

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**7,12-DMBA UYGULANAN YAŞLI SIÇANLARIN DOKU VE SERUMLARINDA
RESVERATROL VE α -LİPOİK ASİT'İN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Muammer BAŞI

Tez Yöneticisi
Doç.Dr. Ökkeş YILMAZ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(Bu doktora tezi FÜBAP tarafından 1312 nolu projesi ile desteklenmiştir.
Ayrıca DPT 2002-K 120440 nolu ve DPT 2003-K 120440 nolu proje desteklerinden faydalanılmıştır)

ELAZIĞ 2008

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**7,12-DMBA UYGULANAN YAŞLI SIÇANLARIN DOKU VE SERUMLARINDA
RESVERATROL VE α -LİPOİK ASİT'İN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Muammer BAŞI

Tez Yöneticisi
Doç.Dr. Ökkeş YILMAZ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(Bu doktora tezi FÜBAP tarafından 1312 nolu projesi ile desteklenmiştir.
Ayrıca DPT 2002-K 120440 nolu ve DPT 2003-K 120440 nolu proje desteklerinden faydalanılmıştır)

ELAZIĞ 2008

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**7,12-DMBA UYGULANAN YAŞLI SIÇANLARIN DOKU VE SERUMLARINDA
RESVERATROL VE α -LİPOİK ASİT’İN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Muammer BAŞI

Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı

Bu tez/...../.....tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile başarılı /başarısız olarak değerlendirilmiştir.

İmza

Danışman: Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ	
Üye: Prof. Dr. Sait ÇELİK	
Üye: Prof. Dr. Nihat DİLSİZ	
Üye: Doç. Dr. Ömer MUNZUROĞLU	
Üye: Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU	

Bu tez Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/....../..... tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım esnasında deneyimlerini ve bilgi birikimini benden esirgemeyen, yardımlarıyla bana yol gösteren çok değerli hocam Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yaptığımız çalışmalar ve eğitimim esnasındaki tüm katkılarından dolayı başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Orhan ERMAN'a, bölümümüz öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr Mehmet TUZCU'ya, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ'a, çalışmaların esnasında yardımlarını esirgemeyen mesai arkadaşlarım Eğitim Fakültesi asistanlarından Arş. Gör. Dr. İrfan EMRE'ye, Arş. Gör. Süleyman Kaan YALÇIN'a, Arş. Gör. Murat ŞENGÜL'e, Arş. Gör. Yalın Kılıç TÜREL'e ayrıca ismi geçmeyen diğer arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, yetişmemde çok büyük emekler sarf eden babama ve anneme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Kendilerini bir nebze dahi mutlu edebilmiş isem kendimi bahtiyar sayacağım.

Arş. Gör. Muammer BAHŞİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1GİRİŞ	1
1.1 7,12-Dimetilbenzantrazen (7,12-DMBA)	4
1.2 Resveratrol	6
1.2.1 Akdeniz Tarzı Diyet ve Fransız Paradoksu	7
1.2.2 Resveratrolün Biyolojik Değişimi	8
1.2.3 Resveratrolün Biyosentezi	9
1.2.4 Resveratrolün Biyolojik Etkileri	9
1.2.5 Resveratrolün Anti-Oksidan Etkisi	10
1.2.6 Resveratrolün Anti-Kanserojen Etkileri	10
1.2.7 Resveratrolün Prooksidan Özelliği	13
1.2.8 Resveratrol'un DMBA ile İlişkisi	13
1.3 Lipoik Asit	16
1.3.1 Lipoik Asitin Yapısı ve Kaynakları	17
1.3.2 Lipoik Asitin Fonksiyonları	18
1.3.3 Alfa-Lipoik Asitin Dihidrolipoik Aside İndirgenmesi	20
1.3.4 Lipoik Asitin DMBA ile İlişkisi	21
1.4 Antioksidan Savunma Sistemleri	21
1.4.1 Enzimatik Antioksidanlar	23
1.4.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	24
1.4.2.1 Vitamin E	24
1.4.2.2 Vitamin C	26
1.4.2.3 Vitamin A	27
1.4.3 Bazı Vitaminler ile DMBA İlişkisi	29
1.5 Yağ Asitleri	36

1.5.1 Yağ Asitlerinin Sınıflandırılması	36
1.5.2 Yağ Asitlerinin Biyosentezi	37
1.5.3 Bazı Yağ Asitlerinin DMBA ile İlişkisi	41
1.6 Yaşlanmada Ortaya Çıkan Bazı Metabolik	42
2 MATERYAL VE METOD	45
2.1 Deney Hayvanları	45
2.2 Biyolojik Örneklerin Lipid Bileşimi İçindeki Kolesterol Miktarlarının HPLC Cihazı ile Analizi	46
2.3 Biyolojik Örneklerdeki ADEK Vitaminlerinin Miktarlarının HPLC Cihazı ile Analizi	47
2.4 Serum ve Eritrositlerdeki C vitamini ve MDA Miktarlarının HPLC Cihazı ile Analizi	48
2.5 Eritrosit Pelletlerinden Redükte ve Okside Glutasyon Moleküllerinin İzolasyonu ve HPLC ile Analizi	48
2.6 Lipidlerin Ekstraksiyonu	49
2.7 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması	49
2.8 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi	49
2.9 İstatistiksel Analiz	50
3 BULGULAR	51
3.1 Serumdaki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi	51
3.2 Serumdaki yağ asitlerinin değişiminin değerlendirilmesi	52
3.3 Eritrositlerdeki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi	53
3.4 Eritrositlerdeki yağ asitlerinin değişiminin değerlendirilmesi	54
3.5 Karaciğer dokusundaki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi	55
3.6 Karaciğer dokusundaki bazı yağ asitlerinin değişiminin değerlendirilmesi	57
3.7 Böbrek dokusundaki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi	59
3.8 Böbrek dokusundaki bazı yağ asitlerinin değişiminin değerlendirmesi	60
4 TARTIŞMA VE SONUÇ	67
5 KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ	107

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Lipid Peroksidasyonun Şematik Olarak İlerlemesi	2
Şekil 2. Serbest Radikal Oluşumu ve Radikal Hasarın Ürünleri	3
Şekil 3. Trans ve Cis Resveratrol	7
Şekil 4. Resveratrolün Biyosentezi	9
Şekil 5. Resveratrolün Peroksidatif Metabolizması	13
Şekil 6. Alfa-Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Kimyasal Yapısı.....	21
Şekil 7. Asetil-CoA'nın Malonil-CoA'ya Dönüşümü	38
Şekil 8. Memelilerde Esansiyel Olmayan Yağ Asitlerinin Metabolik Yolları.....	39
Şekil 9. Memelilerde Esansiyel Yağ Asitlerinin Metabolik Yolları	40
Şekil 10. Stearoil-CoA Desaturaz Enziminin Lipid Sentezindeki Rolü	41
Şekil 11. ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait Standart Kromatogramı 1	62
Şekil 12. ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait Standart HPLC Kromatogramı 2.....	62
Şekil 13. Serum Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı	63
Şekil 14. Eritrosit Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı	63
Şekil 15. Karaciğer Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı	64
Şekil 16. Böbrek Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı	64
Şekil 17. Serumdaki yağ asidi metil esterine ait GC kromatogramı	65
Şekil 18. Eritrositlerdeki yağ asidi metil esterine ait GC kromatogramı	65
Şekil 19. Karaciğer dokusunda yağ asidi metil esterine ait GC kromatogramı	66
Şekil 20. Böbrek dokusunda yağ asidi metil esterine ait GC kromatogramı	66
Şekil 21. İki tane temsili fosfolipidin moleküler yapısı ile bir biyolojik membranın diagramatik temsili	78

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Alfa-Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Nötralize Ettikleri Radikaller	20
Tablo 2. Deney Hayvanlarına Verilen Yemin Bileşimi	45
Tablo 3. Serumdaki Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değişimi	51
Tablo 4. Serumun Yağ Asidi Bileşimi (%).....	52
Tablo 5. Eritrositlerdeki Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değişimi	53
Tablo 6. Eritrositlerin Yağ Asidi Bileşimi (%).....	54
Tablo 7. Karaciğer Dokusundaki ADEK Vitaminleri ile Kolesterol Miktarlarının Değişimi ...	55
Tablo 8. Karaciğer dokusunun Yağ Asidi Bileşimi (%)	57
Tablo 9. Böbrek Dokusundaki ADEK Vitaminleri ile Kolesterol Miktarlarının Değişimi	59
Tablo 10. Böbrek Dokusunun Yağ Asidi Bileşimi (%)	60

KISALTMALAR

$^1\text{O}_2$: Singlet Oksijen

1- α -(OH)D-5: 1-Alfa-Hidroksi-24-Etilkolekalsiferol

3-MC: 3-Metilkolantren

BaP: Benzopiren

BLM: Bleomisin

CAT: Katalaz

$\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$: Peroksil Radikali

CO_2 : Karbondioksit

Co-A: Koenzim A

DHA: Dokosaheksaenoik Asit

DHLA: Dihidrolipoik Asit

DMBA: Dimetilbenzantrasen

DMH: 1,2-Dimetilhidrazin

DNA: Deoksiribonükleik Asit

FAS: Yağ Asidi Sentetaz

FÜTDAM: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi

GPx: Glutasyon Peroksidaz

GR: Glutasyon Redüktaz

GSH: Redükte Glutasyon

GSHs: Glutasyon S-transferazlar

GSSG: Okside Glutasyon

H_2O_2 : Hidrojen Peroksit

HBP: Hamster Yanak Keseleri

HDL: Yüksek Dansiteli Lipoprotein

HIP: Hekzan İzopropanol

HMG-CoA: Hepatik 3-Hidroksi-3-Metilglutaril CoA

$\text{HO}\cdot$: Hidroksi Radikali

HOCl : Hipokloröz Asit

HPLC: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

KBrO_3 : Potasyum Bromat

LA: Lipoik Asit
LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LOO[•]:Lipid Peroksil Radikali
LPS: Lipopolisakkarit
MDA: Malondialdehit
MEOT: Metanolik Operculina Turpethum
MNU: N-metil-N-nitrosure
MTHF: Metiltetrahidrofolat
MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asidi
NADH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NO: Nitrik Oksit
NOS: Nitrik Oksit Sentaz
O₂^{•-}: Süperoksit Anyonu
PAH: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PDH: Pirüvat Dehidrogenaz
PKC: Protein Kinaz C
PKD: Protein Kinaz D
PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
RNA: Ribonükleik Asit
ROO[•]: Peroksil Radikali
ROT: Reaktif Oksijen Türleri
SA: Semecarpus Anacardium Linn Nutmilk Ekstrakt
SCC: Skuamoz Hücre Karsinoması
-SH: Sülfür Atomları Sülfhidril
SOD: Süperoksit Dismutaz
STZ: Streptozotosin
TPA: Forbol 12-Miristat 13 Asetat
TSH: Troid Uyarıcı Hormon

ÖZET

Doktora Tezi

7,12-DMBA UYGULANAN YAŞLI SIÇANLARIN DOKU VE PLAZMALARINDA RESVERATROL VE α -LİPOİK ASİT'İN BAZI BİYOKİMYASAL

PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Muammer BAŞI

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
2008, Sayfa: 107

Çalışmada 16 aylık 42 erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele gruplara ayrıldı ve gruplar kontrol, DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R olarak belirlendi. Kontrol grubu dışındaki sıçanlara 55 mg/kg 7,12-DMBA susam yağında çözülerek intraperitoneal olarak uygulandı. DMBA uygulamasından sonra DMBA+ α -LA grubuna 25mg/kg α -lipoik asit ve DMBA+R grubuna 25 mg/kg resveratrol intraperitoneal olarak enjekte edildi ve antioksidan uygulamasına 6 hafta süreyle devam edildi. Bu süre sonunda doku ve serum örnekleri alındı ve ADEK vitaminleri, kolesterol, vitamin C, MDA ve glutatyon moleküllerinin analizi HPLC cihazı ile yağ asidi metil esterlerinin analizi ise gaz kromatografisi cihazı ile yapıldı.

Bulgularımıza göre, serum, eritrosit ve karaciğerde kontrol grubuna göre DMBA ve DMBA+antioksidan verilen gruplarda α - tokoferol miktarının azaldığı saptandı ($p<0.05$, $p<0.01$, 0.001). Eritrosit MDA miktarının, kontrol grubuna göre DMBA grubunda yüksek ($p<0.001$), DMBA+ antioksidan gruplarında düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$, $p<0.0001$). Eritrositlerdeki kolesterol düzeyi DMBA ile DMBA+R gruplarında ($p<0.001$), serum kolesterol düzeyi DMBA+ α -LA grubunda ($p<0.01$), böbrek dokusunda ise DMBA ile DMBA+ α -LA gruplarında ($p<0.01$) yüksek bulundu. Bununla birlikte karaciğer dokusunun kolesterol düzeyinin DMBA grubunda azaldığı belirlendi ($p<0.001$).

Gaz kromatografi analiz sonuçlarına göre, palmitik asit (16:0) düzeyi eritrosit, serum ile karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$). Palmitoleik asit (16:1 n-7, n9) düzeylerinin böbrek, serum ve karaciğer dokusunda azaldığı belirlendi ($p<0.001$, $p<0.05$). Karaciğerde stearik asit düzeyinin DMBA ($p<0.01$) ve DMBA+ α -LA ($p<0.05$) gruplarında arttığı halde eritrositlerde DMBA+R grubunda azaldığı ($p<0.05$) tespit edildi. Karaciğer dokusunda linoleik asitin (18:2 n-6) DMBA ve DMBA+R gruplarında ($p<0.05$) ve serumda DMBA grubunda azaldığı ($p<0.01$) belirlendi. Araşidonik asit (20:4 n-6) düzeyinin böbrek dokusunda DMBA grubunda arttığı ($p<0.05$) saptanırken serumda DMBA grubunda azaldığı ($p<0.01$) DMBA+ α -LA grubunda ise arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Tüm dokularda dokosaheksaenoik asit (22:6 n-3) düzeyinin arttığı saptandı ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$). Böbrek dokusunda DMBA grubunda ($p<0.05$) ve serumda DMBA ve DMBA+antioksidan grupların tamamında doymuş yağ asidi düzeyi azalırken ($p<0.05$, $p<0.01$), eritrositlerde DMBA ($p<0.05$) ve DMBA+ α -LA ($p<0.01$) arttığı, karaciğerde ise değişmediği belirlendi ($p>0.05$).

Anahtar Kelimeler: 7,12-DMBA, Resveratrol, α -Lipoik Asit, α -tokoferol, retinol, glutatyon (GSH-GSSG), HPLC ve GC, Yaşlı Sıçanlar.

ABSTRACT

PhD Thesis

THE EFFECTS OF RESVERATROL AND α -LIPOIC ACID ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TISSUE AND PLASMA OF AGED RATS

INDUCED BY 7,12-DMBA

Muammer BAHŞI

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

2008, Page: 107

In the study, 16 months 42 male rats are used. Rats are randomly divided into groups and groups are determined as control, DMBA, DMBA+ α -LA and DMBA+R. 55 mg/kg 7,12-DMBA, which is solved in sesame oil, intraperitoneal carried out rats except for control group. After the DMBA performing, 25 mg/kg α -LA and 25 mg/kg resveratrol are injected intraperitoneal into DMBA+ α -LA and DMBA+R groups, respectively and antioxidant treatment is continued for six weeks. Vitamins ADEK, cholesterol, vitamin C, MDA and glutathione molecules are studied by using HPLC and analysis of fatty acid methyle esters are studied by using gas chromatography after tissue and sera samples are given.

According to our results, α -tocopherol amounts in the groups of disease and DMBA+antioxidant groups decreased compared to control group in sera, erythrocytes and liver ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$). While erythrocytes MDA level in DMBA group was increased ($p<0.001$), it was determined lower in antioxidants groups than control group ($p<0.001$, $p<0.0001$). Cholesterol levels in erythrocytes of DMBA and DMBA+R groups ($p<0.001$) and sera of DMBA+ α -LA group ($p<0.01$) and also kidney tissues of DMBA, DMBA+ α -LA ($p<0.01$) found to be higher. However, it is determined reducing cholesterol level of liver tissue in DMBA group ($p<0.001$).

According to gas chromatography results, ratios of palmitic acid (16:0) in erythrocytes, sera and liver tissues were increased compared to control group ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$). Nevertheless it was determined palmitoleic acid (16:1 n-7, n-9) was decreased in kidneys, sera and liver tissues ($p<0.001$, $p<0.05$). The ratio of stearic acid (18:0) was increased in liver of DMBA ($p<0.01$), DMBA+ α -LA ($p<0.05$) groups whereas it was decreased in erythrocytes DMBA+R group ($p<0.05$). Also the ratio of linoleic acid (18:2 n-6) was decreased in livers of DMBA and DMBA+R groups ($p<0.05$) and sera DMBA ($p<0.01$) group. Although the ratio of arachidonic acid (20:4 n-6) was increased in kidney tissues of DMBA ($p<0.05$) group and sera DMBA+ α -LA group ($p<0.05$) but it was decreased in sera DMBA group ($p<0.01$). In addition the ratio of docosaheptaenoic acid (22:6 n-3) was increased in all of the tissues ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$). Saturated fatty acids ratio was decreased in kidneys of DMBA group ($p<0.05$) and sera DMBA and DMBA+ α -LA and DMBA+R groups ($p<0.05$, $p<0.01$) whereas it was increased in erythrocytes DMBA ($p<0.05$) and DMBA+ α -LA ($p<0.01$) groups but it was not changed in liver tissue ($p>0.05$).

Key Words: 7,12-DMBA, Resveratrol, α -Lipoic Acid, α -tocopherol, Retinol, Glutathione (GSH-GSSG), HPLC and GC, Aged Rats.

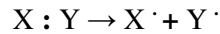
GİRİŞ

Canlıların en küçük yapıtaşları olan hücreler normal metabolik faaliyetlerini yürütebilmek ve metabolizma dışı meydana gelebilen serbest radikaller adı verilen son derece reaktif moleküllere karşı koyacak bir savunma mekanizmasıyla donatılmışlardır. Serbest radikaller, hücresel membranlardaki aşırı doymamış yağ asitleri, DNA molekülündeki nükleotidler ve protein moleküllerindeki sülfidril bağlarıyla reaksiyona girerek hücre ve dokulara zarar verirler. Serbest radikaller, hücre içindeki normal metabolik reaksiyonlar sırasında meydana gelebildiği gibi, sigara dumanı ve diğer hava kirleticiler gibi dış kaynaklı maddelerin etkileriyle de oluşabilirler. Bu dış kaynaklı maddeler ve etmenlere bazı çözücüler, ilaçlar, pestisitler ve radyasyona maruz kalma gibi ajanlar eklenebilir. Hücrenin savunma mekanizmasında bu moleküllere karşı başlıca olarak tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C), beta-karoten, glutatyon (GSH), bilirubin, α -lipoik asit gibi tabii maddeler; glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi metalloenzimler ve serüloplazmin gibi proteinler yer alır (1). Bunlardan birçoğu hücrenin yapısında tabii olarak bulunur bir kısmı da hücre tarafından sentezlenemez dışarıdan besinlerle alınması gerekir.

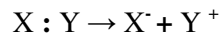
Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonun, birçok hastalığın patogeneğinde rol aldığını göstermektedir. Miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabet, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir.

Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen otoritelerin üzerinde birleştiği tanım; bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir. Atomlardaki elektronlar yörünge olarak bilinen boşluklarda hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir:

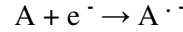
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).



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.

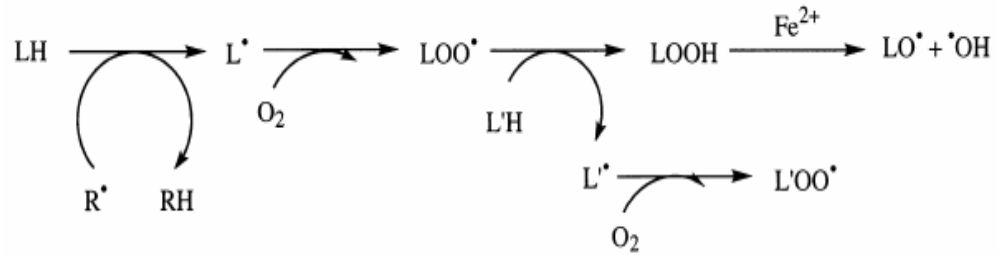


3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar. Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (2).

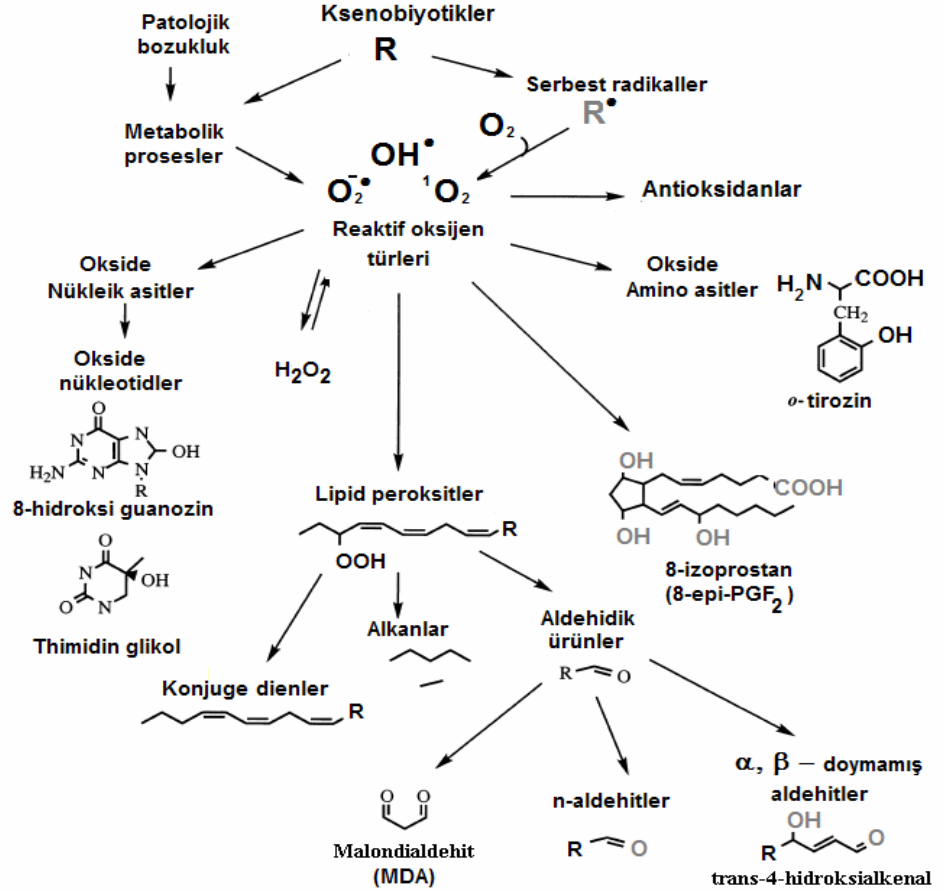
Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve de yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROT), süperoksit anyonu ($2O_2^{\cdot -}$), hidroksi radikali ($HO^{\cdot}$), nitrik oksit ($NO^{\cdot}$), peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$) gibi serbest radikaller ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2), oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birini oluşturur. Oluşan bu radikaller membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonu membran yapısını teşkil eden poliansatüre yağ asitlerinin reaktif oksijen türevleri tarafından sekonder ürünlere (peroksitler, konjuge dienler, aldehidik ürünler örneğin; malondialdehit, trans-4-hidroksialkenal, alkanlar) yıkılma reaksiyonudur. Biyolojik materyaller içinde yer alan zar sisteminde bulunan fosfolipitlerin yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkılımı olarak tarif edilen lipid peroksidasyonu dallanan bir zincir reaksiyonudur (3).



Şekil 1. Lipid Peroksidasyonun Şematik Olarak İlerlemesi (3)

Serbest radikal zincir reaksiyonları genellikle, moleküllerden H'nın uzaklaştırılmasıyla başlar. Lipid peroksidasyonu serbest radikal zincir reaksiyonu için iyi bir örnektir. Bu reaksiyonun özellikle aterosklerozun gelişiminde çok önemli olduğu araştırmacıların savları arasında bulunmaktadır. Mitokondriyal elektron transport zincirinde oksijenin tamamlanmamış redüksiyonu, sigara içimi, radyasyon gibi çeşitli faktörler oksidatif strese neden olabilirler (2).

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde olup ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı süreçte organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (2).



Şekil 2. Serbest Radikal Oluşumu ve Radikal Hasarın Ürünleri (3)

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir.

Memeli hücrelerinde oksidan ürünlere karşı korunma bazı prensipler içinde gerçekleşmektedir. Oksidanların organizmadaki düzeylerini arttırıcı etkenlerin ve risk faktörlerinin iyi belirlenmesi ve bunlardan uzak durulması ilk yapılması gereken girişim olmalıdır. İkinci girişim ise ROT'larla tetiklenen biyokimyasal reaksiyonları bir ya da birkaç basamağında kırmaktır. Üçüncü mücadele yolu, oluşan mediyatörlerle aktive olan inflamatuvar hücrelerin lezyon yerine hücumunu ve orada aşırı birikimini önlemektir. Oksidan moleküllerle mücadelede üzerinde durulacak esas girişim ise belirli düzeyi aşmış oksidanlara direkt olarak etki edip onları inaktif hale getiren anti-oksidanlardır. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır (4).

İnsanda belli başlı hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. SOD'un yapısında bakır, çinko ve manganez; GPx'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin ve bilirubin sorumludur (4).

1.1 7,12-Dimetilbenzantrasen (7,12-DMBA)

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) çevrede yaygın olarak bulunan kimyasal bir gruptur. Karbon ve hidrojen içeren organik maddelerin pirolizi veya tam olmayan yanmalar sonucu oluşan 3 veya daha fazla aromatik halkalı bileşiklerdir. PAH'lar deney hayvanları ve insanlarda kuvvetli karsinojenik potansiyele sahip maddelerdir. Son yıllarda gelişen moleküler biyoloji teknikleri ile PAH'ların karsinojenik mekanizmalarının anlaşılmasında büyük bir gelişim olmuştur. PAH'lar tümör başlatıcı, geliştirici ve ilerletici özellikleri olan potent karsinojenlerdir. Aynı zamanda deney hayvanlarında yapılan çalışmalarla bu maddelerin immün sistemi baskılayıcı oldukları gösterilmiştir. Karsinojenik potansiyellerinin yüksek oluşu da bu immünotoksik etkilerine bağlanmaktadır. PAH'lar hem hücrel (cell mediated immunity-CMI) hem de humoral immüniteyi inhibe etmektedirler. Özellikle benzo[a]piren (BaP), 3-metilkolantren (3-MC) ve 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (7,12-DMBA)'in, *in vivo* olarak hayvan modellerinde ve insan periferik kan hücreleri ile yapılan *in vitro* testlerde çok yüksek derecede immünotoksik olduğu saptanmıştır (5).

Polisiklik aromatik hidrokarbonların ilk olarak 1921 yılında kanserojen oldukları belirlendi. O zamandan beri karsinogenezin nasıl başladığını, anahtar biyolojik bileşenlerle polisiklik aromatik hidrokarbonların etkileşim mekanizmasını açıklamak için bir takım girişimlerde bulunuldu (6). PAH'ın metabolik aktivasyonundaki radikal katyonun merkezi rolü ve PAH tarafından tümör başlangıcının mekanizması çalışılmıştır (7). PAH ailesinin bir üyesi olan 7,12-dimetilbenzantrasen

(7,12-DMBA) yüksek dozlarda kanseri başlatan ve devam ettiren güçlü bir kanserojendir. DMBA kemirgenlerde meme tümörlerini meydana getirmesiyle bilinen sentetik bir model bileşiktir ve göğüs kanseri etiyolojisinde potansiyel olarak bulunan faktörlerin çalışma alanında geniş bir ölçüde kullanılır. DMBA kompleks hidrokarbonların tamamlanmamış yanma reaksiyonlarında ürün olarak çevrede bulunur (8). Dolaylı bir kanserojen olan DMBA'nın, kanserojen haline gelebilmek için metabolik aktivasyona ihtiyacı vardır. DMBA, diol epoxidleri ve diğer toksik reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturmak için primer kemik iliği stromal hücrelerindeki sitokrom P450B₁ ve karaciğerdeki P450A₁ tarafından metabolize olur. Diol epoxidleri içeren DMBA'nın metabolitleri kromozomal hasara sebep olan DNA'nın adenin rezidülerini bağlamaya yeteneklidir (8).

DMBA metabolizması sırasında oluşan ROT hücre içerisinde üretildiği yerden diğer hedeflere difüze olabilir ya da üretildiği hücreden sağlam hücrelere yayılabilir. Bu ROT'un lipid peroksidasyonunu başlatan temel serbest radikallerin ikincil habercisi olarak hareket etmesi ya da lipid peroksidasyonunu doğrudan başlatmasıyla zararlı sonuçlar ortaya çıkar (9). Bu nedenle DMBA uygulanmış hayvanlardaki hepatik lipid peroksidasyonundaki artış, ROT'un üretimini artırırken antioksidan mekanizmalarda bir azalmaya sebep olur.

Ormanların tahribi ve erozyon, düzensiz şehirleşme ve yeşil alan azalması, kıyıların bozulması, sanayide kullanılan kimyasal maddelerin canlılar üzerindeki olumsuz etkileri, nükleer enerjili termik santraller ve polisiklik aromatik hidrokarbonların ekolojik dengede yapmış oldukları tahribat sadece Türkiye'de değil, dünyada da çözümleri aranan sorunlar haline gelmiştir (10).

PAH kirliliği fosil yakıtların yanması sırasında atmosferdeki bu ajanların ortaya çıkmasıyla oluşur. Bu bileşikler buharlaşmayla bir araya gelip yağmur olarak toprağa geri düşerler. Petrole bağlı ürünler bölgesel aquatik PAH kirliliğine de önemli ölçüde sebep olur. Bu tarz kirli sularda yaşayan balıklar yüzgeçleriyle suyu alıp verirken PAH'la muamele olurlar ve daha sonra gastrointestinal sistemlerle geri atarlar (11).

Benzo[a]piren ve ilgili sentetik model PAH'ların ve 7,12-DMBA'yı içeren karsinojenik PAH'ların laboratuvarındaki memelilerde immünotoksisite ürettiği bulunmuştur. Aquatik alan çalışmalarında bazı balık türlerinde de yüksek sıklıktaki hepatik ve dermal neoplazmaların aquatik PAH kirliliğiyle bağlantılı olduğu görülmüş ve bu durum balıkların bu ajanların karsinojenik etkilerine duyarlı olduğunu ve ajanların bazı düzeylerde doğada bulunduğunu göstermiştir (11).

PAH'la kirlenmiş nehirlerden toplanan balıklarda, yakınlardaki kirlenmemiş sularda yaşayan balıklarla kıyaslandığında makrofaj fagositozis, kemotaktik aktivite ve kemiluminesansa

cevaplar bulunmuş olup bu araştırmalar göstermiştir ki memelilerdeki bu ajanların benzer etkileri gibi aquatik çevrelerde PAH kirliliği balıklarda bağışıklığı baskılamaktadır (11).

DMBA sıçanlarda meme kanserine neden olan polisiklik aromatik hidrokarbon olarak bilinir. PAH'tan DNA'ya diol epoxidlerinin kovalent bağlanması tümör başlangıcını tetiklediği kabul edilir. Bu nedenle diol epoxidlerini detoksifiye eden glutasyon S-transferazlar (GSHs) tarafından katalize edilen hücresel reaksiyonlar tümör başlangıç riskini azaltmak için çok önemlidir. Dięer taraftan Bleomycin (BLM) aktive edilmiş oksijen kompleksinin oluşumu tarafından Fe^{+2} ve moleküler oksijen yardımıyla kendi sitotoksitesini ačíęa çıkartan kemoterapik bir ajan olup bu sebepten süperoksit anyonu ve diğer reaktif oksijen metabolitlerini üretmektedir. Sonuç olarak BLM, mitokondrial DNA'da olduğu gibi etkisini mini-nükleaz gibi ačíęa vururken nükleerde tek veya çift baę kırılmaları meydana gelir (12).

DNA ürünlerinin oluşumunun yanında DMBA ve BLM'nin mutajen metabolizmadan kaynaklanan oksidatif ürünleri, protein ve lipid membranlarına zarar vererek hayati hücresel fonksiyonların yerine getirilmesine engel olur. Reaktif oksijen radikallerini süpürmek için hazır olan ve toksik oksidatif tehditlerden hücreleri koruyan vücut savunma sistemleri, çok sıklıkla doğgun hale gelip kusurlu olabilirler. Kusurlu antioksidan sistemler kansere ve ilaç toksisitesine hassasiyeti arttırırlar. Bu nedenle diyetset antioksidan bileşikler ve mikrobelerin eklenmesi gibi uygun müdahaleler ROT'a bağlı hücresel hasara karşı korumada gerekli olabilir (12).

7,12-DMBA gibi PAH'ların serbest radikalleri oluşturduğu ve karsinogeneizde rol oynadığı görölmüştür. Bu rol, DNA bağlarının kırılması ve lipid peroksidasyonu yoluyla hücresel oksidatif hasarı meydana getiren peroksidler, hidroksi ve süperoksit anyon radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin meydana getirilmesiyle desteklenmektedir (13).

Deneysel karsinojenlerdeki en sık kullanılan model bileşiklerden biri 7,12-DMBA'dır. DMBA potansiyel mutajenik ve karsinojenik özelliklere sahiptir. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda DMBA'ya maruz bırakılan kemirgen modellerde ya da belirtilen mutajenik cevaplarda tümörlü hücre sayılarında belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir (14).

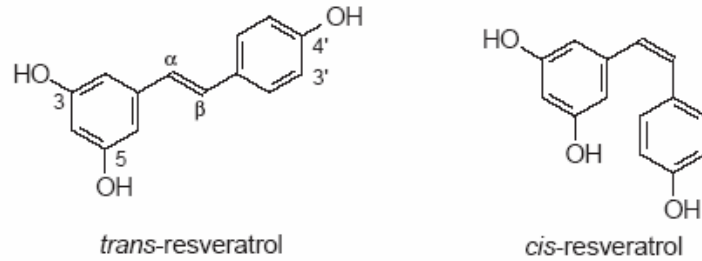
1.2 Resveratrol

Resveratrolün varlığı ilk kez 1976 yılında Langcake ve Pryce tarafından asmada (*Vitis Vinifera*) fark edilmiştir. 1992 yılında Siemann ve Creasy şarapta resveratrol bulunduğunu saptamıştır. Geleneksel Çin tıbbında, arterosklerozu tedavi etmek için piceid (resveratrol 3-O- β glucoside) ihtiva eden *Polygonum cuspidatum* köklerinden yapılan bir ilaç kullanılmaktadır (15).

Resveratrol oligomerleri belli başlı *Dipterocarpaceae*, *Vitaceae*, *Cyperaceae*, *Gynetaeae*, *Welwitschiaceae*, *Umbelliferreae*, *Leguminaceae* bitki familyalarında bulunmaktadır (16). Resveratrol: dutta, üzümde, yer fıstığında, çamda ve üzüm şarabında yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Asıl kaynağı *Vitis vinifera*, *Labrusca* ve *muscadine* üzümüdür. Resveratrolün üzüm kabuğunda 50 – 100 µg/gr kadar yüksek konsantrasyonda bulunduğu saptanmıştır.

Resveratrol sentezleyen bitkiler, mantar enfeksiyonu, ısı, radyoaktivite, UV gibi dış etkenlere karşı bir koruma mekanizması olarak bol miktarda resveratrol sentez ederler. Bu gibi durumlarda bitkinin resveratrol içeriğinde artış görülür ki; bitkilerin resveratrolü patojenlere karşı savunmak amaçlı sentezlediğinin göstergesidir (16-18).

Üzümde bulunan stilbenler; cis ve trans resveratrol, glukozitler (piceid veya polydatine), viniferinler, pterostilben, astringin, astringinin ve diğer resveratrol trimer ve tetramerleridir.



Şekil 3. Trans ve Cis Resveratrol (19)

Resveratrol çok geniş farmakolojik özelliklere sahip olup insanda kardiovasküler hastalıkları engellediği, kanserin tedavi ve önlenmesinde rol aldığı bilinmektedir.

Üzüm meyve aşamasında pterostilbenler çok düşük seviyede iken miktar olarak en fazla viniferinler daha sonra ise trans resveratrol bulunur. Fermantasyon sırasında β-glukozidaz enzimi glukozidleri resveratrole dönüştürür ve cis ve trans resveratrolün seviyelerinde artış olur.

1.2.1 Akdeniz Tarzı Diyet ve Fransız Paradoksu

Akdeniz diyeti, Fransız paradoksu ve koroner kalp hastalıkları arasındaki ilişki son yıllarda büyük ilgiye konu olmuştur. Akdeniz tarzı diyetin standart bileşimini belirtmek oldukça zordur. Çünkü Akdeniz ülkelerindeki diyetin bileşimi bölge ve ülkelere göre değişiklik göstermektedir. Örneğin Yunan tarzı diyetle zeytinyağı ile meyve tüketimi oldukça yüksektir. Yani ağırlıklı olarak

antioksidan içerikli diyetdir. Fransız tipi diyetle ise doymuş yağ asitleri, kırmızı et ve kırmızı şarap belirleyici olmaktadır. Portekiz tipi diyetle ise pirinç ve balık ağırlıklı olarak yer almakta fakat kırmızı et ve tereyağı tüketimi oldukça düşük olmaktadır. Bir Akdeniz ülkesi olmayan İngilizlerin diyetinde kırmızı et ve patates tüketimi yüksek, sebze ve meyve tüketimi düşüktür. Bu ülkelerde şarap tüketimi karşılaştırıldığında en yüksek Fransızlarda (195L/yıl) en düşük ise İngilizlerde (33L/yıl) olduğu saptanmıştır (20).

Bu ülkelerde koroner kalp hastalıklarından ölüm olayları karşılaştırıldığında ise %31 ile İngilizler en yüksek, %17.4 ile Portekizliler en düşük, %22 ile Fransızlar ise orta sırada yer almaktadır. İngiliz ve Fransız diyetleri kırmızı et ve doymuş yağ oranı yüksekliği bakımından birbirine benzemektedir. Bu iki toplumun diyetlerindeki farklılığı sağlayan faktör ise resveratrol içeriğinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (20).

21 gelişmiş ülkeden alınan kalp hastalığı ölüm verileri analiz edildiğinde, ölüm oranı ile meyve, sebze alınması ve balık eti tüketimi arasında negatif bir ilişki olduğu ortaya çıkmaktadır (20-22).

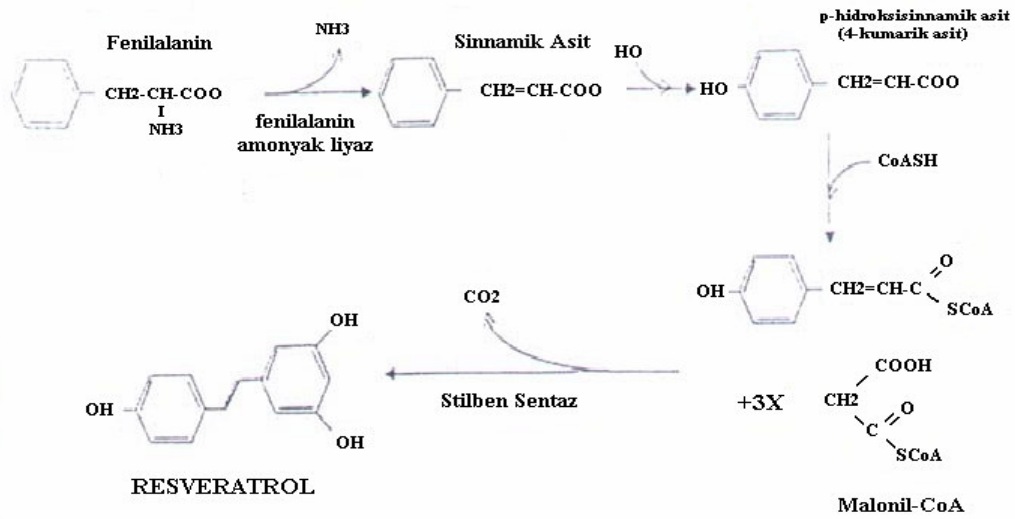
1.2.2 Resveratrolün Biyolojik Değişimi

Ağız yoluyla alınan resveratrol, resveratrol-glukronid formunda ince barsaklardan kolaylıkla emilir. Resveratrol alınımını takip eden 15 – 30 dakika içerisinde kanda maksimal düzeylere çıkar. Kan dolaşımında ise serbest resveratrol 30 dk kalırken, resveratrol-glukronid ve sülfat formları ise 3 saatten daha uzun süre kalır. Daha sonra birçok organda özellikle kalp, karaciğer ve böbrekte çok miktarda birikim gösterir.

Resveratrolün emilimi sıçan ince barsak segmentlerinde HPLC ile *in vitro* olarak değerlendirilmiş, jejunum ve ileum segmentlerinden resveratrolün glukronid konjugasyonu ile kan dolaşımına % 96 oranında geçtiği ortaya konmuştur (23). *In vivo* olarak sıçanlara oral olarak 4 ml orogastrik olarak (resveratrol derişimi 6,5 mg/L) tek doz ve diğer bir gruba 2 ml (resveratrol derişimi 6,5 mg/L) orogastrik olarak 15 gün boyunca verilmiş ve plazma, idrar, kalp, karaciğer, böbrek resveratrol derişimi değerlendirilmiştir. Karaciğerde 30 dakikada, plazmada ve böbrekte 60 dakikada, kalpte 120 dakikada maksimum derişime eriştiği saptanmıştır. Bu sonuçlar resveratrolün emiliminin çok çabuk olduğunu, dokulara çok çabuk taşındığını ve idrar düzeyleri değerlendirildiğinde büyük oranda idrar yolu ile atıldığını göstermektedir (24).

1.2.3 Resveratrolün Biyosentezi

Resveratrol sentezi fenil alaninden çok basamaklı bir şekilde gerçekleşmektedir. Fenil alaninden amonyak liyaz enzimiyle deaminasyon sonucu birinci basamakta sinnamik asit oluşur. Sinnamat, 4-hidroksilazla, p-hidroksilasyon yoluyla 4-koumarik aside dönüşür ve 4-koumaratla Co-A ester yapısına dönüşür. 4-koumaril Co-A, 3 malonil Co-A ünitesi ile stilben sentaz enzimiyle birleşerek resveratrolü oluşturur (16, 17).



Şekil 4. Resveratrolün Biyosentezi (17)

1.2.4 Resveratrolün Biyolojik Etkileri

Yapılan çeşitli *in vitro* çalışmalarda; resveratrolün antioksidatif, antiinflamatuvar, antikanserojen ve koruyucu etkileri ve östrojenik etkiler gibi çeşitli biyolojik etkileri tanımlanmaktadır (25).

Resveratrolün etkileri günümüze kadar birçok biyolojik dokularda araştırılmıştır. Fakat antioksidan, antitrombosit, kalp koruyucu, damar gevşetici, antikanserojen ve antiinflamatuvar etkileri gösterilmiş olmakla beraber mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamıştır (26–28).

Resveratrolün biyolojik etkilerini aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz;

- Serbest radikalleri detoksifiye eder.
- Anti-kanserojen etki gösterir.
- Lipid peroksidasyonunu inhibe eder.
- Lipid metabolizmasını düzenler.
- Trombosit agregasyonunu inhibe eder.
- Vaso-relaxing aktivitesi vardır.
- Anti-inflamatuar etkiye sahiptir.
- Bakır şelasyonunu sağlar.
- Östrojenik aktiviteye sahiptir.
- Anti-mikrobiyal etkisi vardır.
- İmmünomodülatör etki gösterir.
- Antiaging etki gösterir.

1.2.5 Resveratrolün Anti-Oksidan Etkisi

Trans resveratrolün LDL'ye eklenmesiyle bakır kataliz oksidasyonunun azaldığı saptanmıştır. LDL oksidasyonu sırasında doymamış yağ asitinden bozulma ürününün oluşumunun ölçülmesiyle, trans resveratrolün bakır şelasyonunu etkilediği gözlemlenmiştir. Resveratrol kaynağı ve quersetinin LDL'ye eklenmesiyle, doza bağlı bir şekilde oksidasyondan önceki gecikme zamanının uzadığı saptanmıştır (29, 30). Resveratrolün yüksek bakır şelasyon kapasitesi önemlidir çünkü LDL 'nin bakır bağlama kapasitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Cis izomerin şelasyon kapasitesi trans izomerinin yarısı kadardır. Bu OH gruplarının konumundan kaynaklanmaktadır (30). Resveratrolün antioksidan özelliği ve bakır şelasyon kapasitesinin yüksekliği onun serbest radikal süpürücü özelliğinden kaynaklanmaktadır. Kırmızı şarap içenlerde total kolesterol, trigliserit ve HDL'de herhangi bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir (31, 32). Buna karşın LDL kolesterolde ve α -lipoproteinde azalma ve membran akışkanlığında artış olduğu gözlemlenmiştir (28). Resveratrolün doza bağımlı bir şekilde 2-deoksiriboz degradasyonu inhibe ettiği saptanmıştır (29). Bir başka çalışmada resveratrolün kolesterol sentezini, squalen monoksijenaz enzimini (kolesterol biyosentezinde limit oranlayan enzim) inhibe ederek azalttığı bildirilmiştir (33).

Resveratrolün bakırı bağlamaya ilişkin yüksek kapasitesi, LDL'nin yüksek bakır bağlama özelliği olmasından dolayı önemlidir (34). Chanvitagaporgs ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada resveratrolün, LDL oksidasyonunun önlenmesinde E ve C vitamininden daha güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu görülmüştür (35).

1.2.6 Resveratrolün Anti-Kanserojen Etkileri

Resveratrolün birçok biyolojik dokuda antikanserojen etkilerinin olduğu, etki mekanizmalarıyla birlikte aydınlatılmaya çalışılmıştır. Kemirgen lenfoblastik lösemi hücrelerinde resveratrolün (10^{-4} M), ribonükleotid redüktaz aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (36).

Androjenler ve androjen reseptörleri prostat kanser etyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada resveratrolün (10-4M) androjen ‘upregulated’ genleri olan siklin bağımlı kinaz inhibitörü p21, AR-spesifik koaktivatör ARA70, insan glandular kallikrein-2, prostat spesifik antijen proteini ve mRNA’sında inhibisyon yaptığı gösterilmiştir (37).

Apoptozis hücre ölümü ile hücre çoğalması arasındaki hassas dengeyi oluşturmaktadır. Kanser oluşumu ve gelişimini önlemede, programlanmış hücre ölümü önemli yer tutmaktadır. Birçok sitotoksik ve sitostatik ilaç, kanser hücrelerinde apoptozisi uyarmaktadır. İnsan promiyelositik lösemi hücrelerinde resveratrolün (5 x 10⁻⁵ M) hücre çoğalmasını azalttığı, hücrede apoptotik şekillenmeyi arttırdığı, DNA’da kırılmaları arttırdığı ve antiapoptotik onco-protein Bcl-2 artışını ortadan kaldırdığı ortaya konmuştur (15). Resveratrolün lenfoblast hücre dizilerinde yapılan bir çalışmada apoptozisi artırdığı bilinen p53 aktivitesini ve p53 protein artışını anlamlı olarak artırdığı ortaya konmuştur (38).

Çevresel toksinler hücre fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir. Çevresel kontaminasyon ile endotel hücre hasarı, immün sistemin baskılanması, üreme fonksiyonları bozulması ve kanser gelişimi gibi sorunlarla karşı karşıya kalınmaktadır. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, dioksin ve benzopirinler özellikle sigara içenlerde yüksek miktarlarda organizmaya alınmaktadır. Bunlar yüksek düzeyde kanserojen ve mutajenik maddelerdir. Sperm sayısında azalmaya ve hücre sayısında anormal artışa neden olarak erkek fertilitatesini anlamlı olarak azaltmaktadır. Bunlar etkilerini sitozolde bulunan arilhidrokarbon reseptörleri aracılığıyla göstermektedirler. Ligand-reseptör kompleksi çekirdeğe geçmekte ve DNA’ya bağlanarak hasar oluşturmaktadır. Aynı zamanda sitokrom P₄₅₀ 1A₁, 1A₂, 1B₁ gibi enzimlerin genlerini ‘overexprese’ etmektedirler. Yapılan bir çalışmada resveratrolün arilhidrokarbon reseptörlerine bağlanarak kompetitif etki gösterdiği ve bu bağlanma sonrası çekirdeğe geçişin engellendiği belirtilmektedir (39).

Resveratrolün insan meme kanseri hücrelerinde dioksin ve benzopirinlerin arilhidrokarbon aracılı kanserojen etkilerini inhibe ettiği gösterilmiştir (40). Sitokrom P₄₅₀, arilhidrokarbon hidroksilaz olarak da bilinmekte olup polisiklik aromatik hidrokarbonların prokarsinojenik aktivasyonunda rol almaktadır. P₄₅₀ 1A₁’in inhibitörleri akciğer kanserinde oldukça etkili bulunmuştur. Resveratrol (10⁻⁴ M) insan karaciğer mikrozomlarında sitokrom P450 1A₁’i selektif bir şekilde inhibe etmektedir (41). İnsan hepatoma HepG₂ hücrelerinde resveratrolün derişim bağımlı bir şekilde P450 1A₁’i inhibe ettiği ortaya konmuştur. Ayrıca benzopirin ile uyarılmış sitokrom 1A₁ mRNA proteinindeki artışı ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. İnsan meme karsinoma hücre dizilerinde dimetilbenzantrazen ile uyarılan sitokrom 1A₁ aktivitesini doğrudan inhibe

etmiştir (42). Sitokrom P₄₅₀ 3A₄ ince barsakta en çok bulunan enzimlerden bir tanesi olup birçok ilacın barsaktan dolaşıma geçişini engellemektedir. Resveratrol zaman ve derişim bağımlı olarak bu enzimin aktivitesini de azaltmıştır (43).

Antikanserojen tedavinin ana hedeflerinden bir tanesi de tirozin kinaz ailesi enzimlerin inhibisyonudur. Resveratrolün bu enzim ailesinde anlamlı inhibisyon yaptığı insan plasental ve prostatik adenoma hücrelerinde gösterilmiştir (44).

Antikanserojen tedavinin bir diğr hedefi de protein kinaz C'nin (PKC) inhibisyonudur. Çünkü PKC tümör gelişiminde anahtar rol oynamaktadır. Resveratrol, kalsiyum fosfatidilgliserin ile uyarılan beyin PKC aktivitesini anlamlı olarak inhibe etmektedir (45). Protein kinaz D (PKD)'nin yapısal, enzimolojik ve düzenleyici özellikleri PKC ailesine benzemektedir. Yapılan çalışmada resveratrolün forbol ester ile uyarılan PKD aktivitesini otoposforilasyonunu engelleyerek inhibe ettiği gösterilmiştir. HLa hücrelerinde forbol ester ile uyarılan MAP Kinaz aktivitesini ve protein tirozin fosforilasyonunu da resveratrol inhibe etmektedir (46).

Nitrik oksidin; tümör gelişimini, metastazı, anjiyogenezisi, tümör hücre migrasyonunu arttırdığı murin meme tümör modelinde gösterilmiştir. Birçok insan kanserlerinde NOS aktivitesinin arttığı bilinmektedir. Resveratrol lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış fare peritoneal eksuda makrofaj hücrelerinde NO oluşumunu azaltmıştır. Aynı zamanda bazı derişimlerde LPS ile uyarılan indüklenabilen NOS indüksiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bununla birlikte DNA sentezini azalttığı, hücre siklusunda hücreleri G₀ / G₁ fazında durdurduğu ve apoptotik hücre ölümünü arttırdığı belirtilmektedir (47).

In vitro düzenekte melanoma hücrelerinde resveratrolün hücre çoğalmasını ve reaktif oksijen türevlerini azalttığı ve ayrıca *in vivo* olarak farelerde 20 mg/kg oral olarak verildiğinde hepatik metastatik invazyonu önlediği ortaya konmuştur (48).

Yapılan bir çalışmada daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde apoptozisin uyarıldığı ve hücre döngüsünün S fazında durduğu saptanmıştır. 'Western blot' analizi ile Cyclin A, B ve D gen ekspresyonunu anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir. Böylece resveratrolün ana etkisinin hücreleri S fazında durdurarak sağladığı ortaya konmuştur (49). Benzer etkiler insan meme, prostat ve ağız 'squamos' karsinoma hücrelerinde de gözlenmiştir (50).

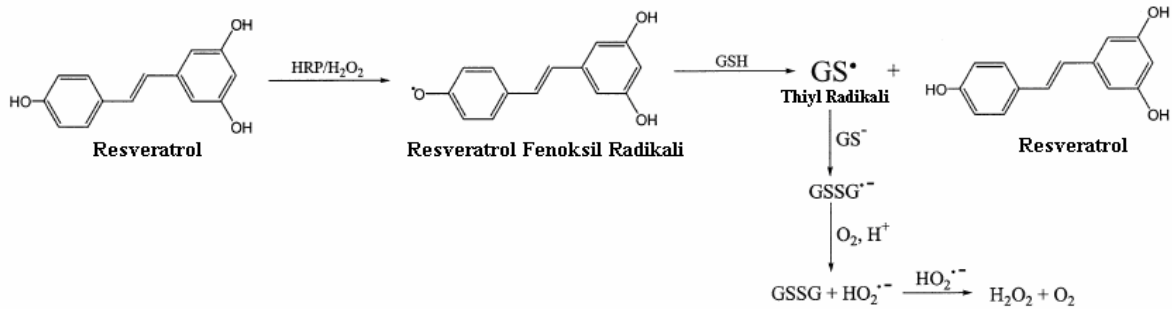
Resveratrol miktarı üzüm türleri ve diğr bitkisel kaynaklarda farklılıklar gösterir. Fransız paradoksunun temelini teşkil eden orta dereceli kırmızı şarap tüketiminin koroner kalp hastalıkları ve kanser oluşumunu önleyici etkisinden asıl sorumlu faktörün resveratrol olduğu anlaşılmıştır.

Diyetle alınan resveratrolün lipofilik yapısından dolayı önemli ölçüde absorbe olduğu ve karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda toplandığı saptanmıştır (16).

Resveratrolün diyet destekleyici olarak besinlere eklenmesi antikanserojen, antioksidatif, antiinflamatuvar etkiler gibi koruyucu etkilerinin oluşması açısından önem taşımaktadır.

1.2.7 Resveratrolün Prooksidan Özelliği

Her antioksidan, bazı durumlarda serbest radikallere karşı koruyuculuğu olan ve serbest radikal oluşumunu geliştiren, antioksidan vitaminleri de kapsayan gerçekte bir redox (redüksiyon-oksidasyon) ajandır (51). Yapılan çalışmalar vitamin E (52) ve vitamin C (53) gibi antioksidanların, prooksidan etkilerini açığa çıkarmıştır. Her ne kadar resveratrolün bir antioksidan olduğuna dair geniş bir inanış olsa da resveratrolün prooksidan özellikleri olduğunu destekleyen liteartürler de vardır (51, 54).



Şekil 5. Resveratrolün Peroksidatif Metabolizması (55).

Resveratrol gibi fenol halkası ihtiva eden besinsel polifenolikler, peroksidaz/H₂O₂ tarafından fenoksil radikallerine okside olurlar. Resveratrol fenoksil radikalleri eksilen elektronunu GSH'dan temin ederek, glutasyonu bir tiol radikali formuna dönüştürür. Sinyal radyoliz çalışmaları, disülfid radikal anyonu O₂'i hızla süperoksit radikal anyonu ve GSSG formuna (0.16 x10⁹ sabit oranda ve pH 9'da) indirgediğini göstermiştir (55, 56).

1.2.8 Resveratrol'un DMBA ile İlişkisi

Resveratrol (trans-3, 5, 4'-trihidroksistilben), doğal bir bileşik olup üzüm, yer fıstığı ve dut gibi yaklaşık 70 bitki türünde, birçok sebze ve gıdalarla ilişkili olarak bulunan bir fitoaleksindir. Resveratrol antiinflamatuvar, immüno-modülatör, antioksidan, kalp koruyucu ve antikanserojen

etkilere sahiptir. Yapılan birçok ön klinik çalışmalarında resveratrolün karsinogeneze karşı etkili olduğu gösterilmiştir (57,58).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda resveratrolün insan sağlığına yararlı etkileri olduğu ispatlanmıştır. Resveratrolün çeşitli biyolojik özellikleri, ateroskleroz ve kardiovasküler hastalıklara karşı koruyucu olduğunu göstermiş olup sürekli kırmızı şarap tüketen toplumlarda bu hastalıklardan kaynaklanan ölüm oranlarında bir azalma olduğu saptanmıştır. Resveratrol tümörün başlama, ilerleme ve devamıyla alakalı hücresel süreci engelleyerek antikanserojenik özellik gösterir (58).

Soleas ve arkadaşları tarafından DMBA kullanılarak oluşturulan kanser modelinde antioksidan olarak kullanılan quercetin'in oldukça etkili olduğu katesin ve resveratrolün orta düzeyde etkili olduğu ve gallik asitin de minimal düzeyde etkili olduğunu tespit etmiştir (59).

Jung ve arkadaşları tarafından oluşturulan meme kanserinde kara üzüm suyunun DMBA'ya bağlı oluşan meme tümörünün başlangıç aşamasını bloke ettiği gözlenmiştir (60). Hudson ve arkadaşlarının prostat kanser modeli üzerine yaptıkları bir çalışmada elde ettikleri sonuçlara göre muskadin üzüm kabuğu ekstraktı ve resveratrolün prostat kanser hücresi gelişimini engellediği belirlenmiştir (61).

2004 yılında Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DMBA uygulanarak oluşturulan kanser modelinde üzüm çekirdeği ekstraktı ve genistein antioksidan olarak kullanılmış ve sonuçlarını gözlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre üzüm çekirdeği ekstraktının göğüs kanserinde kanser önleyici etkilerinin olduğu saptanmıştır (62). Aynı yıl yapılan bir diğer çalışmada Szafer ve arkadaşları ise resveratrolün benzo[a]piren-diol-epoxide bileşiminin oluşumuna karşı etkisi yokken DMBA bileşimini önemli seviyede azalttığı belirlenmiştir (63).

In vitro olarak hazırlanan deneysel modelde 7,12-DMBA'nın olumsuz etkilerine karşı sırasıyla tannik asit ve resveratrolün en etkili antioksidanlar olduğu saptanırken en az etkiyi gösteren antioksidanın ise klorogenik asit olduğu belirlenmiştir (64).

Dişi Sprak Dawley cinsi sıçanlar üzerinde Banerjee ve arkadaşlarının DMBA kullanarak oluşturdukları meme kanserine resveratrolün baskısını ve nükleer-kappa B, siklooksigenaz 2 ve matriks metalloproteaz 9'un rolünü araştırmak için hazırladıkları deney modelinde resveratrolün DMBA'yla oluşan meme kanserini baskıladığı ve NF-kappa B, siklooksigenaz 2 ve metalloproteaz 9'un dengelenmesini düzenlediği saptanmıştır (65).

Soleas ve arkadaşlarının kırmızı şarap türü kullanarak hazırladığı bir çalışmada kırmızı şarapta bulunan 4 polifenolun antikarsinojenik özellikleri araştırılmıştır. 9,10-dimetil-1,2-benzantrazen (DMBA)'ın tümör başlatıcı ve forbol 12-miristat 13 asetat (TPA)'ın tümör oluşunu destekleyici olarak kullanıldığı çalışmada iki aşamada CD-1 fare deri kanser modeli oluşturulmuş ve polifenollerden antitümörogenik aktivitenin karşılaştırılması sağlanmıştır; flavanoller ([+] katesin), stilbenler (trakt-resveratrol), flavonoller (quercetin) ve hidroksibenzoik asitler(gallik asit)'dir. 0-25 mmol dozunda değişen spesifik polifenoller kullanılarak tümörler tedavi edilmiştir. Quercetin'in en fazla etkili, gallik asit'in en az etkili [+] katesin ve trans resveratrolün diğerlerine kıyasla orta seviyede etkili olduğu gözlenmiştir. Araştırmada oral yolla insanlarda tüketiminden sonra trans-resveratrolün [+] katesin ve quercetinden çok daha etkili bir şekilde absorbe edildiği ortaya konmuştur (50).

Deri kanseri üzerine iki aşamalı deneysel modelde, yine DMBA başlangıçlı ve forbol 12-miristat 13 asetat (TPA) destekli murin deri kanseri oluşturulup resveratrolün antikanserojen özelliğinin araştırıldığı çalışmada, deri tümörlerinde %98 azalmanın gözlemlendiği rapor edilmiştir (66). DMBA etkisine maruz bırakılan yetişkin sıçanların meme bezlerinde östrojene bağımlı preneoplastik duktal lezyonların oluşumunu resveratrolün engellediği belirtilmiştir (66). Diyetset olarak verilen resveratrolün (1g/kg) DMBA uygulanmış sıçanlarda meme kanserine duyarlılığı azalttığı ispatlanmıştır. Bu durum üreme hücrelerinde anlamlı bir azalma ve meme terminal duktal yapıları ve daha değişik lobuler yapılarındaki apoptotik hücrelerdeki bir artışa bağlı olduğu ileri sürülmektedir (67).

Angela ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise insanlardaki ovaryum kanser hücrelerinde resveratrolün glukoz metabolizmasını engellediği, glukozun artışını ve laktat üretimini şaşırtıcı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir (68).

Yılmaz ve arkadaşlarının KBrO₃ kullanarak oluşturdukları böbrek kanser modelinde resveratrolün yaşlı dişi Wistar cinsi sıçanların serum ve eritrositlerinde lipid peroksidasyon seviyesini azalttığı ve antioksidan kapasiteyi koruduğu rapor edilmiştir (69).

Yuko ve arkadaşları resveratrolün asetilkoline bağlı katekolamin sekresyonunu engellediği ve sığır adrenal medüller hücre kültüründe sentez boyunca iyon akımını baskıladığı belirtilmiştir (70). Resveratrolün sıçanlardaki bilişsel deformasyona ve hippocampal nöron kaybı travmasına karşı nöro-koruyucu bir role sahip olduğu Sönmez ve arkadaşları tarafından tespit edilmiştir (71).

Abir ve arkadaşları tarafından Wistar albino sıçanların karaciğerinde etanolün olumsuz etkilerine karşı resveratrol uygulaması yapılmıştır. 6 hafta boyunca % 35 etanol solüsyonu günde 1 defa (3g/kg/gün) uygulanmış ve 5g/kg düzeyinde bazal diyetle resveratrol deneklere verilmiştir. Etanol uygulaması, sistemlerdeki MDA oluşumunu artırıp, özellikle hepatik süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT)'ın aktiviteleri azaltırken, glutatyon redüktaz (GR)'ın değişmediği görülmüştür. Etanolla beraber uygulanan resveratrolün sıçanların karaciğerinde hepatik lipid peroksidasyonu engellediği ve SOD, GPx ve CAT aktivitelerini düzenlediği belirtilmiştir. Çalışmada sonuç olarak sıçanlarda araştırmalara bakılarak kronik etanol uygulamasında meydana gelen oksidatif hasarı azaltmada resveratrolün yararlı etkileri olduğu rapor edilmiştir (72).

Christine ve arkadaşları ilk defa siyah çikolata ve kakao likör ekstraktlarında trans-resveratrol ve trans-pieced bulduklarını açıklamışlardır. Fakat çikolatanın nadir antioksidan aktivitesi stilbenlerin varlığından ziyade yüksek orandaki prosiyanidin ile ilişkili olduğu savunulmuştur (73).

Resveratrolün 7,12-DMBA ve 12-O-tetra-dekonil-forbol-13 asetat (TPA) uygulanan fare derilerinde oluşan papillomaların ortalama sayısını önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (57).

1.3 Lipoik Asit

İlk olarak 1937'de bazı bakterilerin gelişimleri için patates ekstraktında bulunan bir maddeye gereksinim duydukları ortaya konulmuş ve bu maddeye "*potato growth factor*" denilmiştir. 1951'de ise Reed ve arkadaşları tarafından bu madde tonlarca karaciğerden birkaç miligram olarak izole edilmiş α -lipoik asit (α -LA) olarak adlandırılmıştır (74, 75).

Alfa lipoik fizyolojik sistemlerde bulunan, tiyol grubu içeren ve antioksidan aktiviteye sahip önemli bir moleküldür (76). Nispeten küçük bir moleküldür (MA:206). Yükseltgenmiş formunda intramoleküler disülfid bağı oluşturan, disülfid türevi bir oktanoik asittir. Alfa lipoik asitin okside olmuş ditiyolan halkası çevresel şartlara bağlı olarak moleküle yüksek indirgeme özelliği kazandırmaktadır. Alfa lipoik asit ve dihidrolipoik asitin kimyasal reaktivitesini sağlayan da ditiyolan halkasıdır. Bu yapı α -LA'yı bilinen tiyol içeren diğer biyomoleküler arasında özgün kılmaktadır (77). α -LA mikroorganizmalardan insanlara kadar bütün organizmalara enerji metabolizmasında kofaktör olarak gerekli olan ve antioksidan özellikleri ortaya konulan bir moleküldür (78, 79).

Alfa lipoik asit insan diyetinde yeterli miktarda bulunmasına rağmen, *de novo* olarak mitokondride lipoik asit sentaz tarafından sentezlenmektedir. Hem lipid hem de sulu ortamda çözünür, kolayca emilir ve hücrelere taşınarak, dihidrolipoik aside (DHLA) indirgenir. Alfa lipoik asit hücreye girdikten sonra sitozolik enzimler olan GSH redüktaz ve tiyoredoksin redüktaz ve mitokondrial enzim E₃ tarafından indirgenmektedir. Alfa lipoik asit barsaktan emildikten sonra, çeşitli dokularda metabolik değişikliğe uğradıktan sonra salgılanır. Lipoat metabolizmasındaki katabolik süreç pentanoik asit yan zincirinin β -oksidasyonu üzerinden gerçekleşmektedir. Alfa lipoik asit metaboliti olan 3 ketolipoat, serbest α -LA'nın β -oksidasyonla salgılandığını göstermektedir (76, 80).

Sitrik asit siklusundaki multienzim dehidrogenaz kompleksinin (piruvat dehidrogenaz ve α -ketoglutarat dehidrogenaz) kofaktörüdür. α -LA ekzojen verildiğinde serbest radikal temizleyici, metal şelasyon ve vitamin E, askorbik asit ve glutatyonun rejenerasyonu gibi antioksidan özellikler gösterir (81). Dihidrolipoik asitin, α -LA'ya göre antioksidan etkisi daha fazladır (80). Alfa lipoik asitin iki ayrı izometrik konfigürasyonu vardır. R formu doğal, S formu ise sentetiktir (81). Redükte DHLA ve okside α -LA formlarının her ikisi de $\cdot\text{OH}$ 'i HOCl ve $^1\text{O}_2$ doğrudan temizler, H_2O_2 'i ise redükler. Alfa-lipoik asit ve DHLA doğal olarak fizyolojik sistemlerde bulunduklarından ideal terapotik antioksidan olduğu düşünülebilir. Alfa lipoik asit, antioksidan etkiye ilaveten bazı metabolik yollarda enzim aktivitelerini de etkileyebilir. Hepatik mikrozomal enzimlerden sitokrom P₄₅₀ redüktaz ile disülfid-tiol değişimi yoluyla P₄₅₀ redüktazı inhibe edebilir. Nitrik oksit sentaz ile sitokrom P₄₅₀ redüktaz homologdur. Bu yüzden α -LA nitrik oksit sentazı da inhibe edebilir (76).

Dihidrolipoik asitin antioksidan etkisi kanıtlanmış olmasına rağmen özellikle demirin varlığında prooksidan etki gösterebilir. Dihidrolipoik asit invitro hem ferik hem ferröz demir ile şelat oluşturur. Bu nedenle demirin oksidatif hasarını önler. Ancak ferritinden demirin ayrılmasını ve Fe^{+3} 'ün ve Fe^{+2} 'ye dönüşümünü azaltarak oksidatif hasarı arttırabilir (81).

Alfa lipoik asit ve DHLA'nın antioksidan ve prooksidan olarak fonksiyon gösterme yeteneği oksidan stresin tipi ve fizyolojik şartlar tarafından belirlenmektedir. Tiyol bileşikler tarafından oluşturulan prooksidan etkilerin çoğu $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $\cdot\text{OH}$ oluşmasına bağlanmaktadır (80).

1.3.1 Lipoik Asitin Yapısı ve Kaynakları

Lipoik asit, bitki ve hayvanlarda doğal olarak meydana gelen bir tiyol bileşik olarak tanımlanmıştır. Lipoik asit günlük diyetle tüketilir ve dokular ve hücreler tarafından dihidrolipoik aside dönüştürülür (82). α -LA kendi orijinal okside formunda ya da DHLA şeklinde redükte formda

bulunabilir. α -lipoik asit yapısında iki sülfür atomu ve bir karboksilik asit grubu bulunan beşli bir halka içermektedir. Lipoik asit diyetten hızla emilir, transport sonucu hücreler tarafından alınarak, beyin dahil birçok dokuda redükte formu olan DHLA'ya indirgenir (74,75,79,83,84). α -LA; DHLA'ya indirgendiği zaman molekülün uç kısmındaki atomların oluşturduğu dithiolan halkası kırılır ve sülfür atomları sülfhidril (-SH) grupları şekline dönüşür.

Bakterilerden insanlara kadar birçok organizmada lipoik asit sentezlenmektedir. İnsanlarda karaciğer ve diğer dokular tarafından sentezlenerek doğal bir kofaktör olarak görev yapmaktadır (74). Lipoik asit predominant olarak beyin, böbrek, karaciğer, ince barsak ve iskelet kaslarında bulunmaktadır. Memeli dokuları 5–25 nmol/g lipoik asit içermekle birlikte, bunun hemen hemen tümü protein-bağlı formda bulunup, dışarıdan verilmediği sürece hücrede sadece çok az serbest lipoik asit bulunmaktadır (84). Çeşitli sebze ve meyveler ile hayvansal dokular farklı düzeylerde *lipoillizin* formunda R-LA içerirler. Ispanak başta olmak üzere brokoli, domates, bezelye, Brüksel lahanası ve pirinç α -LA içeren bitkisel kaynaklardır. Kalp, karaciğer ve böbrek gibi yüksek metabolik aktiviteye sahip hayvansal dokular da α -LA bakımından zengin kaynaklardır (83, 85).

1.3.2 Lipoik Asitin Fonksiyonları

α -lipoik asitin vücutta iki şekilde fonksiyon yaptığı düşünülmektedir. Bunlardan birincisi, metabolik işlemlerde koenzim olarak görev alması; ikincisi ise suplementasyon yoluyla ulaşılan dozlarda antioksidan özellikler göstermesidir. Lipoik asit; α -ketoglutarat dehidrogenaz, dallı zincir α -ketoasit dehidrogenaz, pirüvat dehidrogenaz multienzim kompleksleri için kofaktör olarak rol oynayıp, enerji metabolizmasında çok önemli bir yere sahiptir (75,78). α -lipoik asitin karboksilik grubu pirüvat dehidrogenaz komplekslerinin dihidrolipoil transasetilaz subünitine (E_2) spesifik lizin ϵ -amino grubuna amid bağı ile kovalent olarak bağlanır. α -lipoik asit ayrıca glisin dekarboksilaz kompleksinin H proteinine de bağlanır ve glisinin CO_2 , amonyak, 5,10-MTHF ve NADH'a reversible oksidasyonunu katalize eden glisin yanma sisteminin de bir bileşenidir (75, 78,79, 86).

Bir bileşiğin antioksidan potansiyeli değerlendirilirken bazı kriterler göz önünde bulundurulmaktadır. Bunlar: a) absorpsiyonu, biyolojik yararlılığı ve hücre konsantrasyonu, b) diğer antioksidanlarla etkileşimi, c) serbest radikalleri temizleme spesifitesi, d) metallerle şelat yapma yeteneği, e) gen ekspresyonuna etkileri, f) oksidatif hasarı onarma yeteneği, g) molekülün membran veya sıvı fazda lokalize olması (78, 79, 84). Bir maddenin iyi bir antioksidan olması için bu özelliklerin tümüne sahip olması gerekmez. Örneğin vitamin E vücutta iyi bir antioksidan olarak düşünülmesine rağmen sadece membran ya da lipid fazda etkisini gösterip özellikle lipid peroksil

radikallerini n trolize ederken, sıvı fazdaki radikallere karşı çok az ya da hiç etki göstermemektedir (79).

Alfa-lipoik asit / dihidrolipoik asit redoks çifti, diğer antioksidanlarda bulunmayan bazı özelliklere sahiptir. α -lipoik asit “ideal”, “eşsiz” ve “evrensel antioksidan” olarak tanımlanmaktadır. Bunun nedenleri:

1.Hem sıvı, hem de lipid fazla     nmesi: α -LA, amfifilik özellik gösterip hem sıvı hem de lipid fazda     nelebilmektedir. Bu özelliği oldukça önemlidir.      suda     nen antioksidan bileşikler ( rn: vitamin C) hücre içinde, ya da     nen antioksidanlar ( rn: vitamin E) ise hücre membranında bulunurken; α -LA ve DHLA hem hücre içinde hem de membran düzeyinde etki göstererek çift koruma sağlamaktadır (79, 84, 87, 88, 89).

2.Redükte ve okside formlarının antioksidan etkiye sahip olması: α -LA hücre içerisinde DHLA'ya indirgenir ve antioksidan yeteneklerine büyük ölçüde indirgenmiş formunun katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (84,88). Çoğu antioksidan bileşik sadece indirgenmiş formda bulundukları zaman antioksidan olarak rol oynamasına rağmen ( rn: redükte glutatyon), α -LA'nın hem okside hem de redükte formu kuvvetli antioksidanlar olarak rol oynarlar. DHLA'nın tiyol grupları için yüksek pKa'sı (10.7) bu molekülün, pKa'sı 9.45 olan GSH'dan bile daha kuvvetli bir nükleofil olduğunu göstermektedir (88).

3.Hızla absorbe edilmesi: Diyet ya da dışarıdan alınan α -LA hızlı bir şekilde absorbe edilir. Birçok dokuya dağılır ve kan-beyin bariyerini de geçer (79, 85).

4.Diğer antioksidanlarla etkileşimi: α -LA; Vitamin C (90), Vitamin E (91), glutatyon (92) ve koenzim Q'yu (93) da kapsayan çeşitli antioksidanları aktif durumlarına dönüştürüp yeniden oluşturma yeteneğine sahiptir (75, 83, 94).

5. Birçok hastalıkta tedaviyi destekleyici olarak kullanılabılme potansiyeline sahip olması: α -lipoik asitin, klinik olarak mantar zehirlenmesi ve metal toksisitesinin tedavisinde kullanımının yanı sıra; diyabet, katarakt oluşumu, kanser, iskemi-reperfüzyon hasarı, HIV aktivasyonu, radyasyon ve nörodejenerasyon hasarı gibi çeşitli oksidatif stres modellerinde yararlı olduğu belirlenmiştir (83).

6.Glutatyon düzeylerini arttırması: α -LA hücrelerde başlıca antioksidan olan glutatyon üretimini s t m le etmektedir (92).

Tablo 11.Alfa-Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Nötralize Ettikleri Radikaller

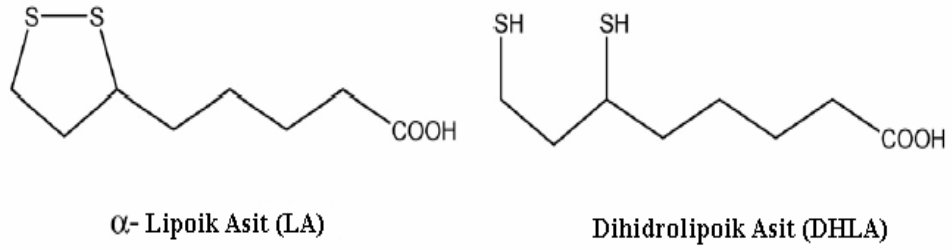
Radikaller	α-LA Tarafından Toplananlar	DHLA Tarafından Toplananlar
Hidroksi Radikali (OH $\cdot$)	+	+
Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)	+	+
Hidrojen Peroksit (H $_2$ O $_2$)	+	+
Peroksinitrit (ONOO $^-$)	+	+
Süperoksit Radikali (O $_2^{\cdot-}$)	-	+
Lipid peroksil Radikali(LOO $\cdot$)	-	+
Nitrik Oksit Radikali (NO $\cdot$)	+	+
Hipokloröz Asit (HOCl)	+	+
Peroksil Radikali (CCl $_3$ O $_2^{\cdot}$)	+	+

7.Serbest metal iyonlarıyla şelat yapması: α -LA; geçiş metal iyonlarıyla şelat yapma yeteneğine sahiptir. Arsenik, kadmiyum, kurşun, civa gibi toksik metallerle çözünmeyen kompleksler oluşturduğu ortaya konulmuştur. α -LA ve DHLA'nın şelasyon yaptığı geçiş metalleri: Pb $^{+2}$, Cu $^{+2}$, Zn $^{+2}$, Mn $^{+2}$, Cd $^{+2}$, Co $^{+2}$, Hg $^{+2}$, Fe $^{+3}$ /Fe $^{+2}$, Ni $^{+2}$ (79, 84, 88).

8.Serbest radikalleri nötralize etmesi: α -LA ve DHLA; OH $\cdot$, O $_2^{\cdot-}$, LOO $\cdot$, NO $\cdot$ ve HOCl'yi içeren çeşitli radikallere karşı antioksidan olarak rol oynarlar. Ayrıca $^1\text{O}_2$ ve H $_2$ O $_2$ ile de etkileşime girdikleri bilinmektedir (83, 88). DHLA mükemmel bir indirgeyici ajandır ve serbest radikale bağlı patolojilere karşı insanlardaki antioksidan defansları artırıcı potansiyele sahiptir (89, 95).

1.3.3 Alfa-Lipoik Asitin Dihidrolipoik Aside İndirgenmesi

Alfa-lipoik asit mitokondri bulunan çoğu hücrede dihidrolipoamid dehidrogenaz tarafından NADH-bağımlı bir reaksiyon ile dihidrolipoik aside indirgenir (87,96). Mitokondri bulunmayan hücrelerde ise indirgenme NADPH-bağımlı olarak glutatyon redüktaz (96, 97) ve thioredoksin redüktazlar (96, 98) tarafından gerçekleştirilir. Ayrıca sentetik olarak NaBH $_4$ ile de indirgenme oluşabilir. Lipoik asitin antioksidan özelliklerine büyük ölçüde indirgenmiş formunun katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (84, 88).



Şekil 6. Alfa-Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asitin Kimyasal Yapısı (82)

1.3.4 Lipoik Asitin DMBA ile İlişkisi

Lipoik asit ve dihidrolipoik asit'in her ikisi de; glutatyon, ubikinon, ve askorbik asit gibi ekzojen-endojen antioksidanları, radikal veya okside formlarını indirgeyerek yenilenmesini sağlamak, metal iyonlarıyla stabil kompleksler yapmak koşuluyla biyolojik sistemlerdeki ağır metalleri yok etmek ve serbest radikallerin süpürülmesi dahil çeşitli mekanizmaları kapsayan güçlü antioksidanlar olarak görev yaparlar (82).

Ho ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada fare derisinde DMBA (0.3 μ mol) başlangıçlı ve TPA (2 nmol) destekli tümör oluşumuna 300–4050 nmol aralıklarında bir doz DHLA'nın önleyici etkileri araştırılmıştır. Tümör oluşumu için DMBA uygulandıktan bir hafta sonra TPA uygulamasına başlanmış ve her iki ajan haftada iki defa uygulanmış ve deney 20 hafta boyunca devam etmiştir. Pozitif kontrol grubunda 20 hafta sonunda tümör oluşum sıklığının % 70'e ulaştığı rapor edilmiştir. Buna zıt olarak aseton verilen grupta tümör oluşumu gözlenmediği tespit edilmiştir. DMBA uygulamasından önce DHLA (4050 nmol) ön tedavi uygulanan grupta tümör oluşumunun tamamen inhibe edildiği belirlenmiş ve diğer üç grupta da (TPA uygulamasından 30 dakika önce, 300, 900 ve 2700 nmol DHLA) tümör oluşumu % 10–60 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada diyetle verilen % 0.2'lik lipoik asitin TPA'ya karşı antitümör aktivitesinde herhangi bir gelişme belirlenmemiştir ve dihidrolipoik asitin lipoik asitten daha güçlü bir antioksidan olduğu ileri sürülmüştür (82).

1.4 Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türleri ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinmektedir. Antioksidanların lipid peroksidasyonunu engelleyerek lipidleri

korumalarının yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef moleküllere karşı da koruyucu etkileri vardır. Hücrelerin hem sıvı kısımlarında hem de membranlarında bulunurlar (99–101).

Antioksidanlar etki mekanizmalarına göre koruyucu antioksidanlar, süpürücü (zincir kırıcı) antioksidanlar ve onarım enzimleri olarak üç grupta incelenmektedir (102–104).

Koruyucu antioksidanlar: ROT'un oksidasyonunu katalize ederek fonksiyon görürler GSH-Px, SOD ve CAT bu gruba girer.

Süpürücü antioksidanlar: ROT oluştuğunda bunları daha zayıf yeni moleküllere çevirerek etkisiz hale getirir ve zincir reaksiyonlarını kırarlar. A, E ve C vitaminleri bu gruba girer.

Onarım enzimleri: Hücrelerde oluşan hasarları onarır ve membranları yeniden yapılandırır. DNA onarım enzimleri, proteaz ve lipaz bu grubu girer.

Antioksidanlar; H_2O_2 ve O_2 düzeylerini düşük tutup hidroksi radikallerini azaltma yönünde fonksiyon gösterirler ve iki grupta incelenirler:

1.Enzimatik Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar: Mineraller çinko (Zn) Bakır (Cu), selenyum (Se), vitaminler (A, E, C vitaminleri) karotenoidler, glutatyon, seruloplazmin, ferritin, transferin, hemoglobin, miyogloblin, albumin, ürik asit, flavonoidler, polifenoller, lipoik asit, resveratrol (105).

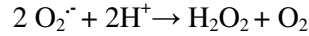
Önemli hücreyel antioksidan mekanizmaları vardır. Bunlar:

- Oksidanlar veya okside ajanlarla askorbik asit, glutatyon ve diğer indirgeyici ajanların doğrudan ilişkisi.
- Serbest radikallerin ve tekli oksijenin E vitamini, askorbik asit ve süperoksit dismutaz ile süpürülmesi.
- Hidroperoksitin GSH peroksidaz ve katalaz ile azaltılması.
- Metallerin ferritin, transferin, seruloplazmin, albumin ile bağlanması veya uzaklaştırılması.
- Hücre zarı bariyerlerinin ROT'nin esansiyel hücreyel komponentleri ile reaksiyonun önlenmesi.
- Besin öğeleri ve metabolik aktiviteler sonucu oluşmuş hasarların tamir edilmesidir (106).

Pek çok antioksidan sistemi farklı aşamalarda ve hücrenin farklı bölmelerinde etki göstermektedir. E vitamini tüm bu oksidan sistemlerde anahtar pozisyonundadır. Çünkü hücre zarında lokalize olmuş ve yaklaşık bir birim α - tokoferol; 1000 birim lipid molekülünü membranda koruyabilmektedir. α - tokoferol'ün etkisi diğer antioksidan sistemlerle etkileşim kurduğunda daha da artmaktadır. Askorbik asit, GSH, koenzim Q, resveratrol ve lipoik asit gibi birçok antioksidan sistem, E vitamini rejenerasyonunda rol oynamaktadır (105).

1.4.1 Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz: Süperoksit dismutaz enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalizleyerek süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Böylece hücre içindeki $O_2^{\cdot-}$ düzeylerini azaltır:

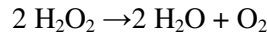


Süperoksit dismutazın insanlarda iki izoenzimi vardır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik yapıdaki bakır ve çinko içeren CuZn-SOD ile mitokondrilerde bulunan tetramerik yapıdaki 2 Mn içeren Mn-SOD'dir. Bu iki enzimden CuZn-SOD siyanürle inhibe olurken Mn-SOD siyanürden etkilenmez (107, 108).

Glutasyon Redüktaz (GR): Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun tekrar indirgenmiş şekle dönmesi gerekir. Glutasyon redüktaz NADPH varlığında, oksitlenmiş glutasyonun (GSSG) indirgenme reaksiyonunu katalizler (95).

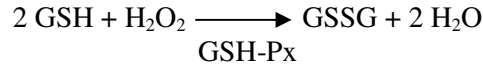


Katalaz: Karbonik anhidraz enzimi gibi turnover'i en hızlı olan enzimdir. Glikoprotein yapısında olup dört hem grubu içeren bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalize olmuştur, hücre dışında yer almaz veya eser miktardadır. Kanda, kemik iliğinde, muköz membranlarda, böbrekte ve karaciğerde bulunur. Oksidazların aktivitesi ile oluşan toksik H_2O_2 'i direkt olarak suya çevirir. Böylece ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksi radikallerinin sentezlenmesi ve H_2O_2 'nin vücutta birikimini engellemiş olur.



Bu reaksiyon daha çok H_2O_2 konsantrasyonunun arttığı durumlarda büyük öneme sahiptir. Düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar (örneğin glutasyon peroksidaz) devreye girer (109).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px): İntraselüler bir enzim olup aktif merkezinde selenosistein içerir. GSH-Px; iki adet tiol grubu ihtiva eden glutasyonu, glutasyon disülfide okside ederken hidroperoksitleri redükte eder. Redükte glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi tarafından NADPH kullanarak rejenere edilir. NADPH ise pentoz fosfat yolunda elde edildiğinden bu yol detoksifikasyon mekanizmasını destekleyici bir görünümündedir.



Glutasyon peroksidaz, peroksitlerin alkollerle dönüşümünü katalize ederek selüler ve subselüler membranların oksidatif etkiden korunmasını sağlar. Bu enzimin aktivitesi, diyetle alınan selenyum miktarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir ve eritrositleri okside olmaktan korumaktadır.

Glutasyon peroksidazın selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki şekli mevcuttur. Selenyum bağımlı enzim hem H_2O_2 'e hem de hidroperoksitlere etki eder. Selenyuma bağımlı olmayan ise H_2O_2 yıkımını kataliz etmez, ancak lipid hidroperoksitlerinin yıkımında görev alır. Karaciğer, böbrek korteksi ve iskelet kasında bulunur. Böbrek medullasında selenyum bağımlı ve bağımsız GSH-Px eşit miktardadır. H_2O_2 'in bu enzim tarafından yıkılmasının önemi, Keşhan hastalığı adı verilen kardiyomiyopati türünden tanımlanmıştır. Bu hastalık selenyumdan fakir topraklarda yaygın görülür. Diyet yoluyla selenyum verilmesi ile engellenebilmektedir.

Glutasyon peroksidaz enziminin katalize ettiği reaksiyon ile membran lipidlerinin ve hemoglobinin, peroksitler tarafından oksidasyonu önlenir. Bu reaksiyon hemoglobinin methemoglobine oksidasyon oranını azaltarak eritrositin ömrünü uzatır (109).

1.4.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.4.2.1 Vitamin E

E vitamini (α -tokoferol) antioksidan olup yağda çözünen bir vitamindir (110, 111). E vitamini, vücudun bütün dokularında bulunmaktadır. Kaslarda, kalpte ve testislerde vitamin yoğunluğu diğer dokulardan daha yüksektir. Serumdaki tokoferolün %80-90'ı α formunda kalanı ise γ formunda bulunmaktadır. Serum E vitamini düzeyinin 0.5 mg/dl'nin altında olması, yetersizliğin ölçütü sayılır, bu düzeyin 0.7 mg/dl'nin üzerinde olması idealdir (112, 113).

Vitamin E'nin sekiz doğal formu bulunmaktadır. Bunlardan dördü tokoferol diğer dördü ise tokotrienoldür ve yağda eriyen 6-hidroksikroman bileşikleridir (114). Standart E vitamini etkinliği gösteren α -tokoferoldür (112).

Alfa-tokoferol çoğunlukla membran içlerinde, kandaki lipoproteinlerde ve adrenal bezlerde bulunur ve hücre membranlarını serbest radikallerin oksidatif hasarından korur (110–112). α -tokoferol lipid peroksidasyonunu önlemek için, oluşan lipid radikalleri ile sürekli olarak reaksiyona girer. Bu reaksiyon non-enzimatik bir reaksiyon olduğundan E vitamini radikallere karşı geniş çaplı bir koruma gösterir (113, 115, 116).

E vitamininin en çok etkiyi gösterdiği radikaller karbon merkezli radikaller ve peroksil radikalleridir. Bu iki tip radikal hücre zarındaki lipid peroksidasyonuna neden olan önemli radikallerdir ve bu nedenle E vitamini fonksiyonu zincir kırıcı antioksidan veya serbest radikal süpürücüsü olarak tanımlanabilir. Lipid peroksidasyonunu önleyerek okside LDL kolesterol düzeyini azalmasının yanı sıra E vitamini trombin çözücü olduğu için trombus oluşumunu engeller, lipooksijenaz aktivitesini inhibe ederek antiagregatör etki gösterir ve de HDL kolesterol düzeyini artırır (113, 115, 116).

E vitamininin diyetle alımı çoklu doymamış yağ asitleriyle (özellikle linoleik asit) ilişkilidir. Yağda eriyen vitaminlerden olduğu için çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki antioksidan etkisi de önemlidir (117). Sıvı yağlar, yağlı tohumlar, buğday embriyosu ve koyu yeşil yapraklı sebzeler en zengin kaynaklarıdır (112, 118).

Tokoferoller bitki ve hayvan dokularında yeterince bulunur. En zengin kaynakları; yeşil yapraklı bitkiler, yağlı tohumlar ve bunlardan elde edilen yağlar, sert kabuklu meyveler (fındık, ceviz vb.), tahıl taneleri ve kurubaklagillerdir. Et, yumurta ve balıkta da bir miktar bulunmaktadır. Tokol türevleri tohumların özünde (embriyosunda) yer alır. En zengin kaynağı yağlı tohumlardır, palmiye yağı tokotrienollerden çok zengindir (112).

Vitamin E günlük tüketilen yiyeceklerde yeterli miktarda bulunduğundan insanlarda yetersizlik belirtilerine sık rastlanmamaktadır. E vitaminin yetersizliğinde klinik etkiler tam açıklanmamış olsa da eritrositlerin yaşam süresini kısalttığı ve nörolojik işlem bozukluklarına yol açtığı belirtilmiştir. E vitamini çoğunlukla hücre membranlarında yüksek oranda bulunmaktadır (110, 112).

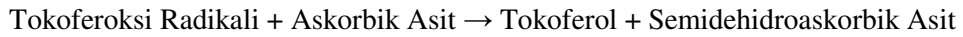
Besin ve vücut dokularındaki E vitamini kimyasal ve kromatografik yöntemlerle ölçülür. En iyi yöntem yiyecek ve dokulardan ayrılarak miktarının ölçüldüğü HPLC'dir (112).

1.4.2.2 Vitamin C

Vitamin C suda çözünen bir vitamindir. Vitamin C'ye askorbik asit de denilmektedir. Askorbik asit bir monosakkarit türevidir (112, 119).

Vitaminler içerisinde oksidasyon kabiliyeti en çok olan vitamindir. C vitamini bir antioksidan olarak beta karoten ve vitamin E ile benzer yolları izleyerek organizmayı zararlı maddelere karşı korumaktadır. C vitamininin en önemli farkı, vücut sıvılarında serbest radikallerine karşı savaşmasıdır. Askorbik asit suda eriyen peroksil radikallerini ve/veya lipid peroksidasyonu ürünlerini etkisiz hale getirmede birincil etkiye sahip antioksidandır. Ayrıca güçlü bir indirgeyicidir. Folik asitin tetrahidrofolik aside indirgenmesini sağlar (106, 118, 119).

Vitamin C'nin lipid peroksidasyonuna karşı önemli etkileri vardır. Çünkü oksijen merkezli radikallere karşı oldukça yüksek reaktiviteye sahiptir. Askorbik asitin asıl önemli görevi hücre içi oksidanlara karşı koruyucu etkisinin yanında hücre dışı oksidanlar üzerindedir. Askorbik asit ve LDL oksidasyonu arasındaki ilişkinin büyük bir bölümü hücre dışında gerçekleşir. Suda eriyen bir antioksidan olarak askorbik asit metal-katalize LDL oksidasyonunu önlemektedir. C vitamini sulu ortamda bulunmasına rağmen RO[•], vitamin C'nin ulaşılabilirliği açısından yeterli çözünürlüğe sahiptir. E vitamini radikaller ile reaksiyona girdiğinde kendisi radikal formuna dönüşmekte ve daha sonra C vitamini membranlara bağlanmış tokoferoksil radikalini aktif alfa tokoferole çevirerek E vitamininin dayanıklılığını artırmaktadır (114, 118, 120). Yani α-tokoferol ve askorbik asit sinerjistik özellik taşımaktadır. Bu nedenle oksidasyon sonucu C vitamini tükenmedikçe E vitamininin tükenmesi söz konusu değildir (121).



C vitamini radikal formu olan semidehidroaskorbik asit E vitaminin radikal formu ile veya RO[•] ile reaksiyona girerek okside olur. Semidehidroaskorbik asit hücre içerisinde sürekli bulunabilen kararlı bir radikaldir ve düzeyi hiçbir zaman yüksek miktarlara ulaşmaz. Çünkü iki molekül semidehidroaskorbik asit, askorbat ve dehidroaskorbik asitle reaksiyona girer. Dehidroaskorbik asit glutatyon ile hücre içinde tekrar önemli bir antioksidan olan askorbata indirgenir. Bu reaksiyonun nedeniyle E ve C vitamininin antioksidan etkileri ortamda yeterli glutatyon bulunmasına bağlıdır (120).

Aterosklerotik süreçte C vitaminin başka etkileri de vardır. Aterogenezin en erken evresi monositlerin endotele yapışmasıdır. Askorbik asit özellikle sigara içen bireylere monositlerin endotele yapışmasını engellemektedir. C vitamini ayrıca lökosit-platelet agregasyonunu engeller,

prostosiklin yapımında kullanıldığı için antiagregatördür ve de kolesterolün safra asitlerine ve steroidlere dönüşmesine rol oynar (120). C vitamini işlemden geçmiş yiyeceklerde sıkça bulunan nitratlardan nitrozamin oluşumunu engeller (116).

C vitamininin önemli bir diğer fonksiyonu ise kollojen biyosentezinde koenzim olarak görev yapması ve bu nedenle de akciğer dokularının tamirinde rol almasıdır. C vitaminin immün fonksiyonlar üzerinde ve yara iyileşmesinde de önemli görevleri vardır (112, 117). Eksikliği ikincil enfeksiyonlar, deri kuruması, diş dökülmesi, kanama, foliküler hiperkeratozis, kramplar kas yorgunluğu gibi önemli pek çok soruna neden olur (116).

C vitamini yetersizliklerinde; yorgunluk, iştahsızlık, yara iyileşmesinde gecikme, büyümede duraklama, anemi, enfeksiyonlara karşı direncin azalması, diş eti kanamaları, diş kayıpları, eklemelerde şişmeler, ateş, kanamalar ve kemik kırılmaları görülebilir (112).

Günlük C vitamini gereksinimi 15 yaş ve üzeri erkek ve kadın yetişkinler için 60 mg'dır. Sigara içen bireylerin günlük gereksinimleri içmeyenlerden iki kat fazladır. Bu bireylerin günlük C vitamini alımı en az 100 mg olmalıdır (119).

Besinlerde, biyolojik sıvı ve dokulardaki C vitamini miktarını ölçmek için biyolojik yöntem ve kimyasal yöntem kullanılmaktadır. Kullanılan en son yöntem HPLC'dir (112).

1.4.2.3 Vitamin A

A vitamini yağda çözünen vitaminlerden biri olup benzer biyolojik aktivite gösteren bir grup bileşiğine verilen isimdir. A vitamini aktivitesi taşıyan öğeler steroid grubuna dahildir. A vitamini aktivitesini taşıyan molekülleri iki grupta toplayabiliriz.

1. Hayvansal dokularda A vitamini aktivitesi taşıyanlar; retinol, hidroretinol, retinal ve retinoik asittir.

2. Bitkisel yiyeceklerdeki sarı-turuncu pigmentte bulunan karotenoidler ince barsak mukozaları ve karaciğerde retinole dönüşerek A vitamini etkinliği gösterirler. Doğada 500 türde karotenoid bulunmaktadır. Bunlardan 50'si A vitamini aktivitesi taşımaktadır (112). Sebze ve meyvelerde bulunan karotenoidlerin sadece birkaç tanesi analiz edilebilmiştir. Bunlar; alfa karoten, beta karoten, gama karoten, lutein ve zeaksantindir (119).

Diyetteki A vitamini, yağ asit (retinil) esterleri şeklinde bulunur. İnce barsaklarda esteraz ve lipaz enzimleri ile hidrolize olur. Safra ve pankreatik sekresyon vitaminin serbest retinol haline dönüşmesinde önemlidir. Bitkisel kaynaklardan alınan karotenler ise, ince barsak mukozasında önce

retinol sonra retinale dönüşürler. İnce barsak mukozasına geçen retinol, palmitik asit ile esterleşip şilomikronlara katılır. Retinil esterleri lenf yoluyla karaciğere taşınır ve orada tipik karaciğer hücresi olan hepatositler tarafından tutulur. A vitamininin büyük bir kısmı (%90) insanda karaciğerde retinil ester formunda depo edilir; %9'u diğer dokulara (böbrek, akciğer, adrenal doku, retina) dağılır; %1 de serumda kalır. A vitaminine gereksinim olduğunda karaciğerden retinol formunda salınır. Bu serbest retinol, bağlayıcı protein ile bağlanarak dolaşımda taşınır (122).

A vitaminin vücuttaki işlevleri; gözün değişik ışık durumlarında görebilmesi, büyüme, üreme, bağışıklık sistemi, demir metabolizması ve troid hormonları ile ilişkilidir. Retinol epitel dokunun korunmasına yardımcı olan mukus salgınımı için gereklidir (112, 117, 123).

A vitamini peroksil radikalleriyle, lipid peroksidasyonunu başlatıp hidroperoksitleri üretimini yaymadan önce birleşir ve böylece zincir kırıcı antioksidan olarak işlev görür. Retinol etkili bir peroksil radikali süpürücüsüdür. Antioksidan olarak işlevini fosfatidilkolin lipozomlarında ve metil linolatın homojen solüsyonlarında peroksidasyonu önleyerek gösterir. Retinol radikal türlerinin başlangıcı lipid bilayerinin içinde gerçekleştiğinde ve radikaller sulu ortamda oluşmadıklarında tokoferolden daha etkili bir peroksil radikali süpürücüsüdür. Bunun nedeni retinolün tokoferolle karşılaştığında retinolün daha hızlı hareketini sağlayan ve hücre zarında peroksil radikali ile daha iyi ilişki kurmasını sağlayan kısa polien zincirine sahip olmasıdır. Ayrıca A vitamini farklı radikal türleri ile reaksiyona girmekte ve okside formu olan 5,6 renoid epokside çevrilmektedir. Böylece özellikle lipid radikallerini daha kararlı hale getirmektedir. Retinoid türevleri antioksidan aktivite etkilerine göre şu şekilde sıralanabilir (124); retinol > retinal > retinil palmitat > retinoik asit.

A vitamini, hayvansal yiyeceklerden en çok balığın karaciğer ve vücut yağında, karaciğer, süt ve yumurta sarısında bulunur. Karotenoidler en çok sarı, turuncu ve yeşil sebze ve meyvelerde bulunur. Hayvanlar bitkilerden karotenleri alarak A vitamini yaparlar. Hayvan dokularında özellikle karaciğer, süt ve yumurtada bir miktar karoten bulunur (112).

A vitamini yetersizliklerine bağlı olarak; gece körlüğü, mide ve barsak mukozasında zayıflamaya bağlı olarak ülser ve emilim bozuklukları, sık enfeksiyona yakalanma, büyümede yavaşlama görülebilmektedir (112).

Yiyeceklerdeki ve vücut sıvılarındaki A vitamini miktarını ölçmek için günümüzde kullanılan en iyi yöntem HPLC'dir (112).

Beta Karoten

A vitamini öncü maddesi olup, serumda α -tokoferolden elli kat daha az bulunmasına rağmen benzer şekilde serbest radikal tutucu olarak görev yapar ve doku hasarlarını önler. Yağda eriyen bir vitamin olan β -karoten, alkoksil ve peroksil radikallerinin etkin temizleyicisidir (109).

1.4.3 Bazı Vitaminler ile DMBA İlişkisi

Çalışmamızın kapsamında lipofilik vitaminlerin de analizi yapıldığı için, DMBA ile bu vitaminlerin uygulaması arasındaki ilişkileri de sunmak ihtiyacını duyduk. Bu amaçla;

1993 yılında yapılan bir çalışmada 7,12-DMBA (% 0.5 solusyon) bağımlı oluşturulan oral kanser modelinde beta-karoten, α -tokoferol, glutatyon, askorbik asitin antioksidan etkilerini araştırmak amaçlı bir deney ortamı hazırlanmıştır. 60 tane erkek hamster kullanılan deneyde hayvanlar 6 gruba ayrılmıştır. Hastalık grubu dahil tüm gruplara DMBA uygulaması yapıp bir grup kombinasyon grubunu oluştururken diğer gruplarda da DMBA ile birlikte antioksidanlar yalnız olarak hayvanlara oral yolla pipetle uygulanmıştır. Hayvanlar 12–14 hafta arasında kesilmiştir. Oluşan tümörler sayılmış ve ölçülmüş, tümör ağırlığı her bir deney grubu için hesaplanmıştır. Kombinasyon grubu tümör ağırlığını anlamlı bir şekilde azaltırken; DMBA + β -karoten, DMBA + α -tokoferol ve DMBA + glutatyon gruplarında da tümör ağırlığı azalmıştır. DMBA + β -karoten ve DMBA + glutatyon gruplarında DMBA + α -tokoferol gibi bireysel antioksidan uygulanan gruplara kıyasla daha fazla kemoterapi sağladığı görülmüştür. Bunlara zıt olarak askorbik asit uygulaması hiçbir antitümör etki oluşturmamaktadır (125).

Elaaser ve arkadaşlarının 1994 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 10 mg tek doz 7,12-DMBA intragastrik olarak uygulanmıştır. 5 haftalık bir periyodun sonunda sıçanların meme dokusu homojenatlarında asit ribonükleaz, 5-nükleotidaz, alkalın fosfataz ve beta-glukuronidaz enzimlerinin aktivite seviyelerinde önemli artışlar olduğu gözlenmiştir. Meme dokularındaki histopatolojik çalışmalarda 12 meme bezindeki 4 tümörle birlikte tedavi edilen sıçanların yaklaşık % 85'inde malign epiteliyal tümörleri olduğu açığa çıkmıştır. Diyetlerinde DMBA ile birlikte % 30 soya fasulyesi ya da içme sularında 5000 ppm vitamin C bulunan sıçanlarda, yalnız DMBA uygulanan sıçanlara kıyasla anlamlı bir antikanserojenik etki görülmüştür. Bu kemoterapik etki meme dokusu homojenatlarında enzimlerin aktivite seviyelerinin normale dönmesiyle gösterilmiş olup bu enzimlerin çoğunluğu kontrol grubundaki sıçanların enzim aktivite seviyelerine yaklaşmıştır. Sıçanların % 50'sinde Cribriform karsinoma gözlenmiş ve tüm

gruplardaki 12 meme bezinden etkilenen bez sayısı 2'ye düşmüştür. Diğer bir yandan *Vicia faba* uygulanmasından dolayı daha az bir kemoterapik etki gözlenmiştir (126).

40 adet erkek Gorden hamster sıçanları 4 ayrı gruba ayrılarak yapılan başka bir çalışmada ise hamster buccal keselerinde 7,12-DMBA etkisine karşı vitamin E'nin antioksidan özellikleri araştırılmıştır. 14 hafta boyunca haftada 3 kez 7,12-DMBA sol buccal keselere uygulanmıştır. Bir grubu ise DMBA ile birlikte vitamin E verilmiştir. Tümör grubuna kıyasla DMBA+Vit E grubunda tümör hacminde anlamlı bir azalma gözlenmiş ve bu grupta angiogenezis anlamlı bir şekilde engellenmiştir. E vitamininin angiogenezi engellemesi, E vitamininin antikanser aktivasyonuna ek bir mekanizma olarak teyit edilmiştir (127).

Karnosin (beta-alanil-histidin), etlerde yaş ağırlığın yaklaşık % 0.35'i oranında konsantrasyona sahip, *in vivo*'dan ziyade *in vitro* sistemlerde etkili olan bir antioksidan olarak göze çarpmaktadır. 55 günlük dişi Sprak–Dawley sıçanlarda yapılan bir çalışmada 7,12-DMBA bağımlı oluşturulan meme kanserinde diyetel olarak vitamin E (0 ya da 50 ppm) ve Karnosin'in (0 ya da 875 ppm) etkileri araştırılmıştır. 24 hafta boyunca kanserojen madde uygulamasında vücut ve organ ağırlıklarında hiçbir etki gözlenmemiştir. Beklenildiği gibi vitamin E eksikliğinde serum MDA seviyelerinde artış olurken serum ve dokularda E vitamini seviyeleri baskılanmış ve eritrosit hemolizinde bir artış olmuştur.

Karnosin uygulaması karaciğer ve kalpte vitamin E seviyesini belirgin bir şekilde arttırırken iskelet kası, serum ve eritrositlerde böyle bir durum görülmemiştir. Diyetel karnosin anlamlı bir şekilde karnosini etkilemiştir. Diyetel karnosin iskelet kası ve kalpteki histidin konsantrasyonunu belirgin bir şekilde yükseltirken karaciğer ve serumda bu durum görülmemiştir. Vitamin E eksikliği bulunan sıçanlarda karnosin uygulaması tümör gecikmesinde net bir artışa sebep olurken, tümör ağırlığına ve tümör tekrür oranına anlamlı bir etkisi görülmemiştir. Karnosinin tüm antioksidan sisteme katkıda bulunduğu görülmekte olup diyetteki kullanımı DMBA modelindeki meme kanseri riskini etkilemektedir (128).

Sawant ve arkadaşları erkek hamsterların yanak keselerinde oral kanserojen DMBA ile çoklu tümör oluşumu sağlamışlar. Çalışmada DMBA ile birlikte E vitamini ve C vitamini kemoterapik ajanlar olarak tek tek ve kombinasyon halinde uygulanmıştır. DMBA uygulanan hayvanların % 90'ında iyi farklılaşmış squamoz hücre karsinoması (WDSCC) gözlenirken % 10'unda papilloma gelişimi görülmüştür. Vitamin E'nin tek ya da vitamin C ile kombine olarak uygulanması tümör hücresi gelişimini engellemede önemli bir rol oynamaktadır (129).

Yapılan bir çalışmada sarımsağın koruyucu etkileri erkek Syrian hamsterlarda 7,12-DMBA uygulamasıyla hamsterların buccal keseleri karsinogenezi üzerinde lipid peroksidasyonu ve antioksidan ölçümleri araştırılmıştır. Sarımsak ekstraktının uygulanması antioksidanların anlık tüketimi, lipid peroksidasyonu anlamlı olarak azaltmıştır. Sarımsağın bu koruyucu etkisini döngüsel lipid peroksidlerini azaltarak ve antioksidanları destekleyerek yaptığı ileri sürülmektedir (130).

7,12-DMBA uygulanan hamsterlarda domates ezmesinin, hamsterların yanak keseleri karsinogenezinde lipid peroksidasyonu kullanarak glutatyon ve glutatyon bağımlı enzimler; GSH-Px, GST ve GGT enzimleri ölçülmüştür. 14 haftalık deney süresi sonunda tüm hayvanlar kesilerek lipid peroksidasyonu ve GSH bağımlı antioksidanlar, yanak keselerde, karaciğer ve eritrositlerde ölçülmüştür. Domates ezmesinin uygulanması; hamsterların yanak keselerinde oluşan tümör durumlarını azaltmış; kese, karaciğer ve eritrositlerdeki lipid proksidasyonunu düzenlemiş ve GSH ve GSH-bağımlı enzimleri arttırmıştır. Kullanılan 3 doz (2,5–5–10 mg/kg) arasında 5mg/kg likopen içeren domates ezmesi optimum etki göstermiştir. Domates ezmesi karaciğer ve eritrosit gibi hedef organlarda lipid peroksidasyonu ayarlayarak ve antioksidanları destekleyerek kemoterapik etkisini göstermektedir (131).

Karsinogenez sürecinin başlaması ve devam etmesinde dokulardaki serbest radikal dengesizliğinin sebep olduğu oksidatif hasarın önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Diyetteki doğal antioksidanlar lipid, protein ve DNA'nın oksidatif hasarına karşı yararlı koruyuculardır. Yapılan bir çalışmada hamsterların yanak kesesi mukozasında 7,12-DMBA tarafından oluşan displastik lezyonlar üzerine domatesteki likopenin etkileri araştırılmış ve karaciğerdeki azalmış glutatyon konsantrasyonları ve lipid peroksidasyonu uzantıları tüm oksidatif seviyelerin ölçümünde kullanılmıştır. Çalışmanın sonucu olarak DMBA uygulanan gruba kıyasla DMBA + likopen verilen grupta tiyobarbuturik asit ve reaktif maddelerin seviyeleri anlamlı olarak azalmış fakat glutatyonun karaciğerdeki seviyelerini değiştirecek kadar anlamlı bulunamamıştır. Sadece DMBA ve DMBA+likopen gruplarına kıyasla diğer gruplarda karsinoma oluşum sıklığı % 80 ve % 70 olarak bulunmuştur. Likopendeki antioksidan aktivitesi başlangıç sonrasındaki aşamada tümör oluşumunu baskılamaya yeterli olmadığı görülmüştür (132).

Likopen'in antioksidan seviyelerini araştırmak amaçlı yapılan başka bir çalışmada hamsterların yanak keselerinde 7,12-DMBA uygulanarak kanser oluşumu sağlanmıştır. 2,5 mg/kg likopen uygulaması yapılmış ve çalışma sonucunda likopenin DMBA'ya bağımlı oluşan karsinomaları anlamlı bir şekilde bastırdığı, lipid peroksidasyonu azalttığı ve antioksidan seviyeleri arttırdığı gözlenmiştir (133).

Zinser ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada vitamin D-3'ün aktif metaboliti olan 1,25-dihidroksi-vitamin-D-3 *in vivo* ve *in vitro* olarak göğüs kanseri hücre gelişimini engellediği rapor edilmiştir (134).

Mitchel ve arkadaşları daha önce yaptıkları çalışmada vitamin E'nin fare derisinde 7,12-DMBA başlangıçlı tümör oluşumunu destekleyici bir rol oynadığı rapor edilmiştir. 2003 yılında yaptıkları diğer bir çalışmada vitamin E'nin yüksek konsantrasyonları (80 mumol) tümör oluşumunu desteklemesi için gerekli iken 10 kat azaltılmış konsantrasyonun tümör oluşumunu desteklemediği belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmada aynı yüksek konsantrasyonda C vitamini tümör gelişimini etkilemezken, vitamin E'nin yüksek konsantrasyonlarının tümör gelişimini hızlandırdığı görülmüştür. Vitamin E uygulanan derinin β -radyasyonuna maruz kalmasıyla oluşan serbest radikallerin oksidize edilmesi E vitamininin yüksek konsantrasyonu tarafından kanser gelişimini tetiklediği gözlenmiştir (135).

40 adet dişi fare kullanılan başka bir çalışmanın amacı ise 7,12-DMBA uygulamasından sonra antioksidan savunma enzimleri ve renal morfolojideki değişimleri farelerde görmek ve melatonin ve vitamin E+selenyum kombinasyonunun 7,12-DMBA'ya karşı koruyucu etkilerini değerlendirmek olmuştur. Bu çalışmada 7,12-DMBA uygulaması 20 mg/kg düzeyinde yapılırken, ilgili gruplara vitamin E uygulaması 90 mg/kg, selenyum uygulaması 1.8 mg/kg ve melatonin uygulaması 4.2 mg/kg olarak yapılmıştır. 21 günün sonunda fareler dekapite edilip böbrekleri histolojik araştırmalar ve enzim analizleri için alınmıştır. CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla DMBA grubu ve DMBA+Vit E+Se grubunda anlamlı bir azalma görülmüştür. Kontrol ve DMBA grubuna kıyasla DMBA + melatonin verilen grupta CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinin anlamlı bir şekilde yükseldiği görülmüş olup DMBA'ya maruz kalmanın renal kortekste tubuler değişimlere sebep olduğu anlaşılmıştır. Yapılan morfolojik incelemelerde proximal ve distal hasar gösterilmiştir. Bu değişimlerin VitE+Se uygulamasından değil melatonin tarafından önlediği bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar melatoninin CAT ve GSH-Px aktivitelerini tetiklediği ve farelerin böbreklerindeki renal hasarı VitE+Se kombinasyonundan daha iyi önlediği gösterilmiştir (136).

Yapılan başka bir çalışmada Zhou ve arkadaşları paket süt ile (Commercial milk) doğal sütün (Traditional milk) 7,12-DMBA'ya bağlı oluşan meme tümörüne etkilerini araştırılmıştır. 20 hafta süresince paket süt ve doğal süt kullanılan gruplarda su kullanılan gruba göre meme tümörü oluşma olasılığının daha yüksek olduğu görülmüştür. Sütlerden yağ ve kalsiyum uzaklaştırıldığında paket sütün tümör oluşumu açısından doğal süttten daha fazla etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan bu çalışmanın sonucunda sütteki östrojen ve progesteron hormonlarının katkısından dolayı sütle beslenen gruplarda DMBA'ya bağlı oluşturulan meme tümörü oluşumunda daha fazla yaygınlık olduğu gösterilmiştir (137).

Yine hamsterların buccal keselerinde tümör oluşturmak amaçlı 7,12-DMBA kullanılan başka bir çalışmada sarımsak ve domates kombinasyonunun etkilerini araştırmak için 14 haftalık bir deney düzeneği hazırlanmış ve geniş spektrumlu kemoterapinin yan etkilerini fonksiyonel yiyeceklerin etkili kombinasyonlarının azalttığı fikrine ulaşılmıştır (138).

7,12-DMBA uygulanan sıçanlarda oluşan meme kanseri modelinde *Jasminum Grandiflorum* Linn.'in antilipid peroksidatif potensiyelini ve kemoterapik etkisini araştırmayı amaçlayan çalışmada ayçiçeği ve fizyolojik tuzun 1 ml emülsiyonunda 25 mg/kg 7,12-DMBA tek doz subkutan olarak hayvanlara enjekte edilmiştir. DMBA uygulanan hayvanlara oral yolla verilen 300 mg/kg *J. grandiflorum* çiçeğinin etanolik ekstraktı başlangıç öncesinde tümör oluşumunu tamamen engellemiştir. *J. grandiflorum*, DMBA uygulanan hayvanlarda anlamlı antilipid peroksidatif etki göstermiş ve antioksidan savunma sistemini geliştirmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda *J. grandiflorum*'un deneysel meme kanserinde kemoterapik etkisi olduğu gösterilmiştir (139).

Casto ve arkadaşları siyah ahududunun kemoterapik aktivitesini gösteren laboratuvar çalışmaları yapmışlar ve ilk defa diyetel ahududuların ağız boşluğunda oluşan tümör oluşumunu engellediği göstermişlerdir (140).

Vitamin D-5'in bir analogu olan 1-alfa-hidroksi-24-etilkolekalsiferol (1- α -(OH)D-5)'ün bazı kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkisi olduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir. 1- α -(OH)D-5'in kemoterapik özelliğini incelemek için N-metil-N-nitrosure (MNU) oluşturulan meme kanseri modelinde 1- α -(OH)D-5'in *in vivo* etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar 1- α -(OH)D-5'in (25 ve 50 mg/kg diyet) dişi Sprak Dawley sıçanlarında meme tümör oluşumunu ve artışını azalttığı görülmüştür. Ardından yapılan başka bir çalışmada 1- α -(OH)D-5'in (40 mg/kg diyet) verilmesiyle başlangıç fazında hiçbir anlamlı etki görülmezken ilerleme aşamasındaki tümör durumu anlamlı olarak % 37.5 düştüğü gözlenmiştir. Toplam olarak bakıldığında bu çalışmalar göğüs ve kolon kanserinin gelişimine karşı 1- α -(OH)D-5'in kemoterapik özellikleri olduğunu desteklemiştir (141).

İyi bir antioksidan ve antikanser ilacı olan SA (*Semecarpus Anacardium* Linn nutmilk extract) değişik koşullar altında reaktif oksijen türlerini azaltarak antikanser özelliğine sahip olduğu

saptanmıştır. Sıçan modelinde 7,12-DMBA'ya bağımlı deneysel meme karsinomada vitamin C bakımından zengin olan *Phyllanthus Emblica Linn.* meyvesi SA'nın hem antioksidan hem de antikanser aktivitesini desteklemektedir. Çalışmada 180 ± 10 g ağırlığında dişi Sprak-Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. 7,12-DMBA zeytinyağında (25 mg/sıçan) çözülerek oral yolla verilmiştir. Gruplardan birine oral yolla (300 mg/kg) Kalpaamruthaa (*Phyllanthus Emblica Linn.*) verilirken bir diğer gruba da SA yine oral yolla (200 mg/kg) verilmiştir. Tedavi almayan DMBA uygulanmış sıçanlarda meme bezlerinin mitokondriyal fonksiyonlarında lipid peroksidasyonunun 2.61 kat arttığı ve mitokondriyal enzimatik (SOD, GSH-Px, GR) ve non enzimatik (glutasyon, vitamin E ve vitaminC) antioksidan seviyelerinde normal olmayan değişimler gözlenirken DMBA uygulanan sıçanlarda süksinat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz, α -ketoglutarat dehidrogenaz ve izositrat dehidrogenaz gibi mitokondriyal enzimlerin aktivitelerinde düşüş gözlenmiştir. Buna zıt olarak Kalpaamruthaa ile beslenen sıçanlarda normal lipid peroksit seviyeleri ve antioksidan savunmaları görülmüştür. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar SA tedavisinden ziyade Kalpaamruthaa'nın gelişmiş antioksidan özelliğini aydınlatmıştır (142).

Letchoumy ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise hamsterların buccal keselerine uygulanan 7,12-DMBA süresince oluşan genotoksisite ve oksidatif strese karşı siyah çay polifenollerin (Polifenon B) koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışma, polifenon B'nin diyetel uygulamasının; DMBA'nın sebep olduğu genotoksisite ve oksidatif strese karşı kemik iliği antioksidan savunma mekanizmalarını artırma yoluyla koruma sağladığı göstermiştir (143).

2007 yılında Anbuselvam ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada dişi Sprak-Dawley cinsi sıçanlarda 7,12-DMBA kullanılarak göğüs kanseri oluşturulmuş ve Metanolik Operculina Turpethum'un (MEOT) antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Antioksidan sistem ve lipid peroksidasyon seviyelerindeki değişimler tümör gelişimiyle birlikte değerlendirmeye alınmıştır. 20 mg 7,12-DMBA mısır yağında çözülerek hayvanlara uygulanmıştır. DMBA + MEOT grubuna 20 mg DMBA tek doz olarak intragastrik olarak verilirken sonrasında MEOT (100 mg/kg) intragastrik olarak 45 gün boyunca günlük olarak uygulanmıştır. 45 günlük deney süresi sonunda oksidatif stres parametreleri serum, karaciğer ve göğüste ölçülmüştür. Kanserli sıçanlarda lipid peroksidasyon seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla kanser taşıyan hayvanlarda SOD, CAT ve GSH-Px ve glutasyon, vitamin C ve α -tokoferol gibi antioksidanların seviyelerinde azalma görülmüştür. Anlamlı bir tümör ağırlığı artışı DMBA grubunun göğsünde görülürken, DMBA+MEOT grubunda ise göğüs tümör ağırlığında anlamlı bir azalma gerçekleşmiştir. MEOT'nin oral yolla alımı, tedavi gören hayvanlarda anlamlı bir şekilde lipid peroksidasyon

seviyesini azaltırken antioksidan seviyeyi de arttırmıştır. MEOT'nin DMBA bağımlı oluşan göğüs kanserine karşı koruyucu bir role sahip olduğu ve antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür (144).

Batcioglu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vitamin E + selenyum kombinasyonu (VitE+Se) ve melatoninin 7,12-DMBA uygulanmış farelerin beyinlerinde SOD, GSH-Px, CAT ve CA enzim aktiviteleri ve MDA seviyelerine etkileri araştırılmıştır. 12 aylık fareler kontrol, DMBA (20 mg/kg), DMBA+vit E (90 mu g/gün)+Se (1.8 mu g/gün), DMBA+melatonin (4.2 g/kg/gün) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. 21 gün sonunda hayvanlar kesilip beyin homojenatları hazırlandığında kontrol grubuna kıyasla DMBA grubunda anlamlı bir şekilde beyin SOD, GSH-Px, CAT ve CA seviyelerinde azalma ve MDA seviyesinde artma gözlenmiştir. Vit E + Se grubunda SOD enzimi dışındaki enzimlerin tam veya yarım enzim inhibisyonunun restore edildiği ve lipid peroksidasyonunun bu grupta azaldığı görülmüştür. Melatoninin SOD, GSH-Px ve CAT için daha iyi bir koruma ve CA aktivitesi için de makul bir koruma sağladığı görülmüştür. Çalışmanın sonucunda Vit E + Se kombinasyonu ve melatoninin fare beyinde DMBA'ya bağlı oluşan oksidatif strese karşı kemoterapik bir etkisi bulunmuştur (13).

Batcioglu ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada ise vitamin E+selenyum kombinasyonu (Vit E+Se) ve melatoninin kanserdeki etkileri kıyaslanmıştır. 40 adet dişi fare kontrol, DMBA (20 mg/kg), DMBA+vit E (90 mu g/gün)+Se (1.8 mu g/gün), DMBA+melatonin (4.2 g/kg/gün) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. 7,12-DMBA (20 mg/kg) mısır yağında hazırlanmış ve intraperitoneal olarak 21 gün boyunca verilmiştir. DMBA grubunda hepatik GSH-Px, CAT ve SOD inhibisyonu anlamlı olarak gerçekleşmiştir. Vit E + Se kombinasyonu DMBA'ya bağlı oluşan GSH-Px inhibisyonunu restore ederken CAT ve SOD inhibisyonunda değişme olmamıştır. Melatonin DMBA'ya bağlı oluşan GSH-Px inhibisyonunu azaltmakla kalmayıp CAT ve SOD inhibisyonunu tamamen kaldırmıştır. Yapılan çalışmada melatoninin DMBA'ya bağlı oluşan oksidatif strese karşı Vit E + Se kombinasyonundan daha iyi bir kemoterapi sağladığı görülmüştür (145).

Mohan ve arkadaşları hamster buccal keselerinde (HBP) 7,12-DMBA bağımlı oluşan kansere karşı yeşil çay (Polifenon E) ve siyah çay (Polifenon B)'ın kemoterapik etkisini kıyaslamıştır. Polifenon E ve polifenon B tarafından HBP karsinomaların inhibisyonu lipid peroksidasyonun modülasyonu ve antioksidanların artışı ve faz 11'deki enzim aktiviteleri ve faz I'deki enzimlerin anlamlı olarak azalması arasında bir ilişki bulunmuştur. HBP'deki kanseri önlemede polifenon B'nin daha önemli bir etkiye sahip olduğu ve oral kanserin kemoterapik etkisinde önemli rol oynadığı görülmektedir (146).

1.5 Yağ Asitleri

İnsanoğlunun beslenme alışkanlıkları zamanla köklü değişikliklere uğramıştır. Yapılan araştırmalar, insanların beslenme alışkanlıkları ile karşılaştıkları hastalıklar arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle günümüzde, özellikle gelişmiş ülkelerde, sağlıklı yaşam sürmek isteyen insanlar beslenmelerine özen göstermektedir.

Karbohidrat, protein ve yağlar yaşayan organizmanın varlığını sürdürebilmesi için en önemli yapı taşı ve enerji kaynaklarıdır. Yağlar, insan ve hayvan diyetlerinde önemli yer tutan temel bileşendir; birim ağırlıkta en yüksek enerjiyi verir ve enerji depolamak için çok uygundur. Yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerini içerdikleri yağ asitlerinin kompozisyonu belirlemektedir (147).

Lipidleri meydana getiren öğelerden gliserol, bütün yağ bitkilerinde aynı, buna karşılık yağı oluşturan diğer unsur olan yağ asitleri her bir yağ bitkisinde değişik bir kompozisyonda bulunmaktadır. İçerdikleri yağ asitleri kompozisyonu yağın kullanım alanlarını belirlemektedir. Yağ asidi, yapısında karboksil grubu (-COOH) taşıyan düz bir hidrokarbon zinciri olup, yağın en önemli ögesidir. Yağlarda baskın yağ asitleri, çift karbon atomu sayılı ve bir karboksil grubu içeren yağ asitleridir (148, 149).

1.5.1 Yağ Asitlerinin Sınıflandırılması

Doğal yağlarda bulunan yağ asitleri genelde düz zincir türevleri olup doymuş (*saturated fatty acids*) ve doymamış (*unsaturated fatty acids*) yağ asitleri olmak üzere 2 şekilde sınıflandırılır;

Doymuş Yağ Asitleri: Karbon-karbon atomları arasında tek bir kovalent bağdan (-C-C-) oluşan (148) ve oda sıcaklığında genelde katı olan yağ asitleri doymuş yağ asitleri olarak adlandırılır. Bu yağ asitlerince zengin olan yağlara da doymuş yağlar denir. Doymuş yağ asitleri insan vücudunda sentez edilirler; hiç yağ yenilme bile bu tip yağ asitleri karbonhidrat metabolizması ile oluşan moleküllerden sentez edilebilir (147).

Doymamış Yağ Asitleri: Karbon zinciri üzerinde çeşitli konumlarda, karbon- karbon arasında bir veya daha fazla kovalent çift bağ içeren yağ asitleri doymamış yağ asitleri olarak isimlendirilir. Bu yağ asitlerince zengin olan yağlara da doymamış yağlar denir (148).

Yapılarındaki çift bağlar nedeniyle, doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerine göre daha reaktiftir. Bu reaktivite yağ asidi zincirindeki çift bağ sayısına göre artmaktadır (148).

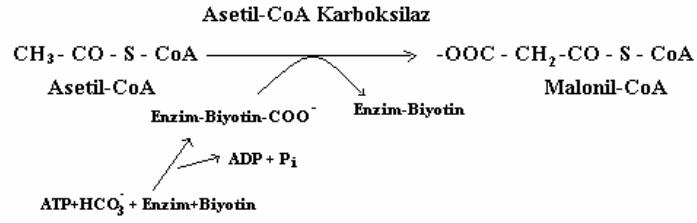
1.5.2 Yağ Asitlerinin Biyosentezi

Lipidler canlı organizmanın en önemli kaynaklarından bir tanesidir. İnsanlarda karaciğer ve kaslarda bir miktar glikojen depo edilmektedir. Fakat bu, insanın ancak 12 saatlik ihtiyacını karşılamaktadır. Oysa vücuda dışarıdan besinlerle alınan veya vücut içinde sentezlenen lipidler depolanabilmektedir.

Depo edilen lipidler, dışarıdan besinlerle alınmakta veya vücut ihtiyacından fazla alınan karbohidrat ve aminoasit öncüllerinin yağ asitlerine *de novo* olarak dönüştürülmesiyle oluşmaktadır. Besinlerle alınan karbohidratlar glikolitik yolda ve sitrik asit döngüsünde yıkılmakta ve enerji elde edilmektedir. Karbohidratların çok az bir kısmı glikojen olarak depo edilirken büyük kısmı asetil-CoA' ya dönüştürülerek yağ asidi sentezinde kullanılmaktadır. Yağ asitleri de triaçilgliserollere dönüşerek yağ dokularında kullanılmaktadır (150).

Yağ asitlerinin *de novo* sentezi sitoplazmada gerçekleşir. Bu sistem, karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, meme bezi ve yağ dokusu dahil birçok dokuda bulunur. Bu yolun kofaktör gereksinimleri, NADPH, ATP, Mn, biyotin ve HCO_3^+ (CO_2 kaynağı olarak). Hemen sağlanan substrat, asetil-CoA olup son ürün ise palmitat'dır. Bu özellikler β -oksidasyon ile belirgin tezat oluşturur. İlk zamanlar yağ asidi sentezinin yıkım olayının tersine dönmesi şeklinde geliştiği sanılıyordu. Fakat zaman içerisinde bu metabolik olayları tamamen farklı mekanizmalarla gerçekleştiği anlaşılmıştır (150).

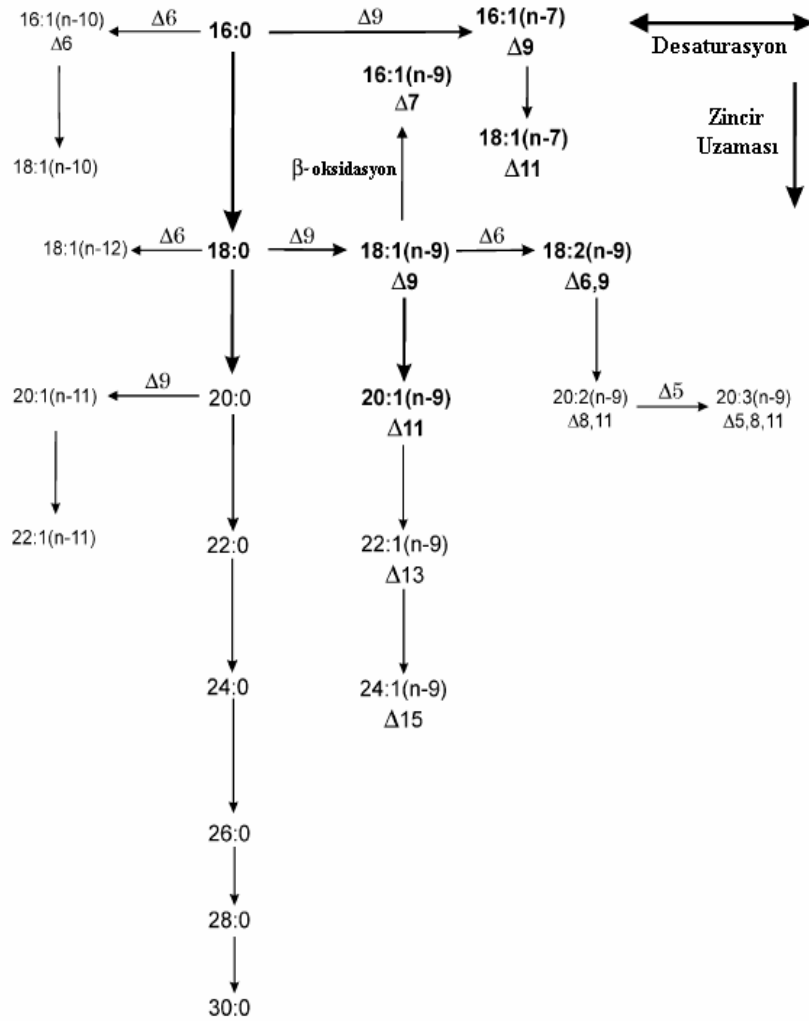
Yağ asidi sentezi hücre sitoplazmasında gerçekleşmekte ve malonil-CoA ile başlamaktadır. Malonil-CoA ise asetil-CoA'dan elde edilmektedir. Metabolik faaliyetlerde kullanılan bütün asetil-CoA'lar ise mitokondri matriksinde sentezlenmektedir. Dolayısıyla mitokondride bulunan asetil-CoA'nın sitoplazmaya geçişi için asetil-CoA, sitrat sentetaz enzimine gereksinim duyulur. Enzim aracılığıyla asetil-CoA oksaloasetat ile birleşerek sitrat oluşturur. Oluşan sitrat mitokondri membranında bulunan spesifik trikarboksilat transport sistemi ile sitoplazmaya geçer. Sitoplazmaya geçen sitrat burada sitrat liyaz enzimiyle ATP harcanarak parçalanır ve tekrar asetil-CoA açığa çıkar (150).



Şekil 7. Asetil-CoA'nın Malonil-CoA'ya Dönüşümü (150)

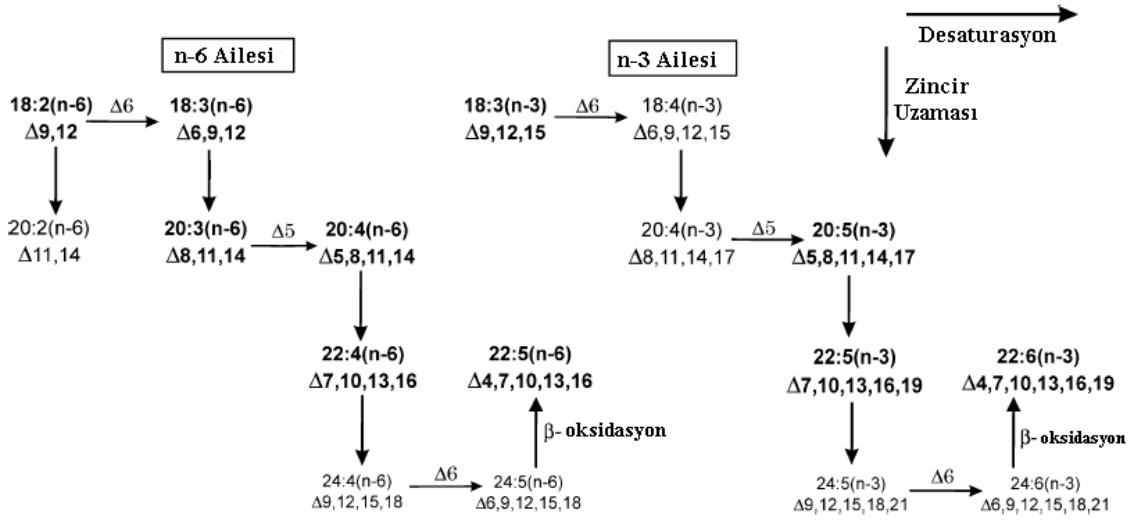
Asetil-CoA sitoplazmada asetil-CoA karboksilaz enzimi ile malonil-CoA'ya dönüştürülür. Asetil-CoA karboksilaz enzimi oldukça kompleks bir enzim olup bu reaksiyonu ATP varlığında, CO₂ kaynağı olarak HCO₃⁺ 'ı ve kofaktör olarak biyotini kullanarak gerçekleştirir. Asetil-CoA karboksilaz enzimi, yağ asidi sentezinde ilk ve regülasyonu sağlayan enzimdir. Enzimin aktivatörleri sitrat, α-ketoglutarat ve izositratdır. Malonil-CoA'nın oluşmasıyla yağ asidi sentetaz enzimi aktif hale gelir. İnsülin hormonu tarafından aktive edilen yağ asidi sentetaz çoklu enzim sistemine sahiptir ve bu enzim aktivitesi sonucunda asetil-CoA ile başlayan sentez reaksiyonları sonucunda 16 C'lu palmitoil CoA ve sonrasında palmitik asit (16:0) oluşur. Bu olaya lipogenez adı verilir (150).

Gaz kromatografisi ile yapılan çalışmalarda insan serum ve dokularında 60 tane yağ asidinin olduğu belirlenmiştir. Bunların sadece bir bölümü biyolojik çalışmalarda metabolik olaylarla ilişkilidir (151).



Şekil 8. Memelilerde Esansiyel Olmayan Yağ Asitlerinin Metabolik Yolları (151)

Memeli organizmaları tercihen düz zincirli ve çift karbon numaralı yağ asitlerini sentezleme yeteneğindedir. Tekli doymamış yağ asitleri $\Delta 9$ pozisyonundaki çift bağla şekillenmiş yağ asitleridir. Bu şekilde oluşan yağ asitleri 16:1 n-7 ve 18:1n-9'dur. 20-24 karbonlu n-9 ailesine mensup tekli doymamış yağ asitleri 18:1 n-9 yağ asitinin uzama reaksiyonu ürünleridir. n-11 ailesi yağ asitleri de 20:0 yağ asitlerinin desaturasyon ve uzama reaksiyonlarının ürünleridir (151) .

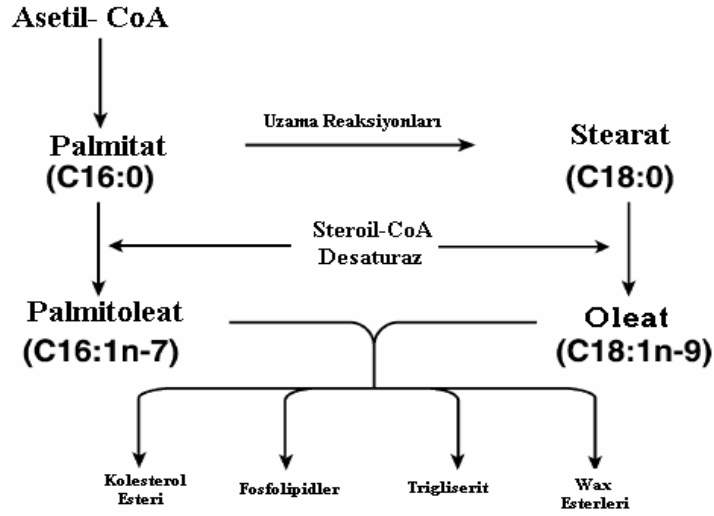


Şekil 9. Memelilerde Esansiyel Yağ Asitlerinin Metabolik Yolları (151).

18:1 n-9 yağ asidinin desaturasyonu ($\Delta 6$, $\Delta 5$) ve uzama reaksiyonlarıyla 20:3 n-9 yağ asidi üretilmektedir. Esansiyel çoklu doymamış yağ asitleri memeliler tarafından sentez edilemeyip tamamen diyetle alıma bağlıdırlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin ana esansiyel yağ asitleri olarak bilinen n-6 ailesi için linoleik asit (18:2 n-6), ve n-3 ailesi için α -linolenik asit (18:3 n-3) olmak üzere mevcut iki temel öncülü vardır.

Yağ asitleri, mekanik koruma ve izolasyon, enerjinin depolanması ve transportu gibi birçok biyolojik olaylarda önemli bir role sahiptir. Biyolojik membranlardaki yağ asidi kompozisyonunu özellikle çoklu doymamış yağ asitleri içermekte olup, membran proteinlerinin fonksiyonları (reseptörler, iyon kanalları, enzimler, taşıyıcılar), membran kalınlığı ve akışkanlık gibi membran özelliklerini etkilemektedir. 20 karbonlu eikosatrienoik asit (20:3 n-6), araşidonik asit (20:4 n-6), eikosapentaenoik asit (20:5 n-3) gibi yağ asitleri eikosanoid sentezi için substrat oluşturmaktadır. Yağ asitlerinin sayısı gen transkripsiyonunun modülatörleri olan 18:2 n-6 ve 18:3 n-3 yağ asitlerinin metabolik ürünlerine bağlıdır. Temel lipid sınıflarında (kolesterol esterleri, trigliserit, fosfatidilkolin) yağ asitlerinin kompozisyonu; yağ asidi sentezinin hızı, diyetle alınan yağ asitleri, organizmanın metabolik talepleri (lipid, eikosanoidler ve hidroksi yağ asitlerinin sentezi) ve enzimatik olmayan yıkımlarının sayısı gibi çeşitli metabolik işlemlerden etkilenmektedir. Kolesterol esterleri ve fosfatidilkolindeki yağ asidi kompozisyonu doku yağlarının yağ asidi modelini oluşturur (151).

Palmitik asit (16:0) ve zincir uzamasıyla elde edilen stearik asitin (18:0) doymamış yağ asidi formları olan palmitoleik asit (16:1 n-9) ve oleik aside dönüşüm reaksiyonunu stearoil-CoA desaturaz enzimi katalize eder.



Şekil 10. Stearoyl-CoA Desaturaz Enziminin Lipid Sentezindeki Rolü (152).

Bu enzim hücre fizyolojisi açısından büyük önem taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda stearoyl-CoA desaturaz enziminin memelilerin birçok dokusunda bulunduğu saptanmış olup ayrıca fare ve sıçan dokularında da varlığı tespit edilmiştir (152, 153).

1.5.3 Bazı Yağ Asitlerinin DMBA ile İlişkisi

Yağ asidi kompozisyonları üzerine DMBA'nın etkilerini araştırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan bazıları;

Kitamura ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada 1,2-dimetilhidrazin (DMH) ve 7,12-DMBA uygulayarak oluşturdukları meme ve kolon kanser modellerinde α -eleostearik asit antikanserojenik etkisi araştırılmıştır. Çalışmaya ilk başta 40 mg DMH/1ml tuz çözümü/ vücut ağırlığı (kg) dozunda DMH ile başlanılmış fakat sıçanların ölmeye başlamasıyla bu oran 15. günden itibaren yarıya düşürülmüştür. Hayvanlar 9 haftalık olduklarında intragastrik olarak tek doz 50 mg DMBA/ 5ml susam yağı/ vücut ağırlığı (kg) oranında tek doz DMBA uygulaması yapılmış ve ardından tekrar ölümler gözlenmiştir. Bu beklenen bir durum olduğu için deneye gruplarda 20'şerli denek sayılarıyla başlanmıştır. 4. haftadan itibaren % 0, % 0.01, % 0.1 ve % 1 oranında eleostearik

asit diyetle birlikte sıçanlara verilmiştir. Deney sonunda vücut ağırlığı, meme bezi ve kolon lezyonlarının gelişimi bakımından istatistiksel bir anlamlılık tespit edilememiştir (154).

Dişi sıçanlar kullanılarak hazırlanan deney modelinde Cheng ve arkadaşları DMBA ve DHM kullanarak oluşturdıkları meme ve kolon kanserine aspur yağından konjuge edilmiş yağ asitinin (linoleik asitin (18:2 n-6) pozisyonel ve geometrik izomerlerinin karışımı) etkisi araştırılmıştır. 40 mg/kg DMH subkutan olarak 5 enjeksiyon halinde 10 gün içerisinde uygulandıktan sonra bunu takiben 50 mg/kg DMBA intragastric olarak 11. gün uygulanmıştır. Toz halinde diyetle katılan % 0.01, % 0.05, % 0.1, % 1 ve % 2'lik aspur yağının konjuge edilmiş yağ asidi, deneyin 11. gününden itibaren 36. haftasına kadar sıçanlara verilmiştir. Sonuç olarak % 1'lik dozda verilen aspur yağının konjuge edilmiş yağ asidinin tüm hedef organlarda optimal oran olduğu belirlenmiştir (155).

DMBA'nın oksidatif etkisine karşı diyetel olarak verilen keten tohumu yağı, çuha çiçeği yağı ve balık yağının sıçan karaciğerinde etkilerini araştırmayı amaçlayan bir çalışmada ise 1 aylık hayvanlarla deneye başlamışlardır. Denekler 50 günlük oluncaya kadar oluşturulan gruplara etkisi araştırılan yağlar isteğe bağlı olarak diyetle verilmiştir. Daha sonra hastalık oluşturulmak istenen gruplara 65 mg/kg düzeyinde DMBA uygulaması yapılmıştır. 20 haftanın sonunda hayvanlar dekapite edilerek karaciğer dokusu ile birlikte tümörler de alınmıştır. Oluşan tümörlerin çıplak gözle görülebildiği belirtilmiştir. DMBA verilmeyen gruplarda herhangi bir tümör oluşumu gözlenmediği rapor edilmiştir. Deney sonunda DMBA uygulanan gruplardan en düşük tümör oluşum sıklığının, %77 oranında (18:2 n-6) linoleik asit ve % 9 oranında γ -linolenik asit (18:3 n-6) içeren çuha çiçeği yağının verildiği grupta olduğu belirlenmiştir. Yüksek eikosapentaenoik asit (20:5) ve dokosaheksaenoik asit (22:6) konsantrasyonuna sahip olmasına rağmen balık yağı diyet grubunda tümör oluşum sıklığı çuha çiçeği yağı verilen gruptan yüksek olduğu tespit edilmiştir. En yüksek tümör oluşum sıklığı ise diyetel keten tohumu yağı verilen grupta olduğu rapor edilmiştir (156).

1.6 Yaşlanmada Ortaya Çıkan Bazı Metabolik Değişiklikler

Yaşlanma sırasında organizmalarda morfolojik ve fonksiyonel birçok değişimler meydana gelir. Morfolojik değişimleri paransim dokusunun atrofi, mezenşim dokusunun artması şeklinde özetlemek mümkündür (157).

Biyokimyasal açıdan bakıldığında yaşlanmaya bağlı olarak; su, elektrolit, protein, yağ, karbonhidrat metabolizmaları, asit-baz dengesi koloidal denge; hormonlar, enzimler, vitaminler

bakımından çok ayrıntılı değişimlerin ortaya çıktığı görölr. Yaşlanma sırasında dokuların su miktarında önemli azalma meydana gelir. Protein katabolizmasında bir artış gözlenirken anabolizmasının yavaşladığı görölr. Yağ metabolizmasında da bir takım değişiklikler meydana gelir. Yaşın ilerlemesi ile depo yağlarında bir artma olur (157). Dokularda ve kandaki kolesterol düzeyi artar ve doymuş yağ oranı yüksektir. Yaşlanma sırasında organizmadaki biyokimyasal olayların hemen hemen tümü bir yavaşlama gösterir. Bu nedenle biyokimyasal olayların katalizörleri olan enzimler genellikle yaşın ilerlemesi sırasında etkinliklerini gençlerdeki düzeylerde sürdüremezler (157, 158).

Yaşlılıkta kalbin pompalama yeteneği azalmaktadır. Kalp çevresinde yağ dokusu artmakta ve arterioskleroza bağlı olarak damarların daralması, direnci arttırarak hipertansiyona neden olmaktadır. Yaşın ilerlemesi ile birlikte kas gücünde ve kitlesinde azalma görölr. Azalan kas dokusunun yerini yağ dokusu alır. Kemik iliği ve lenfoid dokuların fonksiyonlarında azalma, kırmızı ve beyaz kan hücresi yapımında ve kan miktarında azalmaya neden olur. Sindirim enzimlerinde bunun yanında karaciğer fonksiyonlarında bir azalma görölr. Çevreye adaptasyon ve homeostazinin potansiyel gücü yaşlanmayla beraber azalır (157, 159).

Yaşlanma ile ilgili çeşitli teoriler vardır. Bunların en önemlisi serbest radikal teorisidir. Bu teori, yaşlanmaya serbest radikallerin sebep olduğunu savunmaktadır. Bu kimyasallar oksijen kullanan tüm canlılarda doğal olarak oluşmaktadır. Serbest radikaller etkilediğı maddenin normal görevini yapmasını engeller ve hasar meydana getirir. Serbest radikaller organizmanın doğumuyla birlikte metabolik olaylarla birlikte hücrelerde oluşmaya başlar. Metabolizmamızdan kaynaklananların yanında olumsuz dış etkenler de radikal oluşumuna neden olurlar, oluşan bu radikaller “oksidatif hücre hasarı” dediğimiz zararlı etkileri meydana getirirler. Doğal olarak vücudun “antioksidanlar” dediğimiz savunma sistemleri gelişmiştir ve sürekli olarak bu radikallerin oksidan etkilerini önlemeye çalışırlar. Bu teoriye göre, vücudumuzda oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge söz konusudur, yaşla birlikte bu denge hasar yapıcılarının lehine değişmekte ve vücut sistemleri hasara uğramaktadır (157).

Yapılan literatür taramalarında lipofilik özellikli antioksidan moleküller değişik modellerde DMBA etkisine karşı incelenmiştir

Resveratrol ve alfa lipoik asit ile yapılan çalışmalarda, DMBA’ya bağlı olarak oluşturulan oksidatif stresin dokularda veya hücrelerdeki biyomoleküllerdeki hasara karşı düzenleyicilik etkisi tam olarak aydınlatılabilmiş değildir.

Resveratrol ve lipoik asitin doku ve hücrelerde DMBA ile antioksidan sistem üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla çalışmamızda oksidatif hasar oluşturulan ve 7,12-DMBA ile birlikte resveratrol ve lipoik asit verilen yaşlandırılmış sıçanların (16–18 aylık) serum ve eritrositlerde lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA ile GSH/GSSG düzeyleri ve ayrıca karaciğer ve böbrek dokuları dahil yağ asidi bileşimi ve total kolesterol seviyesi analiz edilerek bu antioksidanların lipid metabolizmasına olan etkileri incelendi. Aynı zamanda antioksidan özelliğe sahip A vitamini, E vitamini ve C vitaminleri gibi antioksidan vitaminlerin düzeyi belirlendi.

Resveratrol ve alfa lipoik asit birçok biyolojik etkilerinden dolayı iyileştirici ve düzenleyici madde olarak kullanılmaya aday maddelerdir. Bu çalışmada, resveratrol ve alfa lipoik asitin antioksidan özelliklerinin yaşlandırılmış sıçanlarda DMBA ile hasar oluşturularak incelenmesinin, yaşlı bireylerin metabolik durumlarında iyileştirme sağlayacağı düşüncesindeyiz. Bu kapsamda değişik biyokimyasal olaylarda faydalı etkileri saptanan resveratrolün ve alfa lipoik asitin 7,12-Dimetilbenzantrazen'in etkisine maruz bırakılan yaşlı, erkek sıçanların bazı dokularında (serum, eritrosit, karaciğer ve böbrek) önemli biyokimyasal değişimler üzerine düzenleyici etkisini araştırmak amaçlandı.

MATERYAL ve METOD

1.7 Deney Hayvanları

Deneysel çalışmada kullanılan Wistar-albino cinsi sıçanlar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜTDAM) temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulama gerçekleştirildi. Sıçanlar standart şartlarda (sabit ısı ve havalandırılmalı odalarda; 12 saat gün ışığı ve 12 saat karanlık olmak üzere) ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler, özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki sıçan yemleriyle beslendi. Sıçanlara verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tabloda gösterilmiştir. Sıçanların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo 12. Deney Hayvanlarına Verilen Yemin Bileşimi

Yem maddeleri	Yüzdesi (%)
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
E-Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D₃, E, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂ vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

Deney hayvanlarının seçimi ve yapılan uygulamalar sırasında F.Ü. Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alınarak; çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı. Deney süresi 7 hafta olarak belirlendi.

Deneysel çalışmalarda ortalama ağırlıkları 375 g (375 ± 20 g) olan toplam 42 adet 16 aylık Wistar albino cinsi yaşlı erkek sıçanlar kullanıldı. Bu sıçanlar rastgele gruplara ayrıldı ve gruplar; kontrol grubu, DMBA grubu, DMBA+ α -lipoik asit grubu (DMBA+ α -LA) ve DMBA+Resveratrol grubu (DMBA+R) olarak belirlendi. Kontrol grubunda 8, DMBA grubunda 12, DMBA+ α -LA grubunda 11 ve DMBA+R grubunda 11 adet sıçan deney süresince kullanıldı. Deneklerin genel durumları dikkate alınarak deney süresi 6 hafta olarak kısıtlandı. Deneyin başlangıcında 7,12-DMBA, susam yağında çözülerek kontrol grubu dışındaki gruplara toplam 55 mg/kg olmak üzere intraperitoneal olarak toplam 3 defa uygulandı. Kontrol grubuna ise aynı miktarda yağı enjekte edildi. DMBA uygulamasından sonra, gün aşırı olarak DMBA+R grubuna 25 mg/kg olmak üzere intraperitoneal olarak resveratrol uygulaması yapıldı. Aynı şekilde DMBA+ α -LA grubuna da gün aşırı 25 mg/kg lipoik asit uygulaması yapıldı. Deney sonucunda doku örnekleri alınarak analize kadar -25°C 'de bekletildi.

1.7.1 Biyokimyasal Analizler için Örnek Hazırlama

Kan örnekleri biyokimyasal analizler için biyokimya tüplerine alındı, hücre ve serumlarını ayırmak için 2500 g'de 4°C 'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Eritrosit pelletleri % 0.9'luk NaCl ile üç kez yıkandı ve örnekler her yıkamadan sonra 5dk süreyle 2500 g'de santrifüj edildi. Pellet ve serum örnekleri biyokimyasal analizler için taze bir şekilde hazırlandı.

1.8 Biyolojik Örneklerin Lipid Bileşimi İçindeki Kolesterol Miktarlarının HPLC Cihazı ile Analizi

1. 0.3 g doku örneği tartıldı ve 2 ml asetonitril/izopropanol (70:30, v/v) karışımı ile 1 dakika süreyle homojenizatör cihazı ile homojenize edildi.

2. Doku homojenizatı 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpler (Isolab Germany) içerisine alınarak 4°C de 10 dakika 6000xg'de santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Süpernatant kısımdan 1 ml otosampler viallerine alınarak HPLC cihazında analiz edildi.

3. Kolesterol analizinde mobil faz olarak % 70 asetonitril ve % 30 izopropanol karışımı kullanıldı. Mobil fazın 1 dakikada akış miktarı 1 ml/dakika olarak belirlendi. Kolon sıcaklığı 40°C de tutuldu (160).

4. Kolesterol analizi için supelcosil LC 18 DB (250 x 4.6 mm, 5 µm) kolon kullanıldı. Analiz UV dedektörde yapıldı ve dedeksiyon dalga boyu 202 nm olarak belirlendi (161).

5. Kolesterolün kolondan çıkış süresinin (alıkonma süresi) 10 dakika içinde gerçekleştiği gözlemlendi.

6. Kolesterol miktarı serumda µmol/ml, eritrositlerde µg/g pellet, diğer dokularda ise µmol/g doku olarak hesaplandı.

Cihazda pompa olarak LC-10ADVP, UV dedektör olarak SPD-10AVP, kolon fırını olarak CTO-10ASVP, otosampler olarak SIL-10ADVP, degasser olarak DGU-14AVP üniteleri (Shimadzu, Kyoto Japan) kullanıldı. Hesaplamalar Class VP software (6.12 SP 5) programı ile yapıldı.

1.9 Biyolojik Örneklerdeki ADEK Vitaminlerinin Miktarlarının HPLC Cihazı ile Analizi

1. 0.3 g doku örneği tartıldı ve 2 ml asetonitril/metanol (3/1, v/v) karışımı ile 1 dakika süreyle homojenize edildi.

2. Doku homojenizatı 2 ml' lik ependorf tüpler içerisine alınarak 4 °C de 10 dakika 6000xg'de santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Süpernatant kısımdan 1 ml otosampler viallerine alınarak HPLC cihazında analiz edildi.

3. HPLC analizinde mobil faz olarak % 75 asetonitril ve % 25 metanol karışımı kullanıldı. Mobil fazın akış miktarı 1 ml/dakika olarak belirlendi. Analitik kolonun sıcaklığı 40 °C de tutuldu.

4. Süpelcosil LC 18 DB (250 x 4.6 mm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanıldı. Dedeksiyon dalga boyu retinol (A vitamini) için 320 nm, vitamin E ve D₂ ve D₃ vitaminleri ile K₁ vitamini için 215 nm olarak belirlendi.

5. ADEK vitaminlerinin miktarı serumda µg/ml, diğer dokularda ise µg/g doku olarak hesaplandı.

1.10 Serum ve Eritrositlerdeki C vitamini ve MDA Miktarlarının HPLC Cihazı ile Analizi

1. 0.3 g eritrosit pelleti veya 0.1 ml serum örneği alınarak ve 2.5 ml 5 mM 1-hekzana sülfonik asit sodyum tuzu + % 0.1 H₃PO₄ tamponuyla homojenize edildi.

2. Proteinler 0,5 ml metafosforik asit (% 5 w/v) ile çöktürüldü ve örnekler 10,000xg'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısımdan 1 ml otosampler viallerine alınarak HPLC cihazında analiz edildi.

3. Analiz Discovery RP Amide C 16 (150x4.6mm, 5 µm, Sigma, USA) kolonu ile yapıldı. Mobil faz olarak 5 mM 1-hekzan sülfonik asit sodyum tuzu + % 0.1 H₃PO₄ tamponu ile asetonitril (% 90+% 10) kullanıldı. Mobil fazın akış miktarı 1 ml/dakika olarak belirlendi. Dedeksiyon dalga boyu 244 nm olarak belirlendi. Kolon sıcaklığı 40 °C'de tutuldu.

4. MDA sonuçları serumda nmol/ml, eritrositlerde nmol/g hücre pelleti olarak; Vitamin C sonuçları ise serumda µg/ml, eritrositlerde µg/g hücre pelleti olarak hesaplandı.

1.11 Eritrosit Pelletlerinden Redükte ve Okside Glutatyon Moleküllerinin İzolasyonu ve HPLC ile Analizi

Eritrosit örneklerinden glutatyon moleküllerinin izolasyonu 50 mM NaClO₄ çözeltisi ve 4mM EDTA çözeltisi ile yapıldı ve % 5' lik MPA çözeltisi ile proteinlerden ayrıldı. Bu işlem için aşağıdaki basamaklar uygulandı:

1. 0.3 g eritrosit pelleti 2.5 ml NaClO₄ çözeltisi içinde homojenize edildi, santrifüj tüplerine aktarıldı ve 400 µl % 5'lik MPA çözeltisi ilave edilerek 25 °C' de 15 dakika bekletildi.

2. Daha sonra 7000xg'de 10 dk santrifüj edilerek, proteinler çöktürüldü ve süpernatant kısım 0.45 µm'lik filtreden geçirilerek, otosampler viallerine alındı ve analize hazır hale getirildi.

3. Örneklerin HPLC analizi, Discovery RP Amide C 16 (150 x 4.6, 5 µm, Sigma, USA) kolonuyla yapıldı. Mobil faz olarak 50 mM NaClO₄ çözeltisi kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1ml/dk olarak belirlendi. GSH ve GSSG'nin ayrılması 215 nm'de gerçekleştirildi. Kolon sıcaklığı 40 °C'de tutuldu.

4. GSH ve GSSG sonuçları µg/g hücre pelleti olarak hesaplandı.

Örneklere ait HPLC analizleri Shimadzu marka VP serisi tam otomatik yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) cihazı ile yapıldı.

1.12 Lipidlerin Ekstraksiyonu

Doku örneklerinden lipidlerin ekstraksiyonu 3:2 (v/v) hekzan izopropanol (HIP) karışımın kullanıldığı Hara ve Radin metoduna göre yapıldı (162). Bunun için: 0.5–1 g doku örneği 3:2 (v/v) oranında 5 ml HIP karışımı içinde 30 sn süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon kabı 2 ml HIP çözeltisi ile yıkandı ve santrifüj tüplerine alındı. Daha sonra 4500 rpm’de 10 dk süreyle santrifüj edilen doku örneklerinden üst supernatant kısım alınarak ağzı kapaklı deney tüplerine konuldu.

1.13 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Lipidler içinde bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizinin yapılabilmesi için polar olmayan uçucu ve kararlı yapıya sahip olan metil esterleri gibi türevlerine dönüştürülmesi gerekir (163).

Metil esteri hazırlamak için hekzan/izopropanol fazı içindeki lipid ekstraktı 30 ml’lik sızdırma yapmayan deney tüplerine alındı. Üzerine % 2’lik metanolik sülfirik asitten 5 ml ilave edildi, vorteks ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 50 °C lik etüvde 15 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. Tüpler etüvden çıkarıldı oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 ml % 5 lik sodyum klorür ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 ml hekzan ile ekstrakte edildi ve hekzan fazı pipetle alınarak, 5 ml % 2 lik KHCO_3 ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat bekletildi. Daha sonra metil esterlerini içeren karışımın, 45 °C de ve azot akımı altında çözücüsü uçuruldu, 1 ml hekzan ile çözülerek 2 ml’lik ağzı kapaklı otosampler vialleri içine alınarak gaz kromatografisinde analiz edildi.

1.14 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Lipid ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC 17 Ver. 3 gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 25m uzunluğunda, 0,25 μm iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip Machery-Nagel (Germany) kapiller kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120- 220 °C arasında programlandı. Enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 120 °C’den 220 °C’ye kadar ayarlandı. Sıcaklık artışı 200 °C’ye kadar 5 °C /dk ve 200 °C’den 220 °C’ye kadar 4 °C /dk olarak belirlendi. 220 °C’de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35 dakika olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek, her bir yağ asitinin alıkonna süreleri belirlendi. Bu işlemden sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait

yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı. Sonuçlar toplam yağ asitleri içinde her bir yağ asidi için % miktar olarak belirlendi. Hesaplamalar GC Solution 2.3 programı kullanılarak yapıldı.

1.15 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS for Windows 12.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için One-way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) testi uygulandı ve LSD testi uygulaması ile gruplar arasındaki farklılıklar belirlendi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Yapılan bu deneysel çalışmada 7,12-DMBA etkisine maruz bırakılan Wistar albino cinsi yaşlı erkek sıçanların serum, eritrosit, karaciğer ve böbrek dokularında kolesterol, ADEK vitaminleri ile C vitamini, yağ asidi düzeyleri, MDA ve glutatyon düzeyleri üzerine Resveratrol ve α -Lipoik asitin etkisi araştırıldı.

1.16 Serumdaki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi

Tablo 13. Serumdaki Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değişimi

Biyokimyasal Parametreler	KONTROL	DMBA	DMBA+α-LA	DMBA+R
Retinol ($\mu\text{g/dl}$)	0,261 $\pm$ 0,009	0,181$\pm$0,008^c	0,270 $\pm$ 0,007	0,215$\pm$0,004^b
D2 vitamini ($\mu\text{g/dl}$)	0,12 $\pm$ 0,008	0,23$\pm$0,015^c	0,51$\pm$0,031^c	0,32$\pm$0,011^c
D3 vitamini ($\mu\text{g/dl}$)	1,32 $\pm$ 0,12	4,00$\pm$0,20^c	4,70$\pm$0,13^c	3,57$\pm$0,11^c
α -tokoferol ($\mu\text{g/dl}$)	4,38 $\pm$ 0,15	3,30$\pm$0,18^c	2,02$\pm$0,15^c	3,57$\pm$0,24^b
α -tokoferol asetat ($\mu\text{g/dl}$)	0,040 $\pm$ 0,002	0,096 $\pm$ 0,014	0,286$\pm$0,015^d	0,098 $\pm$ 0,005
Vitamin K ₁ ($\mu\text{g/dl}$)	0,095 $\pm$ 0,003	0,151$\pm$0,005^c	0,120$\pm$0,003^b	0,116$\pm$0,006^a
Kolesterol ($\mu\text{mol/dl}$)	119,76 $\pm$ 2,78	131,40 $\pm$ 5,91	145,42$\pm$5,80^b	103,82$\pm$5,20^a
Vitamin C ($\mu\text{g/dl}$)	22,25 $\pm$ 0,94	19,58 $\pm$ 0,90	19,70 $\pm$ 1,23	20,45 $\pm$ 1,43
MDA (nmol/dl)	72,38 $\pm$ 3,79	87,42$\pm$4,03^a	63,00 $\pm$ 2,92	54,00$\pm$2,34^b

a- p<0.05

b-p<0.01

c-p<0.001

d-p<0.0001

Serumda kolesterol miktarının DMBA+ α -LA grubunda arttığı (p<0.01) gözlenirken DMBA+R grubunda azaldığı belirlendi (p<0.05). D2 ve D3 vitamin seviyelerinin kontrol grubuna göre DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında istatistiksel olarak anlamlı yüksek (p<0.001) olduğu gözlemlendi. α -tokoferol düzeyi DMBA (p<0.001), DMBA+ α -LA (p<0.001) ve DMBA+R (p<0.01) gruplarında kontrol grubuna göre azaldığı saptandı. Kontrol grubuna göre DMBA (p<0.001), DMBA+ α -LA (p<0.01) ve DMBA+R (p<0.05) gruplarında K₁ vitamin düzeyinin arttığı görüldü. Serum retinol miktarı kontrol grubuyla mukayese edildiğinde DMBA (p<0.001) ve DMBA+R gruplarında azaldığı (p<0.01) saptanırken DMBA+ α -LA (p>0.05) grubunda ise herhangi bir istatistiksel farklılık gözlenmedi. α -tokoferol asetat düzeyi DMBA+ α -LA grubunda kontrol grubundan oldukça yüksek olduğu gözlemlendi (p<0.0001). Vitamin C miktarı gruplar arasında anlamlı

bir değişiklik göstermemiştir ($p>0.05$). Serum MDA düzeyi DMBA grubunda yüksek bulundu ($p<0.05$), DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında ise kontrol grubuna göre azaldığı saptandı ($p<0.01$).

1.17 Serumdaki yağ asitlerinin değişiminin değerlendirilmesi

Tablo 14. Serumun Yağ Asidi Bileşimi (%)

Yağ Asitleri	KONTROL	DMBA	DMBA+ α -LA	DMBA+R
16:0	19,30 $\pm$ 0,30	15,95$\pm$0,71^b	16,68$\pm$0,39^b	17,72 $\pm$ 0,08
16:1n-7	1,84 $\pm$ 0,23	1,11 $\pm$ 0,21	1,34 $\pm$ 0,17	0,97$\pm$0,06^a
18:0	8,54 $\pm$ 0,37	7,48 $\pm$ 0,46	6,85 $\pm$ 0,33	8,81 $\pm$ 1,04
18:1 n-9	12,17 $\pm$ 0,37	11,74 $\pm$ 0,90	11,89 $\pm$ 0,86	13,74$\pm$1,60^a
18:1 n-7	2,15 $\pm$ 0,11	2,39 $\pm$ 0,12	2,23 $\pm$ 0,08	2,82$\pm$0,28^b
18:2 n-6	25,00 $\pm$ 0,97	20,85$\pm$1,29^b	22,99$\pm$0,56^a	24,78 $\pm$ 1,05
20:4 n-6	28,00 $\pm$ 1,31	21,02$\pm$1,76^b	32,89$\pm$1,93^a	25,67 $\pm$ 1,16
22:6 n-3	2,13 $\pm$ 0,10	4,60$\pm$0,40^c	2,90$\pm$0,19^b	3,10$\pm$0,36^b
Σ Doymuş	27,84 $\pm$ 0,67	23,43$\pm$1,61^b	23,53$\pm$0,72^b	26,53$\pm$1,92^a
Σ Doymamış	71,29 $\pm$ 3,09	61,71$\pm$4,68^c	74,24$\pm$3,79^b	71,08 $\pm$ 4,51
Σ MUFA	16,16 $\pm$ 0,71	15,24$\pm$1,23^a	15,46$\pm$1,11^a	17,53$\pm$1,94^a
Σ PUFA	55,13 $\pm$ 2,38	46,47$\pm$3,45^c	58,78$\pm$2,68^a	53,55$\pm$2,57^a
Σ N3	2,13 $\pm$ 0,10	4,60$\pm$0,40^c	2,90$\pm$0,19^b	3,10$\pm$0,36^b
Σ N6	53,00 $\pm$ 2,28	41,87$\pm$3,05^c	55,88$\pm$2,49^b	50,45$\pm$2,21^b

a- $p<0.05$

b- $p<0.01$

c- $p<0.001$

d- $p<0.0001$

Serumda palmitik asit (16:0) miktarının DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı saptandı ($p<0.01$). Palmitoleik asit (16:1 n-7) miktarının DMBA+R grubunda azaldığı ($p<0.05$) diğer gruplar arasında ise değişmediği gözlemlendi. Stearik asit (18:0) ve oleik asit (18:1 n-9) düzeylerinin gruplar arasında değişmediği halde vaksenik asit (18:1 n-7) miktarının kontrol grubuna göre DMBA+R grubunda arttığı ($p<0.01$) saptandı. Kontrol grubuna göre linoleik asit (18:2 n-6) miktarının DMBA ($p<0.01$) grubu ile DMBA+ α -LA ($p<0.05$) gruplarında azaldığı belirlendi. DMBA grubunda araşidonik asit (20:4 n-6) düzeyi azalırken ($p<0.01$), DMBA+ α -LA grubunda ise kontrol grubuna kıyasla arttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Serum

dokosaheksaenoik asit (22:6 n-3) miktarı kontrol grubuyla mukayese edildiğinde hem DMBA grubu ($p<0.001$) hem de antioksidan gruplarında arttığı gözlemlendi ($p<0.01$).

Doymuş yağ asitleri miktarlarının DMBA ($p<0.01$), DMBA+ α -LA ($p<0.01$) ve DMBA+R ($p<0.05$) gruplarında kontrol grubuna göre azaldığı saptandı. Kontrol grubuna göre doymamış yağ asitleri düzeyleri ise DMBA grubunda azalırken ($p<0.001$), DMBA+ α -LA grubunda arttığı ($p<0.01$), DMBA+R grubunda ise değişmediği gözlemlendi ($p<0.05$). MUFA miktarı DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarında azaldığı ($p<0.05$), DMBA+R grubunda ise yüksek olduğu ($p<0.05$) saptandı. PUFA'nın ise DMBA+ α -LA grubunda arttığı ($p<0.05$) DMBA ve DMBA+R gruplarında azaldığı saptandı ($p<0.001$, $p<0.05$). N3 yağ asidi miktarının DMBA ($p<0.001$), DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında ($p<0.01$) yüksek bulundu. N6 yağ asidi miktarı ise DMBA+ α -LA grubunda arttığı ($p<0.01$) DMBA ve DMBA+R gruplarında azaldığı saptandı ($p<0.001$, $p<0.01$).

1.18 Eritrositlerdeki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi

Tablo 15. Eritrositlerdeki Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değişimi

Biyokimyasal Parametreler ($\mu\text{g/g}$)	KONTROL	DMBA	DMBA+α-LA	DMBA+R
Retinol	0,011 $\pm$,001	0,014 $\pm$,001	0,011 $\pm$,001	0,010 $\pm$,001
δ - tokoferol	1,40 $\pm$ 0,07	1,30 $\pm$ 0,04	1,13$\pm$0,06^b	1,44 $\pm$ 0,06
D ₃ vitamin	1,52 $\pm$ 0,11	1,62 $\pm$,007	1,08$\pm$0,02^b	2,92$\pm$0,14^c
α - tokoferol	2,40 $\pm$ 0,24	0,84$\pm$0,02^c	0,63$\pm$0,04^c	1,77$\pm$0,06^c
Vitamin K1	0,41 $\pm$ 0,03	3,19$\pm$0,14^d	0,83$\pm$ 0,03^a	1,48$\pm$ 0,17^c
Kolesterol	476,02 $\pm$ 9,38	574,87$\pm$15,29^c	454,06 $\pm$ 6,92	553,22$\pm$21,61^c
MDA	30,35 $\pm$ 1,69	38,45$\pm$1,07^c	21,28$\pm$1,04^c	13,91$\pm$0,69^d
GSH	130,81 $\pm$ 6,61	345,31$\pm$15,68^c	356,45$\pm$11,56^c	107,89 $\pm$ 5,77
GSSG	120,81 $\pm$ 5,84	135,77 $\pm$ 6,02	23,77$\pm$2,70^d	112,05$\pm$4,72^a
GSH/GSSG	1,01 $\pm$ 0,07	2,58 $\pm$ 0,15	17,19$\pm$2,60^c	0,97 $\pm$ 0,07

a- $p<0.05$ b- $p<0.01$ c- $p<0.001$ d- $p<0.0001$

Eritrositlerdeki kolesterol miktarının DMBA ve DMBA+R gruplarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.001$). Kontrol grubuna göre DMBA+ α -LA grubunda δ - tokoferol miktarının azaldığı saptandı ($p<0.01$). DMBA+ α -LA grubunda D₃ vitamin düzeyi azalırken ($p<0.01$), DMBA+R grubunda arttığı ($p<0.001$) gözlemlendi. DMBA

grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Kontrol grubuna göre diğer tüm grupların α -tokoferol miktarının azaldığı belirlendi ($p<0.001$). DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında K₁ vitamini düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı ($p<0.0001$, $p<0.05$, $p<0.001$). Retinol miktarı bakımından gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). DMBA grubunda MDA düzeyi artarken ($p<0.001$), DMBA+ α -LA ve DMBA+R antioksidan gruplarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı azalmalar görüldü ($p<0.001$, $p<0.0001$). DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarında eritrosit GSH miktarının arttığı saptandı ($p<0.001$). Eritrosit GSSG miktarının ise DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında azaldığı ($p<0.0001$, $p<0.05$) tespit edildi. DMBA+ α -LA grubunda GSH/GSSG oranının kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p<0.001$).

1.19 Eritrositlerdeki yağ asitlerinin değişiminin değerlendirilmesi

Tablo 16. Eritrositlerin Yağ Asidi Bileşimi (%)

Yağ Asitleri	KONTROL	DMBA	DMBA+ α -LA	DMBA+R
16:0	26,26 $\pm$ 0,35	27,27$\pm$0,25^a	29,08$\pm$0,89^c	27,61$\pm$0,31^a
18:0	14,61 $\pm$ 0,30	14,55 $\pm$ 0,33	14,15 $\pm$ 0,64	13,30$\pm$ 0,34^a
18:1 n-9	8,37 $\pm$ 0,44	8,55 $\pm$ 0,35	10,41$\pm$1,14^a	9,25 $\pm$ 0,62
18:1 n-7	3,49 $\pm$ 0,07	3,69 $\pm$ 0,08	4,01$\pm$ 0,17^b	3,93$\pm$ 0,11^b
18:2 n-6	10,89 $\pm$ 0,32	10,97 $\pm$ 0,33	10,61 $\pm$ 0,46	11,22 $\pm$ 0,32
20:4 n-6	24,58 $\pm$ 0,51	24,04 $\pm$ 0,42	23,02 $\pm$ 1,23	22,90 $\pm$ 0,67
22:5 n-6	1,76 $\pm$ 0,13	1,97 $\pm$ 0,12	1,91 $\pm$ 0,17	2,07 $\pm$ 0,13
22:5 n-3	2,02 $\pm$ 0,06	2,08 $\pm$ 0,14	1,99 $\pm$ 0,29	1,93 $\pm$ 0,09
22:6 n-3	2,73 $\pm$ 0,21	3,49$\pm$0,19^b	2,66 $\pm$ 0,21	2,94 $\pm$ 0,14
24:0	0,66 $\pm$ 0,04	1,15$\pm$0,04^c	0,84 $\pm$ 0,04	1,06$\pm$ 0,04^c
Σ Doymuş	41,53 $\pm$ 0,69	42,97$\pm$0,62^a	44,07$\pm$1,57^b	41,97 $\pm$ 0,69
Σ Doymamış	53,84 $\pm$ 1,74	54,79 $\pm$ 1,63	54,61 $\pm$ 3,67	54,24 $\pm$ 2,08
Σ MUFA	11,86 $\pm$ 0,51	12,24 $\pm$ 0,43	14,42$\pm$1,31^b	13,18$\pm$0,73^a
Σ PUFA	41,98 $\pm$ 1,23	42,55 $\pm$ 1,20	40,19$\pm$2,36^a	41,06 $\pm$ 1,35
Σ N3	4,75 $\pm$ 0,27	5,57$\pm$0,33^b	4,65 $\pm$ 0,50	4,87 $\pm$ 0,23
Σ N6	37,23 $\pm$ 0,86	36,98 $\pm$ 0,87	35,54$\pm$1,86^a	36,19 $\pm$ 1,12

a- $p<0.05$

b- $p<0.01$

c- $p<0.001$

d- $p<0.0001$

Eritrositlerdeki palmitik asit (16:0) miktarının DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel bakımdan anlamlı ve yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$, $p<0.05$). DMBA+R grubunda stearik asit (18:0) miktarının kontrol grubuna kıyasla

azaldığı saptandı ($p<0.05$). Kontrol grubuna göre DMBA+ α -LA grubunda oleik asit (18:1 n-9, 18:1 n-7) miktarının yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$, $p<0.01$). Linoleik asit (18:2 n-6), araşidonik asit (20:4 n-6), dokosapentaenoik asit (22:5 n-6, 22:5 n-3), düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). DMBA grubunda kontrol grubuna kıyasla dokosaheksaenoik asit (22:6 n-3) düzeyinin yüksek olduğu bulundu ($p<0.01$). Lignoserik asit (24:0) miktarının DMBA, DMBA+R gruplarında yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.001$). DMBA grubu ($p<0.05$) ve DMBA+ α -LA grubunda ($p<0.01$) doymuş yağ asidi düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı. Doymamış yağ asidi düzeylerinde gruplar arası farklılık görülmedi ($p>0.05$). Kontrol grubuna göre DMBA+ α -LA grubu ($p<0.01$) ile DMBA+R gruplarında ($p<0.05$) MUFA düzeylerinin yüksek olduğu belirlendi. Kontrol grubuna göre DMBA+ α -LA grubundaki PUFA düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). N3 yağ asidi miktarının hastalık grubu olan DMBA grubunda yüksek olduğu saptandı ($p<0.01$). N6 yağ asidi düzeyinin DMBA+ α -LA grubunda kontrol grubundan istatistiksel olarak düşük olduğu belirlendi ($p<0.05$).

1.20 Karaciğer dokusundaki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi

Tablo 17. Karaciğer Dokusundaki ADEK Vitaminleri ile Kolesterol Miktarlarının Değişimi

Biyokimyasal Parametreler ($\mu\text{g/g}$)	KONTROL	DMBA	DMBA+α-LA	DMBA+R
Retinol	23,59 $\pm$ 2,31	13,09 $\pm$ 1,31	28,55$\pm$3,41^c	32,85$\pm$4,30^c
Vitamin K2	0,89 $\pm$ 0,16	0,49$\pm$0,16^a	0,20$\pm$0,06^a	1,37 $\pm$ 0,34
δ - tokoferol	2,44 $\pm$ 0,55	0,85$\pm$0,27^a	0,95$\pm$0,16^a	1,31 $\pm$ 0,58
D2 vitamini	0,63 $\pm$ 0,07	0,59 $\pm$ 0,18	0,28$\pm$0,06^a	0,30$\pm$0,05^a
D3 vitamini	0,72 $\pm$ 0,22	0,34 $\pm$ 0,10	0,44 $\pm$ 0,22	0,19 $\pm$ 0,15
α - tokoferol	5,37 $\pm$ 1,06	4,50 $\pm$ 0,80	3,30$\pm$0,40^a	3,51$\pm$0,39^a
Vitamin K1	0,38 $\pm$ 0,31	21,51$\pm$6,95^d	17,75$\pm$5,17^d	17,87$\pm$4,15^d
Kolesterol	102,21 $\pm$ 1,70	90,59$\pm$1,46^c	104,34 $\pm$ 1,15	100,60 $\pm$ 1,45

a $p<0.05$

b- $p<0.01$

c- $p<0.001$

d- $p<0.0001$

Karaciğer dokusunda kolesterol miktarı kontrol grubuna göre DMBA grubunda azaldığı saptandı ($p<0.001$). DMBA+ α -LA grubu ve DMBA+R gruplarında D2 vitamin düzeyinin azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$). Kontrol grubuna göre antioksidan grupların her ikisinde de α - tokoferol

miktarının azaldığı ($p<0.05$) halde DMBA grubunda görülen kısmi azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). K1 vitamini hem hastalık hem de antioksidan grupların tamamında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.0001$). Retinol miktarının antioksidan grupların her ikisinde de yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.001$). Vitamin K2 düzeyinin kontrol grubuna göre DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarında azaldığı tespit edildi ($p<0.05$).

1.21 Karaciğer dokusundaki bazı yağ asitlerinin değişiminin değerlendirilmesi

Tablo 18. Karaciğer dokusunun Yağ Asidi Bileşimi (%)

Yağ Asitleri	KONTROL	DMBA	DMBA+ α -LA	DMBA+R
14:0	0,17 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,01
15:0	0,18 $\pm$ 0,01	0,22$\pm$0,01^a	0,20 $\pm$ 0,01	0,25$\pm$0,01^c
16:0	21,26 $\pm$ 0,33	19,73$\pm$0,21^c	19,73$\pm$0,20^c	19,36$\pm$0,29^c
16:1 n-9	1,35 $\pm$ 0,26	0,39$\pm$0,07^c	0,57$\pm$0,06^c	0,50$\pm$0,04^c
17:0	0,44 $\pm$ 0,03	0,57$\pm$0,01^c	0,54$\pm$0,02^b	0,60$\pm$0,01^c
18:0	16,64 $\pm$ 0,57	18,62$\pm$0,35^b	17,90$\pm$0,52^a	17,76 $\pm$ 0,31
18:1 n-9	8,47 $\pm$ 0,69	6,98$\pm$0,23^a	8,44 $\pm$ 0,76	7,91 $\pm$ 0,27
18:1 n-7	2,85 $\pm$ 0,15	3,22$\pm$0,08^a	3,22 $\pm$ 0,06	3,64$\pm$0,17^c
18:2 n-6	18,63 $\pm$ 0,47	16,79$\pm$0,40^a	17,26 $\pm$ 0,55	17,21$\pm$0,51^a
18:3 n-6	0,18 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,01
18:3 n-3	0,42 $\pm$ 0,03	0,23$\pm$0,02^c	0,24$\pm$0,01^c	0,24$\pm$0,01^c
20:1 n-9	0,10 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,15$\pm$0,01^b	0,15$\pm$0,01^b
20:1 n-11	0,19 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,01
20:2 n-6	0,34 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,01	0,38 $\pm$ 0,01
20:3 n-9	0,17 $\pm$ 0,02	0,11$\pm$0,01^a	0,11$\pm$0,01^a	0,16 $\pm$ 0,01
20:3 n-6	0,61 $\pm$ 0,06	0,50$\pm$0,03^a	0,45$\pm$0,01^b	0,65 $\pm$ 0,01
20:4 n-6	20,36 $\pm$ 0,75	21,60 $\pm$ 0,35	20,92 $\pm$ 0,68	21,47 $\pm$ 0,33
20:5 n-3	0,31 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,03	0,24$\pm$0,01^a	0,26 $\pm$ 0,01
22:0	0,15 $\pm$ 0,01	0,20$\pm$0,01^b	0,20$\pm$0,01^b	0,20$\pm$0,01^b
22:2	0,30 $\pm$ 0,02	0,30 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,02	0,24$\pm$0,01^a
22:4	0,31 $\pm$ 0,03	0,54$\pm$0,03^c	0,55$\pm$0,02^c	0,50$\pm$0,01^c
22:5 n-6	0,13 $\pm$ 0,01	0,28$\pm$0,06^b	0,18 $\pm$ 0,01	0,25$\pm$0,04^a
22:5 n-3	0,84 $\pm$ 0,11	1,08$\pm$0,07^a	1,29$\pm$0,09^c	1,13$\pm$0,05^a
24:0	0,28 $\pm$ 0,05	0,20$\pm$0,02^a	0,24 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,01
22:6 n-3	4,81 $\pm$ 0,12	7,56$\pm$0,33^c	6,43$\pm$0,33^b	6,34$\pm$0,37^a
Σ Doymuş	39,12 $\pm$ 1,28	39,69 $\pm$ 0,62	38,98 $\pm$ 0,80	38,61 $\pm$ 0,65
Σ Doymamış	60,47 $\pm$ 2,79	60,67 $\pm$ 1,77	60,98 $\pm$ 2,67	61,40$\pm$1,88^a
Σ MUFA	12,96 $\pm$ 1,12	10,91$\pm$0,40^b	12,56 $\pm$ 0,91	12,39 $\pm$ 0,50
Σ PUFA	47,51 $\pm$ 1,67	49,76$\pm$1,37^b	48,42$\pm$1,76^a	49,01$\pm$1,38^b
Σ N3	6,38 $\pm$ 0,28	9,15$\pm$0,45^c	8,20$\pm$0,44^b	7,97$\pm$0,44^b
Σ N6	40,42 $\pm$ 1,32	39,47 $\pm$ 0,87	39,31$\pm$1,27^a	40,14 $\pm$ 0,91

a- p<0.05

b-p<0.01

c-p<0.001

d-p<0.0001

Karaciğer dokusunda pentadekonoik asit (15:0) miktarının DMBA grubu ve DMBA+R grubunda kontrol grubuna göre arttığı belirlendi ($p<0.05$, $p<0.001$). DMBA ve DMBA+antioksidan grupların hepsinde palmitik asit (16:0) ve palmitoleik asit (16:1 n-9) miktarlarının kontrol grubundan düşük olduğu saptandı ($p<0.001$). Buna karşılık DMBA ($p<0.001$), DMBA+ α -LA ($p<0.01$) ve DMBA+R gruplarında ($p<0.001$) heptadekonoik asit (17:0) miktarının yüksek olduğu gözlemlendi. Stearik asit (18:0) miktarının ise DMBA ile DMBA+ α -LA gruplarında yüksek olduğu belirlendi ($p<0.01$, $p<0.05$). DMBA grubunda oleik asit'in (18:1 n-9) azaldığı halde ($p<0.05$), vaksenik asitin (18:1 n-7) hem DMBA grubu hem de DMBA+R grubunda arttığı görüldü ($p<0.05$, $p<0.001$). Linoleik asit (18:2 n-6) miktarının DMBA ile DMBA+R gruplarında azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Alfa-linolenik (18:3 n-3) asit miktarının ise kontrol grubuna göre diğer gruplarda azaldığı görüldü ($p<0.001$).

Eikosenoik asit (20:1 n-9) miktarı antioksidan gruplarda yüksek bulundu ($p<0.01$). DMBA grubu ve DMBA+ α -LA grubunda eikosatrienoik asit (20:3 n-9, 20:3 n-6) düzeylerinde azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Eikosapentaenoik asit (20:5 n-3) miktarı ise yalnızca DMBA+ α -LA grubunda azaldığı saptandı ($p<0.05$). Behenik asit (22:0) miktarının kontrole göre diğer üç grupta da arttığı saptandı ($p<0.01$). DMBA+R grubunda dokosadienoik asit (22:2) miktarı azalırken ($p<0.05$) dokosatetraenoik asit (22:4) miktarının hem hastalık hem de antioksidan gruplarında yüksek bulundu ($p<0.001$).

Dokosapentaenoik asit (22:5 n-6, 22:5 n-3) düzeylerinin antioksidan ve hastalık gruplarında arttığı belirlendi. Lignoserik asit (24:0) miktarının DMBA grubunda azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$). Dokosaheksaenoik asit (22:6 n-3) düzeyinin DMBA grubu ($p<0.001$), DMBA+ α -LA grubu ($p<0.01$) ve DMBA+R grubunda ($p<0.05$) yüksek olduğu saptandı. DMBA+R grubunda doymamış yağ asidi miktarının arttığı görülürken ($p<0.05$) diğer gruplarda da kısmen artmalar gözlemlendi. DMBA grubunda MUFA düzeylerinin azaldığı gözlemlendi ($p<0.01$). DMBA grubu ($p<0.01$), DMBA+ α -LA grubu ($p<0.05$) ve DMBA+R grubunda ($p<0.01$) PUFA düzeylerinin arttığı saptandı. N3 yağ asidi miktarının hastalık ve antioksidan gruplarında arttığı tespit edildi ($p<0.001$, $p<0.01$). DMBA+ α -LA grubunda N6 yağ asidi miktarının azaldığı belirlendi ($p<0.05$).

1.22 Böbrek dokusundaki bazı biyokimyasal parametrelerin değişiminin değerlendirilmesi

Tablo 19. Böbrek Dokusundaki ADEK Vitaminleri ile Kolesterol Miktarlarının Değişimi

Biyokimyasal Parametreler (µg/g)	KONTROL	DMBA	DMBA+α-LA	DMBA+R
Retinol	0,35±0,02	0,52±0,06^b	0,38±0,04	0,40±0,03^a
δ-tokoferol	4,53±0,38	7,64±0,52^a	6,59±0,70	1,59±0,40^a
D2 vitamini	0,92±0,04	4,12±1,44^a	0,82±0,03	4,64±0,40^a
D3 vitamini	8,95±2,36	2,59±0,70^a	8,79±2,36	1,55±0,50^a
α-tokoferol	6,86±0,29	10,15±9,03^a	23,04±1,83^c	8,11±1,24
Vitamin K1	1,55±0,19	16,36±3,94^d	0,55±0,29	2,35±2,12
Vitamin K2	1,46±0,12	3,64±0,12^a	2,37±0,25	2,91±0,45
Kolesterol	334,93±17,13	402,99±19,18^a	399,68±14,16^a	364,85±15,18

a- p<0.05

b-p<0.01

c-p<0.001

d-p<0.0001

Böbrek dokusunda kolesterol miktarının kontrol grubuna kıyasla her üç grupta da arttığı gözlenirken bunlardan DMBA grubu ve DMBA+α-LA gruplarındaki artış istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05). DMBA grubu (p<0.05) ve DMBA+α-LA grubunda (p<0.001) α-tokoferol miktarının arttığı tespit edildi. Retinol miktarının DMBA ve DMBA+R gruplarında arttığı belirlendi (p<0.01 p<0.05). Vitamin K1 ve vitamin K2 miktarlarının DMBA grubunda yüksek bulundu (p<0.0001, p<0.05). δ-tokoferol miktarının DMBA+R grubunda kontrol grubuna göre azaldığı, DMBA grubunda (p<0.05) ise arttığı saptandı. DMBA ve DMBA+R gruplarında D2 vitamin miktarının arttığı, D3 vitamin miktarının ise azaldığı tespit edildi (p<0.05).

1.23 Böbrek dokusundaki bazı yağ asitlerinin değişiminin değerlendirmesi

Tablo 20. Böbrek Dokusunun Yağ Asidi Bileşimi (%)

Yağ Asitleri	KONTROL	DMBA	DMBA+ α -LA	DMBA+R
14:0	0,51 $\pm$ 0,05	0,28$\pm$0,03^c	0,37$\pm$0,02^b	0,37$\pm$0,02^b
15:0	0,19 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,01
16:0	20,20 $\pm$ 0,36	19,19 $\pm$ 0,50	19,75 $\pm$ 0,66	19,62 $\pm$ 0,36
16:1 n-9	1,38 $\pm$ 0,30	0,54$\pm$0,12^c	0,69$\pm$0,05^c	0,62$\pm$0,07^c
17:0	0,29 $\pm$ 0,01	0,38$\pm$0,01^c	0,37$\pm$0,02^c	0,39$\pm$0,01^c
18:0	14,85 $\pm$ 0,58	14,32 $\pm$ 0,46	15,16 $\pm$ 0,36	14,07 $\pm$ 0,43
18:1 n-9	11,39 $\pm$ 0,52	10,56 $\pm$ 0,56	10,43 $\pm$ 0,31	11,38 $\pm$ 0,64
18:1 n-7	3,24 $\pm$ 0,07	3,46 $\pm$ 0,06	3,16 $\pm$ 0,15	3,25 $\pm$ 0,10
18:2 n-6	16,75 $\pm$ 0,87	15,78 $\pm$ 0,38	16,02 $\pm$ 0,50	17,33 $\pm$ 0,29
18:3 n-3	0,29 $\pm$ 0,04	0,23 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01
20:0	0,15 $\pm$ 0,01	0,24$\pm$0,07^a	0,15 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,01
20:1 n-9	0,19 $\pm$ 0,01	0,21 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,01
20:1 n-11	0,21 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,06	0,23 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,01
20:2 n-6	0,29 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,04	0,33 $\pm$ 0,01
20:3 n-6	0,96 $\pm$ 0,07	0,84 $\pm$ 0,06	0,81 $\pm$ 0,04	0,93 $\pm$ 0,06
20:4 n-6	25,15 $\pm$ 0,99	27,76$\pm$0,92^a	26,67 $\pm$ 0,94	25,48 $\pm$ 0,74
21:0	0,14 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,16
20:5 n-3	0,22 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01
22:0	0,13 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,01
22:2	0,51 $\pm$ 0,03	0,35$\pm$0,03^b	0,40$\pm$0,03^a	0,31$\pm$0,03^c
22:4	0,45 $\pm$ 0,02	0,63$\pm$0,03^c	0,61$\pm$0,02^c	0,61$\pm$0,01^c
22:5 n-3	0,29 $\pm$ 0,01	0,33 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,01
24:0	0,59 $\pm$ 0,05	0,93$\pm$0,44^a	0,62 $\pm$ 0,18	0,60 $\pm$ 0,04
22:6 n-3	1,93 $\pm$ 0,11	2,57$\pm$0,21^a	1,99 $\pm$ 0,20	2,23 $\pm$ 0,14
Σ Doymuş	48,17 $\pm$ 1,60	46,12$\pm$2,08^a	47,08 $\pm$ 1,58	46,82$\pm$1,52^a
Σ Doymamış	50,09 $\pm$ 2,51	52,51$\pm$1,90^a	50,88 $\pm$ 2,00	51,35$\pm$1,46^a
Σ MUFA	5,02 $\pm$ 0,40	4,46$\pm$0,25^a	4,30$\pm$0,25^a	4,28$\pm$0,19^a
Σ PUFA	45,88 $\pm$ 2,11	48,08$\pm$1,65^a	46,58 $\pm$ 1,75	47,07 $\pm$ 1,27
Σ N3	2,73 $\pm$ 0,17	3,36$\pm$0,28^a	2,74 $\pm$ 0,23	3,00 $\pm$ 0,17
Σ N6	43,15 $\pm$ 1,94	44,69$\pm$1,37^a	43,84 $\pm$ 1,52	44,07 $\pm$ 1,10

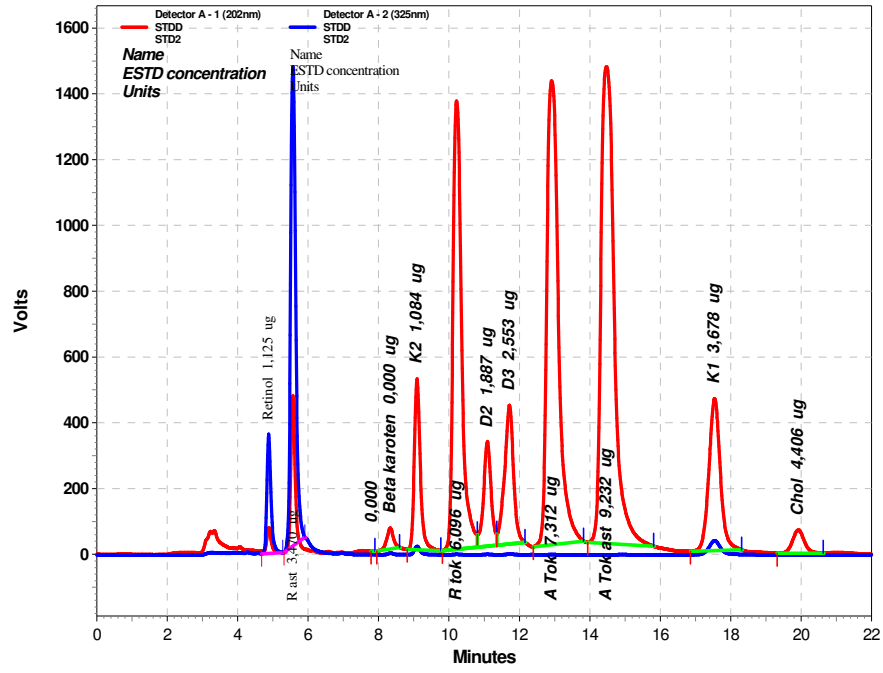
a- p<0.05

b-p<0.01

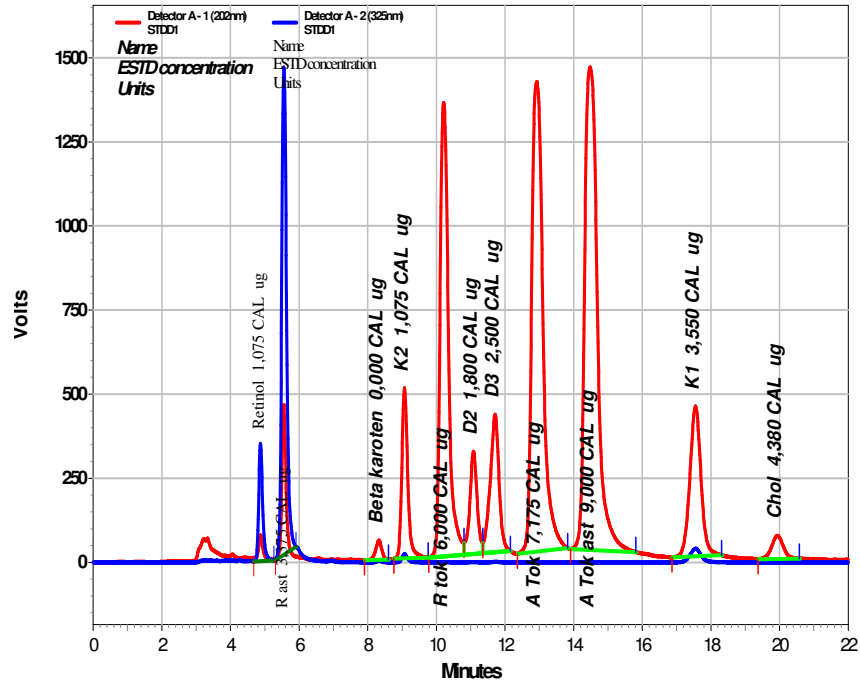
c-p<0.001

d-p<0.0001

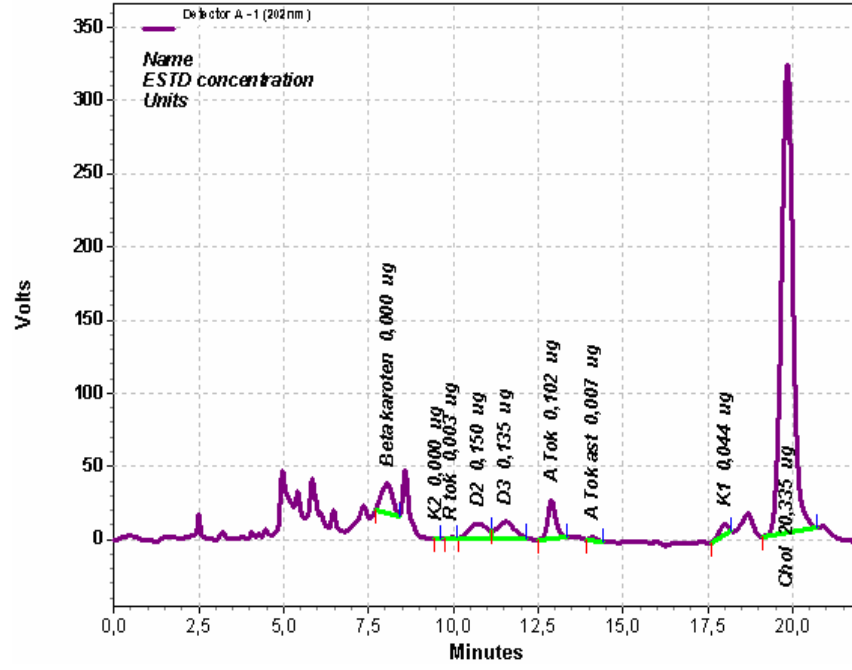
Böbrek dokusunda miristik asit (14:0) düzeyinin hastalık grubu olan DMBA grubu ($p<0.001$) ve antioksidan grupların ($p<0.01$) her ikisinde de yüksek olduğu tespit edildi. Palmitoleik asit (16:1 n-9) düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığı ($p<0.001$), heptadekonoik asit (17:0) düzeylerinin ise arttığı saptandı ($p<0.001$). DMBA grubunda araşidonik asit (20:4 n-6) ve eikosanoik asit (20:0) düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı belirlendi ($p<0.05$). DMBA grubu ($p<0.01$), DMBA+ α -LA grubu ($p<0.05$) ve DMBA+R grubunda ($p<0.001$) dokosadienoik asit (22:2) miktarının azaldığı görülürken dokosatetraenoik asit (22:4) miktarının hem DMBA hem de DMBA+antioksidan grupların tümünde arttığı belirlendi ($p<0.001$). Hem lignoserik asit (24:0) hem de dokosaheksaenoik asit (22:6 n-3) miktarının DMBA grubunda arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Doymuş yağ asidi miktarının DMBA grubu ve DMBA+R grubunda azaldığı ($p<0.05$), doymamış yağ asidi miktarının ise bu gruplarda arttığı belirlendi ($p<0.05$). MUFA düzeyinin tüm gruplarda kontrolden düşük olduğu saptandı ($p<0.05$). PUFA, N3 ve N6 düzeylerinin DMBA grubunda yüksek olduğu ($p<0.05$) saptanırken antioksidan gruplardaki artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).



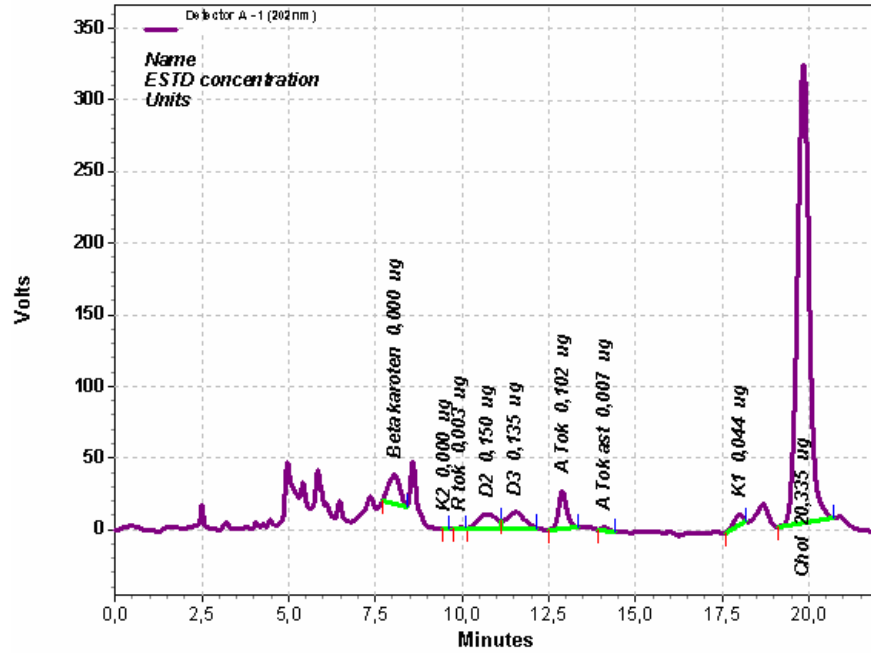
Şekil 11. ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait Standart Kromatogramı 1



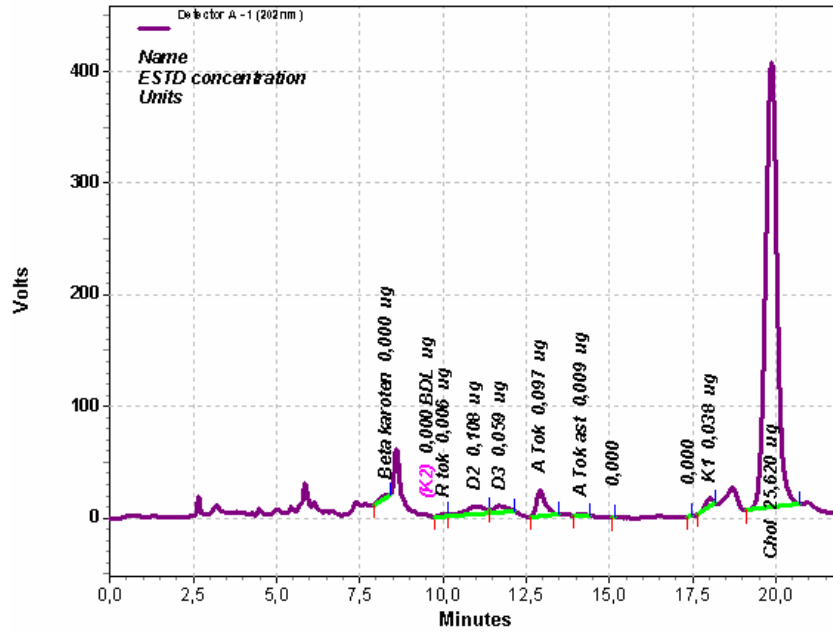
Şekil 12. ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait Standart HPLC Kromatogramı 2



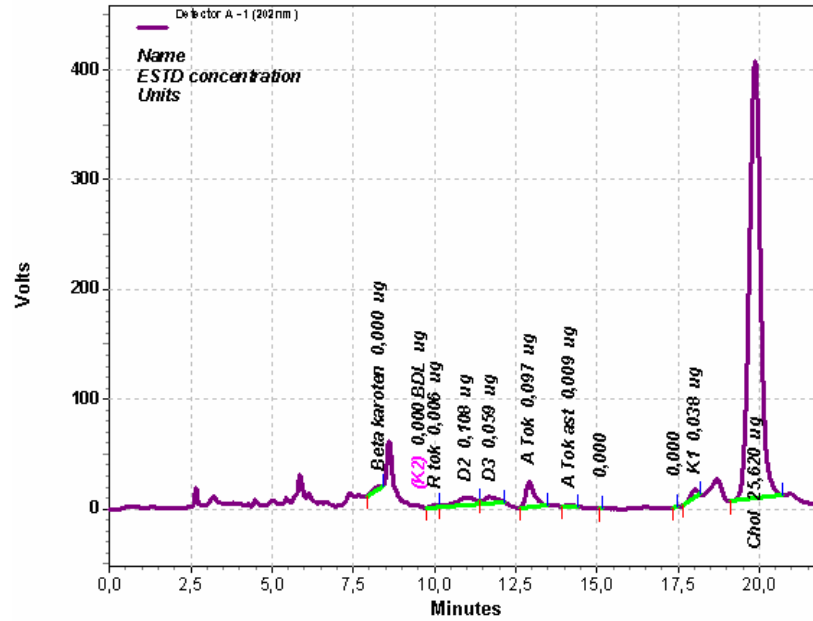
Şekil 13. Serum Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı



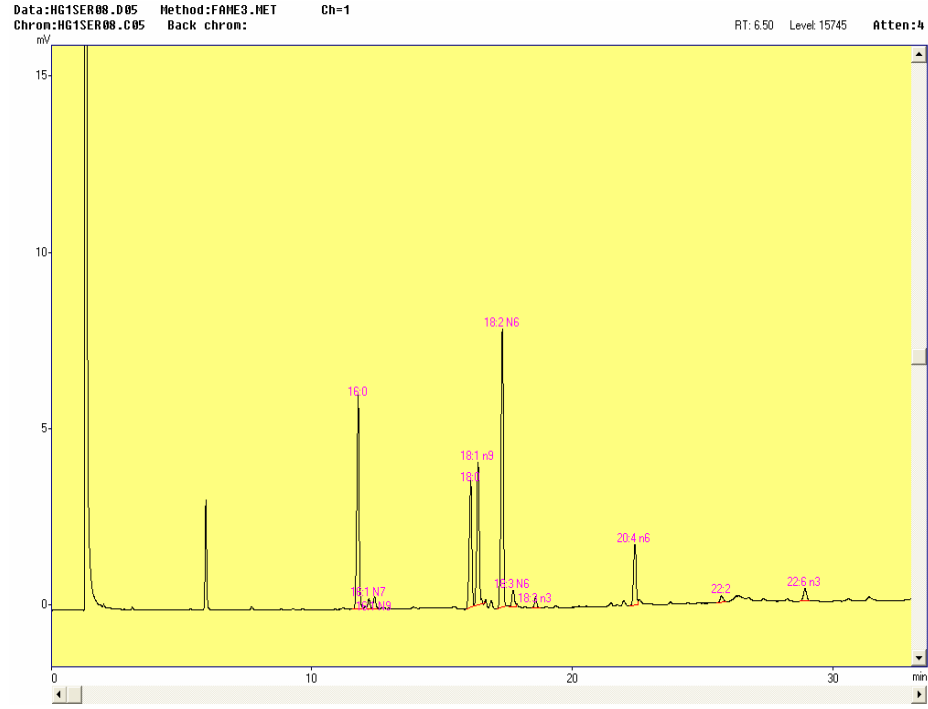
Şekil 14. Eritrosit Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı



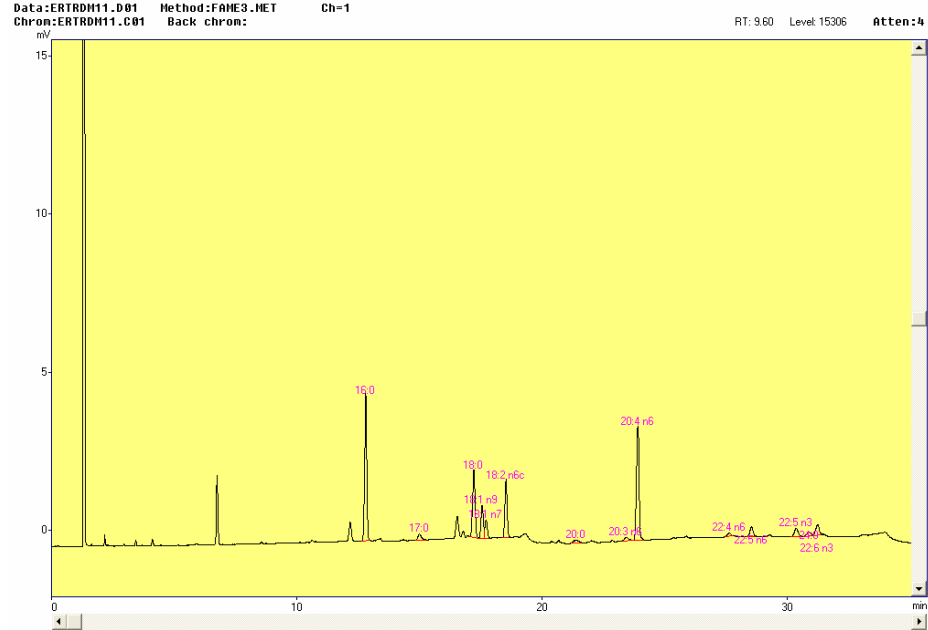
Şekil 15. Karaciğer Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı



Şekil 16. Böbrek Dokusundaki ADEK Vitaminleri ve Kolesterolle ait HPLC Kromatogramı



Şekil 17. Serumdaki yağ asidi metil esterine ait GC kromatogramı



Şekil 18. Eritrositlerdeki yağ asidi metil esterine ait GC kromatogramı

TARTIŞMA ve SONUÇ

Oksidatif stres, vücuttaki antioksidan savunmanın reaktif oksijen türlerine karşı yetersiz kalması sonucu oluşan bir süreçtir. Bir polisiklik aromatik hidrokarbon olan 7,12-dimetilbenzantrazen, oksidatif stresi indükleyerek tümör oluşumuna yol açabilir. Antioksidan moleküller, bu oksidatif strese neden olan serbest radikalleri etkisiz hale dönüştürmelerinden dolayı önemli moleküllerdir (164).

Biz araştırmamızda, resveratrol ve α -lipoik asitin 7,12-DMBA uygulanan yaşlı sıçanların serum, eritrosit, karaciğer ve böbrek dokularında bazı biyokimyasal parametreler ve yağ asitleri üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

Bulgularımızda serumda kolesterol miktarının DMBA+ α -LA grubunda kontrol grubuna göre arttığı gözlenirken DMBA+R grubunda ise kısmen azaldığı belirlendi, eritrositlerde ise kolesterol miktarının DMBA ve DMBA+R gruplarında kontrole göre önemli düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi. Böbrek dokusunda kolesterol miktarının, kontrol grubuna kıyasla DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarındaki artışı istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu iki dokudaki sonuçlara zıt olarak DMBA grubunun karaciğer dokusunda kolesterol miktarında azalma görüldü (Tablo 3).

Kolesterol, bütün hücrelerin membran yapısında yer alan membran lipididir. Ya hücre tarafından asetil CoA'dan endojen olarak sentezlenir ya da diyetle alınarak lipoproteinler vasıtasıyla kullanılacağı yere dolaşım ile taşınır. Kolesterol ile birlikte fosfolipidler ve sifingolipidler hücrelerin membranlarında bulunan yapısal komponentlerdir (150). Yapısal bir komponent olmasına rağmen kolesterolün hücre membranında normal düzeyin üzerine çıkması, hücrenin metabolik fonksiyonları açısından dezavantajlar ortaya çıkarmaktadır. Serumda ya da serumda kolesterol miktarının normal düzeyden yüksek olması, başta kardiovasküler hastalıklar olmak üzere birçok hastalık ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Normal şartlarda kolesterolün büyük çoğunluğu karaciğer dokusunda sentezlenir. Daha sonra dolaşımdaki lipoproteinler vasıtasıyla hedef dokulara taşınır ve kullanılır. Yaşlanma ve değişik faktörler tarafından kolesterol metabolizması etkilenebilir. Deney sonuçlarımızda DMBA+LA grubunun serumunda kolesterol miktarının yüksek olması α -LA'nın etkisiyle açıklanabilir. α -LA iyi bir antioksidan olmasına rağmen (165), enerji metabolizmasında görevli olan piruvat dehidrogenaz enziminin (PDH) de kofaktörü (78) olarak görev yapmaktadır. Normal şartlarda α -LA asit hücre tarafından kısmen sentezlenmektedir (75). Ancak dışardan supplamente edilen α -LA, antioksidan özelliğinin yanında, belirtilen enzimin de aktivitesini arttırmaktadır (75). PDH enziminin aktivitesi ve TCA döngüsü turnoverini artıracığından daha fazla

sitratin oluşumuna neden olacaktır. Organizma ya da hücre yeterli enerji elde edildikten sonra sitrat moleküllerini tekrar sitoplazmaya taşıyarak kolesterol ve yağ asidine yönlendirmektedir. DMBA+ α -LA grubunda serumdaki kolesterol miktarının artışı bu mekanizmanın artışıyla açıklanabilir.

Jee ve arkadaşları (166), Kore kayabalıklarının DMBA'ya maruz bırakılması sonucunda, serumda total protein, albumin ve total kolesterol miktarının azaldığını belirtmişlerdir. Buna karşılık Iqbal ve arkadaşları (167) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada DMBA uygulamasının serum total kolesterol seviyesinin kontrol grubuna göre % 30 ve LDL kolesterol seviyesinin de % 111 düzeyinde yükseldiğini saptamışlardır. Bizim bulgularımızda DMBA grubunun serum, eritrosit ve böbrek dokularında kolesterol düzeyinin arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara zıt olarak, karaciğer dokusunda DMBA grubunda kolesterolün düşük olması, serumdaki kolesterol düzeyinin yüksek olması ile açıklanabilir. Iqbal ve arkadaşları (167) deneysel hiperkolesterolemik durumun hepatik 3-hidroksi-3-metilglutaril CoA (HMG-CoA) reduktaz enziminin protein kütlesi ve aktivitesinin artışından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

DMBA+R grubunun serum örneğinde ise kolesterol miktarının kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir. Bu etkinin resveratrolün hipolipidemik etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

KBrO₃ uygulanan 8 aylık sıçanların serumlarında resveratrol uygulaması yapıldığı halde, kolesterol miktarı yüksek bulunmuştur (69, 168). Fakat aynı çalışmada eritrosit, akciğer, dalak, kalp, karaciğer, kas gibi bazı dokularda kolesterol seviyesinin KBrO₃ ve kontrol grubundan daha düşük olduğu saptanmıştır (168). Bulgularımızda, serumda kolesterol seviyesinin düşük olmasına rağmen, yalnızca DMBA+R grubunun eritrositlerinde yüksek, karaciğer ile böbrek dokularında da kontrol grubuna yakın değerlerin olmasının yukarıdaki çalışma sonucuyla paralellik gösterdiğini ifade edebiliriz.

Resveratrolün hipokolesterolemik etkisi *in vivo* şartlarda gösterilmiştir (169). Bazı araştırmacılar diyetle verilen resveratrolün karaciğer kanser hücreleri taşıyan sıçanlarda anti-metastaz ve anti-tümör gelişimi gibi etkilere sahip olup hipolipidemik olduğunu ileri sürmüşlerdir. Zern ve arkadaşları kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman üzümle beslenen grupta hepatik açıl CoA kolesterol açıltransferaz aktivitesinin % 27 oranında azaldığını bulmuşlardır (170). Buna ek olarak üzüm diyetiyle beslenen kobaylarda aorttaki kolesterol konsantrasyonu % 33 daha düşük bulunmuştur. Laden ve Porter resveratrolün kolesterol biyosentezinde önemli bir enzim olan skualen monooksijenazı inhibe ettiğini rapor etmişlerdir (33). Wang ve arkadaşları resveratrolün

serum lipid seviyelerini değiştirmemesine rağmen *in vivo* şartlarda ADP nedenli platelet agregasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır (171). Laden ve Porter endojen kolesterol biyosentezinin inhibisyonuyla açıklanabilen kardiovasküler hastalıkların gelişimi üzerinde resveratrolün koruyucu etkisinin mümkün olduğunu rapor etmişlerdir (33).

Turner ve arkadaşlarının çalışmasında düşük serum kolesterolüne bir östrojene (17-beta-estradiol) karşı yüksek dozda resveratrol (1000 µg/gün) uygulaması gerçekleştirilmiştir. Düşük dozda verilen resveratrolün vücut ağırlığını, uterin ağırlığını, uterin epitel hücre uzunluklarını, korteks kemik şeklini ve serum kolesterollerini etkilemediği gösterilmiştir. Resveratrolün yardımcı uygulamasıyla 17-beta-estradiol önemli derecede serum kolesterolünü düşürmüştür (172). Miura ve arkadaşları resveratrolün doza bağlı olarak serum trigliseridleri ve VLDL+LDL-kolesterol seviyelerinin her ikisinin de oluşumunu engellediğini bulmuşlardır (169).

Hücre membranlarının dış yüzeyinde, iç yüzeyine oranla iki misli daha fazla bulunan kolesterolün membran sistemi içinde yer alan önemli bir bileşik olduğu belirtilmiştir. Eritrosit membran lipidleri de önemli düzeyde doymamış yağ asitlerinden meydana geldiği için kolesterol miktarındaki azalış ve artış oldukça önemlidir. Hidroksil grubunu su / lipid fazına yerleştiren kolesterolün, hidrofobik kısmı lipid tabakasında çözünmektedir. Bu yerleşime bağlı olarak fosfolipidler, hidrokarbon zincirlerinin molekül hareketliliğini kısıtlamakta ve daha az akışkan olmasına neden olmaktadır. Membran akışkanlığında kolesterol içeriğinin ilişkisi bulunmaktadır (150). Bilindiği gibi membran akışkanlığında doymamış yağ asitlerinin etkisi vardır ve fosfolipidlerin yapısında yer alan doymamış yağ asitleri de bu olayla yakından ilgilidir. Balosenthil ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında tümörlerdeki kolesterol miktarının artışı ile lipid peroksidasyonun artışı arasında ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir (173).

Bulgularımızda, lipid peroksidasyonun sekonder ürünlerinden olan MDA miktarının, DMBA grubunun serum örneklerinde arttığı gözlenirken, DMBA+R grubunun serumunda ise azaldığı saptanmıştır. Eritrositlerde de DMBA grubunda MDA düzeyi artarken, DMBA+α-LA ve DMBA+R antioksidan gruplarında kontrole kıyasla önemli düzeyde azalmıştır. Hücrede endojen olarak oluşan ya da eksojen ajanlar tarafından oluşturulan serbest radikaller, yüksek reaktiviteleri sebebiyle membran yapısındaki biyomoleküllerle etkileşerek lipid peroksidasyona neden olmaktadır. Oluşan lipid peroksitleri kolaylıkla yıkılarak başta MDA olmak üzere farklı sekonder ürünleri meydana getirmektedir.

Çalışmamızda, serum MDA ve eritrosit MDA düzeyleri bakımından mevcut grupları karşılaştırdığımızda 7,12-DMBA uygulanan DMBA grubunda MDA düzeylerinin anlamlı olarak yüksek görülmüş olması 7,12-DMBA'nın radikal etki göstererek ya da reaktif radikal moleküllerin oluşumuna neden olarak oksidatif stresi arttırdığının göstergesidir. DMBA ile birlikte lipoik asit ve resveratrol uygulanan gruplarda MDA düzeylerinin kontrollerden bile düşük düzeyde bulunması bu iki antioksidanın lipid peroksidasyonuna karşı etkili olduklarını göstermiştir. Bulgularımızda elde ettiğimiz bu sonuç farklı literatür çalışmaları ile uygunluk göstermektedir (72,174).

Yılmaz ve arkadaşları $KBrO_3$ kullanarak oluşturdukları böbrek kanseri modelinde $R+KBrO_3$ grubunda tedavi amaçlı kullandıkları resveratrolün lipid peroksidasyonunu engelleyerek serum MDA miktarını ($667,66 \pm 33,67$), kontrol grubundan ($978,00 \pm 12,90$) dahi düşük düzeyde bulduklarını rapor etmişlerdir (69). Bu çalışmada bulgularımıza paralel sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmada lipid peroksidasyon oluşumu, serum ve eritrositlerin $R+KBrO_3$ grubunda resveratrol uygulamasıyla azalmıştır. Olas ve arkadaşları resveratrolün kontrol kan plateletlerinde ve platin bileşikler uygulanmış plateletlerde 8-epi-prostaglandin F-2 (lipid peroksidasyon biyomarkırı)'nin üretimini azalttığını göstermişlerdir (175). Olas ve Wachowicz resveratrol uygulamasının platelet ve serum proteinlerinin nitrasyonunu, oksidasyonunu ve lipid peroksidasyonunu azalttığını ileri sürmüşlerdir (176). Miura ve arkadaşları serum lipid peroksit oluşumunun resveratrol tarafından engellendiğini vurgulamışlardır (169). Her ne kadar bu araştırmacılar bu özelliklerini belirtse de fenolik stilbenler membran lipidlerinin antioksidanı olarak rol oynadıkları gibi resveratrolün H_2O_2 varlığında $ADP-Fe^{3+}$ ile etkileşim sırasında peroksitatif etkisiyle DNA hasarına sebep olduğunu vurgulamışlardır. Resveratrolün antioksidatif aktivitesi oksidatif stresi ve platin bileşiklerin sebep olduğu DNA, proteinler, lipidler gibi hücresel biyomoleküllerdeki hasarı azaltmaktadır (177). Gerçekten resveratrolün insan RPE hücre dizisinde oksidatif stresi azalttığı belirtilmiştir (178). Flavonoidlerin kardiovasküler hastalıklar, kronik inflamatuvar hastalıkları ve kanserdeki oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltan yararlı etkileri rapor edilmiştir (179). Ayrıca alfa lipoik asitin de değişik deneysel modellerde lipid peroksidasyon oluşumunu engellediği ya da azalttığı ifade edilmektedir (165, 180).

Bulgularımızın kapsamında yer alan bazı ADEK vitaminleri, doku ya da hücrenin antioksidan kapasitesi ile doğrudan veya dolaylı olarak ilişkilidir. Bunların başında retinol (A vitamini), α -tokoferol ve α -tokoferol asetat gelmektedir. Bulgularımıza göre, serum retinol miktarı kontrol grubuyla mukayese edildiğinde DMBA ve DMBA+R gruplarında azaldığı saptanırken eritrositlerde retinol miktarının gruplar arasında herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi.

Karaciğerde retinol miktarının antioksidan grupların her ikisinde de yüksek olduğu gözlemlendi. Retinolün böbrek dokusunda miktarının DMBA ve DMBA+R gruplarında arttığı belirlendi.

Serumda α -tokoferol düzeyi DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında kontrol grubuna göre azaldığı saptanırken aynı sonuç eritrositlerde de görülmektedir. Karaciğerde kontrol grubuna göre antioksidan gruplarının ikisinde de α -tokoferol miktarının azaldığı gözlenirken DMBA grubunda görülen kısmen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Böbrek dokusunda ise diğer dokulara zıt olarak DMBA+ α -LA grubunda α -tokoferol miktarı yüksek bulunmuştur. Özellikle serum ve eritrositlerde 7,12-DMBA'nın oluşturduğu oksidatif hasara bağlı olarak α -tokoferol miktarı azalmış olup resveratrol ile lipoik asit uygulaması sonucu DMBA'nın oluşturduğu oksidatif hasarı kısmen tolere etmişlerdir. α -tokoferol miktarındaki bu azalma literatüre de uygunluk göstermektedir (144).

Anbuselvam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sıçanlarda 7,12-DMBA uygulanarak göğüs kanseri oluşturulmuş ve metanolik *Operculina Turpethum*'un antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Kanserli sıçanlarda lipid peroksidasyon seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla kanserli hayvanlarda SOD, CAT, GSH-Px, GSH, vitamin C ve α -tokoferol gibi antioksidanların seviyelerinde azalma görülmüştür. DMBA grubunda belirgin bir tümör ağırlığı artışı görülmüştür (144).

Lipoik asit uygulanan gruptaki α -tokoferol miktarlarındaki azalma, lipoik asitin α -tokoferol radikalini aktif durumlarına dönüştürmede yetersiz olmasından kaynaklanabilir ya da dokudaki α -tokoferol'ün büyük kısmının radikal moleküllerin nötralize edilmesinde kullanılmasından olabilir (91). Yapılan başka bir çalışmada ise iki ayrı deneysel sıçan çalışmasında α -lipoik asitin yaşlanmış sıçanlarda serum α -tokoferol düzeyini ve yaşlı sıçanlarda serum vitamin C düzeyini arttırdığı (181) karaciğer ve böbrek mitokondrisinde de aynı şekilde bu vitaminin miktarında önemli artışa yol açtığı ileri sürülmüştür (182).

Shklar ve arkadaşlarının erkek Gorden hamster sıçanları 4 ayrı gruba ayırarak yaptıkları başka bir çalışmada ise hamster buccal keselerinde 7,12-DMBA etkisine karşı α -tokoferol'ün antioksidan özellikleri araştırılmış ve 14 hafta boyunca haftada 3 kez 7,12-DMBA sol buccal keselere uygulanmıştır. Bir grubu ise DMBA ile birlikte α -tokoferol verilmiştir. Tümör grubuna kıyasla DMBA+VE grubunda tümör hacminde anlamlı bir azalma gözlenmiş ve bu grupta angiogenesis anlamlı bir şekilde engellenmiştir. α -tokoferol'ün angiogenezi engellemesi, α -tokoferol antikanser aktivasyonuna ek bir mekanizma olarak gösterilebilir (127).

Trans-resveratrol ve α -tokoferol kullanılarak yapılan bir çalışmada, trans-resveratrolün lipid peroksidasyonunu baskılamada α -tokoferol'den daha başarılı olduğu rapor edilmiş (183) ve bu sonuçların önceki literatürlere (184) uygunluk gösterildiği belirtilmiştir. Bu durum α -tokoferol'ün trans-resveratrol'den daha az hidroksil grupları ihtiva etmesiyle açıklanmıştır (183).

Serumda D₂ ve D₃ vitamin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi. Eritrositlerde DMBA+ α -LA grubunda D₃ vitamin düzeyi azalırken, DMBA+R grubunda arttığı gözlemlendi. Karaciğerde DMBA grubu ve DMBA+R grubunda D₂ vitamin düzeyinin azaldığı gözlemlendi. Bulgularımızda, özellikle serum ve eritrosit dokularında D₂ ve D₃ vitamin düzeylerinin resveratrol uygulanan grupta kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, resveratrolün serbest radikallere karşı etkili olduğunu belirten çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir.

Zinser ve arkadaşlarının 7,12-DMBA kullanarak oluşturdukları deney modelinde yaptığı bir çalışmada vitamin D-3'ün aktif metaboliti olan 1,25-dihidroksi-vitamin-D-3 *in vivo* ve *in vitro* olarak göğüs kanseri hücre gelişimini engellediği rapor edilmiştir (134).

Özellikle serum ve eritrositlerde D₂ ve D₃ vitamin miktarının artması, intraperitoneal olarak verilen resveratrolün dokulardaki antioksidan kapasitesiyi arttırdığı ve bu antioksidanlarla birlikte çalışmasının bir sonucu olabilir.

Kontrol grubuna göre DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında K₁ vitamin düzeyinin arttığı görüldü. Eritrositlerde DMBA, DMBA+L.A ve DMBA+R gruplarında K₁ vitamini düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı. Karaciğerde K₁ vitamini düzeyi hem hastalık hem de antioksidan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Böbrek dokusunda vitamin K₁ miktarının DMBA grubunda arttığı saptandı.

Serumda vitamin C miktarı, kontrol grubuna göre diğer gruplarda azaldığı halde bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildir. Arulkumaran ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada iyi bir antioksidan ve antikanser ilacı olan SA'nın (*Semecarpus Anacardium* Linn nutmilk extract) oluşturulan deneysel sıçan modelinde 7,12-DMBA'ya bağımlı meme karsinomada vitamin C bakımından zengin olan *Phyllanthus Emblica* Linn. meyvesi SA'nın hem antioksidan hem de antikanser aktivitesini desteklemektedir. DMBA uygulanan sıçanlarda süksinat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz, α -ketoglutarat dehidrogenaz ve izositrat dehidrogenaz gibi mitokondriyal enzimlerin aktivitelerinde düşüş gözlemlenmiştir. Buna zıt olarak C vitamini içeriği yüksek olan Kalpaamruthaa ile

beslenen sıçanlarda lipid peroksit seviyeleri normal düzeyde gözlenmiş olup, antioksidan etki yaptığı anlaşılmıştır (142).

Bulgularımızda, DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarında eritrosit GSH miktarının arttığı saptandı. DMBA+R grubunda ise kontrol grubuna göre kısmen azaldığı belirlendi. Eritrosit GSSG miktarının DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında azaldığı, DMBA+ α -LA grubunda GSH/GSSG oranının kontrol grubuna göre arttığı saptandı.

Glutasyon, tripeptid yapıda bir molekül olup, glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşmuştur. γ -Glutamil-Sisteinil-Glisin diye de adlandırılır. GSH, memeli hücrelerinde 12 mM üzerindeki konsantrasyonlarda mevcut olan bir tiyol bileşiğidir (185). Doku GSH düzeyi sadece senteze katılan enzimler tarafından düzenlenmez, tiol içeren aminoasitlerin yeterince olması da çok önemlidir. İn vivo sentezlenebilen ve ince barsaktan kısmen emilebilen GSH, endojen ve eksojen bir antioksidandır. Glutasyonun oksidasyonu ile GSH-radikali (GS-) oluşur. GS diğer bir GS ile birleşir ve okside GSH (GSSG) oluşur, bu da NADPH bağımlı GSH-redüktazla GSH'a indirgenir. Glutasyon, GSH-transferaz ve peroksidaz için substrat olup ksénobiyotik ve reaktif oksijen türevlerinin detoksifikasyonuna katılır. Ayrıca, antioksidan etkili C ve E vitaminleri üzerinde orta düzeyde koruyucu etkiye sahiptir (186).

Genç ve yaşlı sıçanların kullanıldığı bir çalışmada, α -lipoik asit 7 ve 14 günlük periyodlarla enjekte edilmiş ve serum GSH, TSH, vitamin C ve vitamin E düzeyleri incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada hem genç hem de yaşlı sıçanların kullanıldığı gruplarda α -lipoik asitin serum GSH miktarını artırdığı ve antioksidan sisteme katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (181). İntraperitoneal olarak α -LA uygulanan 8 aylık sıçanların eritrositlerinde kontrol grubuna oranla GSH miktarı önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (187). Bu çalışma sonuçları ile bizim sonuçlarımızın α -LA açısından uyumlu olduğu görülmüştür.

Eritrositlerde GSH miktarının DMBA+R grubunda kontrol grubuna göre azalmış olması resveratrolün prooksidan etkisinden kaynaklanabilir. Flavonoidler ve diğer polifenolikler biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonun oluşumunu önlemekle birlikte prooksidan atkiden dolayı bazı anormal biyokimyasal değişimlere neden olabilmektedir (55).

DMBA+R grubu haricinde, DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarında GSH seviyesinin artması serbest radikallere karşı hücredeki endojen antioksidan savunmanın bir tepkisi olarak düşünülebilir. Özellikle bu gruplarda, kontrol grubuna göre, α -tokoferol seviyesinin azalması sonucu DMBA'dan

kaynaklanan oksidatif strese karşı eritrositler, kendilerini korumak için endojen GSH sentezini arttırarak savunma durumuna geçmiş olabilirler.

Yapılan çalışmalarda, değişik hücre tiplerinde ve modellerde, toksik maddelere maruz kalma sonucunda, hücrenin kendisini savunması için GSH miktarını artırdığı saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada hastalardan izole edilen tümör hücrelerinde GSH seviyesinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Hücredeki GSH miktarındaki artış GSH'ın, ilaçlarla reaksiyona girmesi, reaktif oksijen metabolitleriyle etkileşmesi, proteinler ve DNA'yı hasardan koruması veya DNA tamir işlemine katkıda bulunmasıyla açıklanmıştır (188). Bir diğer çalışmada ise H_2O_2 'e maruz kalan ördek ve tavukların eritrositlerinde GSH seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir (189). Hücredeki glutatyon seviyesindeki bir artış hücreyi antitümör ajanlara, radyasyon ve oksidatif etkilere karşı daha dirençli kılar (190).

DMBA+R grubunda ise, GSH miktarının azalması, resveratrolün prooksidan etkisinden kaynaklanabilir. Flavonoidler ve diğer polifenolikler biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonun oluşumunu önledikleri gibi prooksidan özellikleriyle bazı anormal biyokimyasal değişimlere neden olabilirler (55). Yapılan bir çalışmada, $KBrO_3$ toksitesine maruz bırakılan sıçanların R+ $KBrO_3$ grubunda antioksidan olarak kullanılan resveratrolün eritrosit GSH miktarını ($133,03 \pm 8,81$), kontrol grubundan ($160,03 \pm 8,17$) daha düşük düzeyde bulunmuştur (69). Araştırmacılar, bu durumun resveratrolün prooksidan etkisine bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu araştırma sonucu ile bizim bulgularımızın benzer olduğu görülmektedir.

Gaz kromatografisi ile yaptığımız analizlerde serum, eritrosit, karaciğer ve böbrek dokularında miristik asit (14:0), pentadekanoik asit (15:0), palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1 n-9), heptadekonoik asit (17:0), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1 n-9, n-11), linoleik asit (18:2 n-6), alfa-linolenik (18:3 n-3), eikosenoik asit (20:1 n-9), eikosatrienoik asit (20:3 n-9, 20:3 n-6), araşidonik asit (20:4 n-6), eikosapentaenoik asit (20:5 n-3), behinik asit (22:0), dokosadienoik asit (22:2), dokosatetraenoik asit (22:4), dokosapentaenoik asit (22:5 n-6, 22:5 n-3), lignoserik asit (24:0), dokosaheksaenoik asit (22:6 n-3) gibi yağ asidi çeşitleri saptanmıştır.

Mevcut olan bu yağ asitlerinden: 14:0, 16:0, 16:1 n-7, 18:0, 18:1 n-9 gibi yağ asitleri hayvansal dokularda endojen olarak sentezlenen yağ asitleridir. Bunlardan 16:0, lipogenez olayının (lipid biyosentezi) son ürünüdür. Bu yağ asidi, yağ asidi sentetaz (FAS) enzimi tarafından sentezlenir ve değişik enzimatik reaksiyonlarla serbest hale getirilir. Daha sonra, hücrenin ihtiyacına göre, fosfolipid, sifingolipid, trigliseridler, kolesterol esterleri sentezi ve ayrıca Δ^9

desaturaz (stearoil CoA) enzimi tarafından palmitoleik aside (16:1, n-7-16:1 n-9) ya da elongaz enzimleri tarafından stearik asitin sentezinde kullanılır (191).

Palmitik (16:0) ve stearik asidi (18:0) substrat olarak kullanann stearoil CoA desaturaz (Δ^9 desaturaz) enzimi 16:0'dan 16:1, n7 ile n9'u 18:0'dan 18:1 n-9 ile n-7 gibi tek çift bağılı yağ asitlerin oluşumunu katalize etmektedir. 18:0 yağ asidi ise 16:0 yağ asitinden zincir uzatılma reaksiyonlarıyla ile sentezlenmektedir. Endojen olarak sentezlenen yağ asitlerinin miktarı dikkate alındığında stearoil CoA desaturaz enziminin organizma, doku veya hücrede biyokimyasal ve fizyolojik açıdan ne kadar önemli olduğu görülmektedir. Memeli grubu canlılarda, -COO karbon atomundan sonra, 9-10. C'lar arasına tek bir çift bağ girişi sağlayabilen bu enzim, hücrenin membran yapısının akışkanlığının korunmasında oldukça önemli bir konumdadır. Hem FAS (yağ asidi sentetaz) hem de Δ^9 desaturaz enzimlerinin aktiviteleri farklı diyetlerle beslenme, değişik hormonlar ve diyetle ilave maddeler tarafından etkilenmektedir (191).

Yağ asitleri değişimleri incelendiğinde, palmitik asit (16:0) ve palmitoleik asit (16:1 n-7) miktarının serum, karaciğer ve böbrek dokularında DMBA uygulaması yapılan hastalık ve antioksidan verilen gruplarında belirgin veya kısmen azalmıştır. Çelik ve Özkaya tarafından yapılan bir çalışmada kobay kas dokusunda lipoik asit verilen hayvanlarda palmitik asit miktarının kontrol grubuna (% 34,46±2,90) göre lipoik asit grubunda (%32,39±1,87) düşük bulunmuş, buna karşın aynı çalışmada karaciğer dokusunda lipoik asitin palmitik asit miktarına etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (192).

Kas dokusunda de novo olarak yağ asidi sentezleme kapasitesi olmadığından miyositler bu substrat gereksinimlerini karşılamak için hücre dışı kaynaklardan sağlanan yağ asitlerine yönelirler. Yağ asitleri kalp ve iskelet kaslarında serum albümine bağlı olarak veya lipoprotein döngüsünün merkezinde olan triaçilgliserol formunda sağlanırlar (193). Karaciğerdeki lipid metabolizması çok komplekstir ve pek çok fonksiyonun yanı sıra; yağ asidi sentezi ve düşük dansitedeki lipoproteinlerin sekresyonu, organın organizma içerisindeki pek çok fonksiyonunu yürütmek için gerekli olan enerjinin çoğunu sağlayan çok yüksek bir orandaki yağ asidi oksidasyonu ve keton cisimlerini içerir (194).

Çelik ve Özkaya'nın yaptıkları başka bir çalışmada ise kobaylarda H₂O₂ ile oluşturulan oksidatif strese karşı lipoik asit, vitamin E ve linaloolun total lipid ve yağ asitleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kobay beyin dokusunda lipoik asitin palmitik asit düzeyini azalttığı rapor edilmiştir (195). Yaşlı dişi sıçanlar üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise eritrositlerde α -LA

uygulamasının, palmitik asit düzeyini kontrol grubuna göre azalttığı, karaciğer ve beyin dokularında arttırdığı belirlenmiştir (187).

Ozkan ve arkadaşlarının STZ uygulayarak yaptıkları bir diyabet çalışmasında, beyin dokusunun yağ asidi bileşimi incelenmiş diyabet olmayan ve lipoik asit uygulanan sıçanlarda palmitik asit seviyesi kontrol grubuna göre artış gösterirken diyabet olmayan ve vitamin E uygulanan grupta azaldığı rapor edilmiştir. Lipoik asit grubundaki palmitik asit düzeyinin yükselmesi lipoik asitin PDH (pirüvat dehidrogenaz) enziminin aktive edilmesinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (196).

Bulgularımızda karaciğer dokusunda stearik asitin (18:0) artması ve oleik asitin (18:1 n-9) azalması, stearoil CoA desaturaz enzimi aktivitesinin azalmasıyla açıklanabilir. Bu etkinin temeline bakıldığında DNA'nın DMBA tarafından hasara uğratılması gözlenebilir ve bunun sonucunda SCD enzimini kodlayan genin inhibisyonu olabilir. Resveratrol uygulanan grupta oleik asit miktarının kısmen artması; resveratrolün DMBA'nın toksik etkisine karşı az da olsa iyileştirici etkiye sahip olduğunun göstergesi olabilir. Bu sonuç resveratrolün antikanserojen ve diğer biyolojik etkileriyle açıklanabilir. Lipoik asit uygulanan grupta stearik asitin artması ve oleik asitin azalması bu konu ile ilgili yapılan çalışma sonuçlarıyla uygunluk göstermektedir (195). Yapılan bir çalışmada ise yaşlı sıçanlarda lipoik asitin karaciğer ve eritrositlerde stearik asit miktarını arttığı rapor edilirken aynı çalışmada karaciğer ve beyin dokularında oleik asit düzeyinin kontrol grubuna göre lipoik asit verilen grupta arttığı fakat eritrositlerde azaldığı belirtilmiştir (187). Yaşlı dişi sıçanlarda resveratrolün etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise resveratrol verilen grupta stearik asit düzeylerinin kontrol grubuna göre akciğer, böbrek, serum ve karaciğer dokularında arttığı fakat eritrositlerde azaldığı saptanmıştır. Yine aynı çalışmada resveratrolün akciğer ve böbrek dokularında oleik asit düzeylerini kontrol grubuna göre azalttığı, serum ve eritrositlerde ise arttırdığı tespit edilmiştir (168).

Çelik ve Özkaya'nın DMBA uygulanan kobayların (Guine Pig), karaciğer dokusunda stearik (18:0) ve oleik asitlerle ilgili sonuçları (192) bulgularımızla uygunluk göstermektedir. Ayrıca stearik asitin artışı 16:0'ın azalışıyla da ilişkili olabilir. Çünkü bu yağ asidi dokularda elongaz enzimleri tarafından substrat olarak kullanılarak stearik asit sentezlenmektedir. Bu metabolik yolun sonunda da palmitik asit miktarında azalma görülmektedir (197).

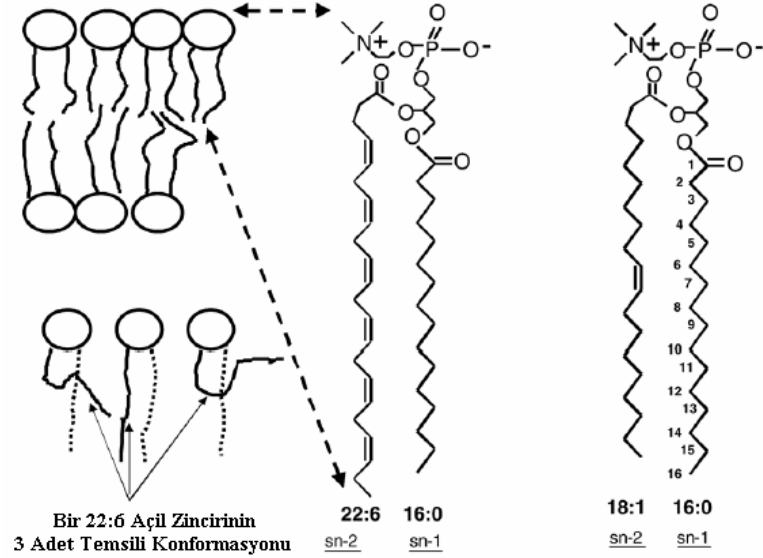
Serum ve karaciğer dokularında gruplardaki linoleik asit (18:2 n-6) düzeyleri kontrol gruplarına göre azalırken eritrosit ve böbrek dokularında önemli bir farklılık göstermemiştir.

Araşidonik asit (20:4 n-6), linoleik asitten Δ^6 desaturasyon yoluyla sentezlenen bir yağ asididir. Bu metabolik yolda başlıca Δ^6 desaturaz ve Δ^5 desaturaz adlı iki enzim sistemi vardır. Eritrosit ve karaciğer dokularında linoleik asit ve araşidonik asit düzeylerinin değişiklik göstermemesi anlamlı olabileceğini düşünmekteyiz. Serumda DMBA+ α -LA grubunda linoleik asit azalırken araşidonik asitin artması Delta 6 desaturasyon yolunun çok aktif olduğunun göstergesi olabilir. Bu sonucun da lipoik asitin metabolik etkilerinden kaynaklandığı söyleyebiliriz. Yapılan bir çalışmada, H_2O_2 'in etkisine karşı verilen lipoik asitin, kobayların beyin dokusunda linoleik asit düzeyini azalttığı ve araşidonik asidi düzeyini yükselttiği saptanmıştır (195). $KBrO_3$ uygulanan yaşlı dişi sıçanlarda resveratrolün etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada $KBrO_3$ ile birlikte verilen resveratrol grubunda akciğer, serum, böbrek ve karaciğer dokularında linoleik asit miktarının azaldığı ve araşidonik asit miktarının arttığı saptanmıştır (168). Yapılan bir başka çalışmada vitamin E, α -lipoik asit, vitamin C ve bu üç antioksidan bileşiğin kombinasyonunun, sıçanların beyin dokularındaki yağ asidi kompozisyonuna olan etkileri araştırılmış ve sıçan beyin dokusunda araşidonik asit düzeyinin kontrol grubuna göre α -lipoik asit uygulanan grupta arttığı rapor edilmiştir (196). Uygulamalar ve dokular farklı olsa da sonucun bulgularımızla uygunluk gösterdiği belirlenmiştir.

DMBA hastalık grubu sıçanların serumlarında hem linoleik asit hem de araşidonik asit miktarının kontrol grubuna göre azalması eikosenoidlerin (prostaglandinler) senteziyle ilişkili olabilir. Çünkü eikosenoid adı verilen ve hormon gibi etkili olan bu moleküller araşidonik asitin lipoksigenaz ve siklooksigenaz enzimleri tarafından kullanılarak lökotrienler, prostoglandinler ve tromboksonlara dönüştürülmesini sağlarlar. Bu moleküller hücrede belirli düzeyde bulunmasına rağmen, değişik fizyolojik, biyokimyasal ve toksikolojik şartlarda miktarları değişebilir. Araşidonik asitin azalması, eikosenoid biyosentezinde görev alan siklooksigenaz ile lipoksigenaz enzimlerinin aktivitelerinin artışıyla açıklanabilir. Ancak, bu sonuçlara rağmen, bu moleküllerle ilgili ayrıca çalışmalara da ihtiyaç duyulabilir.

Dokosaheksaenoik asit (DHA) (22:6 n-3) Δ^6 desaturasyonunun son ürünlerinden biridir. Yapılan çalışmalarda dokosaheksaenoik asitin hastalık şartlarında düzeyinin yükseldiği belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak sentezde görev yapan enzimin hastalık faktörlerinden etkilendiği yönünde görüşler ileri sürülmüştür (156, 198, 199). Bizim çalışmamızda da analizi yapılan serum, eritrosit, karaciğer ve böbrek dokularında hastalık grubu olan DMBA gruplarında dokosaheksaenoik asitin düzeyinin yükseldiği gözlenmiştir. Serum ve karaciğer dokularında hastalık gruplarıyla beraber DMBA+Antioksidan gruplarda da bu değer kontrol grubuna göre

yüksek olduğu halde bu artışın DMBA grubundan daha düşük düzeyde tutulmuş olması resveratrol ve lipoik asitin etkilerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz (Tablo 4, 8).



Şekil 21. İki tane temsili fosfolipidin moleküler yapısı ile bir biyolojik membranın diagramatik temsili (200)

DHA, 22 karbonlu ve 6 çift bağ içeren bir omega-3 aşırı doymamış yağ asididir ve normal olarak biyolojik membranlarda bulunan doymamışlık derecesi en yüksek olan uzun zincirli bir açıl grubudur (200).

Memelilerde 18 karbonlu linolenik asitten 22 karbonlu DHA'nın sentezlenmesi diğer çoklu doymamışları oluşturmada kullanılan benzer enzim sistemleri (elongaz, desaturaz) tarafından gerçekleştirilmektedir (200).

Yağ asidi düzeyleri total olarak incelendiğinde farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Serumda doymuş yağ asitleri miktarları DMBA, DMBA+ α -LA ve DMBA+R gruplarında kontrol grubuna göre azaldığı saptandı. Eritrositlerde DMBA grubu ve DMBA+ α -LA grubunda doymuş yağ asidi düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı. Karaciğer dokusunda gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmezken böbrek dokusunda ise doymuş yağ asidi miktarının DMBA grubu ve DMBA+R grubunda azaldığı tespit edildi.

Serumda kontrol grubuna göre doymamış yağ asitleri düzeyleri ise DMBA grubunda azalırken, DMBA+ α -LA grubunda arttığı, DMBA+R grubunda ise değişmediği, eritrositlerde doymamış yağ asidi düzeylerinde gruplar arası farklılık görülmezken karaciğer dokusunda DMBA+R grubunda doymamış yağ asidi miktarının arttığı görüldü. Böbrekte ise doymamış yağ asidi miktarlarının kontrol grubuna göre tüm gruplarda arttığı belirlendi.

Serumda MUFA'nın DMBA ve DMBA+ α -LA gruplarında azalırken, DMBA+R grubunda arttığı saptandı. PUFA'nın ise DMBA+ α -LA grubunda arttığı DMBA ve DMBA+R gruplarında azaldığı saptandı. Eritrositlerde kontrol grubuna göre DMBA+ α -LA grubu ve DMBA+R grubunda MUFA düzeylerinin yüksek olduğu, DMBA+ α -LA grubundaki PUFA düzeyinin ise yüksek olduğu belirlendi. Karaciğerde DMBA grubunda MUFA düzeylerinin azaldığı gözlenirken tüm grupların PUFA düzeylerinin kontrole göre artmış olduğu saptandı. Böbrek dokusunda ise MUFA düzeyinin tüm gruplarda kontrolden düşük olduğu; PUFA, N3 ve N6 düzeylerinin DMBA grubunda yüksek olduğu saptandı.

Serumda N3 yağ asidi miktarının DMBA, DMBA+L.A ve DMBA+R gruplarında arttığı N₆ yağ asidi miktarının ise sadece DMBA+ α -LA grubunda arttığı diğer gruplarda azaldığı saptandı. Eritrositlerde N₃ yağ asidi miktarının hastalık grubunda yüksek olduğu saptandı. N₆ yağ asidi düzeyinin DMBA+ α -LA grubunda kontrol grubundan düşük olduğu gözlenirken karaciğer dokusunda N₃ yağ asidi miktarının hastalık ve antioksidan gruplarda arttığı tespit edildi.

Dokular arasında birbirine paralel olmayan sonuçlar elde edilmiştir. Bunun nedeni dokuların farklı özelliklere sahip olmasından ve yağ asidi metabolizmasında görev alan enzimlerin farklı aktivitelere sahip olmasından kaynaklanmakta olduğunu düşünmekteyiz.

Değişik biyokimyasal olaylarda faydalı etkileri saptanan resveratrolün ve alfa lipoik asitin 7,12-DMBA etkisine maruz bırakılan yaşlı erkek sıçanların serum, eritrosit, karaciğer ve böbrek dokularında önemli bazı biyokimyasal parametrelere ve yağ asidi kompozisyonuna olan etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu bağlamda HPLC ve gaz kromatografisi kullanarak yaptığımız çalışmalarda 7,12-DMBA ile oluşturulan oksidatif strese karşı resveratrol ve α -lipoik asitin kolesterol düzeylerine, A, D, E, K ve C vitamin düzeylerine lipid peroksidasyonu ve buna bağlı oluşan MDA düzeylerine, antioksidan sistem üyesi GSH ve okside GSSG miktarlarına ve yağ asidi düzeylerine faydalı etkileri olduğunu tespit ettik.

Lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerini serum ve eritrositlerde tayin edip resveratrol ve α -lipoik asitin ilgili değerler üzerinde oldukça faydalı etkileri olduğunu saptadık.

Resveratrol ve lipoik asitin yağ asidi derişimi üzerinde etkileri olduğu yapılan birçok çalışmada vurgulanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz yağ asidi verileri literatürler tarafından desteklenmektedir. Δ^6 desaturasyonunun son ürünlerinden biri olan dokosaheksaenoik asitin, yapılan çalışmaların hemen tamamında hastalık şartlarında düzeyinin yükseldiğı belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak da sentezde görev yapan enzimin hastalık faktörlerinden etkilendiğı yönünde görüşler ileri sürülmüş olup yaptığımız çalışmamızda da serum, karaciğer, eritrositler ve böbrek dokularının DMBA gruplarında, dokosaheksaenoik asitin düzeyinin yükseldiğı gözlenmiştir. Serumda ve karaciğer dokusunda hastalık gruplarıyla beraber antioksidan gruplarda da bu değer yüksek olduğı halde bu artışın DMBA grubundan daha düşük düzeyde tutulmuş olması resveratrol ve lipoik asitin yararlı etkileri olarak sayılabilir.

Tüm bu verilerin ışığı altında yapılan bu çalışmanın bu konular ile ilgili yapılacak daha ileri çalışmaların gerçekleştirilmesi noktasında kişi ve kurumlara ve bu alanda araştırma yapmak isteyen araştırmacılara ışık tutacağı umulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Machlin L.J., Bendich A., 1987, Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients, FASEB J. 1: 441–45.
2. Altan N., Dinçel A.S., Koca C., 2006, Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. Türk Biyokimya Dergisi, 31 (2); 51–56.
3. Loeckie L. De Zwart, John H.N. Meerman, Jan N.M. Commandeur, and Nico P.E. Vermeulen, 1999, Biomarkers of Free Radical Damage Applications in experimental Animal and in Humans, Free Radical Biology & Medicine, 26: 1/2, 202–26.
4. Çavdar C., Sifil A., Çamsarı T., 1997, Reaktif oksijen türleri ve antioksidan savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 3–4: 92–95.
5. Karakaya A., 2003, Polisiklik aromatik hidrokarbonlara maruz kalan bir grup işçide hücrel immün fonksiyonların incelenmesi, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (98-03-00-07).
6. Bloch B., Drefuss W., 1921, Veber die experimentelle erzeugung carcinomen mitlymphdrüsen und iungenmetastagen Durch Teerbestandteile, Schweiz Med, Noschshr, 5: 1033-37.
7. Cavalieri E.L., Rogan E.G., 1992, The approach to understanding aromatic hydrocarbon carcinogenesis –the central role of radical cations in metabolic activation Pharmacology – Therapeutics 55(2): 183-99.
8. Guerin M.R., 1978, Energy sources of polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Gelboin HV & Ts'o POP (Editors), Polycyclic Hydrocarbons and Cancer: Chemistry, Molecular Biology and Environment. Academic Press, New York, 1–42.
9. Das U.N., 2002, Is Metabolic Syndrome Xan Inflammatory Condition?
10. Demir İ., Demirbağ Z., 1999, Polisiklik aromatik hidrokarbonların biyolojik olarak parçalanması. Tr J of Biology, 23: 293–302.
11. Hart L.J., Smith S.A., BJ., Smith., Robertson J., Besteman EG., Holladay SD., 1998, Subacute immunotoxic effects of the polycyclic aromatic hydrocarbon 7,12-

- dimethylbenzanthracene (DMBA) on spleen and pronephros leukocytic cell count and phagocytic cell activity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Toxicology* 41: 17–29.
12. Desai V.G., Casciano D., Feuers R.J., Aidoo A., 2001, Activity profile of glutathione-dependent enzymes and respiratory chain complexes in rats supplemented with antioxidants and treated with carcinogens, *Biochemistry and Biophysics*, 394 (2): 255–64.
 13. Batcioglu K., Karagözler AA., Ozturk IC., Genc M., Bay A., Ozturk F., Aydogdu N., 2005, Comparison of chemopreventive effects of vitamin E plus selenium versus melatonin in 7,12- dimethylbenz(a)anthracene-induced mouse brain damage, *Cancer Detection and Prevention*, 29: 54–58.
 14. Khaidakov M., Bishop M.E., Manjanatha M.G., Lyn-Cook L.E., Desai V.G., Chen J.J., Aidoo A., 2001, Influence of dietary antioxidants on the mutagenicity of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and bleomycin in female rats, *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 480–481: 163–70.
 15. Langcake P., Pryce R.J., 1977, The production of resveratrol and the viniferins by grapevines in response to ultraviolet irradiation, *Phytochemistry*, 16(8): 1193-96.
 16. Fremont L., 2000, Mini review; Biological effects of resveratrol, *Life science*, 66: 663-73.
 17. Celotti L., Ferrarini R., Melcangi R.C., and et al., 1996, Resveratrol content of some wines obtained from dried Valpolicella grapes: Recioto and Amonone ,*J. Chromatogr.*, 730: 47-52.
 18. Jang M., Cai L., Udeani G.O., et al., 1997, Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes, *Science* , 275: 218-220.
 19. Signorelli P., Ghidoni R., 2005, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16: 449– 66.
 20. Longeril M., Salen P., Paillard F. et al., 2002, Mediterranean diet and the French Paradox: two distinct biogeographic concept for one consolidated scientific theory on the role of nutrition in coronary heart disease, *Cardiovasc Res.*, 54: 503-515.
 21. Criqui M.H., Ringel B.L., 1994, Does diet or alcohol explain the French Paradox?, *Lancet*, 344: 1719-23.
 22. Wu J.M., Wang Z., Hsieh J.C. et al., 2001, Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic present in red wine, *Int J. Molecular Medicine*, 8: 3-17.

23. Kuhnle G., Spencer J., Chowrimootoo G., Schroeter H., Debnam ES., Srai SK., Rice-Evans C., Hahn U., 2000, Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 272: 212–17.
24. Bertelli A.A.E., Giovannini L., Stradi R., Bertelli A., 1996, Tillement J.P. Plasma, urine and tissue levels of trans- and cis-resveratrol(3,4,5-trihydroxystibene) after short-term or prolonged administration of red wine to rats, *Int J. Tiss. Reac.* XVIII(2/3): 67–71.
25. Wenzel E., Soldo T., Erbesdobler H., Somoza V., 2005, Bioactivity and metabolism of trans-resveratrol orally administered to Wistar rats, *Mol. Nutr. Food Res.* 49: 482–94.
26. Furchgott R.F., 1983, Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res.* 53: 683–706.
27. Goodman and Gilman's., 2001, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10 ed., editors, Hrdmann J.G. and Limbird L.E.
28. Sharpe P.C., McGrath L.T., 1995, Effects of red wine consumptions on lipoprotein(a) and other risk factors for atherosclerosis, *Q.J.M.*, 88: 101-108.
29. Kim H.J., Chang E.J., 1990, Antioxidative activity of resveratrol and its derivatives isolated from seeds of *Paenonia lactiflora*, *Biosci. Biotechnol Biochem.* 66(9): 1990–93.
30. Nigdikar S.V., Williams .R., Griffin B.A., 1998, Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation *in vivo*, *Am.J. Clin Nutr.* 68: 258-65.
31. Bentzon J.F., Skovenborg E., Hansen C., et al., 2001, Red wine does not reduce mature atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice, *Circulation.* 103: 1681–87.
32. Chopra M., Fitzsimons P.E.E., Strain J.J., et al. 2000, Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations, *Clin. Chem.* 46(8): 1162–70.
33. Laden B.P., Porter T.D., 2001, Resveratrol inhibits human squalene monooxygenase, *Nutrition Res.* 21: 747–53.
34. Belguendouz L., Fremont L., Gozzelino M.T., 1998, Interaction of trans resveratrol with plasma lipoproteins, *Biochem Pharmacology* 55(6): 811-16.

35. Chanvitagapongs S., Draesynska-Lwiak B., Sun A.Y., 1997, Amerlioration of oxidative stres by antioxidants and resveratrol in PC12 cells, *Neuro Report*. 8: 1499–502.
36. Fontacave M., Lepoivre M., Elleingand E., Gerez C., Guittet O., 1998, Resveratrol, a remarkable inhibitor of ribonucleotide reductase. *FEBS Letters*. 421: 277–79.
37. Mitchell S., Zhu W., Young F., 1999, Resveratrol inhibits the expression and function of the androjen reseptor in LNCaP prostate cancer cells, *Cancer Res*. 59: 5892–95.
38. Huang C., Ma W., Goranson A., Dong Z., 1999, Resveratrol suppresses cell transformation and induced apoptosis through a p53-dependent pathway, *Cacinogenesis*. 20: 237–42.
39. Revel A., Raanani H., Younglai E., Xu J., Han R., Savouret J., Casper R.F., 2001, Resveratrol, a natural aryl hidrocarbon reseptor antagonist, protects sperm from DNA damage and apoptosis caused by benzo(a)pyrene, 15: 479–86.
40. Rabert FC., Quesne M., Rogers IM., Shiota T., Jolivet A., Milgrom E., Savouret J.F., 1999, Resveratrol has antagonist activity on the aryl hidrocarbon reseptor: implication of dioxin toxicity, *Mol. Pharmacology*. 56: 784–90.
41. Chun YJ., Kim MY., Guengerich FP., 1999. Resveratrol is a selective human cytochrome P450 1A1 inhibitor. *Bipchem. and Biophys Res Commun*, 262: 20–24.
42. Hsieh T., Juan G., Darzynkiewicz Z., Wu J.M., 1999, Resveratrol increases nitric oxide synthase, induces accumulation of P53 and P21WAF/CIP1 and suppresses cultured bovine pulmonary arter endothelial cell proliferation by perturbing progression through S and G₂, *Cancer Res*, 59: 2596–601.
43. Chan W.K., Delucchi A.B., 2000, Resveratrol, a red wine constituent, is a mechanism-based inactivator of cytochrome P450 3A₄, *Life Science*, 67: 3103–12.
44. Palmieri L., Mameli M., Ronca G., 1999, Effect of resveratrol and some other natural compounds on tyrosine kinaz activity and on cytolysis, *Drugs Exptl Clin Res XXV(2/3)*: 79–85.
45. Stewart J., Ward N., Ioannides C., Brian C., 1999, Resveratrol preferentially inhibit protein kinase C-catalyzed phosphorylation of a cofactor-independent, arginine-rich protein substrate by a novel mechanism, *Biochemistary*, 38: 13244–51.

46. Haworth R.S., Avkiran M., 2001, Inhibition of protein kinase D by resveratrol. *Biochem Pharmacol*, 62: 1647–51.
47. Gusman J., Malonne H., Atassi G., 2001, A reappraisal of chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis*, 22: 1111–17.
48. Asensi M., Medina I., Ortega A., Carretero J., Carmen Bano M., Obrador E., Estrela J., 2001, Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to it's low bioavailability, *Free Radical Biology and Medicine* 33: 387–98.
49. Joe A., Liu H., Suzui M., Vural M.E., Xiao D., Weinstein J.B., 2002, Resveratrol induced growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis, and change in biomarker expression in several human cancer cell lines, *Clinical Cancer Res*, 8: 893–903.
50. Soleas G.J., Grass L., Josephy P., Goldberg D.M., Diamandis E.P., 2002, A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols, *Clinical Biochem*, 35: 119–24.
51. Ahmad A., Syed F.A., Singh S., Hadi S.M., 2005, Prooxidant activity of resveratrol in the presence of copper ions: Mutagenicity in plasmid DNA, *Toxicology Letters*, 159: 1–12.
52. Burkitt M.J., Milne L., 1996, Hydroxyl radical formation Cu (II)-Trolox mixtures: insights into the pro-oxidant properties of α -tocopherol, *FEBS Letters*, 379: 51–54.
53. Podmore I.D., Griffiths H.R., Herbert K.E., Mistry N., Mistry P., Lunec J., 1998, Vitamin C exhibits pro-oxidant properties, *Nature*, 398, 559.
54. Win W., Cao Z., Peng X., Trush M.A., Li Y., 2002, Different effects of genistein and resveratrol on oxidative DNA damage *in vitro*, *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 513: 113–20.
55. Galati, G. Sabzevari, O. Wilson, J.X. O'Brien, P.J., 2002, Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics, *Toxicology* 177, 91-104.
56. Tamba M., Simone G., Quintiliani M., 1986, Interactions of thiyl free radicals with oxygen: a pulse radiolysis study, *Int J Radiat* 50: 595–600.

57. Kundu J.K., Shin Y.K., Surh Y.J., 2006, Resveratrol modulates phorbol ester-induced pro-inflammatory signal transduction pathways in Mouse skin *in vivo*: NF-kB and AP-1 as prime targets, *Biochemical Pharmacology* 72: 1506-15.
58. Pineiro Z., Palma M., Barroso., 2006, Determination of *trans*-resveratrol in grapes by pressurised liquid extraction and fast high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1110: 61–65.
59. Soleas G.J., Grass L., Joseph P.D., Goldberg D.M., Diamandis E.P., 2006, A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenol (reprinted from *Clinical Biochemistry*, 2002, vol.35, pg.119-124), *Clinical Biochemistry*, 39(5): 492–97.
60. Jung K.J., Wallig M.A., Singletary K.W., 2006, Purple grape juice inhibits 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and *in vivo* DMBA-DNA adduct formation, *Cancer Letters* 233 (2): 279–88.
61. Hudson T.S., Hartle D.K., Hursting S.D., Nunez N.P., Wang T.T.Y., Young HA., Arany P., Gren JE., 2007, Inhibition of prostate cancer growth by muscadine grape skin extract and resveratrol through distinct mechanisms, *Cancer Research* 67(17): 8396–405.
62. Kim H., Hall P., Smith M., Kirk M., Prasain J.K., Barnes S., Grubbs C., 2004, Chemoprevention by grape seed extract and genistein in carcinogen-induced mammary cancer in rats is diet dependent, *Journal of Nutrition*, 134 (12): 3445–52.
63. Szaefer H., Cichocki M., Brauze D., Baer-Dubowska W., 2004, Alternation in phase I and II enzyme activities and polycyclic aromatic hydrocarbons-DNA adduct formation by plant phenolics in Mouse epidermis, *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 48(1): 70–77.
64. Ignatowicz E., Balana B., Vulimiri S.V., Szaefer H., Baer-Dubowska W., 2003, The effect of plant phenolics on the formation of 7,12- dimethylbenz(a)anthracene-DNA adducts and TPA-stimulated polymorphonuclear neutrophils chemiluminescence *in vitro*, *Toxicology*, 189 (3): 199–209.
65. Banerjee S., Bueso-Ramos C., Aggarwal BB., 2002, Suppression of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: Role of nuclear factor-kappa B, cyclooxygenase 2, and matrix metalloprotease 9, *Cancer Research* 62 (17): 4945-54.

66. Athar M., Back J.H., Tang X., Kim K.H., Kopelovich L., Bickers D.R., Kim A.L., 2007, Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevention, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 224: 274–83.
67. Whitsett T., Carpenter M., Lamartiniere C., 2006, Resveratrol, but not EGCG, in the diet suppresses DMBA-induced mammary cancer in rats, *J Carcinog.* 5, 15.
68. Kueck A., Opiari A.W., Griffith K.A., Tan L., Choi M., Huang J., Wahl H., Liu R., 2007, Resveratrol inhibits glucose metabolism in human ovarian cancer cells. *Gynecologic Oncology*, 107: 450–57.
69. Yilmaz O., Keser S., Tuzcu M., Cetintas B., 2007, Resveratrol (trans-3,4',5-trihydroxystilbene) decreases lipid peroxidation level and protects antioxidant capacity in sera and erythrocytes of old female Wistar rats induced by the kidney carcinogen potassium bromate, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24: 79–85.
70. Shinohara Y., Toyohira Y., Ueno S., Liu M., Tsutsyi M., Yanagihara N., 2007, Effects of resveratrol, a grape polyphenol, on catecholamine secretion and synthesis in cultured bovine adrenal medullary cells, *Biochemical Pharmacology*, 74(11): 1608–18.
71. Sönmez U., Sönmez A., Erbil G., Tekmen I., Baykara B., 2007, Neuroprotective effects of resveratrol against traumatic brain injury in immature rats, *Neuroscience Letters*, 420: 133–37.
72. Abir KG., Mornagui B., Aounai E., Hammami M., El May M., Gharbi N., Kamoun A., El-Fazaa S., 2007, Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver, *Life Science*, 80: 1033–39.
73. Counet C., Callemien D., Collin S., 2006, Chocolate and cocoa: New sources of *trans*-resveratrol and *trans*-piceid, *Food Chemistry*, 98: 649–57.
74. Evans J., Goldfine I.D., 2000, α -lipoic acid: a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technology&Therapeutics*. 2: 401–13.
75. Packer L., 1998, α -lipoic acid: a metabolic antioxidant which regulates NF-kB signal transduction and protects against oxidative injury, *Drug Metab Rev.* 30: 245–75.

76. Liang J.F., Akaike T., 2000, Inhibition of nitric oxide synthesis in primary cultured Mouse hepatocytes by α -lipoic acid, *Chem Biol Interact* 124 (1): 53–60.
77. Clair D., Zhao Y., Chaiwing L., Oberley T., 2005, Modulation of skin tumorigenesis by SOD. *Biomed Pharmacother* 59: 209(4)-14.
78. Navari-Izzo F., Quartacci M.F., Sgherri C., 2002, Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species, *Plant Physiol. Biochem.* 40: 463–70.
79. Packer L., Witt E.H, Tritschler H.J., 1995, Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant, *Free Radic Biol Med.* 19: 227–50.
80. Cakatay U, 2006, Pro-oxidant action of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid, *Med Hypotheses* 66(1): 110–17.
81. Goralska M., Dackar R., Holley B., McGahan MC., 2003, alpha lipoic acid changes iron uptake and storage in lens epithelial cells, *Exp Eye Res* 76(2): 241–48.
82. Ho Y.S., Lai C.S., Liu H., Ho S.Y., Tai C., Pan M.H., Wang Y.J., 2007, Dihydrolipoic acid inhibits skin tumor promotion through anti-inflammation and anti-oxidation, *Biochemical Pharmacology*, 73: 1786–95.
83. Packer L., Kraemer K., Rimbach G., 2001, Molecular aspect of lipoic acid in the prevention of diabetes complications, *Nutrition* 17: 888–95.
84. Ptaffly J.R., 2001, Lipoic acid : The antioxidant chamneleon.
85. Moini H., Packer L., Saris N.L., 2002, Antioxidant and prooxidant activities of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid, *Toxicology and Applied Pharmacology*. 182: 84-90.
86. Bustamante J., Lodge J.K., Marcocci L., Tritschler H.J., Packer L., Rhin B.H., 1998, α -lipoic acid in liver metabolism and disease, *Free Radic Biol Med* 24: 1023–39.
87. Packer L., Tritschler H.J., 1996, Alpha-lipoic acid: the metabolic antioxidant, *Free Radic Biol Med.* 20: 625–26.
88. Biewenga G.P., Haenen G.R.M.M., Bast A., 1997, The pharmacology of the antioxidant lipoic acid, *Gen Pharmac.* 29: 315–31.
89. Kagan V.E., Shvedova A., Serbinova E., Khan S., Swanson C., Powel R., Packer L., 1992, Dihydrolipoic acid –a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase,

- Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radical. *Biochem Pharmacol.* 44: 1637–49.
90. Lykkesfeldt J., Hagen T.M., Vinarsky V., Ames B.N., 1998, Age-associated decline in ascorbic acid concentration, recycling and biosynthesis in rat hepatocytes –reversal with alpha-lipoic acid supplementation, *FASEB J.* 12: 1183–89.
 91. Scholich H., Murpy M.E., Sies H., 1989, Antioxidant activity of dihydrolipoate against microsomal lipid peroxidation and its dependence on alpha-tocopherol, *Biochem Biophys Acta.* 1001:256–61.
 92. Busse E., Zimmer G., Schopohl B., Kornhuber B., 1992, Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione *in vitro* and *in vivo*, *Arzneimittel-Forschung.* 42:829–31.
 93. Kagan V., Serbinova E., Packer L., 1990, Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling, *Biochem Biophys Res Commun.* 169: 851–57.
 94. Wollin S.D., Jones P.J.H., 2003, α -lipoic acid and cardiovascular disease, *J. Nutr.* 133: 3327–30.
 95. Bulmuş F.G., 2006, Kronik hiperhomosisteinemi oluşturulan ratlarda alfa-lipoik asitin serum ve çeşitli dokularda oksidan antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırılması, Doktora tezi Fırat üniversitesi sağlık bilimleri enstitüsü.
 96. Jones W., Li X., Qu Z.C., Perriott L., Whitesell R.R., May J.M., 2002, Uptake, recycling and antioxidant actions of α -lipoic acid in endothelial cells, *Free Radic Biol Med.* 33: 83–93.
 97. Constantinescu A., Pick U., Handelman G.J., Haramaki N., Han D., Podda M., Tritschler H.J., Packer L., 1995, Reduction and transport of lipoic acid by human erythrocytes, *Biochem Pharmacol.* 50: 253–61.
 98. Arner E.S.J., Nordberg J., Holmgren A., 1996, Efficient reduction of lipoamid and lipoic acid by mammalian thioredoxin reductase, *Biochem Biophys Res Commun.* 225: 268–74.
 99. Akkuş İ., 1995, Antioksidan savunma sistemleri. Ed: Akkuş İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, s.42–45, Mimoza Yayınları Konya.
 100. Maxwell S.R.J., 1995, Prospect for the use of antioxidant therapies, *Drugs* 49., 3: 345-61.

101. Yalçın S.A., 2000, Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi, *Aktüel Tıp Dergisi*. 5:1-7.
102. Antoniadis C., Tousoulis D., Tentolouris C., Toutouzas P., Stefanadis C., 2003, Oxidative stres, antioxidant vitamins and atherosclerosis, *Herz.*, 28: 628-38.
103. Battino M., Bullon P., Wilson M., Newman H., 1999, Oxidative injury and inflammatory peridontal diseases: The challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species, *Crit Rev Oral Biol Med*, 10: 458–76.
104. Battino M., Ferreiro MS., Gallardo I., Newman H.N., Bullon P., 2002, The antioxidant capacity of salvia, *J. Clin Peridontol.*, 29: 189-94.
105. Sahin B., 2004, Alterations in brain antioxidant status, protein oxidation and lipid peroksidation in response to different stres model, *Behav Brain Res*, 155(2):241-48.
106. Martha H., 2000, Biochemical and Physiplogical aspects of human nutrition, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
107. Yu B.P., 1994, Cellular defenses against damage from reaktive oxygen species, *Physiol Rev* 74(1): 139–62.
108. Halliwell B., Chirico S., 1993, Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance, *Am J Clin Nutr* 57(5): 715–24.
109. İlhan N., 1998, Deneysel olarak karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan koblarda oksidan ve antioksidan sistemin incelenmesi, Doktora Tezi Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
110. Yeh Y.Y., Liv L., 2001, Cholesterol lowering effect of garlic extracts and organosulphur compounds: human and animal studies, *J Nutr*, 131: 989–98.
111. Stephaine D.W., Jones P.J.H., 2001, Alcohol, red wine and cardiovascular diseases, *J Nutr* 131: 1401–404.
112. Stamfer M.J., Hu B.F., 1999, The primary prevention of coronary heart disease in women through diet and life style, *Circulation*, (Supp I), 100, 184 (2), 4585.
113. Williams P.I., 1997, Interactive effects of exercise, alcohol and vegetarian diet on coronary artery disease risk factors in runners: The National Runner's Health Study, *Am J Clin Nutr*, 66: 1197–206.

114. Emberson J.R., 2005, Alcohol intake in middle age and risk of cardiovascular disease and mortality: accounting for intake variation over time, *Am J Epidemiol.* 161(9): 856–63.
115. Hornstra G., 1998, Functional food science and cardiovascular system, *Br J Nutr* 80 (suppl 1): 511S–16S.
116. Ku H., Brunk U.T., Sohal R.S., 1993, Relationship between mitochondrial and hydroperoxide production and longevity of mammalian species, *Free Radic Biol Med*, 15: 621–27.
117. Esselty C.B., 2000, In cholesterol lowering moderation kills, *Cleve Clin J Med*, 67(8): 560–64.
118. Cowie M.R., 2002, Coronary risk-time for a more sophisticated approach, *Eur Heart J*, 23: 589–91.
119. Olivia S., 2004, Family history of cardiovascular disease: diastolic blood pressure as a main target, *A. J. H.*, 17(5): 545.
120. Asplund K., 2002, Antioxidants vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systemic review, *J Intern Med* 251: 372–92.
121. Macintyre S., 2004, Socio-economic differences in cardiovascular disease and physical activity: stereotypes and reality, *J R Soc Health*, 124(2): 66–69.
122. Aksoy M., 2000, *Beslenme Biyokimyası*, Hatipoğlu Yayınevi Ankara.
123. Umemura U., Yokota K., 1997, Effectiveness of a healthy education class to increase fish intake evaluated by serum fatty acids compositions, *Nippon Kohsu Eisei Zasshi*, 44(12):901-9.
124. Vince P., 1999, Antioxidant potential of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease, *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 746–61.
125. Shklar G., Schwartz J., Trickler D., Cheverie S.R., 1993, The effectiveness of a mixture of beta-carotene, and ascorbic-acid for cancer prevention, *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 20 (2):145–51.
126. Elaaser A.A, Zakhary N.I., Elguindy S.M., Hafiez A.R.A., Halawa F., Mokhtar N., 1994, Effect of soybean, vicia-faba, and vitamin-C on the carcinogenicity, *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 22(2): 195–200.

127. Shklar G., Schwartz J.L., 1996, Vitamin E inhibits experimental carcinogenesis and tumour angiogenesis, *Oral Oncology-European Journal of Cancer Part B* 32B (2): 114–19.
128. Boissonneault G.A., Hardwick T.A., Bogardus S.L., Chan W.K.M., Tatum V., Glauert H.P., Chow C.K., Decker E.A., 1998, Interactions between carnosine and vitamin E in mammary cancer risk determination, *Nutrition Research*, 18 (4): 723–33.
129. Sawant S.S., Kandarkar S.V., 2000, Role of vitamins C and E as chemopreventive agents in the hamster cheek pouch treated with the oral carcinogen-DMBA, *Oral Diseases*, 6(4):241–47.
130. Balasenthil S., Arivazhagan S., Nagini S., 2000, Garlic enhances circulatory antioxidants during 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis, *Journal of Ethnopharmacology*, 72 (3): 429–33.
131. Bhuvaneswari V., Velmurugan B., Nagini S., 2004, Dose-response effect of tomato paste on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis, *Journal of Experimental & Clinical Cancer*, 23(2): 241–49.
132. Muller K., Zucoloto S., Albuquerque R.F., Vannucchi H., 2007, Lack of inhibitory effect of lycopene on dysplastic lesions induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene in hamster buccal pouch, *Nutrition Research*, 27(9): 574–79.
133. Bhuvaneswari V., Velmurugan B., Nagini S., 2001, Lycopene modulates circulatory antioxidants during hamster buccal pouch carcinogenesis, *Nutrition Research*, 21(11): 1447–53.
134. Zinser G.M., MeEleney K., Welsh J., 2003, Characterization of mammary tumor cell lines type and vitamin D-3 receptor knockout mice, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 200 (1–2): 67–80.
135. Mitchel R.E.J., McCann R.A., 2003, Skin tumor promotion by vitamin E in mice: amplification by ionizing radiation and vitamin C, *Cancer Detection and Prevention*, 27(2):102-8.
136. Ozturk F., Ozturk I.C., Batcioglu K., Vardi N., 2006, The effect of melatonin on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene injury in comparison with vitamin E plus selenium in mouse kidneys, *Fundamental & Clinical Pharmacology* 20(4): 359–64.

137. Zhou H., Qin L.Q., Tang F.L., Ma D.F., Wang P.Y., Wang Y., 2007, Effect of milk on the 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumor model in rat, *Food and Chemical Toxicology*, 45 (10): 1868–72.
138. Bhuvaneswari V., Mohan K.V.P.C., Nagini S., 2004, Combination chemoprevention by tomato and garlic in the hamster buccal pouch carcinogenesis model, *Nutrition Research*, 24(2): 133–46.
139. Kolanjiappan K., Manoharan S., 2005, Chemopreventive efficacy and anti-lipid peroxidative potential of *Jasminum grandiflorum* Linn. on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary carcinogenesis, *Fundamental & Clinical Pharmacology* 19(6): 687–93.
140. Casto B.C., Kresty L.A., Kraly C.L., Pearl D.K., Knobloch T.J., Schut H.A., Stoner G.D., Mallery S.R., Weghorst C.M., 2002, Chemoprevention of oral cancer by black raspberries. *Anticancer Research* 22(6C): 4005–15.
141. Murillo G., Mehta R.G., 2005, Chemoprevention of chemically-induced mammary and colon carcinogenesis by alpha-hydroxyvitamin D-5, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 97(1-2): 129-36.
142. Arulkumaran S., Ramprasath V.R., Shanthi P., Sachdanandam P., 2006, Restorative effect of Kalpaamruthaa, an indigenous preparation, on oxidative damage in mammary gland mitochondrial fraction in experimental mammary carcinoma, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 291(1-2): 77-82.
143. Letchoumy P.V., Subapriya R., Nagini S., Abraham S.K., 2007, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 17(2): 93-100.
144. Anbuselvam C., Vijayavel K., Balasubramanian M.P., 2007, Protective effect of *Operculina turpethum* against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced oxidative stress with reference to breast cancer in experimental rats, *Chemico-Biological Interactions*, 168: 229–36.
145. Batcioglu K., Karagözler A.A., Genc M., Celik S., 2002, Comparison of the chemoprevention potentials of melatonin and vitamin E plus selenium on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced inhibition of Mouse liver antioxidant enzymes, *European Journal of Cancer Prevention*, 11(1): 57–61.

146. Mohan K.V.P.C., Hara Y., Abraham S.K., Nagini S., 2005, Comparative evaluation of the chemopreventive efficacy of green and black tea polyphenols in the hamster buccal pouch carcinogenesis model, *Clinical Biochemistry* 38(10): 879–86.
147. Karaca E., Aytac S., 2007, Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler, *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 22(1): 123–31.
148. Nas S., Gokalp Y.H., Unsal M., 2001, Bitkisel yağ teknolojisi. Pamukkale üniversitesi mimarlık fakültesi matbaası, 322.
149. Kayahan M., 2003, Yağ kimyası. ODTÜ Yayıncılık.
150. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell., 1996, Harper'ın Biyokimyası. Çevirenler: Nurten Dikmeli ve Tuncay Özgünen, Ankara Barış Kitabevi (24. baskı).
151. Tvrzicka E., Vecka M., Stankova B., Zak A., 2002, Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionization detection Quantitative aspects, *Analytica Chimica Acta*, 465: 337–50.
152. Ntambi J.M., Miyazaki M., 2004, Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism, *Progress in Lipid Research*, 43: 91–94.
153. Chuel K.Y., Ntambi M., 1999, Regulation of stearoyl-CoA desaturases genes; Role in cellular metabolism and preadipocyte differentiation, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 266: 1–4.
154. Kitamura Y., Yamagishi M., Okazaki K., Umemura T., Imazawa T., Nishikawa A., Matsumoto W., Hirose M., 2006, Lack of chemopreventive effects of α -eleostearic acid on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced mammary and colon carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats, *Food and Chemical Toxicology*, 44: 271-77.
155. Cheng J.L., Futakuchi M., Ogawa K., Iwata T., Kasai M., Tokudome S., Hirose M., Shirai T., 2003, Dose response study of conjugated fatty acid derived from safflower oil on mammary and colon carcinogenesis pretreated with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine (DMH) in female Sprague-Dawley rats, *Cancer Letters*, 196: 161–68.

156. Jelinska M., Tokarz A., Oledzka R., Alicja C.S., 2003, Effects of dietary linseed, evening primrose or fish oils on fatty acid and prostaglandin E₂ contents in the rat liver and 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced tumours, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-molecular Basis of Disease*, 1637: 193–99.
157. Klatz R, Goldman, R, 1999, *Dramatic Breakthroughs in Anti-aging and Age Reversal Techniques*, New York, pp.266–68.
158. Denisova A, et al, 2001, Role of Membrane Lipids in Regulation of Vulnerability to oxidative stress in PC12 cells implication for aging, *Free Radical Biology of Medicine*. 30: 671–78.
159. Okumuş N, 1995, Yaşlılık ve sağlıklı yaşlanma, *Panzehir Dergisi*, 29: 6–12
160. Bragagnolo, N. Rodriguez-Amaya, D.B., 2003, Comparison of the cholesterol content of Brazilian chicken and quail eggs, *J Food Comp Anal* 16, 2, 147-53.
161. Katsanidis, E. Addis, P.B., 1999, Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue, *Free Radic Biol Med* 27, 11-12, 1137-40.
162. Hara, A. Radin, N.S., 1978, Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Analytical Biochemistry* 90, 420-26.
163. Christie, W.W., 1992, *Gas chromatography and lipids*, The Oil Press Glasgow, 302.
164. Yılmaz I., Ates B., Ozdemir I., Talas Z., Gul M., 2005, Bazı sentetik organoselenyum bileşiklerinin DMBA ile indüklenmiş ratların karaciğer dokuları üzerine koruyucu etkisinin incelenmesi, XIX. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası.
165. Ahmed O., Abdel Z., Randa H., Abdel H., Madeha M.M., Magda M.Y.F., 2008, The potential protective role of alpha-lipoic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage, *Toxicology* 243: 261-70.
166. Jee J.H, Park K.H, Keum Y.H, Kang J.C., 2006, Effects of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene on growth and haematological parameters in Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf), *Aquaculture Research* 37(5): 431–42
167. Iqbal J, Minhajuddin M, Beg Z.H, 2003, Suppression of 7,12-dimethylbenz[alpha]anthracene-induced carcinogenesis and hypercholesterolaemia in rats

by tocotrienol-rich fraction isolated from rice bran oil, European Journal of Cancer Prevention 12 (6): 447–53.

168. Keser S., 2006, Trans-3 ,5, 4'-trihidroksistilben'in, potasyum bromat etkisine maruz bırakılan yaşlı dişi sıçanların bazı dokularındaki biyokimyasal değişimler üzerine etkisi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
169. Miura, D. Miura, Y. Yagasaki, K., 2003, Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats, Life Sci, 73, 1393-1400.
170. Zern, T.L. West, K.L. Fernandez, M.L., 2003, Grape polyphenols decrease plasma triglycerides and cholesterol accumulation in the aorta of ovariectomized guinea pigs, J Nutr. 133, 2268–72.
171. Wang Z.R., Zou J.G., Huang Y.Z., Cao K.J., Xu Y.N., Wu J.M., 2002, Effect of resveratrol on platelet aggregation *in vivo* and *in vitro*, Chinese Med J 115, 378-80.
172. Turner R.T., Evans G.L., Zhang M.Z., Maran A., Sibonga J.D., 1999, Is resveratrol an estrogen agonist in growing rats? Endocrinology 140, 50-54.
173. Balasenthil S., Saroja M., Ramachandran C.R., Nagini S., 2000, Of human and hamsters: comparative analysis of lipid peroxidation, glutathione, and glutathione-dependent enzymes during oral carcinogenesis, British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery, 38: 267–70.
174. Arivazhagan P., Panneersalyam S.R., Panneersalyam C., 2003, Effect of DL-alpha-lipoic acid on the status of lipid peroxidation and lipids in aged rats, J Gerontol A Biol Sci Med Sci 58: 788–91
175. Olas, B. Wachowicz, B. Majsterek, I. Blasiak, J., 2005, Resveratrol may reduce oxidative stress induced by platinum compounds in human plasma, blood platelets and lymphocytes, Anti-Cancer Drugs 16, 6, 659-65.
176. Olas, B. Wachowicz, B., 2005, Resveratrol, a phenolic antioxidant with effects on blood platelet functions, Platelets 16, 251-60.
177. Cao, Y. Wang, F. Liu, H.Y. Fu, Z.D. Han, R., 2005, Resveratrol induces apoptosis and differentiation in acute promyelocytic leukemia (NB4) cells. J Asian Natural Products Res. 7, 633-41.

178. King RE., Kent KD., Bomser JA., 2005. Resveratrol reduces oxidation and proliferation of human retinal pigment epithelial cells via extracellular signal-regulated kinase inhibition, *Chemico-Biological Interaction* 151, 143-149.
179. Kowalski, J. Samojedny, A. Paul, M. Pietsz, G. Wilczok, T., 2005, Effect of apigenin, kaempferol and resveratrol on the expression of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha genes in J774.2 macrophages, *Pharmacological Reports* 57, 390-94.
180. Amudha G., Josephine A., Sudhahar V., Varalakshmi P., 2007. Protective effect of lipoic acid on oxidative and peroxidative damage in cyclosporine A-induced renal toxicity, *International Immunopharmacology*, 7: 1442-49.
181. Arivazhagan P., Juliet P., Panneerselyam C., 2000. Effect of dl-alpha-lipoic acid on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aged rats. *Pharmacol Res* 41: 299–303.
182. Arivazhagan P., Ramanathan K., Panneerselyam C., 2001. Effect of DL-alpha-lipoic acid on mitochondrial enzymes in aged rats. *Chem Biol Interact*, 138: 189–98.
183. Stojanovic S., Sprinz H., Brede O., 2001. Efficiency and mechanism of the antioxidant action of *trans*-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 391(1): 79–89.
184. Frankel EN., Waterhouse AL., Kinsella JE., 1993, Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol, *Lancet* 341 (8852): 1103-04.
185. Dringen R, 2000. metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress neurobiology* 62: 649–71.
186. Karafakıoğlu Y. S., 2007, Nonilfenol toksikasyonuna maruz bırakılan ratlarda taurinin malondialdehit, glutatyon, süperoksit dismutaz ve nitrik oksit üzerine etkilerinin araştırılması: Doktora Tezi Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Biyokimya AD.
187. Öz M., 2003. α -Lipoik asit ve α -tokoferol asetat'ın yaşlı dişi sıçanların eritrosit, karaciğer ve beyin dokularındaki yağ asidi bileşimi, kolesterol ve glutatyon düzeyleri üzerindeki etkileri, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
188. Lu SC., 1999. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *FASEB*

189. Gradinski VB, Stojevic Z, Milinkovic TS, Balenovic T, Pirslijin J, Zdelar TM., 2002. *In vitro* susceptibility of duck, chicken, and pig erythrocyte lipids to peroxidation. *Veterinarni Medicina*, 47:(10-11), 303-8.
190. Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F., 2003, Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification, *Clinica Chimica Acta*, 333: 19-39.
191. Ntambi JM., 1999. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *Journal of Lipid Research* 40(9): 1549–58.
192. Celik S., Ozkaya A., 2002. Increased unsaturated fatty acid levels in liver and muscle of guinea pig induced by vitamin-E, ALA and linalool. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5(8): 881–84.
193. Van BM, deVries JE, VanderVusse GJ., 1997. Long-term effects of fatty acids on cell viability and gene expression of neonatal cardiac myocytes. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 57(1): 39-45.
194. Flávia R. Carren˜o and Mari´lia CL., 2004. Seelaender Liver denervation affects hepatocyte mitochondrial fatty transport capacity. *Cell Biochem Funct* 22: 9–17.
195. Celik S., Ozkaya A., 2002. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H₂O₂. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 35(6): 547–52.
196. Ozkan Y., Yilmaz O., Ozturk Aİ., Erşan Y., 2005. Effects of triple antioxidant combination (vitamin E, vitamin C and α -lipoic acid) with insulin on lipid and cholesterol levels and fatty acid composition of brain tissue in experimental diabetic and non-diabetic rats. *Cell Biology International*, 29: 754–60.
197. Vessby B., Gustafsson IB., Tengblad S., Boberg M., Andersson A., 2002. Desaturation and elongation of fatty acids and insulin action. *Lipids and insulin resistance: the role of fatty acid metabolism and fuel partitioning* *Annals of the New York academy of sciences* 967: 183-95.
198. Brener R.R., 2000, effects of experimental diabetes on the fatty acids composition, molecular species of phosphatidylcholine and physical properties of hepatic microsomal membranes, prostaglandins leukotrienes and essential fatty acids, 63:167-76.

199. Güvenç M., 2004, İnsülin uygulanmayan tip I diabetik albino sıçanların beyin, kas, testis ve akciğer dokularındaki araşidonik asit (20:4 n-6) ve dokosaheksaenoik asit (22:6 n-3) miktarlarının değişimi üzerine alfa lipoik asit ile vitamin C'nin etkileri: Yüksek Lisans Tezi Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
200. Hulbert AJ., (*Article in Press*). The links between membrane composition, metabolic rate and lifespan. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*.

EK TABLOLAR

Ek Tablo:1 Serumda HPLC ve GC analizlerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi

Parametreler	Gruplar (I)	Gruplar (J)	Anlam Farkı (I-J)	Std. Hata	Anlamlılık
Vitamin C	Kontrol	DMBA	2,667	1,608	,103
		LA+DMBA	2,550	1,671	,133
		R+DMBA	1,795	1,637	,277
MDA	Kontrol	DMBA	-15,042(*)	5,707	,011
		LA+DMBA	9,375	5,931	,119
		R+DMBA	18,375(*)	5,810	,003
Vitamin E	Kontrol	DMBA	-1,08216	,63603	,045
		LA+DMBA	-1,23458	,66512	,049
		R+DMBA	-,27125	,70842	,703
Kolesterol	Kontrol	DMBA	-11,64250	8,07951	,156
		LA+DMBA	-25,66639(*)	8,60129	,004
		R+DMBA	10,93679	9,16130	,238
Vitamin D ₂	Kontrol	DMBA	-,115667(*)	,029427	,001
		LA+DMBA	-,390444(*)	,030835	,001
		R+DMBA	-,203000(*)	,031516	,001
Vitamin D ₃	Kontrol	DMBA	-2,677330(*)	,216437	,001
		LA+DMBA	-3,375986(*)	,226337	,001
		R+DMBA	-2,253431(*)	,226337	,001
α - tokoferol	Kontrol	DMBA	1,082216(*)	,281756	,001
		LA+DMBA	2,361347(*)	,294643	,001
		R+DMBA	,812681(*)	,294643	,008
α - tokoferol Ast	Kontrol	DMBA	-,056800	,029699	,063
		LA+DMBA	-,246778(*)	,030371	,000
		R+DMBA	-,058889	,030371	,059
Vitamin K ₁	Kontrol	DMBA	-,055554(*)	,007948	,001
		LA+DMBA	-,025179(*)	,007948	,003
		R+DMBA	-,020429(*)	,007740	,011
Retinol	Kontrol	DMBA	,080477(*)	,013219	,001
		LA+DMBA	-,009139	,013823	,512
		R+DMBA	,046375(*)	,014224	,002
FA 16:0	Kontrol	DMBA	3,34768(*)	,97696	,002
		LA+DMBA	2,62125(*)	,94383	,008
		R+DMBA	1,58125	1,01945	,129
FA 18:0	Kontrol	DMBA	1,06975	,82955	,204
		LA+DMBA	1,69500	,87443	,059
		R+DMBA	-,26125	,94449	,783
FA 18:1 n-9	Kontrol	DMBA	,42875	1,09278	,697
		LA+DMBA	,27250	1,09278	,804
		R+DMBA	-1,57000	1,18034	,191

FA 18:1 n-7	Kontrol	DMBA	-,24333	,21693	,269
		LA+DMBA	-,08375	,20084	,679
		R+DMBA	-,67000(*)	,21693	,004
FA 18:2 n-6	Kontrol	DMBA	4,15000(*)	1,27739	,002
		LA+DMBA	2,01500	1,27739	,122
		R+DMBA	,22875	1,37974	,869
FA 20:4 n-6	Kontrol	DMBA	6,98200(*)	2,03791	,002
		LA+DMBA	-4,89000(*)	2,14815	,028
		R+DMBA	2,32833	2,32027	,321
FA 22:6 n-3	Kontrol	DMBA	-2,47375(*)	,55180	,001
		LA+DMBA	-1,56732(*)	,57117	,009
		R+DMBA	-,97208(*)	,59601	,008

Ek Tablo: 2 Eritrositlerde HPLC ve GC analizlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Parametreler	Gruplar (I)	Gruplar (J)	Anlam Farkı (I-J)	Std. Hata	Anlamlılık
MDA	Kontrol	DMBA	-8,1045(*)	1,9424	,001
		LA+DMBA	11,0700(*)	1,9829	,001
		R+DMBA	18,4409(*)	1,9424	,000
GSH	Kontrol	DMBA	-214,5057(*)	15,6818	,001
		LA+DMBA	-225,6375(*)	16,0085	,001
		R+DMBA	22,9236	16,3990	,168
GSSG	Kontrol	DMBA	-6,9602	7,4849	,357
		LA+DMBA	105,0347(*)	7,8273	,000
		R+DMBA	16,7569(*)	7,8273	,037
GSH/GSSG	Kontrol	DMBA	-1,55977	1,41946	,277
		LA+DMBA	-16,16361(*)	1,48438	,000
		R+DMBA	8,05306(*)	1,48438	,047
Kolesterol	Kontrol	DMBA	-98,84833(*)	19,74053	,001
		LA+DMBA	21,95850	20,51496	,289
		R+DMBA	-77,20114(*)	20,09624	,001
δ-tokoferol	Kontrol	DMBA	,103292	,073101	,163
		LA+DMBA	,270025(*)	,075969	,002
		R+DMBA	-,043148	,074418	,564
Vitamin D ₃	Kontrol	DMBA	-,093958	,129541	,472
		LA+DMBA	,445475(*)	,134623	,002
		R+DMBA	-1,393681(*)	,137906	,001
α-tokoferol	Kontrol	DMBA	1,560292(*)	,145433	,001
		LA+DMBA	1,764575(*)	,151138	,001
		R+DMBA	,625153(*)	,154825	,001
Vitamin K ₁	Kontrol	DMBA	-2,780833(*)	,172304	,000

		LA+DMBA	-,424667(*)	,177954	,022
		R+DMBA	-1,068500(*)	,243674	,001
Retinol	Kontrol	DMBA	-,003575	,001948	,073
		LA+DMBA	,000125	,001995	,950
		R+DMBA	,000347	,001995	,863
FA 16:0	Kontrol	DMBA	-1,00250	,64390	,125
		LA+DMBA	-2,81850(*)	,66916	,001
		R+DMBA	-1,34886(*)	,65550	,044
FA 18:0	Kontrol	DMBA	,06333	,58464	,914
		LA+DMBA	,45850	,60758	,454
		R+DMBA	1,31023(*)	,59518	,032
FA 18:1 n-9	Kontrol	DMBA	-,18167	,92236	,845
		LA+DMBA	-2,03750(*)	,95854	,038
		R+DMBA	-,87841	,93898	,354
FA 18:1 n-7	Kontrol	DMBA	-,19792	,15582	,209
		LA+DMBA	-,51375(*)	,16193	,002
		R+DMBA	-,44011(*)	,15862	,008
FA 18:2 n-6	Kontrol	DMBA	-,08000	,51721	,878
		LA+DMBA	,27500	,53750	,611
		R+DMBA	-,32909	,52653	,535
FA 20:4 n-6	Kontrol	DMBA	,53542	1,10340	,629
		LA+DMBA	1,55575	1,14669	,180
		R+DMBA	1,67830	1,12328	,141
FA 22:5 n-6	Kontrol	DMBA	-,20651	,20533	,320
		LA+DMBA	-,14857	,21778	,498
		R+DMBA	-,30338	,19699	,130
FA 22:5 n-3	Kontrol	DMBA	-,06477	,18641	,730
		LA+DMBA	,02850	,22871	,901
		R+DMBA	,08614	,18641	,646
FA 22: 6 n-3	Kontrol	DMBA	-,75708(*)	,24447	,003
		LA+DMBA	,07375	,25406	,773
		R+DMBA	-,20852	,24888	,406

Ek Tablo: 3 Karaciğer dokusunda HPLC ve GC analizlerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi

Parametreler	Gruplar (I)	Gruplar (J)	Anlam Farkı (I-J)	Std. Hata	Anlamlılık
FA 14:0	Kontrol	DMBA	,02500	,02281	,279
		LA+DMBA	,00000	,02164	1,000
		R+DMBA	,00500	,02164	,818
FA 15:0	Kontrol	DMBA	-,03833(*)	,01744	,032
		LA+DMBA	-,01550	,01813	,396
		R+DMBA	-,06705(*)	,01776	,001

FA 16:0	Kontrol	DMBA	1,53375(*)	,39859	,001
		LA+DMBA	1,54075(*)	,41422	,001
		R+DMBA	1,90011(*)	,40577	,001
FA 16:1 n-9	Kontrol	DMBA	,96409(*)	,14470	,001
		LA+DMBA	,78300(*)	,14771	,001
		R+DMBA	,85045(*)	,14470	,001
FA 17:0	Kontrol	DMBA	-,13500(*)	,03156	,001
		LA+DMBA	-,10250(*)	,03280	,003
		R+DMBA	-,16114(*)	,03213	,001
FA 18:0	Kontrol	DMBA	-1,97958(*)	,58600	,002
		LA+DMBA	-1,25975(*)	,60899	,043
		R+DMBA	-1,11648	,59656	,066
FA 18:1 n-9	Kontrol	DMBA	1,49167(*)	,64666	,025
		LA+DMBA	,02950	,67202	,965
		R+DMBA	,55795	,65831	,400
FA 18:1 n-7	Kontrol	DMBA	-,36500(*)	,17981	,047
		LA+DMBA	-,36250	,18687	,057
		R+DMBA	-,78705(*)	,18305	,001
FA 18:2 n-6	Kontrol	DMBA	1,83500(*)	,68378	,011
		LA+DMBA	1,36650	,71060	,059
		R+DMBA	1,42159(*)	,69610	,046
FA 18:3 n-6	Kontrol	DMBA	-,00750	,03256	,819
		LA+DMBA	,01694	,03164	,595
		R+DMBA	-,00650	,03089	,834
FA 18:3 n-3	Kontrol	DMBA	,19403(*)	,03346	,001
		LA+DMBA	,18657(*)	,03410	,001
		R+DMBA	,12957(*)	,03410	,001
FA 20:1 n-9	Kontrol	DMBA	-,03056	,01695	,078
		LA+DMBA	-,05125(*)	,01744	,005
		R+DMBA	-,04600(*)	,01655	,008
FA 20:1 n-11	Kontrol	DMBA	,00275	,02636	,917
		LA+DMBA	,01125	,02778	,687
		R+DMBA	,00775	,02636	,770
FA 20:2 n-6	Kontrol	DMBA	,03708	,02600	,159
		LA+DMBA	,00025	,02702	,993
		R+DMBA	-,03648	,02647	,174
FA 20:3 n-9	Kontrol	DMBA	,06625(*)	,03338	,038
		LA+DMBA	,06225(*)	,02811	,036
		R+DMBA	,01054	,02552	,683
FA 20:3 n-6	Kontrol	DMBA	,11542(*)	,05053	,026
		LA+DMBA	,16125(*)	,05251	,003
		R+DMBA	-,04193	,05144	,418
FA 20:4 n-6	Kontrol	DMBA	-1,23875	,70067	,082
		LA+DMBA	-,56525	,72815	,441
		R+DMBA	-1,10898	,71329	,126

FA 20:5 n-3	Kontrol	DMBA	,03500	,03308	,295
		LA+DMBA	,07200(*)	,03438	,041
		R+DMBA	,05227	,03368	,126
FA 22:0	Kontrol	DMBA	-,05083(*)	,01654	,003
		LA+DMBA	-,05250(*)	,01719	,003
		R+DMBA	-,05386(*)	,01684	,002
FA 22:2	Kontrol	DMBA	,00225	,02827	,937
		LA+DMBA	,04925	,02827	,087
		R+DMBA	,06443(*)	,02769	,024
FA 22:4	Kontrol	DMBA	-,22958(*)	,04197	,001
		LA+DMBA	-,23225(*)	,04361	,001
		R+DMBA	-,18580(*)	,04272	,001
FA 22:5 n-6	Kontrol	DMBA	-,15071(*)	,05152	,005
		LA+DMBA	-,05000	,04722	,295
		R+DMBA	-,11600(*)	,04722	,018
FA 22:5 n-3	Kontrol	DMBA	-,23833(*)	,10829	,032
		LA+DMBA	-,44850(*)	,11254	,001
		R+DMBA	-,28705(*)	,11024	,012
FA 24:0	Kontrol	DMBA	,07679(*)	,03340	,028
		LA+DMBA	,04143	,03450	,239
		R+DMBA	,01429	,03590	,693
FA 22:6 n-3	Kontrol	DMBA	-2,75042(*)	,57340	,001
		LA+DMBA	-1,61875(*)	,59590	,009
		R+DMBA	-1,53511(*)	,58373	,011
Kolesterol	Kontrol	DMBA	11,61364(*)	2,02788	,001
		LA+DMBA	-2,13100	2,07013	,308
		R+DMBA	1,60364	2,02788	,433
Vitamin E	Kontrol	DMBA	-,62792	,31552	,052
		LA+DMBA	-1,01425(*)	,30801	,002
		R+DMBA	-,74761(*)	,30172	,017
Vitamin K ₂	Kontrol	DMBA	,40159	,27458	,153
		LA+DMBA	,68917	,40005	,094
		R+DMBA	-,47750	,30583	,127
Vitamin D ₂	Kontrol	DMBA	,04190	,16265	,798
		LA+DMBA	,35083(*)	,15957	,035
		R+DMBA	,33048(*)	,16265	,050
Vitamin D ₃	Kontrol	DMBA	,38302	,24312	,129
		LA+DMBA	,28857	,30238	,350
		R+DMBA	,53357	,38680	,181
α -tokoferol	Kontrol	DMBA	,87083	1,17558	,462
		LA+DMBA	2,07306(*)	1,25150	,037
		R+DMBA	1,85932(*)	1,19676	,041

Ek Tablo: 4 Böbrek dokusunda HPLC ve GC analizlerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi

Parametreler	Gruplar (I)	Gruplar (J)	Anlam Farkı (I-J)	Std. Hata	Anlamlılık
Vitamin E	Kontrol	DMBA	-1,20875(*)	,42899	,007
		LA+DMBA	-,50736	,45670	,271
		R+DMBA	-,52534	,43672	,234
Kolesterol	Kontrol	DMBA	-68,06125(*)	26,91035	,014
		LA+DMBA	-64,75153(*)	28,64826	,028
		R+DMBA	-49,91375	27,39527	,074
α -tokoferol	Kontrol	DMBA	-3,29333	3,67495	,376
		LA+DMBA	-16,18000(*)	2,71413	,001
		R+DMBA	-1,25800	3,09458	,687
Vitamin K ₁	Kontrol	DMBA	-14,80903(*)	2,92389	,000
		LA+DMBA	1,00125	3,00866	,741
		R+DMBA	-,79875	3,68484	,830
Retinol	Kontrol	DMBA	-,16819	,10845	,127
		LA+DMBA	-,02486	,10845	,820
		R+DMBA	-,04830	,10370	,643
FA 14:0	Kontrol	DMBA	,23033(*)	,04648	,001
		LA+DMBA	,14033(*)	,04648	,004
		R+DMBA	,14500(*)	,04744	,004
FA 15:0	Kontrol	DMBA	-,03100	,02718	,259
		LA+DMBA	-,03600	,02718	,191
		R+DMBA	-,04378	,02768	,120
FA 16:0	Kontrol	DMBA	1,00100	,67835	,146
		LA+DMBA	,44500	,67835	,515
		R+DMBA	,57778	,69234	,408
FA 16:1 n-9	Kontrol	DMBA	,84750(*)	,16205	,001
		LA+DMBA	,69150(*)	,15656	,001
		R+DMBA	,76528(*)	,15902	,001
FA 17:0	Kontrol	DMBA	-,08767(*)	,02278	,001
		LA+DMBA	-,07667(*)	,02278	,001
		R+DMBA	-,10222(*)	,02325	,001
FA 18:0	Kontrol	DMBA	-,17267	,61750	,781
		LA+DMBA	-,31267	,61750	,615
		R+DMBA	,77444	,63024	,225
FA 18:1 n-9	Kontrol	DMBA	,83533	,81151	,308
		LA+DMBA	,96533	,81151	,240
		R+DMBA	,01056	,82824	,990
FA 18:1 n-7	Kontrol	DMBA	-,21600	,16913	,207
		LA+DMBA	,08000	,16913	,638
		R+DMBA	-,00500	,17262	,977
FA 18:2 n-6	Kontrol	DMBA	,96267	,67884	,162

		LA+DMBA	,72267	,67884	,292
		R+DMBA	-,58056	,69283	,406
FA 18:3 n-3	Kontrol	DMBA	,06400	,03724	,093
		LA+DMBA	,06100	,03225	,065
		R+DMBA	,02378	,03284	,473
FA 20:0	Kontrol	DMBA	-,09250(*)	,05335	,050
		LA+DMBA	-,00889	,05235	,866
		R+DMBA	-,01889	,05235	,720
FA 20:1 n-9	Kontrol	DMBA	-,02100	,03083	,499
		LA+DMBA	-,02600	,03083	,403
		R+DMBA	-,01400	,03140	,658
FA 20:1 n-11	Kontrol	DMBA	-,04350	,08463	,610
		LA+DMBA	-,01800	,08131	,826
		R+DMBA	,00900	,08463	,916
FA 20:2 n-6	Kontrol	DMBA	-,01800	,03739	,632
		LA+DMBA	-,04800	,03739	,205
		R+DMBA	-,04167	,03816	,280
FA 20:3 n-6	Kontrol	DMBA	,11433	,07745	,146
		LA+DMBA	,15233	,07745	,055
		R+DMBA	,02444	,07905	,758
FA 20:4 n-6	Kontrol	DMBA	-2,60933(*)	1,23693	,040
		LA+DMBA	-1,52733	1,23693	,222
		R+DMBA	-,33278	1,26244	,793
FA 20:5 n-3	Kontrol	DMBA	-,00400	,02544	,876
		LA+DMBA	,01300	,02444	,597
		R+DMBA	,03378	,02489	,181
FA 22:2	Kontrol	DMBA	,16133(*)	,05301	,004
		LA+DMBA	,10933(*)	,05301	,044
		R+DMBA	,20722(*)	,05410	,001
FA 22:4	Kontrol	DMBA	-,18133(*)	,03292	,001
		LA+DMBA	-,15556(*)	,03360	,001
		R+DMBA	-,16000(*)	,03360	,001
FA 22:5 n-3	Kontrol	DMBA	-,04733	,02417	,056
		LA+DMBA	-,02389	,02467	,337
		R+DMBA	-,01944	,02467	,434
FA 24:0	Kontrol	DMBA	-,33500(*)	,17934	,046
		LA+DMBA	-,02500	,17934	,890
		R+DMBA	-,01000	,13367	,941
FA 22:6 n-3	Kontrol	DMBA	-,63667(*)	,27705	,026
		LA+DMBA	-,06567	,27705	,814
		R+DMBA	-,29778	,28276	,297

ÖZGEÇMİŞ

Muammer BAŞI, 08.03.1980 tarihinde Elazığ'da doğdu. İlkokulu, Elazığ Namık Kemal İlköğretim Okulu'nda okudu. Ortaokulu ve liseyi Elazığ Anadolu Lisesi'nde okudu.

1998 yılında Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi ve lisans derecesini, 2002 yılında aldı. 2005 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimini tamamladı.

2005 yılı Şubat ayında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı.

2004 yılı Mayıs ayında Fırat Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı ve halen aynı görevi sürdürmektedir.