level. *Cancer Research*., 57: 651-658.
- Cheeseman K H & Slater T F (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin*., 49(3): 481-93.
- Cherubini A, Ruggiero C, Polidori M C & Mecocci C (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*. 39: 841-852.
- Chopra R N, Nayar S L & Chopra L C (1986). Glossary of Indian medicinal plants. New Delhi; Council of Scientific and Industrial Research. New Delhi, pp 330.
- Clinton S K (1998). Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutrition Reviews*, 56: 35-51.
- Collins A, Cadet J, Epe B & Gedik C (1997). Problems in the measurement of 8-oxoguanine in human DNA. Report of a workshop, DNA oxidation, held in Aberdeen, UK, 19-21.
- Carr A C & Frei B (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*., 69(6): 1086-1107.
- Çakatay U & Telci A (2000). Oksidatif protein hasarı ve saptanmasında kullanılan markerlar. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası*, 63: 314-317.

- Çelik H, Karabulut B, Söyler K, Çelik D, Demirel G & Işık Y (2012). Güzyemişinin (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) bazı pomolojik özellikleri ile tohumlarının çimlenmesi üzerine soğukta bekletme ve dışsal giberellin uygulamasının etkileri. IV.Ulusal Üzümsü Meyve Meyveler Sempozyumu.
- Dalle-Donne I, Rossi R & Giustarini D (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 329: 23-38.
- Dean R T, Fu S, Stocker & R Davies MJ (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.*, 324 (1): 1-18.
- Dedona P C & Tannenbaum S R (2004). Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 423: 12-22.
- Devasagayam T P A, Tilak J C, Boloor K K, Sane K S, Ghaskadbi S S & Lele R D (2004). Free radicals and antioxidants in human health. *J. Assoc. Physicians India*, 52: 794-804.
- Dokuyucu R, Karateke A & Gokce H (2014). Antioxidant effects of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. *Europen Journal Obstetrics Gynecol Reproductive Biology*, 183:23-27.
- Eckardt S (1987). The nature conservancy element stewardship abstract for *E. umbellata* practice. Prelim Report 111. Dept. of Conservation; p. 1-4.
- Eliza J, Daisy P & Ignacimuthu S (2010). Antioxidant activity of constunolide and eremanthin isolated from *Costus speciosus* (Koen ex Retz) Sm. *Chemico-Biological Interactions*, 188: 467-472.
- Enghild J J, Thogersen I B, Oury T D, Valnickova Z, Hojrup P & Crapo J D (1999). The heparin-binding domain of Ec-SOD is proteolytically processed intracellularly during biosynthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 121: 14818-14822.
- Evans P, Lyras L & Halliwell B (1999). Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. *Methods Enzymol.*, 300: 145-156.
- Fang Y, Yang S & Wu G (2002). Free radicals, *Antioxidants and Nutrition*, 18: 872-879.
- Fenton H J H (1876). On a new reaction of tartaric acid. *Chem News: Chemical Oxidation : Technology for the nineties second*, 33: 190.
- Ferreira I C F R & Abreu R M V (2007). Stress Oxidative, Antioxidants Fitoquimicos, *Bioanalise*, 2: 32-39.

- Folhe L & Otting F (1984). Superoxide dismutase assays, *Methods in Enzymology*, 105: 93-104.
- Fordham I M, Zimmermann R H, Clevidence B M & Wiley E R (2003). Autumn olive: A potential alternative crop. *Acta Hort*, 626: 437-439.
- Fridovich I (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review Biochemistry*, 64: 97-112.
- Gellman S H (1991). On the role of methionine residues in the sequence independent recognition of nonpolar protein surfaces, *Biochemistry*, 30: 6633-6636.
- Gershman R, Gilbert D L, Nye S W, Dwyer P & Fenn W O (1954). Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science*, 119: 623-626.
- Gürkan A S & Bozdağ-Dündar O (2005). Coenzyme Q10. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*; 34(2): 129-154.
- Greenberg M E, Gugiu B G, Gu X, Qin J, Salomon R G & Hazen S L (2008). The lipid Whisker model of the structure of oxidized cell membranes. *Journal of the Biology Chemistry*, 283: 2385-2396.
- Guan Y, Hickey M J, Borgstahl G E, Hallewell R A, Lepock J R, O'Connor D, Hsieh Y, Nick H S, Silverman D N & Tainer J A (1998). Crystal structure of Y34F mutant human mitochondrial manganese superoxide dismutase and the functional role of tyrosine 34, *Biochemistry*, 37: 4722-4730.
- Gupta R K, Patel A K & Shah N (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 15: 4405-4409.
- Gutteridge J M (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41: 1819-1828.
- Gülbahar Ö (2007). Protein oksidasyonun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilgisi. *Turk. J. Geriatrics.*, 10 (1): 43-48.
- Güngör N, Knaapen A M & Munnia A (2010). Genotoxic effects of neutrophils and hypochlorous acid. *Mutagenesis*; 25: 149-154.
- Halliwell B & Gutteridge J M C (2000). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3.ed. Oxford New York.
- Halliwell, B & Gutridge, JMC; 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Second Edition Oxford, UK, Clarendon Press.
- Halliwell, B & Gutteridge, J M C (2001). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford Science Publications, 22- 24.

- Halliwell B, Murcia M A, Chirico S & Aruoma O I (1995). Workshop on the substantiation of the impact of nutrient and nonnutrient antioxidants on health. *Crit Rev Food Sci. Nutr.*, 35: 7-20.
- Harman D (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 119: 283–300.
- Hardeland R, Reiter R J, Poeggeler B & Tan D X (1993). The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev.*, 17: 347-357.
- Hawkins C L & Davies M J (2001). Hypochlorite-induced damage to nucleosides formation of chloramines and nitrogen-centered, *Chem. Res. Toxicol.*, 14: 1071-1081.
- Hawkins C L & Davies M J (2005). The role of reactive N-bromo species and radical intermediates in hypobromous acid-induced protein oxidation, *Free Radic. Biol. Med.*, 39: 900-912.
- Hawkins C L & Davies M J (2001). Generation and propagation of radical reactions on proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, 1504: 196-219.
- Hazell L J, van den Berg J J & Stocker R (1994). Oxidation of low-density lipoprotein by hypochlorite causes that is mediated by modification of lysineresidues rather aggregation than lipid oxidation, *Biochem. J.*, 302: 297-304.
- Hazen S L, d'Avignon A, Anderson M A, Hsu, F F & Heinecke J W (1998). Human Neutrophils employ the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride sytem to oxidize α -amino acids to family of reactive aldehydes, *Biol. Chem.*, 273: 4997-5005.
- Headlam H A, Mortimer A, Easton C J & Davies M J (2000). β -Scission of C-3 (β -Carbon) alkoxyl radicals on peptides and proteins: a novel pathway which results in the formation of α -carbon radicals and the loss of amino acid side chains. *Chem. Res. Toxicol.*, 13 (11): 1087-1095.
- Helbock H J, Beckman K B, Shigenaga M K, Walter P B, Woodall A A, Yeo H C & Ames B N (1998). DNA oxidation matters: the HPLC-electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95: 288-293.

- Hettiarachchy N S, Glenn K C, Gnanaesbandam R & Johnson M G (1996). Natural antioxidant extracts from fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) for ground beef patties. *Journal of Food Science*, 61: 516-519.
- Hsieh Y, Guan Y, Tu C, Bratt P J, Angerhofer A, Lepock J R, Hickey M J, Tainer J A, Nick H S & Silverman D N (1998). Probing the active site of human Mn-SOD: the role of glutamine 143. *Biochemistry*, 37, 4731-4739.
- Homer S B (2002). Prooxidant and antioxidant mechanism of BHT and β -carotene in photocarcinogenesis. *Frontiers in Bioscience*, 7: 1044-1055.
- Huang B, Ban X, He J, Tong J, Tian Jun & Wang Y (2010). Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanolic extracts of *edible lotus* leaves. *Food Chemistry*, 120: 873-878.
- Imai H, Narashima K, Arai M, Sakamoto H, Chiba N & Nakagawa Y (1998). Suppression of leukotriene formation in RBL-2H3 cells that overexpressed phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.*, 273: 1990-7.
- Izawa S, Inoue Y & Kimura A (1996). Importance of catalase in the adaptive response to hydrogen peroxide: analysis of acatalasaemic *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. J.*, 320: 61-67.
- Jaruga P W, Rodriguez H & Dizdaroglu M (2001). Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyadenosine in DNA by liquid chromatography/mass spectrometry. *Free Rad Biol Med.*, 31: 336-344.
- Jilal I & Fuller C J (1993). Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol*; 16:16-9.
- Kayalı R & Çakatay U (2004). Protein oksidasyonu ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.*, 35 (2): 83-89.
- Kettle A & Winterbourn C C (1997). Myeloperoxidase: A key regulator of neutrophil oxidation production, *Redox Report*, 3: 3-15.
- Kohlmeier L, Kark J D, Gomez G E, Martin B C & Steck S E (1997). Lycopene and myocardial infarction risk in the euramic study. *Am J Epidemiol*; 146; 618-626.
- Kopani M, Celec P, Danisovic L, Michalka P & Biro C (2006). Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin. Chim. Acta.*, 364: 61-66.
- Kuhn H (2005). Biologic relevance of lipoxygenase isoforms in atherogenesis. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 3: 1099-1110.
- Kumar S (2011). Free radicals and antioxidants: Human and food system. *Adv. Appl. Sci. Res.*, 2: 129-135.

- Kumarappan C T, Thilagam E, Vijayakumar M & Mandal S (2012). Modulatory effect of polyphenolic extracts of *Ichnocarpus frutescens* on oxidative stress in rats with experimentally induced diabetes. *Indian J. Med. Res.* 136: 815-821.
- Leopold F & Wolfgang A G (1984). Assays of glutathione peroxide, *Methods in Enzymology*, 77: 114-121.
- Li J, Li W, Su J, Liu W, Altura B T & Altura B M (2003). Hydrogen peroxide induces apoptosis in cerebral vascular smooth muscle cells: possible relation to neurodegenerative diseases and strokes. *Brain Res. Bull.*, 2: 101-106.
- Liu T, Stern A & Roberts L J (1999). The isoprostanes: Novel prostaglandin like products of the free radical catalyzed peroxidation of arachidonic acid. *J. Biomed Sci*; 6: 226-35.
- Lubin B J & Machlin L (1982). Vitamin E, biochemical, hematological, and clinical aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences*; 393.
- Lowry O, Rosebrough A, Farr A & Randall R (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Lykkesfeldt J (2007). Malonaldehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinic. Chim. Acta* 380:50-58.
- Majima H, Oberley T D, Furukawa K, Mattson M P, Yen H C & Szweda L I (1998). Prevention of mitochondrial injury by Mn-SOD reveals a primary mechanism for alkaline-induced cell death. *J. Biol. Chem.* 273: 8217-8224.
- Marquez L A, Huang J T & Dunford H B (1994). Chlorination of taurine by myeloperoxidase; kinetic evidence for an enzyme bound intermediate, *Biochemistry*; 33: 1447-1454.
- Mates J M & Sanchez-Jimenez F (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front. Biosci.*, 4: 339-345.
- McCord J M (1993). Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin. Biochem.*, 26(5): 351-357.
- McCord J M & Fridovich I (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*. 244 (22): 6049-55.
- Mcgee S A, Wiggins S A & Pierce J D (2003). What advanced practise nurses to know about free radicals. *The Internet Journal of Advanced Nursing Practice*, 6: 1-10.

- Memisogullari R, Taysi S, Bakan E & Capoglu I (2003). Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func.*, 21: 291-296.
- Motor S, Ozturk S & Ozcan O (2014). Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stres index in patients with alopecia areata. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 7: 1089-1093.
- Mugnaini V & Lucarini M (2007). Hydrogen bonding affects the persistency of alkyl peroxy radicals. *Org Lett.*, 9: 2725-2728.
- Murphy J A (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radic. Biol. Med.*, 18:1033-1077.
- Murphy R C & Johnson K M (2008). Cholesterol, reactive oxygen species, and the formation of biologically active metabolites. *J.Biol. Chem.*, 283: 15521-15525.
- Murray R K, Granner D K, Mayes P A & Rodwell V W (1996). Harper'ın Biyokimyası 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- Niki E, Yoshida Y, Saito Y & Noguchi N (2005). Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 338: 668-676.
- Niki E (2000). Free radicals in the 1900's: from in vitro to in vivo. *Free Radic. Res.*, 33: 693-704.
- Noguchi N, Gotoh N & Niki E (1993). Dynamics of oxidation of low density lipoproteininduced by free radicals. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1168: 348-357.
- Noguchi N, Yamashita H, Hamahara J, Nakamura A, Kuhn H & Niki E (2002). The specificity of lipoxygenase-catalyzed lipid peroxidation and the effects of Radial scavenging antioxidants. *Biol. Chem.*, 383: 619-626.
- Oyanagui Y (1991). Active oxygen research of today future. *The Journal of Toxicological Sciences*, 16, Supp II, 65-69.
- Omoni A O & Aluko E (2005). The anticarcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends Food Sci. Technol.*; 16: 344-50.
- Panasenko O M & Sergienko V I (2010). Molecular aspects of steroidogenic factor (SF-1) *Mol. Cell Endocrinol.*, 27-39.
- Papas A M (1999). Diet and antioxidant status. *Food Chem Toxicol.*, 37: 999-1007.

- Pattison D I & Davies M J (2001). Absolute rate constants for the reaction of hypochlorous acid with protein side chains and peptide bonds, *Chem. Res. Toxicol.*, 14: 1453-1464.
- Pham-Hu L A, He H & Pham-Huyc C (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health C. *Int. J. Biomed. Sci.*, 4: 89-96.
- Pikuleva I (2006). Cholesterol-metabolizing cytochromes P450. *Drug Metab. Dispos.*, 34: 513-520.
- Prokai L, Yan L J & Vera-Serrano J L (2007). Mass spectrometry-based survey of age-associated protein carbonylation in rat brain mitochondria. *J. Mass Spectrom.*, 42: 1583-1589.
- Pryor W A, Houk K N, Foote C S, Fukuto J M, Ignarro L J, Squadrito G L & Davies K J A (2006). Free radical biology and medicine: its's a gas, man, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291: R491-R511.
- Rahimi R, Nikfar S, Larijani B & Abdollahi M (2005). a review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications, *Biomed. Pharmacother.*, 59, 365–373.
- Rao R S & Moller I M (2011). Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. *Proteomics.*, 11: 4166-4173.
- Reiter R J, Acuna-Castroviejo D, Dun X T, Burkhardt S (2006). Free Radical-Mediated Molecular Damage. Mechanisms for the Protective Actions of Melatonin in the Central Nervous System. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*: 939(1): 200-215.
- Requena J R, Levine R L & Stadtman E R (2003). Recent advances in the analysis of oxidized proteins. *Review Article Amino Acids.*, 25 (3): 221-226.
- Reznick A Z & Packer L (1994). Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.*, 233: 357-363.
- Rhee S G (1999). Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. *Exp. Mol. Med.*, 31: 53-59.
- Roman R J (2002). P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol. Rev.*, 82: 131-185.
- Russell D W (2000). Oxysterol biosynthetic enzymes. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1529:126-135.

- Sabir M S, Ahmad D S, Hussain I M & Tahir K M (2007). Antibacterial activity of *Elaeagnus umbellata* (Thunb.) a medicinal plant from Pakistan. *Saudi Medical Journal*, 28 (2): 259-263.
- Sandalio L M, Lopez-Huertas E & Bueno P (1997). Immunocytochemical localization of copper, zinc superoxide dismutase in peroxisomes from watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.) cotyledons. *Free Radic. Res.*, 26: 187-94.
- Schfneich Ch (2002). Redox processes of methionine relevant to hamyloid oxidation and Alzheimer's disease, *Arch. Biochem. Biophys.*, 397: 370-376.
- Semiz A & Sen A (2007). Antioxidant and chemoprotective properties of *Momordica charantia* L. (bitter melon) fruit extract. *African Journal of Biotechnology*, 6 (3): 273-277.
- Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy Y S R & De B (2010). Free Radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect, *Int. J. Pharma. Sci. Rev. Res.*, 3, 91-100.
- Sentman M L, Jonsson L M & Marklund S L (1999). Enhanced alloxan-induced beta-cell damage and delayed recovery from hyperglycemia in mice lacking extracellular-superoxide dismutase. *Free Radic. Biol. Med.*, 27, 790-796.
- Seo S.J, Kang S S, Cho G, Rho H M & Jung G (1997). C:EBP alpha and C:EBP beta play similar roles in the transcription of the human Cu:Zn SOD gene. *Gene*, 203: 11-15.
- Sharp E N, Rupper P & Miller T A (2008). The structure and spectra of organic peroxy radicals. *Chem. Phys.*, 10: 3955-3981.
- Sherwin E R, Branen A L, Davidson P M & Salminen S (1990). Antioxidants. Food Additives, pp. 139-191, *Marcel Dekker Inc.*, New York.
- Singh R, Padmavathi B & Rao A (2000). Modulatory influence of *Adhatoda vesica* (*Justicia adhatoda*) leaf extract on the enzymes of xenobiotic metabolism, antioxidant status and lipid peroxidation in mice. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 213: 99-109.
- Slater T F (1984). Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.*, 222: 1-15.
- Sohal R S, Agarwal S, Candas M, Forster M J & Lal H (1994). Effect of age and caloric restriction of DNA oxidative damage in different tissues of C57BL/6 mice. *Mech. Ageing Dev.*, 76 (2-3): 215-224.

- Sohal R S, Arnold L A & Sohal B H (1990). Age-related changes in antioxidant enzymes and prooxidant generation in tissues of the rat with special reference to parameters in two insect species. *Free Rad. Biol. Med.*, 9 (6): 495-500.
- Sohal R S & Dubey A (1994). Mitochondrial oxidative damage, hydrogen peroxide release, and aging. *Free Rad. Biol. Med.*, 16 (5): 621-626.
- Song O (2004). Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality. *C.R. Biologies.*, 327: 649-662.
- Stadtman E R (1992). Protein oxidation and aging. *Science.*, 257 (5074): 1220-1224.
- Stadtman E R (2001). Protein oxidation in aging and age-related diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 928 (1): 22-38.
- Stadtman E R & Levine R L (2000). Protein oxidation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 899: 191-208.
- Star R A (1993). Nitric oxide. *Am. J. Med. Sci* ; 306 (5): 348-58.
- Staroverov V N & Davidson E R (2000). Distribution of effectively unpaired electrons. *Chem Phys Lett.*, 330: 161-168.
- Sternberg G (1982). *Elaeagnus umbellata* in Illinois conservation practice. Prelim Report 111. Dept. of Conservation. Virginia, 251-278.
- Stavric B (1994). Quercetin in our diet: from potent mutagen to probable anticarcinogen. *Clin. Biochem.*, 27 (4): 245 248.
- Su X, Wang Z & Liu J (2009). In vitro and in vivo antioxidant activity of *Pinus koraiensis* seed extract containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 117: 681-686.
- Tappel A L (1978). Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Methods Enzymol*; 52: 506-13.
- Tayeh M A & Marlette M A (1989). Macrophage oxidation of L-arginine to nitric oxide, nitrite and nitrate: Tetrahydrobiopterin is required as cofactor. *J Biol Chem.*, 264: 19654-58.
- Thabrew M I, Joice P D T M & Rajatissa W A (1987). Comparative study of the efficacy of *Paetta indica* and *Osbeckia octandra* in the treatment of liver dysfunction. *Planta Medica*, 53: 239-241.
- Thomas E L (1979). Myeloperoxidase, hydrogen peroxide, chloride antimicrobial system: nitrogen-chlorine derivatives of bacterial components in bactericidal action against *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 23: 522-531.

- Uchida K (2003). Histidine and lysine as targets of oxidative modification. *Review Article Amino Acids.*, 25 (3-4): 249-257.
- Uğuzlar H (2009). Antalya’da yetişen Araceae arum’un antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1-28, 45-49, 70-73.
- Uzun K, Vural H, Oztürk T, Özer F & Imecik I (2000). Diagnostic value of lipid peroxidation in lung cancer. *Eastern Journal of Medicine*, 5(2): 48-51.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M T D, Mazur M & Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39: 44-84.
- Vareltzis K, Koufidis D, Gavriilidou E, Papavergou E & Vasiliadou S (1997). Effectiveness of natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Z. Lebensm. Unters Forsch. A*, 205: 93- 96.
- Varshney R & Kale R K (1990). Effects of calmodulin antagonists on radiation induced lipid peroxidation in microsomes. *International Journal of Radiation Biology*, 58: 733-743.
- Vejux A, Malvitte L & Lizard G (2008). Side effects of oxysterols: cytotoxicity, oxidation, inflammation, and phospholipidosis. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 41: 545-556.
- Verhagen H, Deerenberg I, Marx A, Hoor F, Henderson P T & Kleinjans J C S (1990). Estimate of the daily dietary intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in the Netherlands. *Food Chemistry and Toxicology*, 28: 215-220.
- Vladimirov Iu A (1998). Free radicals and antioxidants *Vestnik Ros. Akad. Med. Nauk.*, 7, 43-51.
- Vogt W (1995). Oxidation of methionyl residues in proteins: tools, targets, and reversal, *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 93-105.
- Walling C (1955). Free radicals in solution, *Science of Synthesis Wiley*, New York.
- Wang H, Gao X D, Zhou G C, Cai L, & Yao W B (2008). In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit, *Food Chemistry*, 106: 888-895.

- Wright A, Bubb W A, Hawkins C L & Davies M J (2002). Singlet Oxygen mediated Protein Oxidation: Evidence for the Formation of Reactive Side Chain Peroxides on Tyrosine Residues, *Photochemistry and Photobiology*, 76(1): 35-46.
- Yan L J (2014). Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox Biology*, 2: 165-169
- Yan L J & Sohal R S (1998). Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified modified oxidatively during aging, *Biochemistry*, 95: 12896-12901.
- Yokuş B & Çakır D Ü (2002). Biomarker of in vivo oxidative DNA damage; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 22 (5): 535-43.
- Zurita J L, Jos A, Peso A, Salguero M, Lopez-Artíguez M & Repetto G (2007). Ecotoxicological effects of the antioxidant additive propyl gallate in five aquatic systems. *Water Research*, 41: 2599-2611.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mehmet TOKA

Doğum Yeri ve Tarihi : Malatya, 19.09.1988

Adres: Aksaray Cad. Fatih Mah. 235. Sok No:23 Daire: 2

Üçyüzlü/Esenler İSTANBUL

E-Posta : mehmet_toka@hotmail.com

Lisans : OMÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Lisans: Kimya

TEZDEN TÜRETELEN KAYNAKLAR;

Tevfik ÖZEN, Mehmet TOKA, Kemal YILDIRIM, Modulatory Effects of *Elaeagnus umbellata* Thunb. (Autumn Olive) Leaf And Fruit Aqueous Extracts In Vivo Marker Antioxidant Enzymes, 28. Ulusal Kimya Kongresi, P-090 (0362), Mersin, 2016.

Tevfik ÖZEN, Kemal YILDIRIM, Mehmet TOKA, Impact of *Elaeagnus umbellata* Thunb. (Autumn Olive) Leaf And Fruit Crude Aqueous Extracts in Mice Hepatic Marker Drug Metabolizing Enzymes, 28. Ulusal Kimya Kongresi, P-090 (363), Mersin, 2016.