

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ETİL ALKOL İLE DENEYSEL OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA CEVİZ İÇİNİN (*Juglans regia* L.) KARACİĞER KORUYUCU VE
ANTIOKSİDAN ROLÜNÜN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Bedia BATI
DANIŞMAN: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

VAN-2013

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ETİL ALKOL İLE DENEYSEL OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
CEVİZ İÇİNİN (*Juglans regia* L.) KARACİĞER KORUYUCU VE ANTİOKSİDAN
ROLÜNÜN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Bedia BATI

VAN-2013

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'nın 2012-FBE-D052 nolu projesiyle desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY SAYFASI

Biyoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. İsmail ÇELİK danışmanlığında, Bedia BATI tarafından sunulan “Etil Alkol ile Deneysel Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Ceviz İçinin (*Juglans regia* L.) Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 02/08/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Eşref YEĞİN

İmza:

Üye : Prof. Dr. İsmail ÇELİK

İmza:

Üye : Prof. Dr. Halit DEMİR

İmza:

Üye : Doç. Dr. Yasin TÜLÜCE

İmza:

Üye : Yrd. Doç. Dr. Burak KAPTANER

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/....../2013 tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....
Enstitü Müdürü

ÖZET

ETİL ALKOL İLE DENEYSEL OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN SIÇANLARDA CEVİZ İÇİNİN (*Juglans regia* L.) KARACİĞER KORUYUCU VE ANTIOKSİDAN ROLÜNÜN BELİRLENMESİ

BATİ, Bedia

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

Ağustos 2013, Sayfa 133

Bu çalışmada, ceviz içinin etanol ile deneysel oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda karaciğer koruyucu ve antioksidan rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. 36 adet Wistar albino cinsi sıçanlar 6 deney grubuna ayrılmıştır (kontrol, %20 etanol, %10 ceviz içi, %10 ceviz içi + %20 etanol, %5 ceviz içi ve %5 ceviz içi + %20 etanol). 50 gün muamele sonunda; ceviz içi katılımlı yemin karaciğer koruyucu ve antioksidan rolü için; karaciğer harabiyeti serum enzimlerinden aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gamma glutamil transpeptidaz (GGT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviyeleri, beyin, karaciğer, eritrosit, kalp ve böbrek dokularında antioksidan savunma unsurlarından katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri ile redükte glutatyon (GSH) seviyeleri ve malondialdehit (MDA) içerikleri tespit edilerek değerlendirilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre; %20 etanol grubunun serum AST, ALT, GGT ve LDH enzim seviyeleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde artarken, %10 ceviz içi + %20 etanol ve % 5 ceviz içi + %20 etanol gruplarında ise bu enzimlerin seviyeleri %20 etanol grubuna göre önemli oranda azaldı. Diğer yandan; 50 gün deneysel muamele sonunda; kontrol grubu ile kıyaslandığında %20 etanol grubu beyin, dalak, kalp ve karaciğer dokularında MDA miktarı anlamlı artarken, %10 ve % 5 ceviz içi ilaveli yem gruplarında ise %20 etanol grubuna göre sözkonusu dokularda istatistiki açıdan önemli düzeyde azalma olduğu görüldü.

Ayrıca, etanole maruz bırakılan sıçanların farklı dokulardaki oksidatif stres sonucu antioksidan savunma sistem unsurlarının seviyelerinde dalgalanmalara neden olurken, ceviz içinin bu dalgalanmalara karşı kesin iyileştirici etkileri tespit edilememiştir.

Sonuçlar gösterdi ki, ceviz içinin %20 etanolün 50 günlük süre boyunca oksidatif hasarına karşı karaciğer koruyucu ve antioksidan rolünün olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ceviz içi, Serum enzimleri, Antioksidan savunma sistemi, Malondialdehit, Sıçan

ABSTRACT

DETERMINATION OF HEPATOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT ROLE OF WALNUT (*Juglans regia* L.) IN ETHANOL INDUCED RATS

BATİ, Bedia

PhD, Biological Science

Supervisor: Prof. Dr. İsmail Çelik

August 2013, pages 133

This study was aimed to determine the hepatoprotective and antioxidants effects of walnut against ethanol induced oxidative stres in rats. 36 Wistar albino rats were divided into six experimental groups (control, 20% ethanol, 10% walnut, 10% walnut + 20% ethanol, 5% walnut and 5% walnut + 20% ethanol). At the end of 50 days experiment, the hepatoprotective and antioxidant role of walnut supplementation feed were evaluated by measuring levels of serum liver damage enzymes, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transpeptidase (GGT) and lactate dehydrogenase (LDH), antioxidant defense systems (ADS), such as catalaz (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione-S-transferase (GST), glutathione reductase (GR) activities, reduced glutathione (GSH) levels and malondialdehyde (MDA) contents in the brain, kidney, spleen, erythrocytes, heart and liver tissues of rats.

According to the results, while the levels of AST, ALT, GGT and LDH increased significantly in %20 ethanol group as compared to those of control, some these enzymes were decreased significantly in 10% walnut + 20% ethanol and 5% walnut + 20% ethanol groups with compared to those of %20 ethanol group. On the other hand, while MDA content increased significantly in the brain, spleen, heart and liver tissues of %20 ethanol group in comparison to those of control, the same tissues MDA contents significantly decreased in the 10% and 5% walnut supplementation groups in comparison to those of %20 ethanol group.

Furthermore, while ethanol caused the fluctuate of ADS constituents as a result of oxidative stress condition in the rats, it could have not be determined exactly the healing effects of walnut against the fluctuations.

These results indicate that constituents present in walnut may possess hepatoprotective effects and antioxidant role against %20 ethanol induced oxidative injury during the period of a 50-day.

Key words: Walnut, Serum enzymes, Antioxidant defense system, Malondialdehyde, Rat

ÖN SÖZ

Her şeyin hızla değiştiği günümüz dünyasında, bu değişime paralel olarak yaşamını sürdüren canlılar üzerinde olumlu ya da olumsuz etkiler meydana gelmektedir. Organizmalar bu değişime bazen direnç gösterebilirken bazen de direnç gösterememiştir. İnsanoğlunu da yakından ilgilendiren bu süreçte sentetik ilaçlar yerine doğal antioksidanlar kullanma çabaları da artmaktadır.

Organik bileşiklerin oksidasyona uğramasıyla serbest radikaller oluşur. Serbest radikallerin dokuların yaşlanmasına, kanser, görme bozuklukları ve kalp-damar rahatsızlıkları gibi birçok hastalıklara sebep oldukları bilinmektedir. Bundan dolayı insan vücudunun serbest radikallere karşı korunması büyük önem arz etmektedir. Vücutta bulunan antioksidan enzimler, organizmanın doğal savunma sistemini oluştururlar. Besinlerle alınan ve genellikle vitamin olan antioksidanlar da bu savunmaya katkıda bulunurlar. Fonksiyonel gıdalar kendi özel bileşenleri yoluyla hastalıklardan koruyucu veya tedavi edici etkiye sahiptir.

Son yıllarda üzerinde çalışmaların yoğunlaştığı fonksiyonel gıdalar; temel besin öğeleri gereksinimini karşılama yanında, vücutta özel fizyolojik etki sağlayan, hastalıklardan korunma ve tedavide etkinlik gösteren gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Gıdalar, bileşimlerindeki öğelere bağlı olarak fonksiyonel olabildiği gibi, bu öğelerin yoğun olduğu gıdalardan ayrılarak bir başka gıdaya eklenmekte ve böylece fonksiyonel hale gelmektedir (Açkurt ve ark., 1999).

Cevizin temel besin öğelerini uygun miktarlarda içermesi, özellikle kalp-damar hastalıklarından korunma ve tedavide kullanılan ilaçlara destekleyici olarak yararlanılması ile fonksiyonel gıda olarak düşünülmektedir.

Ülkemiz, ceviz üretiminde Dünya'da ilk sıralarda yer almaktadır. İnsan sağlığı açısından son derece önemli olan ve ülkemiz ekonomisinin büyük oranlarda döviz girdisi sağlayan cevizin iyileştirici özelliklerinin araştırılması son derece önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, ülkemizin önemli ürünlerinden olan ceviz içinin insan sağlığı için önemli olan karaciğer koruyucu ve antioksidan etkisinin *in vivo* olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Doktora çalışmalarım boyunca beni yönlendiren ve her konuda desteğini esirgemeyerek büyük özveride bulunan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. İsmail ÇELİK'e, çalışmalarımı yapabilmem için laboratuvarlarının kapılarını bana aan hocam Prof. Dr. M.Ramazan şEKEROğLU'na, Öğr. Gör. Zübeyir Huyut ve arkadaşlarına, her konuda yanımda olan saygıdeğer babam Yrd. Doç. Dr. Bahri BATI'ye, çalışmalar sırasında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Necati ÖZOK'a, Yrd. Doç. Dr. Aslı YELTEKİN'e, Yrd. Doç. Dr. Yıldıray BAşBUğAN'a, Arş. Gör. Abdulahad DOğAN'a, Arş. Gör. Mehmet Ali TEMİZ'e, Abdullah TURAN'a, Elif ALKAN'a, Ahmet DNDER'e, Biyoloji Bölümünün değerli ğretim elemanlarına, Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'nün personeline, Projemize destek sağlayan YY Bilimsel Araştırma Başkanlığı'na (YY-BAP-2012-FBE-D052) ve her konuda desteğini gördüğüm kıymetli aileme, özellikle eşime teşekkür ederim.

Ağustos 2013

Bedia BATI

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Oksidasyon	1
1.2. Lipid Peroksidasyonu	1
1.3. Serbest Radikaller	2
1.4. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	5
1.4.1. Süperoksit Radikali	6
1.4.2. Hidrojen Peroksit	7
1.4.3. Hidroksil Radikali	9
1.4.4. Singlet Oksijeni	9
1.4.5. Nitrik Oksit	10
1.4.6. Peroksinitrit	10
1.5. Serbest Radikallerin Kaynakları	10
1.5.1. Biyolojik Kaynaklar	11
1.5.2. İntrasellüler Kaynaklar	11
1.6. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar	11
1.6.1. Lipid Peroksidasyonu	12
1.6.2. Proteinler Üzerine Etkileri	13
1.6.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	13
1.6.4. Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri	14
1.7. Antioksidanlar	14
1.7.1. Antioksidan Savunma Sistemleri	15
1.7.1.1. Endojen Antioksidanlar	17

1.7.1.1.1. Enzim Olan Endojen Antioksidanlar	17
1.7.1.1.1.1. Süperoksit dismutaz	18
1.7.1.1.1.2. Katalaz	19
1.7.1.1.1.3. Glutasyon peroksidaz	20
1.7.1.1.1.4. Glutasyon-S-transferazlar	21
1.7.1.1.1.5. Glutasyon redüktaz	22
1.7.1.1.1.6. Mitokondriyal sitokrom oksidaz	22
1.7.1.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	23
1.7.1.1.2.1. Melatonin	24
1.7.1.1.2.2. Glutasyon	24
1.7.1.1.2.3. Ürat	25
1.7.1.1.2.4. Bilirubin	25
1.7.1.1.2.5. Albumin	26
1.7.1.1.2.6. Ferritin	26
1.7.1.1.2.7. Transferrin ve laktoferrin	26
1.7.1.2. Eksojen Antioksidanlar	26
1.7.1.2.1. Vitamin eksojen antioksidanlar	26
1.7.1.2.2. Gıdalarda bulunan eksojen antioksidanlar	29
1.7.1.2.3. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar	29
1.8. Serum Enzimleri	30
1.8.1. Transaminazlar	30
1.8.2. Gamma Glutamil Transferaz	30
1.8.3. Laktat Dehidrogenaz	31
1.9. Oksidatif Stres	31
1.10. Etil Alkol	32
1.11. Ceviz	33
1.12. Cevizin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri	45
1.13. Araştırmanın Amacı	48
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	50
3. MATERYAL ve YÖNTEM	54
3.1. Deneyde Kullanılan Materyaller	54
3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	54

3.3. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	54
3.4. Yemlerin Hazırlanması ve Deney Muamelesi	55
3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	56
3.6. Eritrosit Paketinin Hazırlanması	56
3.7. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi	56
3.8. Analizlerin Yapılması	57
3.8.1. Serum Enzim Seviyelerinin Belirlenmesi	57
3.8.2. Süperoksid Dismutaz Enzim Tayini	57
3.8.3. Katalaz Enzim Tayini	59
3.8.4. Glutasyon Peroksidaz Enzim Tayini	61
3.8.5. Glutasyon-S-Transferaz Enzim Tayini	62
3.8.6. Glutasyon Redüktaz Enzim Tayini	63
3.8.7. Redükte Glutasyon Tayini	64
3.8.8. Lipit Peroksidasyon Tayini	65
3.9. İstatistik Analizler	66
4. BULGULAR	67
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	95
KAYNAKLAR	112
ÖZ GEÇMİŞ	133

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Serbestleşen oksijen moleküllerinin oluşturduğu radikaller	2
Şekil 1.2. Hücrede serbest radikallere bağlı hasarlar	12
Şekil 1.3. Hücrede antioksidan mekanizmaları	15
Şekil 1.4. İnsan dokularındaki major antioksidan enzimler ve bağlı yollar	17
Şekil 1.5. Glutatyonun indirgenmesi	22
Şekil 1.6. Tokoferol türevlerinin kimyasal yapıları	28
Şekil 4.1. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda AST seviyelerinin karşılaştırılması	70
Şekil 4.2. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda ALT seviyelerinin karşılaştırılması	71
Şekil 4.3. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda GGT seviyelerinin karşılaştırılması	72
Şekil 4.4. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda LDH seviyelerinin karşılaştırılması	73
Şekil 4.5. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması	75
Şekil 4.6. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması	78
Şekil 4.7. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması	81
Şekil 4.8. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeylerinin karşılaştırılması	84

Şekil 4.9. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeylerinin karşılaştırılması	87
Şekil 4.10. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması	90
Şekil 4.11. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması	93

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Biyolojik sistemde sık görülen serbest radikaller ve özellikleri	5
Çizelge 1.2. Hidrofilik ve lipofilik fazda bazı antioksidanlar	16
Çizelge 1.3. 2011 yılında Dünyadaki ceviz üretimi	33
Çizelge 1.4. Yıllara göre ülkemiz ceviz üretimi ve ceviz ağacı sayısı	34
Çizelge 1.5. İllere göre ceviz ağacı varlığımız ve üretim miktarları	36
Çizelge 1.6. Cevizdeki yağ asitleri	42
Çizelge 1.7. Cevizdeki aminoasitler	43
Çizelge 4.1. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların serum enzim düzeyleri	69
Çizelge 4.2. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki CAT düzeyleri	74
Çizelge 4.3. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeyleri	77
Çizelge 4.4. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeyleri	80
Çizelge 4.5. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeyleri	83
Çizelge 4.6. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeyleri	86
Çizelge 4.7. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeyleri	89
Çizelge 4.8. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri	92

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μ	Mikron
α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
dk	Dakika
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
M	Molar
mM	Milimolarite
mmol	Milimol
μmol	Mikromol
rpm	Devir/dakika
sn	Saniye
U	Ünite

Kısaltmalar

ΔA	Absorbans değişimi
ADP	Adenozin di fosfat
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
ATP	Adenozin tri fosfat
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DTNB	5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit

GGT	Gamma glutamil transferaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Redükte glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Okside glutasyon
GSSG-R	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon S-transferaz
Hb	Hemoglobin
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
INT	2-(-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klorit
LDH	Laktat dehidrogenaz
LOOH	Lipid hidroperoksit
LPO	Lipid peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
NO [•]	Nitrik oksit radikali
ONOO [•]	Peroksinitrit
O ₂ ^{•-}	Süperoksit radikali
¹ O ₂	Singlet oksijen
OH [•]	Hidroksil radikali
RNA	Ribonükleik asit
ROO [•]	Peroksil radikali
RO [•]	Alkoksil radikali
ROOH	Lipid hidroperoksit
SD	Standart sapma
-SH	Sülfidril
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tribarbütik asit
TCA	Trikloraasetik asit
UV	Ultraviyole ışınlar

1. GİRİŞ

1.1. Oksidasyon

Oksidasyon; diğer bir deyişle yükseltgenme, bir atom veya molekülün bir başkasına elektron vermesidir. Yükseltgenme potansiyeli karşısındakine göre fazla olan madde yükseltgenirken diğeri indirgenir. Organizmada ve besinlerdeki yağlar, proteinler, karbonhidratlar ve diğerk organik komponentler de oksidasyona uğrayabilmekte ve canlı organizma için zararlı metabolitler olan Reaktif Oksijen Türleri (ROT) oluşabilmektedir (Papas, 1996).

1.2. Lipid Peroksidasyonu

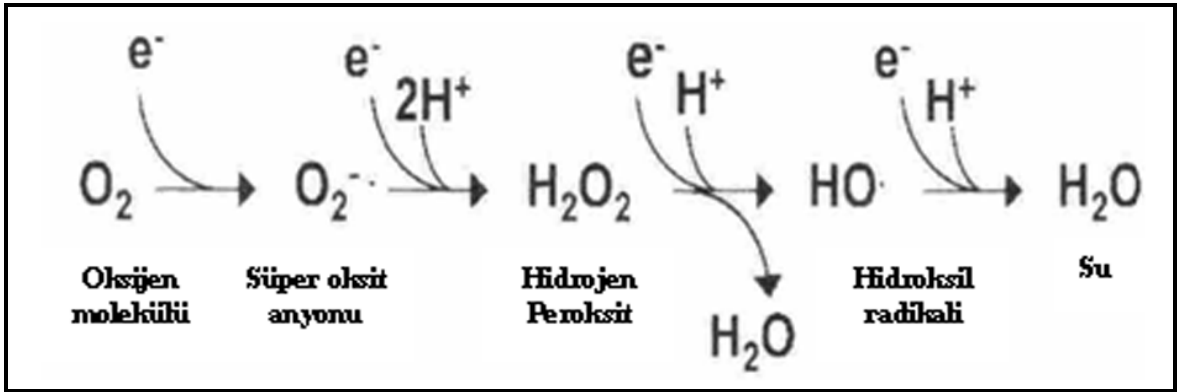
Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. Yağ asidi, hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğerk doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar (Young ve Woodside, 2001; Niki ve ark, 2005; Şekeroğlu ve ark, 2000).

Lipid peroksidler daha sonra malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asit reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (Young ve Woodside, 2001; Niki ve ark., 2005; Masella ve ark., 2005).

Pek çok çalışma diyabetik komplikasyonlar ve lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (Vincent ve ark., 2004; Memişoğulları ve Bakan, 2004; Şekeroğlu ve ark., 2000). Bu yüzden lipid peroksidasyonunun kontrolü çok önemlidir. Bu amaçla hem endojen hem de eksojen antioksidanlar kullanılmaktadır (Niki ve ark., 2005; Özmen ve ark., 2002).

1.3. Serbest Radikaller

Hücrelerde cereyan eden tüm metabolik aktivitelerde serbest radikaller oluşabilmektedirler. Serbest radikaller veya oksidanlar, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, reaktif atom, iyon veya moleküllerdir (Choi ve ark., 2004). Bilindiği gibi organizmada enerji açığa çıkması, metabolik süreçlerde ortaya çıkan serbest elektronların bir sistemden diğerine aktarılmasının sonucudur. Aktarılma esnasında elektron transfer zincirinden sızan elektronların oluşturduğu oksiradikaller (Şekil 1.1.) hücrelerde bütünlük ve geçirgenlik bozuklukları oluşturmaktadır (Fang ve ark., 2002).



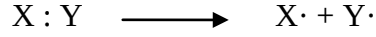
Şekil 1.1. Serbestleşen oksijen moleküllerinin oluşturduğu radikaller (Tuna Keleştemur ve Özdemir, 2011).

Bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktifleri yüksek molekül veya atomlar serbest radikal olarak adlandırılır. Radikal eşlenmemiş elektronun atomik ya da moleküller orbitali kendi başına işgal etmesidir.

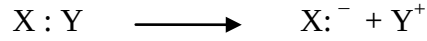
Sembolün üzerine bir nokta konur, bu serbest radikal türlerine özgü bir işarettir (Akkuş, 1995).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

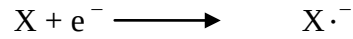
1. Homolitik ayrılma ile radikal oluşumu: Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi sonucu radikal oluşur.



2. Heterolitik bölünme ile radikal oluşumu: Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi sonucu radikal oluşur. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birisinde kalır. Böylece serbest radikaller değil iyonlar meydana gelmiş olur.



3. Elektron transferi ile radikal oluşumu: Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi veya transferi ile radikal oluşumudur.



Atomlarda elektron dağılımı incelendiğinde elektronların yörüngelerde olduğu görülür. Yörüngeler alt yörüngelerden, alt yörüngeler de elektron içeren orbitallerden oluşur. Orbitallerde de, her biri diğerinin fizikokimyasal reaksiyonlara girmesini engelleyen, zıt spinlerde hareket eden elektron çiftleri vardır. Serbest radikallerin dış orbitalleri, genellikle eşlenmemiş elektron içerir. Bu tip atom yada atom kombinasyonları, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemek eğiliminde olduklarından stabil değildir. (Akkuş, 1995; Sen, 1995; Halliwell ve ark., 1995).

Serbest radikaller başlıca, oksijenin normal metabolizma basamaklarında indirgenmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bunun yanı sıra organik maddelerin çürümesi, boyaların kuruması ve plastik maddelerin işlenmesi gibi endüstriyel işlemlerde oksijenin kısmi redüksiyonu ile oluşabilmektedir (Thomas, 1995).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Cu^{2+} , Fe, Mn ve Mo gibi geçiş metallerinde ortaklanmamış elektron olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Ama bu iyonlar reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995).

Serbest radikaller, radikal olmayan moleküllerle (nonradikal) bir kaç şekilde etkileşime girebilir. Serbest radikal, eşlenmemiş elektronunu bir nonradikale verir. Bu olaya redükte edici radikal denir. Başka bir molekülden bir elektron alabilir. Bu türede okside edici radikal olarak isimlendirilir. Ya da bir nonradikalle birleşebilir. Bu üç durumdan hangisi gerçekleşirse gerçekleşsin nonradikal molekül sonuçta yeni bir radikale dönüşmüş olur. Böylece zincirleme reaksiyonlar başlayabilir. Serbest radikalın saldırısına uğrayan atom veya molekül iş yapamaz hale gelir. Şayet etkilenen birimin biyolojik önemi ve onarılıp onarılmamasına bağlı olarak geçici veya kalıcı bozukluklar gözlemlenebilir (Aydın ve ark., 2001; Akkuş, 1995; Reiter, 1998).

Canlıların serbest radikallerin etkisinden korunması için antioksidatif korunma sistemine sahip oldukları bilinmektedir. Bazı durumlarda antioksidatif koruyucu sisteminin iyi çalışmaması sonucunda, serbest radikallerin sayısının vücutta arttığı görülür. Bu durum vücutta bazı hasarlara yol açar. Serbest radikallerin miktarı artıkça hücresel yaşlanma hızlanır, önce hücre ölümü daha sonra doku ölümü gerçekleşir. Buna bağlı olarak beyin damarlarının tahribatına varan hasarlar oluşur (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999). Serbest radikaller, dış orbitallerinde bulunan elektronlarını paylaşabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerler. Böylece somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran ve kanser, diyabet, alerji, katarakt, nörodejeneratif hastalıklar, arterioskleroz gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynayan moleküllerdir (Hurst ve ark., 1997; Jornot ve ark., 1998; Mills ve ark., 1998). Yine canlıların hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi çevresel etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde radikallerin çoğaldığı ve hipoksi, inflamasyon, ısı, iskemi, travma v.b. gibi durumların radikal oluşumunu tetikleyen faktörler olduğu ileri sürülmektedir (Aslan ve ark., 1995; Wickens, 2001). Oksidatif stres ile ilgili savunma mekanizmaları; bu mekanizmaların engellenmesi, onarımı, fiziksel savunma ve antioksidan savunmayı kapsamaktadır. Hücrenin antioksidan savunmasında görev alan enzimlerin düzenleyici etkileri olduğu gösterilmiş olup, kardiyovasküler hastalıklarda oluşan oksidatif stresin iyileştirilmesinde kullanılan antioksidanların yeni terapötik yaklaşımlara ışık tutabileceğini belirtmiştir (Sayın ve ark., 2008).

1.4. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Aerobik organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için organik moleküllerden enerji açığa çıkarmada moleküler oksijeni kullanma mecburiyetinde olmaları, bu canlıları doğal olarak oksijenin toksik metabolik ürünleriyle birlikte yaşamak durumunda bırakmıştır. Oksijen, canlı organizmaları oluşturan moleküllerin yapısına girmesi, besin kaynağı konumundaki maddelerde temel element olması ve aerobik canlılardaki oksidasyon reaksiyonları ve solunumda rol alması nedeniyle de önemlidir (Thurnham, 1990; Erenel ve ark., 1992).

Normal metabolizmada moleküler O_2 'nin % 98'i oksidazlar yoluyla suya çevrilmektedir. Geriye kalan kısmı ise oksijenazlar yoluyla hücre içi organellerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştiren, membranlarda oksidatif yıkıma neden olan reaktif toksik ürünlere dönüştürülür. Bu O_2 metabolizması ürünlerinin azaltılması enzimatik süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve nonenzimatik (glutatyon (GSH) ve β -tokoferol) hücresel savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir (Wohaieb ve Godin, 1987; Wickens, 2001).

Vücutta oluşabilecek çok sayıda serbest radikal tipleri vardır (Çizelge 1.1.). En sık görülenleri reaktif oksijen ürünleri olan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), singlet oksijen ($^1O^{\cdot}$) ve hidrojen peroksittir (H_2O_2).

Çizelge 1.1. Biyolojik sistemde sık görülen serbest radikaller ve özellikleri (Gürbüz, 2008)

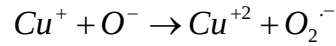
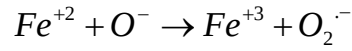
Radikaller	Özellikleri
Hidrojen radikali ($H^{\cdot}$)	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Oksijen metabolizmasının ilk ana ürünü
Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)	En toksik oksijen metaboliti
Singlet oksijen ($^1O^{\cdot}$)	Yarılma ömrü kısa, güçlü oksidatif oksijen formu
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Perhidroksi radikal ($HO_2^{\cdot}$)	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$)	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur.

Çizelge 1.1. Biyolojik sistemde sık görülen serbest radikaller ve özellikleri (devam)

Radikaller	Özellikleri
Triklorometil radikali ($CCl_3 \cdot$)	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali ($RS \cdot$)	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil ($RO \cdot$)	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Azot oksit (NO)	L-arjinin aminoasitinden <i>in vivo</i> 'da üretilir
Azot dioksit (NO_2)	NO 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

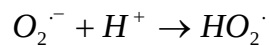
1.4.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit radikali meydana getirebilir (Akkuş, 1995).

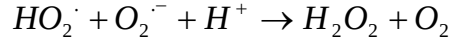


Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.

Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali ($HO_2 \cdot$) oluşturmak üzere protonlanır (Aalt ve ark., 1991).

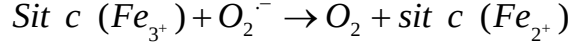


Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküller oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir.



Hem oksidan hem de redüktan özelliğe sahiptir.

Ferrisitokrom c ya da nitroblu tetrazolyum ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküller oksijene okside olur.

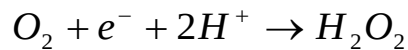
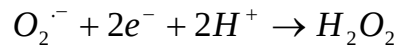


Süperoksit radikali epinefrinin oksidasyonunda oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenir.

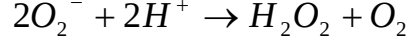
Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin ($NO^{\cdot}$) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur. Peroksinitritin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır (Dawn ve ark., 1996).

1.4.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O_2^-) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar.



Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir. Spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4.8'de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH'da daha belirgindir.

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROT) kapsamına girer (Burtis ve Ashwood, 1999) ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin (O_2^-) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($OH\cdot$) oluşturur. Fenton reaksiyonunun hızı ortalama 4000 kat daha fazladır (Halliwell, 1991).

Fenton reaksiyonu



+



↓



+



+



Haber- Weiss Reaksiyonu



+



↓



+



+

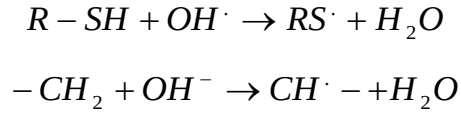


Süperoksit radikalının lipid solubilitesi sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid solubldur. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin olduğu yerden uzakta olan fakat Fe^{2+} içeren membranlarda hasar oluşturabilir.

1.4.3. Hidroksil radikali ($OH^\cdot$)

Hidroksil radikali ($OH^\cdot$), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.

Son derece reaktif bir oksidan radikali olan hidroksil radikalının yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla ROT'un en güçlüsüdür. Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($RS^\cdot$), karbon merkezli organik radikaller ($R^\cdot$), organik peroksitler ($RCOO^\cdot$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur.



1.4.4. Singlet oksijeni ($^1O_2$)

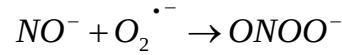
O_2 'in eşlenmemiş elektronlarından birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale kendi spinin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur. Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu olduğu gibi, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olur. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini ($ROO^\cdot$) meydana getirir ve lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Barber ve Haris, 1994).

1.4.5. Nitrik oksit (NO)

NO, yarı ömrü kısa olan fakat çok fazla biyolojik fonksiyonları bulunan bir moleküldür. Hücre membranlarından kolayca difüze olabilen ve hedef hücreleri aktive edebilen yeni bir sinyal ileti molekülü olarak kabul edilmektedir. NO, nötrofiller, makrofajlar, endotel hücreleri, plateletler ve nöronlar tarafından üretilmektedir.

1.4.6. Peroksinitrit ($ONOO^-$)

NO ve süperoksitten oluşmaktadır.



Reaksiyon çok hızlı oluşur. Sadece ksantin oksidaz ile aktive nötrofillerin hızlı süperoksit oluşturması ve nitrik oksit sentetaz aktivasyonu sonucu oluşur. Peroksinitrit oldukça hasar verici bir oksijen radikalidir.

1.5. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller ortaklanmamış elektron zinciri içerir. Bu da en sık olarak elektron transfer zincirinden oluşan elektronların transferi veya oksidazların tek elektron transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli de moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla olur (Cherubini ve ark., 2005; Young ve Woodside, 2001).

Organizmada serbest radikal kaynakları başlıca iki grupta toplanabilir. Bunlar;

1.5.1. Biyolojik kaynaklar

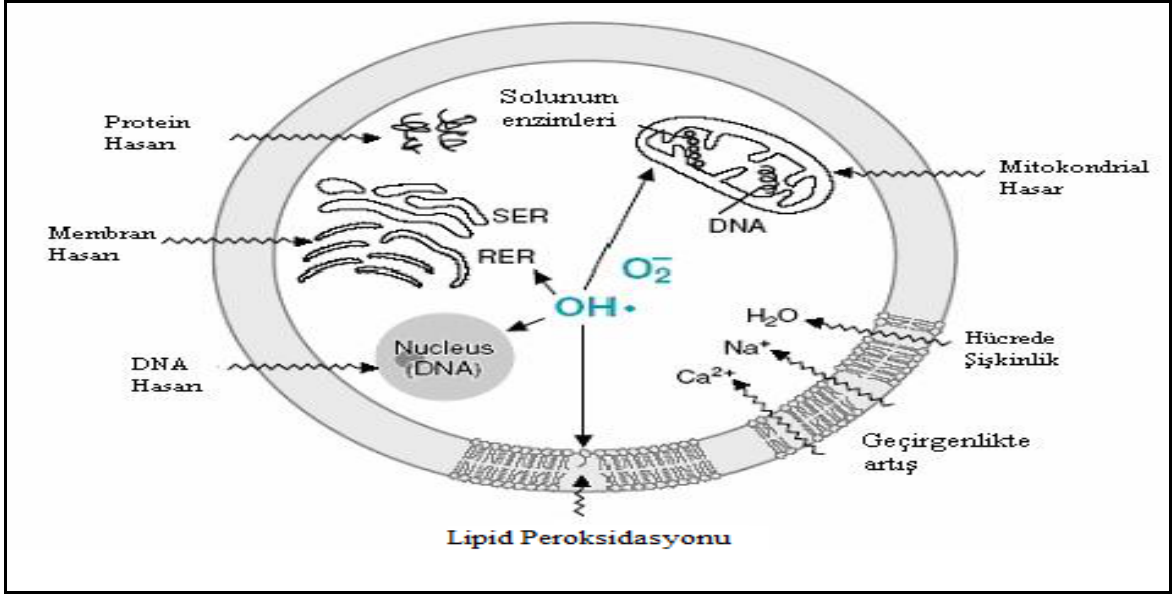
Aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar (kanser ilaçları, örneğin; bleomisin, doksurobisin, andriamisin), radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (alkol, uyuşturucu), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasallar, pestisitler, sigara dumanı, anestezipler), stres (streste artan katekolamin sonucu katekolaminlerin oksidasyonu), bunlara örnek olarak verilebilir (Kappus, 1987; Akkuş, 1995; Mohammad ve ark., 2004, Oruc Özcan ve ark., 2004).

1.5.2. İntrasellüler kaynaklar

Küçük moleküllerin oksidasyonu (tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler), enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dehidrojenaz, hemoglobin), mitokondrial elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum (ER) ve nükleer membran transport sistemi (sitokrom P450, sitokrom b5), peroksizomlar (oksidazlar, flavoproteinler), plazma membranı (lipooksijenaz, lipid peroksidasyonu, fagositlerde NADPH oksidaz), oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma, intoksikasyon) bunlara örnek olarak verilebilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Özkan ve Fışkın, 2004).

1.6. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar

Serbest radikaller, genelde iç ve dış etkenlere bağlı olarak üretimindeki artış ve antioksidan sistemin yetersizliğine bağlı olarak başta membran lipidleri olmak üzere, proteinler, karbonhidratlar ve DNA'ya önemli zararlar verebilmektedir (Bkz. Şekil 1.2.). Bu zararlar hücrenin cinsine, maruz kalınan strese ve şiddetine bağlı olarak (Vaca ve ark., 1987; Freeman ve Crapo, 1982), toksik, mutajenik veya karsinojenik olabilir (Nordberg ve Arner, 2001).



Şekil 1.2. Hücrede serbest radikallere bağlı hasarlar (Gürbüz, 2008).

1.6.1. Lipid peroksidasyonu (Membran lipidlerine etkileri)

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden en çok etkilenen yapı membran lipidleridir (Cheeseman ve Slater, 1993). Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona neden olurlar (Weiss ve Lobuglio, 1982; Freeman ve Crapo, 1982; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Bunun sonucunda membran akışkanlığında bozulma ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir (Kavas, 1989).

Peroksidasyon, bir metilen grubundan bir H atomunu yerinden çıkartan herhangi bir serbest radikal türü ile başlayabilir. Bu olay çift bağa komşu metilen grubu üzerinde daha da kolaydır. Oksijen peroksil radikalini oluşturmak için karbon radikaline eklenir ve sonuçta diğer lipid molekülünden bir H atomu çıkarır, lipid hidroperoksil oluşturur. Böylece zincirleme reaksiyon başlar. Sıklık peroksitler yeniden düzenlenme ile endoperoksitlere, daha ileri oksidasyon ile de malondialdehite (MDA) dönüşebilirler (Sinclair ve ark., 1990; Erenel ve ark., 1992).

MDA hücre membranlarında iyon alışverişine etki ederek bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak hücrede iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitelerinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Moslen, 1994).

1.6.2. Proteinler üzerine etkileri

Proteinlerin serbest radikal hasarlarından ne derece etkileneceği proteinin aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi daha yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenmektedirler (Nordberg ve Arner, 2001; Netto ve ark., 2002).

“Hem” proteinleri de serbest radikallerin oluşturduğu hasarlardan büyük ölçüde etkilenirler, özellikle oksihemoglobin süperoksit ve hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek methemoglobini oluşturur (Rice-Evans ve ark., 1991; Brantley, 1993; Akkuş, 1995; Domigan ve ark., 1995).

Proteinlerin tiyol gruplarının oksidasyonu, enzim fonksiyonundaki kayıplara, membran iyon ve metabolit transportunda aksamalara ve kontraktıl fonksiyonlarda bozulmalara neden olmaktadır (Shacter, 2000).

Serbest radikallerin proteinler üzerinde neden olduğu başlıca değişiklikler şunlardır (Erenel ve ark., 1992);

- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- Proteinlerin fragmentasyonu,
- Proteinlerin agregasyonu ve çapraz bağlanmalar

1.6.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve okzoaldehitler oluşabilir. Bunlar, diyabet, kanser, sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Doymamış yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonun bir ürünü olan glioksalinin hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir. Okzalaldehitler DNA, ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanır ve antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanmaya neden olurlar (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995).

1.6.4. Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikallerin mutajenik etkilerinden dolayı DNA üzerinde önemli hasarlara neden olduğu bilinmektedir (Halliwell, 1994; Marnett, 2000). DNA-protein çapraz bağları, pürinlerin otooksidasyonu gibi bazı durumlar reaktif oksijen türlerinin özellikle de hidroksil radikalının neden olduğu hasarlardır (Gümrükçüoğlu, 2009; Mates ve ark., 1999). Ayrıca aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membrandan geçerek hücre çekirdeğinde hasarlara yol açabilmektedir (Halliwell, 1994; Ames ve ark., 1993; Cheeseman ve Slater, 1993; Lunec ve Blake, 1990). Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınlarında oluşursa pürin ve pirimidin bazlarına etki ederek mutasyona neden olur. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girerler (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

1.7. Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksijenin tahrip edici reaksiyonuna (oksidasyon) karşı koruyucu özellik gösteren maddelerdir. Organizma gerek iç (sindirim, solunum, hastalık, yaralanma vb.) ve gerekse dış (çevresel faktörler) etkenlerin uyarımlarıyla sürekli baskı altındadır. Bu baskılar sırasında ve sonrasında oluşan oksidan moleküller hücrelere ve dokulara saldırarak tahribata neden olur (Quiles ve ark., 2002). Organizmada, reaktif oksijen türlerini ve diğer prooksidanları, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal gidericiler ve antioksidan enzimlerle sürekli etkisizleştiren bir sistem mevcuttur. Reaktif oksijen türlerine karşı hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim (enzim olmayan) savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi denilmektedir (Ritola ve ark., 2002; McLean ve ark., 2005).

1.7.1. Antioksidan savunma sistemleri

Organizmada serbest radikallerin oluşumunu ve zararlı etkilerini engellemek için antioksidan savunma sistemleri mevcuttur (Ilizarov ve ark., 2001).

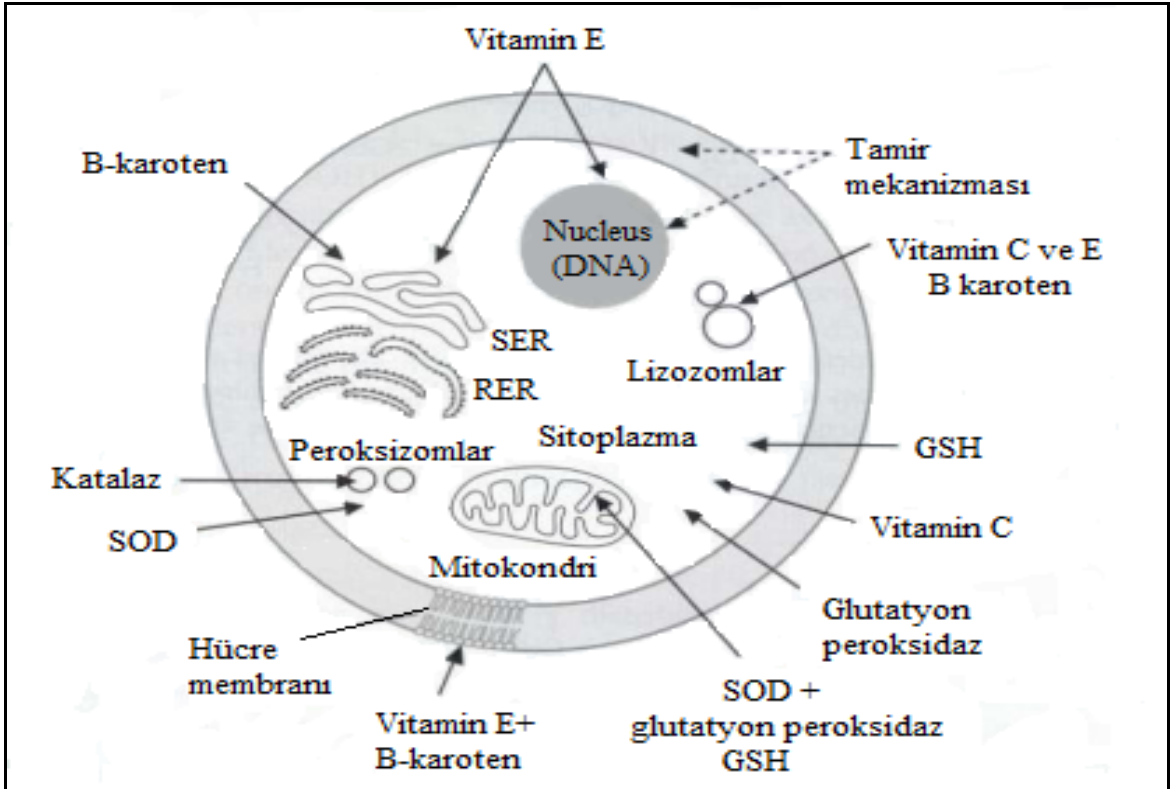
Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler;

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya zayıf yeni bir moleküle çevirme, **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme **bastırıcı etkidir**. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki **zincir kırıcı etkidir**. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

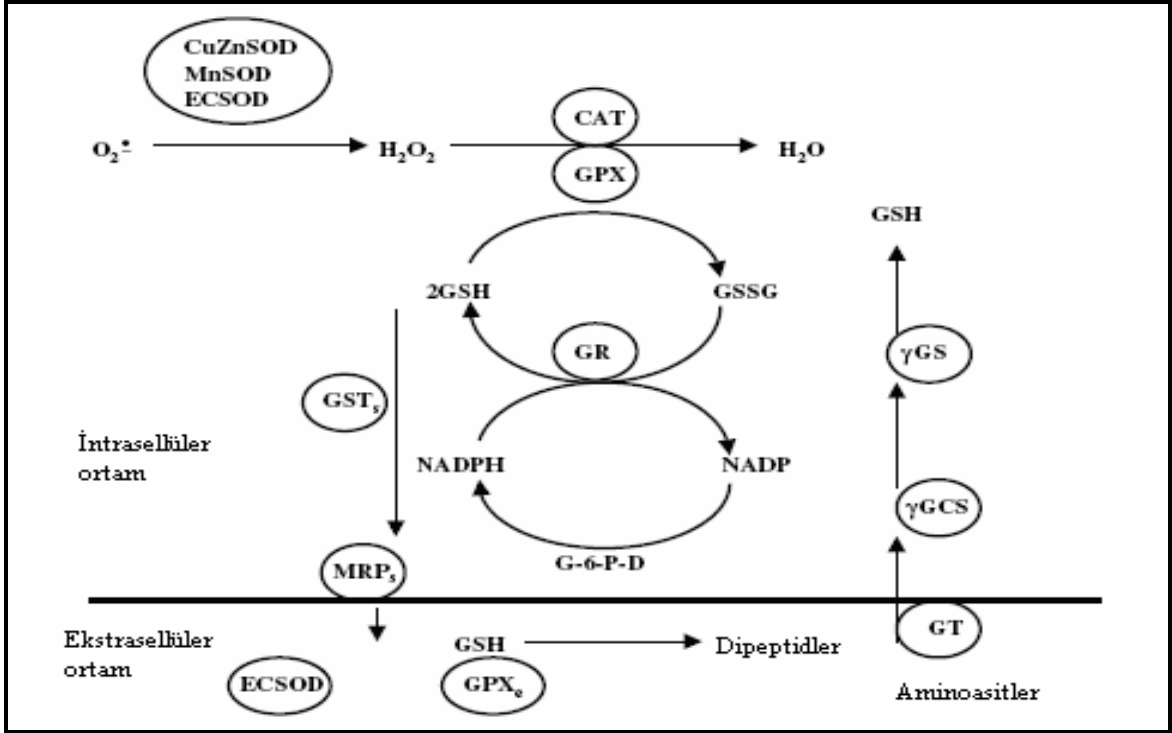
4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı etkidir**.



Şekil 1.3. Hücrede antioksidan mekanizmaları (Gürbüz, 2008).

Çizelge 1.2. Hidrofilik ve lipofilik fazda bazı antioksidanlar (Antmen, 2005)

Antioksidan	Faz	Etki
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Hidrofilik	O_2 'nin H_2O_2 ve O_2 'e dismutasyonu
Katalaz (CAT)	Hidrofilik	H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'e dismutasyonu
Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	Hidrofilik veya Lipofilik	R-OOH'nin R-OH indirgenmesi
Glutatyon redüktaz (GSH-Rd)	Hidrofilik	Okside glutatyonun indirgenmesi
Glutatyon -S- Transferaz (GST)	Hidrofilik	R-OOH'nin GSH ile konjugasyonu
Metallotieninler	Hidrofilik	Geçiş metalleriyle nötralizasyon
Tiyoredoksinler	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi
Glutatyon	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgemesi Serbest radikal temizleyicisi GSH-Px ve GST'nin kofaktörü
Ubikinon	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonunda korunması
Askorbik asit	Hidrofilik	Serbest radikal temizleyicisi Tokoferol kazanımı Enzimlerin redükte formda korunması
Karotenler	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi O_2 'baskılayıcı
Tokoferol	Lipofilik	Selenyum absorpsiyonunu artırır Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonunda korunması
Selenyum	Amfifilik	Tiyoredoksin, GSH-Px yapıtaşı



Şekil 1.4. İnsan dokularındaki major antioksidan enzimler ve bağlı yollar. CuZnSOD (bakır-çinko SOD), MnSOD (manganez SOD), ECSOD (ekstrasellüler SOD), CAT (katalaz), GSH-Px (glutasyon peroksidaz), GSH-Rd (glutasyon redüktaz), GSH (redükte glutasyon), GSSG (okside glutasyon), GST (glutasyon S transferaz), MRP (Multidrug resistans protein), G6PD (glukoz-6-fosfat dehidrogenaz), cGS (gama glutamil transpeptidaz), cGCS (gama glutamil sisteinil sentetaz), (glutamat sistein ligaz), GS (glutasyon sentaz), GPXe (ekstrasellüler glutasyon peroksidaz) (Kinnula ve ark., 2004).

Antioksidanlar endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler (Slater, 1984a).

1.7.1.1. Endojen (doğal) antioksidanlar

Enzim ve enzim olmayanlar olarak iki grupta incelenirler.

1.7.1.1.1. Enzim olan endojen antioksidanlar

- Süperoksit Dismutaz (SOD)
- Katalaz (CAT)

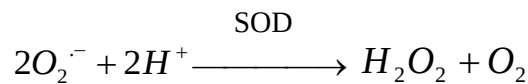
- Selenyum bağımlı Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)
- Glutasyon –S- Transferaz (GST)
- Glutasyon Redüktaz (GR)
- Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
- Hidroperoksidaz

Bilinen en tanınmış reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzimler SOD, CAT ve GSH siklusu enzimleridir (glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz) (Özdem ve Şadan 1994; Aslan ve ark., 1995). Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, süperoksidi detoksifiye eden enzimdir (Akkuş, 1995).

1.7.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

İlk olarak 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanan süperoksit radikallerinin katalitik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen ve lipid peroksidasyonu inhibe eden bir metalloenzimdir (McCord ve Fridovich, 1969; Moscone, 1988; Murray ve ark., 1993). Süperoksit dismutaz (SOD, E.C. 1.15.1.1) antioksidan savunma sisteminin ilk basamağını oluşturur. SOD enzimi, süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikalinin hidrojen perokside (H_2O_2) dönüşümünü katalizler. Normal metabolik süreç boyunca oksijenin kullanılması sonucu yüksek miktarda süperoksit radikali oluşur. Yüksek miktardaki süperoksit radikali hücre için oldukça tehlikelidir. Ancak hücre içi $O_2^{\cdot-}$ oranı SOD tarafından belirli bir seviyenin altında tutulur. Böylece $O_2^{\cdot-}$ radikalinin hücreye zarar vermesi engellenmiş olur. Oksijen kullanımı fazla olan dokulardaki SOD aktivitesi, O_2 kullanımı az olan dokulardaki SOD aktivitesine oranla daha yüksektir. Hücre dışı SOD aktivitesi ise oldukça düşüktür (Kaminaka ve ark., 1999; Çakır, 1997).

SOD enzimi süperoksit anyonunu ($O_2^{\cdot-}$) enzimatik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürür.



Fizyolojik olarak metabolik aşamalarda üretimi oldukça fazla olan süperoksit dismutaz, hücre içi aktivitesini düşük tutarak hücrel O_2^- düzeylerinin kontrolünde ve hücreleri O_2^- radikalının etkilerinden korumada görev alır. Spontan olarak da oluşabilen bu reaksiyon SOD katalizörlüğünde yaklaşık 4000 kez daha hızlı oluşur.

SOD enzimi hemen hemen bütün aerobik organizmalarda bulunmaktadır. SOD bir metalloenzimdir. Aktif merkezinde bulunan üç farklı metal kofaktöre göre sınıflandırılır. Bu SOD türleri CuZn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD'dur. İnsanda iki tip SOD mevcuttur. Bunlar sitozolde dimer yapıda bulunan CuZn-SOD ile mitokondride tetramer yapıda bulunan Mn-SOD'dur. Fe-SOD ise sadece prokaryotlarda ve bazı bitkilerin kloroplastlarında bulunmaktadır. Mn-SOD ile CuZn-SOD aynı tepkimeyi katalizlerler. Ancak aralarında yapısal hiçbir benzerlik bulunmamaktadır (Perl-Treves ve Perl, 2002; Bast ve ark., 1997; Fridovich, 1995; Kahraman, 1998).

1.7.1.1.1.2. Katalaz (CAT)

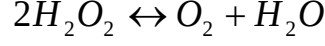
Katalaz ($H_2O_2:H_2O_2$ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6), 1937 yılında Sumner ve Dounce tarafından sığır karaciğerinden izole edilmiştir. Molekül ağırlığı 240 kDa civarında olup, aktif kısmında dört tane ferrihem grubu (Fe^{3+} protoforfilin) bulunduran bir hemoproteindir. Her alt ünite aynı zamanda enzimi kendi substratı H_2O_2 ye karşı koruyan ve etkinliğini artıran NADPH içerir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Aydın ve ark., 2001; Nordberg ve Arner, 2001).

SOD aracılığıyla oluşan H_2O_2 bir radikal olmamasına karşın, Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile oluşan H_2O_2 den en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikalini meydana getirdiği için önemlidir (Cheung ve ark., 2001). Katalaz, kataliz görevini iki farklı yolla gerçekleştirir (Mavelli ve Rotilio, 1984).

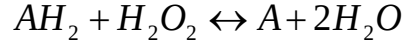
1- H_2O_2 in parçalanması (katalitik reaksiyon)

2- Alifatik alkollerin peroksidasyonu (peroksidik reaksiyon)

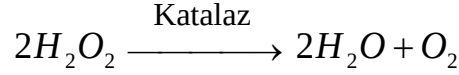
Katalaz, SOD'a benzer bir dismutasyon mekanizması ile hidrojen peroksiti, su ve moleküler oksijene parçalayarak biyolojik sistemleri H_2O_2 'nin zararlarına karşı korurlar (Aebi, 1984; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Nordberg ve Arner, 2001).



Ayrıca katalaz enzimi hidrojen peroksit varlığında peroksidaz etkisi ile metanol ve etanol gibi alkoller, formaldehid ve asetaldehide oksitlerler (Aydın ve ark., 2001).



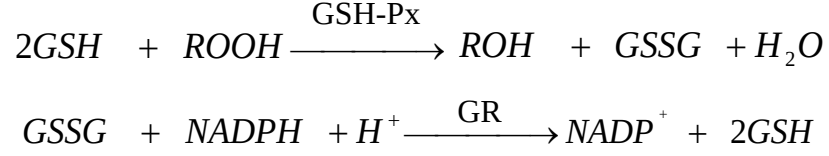
İnsan eritrositlerinde önemli miktarda katalaz bulunmasına rağmen, hidrojen peroksitin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutatyon redüktaz / peroksidaz yolu olduğu düşünülmektedir (Gaetani ve ark., 1989).



1.7.1.1.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz enzimi ilk kez Mills tarafından 1957 yılında hayvan eritrositlerinden izole edilmiş bir enzimdir (Arteel ve Sies, 2001). Genellikle yüksek yapılı bitkilerde ve bakterilerde bulunmamakla birlikte bazı alg ve mantarlarda bulunduğu bildirilmiştir (Mills, 1957; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (glutatyon: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9), 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıda olup 84000 dalton molekül ağırlığındadır. Lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engelleyici özellikte olan bir enzimdir (Kılınç, 1986).

Glutatyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutatyonu kullanarak hidrojen peroksit ve organik hiperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir. Mitokondri, sitozol ve hücre membranlarında bulunur (Deaton ve Marlin, 2003).



GSH-Px'ın fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler.

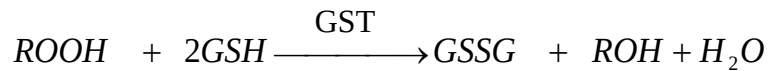
GSH-Px eritrositlerde oksidatif stresle karşı en etkili antioksidandır (Kılınç, 1986).

1.7.1.1.1.4. Glutasyon S-Transferazlar (GST)

Glutasyon-S-Transferaz (GST), (EC 2.5.1.18) selenyuma bağlı olmayan glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi göstererek antioksidan savunmaya katılan izoenzimlerden oluşan bir enzim ailesinden oluşur. Dimerik yapılı glutasyon-S-transferazlar, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı antioksidan aktivite gösterirler (Erat, 2002; Nelson ve Cox, 2000).

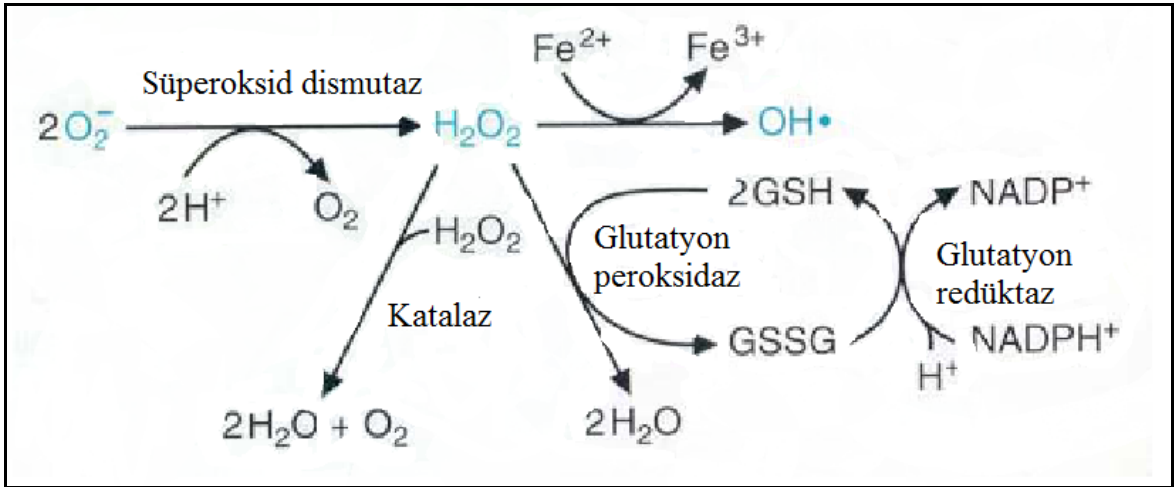
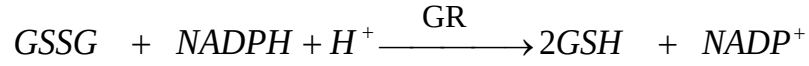
GST'ler indirgenmiş glutasyon (GSH) 'nun konjugasyonundan sorumlu fonksiyonel enzimler olarak bilinirler. Bu enzim elektrofilik substratlarla indirgenmiş GSH'nin konjugasyonunu katalizleyen detoksifiye edici izoenzimlerdir (Hayes ve Strange, 1995). GST'ler GSH içerisinde bazı grupların yer değiştirmesi, yeni grupların eklenmesi ve çıkarılması gibi birçok olayı yürütmektedir (Hollingworth ve Dong, 2008).

GST, ksenobiyotik ve karsinojenlere karşı hücrel savunmada yer alan, taşıdığı bir elektrofilik merkez ve indirgenmiş GSH ile konjugasyon yoluyla daha çözünebilir ve daha kolay ayrıştırılabilir bileşiklere dönüştüren, intraselüler bir protein ailesidir (Mantle ve ark., 1990; Mannervik ve ark., 1992; Hayes ve Pulford, 1995).



1.7.1.1.1.5. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz (GR) enzimi (E.C.1.8.1.7) ilk olarak 1951’de tanımlanmıştır. GR enzimi, hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesi sırasında glutasyon peroksidaz enzimi tarafından yükseltgenen glutasyonun (GSSG) indirgenmesi reaksiyonunu katalizler. Böylece organizmada sınırlı miktardaki GSH tekrar kullanıma hazır hale gelmiş olur. Fakat bu reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH’a gereksinim duyulmaktadır. Gerekli olan NADPH pentoz fosfat yolundan elde edilir. Burada glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi ile GR enzimi arasındaki ilişki ortaya çıkar. G6PD enziminin çalışmaması, NADPH üretimini; NADPH miktarının azalması glutasyon redüktazın işlerliğini; GR aktivitesinin düşmesi de GSH oluşumunu etkiler (Akkuş, 1995; Çiftci ve ark., 2000; Keha ve Küfrevioğlu, 2004).



Şekil 1.5. Glutasyonun indirgenmesi (Gürbüz, 2008).

1.7.1.1.1.6. Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi (O_2^-) detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir

reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit (O_2^-) üretimi mitokondrial sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin (O_2^-) zararlı etkilerine engel olurlar (Halliwell ve ark., 1995).

1.7.1.1.2. Enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar

- Melatonin
- Seruloplazmin
- Transferrin
- Miyogloblin
- Hemoglobin
- Ferritin
- Bilirubin
- Glutasyon
- Sistein
- Metiyonin
- Ürat
- Laktoferrin
- Albumin

CAT ve GSH-Px gibi enzimler oldukça reaktif hidroksil türlerinin hasarlayıcı etkilerine karşı sadece sınırlı, direkt bir koruma sağlayabilirler. Bununla birlikte bir seri düşük molekül ağırlıklı serbest radikal temizleyiciler (antioksidanlar) direkt reaksiyona girerek onları daha az zararlı ve daha stabil türevlerine dönüştürebilirler (Erenel ve ark., 1992).

Nonenzimatik karakterdeki redoks reaksiyonlarında serbest radikal oluşumu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bir serbest radikal, iki bağlı molekülün bir tek bağının bir molekül yardımı ile yükseltgenmesi veya indirgenmesi sonucu meydana gelir (Thurnham, 1990). Nonenzimatik yapıdaki bu maddeler, GSH, ürik asit, beta karoten (provitamin A),

taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümindir (Özdem ve Şadan, 1994). Diğer nonenzimatik antioksidanlar, melatonin, seruloplazmin, askorbik asit, alfa tokoferol, transferin, laktoferrin, miyogloblin, hemoglobindir (Akkuş, 1995).

1.7.1.1.2.1. Melatonin

Pineal bezden salınır. En zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikalini ($\cdot OH$) ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir (Cuzzocrea ve Reiter, 2002).

Melatonin, $\cdot OH$ radikali ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamda O_2^- radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Melatoninin antioksidan olarak diğer önemli bir özelliği de lipofilik olmasıdır. Dolayısıyla hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçer. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin bir başka avantajı, diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun süre kullanımda (5 yıla kadar) bile toksik bir etkisinin olmamasıdır. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilmesi onun DNA'yı oksidatif hasardan koruması bakımından diğer antioksidanlara göre daha üstün bir özelliğini teşkil eder. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir (Akkuş, 1995).

1.7.1.1.2.2. Glutatyon (GSH)

Çok önemli bir antioksidan olan glutatyon, glutamik asit, sistein ve glisinden meydana gelen düşük molekül ağırlıklı bir tripeptiddir (Akkuş, 1995; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Hücrede en fazla sitozol, mitokondri ve nükleusta bulunur. Hücre içi glutatyonun büyük bir kısmı indirgenmiş olarak (tiyol), daha az bir kısmı da okside glutatyon (GSSG) formunda bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Dickinson ve Forman, 2002; Mytilineou ve ark., 2002).

GSH'a antioksidan özelliğini tiyol grubu sağlar. Glutasyon hidroksil ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi olmakla beraber, diğer serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasarlara karşı korurlar. Bundan başka proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutarak protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engellerler (Murray ve ark., 1993; Burton, 1994).

Potansiyel olarak bazı zehirli ksenobiyotikler GSH ile konjuge olmadıklarında hücre proteinleriyle kovalent bağ oluşturarak DNA, RNA ve proteinlere zarar verebilirler. Bu ksenobiyotiklerin GSH ile reaksiyonları tiyoeter (merkaptirik asit ve N-asetil sistein türevleri) oluşumu ile sonlanır ve bu ürünler idrarla dışarı atılırlar (Murray ve ark., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Mytilineou ve ark., 2002).

Ayrıca GSH, membran geçirgenliğinin sağlanması, protein konformasyonu ve enzim aktivitesinin ayarlanması gibi görevlerde de rol almaktadır (Akkuş, 1995; Klaassen ve Watkins, 2003).

1.7.1.1.2.3. Ürat

Normal plazma konsantrasyonunda ürat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır.

1.7.1.1.2.4. Bilirubin

Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda etkili bir lipid antioksidandır. Peroksil radikallerini etkileyerek zincir kırıcı bir etki gösterir (Gutteridge, 1995).

1.7.1.1.2.5. Albümin

Plazmanın zincir kırıcı antioksidan etkisine yol açan plazma sülfhidril gruplarının majör bileşenidir. Hipokloröz asidin güçlü bir temizleyicisidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

1.7.1.1.2.6. Ferritin

Ferritin dokudaki demiri bağlar.

1.7.1.1.2.7. Transferrin ve laktoferrin

Transferrin ve laktoferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar (Gutteridge, 1995).

1.7.1.2. Eksojen antioksidanlar

1.7.1.2.1. Vitamin eksojen antioksidanlar

- Vitamin A
- Vitamin C
- Vitamin E

Vitamin C (Askorbik Asit): Vitamin C kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir katekolaktondur. Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici olarak görev yapar (Halliwell ve Gutteridge, 1999). C vitamini, moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan suda eriyen bir vitamindir. İnsanlar, primatlar, kobaylar ve meyve yiyen yarasaların, L-glukonolakton oksidaz enzimi

içermediklerinden sentezleyemedikleri esansiyel bir vitamindir. Plazmada oksidan ajanlara karşı ilk antioksidan defansı oluşturur. LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek arteroskleroza karşı korunmada yardımcı olur. Kollojen sentezinde, tirozin yıkımında, epinefrin sentezinde, safra oluşumunda ve pek çok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak rol alır. Süperoksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar. Bu esnada kendisi de dehidroaskorbata okside olur. C vitamini yetersizliği durumlarında oluşan tokoferoksil radikalleri, tokoferole dönüşmek üzere GSH ile reaksiyona girecek ve böylece hücredeki GSH miktarını azaltacaktır. Yine plazma C vitamini düşük (0.2 mmol/L'den düşük) olduğu zaman oksidan etki de gösterebilir. Süperoksit dışında Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyen başka bir ajandır. Bu şekilde demiri Fenton reaksiyonuna girmeye uygun hale getirir. Böylece plazma düzeyleri düşük olduğu zaman süperoksit üretimine katkıda bulunur (Cherubini ve ark., 2005; Chao ve ark., 2002; Van Haaften ve ark., 2001).

Vitamin E (α Tokoferol): İlk olarak 1922 yılında izole edilen E vitamini, α , β , γ , δ -tokoferol olarak adlandırılan bileşiklere verilen genel bir isimdir. Bu bileşikler arasında doğal dağılım olarak ve biyolojik aktivitesi en yüksek olan α -tokoferoldür. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubu içeren aromatik halka vitaminin aktif kısmını oluşturur. Membranca zengin olan mitokondri ve mikrozm gibi yapılarda yoğun olarak bulunmaktadır. Bitkisel yağlar ve tohumlar vitamin E bakımından oldukça zengindirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Packer ve ark., 2001).

α -Tokoferol, süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer bazı serbest radikallerin temizlenmesinde rol oynar (Chow, 1991; Blokhina ve ark., 2003). Lipit peroksidasyonunun erken safhalarında membranda serbest radikal toplayıcı etkisiyle, hücre membranında bulunan doymamış yağ asitlerini (PUFA) serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyarak, lipit peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur (Mayes, 1993).

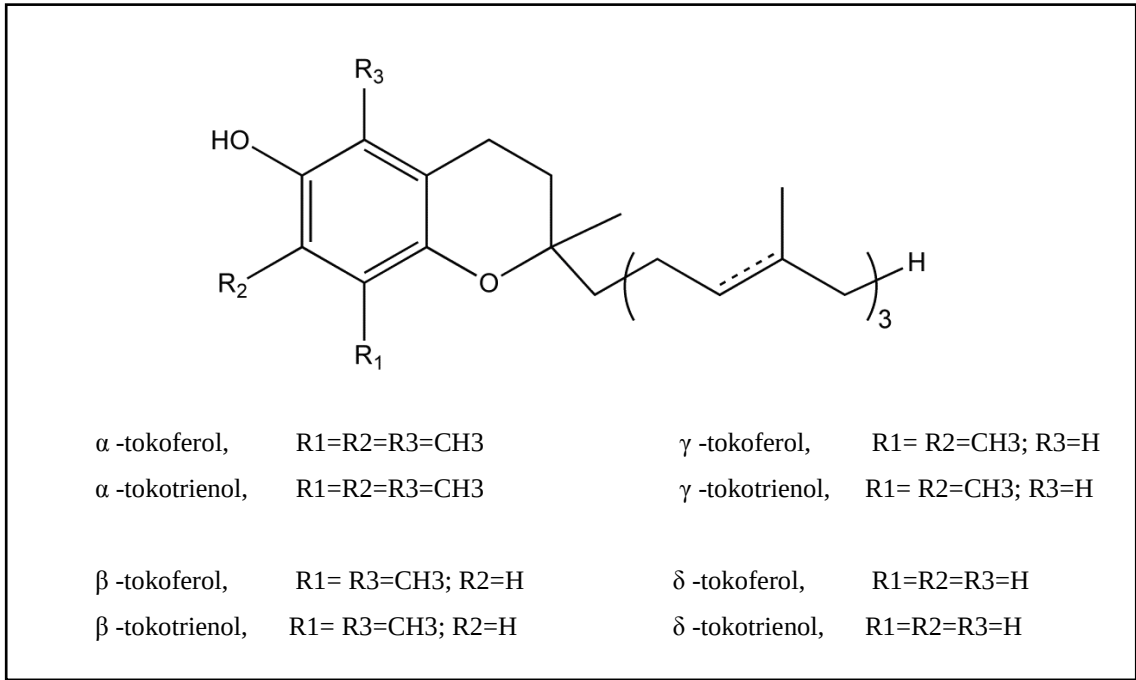
α -Tokoferolün OH grubundaki H atomu kolayca uzaklaştırılabildiği için lipit peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri komşu bir yağ asidi ile birleşmeden doğrudan α -tokoferol ile birleşir. Bu olay zincir reaksiyonunu sonlandırdığı için lipit peroksidasyonu da sonlanmış olur. α -Tokoferol bu etkisinden dolayı zincir kırıcı

bir antioksidan olarak adlandırılır (Murray ve ark., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blokhina ve ark., 2003).



Reaksiyon sonucunda α -tokoferol yine bir radikal olan tokoferol-O. (kromonoksil) radikalini oluşturur. Bu radikal zayıf bir reaktiviteye sahip olduğu için lipit peroksidasyonu devam edemez (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blokhina ve ark., 2003).

GSH-Px ve α -tokoferol birbirlerini tamamlayıcı bir antioksidan etki gösterirler. α -Tokoferol peroksitlerin oluşumunu engellerken, GSH-Px oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırır (Aydın ve ark., 2001).



Şekil 1.6. Tokoferol türevlerinin kimyasal yapıları (Bakkalbaşı, 2009).

Vitamin A: A vitaminin metabolik ön maddesi olan β -karoten son derece güçlü bir singlet oksijen temizleyicisidir. Ayrıca hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleri ile de doğrudan reaksiyona girerek lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunun önlenmesinde rol alır. β -Karoten düşük oksijen seviyelerinde etkili olduğundan daha yüksek oksijen

seviyelerinde etkili olan vitamin E nin antioksidan etkisinin tamamlayıcısıdır (Murray ve ark., 1993; Akkuş, 1995).

1.7.1.2.2. Gıdalarda bulunan eksojen antioksidanlar

- Sodyum Benzoat
- Bütillenmiş Hidroksianizol (BHA)
- Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT)
- Propilgalat
- Etoksikuin
- Fe-Süperoksit Dismutaz (Akkuş, 1995).

1.7.1.2.3. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

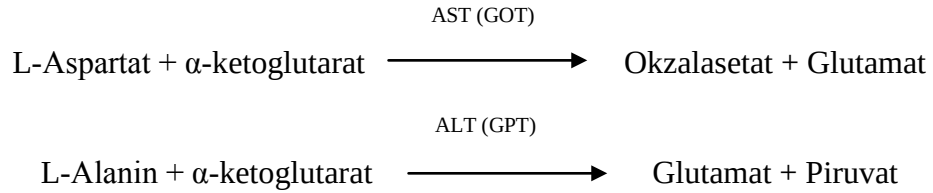
- NADPH oksidaz inhibitörleri (Adenozin , Lokal anestezikler, Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
- Ksantin oksidaz inhibitörleri (Allopürinol, Oksipürinol, Pterin aldehit, Tungsten)
- Rekombinant süperoksit dismutaz
- Trolox-C (Vitamin E analogu)
- Endojen antioksidan aktiviteyi arttıranlar (GSH-Px aktivitesini arttıran ebselan ve asetil sistein)
- Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (Mannitol, Albumin)
- Demir şelatörleri ve Sitokonlardır (Bayramoğlu, 2008).

1.8. Serum Enzimleri

1.8.1. Transaminazlar (Aspartat amino transferaz (AST) ve alanin amino transferaz (ALT))

Bu enzimler glutamati oluşturmak için aspartat veya alanin amino grubunun dönüşümlü olarak α -ketoglutarata transferini sağlarlar. Kofaktör olarak piridoksal fosfata ihtiyaç duyarlar. AST'nin yarılanma ömrü 17 saat, ALT'ninki 27 saattir. AST, karaciğer dışında dokularda da bulunmaktadır (Kalp ve iskelet kası). ALT ise karaciğer ve böbreklerde bulunmaktadır.

Hepatositlerde AST'nin %80'i mitokondrilerde bulunmaktadır. ALT ise ekstramitokondrial yerleşimlidir. Hafif karaciğer hasarının olduğu ve mitokondriyal membranın sağlam kalıp hücre membranının bütünlüğünün bozulduğu durumlarda sitoplazmik ALT ve AST seruma salınır. Ama eğer ağır karaciğer hasarı varsa ve hem sitoplazmik hem de mitokondrial membran hasar gördüyse mitokondriyal AST de kana geçer ve AST/ALT oranında yükseklik görülür (Adam ve Ardıçoğlu, 2002).



Normal olarak bu enzimler kanda oldukça düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Fakat dokularda ve özellikle eritrosit, kalp kası, karaciğer ve akciğerde daha fazla miktarda bulunurlar. Normal seruma nazaran eritrositler daha fazla (AST) ihtiva ederler. Saydığımız bu çeşitli organlarda husule gelebilecek yaygın doku harabiyeti ile bu enzimler kana geçer ve kandaki konsantrasyonları artar (Mehmetoğlu, 2002).

1.8.2. Gamma glutamil transferaz (GGT)

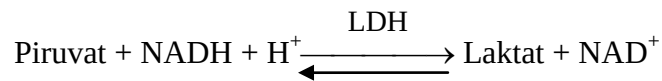
Gamma glutamil transferaz, gamma glutamil transpeptidaz olarak da adlandırılır. GGT, peptitlerden ve diğer bileşiklerden γ -glutamil grubunu herhangi bir akseptöre

transfer eder. Enzim, sadece terminal glutamat kalıntısının, bileşiğin geri kalan kısmına glutamatın γ -karboksil grubu aracılığı ile bağlandığı peptitlere veya bileşiklere etki eder.

Klinik Önemi: Serumdaki GGT'nin ana kaynağı hepatobilier sistem olup bütün karaciğer hastalıklarında artar. İntra veya posthepatik safra yollarının tıkanmasında artarak normalin 5–30 misline kadar çıkar. GGT, tıkanma sarılığı, kolanjitis ve kolesistitis teşhisinde alkalen fosfatazdan daha kıymetlidir. Çünkü daha erken yükselir ve daha uzun infeksiyöz hepatitlerde ise daha az yükselir ve transaminazlardan daha az kıymetlidir. Primer ve sekonder karaciğer kanserlerinde de diğer enzimlerden daha değerlidir. Yine daha erken ve daha fazla yükselir. Serum ALP seviyesinin yüksek olduğu durumlarda GGT tayini ile ALP'deki yüksekliğin karaciğerden kaynaklanıp kaynaklanmadığı anlaşılır. Serum GGT seviyesi ağır içicilerde ve alkolik karaciğer sirozunda da artar. Alkolün ve diğer ilaçların karaciğer üzerindeki toksik etkilerinin ortaya konmasında oldukça faydalıdır (Mehmetoğlu, 2002).

1.8.3. Laktat dehidrogenaz (LDH)

LDH, anaerobik glikolizin son enzimi olup piruvatın laktata dönüşümünü katalize eder. Genel olarak vücut hücrelerinin ve sıvıların hepsinde bulunmakla beraber özellikle kalp kası, eritrositler, böbrek, iskelet kası, karaciğer ve akciğerde yaygındır. Bu dokulardaki herhangi bir hasar durumunda kandaki seviyesi artar ve bu da teşhise yardımcı olur. LDH aşağıdaki reaksiyonu katalize eder (Mehmetoğlu, 2002).



1.9. Oksidatif Stres

Organizmada meydana gelen serbest radikaller, hücrenin savunma sistemi tarafından ortadan kaldırılır. Bu savunma sistemine antioksidanlar adı verilir. Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemi bir denge halindedir. Yani serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızları birbirine eşittir. Bu duruma oksidatif

denge denir. Oksidatif denge var olduğu sürece, metabolizma serbest radikallerden etkilenmemektedir. Fakat bazı durumlarda antioksidanların savunma kapasitesini aşan serbest radikal oluşumu söz konusu olabilir. Çeşitli endojen ve eksojen faktörlerin etkisiyle artan radikal oluşumu veya azalan antioksidan savunması, var olan oksidatif dengeyi bozar. Antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması ve serbest radikallerin yüksek miktarlara ulaşması sonucu oluşan bu duruma oksidatif stres denir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004; Halliwell ve Gutteridge, 1990). Antioksidan savunma sistemine rağmen, serbest radikallerin hücrelere değişik düzeyde zarar vermesi kaçınılmazdır. Şiddetli oksidatif stres, hücrede hasara ve hücre ölümüne yol açar. Oksidatif stresin vereceği zarar, stresin şiddetine, etkilenen molekülün türüne, antioksidan savunmanın kapasitesine göre değişir (Akkuş, 1995). Oksidatif stres; proteinler, membran lipidleri, DNA gibi önemli birimlerde hasara sebep olur. Özellikle DNA üzerinde nükleik asitleri hasara uğratmakta ve kansere sebep olabilmektedir. Düşük seviyedeki oksidatif stresin etkileri çok uzun bir süreç sonucunda ortaya çıkarken (yaşlanma vb.), yüksek şiddetteki oksidatif stresin etkileri kısa sürede ve ciddi hastalıklar olarak gözlemlenir. Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarı sebebiyle birçok kronik hastalığın ortaya çıktığı belirtilmektedir. Bu hastalıkların bazıları arteroskleroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, karsinogenezis, Parkinson, Down sendromu, iskemi-reperfüzyon injürisi olarak sayılabilir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004; Keser, 2005; Bowler ve Crapo, 2002).

1.10. Etil Alkol

Mekanizması net bir biçimde açıklanmamış olsa da etanolün karaciğer dejenerasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Etanol uygulanan hayvanlarda karaciğer ekstraktlarındaki tiyobarbütirik asit reaktif türevleri (TBARS) ve diğer oksidasyon ürünleri artmaktadır. Bazı yazarlar oksidatif stres ve radikallerin olaya karışmasında, baskılanmış hepatik glutatyon ve metabolik enzim düzeyleri ile karaciğer ve diğer dokularda demir gibi geçiş elementlerinin artışında etkili olduğu bildirilmektedir (Dündar ve Aslan, 1999). Uzun süreli alkol alımı karaciğerde hasara neden olmaktadır (Sonde ve ark., 2000). Alkolün hem kimyasal hem de fiziksel olarak hücre membran hasarına yol açtığı bilinmekte olup alkol araştırmaları etanol ile uyarılan biyokimyasal mekanizmalar üzerinde yoğunlaşmıştır

(Armutçu ve ark., 2004). Alkol kullanımında, gerek beslenmenin bozulması sonucu, gerekse alkolün zararlı etkileri nedeniyle demir, çinko, magnezyum, fosfor, bakır gibi bazı mineraller ile özellikle B grubu vitaminler başta olmak üzere tüm vitamin düzeylerinde bir azalma görülür. Bu eksiklikler sonucu geri dönüşümsüz olabilen bozukluklar ortaya çıkar (Kundak ve ark., 2007).

1.11. Ceviz

Bazı araştırmacılar tarafından anavatanı Anadolu olarak kabul edilen ceviz (Şen, 1986, Garcia ve ark., 1994), Balkanlar, Türkiye, Lübnan, Irak'ın kuzey bölgeleri, İran, Kafkas dağları, Afganistan ve Çin'e kadar olan bölgede doğal yayılım göstermektedirler (Davis, 1982). Junglandaceae familyasının *Juglans* cinsine ait olan cevizlerin farklı bölgelerde yetişen 15 farklı türe sahip olduğu bilinmektedir. Bu türler içinde *Juglans regia* L. büyüklüğü, tatlılığı, ince kabuğa sahip olması ve kolay kırılması nedeniyle en fazla yetiştirilen ve en fazla ticari öneme sahip olan türdür (Rosengarten, 1984).

Türkiye ceviz üretiminde Dünyada önemli bir konumdadır. 2011 yılı istatistiklerine göre 3.274.210 ton olan dünya ceviz üretiminin yaklaşık %50'den fazlasını Çin, ABD, İran ve Türkiye karşılamaktadır. Dünyada en önemli ceviz üreticisi ülkeler konumunda olan Çin 1.655.510 ton, İran 485.000 ton, ABD 418.212 ton ve Türkiye 183.240 ton kabuklu ceviz üretmiştir. Ceviz üretimi yapılan diğer ülkelerin 2011 yılı üretim verileri Çizelge 1.3. de gösterilmiştir.

Çizelge 1.3. 2011 yılında Dünyadaki ceviz üretimi (www.fao.org)

Sıra	Ülkeler	Üretim (Ton)
1	Çin	1655510
2	İran	485000
3	Amerika Birleşik Devletleri	418212
4	Türkiye	183240
5	Ukrayna	112600
6	Meksika	96476
7	Fransa	38346
8	Hindistan	36000

Çizelge 1.3. 2011 yılında Dünyadaki ceviz üretimi (www.fao.org) (devam)

Sıra	Ülkeler	Üretim (Ton)
9	Romanya	35073
10	Şili	35000
11	Yunanistan	29800
12	Sırbistan	23938
13	Mısır	18389
14	İtalya	17771
15	Beyaz Rusya	15972
16	Özbekistan	15412
17	Almanya	15083
18	İspanya	14627
19	Afganistan	13902
20	Moldova Cumhuriyeti	13859

Ülkemizde fındıktan sonra en çok üretilen sert kabuklu meyve türü olan ceviz yetiştiriciliğimizde yıllara göre devamlı bir artış görülmektedir (Bkz. Çizelge 1.4). 1988 yılında 4.222.000 adet olan ağaç varlığımız 2012 yılında 10.518.000'e, ceviz üretimimiz ise 110.000 tondan 203.212 tona ulaşmıştır (www.tuik.gov.tr).

Çizelge 1.4. Yıllara göre ülkemiz ceviz üretimi ve ceviz ağacı sayısı (www.tuik.gov.tr)

Yıllar	Meyve veren ağaç sayısı	Meyve vermeyen ağaç sayısı	Üretim (ton)
1988	3 278 000	944 000	110 000
1989	3 275 000	965 000	113 000
1990	3 248 000	1 128 000	115 000
1991	3 338 000	1 134 000	122 000
1992	3 380 000	1 120 000	120 000
1993	3 419 000	1 103 000	115 000
1994	3 446 000	1 060 000	120 000
1995	3 453 000	1 067 000	110 000
1996	3 447 000	1 047 000	115 000

Çizelge 1.4. Yıllara göre ülkemiz ceviz üretimi ve ceviz ağacı sayısı (www.tuik.gov.tr)
(devam)

Yıllar	Meyve veren ağaç sayısı	Meyve vermeyen ağaç sayısı	Üretim (ton)
1997	3 445 000	1 050 000	115 000
1998	3 490 000	1 155 000	120 000
1999	3 525 000	1 300 000	120 000
2000	3 550 000	1 490 000	116 000
2001	3 640 000	1 780 000	116 000
2002	3 850 000	2 030 000	120 000
2003	4 100 000	2 100 000	130 000
2004	4 200 000	2 200 000	126 000
2005	4 535 000	2 245 000	150 000
2006	4 595 000	2 353 000	129 614
2007	4 927 000	2 788 000	172 572
2008	5 095 000	2 952 000	170 897
2009	5 192 000	3 200 000	177 298
2010	5 441 000	3 643 000	178 142
2011	5 594 000	4 045 000	183 240
2012	5 977 000	4 541 000	203 212

Ceviz üretiminin illere göre dağılımında 13.098 ton üretim miktarı ile Hakkari ili başta gelmekte, bunu Kahramanmaraş (6.952 ton) ve Bursa (6.863 ton) illeri izlemektedir (Bkz. Çizelge 1.5). Denizli ili (469.133 adet) ağaç varlığı bakımından birinci sırada, toplam üretim bakımından ise 4. sırada yer almakta, bunu Manisa (431.565 adet) ve Kahramanmaraş (401.126 adet) illeri izlemektedir.

Çizelge 1.5. İllere göre ceviz ağacı varlığımız ve üretim miktarları (www.tuik.gov.tr)

İller	Yıl	Toplu Mevyeliklerin Alanı (Dekar)	Üretim (ton)	Ağaç başına ortalama verim (kg)	Meyve veren yaşta ağaç sayısı	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Hakkari	2012	12.341	13.098	58	225.900	28.580	254.480
Kahramanmaraş	2012	9.662	6.952	40	175.480	225.646	401.126
Bursa	2012	21.466	6.863	39	177.525	127.289	304.814
Denizli	2012	33.471	6.458	32	202.614	266.519	469.133
Çorum	2012	12.981	6.406	27	239.110	91.580	330.690
Mersin	2012	8.906	6.375	48	132.604	69.074	201.678
Antalya	2012	6.401	5.682	53	107.350	36.665	144.015
Konya	2012	9.000	5.471	38	145.243	120.514	265.757
Aydın	2012	8.603	5.089	32	160.772	47.968	208.740
Van	2012	17.113	5.070	33	154.331	55.269	209.600
Tokat	2012	15.797	5.043	37	134.768	97.935	232.703
Sakarya	2012	12.605	5.017	43	116.973	55.424	172.397
Kastamonu	2012	4.438	4.649	38	122.442	66.315	188.757
Bitlis	2012	12.720	4.479	38	117.830	103.715	221.545
Ordu	2012	2.132	4.277	32	132.296	42.830	175.126
Erzurum	2012	5.120	4.175	42	100.045	39.784	139.829
Karaman	2012	12.530	3.774	25	149.673	68.921	218.594
Balıkesir	2012	19.385	3.668	33	110.677	149.245	259.922
Manisa	2012	33.304	3.513	24	144.302	287.263	431.565
Ankara	2012	14.393	3.500	38	91.691	51.492	143.183
İzmir	2012	3.122	3.340	27	124.289	34.625	158.914
Samsun	2012	11.816	3.275	28	117.494	125.471	242.965
Malatya	2012	3.995	3.223	23	139.427	56.913	196.340
Elazığ	2012	3.087	3.189	39	82.285	27.765	110.050
Isparta	2012	6.243	3.156	37	85.235	41.190	126.425
Zonguldak	2012	8.145	3.097	22	139.670	83.115	222.785
Muğla	2012	8.129	3.072	43	72.245	67.105	139.350

Çizelge 1.5. İllere göre ceviz ağacı varlığımız ve üretim miktarları (www.tuik.gov.tr)
(devam)

İller	Yıl	Toplu Mevyeliklerin Alanı (Dekar)	Üretim (ton)	Ağaç başına ortalama verim (kg)	Meyve veren yaşta ağaç sayısı	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Çanakkale	2012	13.523	3.007	42	71.290	166.016	237.306
Kırşehir	2012	11.995	2.997	31	96.277	233.444	329.721
Amasya	2012	3.965	2.737	45	61.350	110.230	171.580
Burdur	2012	8.190	2.609	32	80.902	58.619	139.521
Bingöl	2012	12.148	2.435	42	57.319	59.020	116.339
Kütahya	2012	8.456	2.355	28	85.255	83.890	169.145
Uşak	2012	8.894	2.351	41	56.820	52.555	109.375
Afyon	2012	11.209	2.350	35	67.859	98.308	166.167
Trabzon	2012	1.395	2.239	21	106.098	36.290	142.388
Artvin	2012	3.386	2.206	30	72.855	58.235	131.090
Adana	2012	5.807	2.196	30	74.290	71.800	146.090
Sinop	2012	5.896	2.119	27	78.330	63.530	141.860
Kocaeli	2012	5.986	2.068	28	73.146	32.704	105.850
Hatay	2012	2.116	2.059	40	51.631	29.570	81.201
Giresun	2012	4.314	2.042	29	70.528	23.271	93.799
Diyarbakır	2012	3.573	1.863	27	69.672	19.942	89.614
Erzincan	2012	1.810	1.846	27	69.655	28.827	98.482
Tunceli	2012	11.835	1.799	37	48.940	32.110	81.050
Bartın	2012	4.631	1.691	31	54.780	36.760	91.540
Gaziantep	2012	15.735	1.665	39	42.460	7.123	49.583
Kayseri	2012	1.439	1.544	46	33.470	19.318	52.788
Nevşehir	2012	5.427	1.524	40	38.580	42.625	81.205
Niğde	2012	2.830	1.437	54	26.410	23.742	50.152
Edirne	2012	12.420	1.380	21	66.228	88.262	154.490
Gümüşhane	2012	1.080	1.298	85	15.285	29.235	44.520
Bilecik	2012	8.476	1.293	22	59.031	40.324	99.355

Çizelge 1.5. İllere göre ceviz ağacı varlığımız ve üretim miktarları (www.tuik.gov.tr)
(devam)

İller	Yıl	Toplu Mevyeliklerin Alanı (Dekar)	Üretim (ton)	Ağaç başına ortalama verim (kg)	Meyve veren yaşta ağaç sayısı	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Kırklareli	2012	8.542	1.270	27	47.016	78.788	125.804
Adıyaman	2012	4.059	1.237	28	43.760	41.485	85.245
Düzce	2012	1.314	1.157	38	30.180	12.178	42.358
Sivas	2012	1.560	1.136	40	28.680	24.480	53.160
Tekirdağ	2012	8.508	1.116	20	56.266	69.488	125.754
Çankırı	2012	1.679	1.113	21	53.240	19.130	72.370
Karabük	2012	1.882	1.099	22	49.975	31.100	81.075
Batman	2012	4.145	1.095	26	42.680	59.955	102.635
Bolu	2012	1.150	988	33	29.930	5.068	34.998
Aksaray	2012	987	974	57	16.960	15.850	32.810
Yozgat	2012	1.901	967	31	31.696	21.945	53.641
Yalova	2012	8.816	935	38	24.549	9.020	33.569
Mardin	2012	810	906	29	31.528	7.688	39.216
Muş	2012	674	743	83	9.000	5.866	14.866
Osmaniye	2012	1.061	732	27	27.060	16.332	43.392
Şırnak	2012	322	510	59	8.686	4.718	13.404
İstanbul	2012	2.637	435	20	22.280	48.670	70.950
Eskişehir	2012	2.720	409	20	20.905	31.200	52.105
Kırıkkale	2012	2.023	336	23	14.920	13.625	28.545
Şanlıurfa	2012	662	291	21	14.055	1.390	15.445
Kilis	2012	2.035	194	11	18.059	2.006	20.065
Rize	2012	72	190	11	17.420	2.170	19.590
Siirt	2012	224	161	30	5.330	1.199	6.529
Iğdır	2012	233	80	80	1.000	500	1.500
Kars	2012	122	69	60	1.150	25	1.175
Ardahan	2012	34	48	150	320	140	460

Ceviz taze ve kurutulmuş olarak doğrudan tüketildiği gibi flavor taşıyıcı ve geliştirici özelliklerinden dolayı aroma ve tadı geliştirmek gevrekliği arttırmak ve gıdaları süsleyip renklendirmek amacıyla pasta, kek, şekerleme, tatlı ve çeşitli süt ürünlerine (peynir, dondurulmuş yoğurt, dondurma vb.) katılmaktadırlar (Woodroof, 1979; Payne, 1985; Anonim, 1991). Yanlız başlarına veya diğer sert kabuklu meyveler ile birlikte şeker, bal ve şuruplar ile karıştırılarak çeşitli macunların yapımında da kullanılmaktadırlar. Çeşitli sakız ve şekerleme kaplamaları ile kaplanarak çok sayıda çerez tipi gıda üretiminde kullanılabilecekleri de bildirilmektedir (Payne, 1985; Anonim, 1991). Ayrıca ceviz çok çeşitli ülkelerde geleneksel ürünlerin (pestil, bastık, ceviz ezmesi, süt cevizinden; ceviz reçeli, ceviz şekeri, ceviz salamurası vb.) üretiminde de kullanılmaktadırlar (Şen, 1986; Akbaş, 1993; Torun, 1999). Ceviz tüketiminin insan sağlığı üzerine olumlu etkisi nedeniyle cevizlerin kullanım alanları ve tüketim miktarları her geçen gün daha da artmaktadır.

Sert kabuklu meyveler içinde cevizler yüksek yağ içeriği ve yağının yağ asidi dağılımı ile dikkat çekmektedirler. Ceviz yağı esansiyel yağ asitlerince oldukça zengindir ve ceviz en yüksek PUFA içeriğine (% 50 - 70) sahip meyvedir (Payne, 1985; Lopez ve ark., 1998; Ruggeri ve ark., 1998; Maguire ve ark., 2004). Yağ tüketiminin sağlık riskleri ile ilişkilendirilmesine karşın önemli olanın tüketilen yağın tipi veya yağ asitleri dağılımı olduğuna dair genel bir mutabakat vardır. Yağ asidi kompozisyonu kan basıncını düzenleme, glukoz metabolizması, yağ metabolizması, trombosit toplanması ve eritrosit deformasyonu gibi çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal prosesleri etkileyebilmektedir (Iso ve ark., 2002). Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) insan beslenmesinde çok önemli bir yere sahiptir. PUFA'lar hücrel yapıların devamlılığını sağlamak için insan vücudunda sentezlenen farklı gliserolipidlerin yapısında doğrudan kullanılırlar. Ayrıca diğer birçok yağ asidinin sentezlenmesi içinde kullanılmaktadırlar (Hunter, 1990). Bunların yanında PUFA'lar antiaritmik, hipolipidemik ve antitrombotik etkileri sayesinde kardiovasküler hastalıklara karşı önemli bir koruyucu etkiye sahiptirler (Harper ve Jacobson, 2001; Bucher ve ark., 2002). Birçok epidemiyolojik çalışma diyetle yüksek PUFA içeriğine sahip gıda tüketiminin özellikle sert kabuklu meyvelerin ölümcül ve ölümcül olmayan kardiovasküler hastalıklara karşı önemli oranda koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Fraser ve ark., 1992; Hu ve ark., 1998). Yüksek PUFA içeriği nedeniyle ceviz tüketiminin toplam plazma ve LDL kolesterolünü düşürdüğü ve bununda

koroner kalp-damar hastalıklarını önlediği bildirilmektedir (Sabate ve ark., 1993; Anonim, 1999; Anonim, 2002). Abbey ve ark., (1994) günlük diyetle 68 g ceviz ilavesinin toplam ve LDL kolesterolünü sırasıyla % 5 ve % 9 oranında düşürdüğünü bildirmişlerdir. Maguire et al. (2004), beş farklı sert kabuklu meyvenin (ceviz, badem, yerfıstığı, fındık ve macademia) toplam yağ ve yağ asidi dağılımını belirlemişlerdir. Tüm meyvelerde temel doymuş yağ asitlerinin palmitik asit ve stearik asit, temel tekli doymamış yağ asidinin oleik asit ve temel PUFA'ların linoleik asit ve linolenik asit olduğu bildirilmiştir. Örneklerde toplam doymamış yağ asidi seviyelerinin benzer aralıkta (%84.5 - 91.6) kaldığı belirlenmiştir. Buna karşın tekli doymamış ve PUFA içerikleri arasında büyük farklılıklar tespit edilmiştir. Ceviz yağının tekli doymamış yağ asidi ve PUFA içeriği sırasıyla 21.2 g/100g yağ ve 69.0 g/100g yağ olarak bulunmuştur. Ceviz yağı diğer meyve yağlarından özellikle yüksek linolenik asit [C18:3] (% 12) oranı ile ayrılmıştır. Aynı zamanda ceviz yağının diğer meyvelerin yağlarından daha yüksek oranda linoleik asit [C18:2] içerdiği de tespit edilmiştir (% 57.46).

Türkiye'deki cevizler açısından bakıldığında, Koyuncu ve ark. (2002), Van ve Bahçesaray ilçesinden toplanan 20 adet ceviz tipi üzerinde çalışmış ve yağ oranını % 62.08 ile % 70.16, protein içeriğini % 12.87 ile % 18.97, nem miktarını % 2.13 ile % 3.59 ve kül miktarını % 0.84 ile % 2.12 arasında bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada Koyuncu ve ark. (2000), Van Gölü havzasında yetiştirilen 8 adet ceviz tipinin verim zamanında, oransal olarak en fazla linoleik asidi (% 44.67 - 53.27) içerdiğini ve bunu sırası ile oleik (%24.85 - 36.37) ve linolenik (% 9.11 - 13.89) asidin izlediğini tespit etmişlerdir (Koyuncu ve ark., 2000).

Sert kabuklu meyvelerde yağ oksidasyonu nedeniyle depolama periyodu önemli bir dönemdir. Cevizler geleneksel olarak oda sıcaklıklarında depolanmakta ve genellikle ticari olarak oksijen ve ışığa karşı düşük düzeyde koruyucu olan plastik materyaller içinde ambalajlanmaktadır. Bu ambalajların ışık ve oksijen geçişini hiç sınırlandırmamasına yada çok az sınırlandırmasına karşın cevizler uzun raf ömrü ile dikkat çekmektedirler (Jensen ve ark., 2001). Cevizin oksidasyona duyarlı olan yüksek PUFA varlığına karşın yağ asidi içeriğinin depolama ile büyük oranda sabit kalmasının yapısındaki antioksidan bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Bhagavan ve Nair, 1992). Antioksidan bileşiklerin özellikle yağ ve yağlı gıdaları işleme ve depolama süresince lipid peroksidasyonundan koruduğu ve raf ömrünü arttırdığı bilinmektedir. Ayrıca

antioksidanlar hücre membranlarında serbest radikalleri yakalayarak doymamış yağ asitlerini zarar görmelerinden korumaktadırlar. Antioksidanların doğal koruyucu sistemi ve serbest radikallerin üretiminde oluşacak bir dengesizlik okside olmuş ürünlerin oluşumuna ve doku zararlanmalarına yol açabilir. Serbest radikallerin neden olduğu bu doku zararlanmaları kardiovasküler, inflamatuvar ve nörolojik hastalıklar, kanser, katarakt ve yaşlanmayla ilişkili deformasyonlara neden olmaktadır (Rocheford ve ark., 2002). Antioksidan bileşikler kanser, kardiovasküler hastalıklar ve katarakta karşı koruma sağlamakta, yaşlanmayı önleyici ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilere sahip olmaktadır (Cao ve ark., 1996; Velioğlu, 2000; Pyo ve ark., 2004). Görüldüğü gibi sert kabuklu meyvelerin özellikle de cevizlerin sağlık üzerine olumlu etkileri sadece yağ asidi profilleri ile ilişkili olmayıp yapılarında bulunan antioksidan bileşiklerden de kaynaklanmaktadır (Maguire ve ark., 2004). Bunlar göstermektedir ki antioksidan bileşikler cevizlerde de hem sağlık hem de işleme ve depolama prosesleri üzerine önemli etkilere sahiptir. Cevizlerde antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin en önemli grubunu fenolik bileşikler oluşturmaktadır ve bu bileşik grubu temelde tokoferoller, polifenoller ve fenolik asitlerden oluşmaktadır. Bu fenolik bileşiklerden tokoferoller temelde ceviz yağının antioksidan aktivitesinin kaynağı iken cevizin antioksidan aktivitesinin en büyük destekçisi olan polifenoller ve fenolik asitler ise yağsız kısmın antioksidan kaynağıdır (Arranz ve ark., 2008).

Ceviz, temel besin öğeleri yönünden incelendiğinde: %13.6-22.3 oranında protein, %56.4-70.6 oranında yağ ve %2 civarında kül içerdiği bildirilmektedir (Şahin ve Akbaş, 2001). Biyolojik kalitesi yüksek (lisin/arjinin oranı düşük) ve kolay hazım edilebilen protein içermesi sebebiyle vejeteryan beslenmede önemli bir yer sağlamıştır. Ayrıca bu tip beslenmede, baklagillerle birlikte ceviz tüketildiğinde gereksinim duyulan proteinlerin büyük çoğunluğunun karşılandığı ifade edilmiştir (Serrano ve ark., 2005; Reiter ve ark., 2005; Anonim, 2005a).

Cevizi fonksiyonel yapan en önemli bileşenlerinden biri içerdiği yağdır. Özellikle yağın, oransal olarak çoklu doymamış yağ asitlerince zengin olması beslenmedeki önemini daha da arttırmaktadır. Ceviz yağının %72 çoklu doymamış yağ asidi (% 59 linoleik [n-6], %13 α -linolenik [n-3]), %18 tekli doymamış yağ asidi (oleik asit) ve %10 doymuş yağ asidi içerdiği bilinmektedir (Lavedrine ve ark., 1999).

Ceviz içi bileşiminde yağda çözünen vitaminlerden A ve E vitaminleri, suda çözünenlerden C, B1, B2, folik asit, pantotenik asit ve niasin, minerallerden; demir, çinko, bakır, magnezyum ve fosfor bulunmaktadır. Cevizin iyi bir manganez ve bakır kaynağı olduğu; bu iki mineralin antioksidan korumasındaki önemli enzimlerde temel mineraller olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Anonim, 2005a; Anonim, 2005b). Bunun yanı sıra lif içeriği nedeniyle insan sindirim sisteminde yararlı bir görev üstlenmektedir (Anonim, 2005c; Serrano ve ark., 2005). Aşağıdaki listede cevizin bilinen 60 bileşeni sunulmuştur (USDA Nutrient Database, 1987).

A.Su (total ağırlığının %4'üdür.)

B.Makro besin öğeleri (total ağırlığının %94'üdür.)

1. Yağ (LNA ve LA gibi esansiyel yağ asitlerini de içeren altı değişik yağ asidinin bileşimidir.)

Çizelge 1.6. Cevizdeki yağ asitleri (USDA Nutrient Database, 1987)

Yağ Asidi	Toplam yağ asidinin yüzde dağılımı
Doymuş yağ asitleri, total	%8.67
Palmitik asit	%6.52
Stearik asit	%2.15
Tekli Doymamış Yağ Asidi, total	%20.28
Gadoleik asit	%0.12
Oleik asit	%20.16
Çoklu Doymamış Yağ Asidi (PUFA), total	%71.05
Linoleik asit	%62.99
Linolenik asit	%8.05

2. Protein (18 değişik aminoasitten oluşur)

Çizelge 1.7. Cevizdeki aminoasitler (USDA Nutrient Database, 1987)

Amino Asitler	Cevizin 100 gramındaki miktar (mg)
Isolösin	566
Lösin	922
Lizin	388
Metionin	280
Sistin	345
Fenilalanin	628
Tirozin	439
Treonin	488
Triptofan	139
Valin	723
Arjinin	2103
Histidin	359
Alanin	609
Aspartik asit	1475
Glutamik asit	2809
Glisin	755
Prolin	553
Serin	782
Total Esansiyel Amino Asitler	6676
Total Esansiyel Olmayan Amino Asitler	7767
Total Amino Asitler	14443

3. Karbohidrat (şekerlerin 3 değişik tipinden meydana gelir)

4. Diyetle alınan lifler

C. Mikro besin öğeleri-Mineraller (Toplam ağırlığın %1'i)

- Kalsiyum
- Demir

- Magnezyum
- Fosfor
- Potasyum
- Sodyum
- Çinko
- Bakır
- Manganez
- Selenyum

D. Mikro besin öğeleri-Vitaminler (total ağırlığın %0.3'üdür.)

- Vitamin C
- Tiamin
- Riboflavin
- Niasin
- Pantotenik Asid
- Vitamin B6
- Folik Asit
- Vitamin A
- Vitamin E (alfa-tokoferol)
- Vitamin E (delta-tokoferol)
- Vitamin E (gamma-tokoferol)
- Vitamin K

E. Bitki Sterolleri (Total ağırlığın %0.6'ıdır.)

- Stigmasterol
- Campesterol
- Beta-sitosterol

F. Diğer Maddeler (Total ağırlığın %0.1'idir.)

- Melatonin
- Beta-karoten

- Lutein
- Zeaksantin
- Ellajik asit
- Gallik asit

1.12. Cevizin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Cevizin insan sağlığı üzerindeki etkilerine baktığımızda; cevizin içerdiği vitamin E ve diğer antioksidanların da (fitosterol ve polifenoller) cevizin fonksiyonel gıda olarak kabul görmesinde katkısı bulunmaktadır. Bu bileşiklerin; kalp damar hastalıklarına, belli kanserlere ve yaşlanmanın olumsuz etkilerine karşı koruyucu rol oynadığı belirtilmektedir. Vitamin E'nin LDL (Low Density Lipoprotein) kolesterol oksidasyonuna karşı koruma sağladığı ve kalp hastalıkları riskini azalttığı bildirilmiştir (Rietjens ve ark., 2002). Cevizin yüksek miktarda α - tokoferol (24-46 mg/100g) içerdiği belirtilmektedir. Ayrıca cevizde, antioksidan özelliği olduğu bilinen, kalp damar sistemi için yararlı etkileri olan melatoninin varlığı da saptanmıştır (Reiter ve ark., 2005).

Vücutta oksidasyon reaksiyonları sonucu ortaya çıkan ve çeşitli hasarlara yol açan aktif oksijen türevleri serbest radikaller olarak isimlendirilmektedir. Serbest radikallerin kanser, inflamatuvar hastalıklar, damar tıkanıklığı gibi birçok hastalığın açığa çıkmasında etkisi olduğu tartışılmaktadır (Kornsteiner ve ark., 2006). Antioksidan maddeler, aktif oksijen türevlerinin vücutta meydana getirdiği hasarları önleyen savunma sistemleridir. Vücutta enzim kaynaklı antioksidanlar olabildiği gibi, dışarıdan gıdalarla da alınabilen antioksidanlarda bu savunma sistemine destekleyici etki gösterir (Halifeoğlu ve ark., 2005). Ceviz polifenollerinin, antioksidan bağısıklığı güçlendirici özellik gösterdiği belirtilmiştir. Bunun sonucu olarak, kalp-damar hastalıklarına ve kansere yakalanma riskinin azaldığı klinik çalışmalar ile desteklenmiştir. Cevizde polifenollerin, en fazla meyvenin dışını saran ince kahverengi kabukta yer aldığı bildirilmiştir (Anderson ve ark., 2001).

Ceviz ekstraktları analizi sonucunda; ellajik asit monomerleri polimerik ellajitanninler ve flavonoidler olmak üzere diğer fenolik bileşiklerin bulunduğu ifade edilmektedir (Anderson ve ark., 2001). Cevizin polifenolce zengin ekstraktı ile ellajenik

asidin kıyaslandığı bir çalışmada; *in vitro* plazma ve LDL oksidasyonunu önleme yetenekleri araştırılmıştır. Sonuç olarak polifenollerin *in vitro* plazmada LDL oksidasyonunu kuvvetle engellediği belirtilmiştir (Lavedrine ve ark., 1999). Bunun sonucunda damar elastikiyetini %64 oranında arttırarak damar sertliğine engel olduğu ifade edilmiştir (Anonim, 2005b).

Cevizde yüksek oranda bulunan, temel amino asitlerden L-arginin hipertansiyonda özel bir öneme sahiptir. L-arginin insan vücudunda nitrikoksit'e dönüşerek, kan damarlarının iç duvarlarını yumuşatmakta ve damarların rahatlamasını sağlamaktadır. Nitrik asit düzeylerinin normal olduğu dönemde açığa çıkan hipertansiyonun, diyabet ya da kalp hastalıklarından ileri geldiği ifade edilmektedir. Böylece, bu tip hastaların diyetlerine ek olarak alacakları ceviz, büyük önem taşımaktadır (Anonim, 2005b).

Epidemiyolojik çalışmalar; sert kabuklu meyvelerin kalp-damar hastalıklarının neden olduğu ölüm oranlarını azalttığını ve bu etkinin; yaş, egzersiz, sigara, alkol, diyetteki yağ, lif, meyve, sebze ve vitamin E ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Almario ve ark., 2001).

Çoklu doymamış yağ asitlerinin kalp-damar hastalıklarındaki önleyici rolü uzun yıllardır bilinmektedir.

Bu yağ asitlerinin insan ve hayvanlarda kan lipid seviyesine etki ettiği bildirilmektedir (Lavedrine ve ark., 1999). Cevizde çoklu doymamış yağ asitlerinden Omega 3 ve Omega 6'nın sırasıyla 9.081g/100g ve 38.095g/100 g oranında bulunduğu belirtilmektedir (Simopoulous, 1991). Çoklu doymamış yağ asitlerinin kalp-damar hastalıklarını önlemede; antiinflamatuvar, antihipertensif olduğu, özellikle kan lipid seviyesini azalttığı tromboz ve damar tıkanıklığını engellediği bildirilmektedir (Carrero ve ark., 2004). Cevizin kalp sağlığını koruyucu etki göstermesinin, sahip olduğu yağ asidi profili ve polifenol zenginliğinden kaynaklandığı açıklanmıştır (Anderson ve ark., 2001).

Sert kabuklu meyvelerden badem, fındık, yer fıstığı tekli doymamış yağ asitlerince (Monounsaturated Fatty Acid; MUFA) zengin iken, ceviz çoklu doymamış yağ asitlerini PUFA daha yüksek oranda içermektedir. Cevizin n-6 ve n-3 PUFA'ların her ikisini de bir arada bulundurması, cevizi sert kabuklu meyveler arasından öne çıkartan en önemli özelliğidir. Ayrıca diğer sert kabuklu meyveler ile kıyaslandığında; ceviz en yüksek Omega 3 yağ asidi miktarına sahiptir. MUFA ve PUFA'ların doymuş yağ asitleri yerine tüketildiğinde, toplam plazma ve LDL kolesterol konsantrasyonunu azalttığı ifade

edilmiştir (Dattilo ve Kris-Etherton, 1992; Willet ve ark., 1995). Omega 3 ve Omega 6; esansiyel yağ asitleri olup vücut tarafından sentezlenmemesi nedeniyle gıdalar ile alınması zorunludur. Sahip olduğu bu özellik cevizin tüketimini vazgeçilmez kılmıştır (Heidal ve ark., 2004).

Yapılan klinik çalışmalar; cevizin sahip olduğu doymamış yağ asitleri ve liflerin kandaki triaçilgliserol ve kolesterol konsantrasyonunu azaltarak plazma lipidlerini düzenleyebildiğini göstermektedir. Bunun yanı sıra bileşiminde yer alan Mg ve K minerallerinin kan basıncını düzenlediği, arjininin de kan basıncını düşürebildiği ifade edilmiştir (Almario ve ark., 2001).

Kalp sağlığını koruyucu diyetlerde önerilen uygun yağ asidi profilinin aynı zamanda tip 2 diyabet hastalarının beslenmesi içinde uygun olduğu bildirilmektedir. Son on yılda özellikle esansiyel yağ asitlerinden Omega 6 ve Omega 3'ün 4:1 oranında dengeli olarak alınması gerektiği belirtilmektedir. Cevizin, belirtilen çoklu doymamış yağ asitlerini uygun oranda (4:1) içermesi, fonksiyonel bir gıda olarak tanımlanmasını desteklemektedir (Franz ve ark., 2002; Patel, 2005).

Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda Omega 3 yağ asitlerinin; atardamarlardaki kan basıncını düşürerek hipertansiyonu kontrol altına aldığı, damar kasılmalarını azalttığı, tümör oluşumunu geciktirdiği, iltihabi hastalıklar, alerjik astım, bağışıklık sistemi ve sinir sisteminde tedavi edici özellikte olduğu bildirilmektedir (Simopoulous, 1991; Tatar ve ark., 2001). Omega 3 ve Omega 6 eksikliği, anne karnındaki bebeklerde daha sonradan görülen ve kalıcı olan zekâ geriliklerinin yanı sıra, işitme, görme ve kavrama fonksiyonlarında da bozulmalara neden olmaktadır (Crawford, 1993). Ayrıca yeterli oranda Omega-3 almayan çocukların aşırı derecede hiperaktif olduğu, öğrenme zorluğu çektiği ve davranış bozukluklarına sahip olduğu belirtilmiştir. Çocuklarda uyku problemi, davranış bozukluklarının büyük çoğunluğunun nedeni Omega 3 eksikliğine bağlanmıştır (Anonim, 2005b).

Cevizin eczacılık ve alternatif tıptaki yerine baktığımızda ise; modern eczacılık çalışmalarında cevizin; kanın pıhtılaşmasını önlediği, kan dolaşımını düzenlediği, kan pıhtılarını bozduğu, antialerjik özellik gösterdiği, karaciğer fonksiyonlarını düzenlediği, protein sentezini teşvik ettiği, serum kolesterolünün azalmasını sağladığı bağışıklık fonksiyonlarının korunması ve anormal antikor oluşumunun engellediği açıklanmıştır (Anonim, 2005a).

Tarih boyunca insanlar, bazı hastalıklarının giderilmesi için cevizi kullanmışlardır. Ceviz içi; idrar söktürücü, taş dökücü, kolesterol düşürücü, astım, kronik öksürük, kansızlık, hamilelik boyunca kusmayı önleyici, kilo aldırıcı ve sakinleştirici olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Tohumlarından elde edilen yağ; kolit ağrılarında ve adet düzensizliklerinde ağızdan alınarak, saç kuruluğu, kepeklenme ve baş yaralarının tedavisinde ise yüzey uygulaması ile kullanılmaktadır. Meyve kabuğu suda kaynatılarak; bağırsak iltihabında (ağızdan), mantar hastalıklarında (haricen) kullanılmaktadır. Yeşil kabuk; kansızlığı mide iltihaplarını, deri hastalıklarını, apseleri, göz kapağı iltihaplarını, baş ve vücut bitlerini, uçukları, bağırsak kurtlarını, diğer bitkilerle kombinasyonda şeker hastalığını tedavi etmek amacı ile kullanılmaktadır. Yaprakları; deri iltihaplarında, el ve ayak terlemelerinde, akne ve yaralarda, egzamada, uçuklarda, arı sokmalarında haricen kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra skrofula (lenf iltihabı, özellikle boğaz bölgesi) tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir. Erkek çiçeklerin et suyu içerisinde kaynatıldığında, öksürüğe ve baş dönmesine iyi geldiği ifade edilmektedir (Anonim, 2005d; Anonim, 2005e).

1.13. Araştırmanın Amacı

Organik komponentlerin oksidasyona uğramasıyla serbest radikaller oluşur. Antioksidanlar; lipidleri, karbonhidratları, proteinleri, DNA'yı ve diğer oksitlenebilir substratları oksidasyondan koruyan maddeler olarak bilinirler. Serbest radikaller dokuların yaşlanmasına kanser ve kalp-damar rahatsızlıkları gibi bazı hastalıklara neden olurlar. Bundan dolayı gıdaların ve insan vücudunun serbest radikallere karşı korunması elzemdir. Vücutta bulunan antioksidan savunma sistemi, organizmanın doğal savunma sistemini oluştururlar. Besinlerle alınan ve genellikle vitamin olan antioksidanlar da bu savunmaya katkıda bulunurlar. Bu iki grup savunma sisteminde herhangi bir aksama olur veya vücuttaki serbest radikal mevcudiyeti normalin üstüne çıkarsa vücudun antioksidan dengesi bozulmuş demektir. Bu da vücutta çeşitli anormalliklere yol açar.

İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan ve ülkemize döviz girdisi kazandırmada en önemli ihraç ürünleri arasında yer alan cevizin, deneysel olarak etanolle oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda karaciğer koruyucu etkilerinin göstergesi olarak

değerlendirilebilecek karaciğer harabiyet biyobelirteçleri olan serum Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), Gamma glutamil transpeptidaz (GGT) ve Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviyelerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Ayrıca, beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokusu örneklerinde antioksidan kapasite etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden CAT, SOD, GSH-Px, GST, GR aktiviteleri ve redükte GSH seviyeleri ile MDA içeriklerine bakılarak, adı geçen biyolojik parametreler üzerine ceviz içinin etkilerinin ortaya konulması bilimsel çalışmalar için önem taşımaktadır. Bu meyvenin sıcakkanlı canlılar üzerinde *in vivo* olarak çalışılmasının, gıda biyokimyası alanındaki araştırmalarla ilgili önemli bir boşluğu dolduracağı kanaatindeyim.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Serbest radikaller hücrede ekzojen ve endojen kaynaklara bağlı olarak oluşan, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlıklı moleküller olarak tanımlanır. Organizmalarda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemleri arasında doğal bir denge söz konusudur (Mercan, 2004).

Dünya çapında çokca tüketilen alkolün dokularda meydana getirdiği pek çok araştırıcı tarafından belirlenmeye çalışılmıştır. Bunlarla ilgili yapılan bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Seitz (1985), alkol kullanımının hücre membranlarının geçirgenliğini bozduğunu, hücre sitoplazmasında bulunan enzimlerin hücre membranının geçirgenliğinin bozulmasıyla hücre dışına çıkarak bu enzimlerin kan seviyelerinde artış meydana geldiğine dikkat çekmiştir.

Butterfield ve ark. (1999), bazı çalışmalarında alkolik içeceklerin evrensel olduklarını ve dünyanın en geniş fizikoaktif kronik tüketim içeceği olduğunu, aşırı alkol tüketiminin organların zarar görmesine hatta ölümlere yol açtığını, indüklenmiş alkolün beynin pek çok bölgesine saldırarak bilişsel zararlar gibi öğrenme ve hafıza kayıplarına neden olduğunu belirtmişlerdir.

Pari ve Suresh (2008), yapmış oldukları çalışmalarda alkolik karaciğer hastalığının ilerlemesinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını bildirmişler.

Diamond ve Messing, (1994); Rauch ve ark. (1994), makalelerinde insanlar ve deneysel hayvanlar üzerinde alkol tüketimine bağlı olarak gelişen nöro toksik kronik etkilerin sinir sistemi üzerindeki dejenerasyonuna dikkat çekmişlerdir.

Iqbal ve ark. (2004), çalışmalarında gebelik süresince etanola maruz kalmanın nöro gelişimsel karışıklık (ARND) ve merkezi sinir sisteminin fonksiyon bozukluğuna (CNS) neden olduğunu bildirmişlerdir.

Andreoli ve Mallet, (1997); Eskay ve ark. (1995), yaptıkları çalışmalarında uyarılmış etanol ile sinirsel tahribat arkasındaki mekanizmanın hâlâ iyi anlaşılmış olmadığını fakat çeşitli öneriler sunulduğunu bildirmişlerdir. Bunlardan biri eksitotoksiti ile ilgili olarak nörotransmitter maddenin aşırı yayılmasıyla oksidatif stres oluştuğunu belirtmişler.

Chen ve Sulik, (1996), Collins ve ark., (1998), Heaton ve ark., (2000), çalışmalarında oksidatif stres gelişimi ve serbest radikallerin oluşumu üzerine alkolün katkısı olduğunu bildirmişlerdir.

Lieber ve ark. (1985), çalışmalarında akut alkol kullanımının karaciğer üzerindeki toksik etkilerinin uzun zamandan beri bilindiğini ve karaciğer gibi çeşitli organlar üzerindeki olumsuz etkilerine dikkat çekmişlerdir.

Murt ve ark. (1980), çalışmalarında karaciğer harabiyeti ve karaciğer hücre membranlarının bozulmasıyla hücre sitoplazmasında bulunan AST ve ALT gibi enzimlerin kan plazmasına geçerek kan serumundaki düzeylerinin yükseldiğini belirtmişlerdir.

Baraona ve ark. (1980), çalışmalarında karaciğerde oluşturulup safraya salgılanan ekstraksiyon enzimlerinin (Lösinamino Peptidaz, Alkalen Fosfataz, Gamma Glutamil Transferaz) serum aktivitelerinin artışının da karaciğerin salgı fonksiyonunu tam yerine getirmediğinin göstergesi olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Boros ve ark. (2003), çalışmalarında akut ve kronik etanol tüketiminin, pankreas ve karaciğerde oksidatif parametreler üzerinde oksidatif strese yol açtığını belirtmişlerdir.

Mezey (1985), çalışmasında etanol uygulamasının doz ve zamana bağlı olarak; serum etanol konsantrasyonunu ve hepatik enzim aktivitelerini yükselterek karaciğerde morfolojik tahribata, protein sentezinde inhibisyona, karaciğer yağlanmasına ve serum tirigliserid seviyelerinde yükselmelere sebep olduğunu belirtmiştir.

Tamai ve ark. (2002), uzun süreli etanol tüketiminin, bağırsakların geçirgenliğini ve ağızdan endoksin uygulamasına karşın hepatik hassasiyeti yükseltebilen endoksin emilimini artırdığını bildirmişlerdir.

Asker ve ark. (1998), alkol ve alkol + taurine ile tedavi edilen farelerde düşük kolestasis kanıtının ortaya çıktığını, ayrıca bu gruplarda yüksek serum asitleri ve ALT'nin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Kerai ve ark. (1999), alkolden sonra Taurine uygulanan farelerde yüksek seviyede AST, ALT, ALP, LDH yükselmesi olduğunu tespit etmişlerdir.

Delibaş ve Özcankaya (1995), çalışmalarında serbest radikallerin protein, lipid ve nükleik asitler gibi önemli molekülleri tahrip edecek reaksiyonları başlattığını belirtmişlerdir. Dokularda serbest radikallerin hasarını azaltmak için bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Son zamanlarda katarakt, arteroskleroz, Parkinson hastalığı gibi birçok hastalıkta serbest radikallerin rol oynadığını daha belirgin bir hale geldiğini belirtmişlerdir.

Noveli ve ark. (1997), kronik alkol alımının lipoperoksid konsantrasyonlarını ve asit fosfat düzeyini artırırken, Cu-Zn SOD aktivitesini düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Slukvin ve ark. (2001), çalışmalarında alkolik karaciğer tahribatının, karaciğerde yağ birikmesi (steatosis) ve hepatik iltihabın oluşumunu tetiklediğini bildirmişlerdir.

Boros ve ark. (2003), listeria antijenine bağışıklığı olan farelerin etanol tüketiminin karaciğerde yağ birikmesi ve serum ALT seviyesinde artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Cao ve ark. (1999), kronik etanol tüketimine bağlı olarak T hücreleriyle ilişkili olan karaciğerin fonksiyon bozukluğuna sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Sato (1978), çalışmasında kronik etanol tüketiminin sıçanların karaciğer lizozomal enzim ve lizozom büyüklükleri üzerinde etkili olduğunu ortaya koymuştur.

Pari ve Suresh (2008), alkolik karaciğer hastalığının ilerlemesinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını bildirmiştir.

Sayın ve ark. (2008)'na göre, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen ürünlerinin endojen üretiminde artış ile karakterize olan oksidatif stres, endotel tabakasının işlev bozukluğunun temel nedenidir. Oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörolojik hastalıklar, diyabet, yaşlanma ve diğer pek çok hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stres ile ilgili savunma mekanizmaları; bu mekanizmaların engellenmesi, onarımı, fiziksel savunma ve antioksidan savunmayı kapsamaktadır. Hücrenin antioksidan savunmasında görev alan enzimlerin ifadenmesini düzenleyici etkileri olduğu gösterilmiş olup, kardiyovasküler hastalıklarda oluşan oksidatif stresin azaltılması için antioksidanların kullanılmasıyla birlikte yeni terapötik yaklaşımlara ışık tutabilecek bir sonuca varılmıştır.

Temiz ve ark. (2011), etanolün sıçan karaciğerlerinde meydana getirmiş olduğu tahribata bağlı olarak karaciğer harabiyet göstergesi olan serum enzimlerinin seviyelerinde artışa neden olduğunu söylemişlerdir. Ayrıca etanolün sebep olduğu oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikal üretiminin göstergesi olarak lipid peroksidasyonun son ürünü malondialdehit tüm dokularda artarken, birçok dokuda antioksidan savunma sistemi biyobelirteçlerinde dalgalanmalara sebep olduğunu belirtmişlerdir.

Diğer yandan ceviz (*Juglans regia* L.) ve ceviz içinin etkileriyle ilgili yapılan araştırmalar aşağıda verilmiştir.

Hiçyılmaz ve ark. (2007), çalışmalarında sıçanların diyetlerine ceviz eklenmesinin serum total, LDL ve HDL kolesterol, trigliserit ve nitrik oksit (NO) üzerine olan etkisi değerlendirilmiş ve cevizin faydalı etkileri göz önüne alındığında diyetin vazgeçilmez bir bileşeni olduğunu ifade etmiştir.

Hiçyılmaz (2007), sıçanların diyetlerine ceviz eklenmesinin hipokampus NMDA reseptör NR2A ve NR2B subtipleri ve hipokampus lipid peroksit düzeyleri üzerine olan etkisine bakılmış ve sıçanların diyetlerine ceviz eklenmesi hipokampus MDA düzeyinde azalma olduğunu gözlenmiştir.

Delgado-Zamarreno ve ark. (2004) basınçlı sıvı ekstraksiyon tekniğini (PLE) ve likit kromatografi-elektrokimyasal dedektörünü (LC-ED) kullanarak ham cevizlerin tokoferol içeriğini belirlemişlerdir. Cevizlerin ortalama Y-, (g+Z)- ve α -tokoferol içeriklerinin sırasıyla 3.05, 19.5 ve 2.6 mg/100g olduğunu bildirmişlerdir.

Dönmez (2006), yaptığı çalışmada fındık veya ceviz içeren aterojenik diyetin sıçanlarda serumda total ve LDL+VLDL-kolesterol ve lipid peroksit düzeylerini farklı biçimde etkilediğini, bu durumun kuru yemişlerin yağ asidi içeriğindeki farklılıktan kaynaklanabileceğini bildirmiştir.

Yiğit ve ark. (2005), çalışmalarında cevizin yüksek oranda yağ ve protein içerdiğinden besleyici değerinin oldukça yüksek olduğunu, ceviz yağının en önemli özelliğinin doymamış yağ asitlerince zengin olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan epidemiolojik çalışmaların ceviz tüketiminin kardiyovasküler ölümleri azalttığını, cevizin bu özelliğinin içerdiği polifenollerin özelliğinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Ergun ve Sütyemez (2008), cevizin mükemmel bir besleyici özelliğinin olduğunu ve içerisinde yüksek oranda omega-3 yağ asitleri içermesinden dolayı başta kalp hastalıkları olmak üzere kanser, inme ve diyabet gibi hastalıkları azaltabilme etkisine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneyde Kullanılan Materyaller

Araştırmamızın canlı materyali olan 150-250 g ağırlığında 0-1 yaş 36 adet sağlıklı (Wistar albino) ırkı dişi sıçanlar standart plastik sıçan kafeslerine yerleştirildi. Yapılan çalışmada parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındı. Bu amaçla kontrol ve tüm deneme grubundaki denekler aynı koşullarda tutuldu. Bitki materyali olarak ceviz (*Juglans regia* L.) Van'nın Gevaş ilçesi yöresinden temin edildi.

3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Gerhaeld çalkalayıcı, Nüve NM 110 vorteks, Precisa XR-205SM-DR hassas terazi, Chyo JI-180 dijital terazi, Heraeus sepatech Minifuge RF soğutmalı santrifüj, BM 101 Nüve sıcak su banyosu, Socorex Swiss otomatik pipet, Uğur derin dondurucu, Orion 420A pH metre, BHG Hermle Z 320 K soğutmalı santrifüj (14.000 rpm), Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometre, Harris derin dondurucu (-80 °C), 20 KHz Jencons Ultrasonic homojenizatör, makas, neşter, jilet, Whatman süzgeç kağıdı No.42.

3.3. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kit ve kimyasal maddelerden: SOD ve GSH-Px enzim kiti, GSH, GSSG, Bütillenmiş hidroksitolüen (BHT) Tiyobarbitürik asit (TBA), 1.1.3.3.tetraethoksiopropan (MDA), 5-5'-Ditiobis 2- nitrobenzoik asit (DTNB), Sükroz, Glioksilik asit, Tris (Hidroksi metil amino metan hidroklorit tris HCl), Sodyum sülfat Sigma'dan, Beta Nikotinamid Adenindinükleotit fosfat (NADPH), Metafosforik asit, Triklor asetik asit (TCA), Sodyum klorür (NaCl), Sodyum hidroksit (NaOH), Disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄), Sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄), Etilen diamin tetra

asetik asit (EDTA), Sodyum sitrat, Sulfosalisilik asit (SSA), Askorbik asit, Ketamin (%10 luk).

3.4. Yemlerin Hazırlanması ve Deney Muamelesi

Van'nın Gevaş ilçesinden getirilen ceviz (*Juglans regia* L.) içi Van tarım il müdürlüğünde bir öğütücü değirmen kullanılarak un haline getirildi. Ceviz içi %5 ve % 10 oranında normal yeme eklenerek çeşme suyu ile iyice karıştırıldı ve yemler hamur haline getirildi. Hamur haline gelen bu yem, kıyma makinasından geçirilerek pellet haline getirildi. Plastik tepsilere konan bu pellet yem 25 °C de iklim dolabında 48 saat bekletildi. İyice kuruyan bu yem daha sonra çıkarılarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma Hastanesindeki Deney Hayvanları Ünitesinde muhafaza edilerek belirlenen sıçan gruplarına gerekli oranda verilmesi sağlandı. Deneme 50 gün devam etti. 36 adet sıçan; kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 oranında ceviz içi ilaveli yem + su grubu, %10 ceviz içi ilaveli yem + %20 etanol grubu, %5 oranında ceviz içi ilaveli yem + su grubu ile %5 oranında ceviz içi ilaveli yem + %20 etanol grupları olmak üzere 6'şarlı 6 gruba ayrıldı. Gruplardan kontrol grubu sadece standart sıçan yemi ve su ile beslendi. %20 Etanol grubuna standart sıçan yemi ve %20 etanol verildi. Ceviz içi + su grubuna %10 ceviz içi ilaveli yem ve su verildi. Ceviz içi + %20 etanol grubuna %10 ceviz içi ilaveli yem ve %20 etanol verildi. Ceviz içi + su grubuna %5 ceviz içi ilaveli yem ve su verildi. Ceviz içi + %20 etanol grubuna ise %5 ceviz içi ilaveli yem ve %20 etanol verildi. Çalışma grubundaki sıçanlara, her gruba ilk gün 200 gram yem ve 500 ml su veya etanol verildi. Daha sonraki her gün bir önceki günden kalan yem ve su tartılarak/ölçülerek her bir grubun günlük yem ve su/etanol tüketimleri kayıt edildi. Ayrıca, sıçanların net ağırlıkları da 50 gün boyunca her hafta tartılarak kayıt edildi. Deneme aşaması boyunca yeme ve içmelerinde hiçbir kısıtlamaya gidilmeden gerekli miktarda verilip, ayrıca temizliğe çok dikkat edilerek 50 günlük deneme aşaması bitirildi.

3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

50 günlük deneme sonunda sıçanlar % 10'luk ketamin ile anesteziye tabi tutularak enjektörler yardımıyla kalplerinden kan alındı. Kanlar EDTA'lı ve biyokimya cam tüplere alındı. EDTA'lı kanlar eritrosit paketleri için kullanılırken, Biyokimya tüplerindeki kandan serum örnekleri hazırlandı. Diğer yandan; 50 gün deneme sonunda sıçanların beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokuları alınarak, böbrek, dalak, kalp ve karaciğer dokuları fizyolojik suyla yıkanıp kurutma kağıdıyla kurutulduktan sonra analizlerin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edildi. Antioksidan savunma sistemi unsurları ve MDA tayini elde edilen eritrosit paketi ve doku süpernatantlarında gerçekleştirildi (Xia ve ark., 1994).

3.6. Eritrosit Paketinin Hazırlanması

Yapılan deney için gerekli olan kan, enjektörler yardımıyla hayvanların kalbinden EDTA'lı cam tüplere alındı. Bir saat +4 °C'de bekletildikten sonra 3000 rpm'de +4°C'de soğutmalı santrifüjde 15 dakika santrifüj edildi. Oluşan plazma atıldı. Altta kalan hacme eşit oranda serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanma işlemi gerçekleştirildi. Serum fizyolojik eklenen tüpler, +4 °C'de 2000 rpm'de 8 dakika santrifüj edildi. Eritrosit yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Elde edilen eritrosit paketinde MDA ile GSH tayini hemen gerçekleştirildi. Antioksidan enzimlerden SOD, GSH-Px, GST, GR ve CAT enzim aktiviteleri tayinine kadar eritrosit paketleri derin dondurucuda (-80°C) muhafaza edildi (Anonim, 2010).

3.7. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi

Muamele sonrası derin dondurucuda (-80 °C) bekletilen sıçanların beyin, böbrek, dalak, kalp ve karaciğer dokuları oda sıcaklığına gelinceye kadar kademeli olarak çözünmesi sağlandı. Dokularda antioksidan enzim ve malondialdehid tayinleri için doku ekstraksiyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi. Ekstraksiyon için 0.32 mol/L sukroz,

1mmol/L EDTA, 10nm/L Tris HCl (pH 7.4) içeren tampon hazırlanarak 100 mg dokular 25 ml'lik cam beherlerde dijital terazide (Chyo JI-180) tartıldı ve üzerine 5 ml soğuk tampon eklendi. Dokular cam bagetle iyice ezilerek Ultrasonik homojenizatörde 3 dakika homojenize edildi. Ekstrakt hemen 30 dakika 9500 rpm'de soğutmalı santrifüj cihazında (BHG Hermle) +4 °C'de santrifüj edildi. Beyin, böbrek, dalak, kalp ve karaciğer dokusundan elde edilen berrak süpernatantlar analizler için hazır hale getirildi (Xia ve ark., 1994; Marklund, 1990).

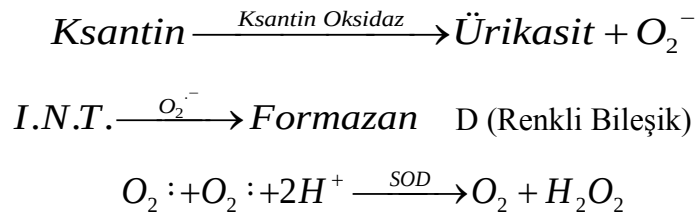
3.8. Analizlerin Yapılması

3.8.1. Serum enzim seviyelerinin belirlenmesi

Serum enzim aktiviteleri AST (EC 2.6.1.1), ALT (EC 2.6.1.2), LDH (EC 1.1.1.27) ile GGT (EC 2.3.2.2) düzeyleri otoanalizatör (INTEGRA-800 ROCHE) kitleri (DPC; Diagnostic Products Corporation, USA) kullanılarak belirlendi.

3.8.2. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim tayini

Prensip: Süperoksit dismutazın rolü, oksidatif enerji basamağında üretilen toksik süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktır. Bu metotla aşağıdaki formülde görüldüğü gibi ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksit radikali, 2-(iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klörür (INT) ile kırmızı boya formuna dönüşür. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür (McCord ve Fridovich, 1969).



Ayır��lar	Konsantrasyonları
1.Karışık Substrat	
Ksantin	0.05 mmol/l
I.N.T.	0.025 mmol/l
2.Tampon	
CAPS	50 mmol/l pH 10.2
EDTA	0.94 mmol/l
3.Ksantin Oksidaz (XO)	80 U/l
4.Standart	5.70/ml

Deneyin yapılışı: SOD enzim aktivitesi Randox-Ransod enzim kiti ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 505 nm'de 37 °C'de     ld   (Randox Lab., 2012). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-80   C) muhafaza edilen eritrosit paketi ve doku süpernatantları kullanıldı. Eritrosit paketinden 10   l alınarak 2500   l 0.01 M fosfat tamponu (pH = 7.0) ilave edilerek 251 katı sulandırıldı (F=251). İnhibisyonun % 30-60 arası olması sağlandı. Küvete aŗaėıdaki ayır  lar pipetlendi.

	Ayır�� K��r��	Standart	Sulandırılmış ��rnek
Sulandırılmış ��rnek	-----	-----	20 ��l
Standart	-----	20 ��l	-----
Fosfat Tamponu	20 ��l	-----	-----
Karışık Substrat	680 ��l	680 ��l	680 ��l
Ksantin Oksidaz	33 ��l	33 ��l	33 ��l

İçerik karıştırlarak ilk absorbands A_1 30 saniye sonra okundu ve eŗ zamanlı olarak zaman baŗlatıldı. Son absorbands A_2 3 dakika sonra okundu.

Hesaplama: Spektrofotometreden alınan optik dansite sonuçları aŗaėıdaki denklemde yerine konarak SOD enzimi % inhibisyonları hesaplandı.

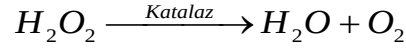
$$100 - \frac{(\Delta A_{StdDk} \times 100)}{(\Delta A_{BlankDk})} = \%İnhibisyon \quad 100 - \frac{(\Delta A_{ÖrnekDk} \times 100)}{(\Delta A_{BlankDk})} = \%İnhibisyon$$

SOD enzim aktivitesinin hesaplanması için standart grafiği elde edildi. Standart grafikten elde edilen $y = 48,85\ln(x) - 12,218$ formülü ile sulandırma faktörü de hesaba katılarak SOD aktivitesi U/g doku ve U/ml eritrosit olarak hesaplandı.

3.8.3. Katalaz (CAT) enzim tayini

Prensip: Enzim aktiviteleri eritrosit paketi ve süpernatantlarda ölçüldü. Katalaz enziminin aktivite tayini, 37 °C 240 nm’de H₂O₂’in tüketilme esasına dayanan spektrofotometrik metoda göre tespit edilir (Aebi, 1974).

Katalaz, aşağıdaki reaksiyona göre H₂O₂’in suya ve oksijene ayrılmasını katalizler.



Katalaz tarafından H₂O₂’in dekompoze olma oranı, spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda ölçülür. Çünkü H₂O₂, ışığı bu dalga boyunda absorbe etmektedir.

Kullanılan solüsyonlar aşağıda tablodaki gibi hazırlanarak fosfat tamponları hazırlanır.

Fosfat Tamponu Hazırlanışı (pH:7,5)

Kimyasal	MA	50 mM için	Son Hacim (distile su)	Sol. Adı
KH ₂ PO ₄	136,09 g/mol	6.805gr	1000mL	A
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	358,14 g/mol	17.907 gr	1000 mL	B₁
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	178,14 g/mol	8.907 gr	1000 mL	B₂
Na ₂ HPO ₄ (saf)	141,96 g/mol	7.098 gr	1000 mL	B₃

Hazırlanan fosfat tampon solüsyonları aşağıdaki tabloda olduğu gibi karıştırılarak hazırlanır.

Tampon Tablosu

50 mM Fosfat tamponu (1 L)	A Solüsyonu (mL)	B Solüsyonu (mL)
pH 7.5 için	160	840

H₂O₂ Çözeltisi ise; Absorbansı 0.500 nm'ye tampon ile ayarlanmış olan H₂O₂'li fosfat tamponudur. Yaklaşık 300 mL, pH 7,50 mM olan fosfat tamponu renkli kaba (plastik, cam olabilir) aktarılır. Spektrofotometre 240 nm'de fosfat tamponuna göre sıfırlanıp renkli kaptaki tampona 10-20 µL hacimlerle H₂O₂ ilave edilir. Optik Dansite (OD) 0.500 oluncaya kadar devam edilir ve aralarda karıştırılır.

Deneyin yapılışı: Numune ilavesi ile kuartz küvetin ağzı bekletilmeden kapatılır ve hemen küvet alt-üst edilip absorbans okunur. Absorbans azalması, her 15 sn'de bir defa olmak üzere 5 dakika süre ile kaydedilir (Aktivite hızlı ilerliyorsa 10 sn'de bir kayıt yapılır lineer azalma tespit edilirse okuma bitirilebilir). Hesaplama 1 dakikalık lineer absorbans azalmasının en yüksek (OD₁) ve en düşük (OD₂) değerleri esas alınır.

	Kör (mL)	Numune (mL)
Fosfat Tamponu	2.99	-
H ₂ O ₂ çözeltisi	0.01	-
H ₂ O ₂ 'li fosfat tamponu	-	2.99
Süpernatant	-	0.01

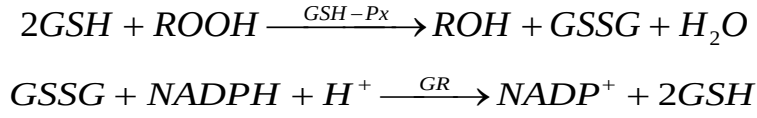
Hesaplama

$$K = \{[2.3 \times \log (OD_1 / OD_2)] / \Delta t (sn)\}$$

Formülü ile hesaplanarak katalaz aktivitesi dokular için U/g doku, eritrositler için U/ml olarak hesaplandı.

3.8.4. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim tayini

Prensip: Glutasyon peroksidaz, kümen hidroperoksitin GSH varlığında indirgenmesini katalizler. Kümen hidroperoksidin indirgenmesiyle oluşan glutasyonun formu GSSG, GR ve NADPH varlığında NADPH'ın $NADP^{+}$ ye yükseltgenmesiyle indirgenir. Enzim aktivitesi, 340 nm'de absorbanstaki değişim izlenerek tayin edilir (Paglia ve Valentine, 1967).



Ayıraçlar	Konsantrasyonları
1.Ayıraç	
Glutasyon	4.0 mmol/l
G. Redüktaz	≥ 0.5 U/l
NADPH	0.28 mmol/l
2.Tampon	
Fosfat	0.05 mol/l pH 7.2
EDTA	4.3 mmol/l
3.Kümen Hidroperoksit	0.18 mmol/l
4.Sulandırma Ayırıcı	

Deneyin yapılışı: Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi, Randox-Ransel enzim kitleri ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 340 nm'de ultraviyole metotla 37 °C'de ölçüldü (Randox Lab., 2012). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edilen eritrosit paketi ve doku süpernatantları kullanıldı.

Analiz için eritrosit paketinden 10 µl alınarak. 2 ml sulandırma ayırıcı ile sulandırıldı (F = 201). Küvete aşağıdaki ayıraçlar pipetlendi.

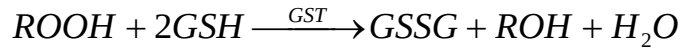
	Ayıraç Körü	Sulandırılmış Örnek
Sulan. Örnek	-----	15 µl
Distile Su	15 µl	-----
Ayıraç	750 µl	750 µl
Kumen	30 µl	30 µl

Küvetler karıştırılarak, örnek ve körün absorbansları 1 dakika sonra okundu. Zaman başlatılmasından 1 ve 2 dakika sonra absorbanslar tekrar okunarak dakika absorbans değişimi hesaplandı.

Hesaplama: U/g doku veya ml eritrosit paketi = $8412 \times DA_{340 \text{ nm}} / \text{dakika}$. Örnek ve körün U/g tüm doku sonuçları için, örnek değerden (U/g), kör değeri (U/g) çıkarıldı. Sulandırma faktörde hesaba katılarak sonuçlar tüm dokuda U/g doku, eritrositler için U/ml olarak hesaplandı.

3.8.5. Glutasyon -S-transferaz (GST) enzim tayini

Prensip: Glutasyon S-transferaz, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun –SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizler. Enzim aktivitesi 340 nm’de 37° C’de CDNB ile glutasyon konjugasyon şiddetini ölçerek tespit edilir (Mannervik ve Guthenberg, 1981).



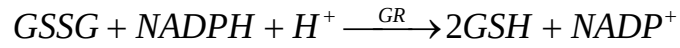
Dokuda GST enzim tayini: Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edilen eritrosit paketi ve doku süpernatantları kullanıldı. 3 ml kuvartz küvette, 340 nm de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Absorbanslar, 3 dakika boyunca 15 saniyede bir kaydedildi. Absorbans aralığındaki değişimin lineer olduğu kısımdan dakika başına absorbans değişimi tespit edilerek ($EU = 3 (A / 9.6)$) formülünden sulandırma faktörünü de hesaba katılarak hesaplamalar yapıldı. Sonuçlar dokular için U/g doku, eritrositler için U/ml olarak hesaplandı.

Aşağıdaki tabloda yer alan miktarlar uygun şekilde karıştırılarak ölçüm yapıldı (Habig ve ark., 1981).

	Kör	Numune	Son Konsantrasyon
PBS	2.7 ml	2.7 ml	0.1 M
Distile Su	0.1 ml	-	-
CDNB	0.1 ml	0.1 ml	1 mM
GSH	0.1 ml	0.1 ml	1 mM
Süpernatant	-	0.1 ml	-

3.8.6. Glutasyon redüktaz (GR) enzim tayini

Prensip: Glutasyon redüktaz, GSSG'nin NADPH tarafından GSH'a indirgenmesini katalize eder. GR aktivitesi (EU), 37 °C'de 340 nm dalga boyunda dakika başına harcanan NADPH miktarından hesaplandı. 5 dakika boyunca ölçülen absorbansın lineer olan kısmı dakika başına hesaplandı ($A = \epsilon \times b \times c$), (Carlberg ve Mannervik, 1985). Sonuçlar dokular için U/g doku, eritrositler için U/ml olarak hesaplandı.



Analiz materyali olarak, daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-80°C) muhafaza edilen eritrosit paketi ve doku süpernatantları kullanıldı. Aşağıdaki tabloda yer alan miktarlar uygun şekilde karıştırılarak ölçüm yapıldı.

Ölçüm Prosedürü	Kör	Numune
Fosfat Tamponu	1500 µl	1500 µl
Homojenat Tamponu	1200 µl	-
β-NADPH 2 mM	150 µl	150 µl
GSSG 20 mM	150 µl	150 µl
Numune (Süpernatant)	-	1200 µl

3.8.7. Redükte glutatyon (GSH) tayini

Prensip: Ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş eritrosit veya dokulardan hazırlanan hemolizat ve süpernatantlarında, sülfidril (SH) taşımayan tüm proteinler çöktürücü (presipitasyon) çözelti ile çöktürüldü. İndirgenmiş glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda sülfidril gruplarının DTNB 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) ile reaksiyonu sonucu sarı rengin oluşumu ile ölçüldü. Eritrosit paketi ve süpernatantlarda GSH seviyesinde düşüş olabileceği ihtimaline karşılık 24 saat içerisinde gerçekleştirildi (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

Ayırıcılar:

1. Çöktürücü Çözelti: 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA, 30 g NaCl 100 ml'ye distile suda eritilerek tamamlandı.
2. Fosfat Çözeltisi: 0.3 M disodyum fosfat, distile su ile hazırlandı.
3. DTNB (Ellman's Ayırıcı): 40 mg DTNB, % 1 sodyum sitrat, 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

Deneyin yapılışı: Eritrosit paketi veya doku süpernatantından 200 µl alınarak, 3 ml çöktürücü çözelti ile karıştırıldı. Beş dakika bekleme sonrası, karışım Whatman süzgeç kağıdından (No.42) süzüldü. Örnek numuneden elde edilen süzüntünün 2 ml'si başka tüpe aktarıldı. Üzerine 8 ml fosfat çözeltisi, 1ml DTNB ayırıcı eklendi. Kör için 2 ml çöktürücü çözeltisi (3 kısım çöktürücü çözelti + 2 kısım distile su), 8 ml fosfat çözeltisi ve 1 ml DTNB ayırıcı tüpe alınarak hazırlandı. Standart için, 40 mg GSH çözeltisi taze olarak hazırlandı. Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 412 nm'de blanka karşı standart numunelerin optik dansiteleri okundu. Sonuçlar dokular için mg/g doku, eritrositler için mg/ml olarak hesaplandı (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

3.8.8. Lipid peroksidasyon (MDA) tayini

Prensip: Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit, tiyobarbiturik asit ile renkli forma girmesi ile ölçülür (Slater, 1984b; Sushil ve ark., 1989).

Ayırıcılar

1. EDTA Çözeltisi (0.1 M) : 37.224 g EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ 1 litre distile suda eritilir.
2. BHT Çözeltisi (%88) : 0.220 g BHT 25 ml mutlak alkolde çözündürülür.
3. NaOH Çözeltisi (0.05 N) : 2 g NaOH 1 litre distile suda eritilir.
4. TBA Çözeltisi (%1) : 1 g TBA 100 ml'ye 0.05 N NaOH ile tamamlanır.
5. TCA (% 30) : 30 g TCA 100 ml distile suda eritilir.
6. Fosfat Tamponu : 8.1 g NaCl, 2.302 g Na_2HPO_4 , 0.194 g NaH_2PO_4 distile suda eritilerek 1 litreye tamamlanır (pH 7.4).

Deneyin yapılışı: Lipid peroksidasyon ürünü malondialdehid seviyesi, tiyobarbitürik asit (TBA) reaktifi ile renk reaksiyonu sonucu Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede maksimum 532 nm'de absorbanslar ölçüldü. Bir tüpe ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş eritrosit paketi veya doku süpernatantlarından 200 µl alınarak üzerine 800 µl fosfat tamponu ve 25 µl BHT ile süspanse edildi. Sonra 500 µl % 30'luk TCA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırılarak 2 saat -20 °C'de buzdolabında tutuldu. Sonra 15 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantın 1 ml'si alınarak başka tüplere aktarıldı. Bunların üzerine 75 µl EDTA $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$, 250 µl TBA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırıldı ve 15 dakika sıcak su banyosunda (90 °C) tutuldu. Sonra oda ısısına getirilerek 532 nm'de optik dansiteleri (eritrositlerde 532 nm OD den 600 nm OD çıkartılarak hemoglobindeki MDA miktarı ortadan kaldırıldı) okundu (Slater, 1984b; Sushil ve ark., 1989).

$$A = a \times b \times c$$

$$A = \text{Absorbans} \quad a = \text{Ekstinksiyon katsayısı}$$

$$b = \text{Işık yolu} \quad c = \text{Konsantrasyon}$$

$$1. \text{Sulandırma} : 0.2 + 0.8 + 0.025 + 0.5 = 1.525 / 0.2 = 7.625$$

$$2. \text{Sulandırma} : 1 + 0.075 + 0.25 = 1.325 / 1 = 1.325$$

$$\text{Sonuç} = 7.625 \times 1.325 = 10.103125 = F$$

$$c = A/a \times b = (A/\text{mol} \times \text{cm})/1.56 \times 10^5 \times \text{lt}) \times (1/\text{cm}) \times (10^9 \text{ nM/mol}) \times (\text{lt}/10^3 \times \text{ml})$$

$$c = A \times 1 \times F \times 10 / 1.56 = \text{nmol/g doku veya nmol/g eritrosit olarak hesaplandı.}$$

3.9. İstatistiksel Analizler

Ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$), hazır program kullanarak standart metotlara göre; grup ortalamaları arasındaki fark ise One Way ANOVA-Tukey testi kullanılarak ortaya konuldu. Önem derecesi bütün testler için ($p < 0.05$) olarak kabul edildi (İkiz ve ark., 1996).

4. BULGULAR

Otuz altı adet sıçan (Wistar albino) her grupta 6 tane sıçan olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, %20 etanol grubu, % 10 ceviz içeren yem grubu + su, % 10 ceviz içeren yem grubu + %20 etanol, %5 ceviz içeren yem grubu + su ve %5 ceviz içeren yem grubu + %20 etanol olmak üzere gruplar oluşturuldu. 50 günlük deneme boyunca kontrol grubuna çeşme suyu ile normal yem, %20 etanol grubuna % 20 etanol ile normal yem, 3. gruba % 10 ceviz içi içeren katkılı yem ile çeşme suyu verilirken, 4. gruba % 10 ceviz içi içeren katkılı yem ile % 20 etanol, 5. gruba % 5 ceviz içi içeren katkılı yem ile normal su ve 6.gruba da %5 ceviz içi içeren katkılı yem ile %20 etanol verildi. 50 gün boyunca devam eden uygulamalar sonunda karaciğer koruyucu etkilerinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek karaciğer harabiyet biyobelirteçleri olan serum AST, ALT, GGT ve LDH enzim seviyeleri tespit edildi. Ayrıca beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokusu örneklerinde antioksidan kapasite etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden CAT, SOD, GPx, GST, GR aktiviteleri ve GSH ile MDA düzeyleri üzerindeki etkileri belirlendi.

Elde edilen sonuçlara göre; etanolün serum enzim düzeylerini ve MDA miktarını kontrol grubuna göre arttırmasına karşın, farklı gruplara değişik oranlarda ceviz içi ilave edilen muamele gruplarında ceviz içinin karaciğer koruyucu ve lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi gözlemlendi. Ayrıca, etanolün çeşitli dokularda oksidatif stres oluşturmaya rağmen ceviz içi ilaveli yem gruplarında ise antioksidan etki göstererek oksidatif strese karşı direnç gösterdikleri belirlendi.

Çizelge 4.1’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 ceviz içi + su grubu, %10 ceviz içi + %20 etanol, %5 ceviz içi + su ile %5 ceviz içi + %20 etanol gruplarındaki karaciğer koruyucu etkilerinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek karaciğer harabiyet biyobelirteçlerinden olan serum AST enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla; 98.5 ± 31.3 , 194.5 ± 35.4 , 96.8 ± 10.7 , 103.8 ± 25.7 , 96.7 ± 26.8 ve 101.0 ± 35.6 ALT enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla; 49.0 ± 9.1 , 88.2 ± 13.1 , 56.0 ± 7.4 , 68.2 ± 16.4 , 45.2 ± 8.5 ve 52.5 ± 7.5 , GGT enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla; 1.1 ± 0.3 , 1.8 ± 0.3 , 1.0 ± 0.2 , 1.7 ± 0.3 , 1.1 ± 0.3 ve 1.3 ± 0.3 ve son olarak LDH enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla;

1270.2±203.9, 1696.5±310.0, 1050.0±169.9, 1505.8±162.4, 1364.7±311.6 ve
1325.3±461.1 olarak bulundu.

Çizelge 4.1. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların serum enzim düzeyleri

SERUM ENZİMLERİ						
Parametreler	Kontrol	%20 Etanol	%10 Ceviz	%10 Ceviz+ %20 Etanol	%5 Ceviz	%5 Ceviz + %20 Etanol
	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD
AST (U/L)	98,5±31,3	194,5±35,4 ^a	96,8±10,7	103,8±25,7 ^f	96,7±26,8	101,0±35,6 ^g
ALT (U/L)	49,0±9,1	88,2±13,1 ^a	56,0±7,4	68,2±16,4 ^{cf}	45,2±8,5	52,5±7,5 ^g
GGT (U/L)	1,1±0,3	1,8±0,3 ^a	1,0±0,2	1,7±0,3	1,1±0,3	1,3±0,3
LDH(U/L)	1270,2±203,9	1696,5±310,0 ^a	1050,0±169,9	1505,8±162,4	1364,7±311,6	1325,3±461,1

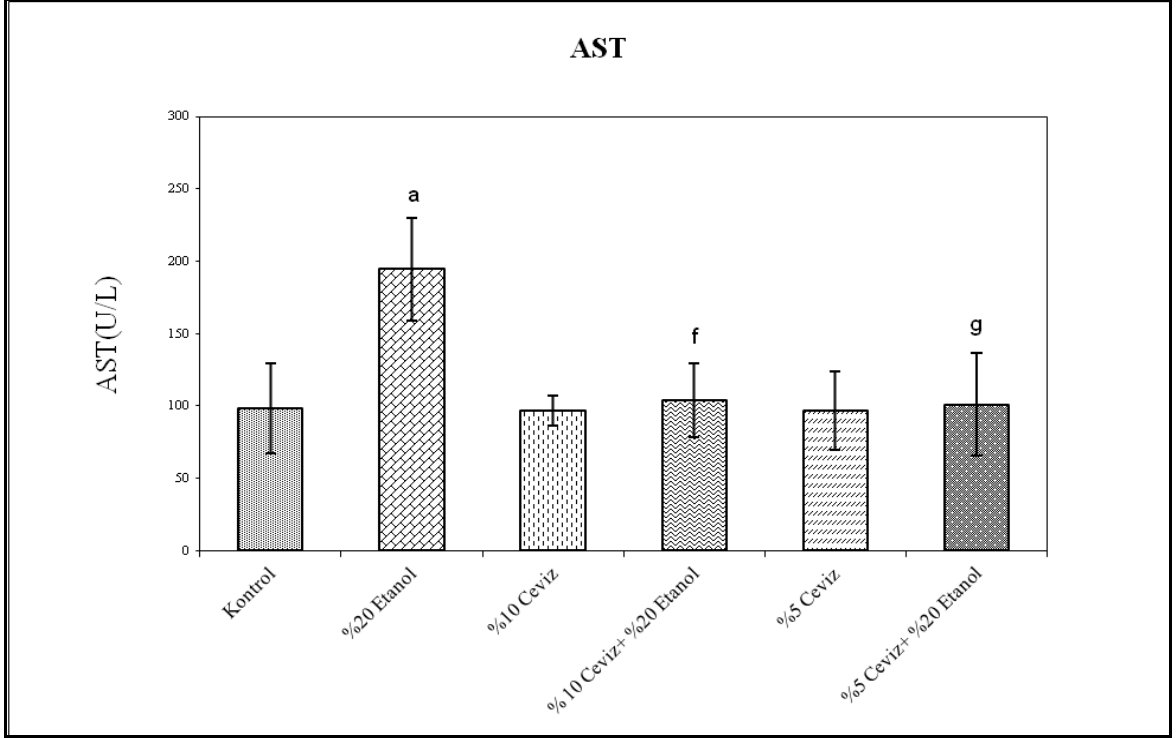
a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz+ %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz+ %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz+ %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; AST değerlerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli bir azalma ($p<0,05$) saptandı. Diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı.



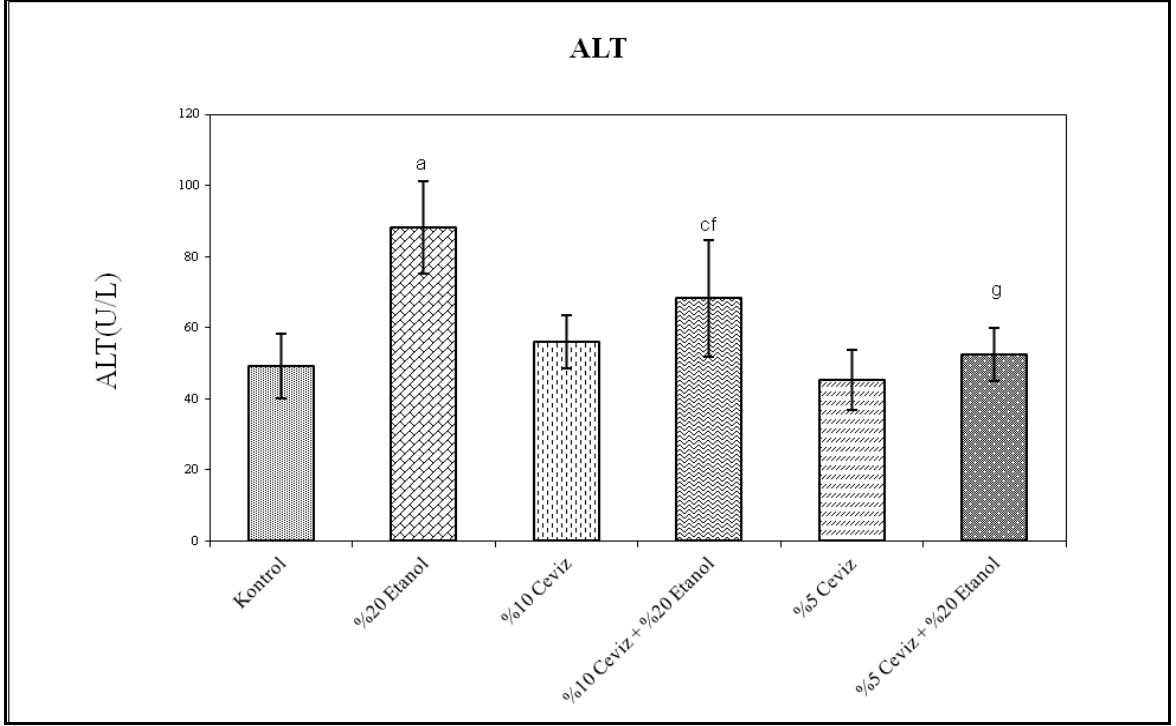
a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz+ %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.1. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda AST seviyelerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; ALT değerlerinde %20 etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) bulunurken, diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı.



a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

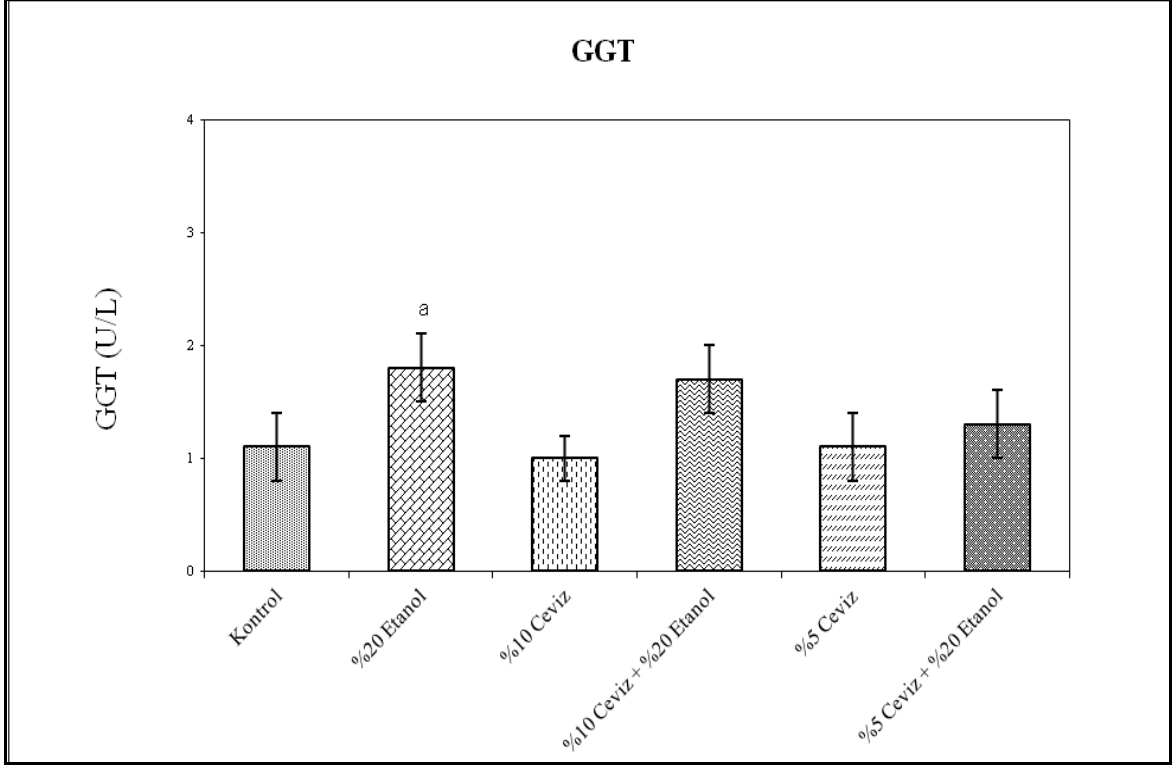
c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.2. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda ALT seviyelerinin karşılaştırılması.

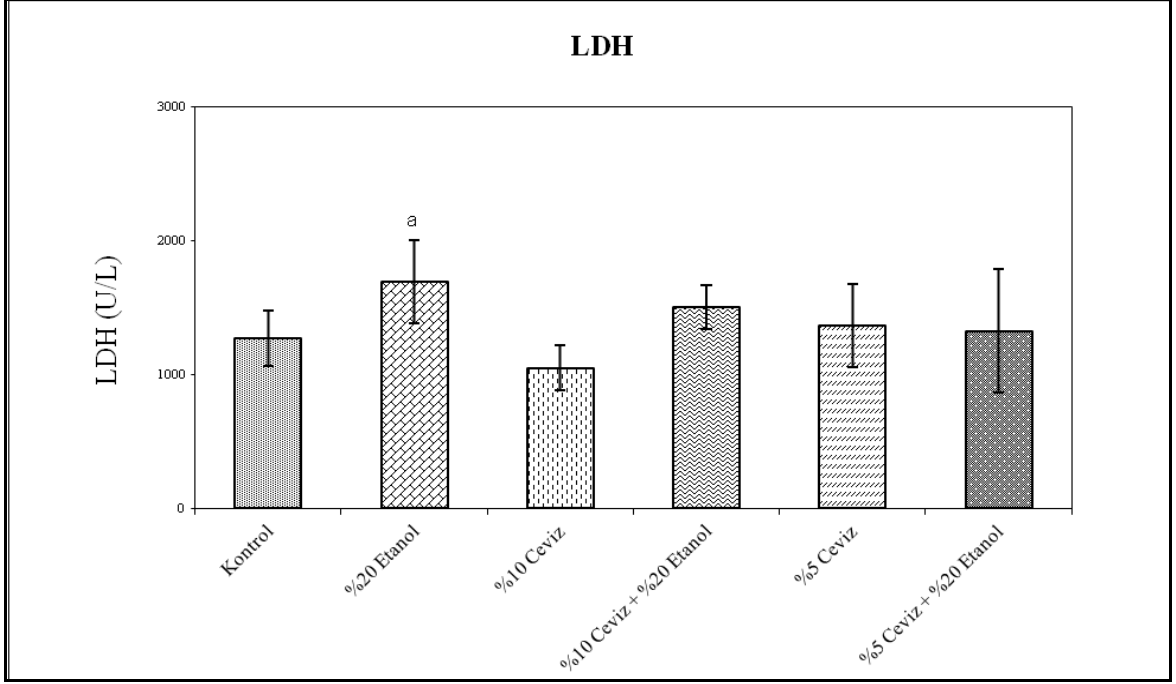
Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; GGT değerlerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) bulunurken, diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı.



a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.3. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda GGT seviyelerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; LDH değerlerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptanırken, diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı.



a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.4. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanlarda LDH seviyelerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.2. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki CAT düzeyleri

Doku	CAT					
	Kontrol X± SD	%20 Etanol X± SD	%10 Ceviz X± SD	%10 Ceviz + %20 Etanol X± SD	%5 Ceviz X± SD	%5 Ceviz + %20 Etanol X± SD
Beyin U/g x10 ⁻¹	77,5±10,2	57,2±9 ^a	67,7±9,4	53,7±17 ^c	55,8±13,2 ^d	61,4±15,8
Karaciğer U/g	85,9±5,7	137,27±6,94 ^a	87,61±5,78	88,05±6,58	89,63±6,25	78.73±12.48 ^g
Dalak U/g	55,93±4,69	71,66±9,52 ^a	43,09±2,61 ^b	52,39±4,73 ^f	56,8±4,73	57,98±6,35 ^g
Eritrosit U/ml	129,47±15,5	121,38±4,06	107,63±14,64 ^b	93,74±6,99 ^{cf}	108,26±11,3 ^d	100,51±7,63 ^{eg}
Kalp U/g	91,85±14,15	56,54±11,99 ^a	39,64±8,4 ^b	58,07±17,12 ^c	50,53±6,42 ^d	50,89±17,54
Böbrek U/g	220,42±29,79	248,2±7,89	208,69±21,01	231,03±16,76 ^f	238,43±20,82	230,19±20,78

a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

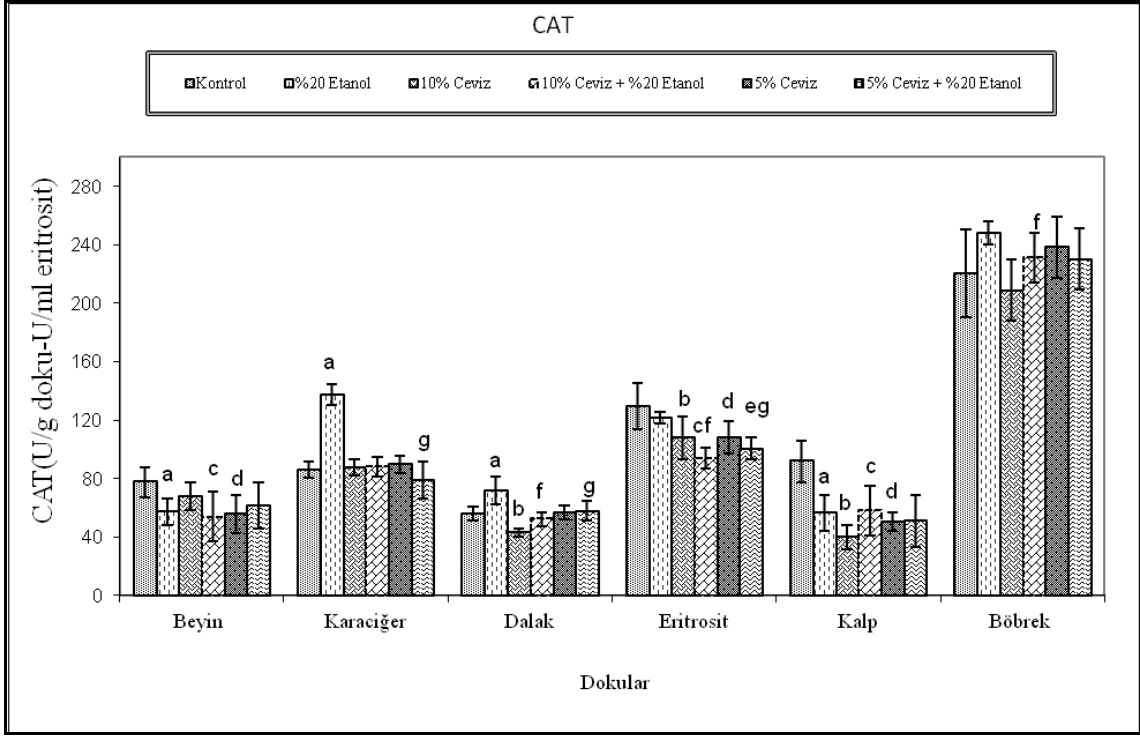
c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



- a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.5. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki CAT düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.2’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ve %5 Ceviz + %20 Etanol gruplarındaki beyin($\times 10^{-1}$) dokusunun CAT (U/g) değerleri sırasıyla; 77.5 $\pm$ 10.2, 57.2 $\pm$ 9, 67.7 $\pm$ 9.4, 53.7 $\pm$ 17, 55.8 $\pm$ 13.2, 61.4 $\pm$ 15.8, karaciğer dokusunda (U/g) sırasıyla; 85.9 $\pm$ 5.7, 137.27 $\pm$ 6.94, 87.61 $\pm$ 5.78, 88.05 $\pm$ 6.58, 89.63 $\pm$ 6.25, 78.73 $\pm$ 12.48, dalak dokusunda (U/g) sırasıyla; 55.93 $\pm$ 4.69, 71.66 $\pm$ 9.52, 43.09 $\pm$ 2.61, 52.39 $\pm$ 4.73, 56.8 $\pm$ 4.73, 57.98 $\pm$ 6.35, eritrosit dokusunda (U/ml) sırasıyla; 129.47 $\pm$ 15.5, 121.38 $\pm$ 4.06, 107.63 $\pm$ 14.64, 93.74 $\pm$ 6.99, 108.26 $\pm$ 11.3, 100.51 $\pm$ 7.63, kalp dokusunda (U/g) sırasıyla; 91.85 $\pm$ 14.15, 56.54 $\pm$ 11.99, 39.64 $\pm$ 8.4, 58.07 $\pm$ 17.12, 50.53 $\pm$ 6.42, 50.89 $\pm$ 17.54, böbrek dokusunda (U/g) sırasıyla; 220.42 $\pm$ 29.79, 248.2 $\pm$ 7.89, 208.69 $\pm$ 21.01, 231.03 $\pm$ 16.76, 238.43 $\pm$ 20.82, 230.19 $\pm$ 20.78 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin CAT değerlerinde %20 etanol grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) tespit edildi.

Karaciğer CAT değerlerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Dalak CAT değerlerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli bir azalma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Eritrosit CAT değerlerinde %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Kalp CAT değerlerinde %20 Etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) tespit edildi.

Böbrek CAT değerleri %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) tespit edildi. Diğer muamele gruplarında CAT değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

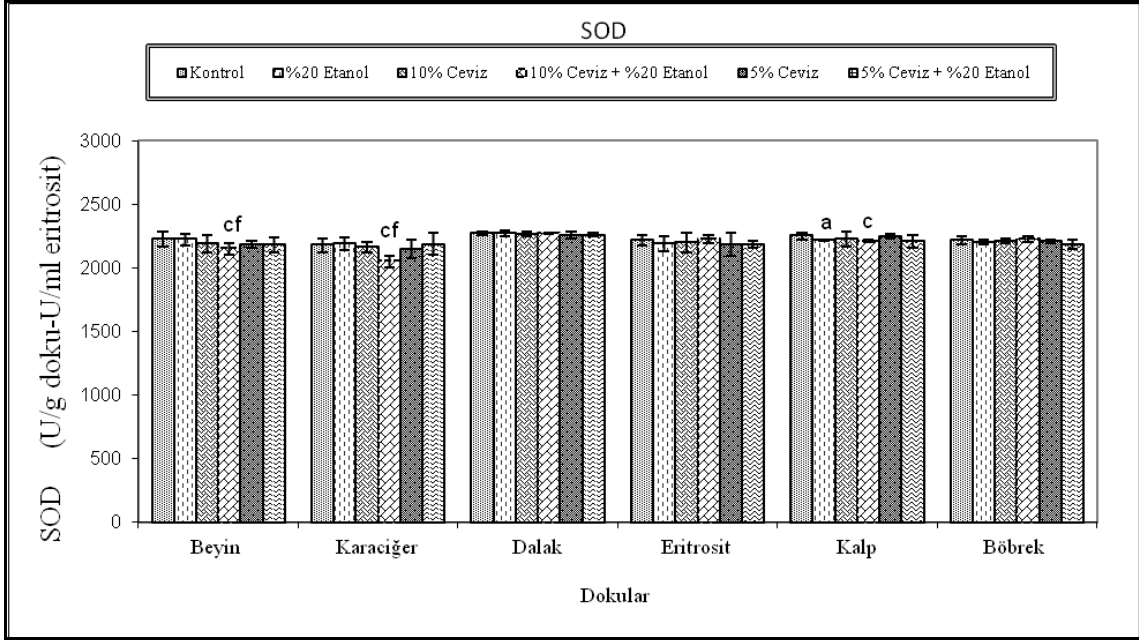
Çizelge 4.3. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeyleri

Doku	SOD					
	Kontrol	%20 Etanol	%10 Ceviz	%10 Ceviz + %20 Etanol	%5 Ceviz	%5 Ceviz + %20 Etanol
	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD
Beyin U/g	2223,34±58,38	2223,94±45,26	2190,25±65,50	2151,0±48,53 ^{cf}	2183,03±27,13	2183,08±57,56
Karaciğer U/g	2177,60±50,84	2189,46±52,17	2164,14±38,98	2051,52±44,58 ^{cf}	2148,91±70,96	2187,6±87,76
Dalak U/g x10	2275,045±14,941	2271,525±20,281	2268,280±14,287	2271,793±7,646	2255,781±27,518	2263,161±13,17
Eritrosit U/ml	2218,96±41,25	2190,95±57,71	2200,99±74,83	2228,75±31,7	2185,20±93,96	2187,08±25,80
Kalp U/g	2250,66±23,86	2216,51±5,84 ^a	2228,55±59,48	2210,82±8,59 ^c	2249,33±19,70	2210,93±48,88
Böbrek U/g	2217,7±30,47	2201,06±17,43	2212,46±19,84	2225,45±22,74	2208,73±17,72	2185,04±39,23

a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.6. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.3’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ve %5 Ceviz + %20 Etanol gruplarındaki beyin dokusunun SOD (U/g) değerleri sırasıyla; 2223.34±58.38, 2223.94±45.26, 2190.25±65.50, 2151.0±48.53, 2183.03±27.13, 2183.08±57.56, karaciğer dokusunda (U/g) sırasıyla; 2177.60±50.84, 2189.46±52.17, 2164.14±38.98, 2051.52±44.58, 2148.91±70.96, 2187.6±87.76, dalak (x10) dokusunda (U/g) sırasıyla; 2275.045±14.941, 2271.525±20.281, 2268.280±14.287, 2271.793±7.646, 2255.781±27.518, 2263.161±13.17, eritrosit dokusunda (U/ml) sırasıyla; 2218.96±41.25, 2190.95±57.71, 2200.99±74.83, 2228.75±31.7, 2185.20±93.96, 2187.08±25.80, kalp dokusunda (U/g) sırasıyla; 2250.66±23.86, 2216.51±5.84, 2228.55±59.48, 2210.82±8.59, 2249.33±19.7, 2210.93±48.88, böbrek dokusunda (U/g) sırasıyla; 2217.7±30.47, 2201.06±17.43, 2212.46±19.84, 2225.45±22.74, 2208.73±17.72, 2185.04±39.23 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin SOD değerlerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna ve %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) tespit edildi.

Karaciğer SOD değerlerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol ve %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Kalp SOD değerlerinde %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) tespit edildi.

Diğer muamele gruplarında SOD değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

Çizelge 4.4. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeyleri

Doku	GSH-Px					
	Kontrol	%20 Etanol	%10 Ceviz	%10 Ceviz + %20 Etanol	%5 Ceviz	%5 Ceviz + %20 Etanol
	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD
Beyin U/g	197,82±4,14	185,03±8,89 ^a	188,92±9,66	193,07±3,91	166,57±26,79 ^d	203,24±10,65 ^g
Karaciğer U/g	132,24±17,84	116,99±8,87	133,7±21,47	133,07±28,5	122,49±19,34	147,12±18,74 ^g
Dalak U/g	166,12±16,79	162,45±19,38	159,42±9,78	145,11±17,94	145,48±18,98	118,67±9,58 ^{eg}
Eritrosit U/ml	176,06±26,10	196,44±26,35	205,0±17,15 ^b	180,5±12,09	162,90±24,34	148,62±26,36 ^g
Kalp U/g	162,3±6,32	184,55±7,03 ^a	179,5±16,84 ^b	161,71±16,9 ^f	164,73±14,67	148,58±14,81 ^g
Böbrek U/g	125,29±10,53	117,78±8,83	132,13±12,27	138,75±13,07 ^f	147,05±7,37 ^d	135,68±21,60

a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

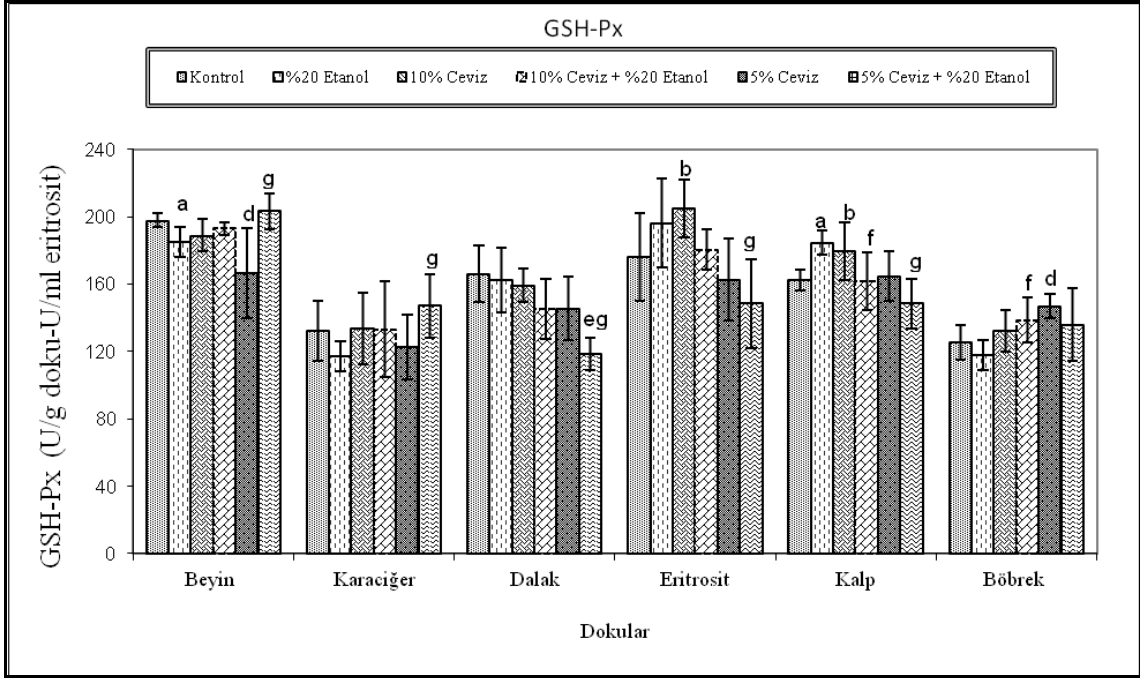
b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

Şekil 4.7. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.4’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ve %5 Ceviz + %20 Etanol gruplarındaki beyin dokusunun GSH-Px (U/g) değerleri sırasıyla; 197.82±4.14, 185.03±8.89, 188.92±9.66, 193.07±3.91, 166.57±26.79, 203.24±10.65, karaciğer dokusunda (U/g) sırasıyla; 132.24±17.84, 116.99±8.87, 133.7±21.47, 133.07±28.5, 122.49±19.34, 147.12±18.74, dalak dokusunda (U/g) sırasıyla; 166.12±16.79, 162.45±19.38, 159.42±9.78, 145.11±17.94, 145.48±18.98, 118.67±9.58, eritrosit dokusunda (U/ml) sırasıyla; 176.06±26.10, 196.44±26.35, 205.0±17.15, 180.51±12.09, 162.90±24.34, 148.62±26.36, kalp dokusunda (U/g) sırasıyla; 162.3±6.32, 184.55±7.03, 179.5±16.84, 161.71±16.9, 164.73±14.67, 148.58±14.81, böbrek dokusunda (U/g) sırasıyla; 125.29±10.53, 117.78±8.83, 132.13±12.27, 138.75±13.07, 147.05±7.37, 135.68±21.60 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GSH-Px değerlerinde %20 etanol grubu ile %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$), %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Karaciğer GSH-Px değerlerinde %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Dalak GSH-Px değerleri %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna ve %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) tespit edildi.

Eritrosit GSH-Px değerlerinde %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Kalp GSH-Px değerlerinde %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz +%20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) tespit edildi.

Böbrek GSH-Px değerlerinde %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Diğer muamele gruplarında GSH-Px değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

Çizelge 4.5. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeyleri

Doku	GST					
	Kontrol	%20 Etanol	%10 Ceviz	%10 Ceviz + %20 Etanol	%5 Ceviz	%5 Ceviz + %20 Etanol
	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD
Beyin U/g	113,17±17,42	74,49±26,69 ^a	96,39±10,84	112,80±16,29 ^f	108,23±9,94	120,93±14,54 ^g
Karaciğer U/g x10	72,396±7,909	69,090±8,951	70,605±9,897	72,980±11,682	68,972±3,81	75,08±1,685
Dalak U/g	27,1±8,47	37,09±6,39 ^a	33,11±5,9	45,59±5,07 ^{cf}	27,47±9,56	44,58±3,64 ^{eg}
Eritrosit U/ml	15,94±1,52	10,94±1,08 ^a	15,54±1,06	15,36±2,30 ^f	16,43±2,35	14,58±1,06 ^g
Kalp U/g	24,30±5,18	22,05±1,58	28,88±5,61	29,2±5,03 ^f	26,02±3,23	28,44±2,12 ^g
Böbrek U/g	42,81±12,77	54,16±8,01	47,55±12,80	53,14±12,27	42,23±13,62	67,59±13,29 ^e

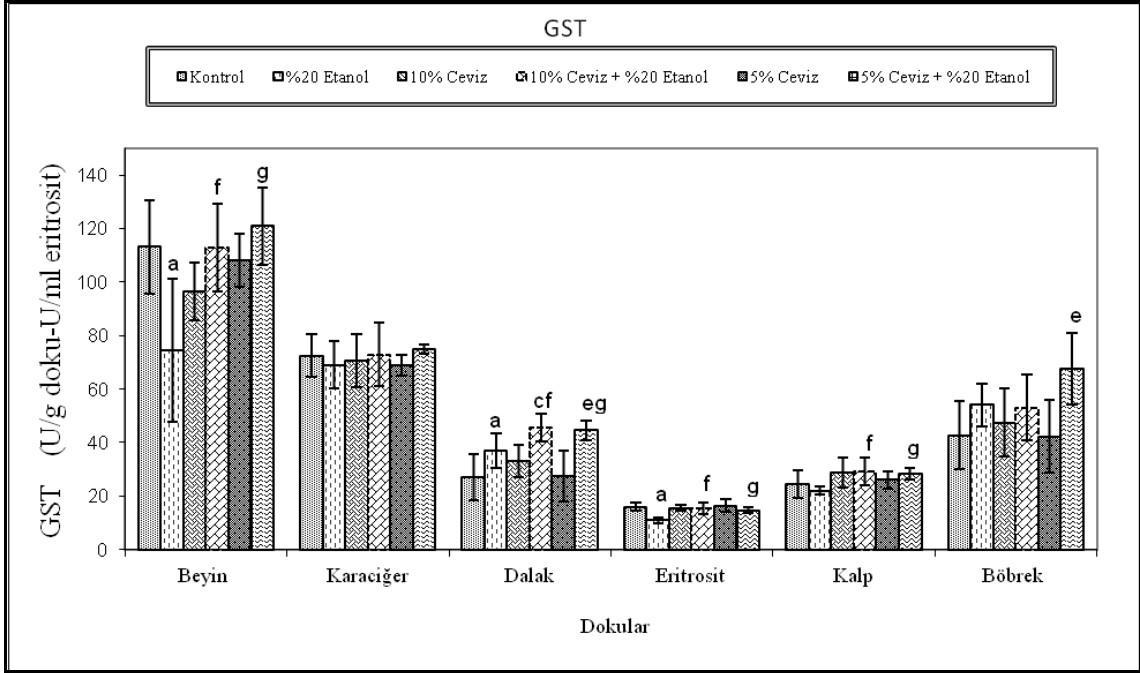
a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.8. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.5’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ve %5 Ceviz + %20 Etanol gruplarındaki beyin dokusunun GST (U/g) değerleri sırasıyla; 113.17±17.42, 74.49±26.69, 96.39±10.84, 112.80±16.29, 108.23±9.94, 120.93±14.54, karaciğer (x10) dokusunda (U/g) sırasıyla; 72.396±7.909, 69.090±8.951, 70.605±9.897, 72.980±11.682, 68.972±3.81, 75.08±1.685, dalak dokusunda (U/g) sırasıyla; 27.1±8.47, 37.09±6.39, 33.11±5.9, 45.59±5.07, 27.47±9.56, 44.58±3.64, eritrosit dokusunda (U/ml) sırasıyla; 15.94±1.52, 10.94±1.08, 15.54±1.06, 15.36±2.30, 16.43±2.35, 14.58±1.06, kalp dokusunda (U/g) sırasıyla; 24.30±5.18, 22.05±1.58, 28.88±5.61, 29.2±5.03, 26.02±3.23, 28.44±2.12, böbrek dokusunda (U/g) sırasıyla; 42.81±12.77, 54.16±8.01, 47.55±12.80, 53.14±12.27, 42.23±13.62, 67.59±13.29 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GST değerlerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Dalak GST değerlerinde %20 Etanol grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandı.

Eritrosit GST değerlerinde %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandı.

Kalp GST değerlerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Böbrek GST değerlerinde %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Diğer muamele gruplarında GST değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

Çizelge 4.6. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeyleri

Doku	GR					
	Kontrol	%20 Etanol	%10 Ceviz	%10 Ceviz + %20 Etanol	%5 Ceviz	%5 Ceviz + %20 Etanol
	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD
Beyin U/g	16,39±2,26	10,92±1,03 ^a	12,46±2,20 ^b	15,33±2,51 ^f	13,20±2,92	13,33±2,94
Karaciğer U/g	47,68±10,53	56,55±4,9	49,75±6,85	51,81±6,63	58,32±5,12 ^d	53,28±9,11
Dalak U/g	23,75±3,4	24,05±3,94	20,77±3,18	21,32±2,30	23,0±2,3	21,53±1,55
Eritrosit U/ml	5,22±1,01	2,47±0,99 ^a	2,28±0,35 ^b	3,23±0,34 ^c	3,64±0,58 ^d	3,22±0,56 ^e
Kalp U/g	7,19±2,0	7,32±1,86	7,61±2,19	9,31±2,22	9,7±1,89 ^d	8,49±2,27
Böbrek U/g	23,90±2,13	24,22±2,7	24,0±2,21	24,8±4,75	24,88±0,79	26,35±4,32

a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

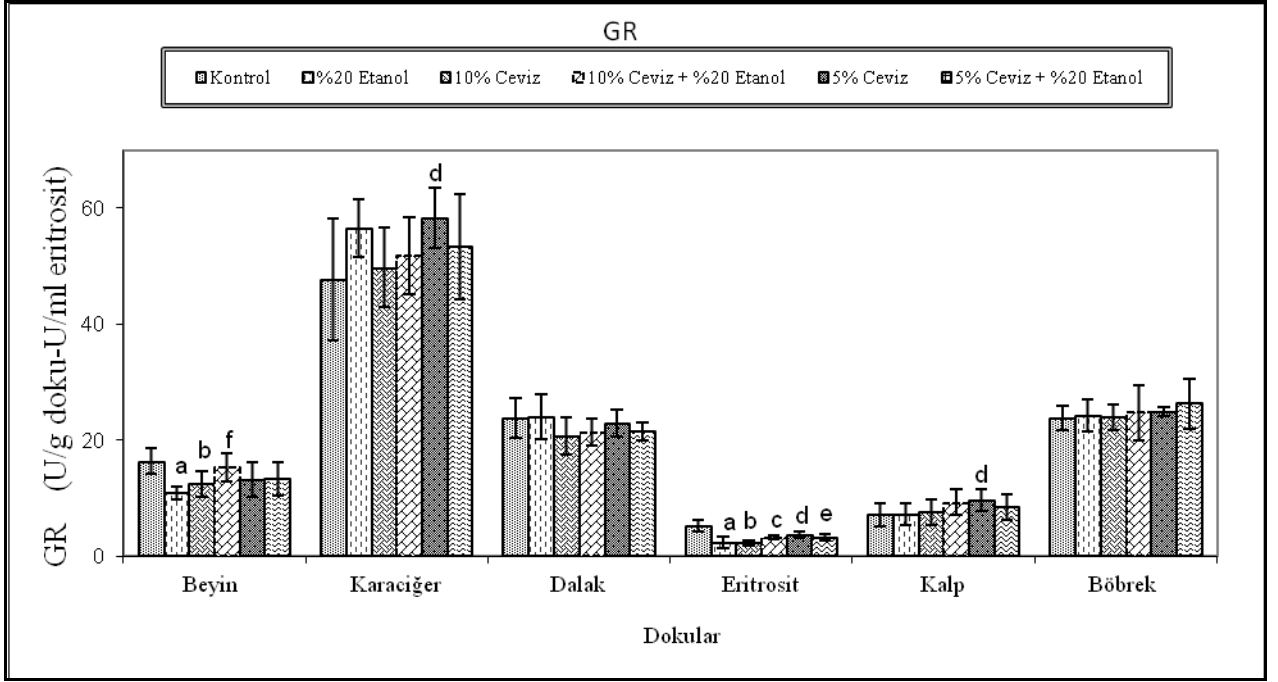
b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



- a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.9. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.6'da belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ve %5 Ceviz + %20 Etanol gruplarındaki beyin dokusunun GR (U/g) değerleri sırasıyla; 16.39 ± 2.26 , 10.92 ± 1.03 , 12.46 ± 2.20 , 15.33 ± 2.51 , 13.20 ± 2.92 , 13.33 ± 2.94 , karaciğer dokusunda (U/g) sırasıyla; 47.68 ± 10.53 , 56.55 ± 4.9 , 49.75 ± 6.85 , 51.81 ± 6.63 , 58.32 ± 5.12 , 53.28 ± 9.11 , dalak dokusunda (U/g) sırasıyla; 23.75 ± 3.4 , 24.05 ± 3.94 , 20.77 ± 3.18 , 21.32 ± 2.30 , 23.0 ± 2.3 , 21.53 ± 1.55 , eritrosit dokusunda (U/ml) sırasıyla; 5.22 ± 1.01 , 2.47 ± 0.99 , 2.28 ± 0.35 , 3.23 ± 0.34 , 3.64 ± 0.58 , 3.22 ± 0.56 , kalp dokusunda (U/g) sırasıyla; 7.19 ± 2.0 , 7.32 ± 1.86 , 7.61 ± 2.19 , 9.31 ± 2.22 , 9.7 ± 1.89 , 8.49 ± 2.27 , böbrek dokusunda (U/g) sırasıyla; 23.90 ± 2.13 , 24.22 ± 2.7 , 24.0 ± 2.21 , 24.8 ± 4.75 , 24.88 ± 0.79 , 26.35 ± 4.32 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GR değerlerinde %20 etanol grubu ile %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Karaciğer GR değerlerinde %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Eritrosit GR değerlerinde %20 Etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Kalp GR değerlerinde %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Diğer muamele gruplarında GR değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

Çizelge 4.7. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeyleri

Doku	GSH					
	Kontrol	%20 Etanol	%10 Ceviz	%10 Ceviz + %20 Etanol	%5 Ceviz	%5 Ceviz + %20 Etanol
	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD
Beyin mg/g	21,57±4,50	32,55±4,27 ^a	24,68±2,92	40,64±1,75 ^{cf}	44,23±1,59 ^d	32,82±9,86 ^e
Karaciğer mg/g	38,33±7,46	35,50±6,80	41,58±4,61	34,08±5,92	41,73±4,79	35,02±6,32
Dalak mg/g	39,49±6,51	30,72±7,24	31,64±8,59	38,07±3,59 ^f	41,0±9,69	39,03±5,13 ^g
Eritrosit mg/ml	16,98±1,53	22,01±2,98 ^a	21,68±2,22 ^b	19,79±1,40 ^c	20,54±0,97 ^d	21,47±1,39 ^e
Kalp mg/g	39,89±6,24	37,34±5,70	38,83±5,02	35,18±7,08	37,60±7,13	35,66±8,12
Böbrek mg/g	37,17±10,59	35,23±4,32	38,15±6,58	37,09±7,28	39,18±5,35	31,94±9,25

a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

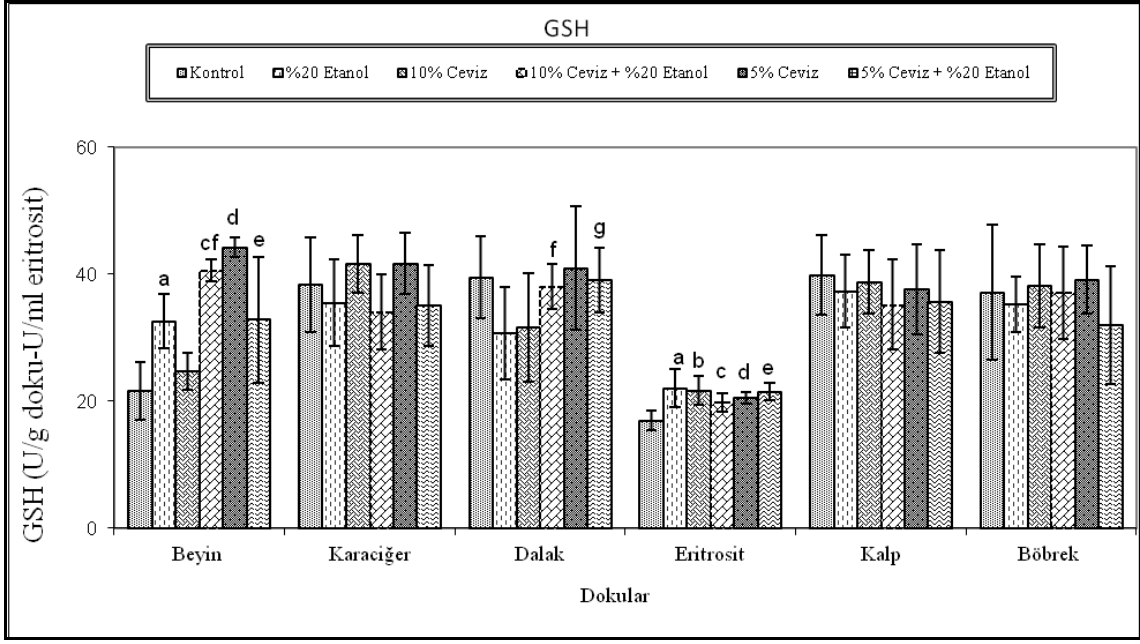
c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



- a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
b: Kontrol grubu ile %10 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
c: Kontrol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
d: Kontrol grubu ile %5 Ceviz grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
e: Kontrol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.10. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.7’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ve %5 Ceviz + %20 Etanol gruplarındaki beyin dokusunun GSH (mg/g) değerleri sırasıyla; 21.57±4.50, 32.55±4.27, 24.68±2.92, 40.64±1.75, 44.23±1.59, 32.82±9.86, karaciğer dokusunda (mg/g) sırasıyla; 38.33±7.46, 35.50±6.80, 41.58±4.61, 34.08±5.92, 41.73±4.79, 35.02±6.32, dalak dokusunda (mg/g) sırasıyla; 39.49±6.51, 30.72±7.24, 31.64±8.59, 38.07±3.59, 41.0±9.69, 39.03±5.13, eritrosit dokusunda (mg/ml) sırasıyla; 16.98±1.53, 22.01±2.98, 21.68±2.22, 19.79±1.40, 20.54±0.97, 21.47±1.39, kalp dokusunda (mg/g) sırasıyla; 39.89±6.24, 37.34±5.70, 38.83±5.02, 35.18±7.08, 37.60±7.13, 35.66±8.12, böbrek dokusunda (mg/g) sırasıyla; 37.17±10.59, 35.23±4.32, 38.15±6.58, 37.09±7.28, 39.18±5.35, 31.94±9.25 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GSH değerlerinde %20 etanol grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna

göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Dalak GSH değerlerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) tespit edildi.

Eritrosit GSH değerlerinde %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandı.

Diğer muamele gruplarında GSH değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

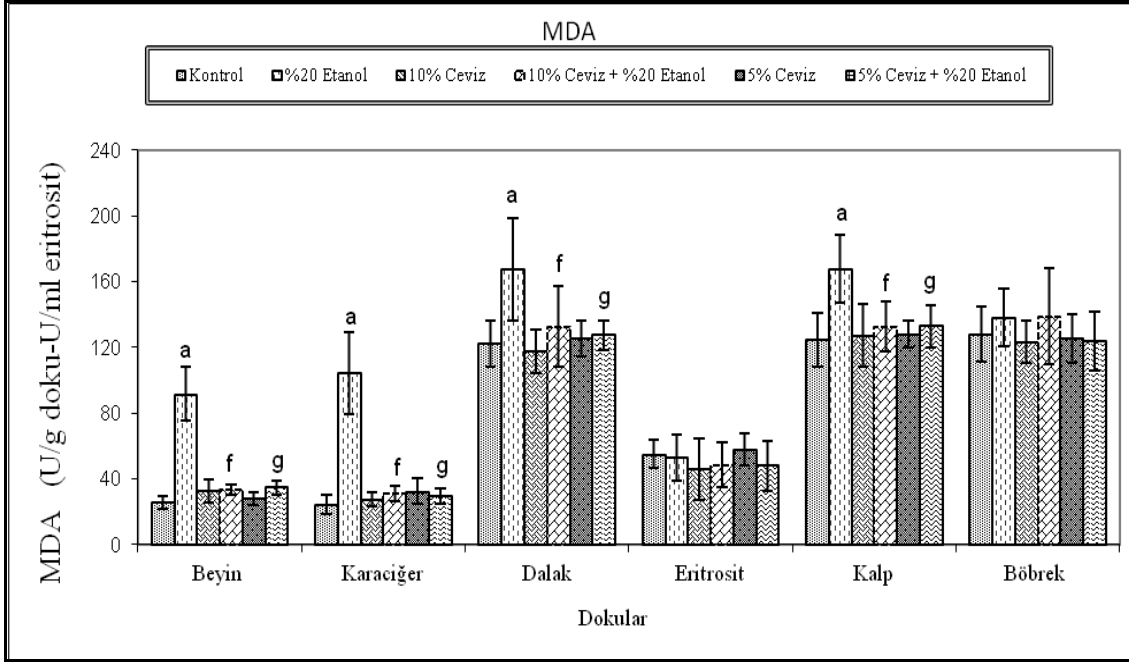
Çizelge 4.8. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri

Doku	MDA					
	Kontrol	%20 Etanol	%10 Ceviz	%10 Ceviz + %20 Etanol	%5 Ceviz	%5 Ceviz + %20 Etanol
	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD	X± SD
Beyin nmol/g	25,91±3,97	91,64±16,25 ^a	32,81±6,90	33,35±3,24 ^f	28,06±3,86	34,65±4,13 ^g
Karaciğer nmol/g	24,18±5,76	104,27±24,81 ^a	27,63±4,59	30,98±4,83 ^f	32,49±7,67	29,58±4,77 ^g
Dalak nmol/g	122,08±14,19	167,2±31,17 ^a	117,65±13,31	132,55±24,50 ^f	125,32±10,58	127,26±8,83 ^g
Eritrosit nmol/ml x10 ⁻¹	55,0±8,5	53,0±14,2	45,8±18,8	48,5±13,8	58,1±9,9	48,1±15,2
Kalp nmol/g	124,56±16,19	167,52±20,51 ^a	127,15±19,07	132,66±15,24 ^f	127,70±8,15	132,76±13,08 ^g
Böbrek nmol/g	128,12±16,67	138,38±17,57	123,48±12,85	138,92±29,53	125,53±14,81	123,81±17,71

a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



a: Kontrol grubu ile %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

f: %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

g: %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.11. Etanol ve ceviz uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.8’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ve %5 Ceviz + %20 Etanol gruplarındaki beyin dokusunun MDA (nmol/g) değerleri sırasıyla; 25.91 ± 3.97 , 91.64 ± 16.25 , 32.81 ± 6.9 , 33.35 ± 3.24 , 28.06 ± 3.86 , 34.65 ± 4.13 , karaciğer dokusunda (nmol/g) sırasıyla; 24.18 ± 5.76 , 104.27 ± 24.81 , 27.63 ± 4.59 , 30.98 ± 4.83 , 32.49 ± 7.67 , 29.58 ± 4.77 , dalak dokusunda (nmol/g) sırasıyla; 122.08 ± 14.19 , 167.2 ± 31.17 , 117.65 ± 13.31 , 132.55 ± 24.50 , 125.32 ± 10.58 , 127.26 ± 8.83 , eritrosit ($\times 10^{-1}$) dokusunda (nmol/ml) sırasıyla; 55.0 ± 8.5 , 53.0 ± 14.2 , 45.8 ± 18.8 , 48.5 ± 13.8 , 58.1 ± 9.9 , 48.1 ± 15.2 , kalp dokusunda (nmol/g) sırasıyla; 124.56 ± 16.19 , 167.52 ± 20.51 , 127.15 ± 19.07 , 132.66 ± 15.24 , 127.70 ± 8.15 , 132.76 ± 13.08 , böbrek dokusunda (nmol/g) sırasıyla; 128.12 ± 16.67 , 138.38 ± 17.57 , 123.48 ± 12.85 , 138.92 ± 29.53 , 125.53 ± 14.81 , 123.81 ± 17.71 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin MDA değerlerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma($p<0,05$) tespit edildi.

Karaciğer MDA değerlerinde %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Dalak MDA değerlerinde %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Kalp MDA değerlerinde %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$), %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Diğer muamele gruplarında MDA değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Canlılarda serbest radikallerin meydana gelmesi ile zararlı kimyasal maddeler, çevre kirliliği, endüstri atıkları, güneş ışınları, egzoz gazları, ağır metaller, sigara, alkol, ozon ve çeşitli zararlıların salınması arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Bu zararlı kimyasal maddelerin olumsuz sonucu canlılarda serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Serbest radikallerin oluşması sonucu antioksidan savunma sistemi çoğu zaman yetersiz kalabilmekte ve buna bağlı olarak çeşitli hastalıkların meydana gelmesi söz konusu olabilmektedir. Bu hastalıklar diyabet, kalp hastalıkları, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, kas, deri, göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık olarak kendini göstermekte ve bu hastalıklarda serbest radikal ile lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumunda artma sonucu, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı gözlenmiştir. Ancak bu hastalıkların patogenezi serbest radikallerin hastalığın sebebi mi yoksa bir sonuç olarak mı ortaya çıktıkları kesin olarak bilinmemektedir. Bilinen hasta dokularda yoğun bir şekilde oksijenin mevcudiyetidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Ikeda ve Long, 1990; Janssen ve ark., 1993).

Deneyssel çalışmalarda, serbest radikaller, lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile kanser gelişimi arasında pozitif bir ilişkinin söz konusu olduğu ortaya konulmuştur. Birçok kimyasal maddenin hücre etrafındaki oksidatif stresi artırarak, kansere sebep olduğu bildirilmektedir. Bu maddeler SOD, GSH-Px ve CAT aktiviteleri dahil hücrenin antioksidan savunmasında ani ve sürekli bir azalmaya neden olurlar. Fiziksel ajanlardan radyasyonun da serbest radikal ve lipid peroksidasyon üretimini artırarak kansere sebep olduğu gösterilmiştir. Serbest radikaller, kanserin başlangıç, ilerleme ve gelişme dönemlerinde etkili olmakla beraber bu etki ilerleme döneminde daha belirgin, diğer dönemlerde ise nispeten azdır. Serbest radikallerin etkisi sonucu DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkogenlerde aktivasyon artışı meydana gelir (Özdem ve Sadan, 1994; Akkuş, 1995). Serbest radikalleri, direkt olarak *in vivo* tayin edebilmek için kullanılan metotlar yenidir. Serbest radikallerin doğrudan tayini elektron spin rezonans spektrometri (ESR) cihazıyla gerçekleştirilmekte ama bu cihazda analizler henüz deneme aşamasında ve işlemler için detaylı tıbbi donanıma gereksinim olduğu bilinmektedir. Serbest radikallerin ölçümü, dolaylı olarak lipid peroksidasyon

ürünlerinin tayini ve antioksidan savunma sistemi biyobelirteçleri ile ortaya konmaktadır (Akkuş, 1995).

Bu çalışmada etkileri araştırılan etanolün ve fonksiyonel gıda olan cevizin (*Juglans regia* L.) seçiliş sebebi kısaca şöyle açıklanabilir. Araştırmanın başında da belirtildiği gibi; yurdumuzda çokca kullanılan etanolün ağız, solunum, deriye temas ve gıda zinciri yollarıyla canlı bünyesine girebildiği ve canlı üzerindeki toksik etkisi literatürlerden (Diamond ve Messing, 1994; Rauch ve ark. 1994) anlaşılmaktadır. Burada; etanolün toksik etkilerinin sonucu olarak; klinik anlam ve önemleri olan karaciğer harabiyeti göstergesi olabilecek serum enzimleri ile oksidatif stresin önemli parametrelerinde meydana gelebilecek olumsuz değişikliklere karşı Van ilimizin önemli tarım ürünlerinden olan ceviz içinin karaciğer koruyucu etkileri ile antioksidan rolünü araştırma gereği duyduk.

Bu çalışmada oksidatif stresi oluşturmak için etanolün seçilme sebebi; etanolün ağız yoluyla canlı bünyesine kolaylıkla girebilmesi ve canlılarda deneysel karaciğer harabiyeti ve oksidatif stresi oluşturmak amacıyla yaygın olarak kullanılan peroksidant madde olmasıdır (Aykaç ve ark., 1985; Sonde ve ark., 2000; Kolankaya ve ark., 2002; Yurt ve Çelik, 2010; Doğan ve Çelik, 2010). Çalışmalarda da aşırı alkol tüketiminin karaciğer dokusunda harabiyete ve birçok olumsuz metabolik değişime neden olduğu ve bu olumsuzlukların alınan doza ve süreye, bireysel dayanıklılığa, diyetle ve diğer faktörlere bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Murray ve ark., 1988). Ayrıca alkol tüketiminin karaciğer ve karaciğer dışı dokularda oksidatif stresi indükleyerek lipid peroksidasyonuna yol açtığı, bu durumun kompleks ve interaktif bir süreç olduğu ileri sürülmektedir (Nordmann ve ark., 1992; Ishii ve ark., 1997).

Ülkemizde çokca tüketilen etanolün ve fonksiyonel gıda olan ceviz içinin subkronik uygulamalarına maruz bırakılan sıçanların serum ve çeşitli dokularından alınan örneklerde; etanolün karaciğer harabiyet ve oksidatif stres etkilerinin göstergesi ve etanolün oluşturacağı olumsuz etkilerine karşı ceviz içinin karaciğer koruyucu etkisi ve antioksidan rolü olarak değerlendirilebilecek biyobelirteçlerden: serum AST, ALT, GGT ve LDH enzim seviyeleri tespit edilmiştir. Bununla birlikte kan, beyin, karaciğer, dalak, kalp ve böbrek dokusu örneklerinde antioksidan kapasite etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden CAT, SOD, GSH-Px, GST, GR aktiviteleri ve GSH düzeyleri ile MDA içeriklerine bakılmıştır.

Bu parametrelerin seçiliş nedeni ise: etanolün moleküler toksisitesini ve bu fonksiyonel gıdaların gıda biyokimyası açısından sıcakkanlı canlılar üzerindeki iyileştirici özelliklerini ortaya koymak açısından önem taşıdığı için seçilmiştir. Çalışmada sıçan kullanılmasının nedeni; fareden sonra araştırmalarda en çok kullanılan omurgalı hayvandır. Sıçanlar, temel tıp, ilaç, gıda, davranış ve toksisite çalışmalarında kullanılmaktadır (Van Zutphen ve ark., 2003).

Yaptığımız çalışmada analiz edilen parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındı. Dolayısıyla kontrol ve tüm deneme gruplardaki denekler aynı şartlarda tutuldu.

Çalışmamızda kullanılan metotların seçilmesinin sebebi, hem daha az kimyasal madde gerektirmekte hem de laboratuvarlarımızın mevcut imkânlarına nispeten daha uygun ve daha kolay olmasıdır. Keza, çalışmalar pek çok dokuda yapıldığından kullanılan fonksiyonel maddelerin etkisini sağlıklı bir sonuca kavuşturulduğu kanaatindeyiz.

Karaciğer harabiyetinin göstergesi olan serum enzim düzeyleri Çizelge 4.1.de; beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki muamele gruplarının CAT aktivite değişiklikleri Çizelge 4.2.de; SOD aktivite değişiklikleri Çizelge 4.3.te; GSH-Px aktivite değişiklikleri Çizelge 4.4.te; GST aktivite değişiklikleri Çizelge 4.5.te; GR aktivite değişiklikleri Çizelge 4.6.da; GSH seviye değişiklikleri Çizelge 4.7.de ve MDA içerik değişikliklerinin sonuçları Çizelge 4.8. de görüleceği gibi etanol ve ceviz içi muameleleri sonrası; serum enzim seviyeleri ile beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokusunun CAT, SOD, GSH-Px, GST, GR, gibi önemli antioksidan enzim aktivitelerinde, GSH düzeyleri ile MDA içeriklerinde önemli değişimler ortaya çıkmıştır. Deney süresi sonunda yapılan ölçümlerde elde edilen sonuçlara göre;

Serum enzimlerinden AST düzeylerinin Çizelge 4.1.'de incelenmesinde, %20 etanol grubu kontrol grubuna göre artması istatistiki olarak önemli bulundu. %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubunun %20 Etanol grubuna göre azalması istatistiki olarak önemli bulundu. Diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı.

ALT enzim seviyelerinde ise; %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre artması istatistiki açıdan önemli bulundu. %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 etanol grubuna göre artması

istatistiki açıdan önemli bulundu. Diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiki açıdan önemli bulunmadı.

GGT enzim seviyelerinde ise; %20 Etanol grubunun kontrol grubuna göre artması istatistiki açıdan önemli bulunurken, diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiki açıdan önemli bulunmadı.

LDH enzim seviyelerinde ise; %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre artma istatistiki açıdan önemli bulundu. Diğer muamele gruplarının kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı.

Serum enzimlerinden AST, ALT, GGT ile LDH düzeylerindeki %20 etanol grubunun kontrol grubuna göre istatistiki açıdan önemli düzeylerde arttığı, ancak bu artışın ceviz katkılı gruplarında olmadığı görüldü. Yani %20 etanol grubunun serum enzimlerinden AST, ALT, GGT ve LDH düzeylerindeki kontrol grubuna göre istatistiki açıdan önemli düzeylerde arttığı, ancak bu enzimlerin ceviz içi ilaveli grupların %20 etanol grubuna göre istatistiki açıdan önemli azalma tespit edildi. Çalışmamızda bu enzimlerin seviyelerindeki artış etanolün toksik etkileri sonucu karaciğerin metabolizma ve detoksifikasyon faaliyetlerinde meydana gelen değişmelerin bir sonucu olabilir. Bununla birlikte, alkol sitotoksik etkilerine bağlı olarak ikincil nitelikte değişiklikler de ortaya çıkar; bu duruma bağlı olarak ALT ve AST gibi serum düzeyleri artar. Bu enzimler karaciğer hasarının diagnostik göstergeleri olarak bilinir. Hepatosellüler dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin bulunduğu durumlarda, bu enzimler kan dolaşımına salınırlar (Niki, 1987).

Pek çok organda hücre membranı hasarına bağlı olarak sitoplazmik enzimler kana salınır ve bu enzimler klinik tanı için yaygın olarak kullanılır. Yapılan bir çok çalışmada intraselüler enzimlerden ALT, AST, LDH ve GGT hepatositlerdeki hasara bağlı olarak seruma salınmakta ve bu enzimlerin aktivitelerindeki artışın ise karaciğer hasarının göstergesi olduğu ileri sürülmektedir (El ve ark., 2002; Kuester ve ark., 2002; Aras ve Ersen, 1992; Prasanthi ve Muralidhara-Rajini, 2005). AST karaciğer dışındaki (kalp ve iskelet kası) dokularda da bulunurken, ALT karaciğer ve böbreklerde bulunmaktadır. Hafif karaciğer hasarının olduğu ve mitokondrial membranın sağlam kalıp, hücre membran bütünlüğünün bozulduğu durumlarda sitoplazmik ALT ve AST seruma salınmaktadır. Ağır karaciğer hasarı yanında sitoplazmik ve mitokondrial membran hasar gördüyse mitokondrial AST de kana geçmektedir. Yaygın doku

harabiyeti ile bu enzimler kana geçmekte ve kandaki konsantrasyonları artmaktadır (Yagi, 1994; Niki, 1987). Bu değerlendirmeden farklı olarak bazı yazarlara (Mehmetoğlu, 2002) göre, serum AST ve ALT aktivitesindeki azalma karaciğer hasarı ve normal karaciğer fonksiyonunun bozulmasını göstermektedir. Diğer yandan; yapılan çalışmalarda etanolün sözkonusu serum seviyeleri arttığı ortaya konmuştur (Yurt ve Çelik, 2010; Doğan ve Çelik, 2010). Dolayısıyla bu çalışmaların sonuçları elde edilen verilerimizle paralellik göstermektedir. Literatür taramalarında ceviz ile ilgili bu uygulama tarzında ve parametreleri inceleyen daha önce çalışmalara rastlanmadığından karşılaştırma yapılamamıştır Cevizin bu olumlu etkileri kesin söylenememekle birlikte içerdiği melatonin, ellajik asit, gamma tocopherol, carotenoids ve polyphenolic gibi etken maddelerin sayesinde alkole karşı karaciğer koruyucu etkileri göstermiş olabilir.

Cevizin beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki CAT sonuçları Çizelge 4.2’de sunuldu. Çizelgede görüleceği gibi Cevizin etanole karşı antioksidan özelliğinin çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları saptandı.

Beyin dokusunda CAT seviyelerinde %20 etanol grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma tespit edildi.

Karaciğer dokusunda CAT seviyelerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre artma istatistiksel açıdan önemli bulunurken, %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma tespit edildi.

Dalak dokusunda CAT seviyelerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulunurken, %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli bir azalma bulundu ve %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma saptandı.

Eritrosit dokusunda CAT seviyelerinde %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan azalma önemli bulunurken, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 etanol grubuna göre azalma istatistiksel açıdan önemli bulundu.

Kalp dokusunda CAT seviyelerinde %20 Etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma bulundu.

Böbrek dokusunda CAT seviyelerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma tespit edildi.

Diğer muamele gruplarının CAT değerlerinin kıyaslanması ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik hidrojen peroksit (H_2O_2), CAT enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir (Duthie ve ark., 1989). CAT, H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ortamlarda oldukça etkili temizleme sağlar (Halliwell ve Gutteridge, 1990). CAT enzimi, hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve moleküler oksijene indirgeyerek hücreleri oksidatif hasarlara karşı koruyan bir enzimdir (Aebi, 1984; Nordberg ve Arner, 2001). Bütün bilinen organizmalarda bulunur ve NADPH'ye bağımlıdır (Babior, 1997; Freeman ve Crapo 1982; Sies, 1986). CAT aktivitesi, hidrojen peroksitin hücre sel konsantrasyonu ile yakından ilişkilidir. Enzimin yüksek bir K_M değerine sahip olması, düşük hücre sel H_2O_2 konsantrasyonlarında bu radikalin uzaklaştırılmasında yetersiz kalmasına neden olabileceği belirtilmektedir (Ahmad, 1995; Fornazier ve ark., 2002; Felton ve Duffey, 1992). Hidrojen peroksit CAT ve GSH-Px aktivitesi sonucunda ortamdan uzaklaştırılır. CAT, hidrojen peroksiti yüksek konsantrasyonlarda parçalanmasında rol oynarken; GSH-Px düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarda daha etkindir (Miller ve Baehner, 1990). Hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonunda CAT enzimi çok aktiftir (Clemens ve Waller, 1987).

CAT ve SOD başlıca membranın hidrofilik bölgelerinde etki gösterir. GSH-Px ise hidrofobik membran komponentlerinde lipid peroksidasyona karşı indirekt koruyucu etki yapmaktadır. H_2O_2 membran lipidlerinde lipid peroksidasyona, süperoksit dismutazın inaktivasyonuna ve DNA hasarına neden olmaktadır (Akkuş, 1995; Joence, 1989; Lunec, 1990). CAT enzim düzeylerindeki artış, serbest radikal oluşumuna karşı adaptasyona cevabın bir sonucu olarak değerlendirilmektedir (Samashekaraiah ve ark., 1992). Savunma mekanizmaları, serbest radikal üretim hızı karşısında yetersiz kalınca serbest radikalin zararlı etkisi görülür. SOD, CAT, GSH-Px serbest radikal birikimini

önleyen başlıca enzimlerdir. SOD, $O_2^{\cdot-}$, CAT ve GSH-Px ise H_2O_2 'i metabolize ederler (Basaga, 1990).

CAT enzimi peroksizomlarda bulunmaktadır (Karihtala ve Soini, 2007). CAT ve GSH-Px enzimlerinin benzer etkisi olduğu halde hücre içindeki yerleşim ve etki yerleri bakımından farklılık gösterirler. GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride bulunur (Gilbert ve Colton, 1999) ve kofaktör olarak GSH'ı kullanmaktadır (Barber ve Donohue, 1998).

Dolayısı ile çalışmamızda da CAT aktivitesinde meydana gelen artış, kimyasal strese karşı antioksidan sistemlerin indüklenmesi sonucu gelişen bir adaptasyon olabileceği düşünülmektedir.

Cevizin beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki SOD enzim aktivite sonuçları Çizelge 4.3'de sunuldu. Çizelgede görüleceği gibi cevizin etanole karşı antioksidan rolünün SOD enzim aktivite sonuçları açısından çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda SOD seviyelerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna ve %20 Etanol grubuna göre azalma istatistiksel açıdan önemli bulundu.

Karaciğer dokusunda SOD seviyelerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna ve %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma tespit edildi.

Kalp dokusunda SOD seviyelerinde %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma tespit edildi.

Diğer muamele grupların SOD seviyelerinin karşılaştırılmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Enzimin spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematurelerin ve yaşlıların eritrositlerinde düşük bulunmuştur. SOD'un ekstraselüler aktivitesinin düşük olduğu belirtilmiştir (Akkuş, 1995). Süperoksit radikallerinin artışına bağlı olarak SOD enziminin aktivitesi artmış olabilir. Oksidatif streslerin büyüklüğü ve buna bağlı olarak da gelişen adaptasyonla birlikte hücredeki SOD aktivitesinde artış gözlenmiştir (Koner ve ark., 1988). SOD aktivitesindeki azalmanın

ise serbest radikal artışına bağlı olarak lipid peroksidasyonun uzun süreliliği sonucunda hücrel antioksidan savunma sisteminin aşılması nedeniyle antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olabileceği bildirilmektedir (Meister ve Anderson, 1983; Akkuş, 1995).

SOD aktivitesinde, toksikasyonun ilk aşamasında bu zararlı etkileri ortadan kaldırmak amacıyla artış gerçekleşmektedir. Ayrıca, stresörlerin dozlarına ve bundan dolayı oksidatif streslerin büyüklüğüne bağlı olarak gelişen adaptasyonla birlikte hücredeki SOD aktivitesi artmaktadır. Bu çalışmada antioksidan savunma enzimlerinden SOD aktivitesinde meydana gelen azalış, indüklenmiş süperoksit radikal oluşumunun dolaylı bir işareti sayılabilir. Çünkü antioksidan kapasite üzerinden radikal akışı enzimlerin sistein amino asiti üzerinden bağlanan radikaller enzim aktivitesini yitirmesine neden olabilir.

Cevizin beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki GSH-Px enzim aktivite sonuçları Çizelge 4.4.'de sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi cevizin etanole karşı antioksidan rolünün GSH-Px enzim aktivite sonuçları bakımından sözkonusu dokularda farklı etkilere neden oldukları tespit edildi.

Beyin dokusunda GSH-Px seviyelerinde %20 etanol grubu ile %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma bulunurken, %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Karaciğer dokusunda GSH-Px seviyelerinde %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Dalak dokusunda GSH-Px seviyelerinde %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna ve %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma tespit edildi.

Eritrosit dokusunda GSH-Px seviyelerinde %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan artma önemli bulunurken, %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan azalma önemli bulundu.

Kalp dokusunda GSH-Px seviyelerinde %20 Etanol grubu ile %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan artma önemli bulundu ve %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan azalma önemli bulundu.

Böbrek dokusunda GSH-Px seviyelerinde %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulundu ve %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Diğer muamele gruplarında GSH-Px değerlerinin karşılaştırılmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

GSH-Px hidrojen peroksidi glutatyon varlığında suya katalizler (Deneke ve ark., 1985). Bu arada redükte glutatyon ise okside forma geçer. GSH-Px enzimi etki için GSH'a gereksinim duyar. GSSG'nin, GSH'a dönüşümünü GR katalizler (Kahraman, 1998). GSH-Px, hidrojen peroksit ve lipid peroksidlerin indirgenmesini katalizlemektedir. Lipid peroksidasyonu karşısında randımanlı koruma sağlayan enzim olarak kabul edilir (Winston ve Di Giulio, 1991). Lipid peroksidasyonu ve serbest radikallerin belli bir süre artışına bağlı olarak enzim aktivitesi artmış olabilir. Serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak hücrel antioksidan savunma sisteminin aşılması halinde ise antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olabileceği bildirilmektedir (Meister ve Anderson, 1983; Akkuş, 1995).

Cevizin beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki GST enzim aktivite sonuçları Çizelge 4.5.'de sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi cevizin etanole karşı antioksidan kapasitesinin GST enzim aktivite sonuçları açısından çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda GST seviyelerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma bulunurken, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Dalak dokusunda GST seviyelerinde %20 Etanol grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulunurken, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Eritrosit dokusunda GST seviyelerinde %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma bulunurken, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Kalp dokusunda GST seviyelerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulundu.

Böbrek dokusunda GST seviyelerinde %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan artma önemli bulundu.

Diğer muamele grupların GST değerlerinin karşılaştırılmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

GST detoksifikasyon yapan, hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolü olan bir enzimdir. Katalitik olarak yabancı maddeleri GSH sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize eder ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlar. Oluşan bu GSH konjugatları organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar (Akkuş, 1995). GST aktivitesindeki artışı oksidatif stres durumuna karşı koyma mekanizmasında izlenen adaptasyon olarak düşünülebilir (Agrawal ve ark., 1991; Banerjee ve ark., 1999). Organizmada serbest radikallerin artması oksidatif stres oluşturur. Bu stresi ortadan kaldırmak için antioksidan enzimlerin aktivitesi artar. Çalışmamızdaki GST artışı da bir antioksidan adaptasyon sistemini indüklemesi nedeniyle olduğu sonucuna varıldı.

Cevizin beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki GR enzim aktivite sonuçları Çizelge 4.6.'da sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi cevizin etanole karşı antioksidan kapasitesinin göstergesi olarak GR enzim aktivite sonuçlarının çeşitli dokularda da yine farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda GR seviyelerinde %20 etanol grubu ile %10 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma bulunurken, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Karaciğer dokusunda GR seviyelerinde %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edildi.

Eritrosit dokusunda GR seviyelerinde %20 Etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan azalma önemli bulundu.

Kalp dokusunda GR seviyelerinde %5 Ceviz grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma gözlemlendi.

Diğer muamele grupların GR değerlerinin karşılaştırılmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

İnsan eritrositlerinde önemli miktarda katalaz bulunmasına rağmen, hidrojen peroksitin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutatyon redüktaz/ peroksidaz yolu olduğu düşünülmektedir (Gaetani ve ark., 1989). NADPH kullanımı pahasına GSH-GSSG oranını sürdürme görevinden GR sorumludur. GR noksanlığında hemoliz ve membran hassasiyetinin artması, GR'nin önemini ortaya çıkarmaktadır (Beutler, 1986). GR aktivitelerindeki indüklemeye oksidatif streslerin potansiyel biyokimyasal indikatörüdür. GSH'un azalan seviyesini doldurmadaki düzenli çalışmasıyla bir antioksidan olan GR'nin indüksiyonu, ksenobiyotiklerin okside edici metabolitlerinin zararlı etkilerine hücrenin dayanması için temelde önemlidir. Yüksek GR aktivitesi peroksidatif komponentlerin artışından kaynaklanmaktadır. Hücre içindeki azalan GSH miktarını normal seviyeye yükseltmek için GR aktivitesinde artış meydana gelmiş olabilir.

Cevizin beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki GSH düzeylerine ait sonuçlar Çizelge 4.7.'da sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi cevizin etanole karşı antioksidan kapasitesinin göstergesi olarak GSH seviyelerinin çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları tespit edildi.

Beyin dokusunda GSH seviyelerinde %20 etanol grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulunurken, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan artma gözlemlendi.

Dalak dokusunda GSH seviyelerinde %10 Ceviz + %20 Etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu %20 Etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulundu.

Eritrosit dokusunda GSH seviyelerinde %20 etanol grubu, %10 Ceviz grubu, %10 Ceviz + %20 Etanol grubu, %5 Ceviz grubu ile %5 Ceviz + %20 Etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma saptandı.

Diğer muamele grupların GSH değerlerinin kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli görevleri bulunan glutatyonun asıl besinsel kaynağı kükürt içeren aminoasitler, özellikle sistein ve metiyonindir

(Roediger, 1995). Söz konusu dokularda düşük GSH düzeyinin, GSH'nın sentezinin yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Glutasyon, serbest radikal artışına ve lipid peroksidasyon oluşmasına bağlı olarak meydana gelen ürünlerle kolayca reaksiyona girerek metabolizma için zararlı olan bu ürünlerin ortamdan uzaklaştırılması için görev alan güçlü bir antioksidandır. Oksidatif hasardan kaynaklanan lipid peroksidasyon ürünleriyle reaksiyona girerek okside glutatyon dönüşür. Çeşitli araştırmalarda serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu ile glutasyon düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda lipid peroksidasyon ürünlerinde artış, glutasyon düzeylerinde azalmalar bulunmuştur (Meister ve Anderson, 1983; Yagi, 1994).

GSH ve onu metabolize edici antioksidan enzimler, reaktif oksijen türevlerinin yol açtığı hücresel hasar karşısında büyük bir savunma sağlar. Antioksidatif koruma fonksiyonundan dolayı GSH'nun tüketildiğini göstermiştir (Avellini ve ark., 1993). Reaktif oksijen türevlerinin etkisi altında yaygınlaşan oksidatif stresin değiştirilmesi yönünde kullanıyor olmasından dolayı eritrositlerdeki GSH seviyesinde azalma olduğu düşünülmektedir. GSH'da görülen bu azalma oksidatif stres riskini arttırmaktadır (Halliwell ve ark., 1995). Glutasyon, hücrelerin serbest radikallerden ileri gelen oksidatif hasardan korunması yanı sıra yabancı toksik bileşiklerin ortadan kaldırılmasında görev alan reaksiyonlarda da yer almaktadır (Akkuş, 1995). Bununla birlikte GSH'nun GSSG'na oksidasyonu ve adaptasyon mekanizmasının kaybedilmesinden dolayı ciddi bir oksidatif stres GSH düzeyini baskılayabilir.

%20 etanol grubunun çeşitli dokularında antioksidan savunma unsurlarında meydana gelen bu dalgalanmalar etanolün reaktif oksijen türlerin üretimine yönelik olabileceği düşünülmektedir. Çünkü daha önce yapılan bazı çalışmalarda etanolün bu konsantrasyonda antioksidan savunma sistemini etkilediği rapor edilmiştir (Aykaç ve ark., 1985; Sonde ve ark., 2000; Kolankaya ve ark., 2002; Yurt ve Çelik, 2010; Doğan ve Çelik, 2010). Diğer yandan; etanolün tetiklediği reaktif oksijen sistemi etilerine karşı cevizin olumlu etkileri ise kesin söylenememekle birlikte içerdiği etken maddelerin sayesinde etanolün sebep olduğu oksidatif strese karşı antioksidan rolü göstermiş olabilir. Çünkü Pierpaoli ve Maestroni (1987) ve Pierpaoli ve Yi (1990), yaptıkları çalışmada yaşlanmanın temel parametresi olan genel nöronal plastisitenin kaybı melatonin ile önlenemediğini, Reiter ve ark., (2005), yaptıkları çalışmada cevizin yüksek miktarda δ - tokoferol (24-46 mg/100 mg) içerdiği, ayrıca cevizde antioksidan

özelliği olduğu bilinen, kalp damar sistemi için yararlı etkileri olan melatonin'in varlığını saptadığı, Anderson ve ark., (2001) yaptıkları çalışmada ceviz polifenollerinin, antioksidan ve bağışıklığı güçlendirici özellik gösterdiği rapor edilmiş olması bu düşüncemizi desteklemektedir.

Diğer yandan, ceviz içi içeren yemlerle beslenen sıçanların dokularında antioksidan savunma sistemleri seviyelerinde görülen farklılıkların nedeni ise; dokuların hücresel fizyolojik cevabın ve adaptasyonun dokudan dokuya göre farklı nitelikte olmasından veya sözkonusu dokuların alkol ve cevizin biyoaktif etken maddelerine farklı düzeyde maruz kalmasından kaynaklanabilir.

Cevizin beyin, karaciğer, dalak, eritrosit, kalp ve böbrek dokularındaki MDA düzeyinde sonuçlar Çizelge 4.8.'da sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi cevizin etanole karşı antioksidan özelliğinin çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda MDA seviyelerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulunurken, %10 Ceviz + %20 etanol grubu ile %5 Ceviz + %20 etanol grupları %20 etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma tespit edildi.

Karaciğer dokusunda MDA seviyelerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulunurken, %10 Ceviz + %20 etanol grubu ve %5 Ceviz + %20 etanol grupları %20 etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma saptandı.

Dalak dokusunda %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma bulunurken, %10 Ceviz + %20 etanol grubu ve %5 Ceviz + %20 etanol grupları %20 etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma gözlemlendi.

Yine kalp dokusunda MDA seviyelerinde %20 etanol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma tespit edilirken, %10 Ceviz + %20 etanol grubu ve %5 Ceviz + %20 etanol grupları %20 etanol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma bulundu.

Diğer muamele grupların MDA değerlerinin kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Lipid peroksidasyonu membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyona girerek, lipid hidroperoksitlerini oluşturmalarındaki olaylar

dizisidir. Bir dizi reaksiyon sonucu MDA, bazı aldehitler, konjuge dienler, uçucu hidrokarbonlar gibi ürünler ortaya çıkmaktadır. Lipid peroksidasyonu göstergesini oluşturan peroksidasyon ürünlerinden MDA'nın ölçümü, tiyobarbitirik asit ile reaksiyon sonucu yapılmaktadır (Slater, 1984b; Sushil ve ark., 1989). Alkol tüketiminin karaciğer ve karaciğer dışı dokularda oksidatif stresi indükleyerek lipid peroksidasyonuna yol açtığı, bu durumun kompleks ve interaktif bir süreç olduğu ileri sürülmektedir (Ishii ve ark., 1997; Nordmann ve ark., 1992). Çeşitli faktörlerin etkisi (radyasyon, ilaç toksikasyonları, kimyasal maddeler) veya çeşitli hastalıkların oluşumu ile birlikte serbest radikal üretiminde artış ve buna bağlı olarak hücrel bileşiklerde çeşitli hasarlar oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Janssen ve ark., 1993; Stevens, 1993; Moslen, 1994). Dokuda MDA seviyesinin artması o dokuda serbest oksijen radikallerinin (SOR) arttığını gösterir (Von Sonntag, 2006). MDA oluştuğu ortamda diffüze olarak ya hücrenin dış ortamına ya da iç kısmına gidip hasar oluşturabilir. Hücre içine girince birçok yapı için zararlı etki gösterir (Gilbert ve Colton, 1999). Serbest radikaller, hücre savunma sisteminin koruyucu etkisini aşacak şekilde çoğalırsa zararlı etkilerini en hassas bileşikler olan lipidler üzerinde gösterirler. Membranların yapısında yer alan doymamış fosfolipidler ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu meydana getirir (Porter, 1984; Niki, 1987). Buna bağlı olarak MDA düzeyi artar. Glutasyon, lipid peroksidasyon ürünleriyle reaksiyona girerek MDA düzeyinin azalmasına neden olabilir. Glutasyon düzeyi düşükse ya da MDA antioksidan savunma sistemini aşacak şekilde çoğalmışsa, MDA düzeyi artabilir (Yurt ve Çelik, 2010).

Kronik etanol alan sıçanlarda lipid peroksidasyonu düzeyindeki duyarlılıklarında artış saptanmıştır (Lindi ve ark., 1998). Çalışmada MDA seviyeleri oldukça düşük olmasına rağmen eritrosit MDA aktivitesinde istatistiksel açıdan anlamlılık bulunmuştur. Bu da daha önce yapılan bir *in vitro* çalışmada etanolün eritrositlerde metabolize olmadığı sonucuyla paralellik göstermektedir (Tyulina ve ark., 2002). %20 etanol grubundaki MDA seviyesinin yüksek olmasının bu bağlamda olduğunu düşünürken, yine cevizin bu olumlu etkileri ise kesin söylenememekle birlikte içerdiği melatonin, ellajik asit, gamma tocopherol, carotenoids ve polyphenolic gibi etken maddelerin sayesinde etanolün sebep olduğu oksidatif strese karşı antioksidan rolü göstermiş olabilir. Hiçyılmaz (2007), sıçanlarda diyetle ceviz alımının Hipokampus

NMDA reseptör subünit konsantrasyonları üzerine etkisi adlı çalışmada erkek sprague dawley genç sıçanların diyetlerine ceviz eklenmesinin hipokampus NMDA reseptör NR2A ve NR2B subtipleri ve hipokampus lipid peroksid düzeyleri üzerine olan etkileri araştırılmış ve sonuç olarak sıçanların diyetlerine ceviz eklenmesi sıçanların hipokampus MDA düzeylerinde istatistiki olarak önemli düzeyde azaldığını ortaya konmuş olması çalışmamızın sonuçlarının destekler niteliktedir.

Diğer yandan, ceviz içeren katkılı yemlerle beslenen sıçanların lipid peroksidasyon seviyelerinde görülen farklılıkların nedeni ise; dokuların hücresel fizyolojik adaptasyonun dokudan dokuya göre farklı nitelikte olmasından veya sözkonusu dokuların alkol ve cevizin biyoaktif etken maddelerine farklı düzeyde maruz kalmasından kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada elde edilen biyokimyasal verilerin doğrultusunda etanolün sıçan karaciğerlerinde meydana getirmiş olduğu tahribata bağlı olarak karaciğer harabiyet göstergesi olan serum enzimlerinin seviyelerinin artışına neden olmuştur. Yine etanolün sebep olduğu oksidatif stres sonucu serbest radikal üretiminin göstergesi olarak lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehid böbrek ve eritrosit dokularında hariç diğer tüm dokularda artarken, birçok dokuda antioksidan savunma sistemi biyobelirteçlerinde dalgalanmalara sebep olmuştur. Diğer yandan, cevizin karaciğer harabiyet göstergesi olan serum enzimlerini kontrollere yakın değere çektiği görülmüştür. Yine, etanolün neden olduğu oksidatif stres sonucu olarak eritrosit ve böbrek hariç tüm dokularda artan malondialdehid ceviz ilave yemle beslenen grubların kontrol değerlerine çektiği ve yine çeşitli dokularda dalgalanan antioksidan savunma sistemi biyobelirteçlerinde de %20 etanol grubuna göre iyileştirme sağladığı tespit edilmiştir. Cevizin bu etkileri kesin söylenememekle birlikte içerdiği melatonin, ellajik asit, γ - tokoferol, karotenit ve polifenolik gibi etken maddelerin karaciğer koruyucu ve antioksidan rolü sayesinde böyle etkiler göstermiş olabileceği sonucuna varıldı. Çünkü Pierpaoli ve Maestroni (1987) ve Pierpaoli ve Yi (1990), yaptıkları çalışmada yaşlanmanın temel parametresi olan genel nöronal plastisitenin kaybı melatonin ile önlenbildiğini belirtmişlerdi. Reiter ve ark., (2005), yaptıkları çalışmada cevizin yüksek miktarda δ - tokoferol (24-46 mg/100 mg) içerdiği, ayrıca cevizde antioksidan özelliği olduğu bilinen, kalp damar sistemi için yararlı etkileri olan melatonin'in varlığını saptamışlardır. Anderson ve ark., (2001) yaptıkları çalışmada

ceviz polifenollerinin, antioksidan ve bağıışıklığı güçlendirici özellik gösterdiğini ve bunun sonucu olarak da kalp damar hastalıklarına ve kansere yakalanma riskinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yine Ergun ve Sütyemez (2008), yaptıkları çalışmada; cevizin içerdığı omega-3 yağ asitlerinin kalp hastalıklarını, inmeyi, diyabeti, yüksek kan basıncını ve klinik depresyonu azalttığını, kolesterol seviyesini düşürdüğünü, kalp atışlarında düzensizliği önlediğini, cevizdeki fitosterollerin, kalın bağırsak, göğüs ve prostat kanseri gibi kanser türlerinden korunma sağladığını, bağıışıklık sistemini güçlendirdiğini, kolesterolün damarları tıkama aşamasında önemli bir adım olan şişme ve kızarıklığı azaltabildiğini, cevizdeki L-arginin kan damarlarının iç tarafının pürüzsüz ve düzgün olmasını sağlayarak kan-damar sistemini rahatlattığını, ortaya koymuş olmaları bu düşüncelerimizi destekler niteliktedir.

Etkileri incelenen ceviz ile ilgili çalışmalara, bu uygulama tarzında daha önce literatür taramalarında rastlanmadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Fakat Dönmez (2006), fındık ve cevizin sıçanlarda serum lipitleri, aterosklerotik lezyonlar ve prooksidan-antioksidan denge üzerine etkisi adlı çalışmada fındık veya ceviz içeren aterojenik diyetin sıçanlarda serumda total- ve LDL+VLDL-kolesterol ve lipit peroksit düzeylerini farklı biçimde etkilediğini, bu durumun fındık ve cevizin yağ asidi içeriğindeki farklılıktan kaynaklanabileceğini göstermiştir. Hiçyılmaz ve ark., (2007), sıçanlarda diyetle ceviz eklenmesinin serum total LDL ve HDL kolesterol, trigliserit ve NO düzeyleri üzerine olan etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada cevizin faydalı etkileri göz önüne alındığında diyetin vazgeçilmez bir bileşeni olarak önerilebileceğini belirtmiştir. Hiçyılmaz (2007), sıçanlarda diyetle ceviz alımının Hipokampus NMDA reseptör subünit konsantrasyonları üzerine etkisi adlı çalışmasında erkek Sprague dawley genç sıçanların diyetlerine ceviz eklenmesinin hipokampus NMDA reseptör NR2A ve NR2B subtipleri ve hipokampus lipid peroksid düzeyleri üzerine olan etkileri araştırılmış ve sonuçta hipokampus MDA seviyeleri önemli düzeyde azldığı ortaya koymuştur. Yiğit ve ark., (2005), fonksiyonel bir gıda: ceviz adlı çalışmasında cevizin yüksek oranda yağ ve protein içerdüğinden besleyici değerinin oldukça yüksek olduğunu, ceviz yağının en önemli özelliğinin ise doymamış yağ asitlerince oldukça zengin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ceviz yağında linoleik asidin fazla olması cevizi eşi bulunmaz bir gıda yaptığını, bileşiminde yer alan biyolojik kalitesi yüksek protein, vitamin ve minerallerin cevizin besleyici değerini arttırdığını

belirtmişlerdir. Yine Yiğit ve ark., (2005), aynı çalışmalarında; ceviz tüketiminin kardiyovasküler ölümleri azalttığını, cevizin bu özelliğinin içerdiği polifenollerin antioksidan özelliğinden kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Bu çalışmalar farklı uygulama periyodu, tasarım ve dokular olmasına rağmen sonuçlarımızı destekler nitelikteki sonuçlardır.

Bu çalışmada, farklı dokular üzerinde farklı etkiler gösteren cevizin deney hayvanları üzerinde yapılacak *in vivo* denemelere ışık tutacağı kanaatindeyiz. Diğer yandan ülkemizde bolca kullanılan diğer ceviz çeşitleri de *in vivo* çalışma kapsamına alınarak canlılar üzerindeki etkileri ortaya çıkarılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Aalt B., Haenen R.M., Doelman J. A., 1991. Oxidant and antioxidant: State of the Art. **Am. J. Med.**, **91**: 3-13.
- Abbey, M., Noaks, M., Belling, G.B., Nestel, P.J., 1994. Partial replacement saturated fatty acids with almonds or walnuts lowers total plasma cholesterol and low-density-lipoprotein cholesterol. **Am. J. Clin. Nutr.**, **59**: 995-999.
- Açkurt, F., Biringen, G., Löker, M., 1999. Sağlıklı Beslenmede Özel Fizyolojik Etki Gösteren Gıdaların Yeri. *Üretimden Tüketime Diyet Gıdalar Sempozyumu, 18 Şubat 1999, İstanbul, 10-21.*
- Adam, B., Ardiçoğlu, Y., 2002. **Klinik Biyokimya Analiz Metodları** (Editör: Adam, B.) Ankara. 207s.
- Aebi, H., 1974. **Catalase, In Methods of Enzymatic Analysis** (Bergemeyer, H U., ed) Academic Press, New York-London. 673-684.
- Aebi, H., 1984. Catalase *in vitro*. **Methods Enzymol.**, 121-126.
- Agrawal, D., Sultana, P., Gupta, G.S.D., 1991. Oxidative damage and changes in glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. **Food Chem. Toxicol.**, **29**: 459-462.
- Ahmad, S., 1995. **Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology**. Chapman and Hall, New York, 447.
- Akbaş, H., 1993. **Farklı Yöre Çesitlerinden Derlenen Cevizlerin Teknolojik Özelliklerinin Araştırılması**. Y. Lisans Tezi, OMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, 77s., Samsun.
- Akkuş, İ., 1995. **Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri**. Mimoza Yayınları, Konya.
- Almario, R. U., Vonghavaravat, V., Wong, R., Kasim-Karakaş, S., 2001. Effect of walnut consumption on plasma fatty acids and lipoproteins in combined hyperlipidemia. **Am. J. Clin. Nutr.**, **74**: 72-79.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen, T.M., 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, **90**(17): 7915-7922.

- Anderson, K. J., Teuber, S.S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse. A.L., Steinberg, F.M., 2001. Walnut polyphenolics inhibit *in vitro* human plasma and LDL oxidation. ***The Am. J. Nutr.*, 131: 2837- 2842.**
- Andreoli, S. P., Mallett, C. P., 1997. Disassociation of oxidant-induced ATP depletion and DNA damage from early cytotoxicity in LLC-PK1 cells. ***Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 272(6): 729–735.**
- Anonim, 2005a. Walnut. www.forshang.org/012foodnhealth/foodnhealthwalnute.htm
- Anonim, 2005b. Walnut. www.whfoods.com.
- Anonim, 2005c. Walnut Nutrition. www.walnut.org/nutrition.html
- Anonim, 2005d. Walnut. www.globalherbalsupplies.com/herb_information/walnut.htm
- Anonim, 2005e. Walnut. www.florahealth.com/flora/home/canada/healthinformation/encyclopedias/BlackWalnutLeaf.asp
- Anonim, 2010. Ransod süperoxide dismutase enzim kiti, Ransel glutathione peroxidase enzim kiti, Radox Lab. Ltd.,55 Diamond Road, UK.
- Anonim, 1991. The california walnut- the wander nut. Food Trade Review. January, 25-27.
- Anonim, 1999. News stand. Total Health, 21(2), 10.
- Anonim, 2002. News stand. Total Health. 22(4), 16.
- Antmen, Ş.E., 2005. ***Beta Talasemide Oksidatif Stres*** (Yüksek lisans tezi) Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim dalı
- Aras, K., Ersen, G., 1992. ***Klinik Biyokimya***. Tas Kitapçılık Ltd. şti. Ankara 338.
- Armutçu, F., Gürel, A., Söğüt, S., Aksu, N., Ünalacak, M., 2004. Alkol alışkanlığı olanlarda eritrosit oksidan ve antioksidan parametre düzeyleri. ***Fırat Tıp Dergisi*, 9(2): 50-53.**
- Arranz, S., Jimenez, J.P., Saura-Calixto, F., 2008. Antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.): Contribution of oil and defatted matter. ***Eur. Food Res. Technol.*, 227: 425-431.**
- Arteel, G.E., Sies, H., 2001. The biochemistry of selenium and the glutathione system. ***Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 10: 153–158.**
- Asker, D.S., Kerai, MD., Waterfield, C.J., Kenyon, SH., Timbrell, J.A., 1998. Taurine protective properties against ethanol - induced hepatic steatosis and lipid

- peroxidation during chronic ethanol consumption in rats. *Amino Acids*, **15** (1-2): 53-76.
- Aslan, R., Şekeroğlu, R., Bayıroğlu, F., 1995. Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *YYÜ Sağ. Bil. Ens. Derg.*, **2**: 137-142.
- Avellini, L., Spaterna, A., Rebold, G.P., Gaiti, A., 1993. Defense mechanism against free radical-induced damage in sheep, cattle and dog erythrocytes. *Comp. Biochem. Physiol. B*. **106**: 391-394.
- Aydın, A., Sayal, A., Isımer, A., 2001. *Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi*. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Basımevi, Yay. No: 20, Ankara, 75.
- Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A.S., Koçak-Toker, N., Sivas, A., Öz, H., 1985. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, **36**: 71-76.
- Babior, B.M., 1997. Superoxide a two edged sword. *Med. Biol. Res.*, **30**: 141-155.
- Bakkalbaşı, E., 2009. *Farklı Ambalaj Materyalleri ve Depo Koşullarının Ceviz İçi Bileşimine Etkisi*. (doktora tezi), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S.T., 1999. Chakraborty AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free radical scavengers. *Toxicol. Lett.*, **107**: 33-47.
- Baraona, E., Dikkarainen, P., Salaspuro, M., 1980. The role of gamma - glutamyl transpeptidase in alcoholism. *Neurobehav. toxicol. teratol.*, **7** (2): 171-5.
- Barber D., Haris S., 1994. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am. Pharm.*, **34**: 26-35
- Barber, R., Donohue, T., 1998. Pathways for transcriptional activation of a glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase gene. *J. Mol. Biol.*, **280**: 775-784.
- Basaga, H.S., 1990. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem. Cell Biol.*, **68**: 989.
- Bast, A., Haenen, G.R.M.M., Cees, J.A.D., 1997. Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am. J. Med.*, **91**(3C):3-13.

- Bayramoğlu, M., 2008. *Artemisia taurica willd. ve Salvia kronenburgii Rech. Fil. Bitkilerinin Uçucu Yağlarının Antioksidan Özellikleri ve Ksantin Oksidaz Enzimine Etkileri*. YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi-Van
- Beutler, E., 1986. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*, Thirth. edition. Grune and Startton, New York. 105-106.
- Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.*, **61** (5): 882-888.
- Bhagavan, H.N., Nair, P.P., 1992. *Antioxidants In Fats*, In: Fatty acids in foods and their health implications. Kuang C.C. (Eds), Marcel Dekker, pp. 329-336.
- Bilaloğlu, G.V., Harmandar, M., 1999. *Flavonoidler*, Bakanlar Matbaacılık Ltd.Şti. p.336-343, İstanbul.
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K. V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: *A Review. Ann. Bot.*, **9**: 179–194.
- Boros, I., Rakonczoy, J.R., Jßrmay, K., Hegyi, P., Lonovics, J., Takacs, T., 2003. Ethanol administration generates oxidative stress the pancreas and liver. *J. Patroenterol. Hepatol.*, **18** (7): 858-867.
- Bowler, R.P., Crapo, J.D., 2002. Oxidative stres in allergic respiratory diseases. *J Allergy Clin. Dimmunol.*, **110**(3): 349-356.
- Brantley, R.E., 1993. The mechanism of autoxidation of myoglobin. *J. Biol. Chem.*, **268**: 6995–7010.
- Bucher, H.C., Hengstler, P., Schindler, C., Meier, G., 2002. N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Med.*, **112**(4): 298-304.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.
- Burton, G.W., 1994. Vitamin E: Molecular and Biological Function. *Proc. Nutr. Soc.*, **53**(2), 251–262.
- Butterfield, D. A., Howard, B., Yatin, S., Koppal, T., Drake, J., Hensley, K., 1999. Elevated oxidative stress in models of normal brain aging and alzheimer's disease. *Life Sciences*, **65**(18–19): 1883–1892.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, **44**: 3426-3431.

- Cao, Q., Batey, R., Pang, G., Clancy, R., 1999. Etanol- altered liver-associated T cells mediate liver injury in rats administered concanavalin A or lipopolysaccharide (LPS). *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **23** (10): 1660-1667.
- Carlberg, I., Mannervik, B., 1985. Glutathione reductase. *Methods Enzymol.*, **113**: 484-490.
- Carrero, J. J., Baro, L., Fonolla, J., Gonzalez-Santiago, M., Martinez-Ferez, A., Castillo, R., Jimenez, J., Boza, J.J., Lopez-Huertas, E., 2004. Cardiovascular effects of milk enriched ω 3 polyunsaturated fatty acids, oleic acid, folic acid and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidemia. *Nutrition* **20**: 521-527.
- Chao, J.C., Huang, C.H., Wu, S.J., Yang, S.C., Chang, N.C., Shieh, M.J., Lo, P.N., 2002. Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *J. Nutr. Biochem.*, **13**: 427-434.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **Jul.**, **49**(3), 481-493.
- Chen, S. Y., Sulik, K. K., 1996. Free radicals and ethanol-induced cytotoxicity in neural crest cells. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **20**(6): 1071–1076.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C., 2005. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Rad. Biol. Med.*, **39**: 841 – 852.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G. J., Li, A. M. Y., Richardson, B.J., Lam, P. K. S., 2001. Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicol.*, **52**: 189-203.
- Choi, W., Benzie, F., Collins, A., Hannigan, M., Strain, J., 2004. Vitamin C and E: Acute interactive effects on biomarkers of antioxidant defence and oxidative stress. *Mutation Research*. **551**: 109-117 .
- Chow, C.K., 1991. Vitamin E and Oxidative Stress. *Free Radic. Biol. Med.*, **11**(2): 215-232.
- Clemens, M.C., Waller, H.D., 1987. Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem. Phys. Lipids*, **45**: 251.

- Collins, M. A., Zou, J. Y., Neafsey, E. J., 1998. Brain damage due to episodic alcohol exposure in vivo and in vitro: Furosemide neuroprotection implicates edemabased mechanism. *The FASEB Journal*, **12**(2): 221–230.
- Crawford, M. A., 1993. The role of essential fatty acids in neural development: Implications for perinatal nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **57** (Supps) 703-710.
- Cuzzocrea, S., Reiter, R.J., 2002. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr. Top. Med. Chem.*, **2**: 153-165.
- Çakır, M., 1997. *Aspirin ve Vitamin E (α -Tokoferol)'nin Farelerde (Mus musculus) Karaciğer Total Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktivitelerine Etkileri* (Yüksek lisans tezi). OMÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Çiftci, M., Kufrevioğlu, O.I., Gundogdu, M., Ozmen, I., 2000. Effects of some antibiotics on enzyme activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes. *Pharmacol Res.*, **41**(1): 109-113.
- Dattilo, A. M., Kris-Etherton, P.M., 1992. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: A meta- analysis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **56**: 320-328.
- Davis, P.H., 1982. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 7* .University of Edinburg, England.
- Dawn, B.M., Allan, D.M., Colleen, M.S., 1996. *Basic Medical Biochemistry Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Deaton, C.M., Marlin, D.J., 2003. Exercise- associated oxidative stress, *Clin. Tech. Equine Pract*, **3**(2): 278-291.
- Delgado-Zamarreño, M.M., Bustamante-Rangel, M., Sánchez-Pérez, A., Carabias-Martínez, R., 2004. Pressurized liquid extraction prior to liquid chromatography with electrochemical detection for the analysis of vitamin E isomers in seeds and nuts. *J. Chromatogr. A*, **1056**: 249-252.
- Delibaş, N., Özçankaya, R., 1995. Serbest radikaller. *SDÜ, Tıp Fakültesi Dergisi*, **2**(3):11-17.
- Deneke, S.M., Lynch, B.A., Fanburg, B.L., 1985. Transient depletion of lung glutathione by diethylmaleate enhances oxygen toxicity. *J. Appl. Physiol. Soc.*, **58**(2): 571-574.

- Diamond, I., Messing, R. O., 1994. Neurologic effects of alcoholism. *West. J. Med.*, **161**(3): 279–287.
- Dickinson, D.A., Forman, H.J., 2002. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, **64**: 1019-1026.
- Doğan, A., Çelik, İ., 2010, *Etil Alkol ile Deneysel Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Üzüm (Vitis vinifera l.) Çekirdeğinin Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi*. Yüksek lisans tezi, YYÜ Fen Bil. Ens. Van.
- Domigan, N.M., Charlton, T.S., Duncan, M.W., Winterbourn, C. C., Kettle, A.J., 1995. Chlorination of tyrosyl residues in peptides by myeloperoxidase and human neutrophils. *J. Biol. Chem.*, **270**: 16542–16548.
- Dönmez, T., 2006. *Fındık ve Cevizin Sıçanlarda Serum Lipidleri Aterosklerotik Lezyonlar ve Prooksidan-Antioksidan Denge Üzerine Etkisi*. (Yüksek lisans tezi). İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J., James, W.P.T., 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.*, **2**: 51-62.
- Dündar, Y., Aslan, R., 1999. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antiosidanlar. *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi*, **2**(2): 134-142.
- El S., Salem E., Abdel R., 2002. In vitro hepatotoxicity of alachlor and its by-product. *J. Appl. Toxicol.*, **22**: 31-5.
- Erat, M., 2002. *İnsan ve Sığır Eritrosit Glutatyon Redüktaz Enziminin Safılaştırılması, Bazı İlaç ve Kimyasal Maddelerin İnhibisyon veya Aktivasyon Etkilerinin Araştırılması*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Erenel, G., Erbaş, D., Arıcıoğlu, A., 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Derg.*, **3**: 243-250.
- Ergun, M., Sütyemez, M., 2008. Sağlıklı bir yaşam tarzı için ceviz. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, **11**(1):138-141.
- Eskay, R. L., Chautard, T., Torda, T., Daoud, R. I., Hamelink, C., 1995. Alcohol, corticosteroids, energy utilization and hippocampal endangerment. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **771**: 105–114.

- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition. ***Nutrition***, **18**: 872-879.
- Faostat database search results, <http://www.fao.org>.
- Felton, G.W., Duffey, S.S., 1992. Ascorbate oxidation reduction in *helicoverpa zae* as a scavenging system against dietary oxidants. ***Arch. Insect. Biochem. Physiol.***, **19**: 27-37.
- Fornazier, R.F., Ferreira, R.R., Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Smith, R.J., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2002. Cadmium stress in sugar cane callus cultures: Effect on antioxidant enzymes. ***Plant Cell Tissue Organ Cult.***, **71**:125-131.
- Franz, M. J., Bantle, J.P., Beebe, C.A., Brunzell, J.D., Chiasson, J.L., Garg, A., Holzmeister, L.A., Hoogwerf, B., Mayer- Davis, E., Mooradian, A.D., Purnell, J.Q., Wheeler, M., 2002. American diabetes association. Evidence-Based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. ***Diabetes Care***. **25**: 148-198.
- Fraser, G.E., Sabaté, I., Beeson, W.L., Straham, M., 1992. A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. ***Arc. Intern. Med.***, **152**: 1416-1424.
- Freeman, B.A., Crapo, J.D., 1982. Free radicals and tissue injury. ***Lab. Invest.***, **47**: 412-426.
- Fridovich I., 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases. ***Annu Rev. Biochem.***, **64**: 97-112.
- Gaetani, G.F., Galiano, S., Canepa, L., Ferraris, A.M., Kirkman, H.N., 1989. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. ***Blood***, **73** (1): 334-339.
- Garcia, J.M., Agar, I.T. and Streif, J., 1994. Lipid characterization in kernels from different walnut cultivars. ***Turk. J. Agric. For.*****18**: 195-198.
- Gilbert, D., L., Colton, C., A., 1999. ***Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Inter Disciplinary Approach***. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Gutteridge, J.M., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. ***Clin. Chem.***, **4**: 1819- 1828.

- Gümrükçüoğlu, A., 2009. **Serbest Radikaller**. Erişim: genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm
- Gürbüz, D.G., 2008. **Demir Eksikliği Anemisinde İntravenöz Demir Tedavisinin Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisi**. (Uzmanlık tezi), Sağlık Bakanlığı, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 3.İç Hastalıkları Kliniği.
- Habig, W. H., Jakoby, W. B., 1981. Assays for differentiation of Glutathione-S-Transferase. **Medhods Enzymol.**, 77: 398-405.
- Halifeoğlu, I., Karatas, F., Çolak, R., Canatan, H., Telo, S., 2005. Tip 2 diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum. **Fırat Tıp Dergisi** 10(3): 117-122.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochem. J.**, 219: 1-14.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Third Edition, Oxford University Pres. Inc., New York, 936s.
- Halliwell, B., 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. **Nutr. Rev.** 52: 253-265.
- Halliwell, B., 1991. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. **Am. J. Med.**, 91: 11-12.
- Halliwell, B., Gutteridge, M.C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease : An overview. **Methods in Enzmology**, 186: 1-85.
- Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Auroma, O.I., 1995. Free radicals and antioxidants in food *in vivo*: what they do and how they work. **Critical Rew. Food. Sci. Nutrit** 35: 7-20.
- Harper, C.R., Jacobson, T.A., 2001. The fats of life, the role of omega-3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease. **Arch. Intern. Med.**, 161: 2185-2192.
- Hayes, J.D., Pulford, D.J., 1995. The Glutathione S-Transferase supergene family: Regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.** 30: 445-600.
- Hayes, J.D., Strange, R.C., 2000. Glutathione S- Transferase polymorphisms and their biological consequences. **Pharmacology**, 61: 154-166.

- Heaton, M. B., Mitchell, J. J., Paiva, M., 2000. Amelioration of ethanol-induced neurotoxicity in the neonatal rat central nervous system by antioxidant therapy. ***Alcohol. Clin. Exp. Res.***, **24**(4): 512–518.
- Heidal, K., Lewis, N., Evans, S., 2004. Survey of omega 3 fatty acid intakes and omega 3 food selections in cardiac patients living in a section of the midwestern United States. ***Nutrition Research***, 741-747.
- Hiçyılmaz, H., 2007. ***Ratlarda Diyet Ceviz Alımının Hipokampus NMDA Reseptör Subünit Konsantrasyonları Üzerine Etkisi*** (tıpta uzmanlık tezi). SDÜ, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Isparta.
- Hiçyılmaz, H., Yılmaz, N., Sütçü, R., Vural, H., Delibaş, N., 2007. Ratlarda diyet ceviz katılmasının serum lipid profili ve nitrik oksit düzeylerine etkisi. ***Türk Klin. Biyo. Derg.*** **5**(3): 97-101.
- Hollingworth, R.M., Dong, K., 2008. ***The Biochemical and Molecular Genetic Basis of Resistance to Pesticides In Arthropods***. In: Whalon, M.E., Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R.M. (Eds.), *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 40-89.
- Hu, F.B., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Rimm, E.B., Colditz, G.A., Rosner, B.A., Speizer, F.E., Hennekens, C.H., Willett, W.C., 1998. Frequent nut consumption and risk of coronary heart disease in women: prospective cohort study. ***BMJ***, **317**:1341-1345.
- Hunter, J.E., 1990. n-3 fatty acids from vegetable oils. ***Am. J. Clin. Nutr.***, **51**: 809-814.
- Hurst, R., Bao, Y., Jemth, P., Mannervi, B., Williamson, G., 1997. Phospholipid hydroperoxide, glutathione, peroxidase activity of rat class theta glutathione transferase T2-2. ***Biochem. Soc. Trans.***, **25**: 559.
- Ikeda, Y., Long, D.M., 1990. The molecular basis of brain injury and brain edema: The role of oxygen free radicals. ***Neurosurgery***, **27** (1): 1-11.
- Ilizarov, A.M., Koo, H.C., Kazzaz, J.A., Mantell, L.L., Li, Y., Bhapat, R., 2001. Overexpression of manganese superoxide dismutase protects lung epithelial cells against oxidant injury. ***Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.***, **24**: 436-41.
- Iqbal, U., Dringenberg, H. C., Brien, J. F., Reynolds, J. N., 2004. Chronic prenatal ethanol exposure alters hippocampal GABA(A) receptors and impairs spatial learning in the guinea pig. ***Behavioural Brain Research***, **150**(1–2): 117–125.

- Ishii, H., Kurose, I., Kato, S., 1997. Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **12**: 272-282.
- Iso, H., Sato, S., Umemura, U., Kudo, M., Koike, K., Kitamura, A., Imano, H., Okamura, T., Naito, Y., Shimamoto, T., 2002. Linoleic acid, other fatty acids and the risk of stroke. *Stroke*, **33**: 2086-2093.
- İkiz, F., Püskülcü, H., Eren, Ş., 1996. *İstatistiğe Giriş* (Bilgisayar Örnekleri ile Geliştirilmiş 4. Baskı). E Ü, İzmir, Bornova. 343-346.
- Janssen, Y.M.W., Houten, B.V., Borm, P.J.A., Mossmon, B.T., 1993. Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.*, **69** (3): 261-274.
- Jensen, P.N., Sorensen, G., Engelsen, S.B., Bertelsen, G., 2001. Evaluation of quality changes in walnut kernels (*Juglans regia* L.) by Vis/NIR spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, **49**(12): 5790-5796.
- Joence, H., 1989. Genetic toxicology of oxygene. *Mutation Res.*, **219**: 193-208.
- Jornot, L., Petersen, H., Junod, A.F., 1998. *Biochemistry J*, **335**: 85-94.
- Kahraman, T., 1998. *Elektrik Alanın Rat Eritrosit ve Dokularındaki Antioksidan Enzim (Süperoksid Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz) Aktiviteleri, Lipit Peroksidasyon ve Glutasyon Seviyelerine Etkisi*. YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kaminaka, H., Morita, S., Tokumoto, M., Yokuyama, H., Masumara, T., Tanaka, K., 1999. Molecular cloning and characterization of cDNA for an iron-superoxide dismutase in rice (*Oryza sativa* L.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**: 302-308.
- Kappus, H., 1987. A survey of chemicals inducing lipid peroxidation in biological systems. *Chem. Phys. Lipids*, **45**: 105-115.
- Karihtala, P., Soini, Y., 2007. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS*, **115**: 81-103.
- Kavas, G.Ö., 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri*, **9**: 1-8.
- Keha, E., Küfrevioğlu Ö.İ., 2004. *Biyokimya*. Aktif yayınevi. Erzurum.

- Kerai, MD., Waterfield, C.J., Kenyon, SH., Aker, D.S., Timbrell, J.A., 1999. Revelsal of ethanol – induced hepatic steatosis and lipit peroxidation by taurine. **Alcohol and Alcoholism**, **34** (4): 529-41.
- Keser, G., 2005. *Nasturtium officinale R. Br.’de Kursunun Strese Bağlı Enzimlerin Aktivitelerine, Gelişmeye, Mineral ve Klorofil İçerigine Etkileri*. Çukurova Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kılınç, K., 1986. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. **Biyokimya Dergisi 11**: 59-76.
- Kinnula, V.L., Paakko, P., Soini, Y., 2004. Antioxidant enzymes and redox regulating thiol proteins in malignancies of human lung. **FEEBS**, 1-6.
- Klaassen, C.D., Watkins, J.B., 2003. **Caserett&Doull’s Essentials of Toxicology**, 3rd (Eds). New York, McGraw-Hill, USA.
- Kolankaya, D., Selmanoğlu, G., Sorkun, K., Salih, B., 2002. Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. **Food Chemistry**, **78**: 213-217.
- Koner, B.C., Banerjee, B.D., Ray, A., 1988. Organochlorine pesticide induced oxidative stress and immune suppression in rats. **Indian J. Exp. Biol.**, **36**: 395-398.
- Kornsteiner, M., Wagner, K.H., Elmadfa, I., 2006. Tocopherols and Total Phenolics in 10 Different Nut Types. **Food Chemistry**, **98**:381-387.
- Koyuncu, F., Koyuncu, M.A., Erdal, İ., Yaviç, A., 2002. Chemical composition of fruits of some walnut (*Juglans regia* L.) selections. **Gıda** **27**(4): 247-251.
- Koyuncu, M.A., Küçük, M., Yarılgâç, T., Oguz, H., 2000. Cevizlerde meyve gelişme dönemi boyunca yağ içerikleri ve yağ asitleri kompozisyonunun incelenmesi. **Gıda**, **25**(4): 273-277.
- Kuester, RK., Waalkes, MP., Goering, PL., Fisher, BL., McCuskey, RS., Sipes, IG., 2002. Differential hepatotoxicity induced by cadmium in Fischer 344 and Sprague-Dawley rats. **Toxicol, Sci.**, **65**: 151-159.
- Kundak, A.A., Erbaş, H., Gülen, S., Dökmeci, G., Çelik, H., Özcan, T., 2007. C ve E vitaminlerini, kronik olarak alkolle beslenen sıçanlarda beyin dokusu arjinaz aktivitesi, ornitin ve üre düzeylerine etkisi. **Trakya Üniv. Tıp Fak. Dergisi**, **24**(1): 49-55.

- Lavedrine, F., Zmirou, D., Ravel, A., Balducci, F., Alary, J., 1999. Blood cholesterol and walnut consumption: A cross-sectional survey in France. ***Preventive Medicine*, 28: 333-339.**
- Lieber, C.S., 1985. Alcohol and the liver, metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. ***Acta. Med. Scand*, 11** (1): 703.
- Lieber, C.S., Leo, M.A., Mak, K.M., DeCarli, L.M., Sato, S., 1985. Choline fails to prevent liver fibrosis in ethanol fed baboons but causes toxicity. ***Hepatology*, 5: 561-572.**
- Lindi, C., Montorfano, G., Marciani, P., 1998. Rat erythrocyte susceptibility to lipid peroxidation after chronic ethanol intake. ***Alcohol*, 16: 311-316.**
- Lopez, A., Pique, M.T., Romero, A., Aleta, N., 1998. Modelling of walnut sorption isotherms. ***Ital. J. Food Sci.*, 10**(1): 67-74.
- Lunec, J., Blake, D., 1990. ***Oxygen Free Radicals: Their Relevance to Disease Processes***. In: Cohen R.D., Lewis, B., Albert, K.G.M.M. The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease. Balliere Tindall, London, 189-212.
- Lunec, J., 1990. Free radicals: their involvement in disease processes. ***Ann. Clin. Biochem.*, 27: 173-182.**
- Maguire, L.S., O'Sullivan, S.M., Galvin, K., O'Connor, T.P., O'Brien, N.M., 2004. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. ***Int. J. Food Sci. Nutr.*, 55**(3): 171-178.
- Mannervik, B., Awasthi, Y.C., Board, P.G., Hayes, J.D., Di Ilio, C., Ketterer, B., Listo Morgenstern, R., Muramatsu, M., Pearson, W.R. and others, 1992. Nomenclature for glutathione transferases. ***Biochem. J.*, 282** (1): 305-306.
- Mannervik, B., Guthenberg, C., 1981. Glutathione S-transferase (Human Placenta). ***Method. Enzymol.*, 77: 231-235.**
- Mantle, T.J., McCusker, F.M., Philips, M., Boyce, S., 1990. Glutathione S-Transferases. ***Biochem. Soc. Trans.*, 18: 175-177.**
- Marklund, S.L., 1990. Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. ***Methods in Enzymology*, 186: 260-265.**
- Marnett, L.J., 2000. Oxyradicals and DNA damage. ***Carcinogenesis*, 21: 361-370.**

- Masella, R., Benedetto, R.D., Vari, R., Filesi, C., Giovannini, C., 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. **J. Nutr. Biochem.**, **16**: 577–586,
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C., Nunez De Castro, I., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. **Clin. Biochem.**, **32**: 595-603.
- Mavelli, I., Rotilio, G., 1984. Enzymatic Protection against Intracellular Oxidative Processes, *Advances on Oxygen Radicals and Radioprotectors*, Edizioni Scientifiche, 65-80.
- Mayes, P.A., 1993. **Structure and Function of The Water-Soluble Vitamins**. In: Murray, D.K., Mayes, P.A-Rodwell, V.W. *Harper's Biochemistry* 23. ed. Lange Medical Publication, London, 573-578.
- Mccord, J.M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erithrocuprein (Hemocuprein). **J. Biol. Chem.**, **244**: 6049-6055.
- McLean J.A., Karadas, F., Surai, P.F., McDevitt, R.M., Speake, B.K., 2005. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. **Comp. Biochem. Phys.**, **141**: 366-372.
- Mehmetoğlu, İ., 2002. **Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı** (Editors: Mehmetoğlu, İ.) Konya. 138s.
- Meister, A., Anderson, M.E., 1983. Glutathione. **Ann. Rev. Biochem.**, **52**: 711-760.
- Memişoğulları, R., Bakan, E., 2004. Levels of ceruloplasmin, transferrin and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. **J. Diabetes. Comp.**, **18**: 193– 197.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. **YYÜ Vet. Fak. Derg.**, **15** (1-2): 91-96.
- Mezey, E., 1985. Metabolic effects of alcohol. **Federation Proceedings**, **44** (1): 134-8.
- Miller, D.R., Baehner, R.L., 1990. **Blood Diseases of Infancy and Childhood**. Sixth edition. The C.V. Mosby Company. St. Louis. 295-304.
- Mills, E.M., Takeda, K., Yu, Z.X., 1998. Nerve growth factor treatment prevents the increase in superoxide produced by epidermal growth factor in PC12 cells. **Biol Chem.**, **273**: 221-658.

- Mills, G.C., 1957. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peoxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.*, **229**: 189.
- Mohammad, A., Akram, R., Shahin, S., Shekoufeh, N., Ali, R., 2004. Pesticides and Oxidative Stress: A review. *Med. Sci. Moni*, **10**(6): 141-147.
- Moscone, D., 1988. Determination of superoxide dismutase activity with an electrochemical oxygen probe. *Analytica Chimica Acta.*, **211**: 195-204.
- Moslen, M.T., 1994. *Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis: In Free Radicals in Diagnostic Medicine. A systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations and Antioxidant Therapy*, Amstrong, D. (ed.), pp. 17-27. Plenum Pres, New York.
- Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Radwell V. W. 1988. *Harper's Biochemistry*. 21.th ed., Long Medical Book, London. pp. 57-83.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Radwell, V.W., 1993. *Harper'in Biyokimyası*. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Menten, Prof. Dr. Biltan Ersöz. Barış Kitabevi.
- Murt, C.N., Verney, E., Sidransky, H., 1980. Acute effect of ethanol on membranes of the endoplasmic reticulum and protein synthesis in rat liver. *Clin. Exp. Res*, **4**: 93.
- Mytilineou, C., Kramer, B.C., Yabut, J.A., 2002. Glutathione depletion and oxidative stress. *Parkinsonism Relat. D*, **8**: 385-387.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 3rd ed. Worth Publishers, USA. 743.
- Netto, L. E. S., Kowaltowski, A. J., Castilho, R.F., Vercesi, A. E., 2002. Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Methods Enzymol.*, **348**: 260-270.
- Niki, E., 1987. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem. and Phy. of Lip.*, **44**: 227-253.
- Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., Noguchi, N., 2005. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition and biological effects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **338**: 668–676

- Nordberg, J., Arner, E.S.J., 2001. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biol. Med.*, **31**: 1287–1312.
- Nordmann, R., Ribière, C., Rouach, H., 1992. Implication of free radical mechanisms in ethanol induced cellular injury. *Free Rad Biol Med.*, **12**: 219-240.
- Noveli, E.L., Rodrigues, N.L., Martinez, F.E., Novelli, J.L., Santos, C.X., 1997. Toxic effects of alcohol intake on prostate of rats. *The Prostate*, **31** (1): 37-41.
- Oruc Özcan, E., Sevgiler, Y., Uner, N., 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comp. Biochem. Physiol., Part C*, **137**: 43-51.
- Özdem, S., Şadan, G., 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşum ve klinik açıdan önemi. *AÜ, Tıp Fak. Derg.*, **11** (1): 63-71.
- Özkan, A., Fışkın, K., 2004. Free Radicals, Carcinogenesis and Antioxidant Enzymes. *Tr. J. Hem. Oncol.*, **14**: 52-60.
- Özmen, B., Ozmen, D., Turgan, N., Habif, S., Mutaf, I., Bayindir, O., 2002. Association between homocysteinemia and renal function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann Clin Lab Sci.* **32**: 279-86.
- Packer, L., Weber, S.U., Rimbach, G., 2001. Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *J. Nutr.*, **31**: 369-373.
- Paglia, D.E., Valentine, W.N., 1967. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**: 158.
- Papas, A.M., 1996. Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids*, **31**: 77-82.
- Pari, L., Suresh, A., 2008. Effect of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf extract on alcohol induced oxidative stress in rats. *Food Chem. Toxicol.* **46**: 1627–1634.
- Patel, G., 2005. Essential fats in walnuts are good for heart and diabetes. *J. Am. Diet. Assoc.*, **105**(7): 1096-1097.
- Payne, T., 1985. California walnuts and light foods. *Cereal Foods World*, **30**(3): 215-218.
- Perl-Treves, R., Perl, A., 2002. *Molecular Oxygen and Its Reactive Derivates. Oxidative Stress in Plants*. Taylor & Francis Inc., London, 1-31.
- Pierpaoli, W., Maestroni, G.J., 1987. Melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: its anti-aging effects, *Immunol Lett.*, **16**: 355-361.

- Pierpaoli, W., Yi, C.X., 1990. The involvement of pineal gland and melatonin in immunity and aging. I. Thymus-mediated, immunoreconstituting and antiviral activity of thyrotropin relasing hormone. *J. Neuroimmunol.*, **27**: 99-109.
- Porter, N.A., 1984. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods in Enzmology*, **105**: 273-283.
- Prasanthi, K., Muralidhara-Rajini, P.S., 2005. Fenvalerate-induced oxidative damage in rat tissues and its attenuation by dietary sesame oil. *Food Chem. Toxicol.*, **43**: 299-306.
- Pyo, Y.H., Lee, T.C., Logendra, L., Rosen, R.T., 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of swiss chard (*Beta vulgaris subspecies cyclo*) extracts. *Food Chem.*, **85**: 19-26.
- Quiles, J., Huertas, J., Batine, M., Mataix, J., Tortosa, C., 2002. Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology*. **180**: 79-95.
- Randox Lab. Ltd., 2012. Ransod süperoxide dismutase enzim kiti, Ransel glutathione peroxidase enzim kiti.
- Rauch, A.E., Weininger, R., Pasquale, D., Burkart, P.T., Dunn, H.G., Weissman, C., Rydzak, E., 1994. Superwarfarin poisoning: a significant public health problem. *J. Community Health*, **19** (1): 55-65.
- Reiter, R.J., 1998. Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. *Progress in Neurobiology*, **56**: 359-384.
- Reiter, R.J., Manchester, L.C., Tan, D., 2005. Melatonin in walnuts: Influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition* **21**: 920-924.
- Rice-Evans, C.A., Diblock, A.T., Symons, M.C.R., 1991. *Tecniques in Free Radicals Research*. Elsevier, Amsterdam, vol 22. (14p) pp.1-278.
- Rietjens, I.M.C.M., Boersma, M.G., Spenkelink, L.H.B., Awad, H.M., Cnubben, N.H.P., Zanden, J.J, Woude, H., Alink G.M., Koeman, J.H., 2002. The prooxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **11**:321-333.
- Ritola, O., Livingstone, D.R., Peters, L.D., Lind, P.S., 2002. Antioksidant processes are affected in juvenile rinbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to ozone and oxygen-supersaturated water. *Aquaculture*. **210**: 1-19.

- Rizzi, R., Caroli, A., Bolla, P., Acciaioli, A., Pagnacco, G., 1988. Variability of reduced glutathione levels in massese ewes and its effect on daily milk production. **J. Dairy Research**, **55**: 345-353.
- Rocheford, T.R., Wong, J.C., Egesel, C.O., Lambert, R.J., 2002. Enhancement of vitamin E levels in corn. **J. Am. Coll. Nutr.**, **21**(3):191–198.
- Roediger, W.E.W., 1995. New views on the pathogenesis of kwashiorkor: methionine and other amino acids. **J. Pediatr. Gastroent. Nutr.**, **21**: 130-136.
- Rosengarten, F., 1984. **The Book of Edible Nuts**. Walker, New York.
- Ruggeri, S., Cappelloni, M., Gambelli, L., Nicoli, S., Carnovale, E., 1998. Chemical composition and nutritive value of nuts grown in Italy. **Ital. J. Food Sci.**, **10**(3): 243-252.
- Sabate, J., Fraser, G.E., Burke, K., Knutsen, S., Bennet, H., Lindsted, K.D., 1993. Effects of walnuts on serum lipid levels and blood pressure in normal men. **New England J. Med.**, **328**: 603-607.
- Samashekaraiah, B.V., Padmaja, K., Prasad, A.R.K., 1992. Lead-induced lipid peroxidation and antioxidant defense components of developing chick embryos. **Free Radical Biol. Med.**, **13**: 107-114.
- Sato, R., 1978. Clinical and experimental histochemical studies on the activities of liver lysosomal enzymes and gamma-glutamyltranspeptidase. **Hokkaido J. Med. Sci.**, **53** (4): 283-303.
- Sayin, O., Arslan, N., Güner, G., 2008. Resveratrol and cardiovascular system. **Turk. J. Biochem.**, **33** (3) : 117-121.
- Seitz, HK., 1985. Metabolic aspects of alcohol liver damage. **Z. Gastroenterol.**, **23** : 1.
- Sen, C.K., 1995. Oxidants and antioxidants in exercise. **J. Appl. Physiol.**, **79** (3): 675-686.
- Serrano, A., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo C., Jimenez-Colmenero, F., 2005. Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts. **Meat Science** **70**: 647-654.
- Shacter, E., 2000. Protein oxidative damage. **Methods Enzymol.** **319**: 428-436.
- Sies, H., 1986. Biochemistry of oxidative stress, angnew. **Chem. Int. Ed. Engl.**, **25**:1508- 1071.

- Simopoulous, A. P., 1991. Omega 3 fatty acids in health and disease and in growth and development. **Am. J. Clin. Nutr.**, **54**: 438-463.
- Sinclair, A.J., Barnett, A. H., Junec, J., 1990. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. **Brit. J. Hos. Med.**, **43**: 334-344.
- Slater, T.F., 1984a, Free radical mechanisms in tissue injury. **Biochem J.**, **15**: 1-15.
- Slater, T.F., 1984b. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, **105**: 283-305.
- Slukvin, II., Boor, P.J., Jerrells, T.R., 2001. Initiation of alcoholic fatty liver and hepatic inflammation with a specific recall immune response in alcohol-consuming c57B1 / 6 mice. **Clin. Exper. Immun.**, **125** (1): 123-33.
- Sonde, V., D'souza, A., Tarapore, R., Pereira, L., Khare, M.P., Sinkar, P., Krishnan, S., Rao, C.V., 2000. Simultaneous administration of diethylphthalate and ethyl alcohol and its toxicity in male Sprague-Dawley rats. **Toxicology**, **(147)**: 23-31.
- Stevens, R.G., 1993. Breast cancer and electric power. **Biomed & Pharmacother**, **47**: 435-438.
- Sushil, J.K., Mcvie, R., Duett, J., Herbst, J.J., 1989. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. **Diabetes**, **38**: 1539-1543.
- Şahin, İ., Akbaş, H., 2001. Farklı Yöre ve Çeşitlerden Cevizlerin Teknolojik Özelliklerinin Araştırılması. *Türkiye 1. Ulusal Ceviz Sempozyumu*, 5-8 Eylül 2001, Tokat, 104-114.
- Şekeroğlu, MR., Şahin, H., Dülger, H., Algün, E., 2000. The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. **Clin Biochem**. **33**: 669-674,
- Şen, S.M., 1986. **Ceviz Yetiştiriciliği**. Eser Matbaası 232s., Samsun.
- Tamai, H., Horie, Y., Kato, S., Yokoyama, H., Ishii, H., 2002. Long - term ethanol feeding enhances susceptibility of the liver to orally administered Lipopolisaccharides in rats. **Alcoholism , clinical and experimental research**, **26**(8): 80-75.
- Tatar, O., Hısıl, Y., Dönmez, M., 2001. Bazı balık yumurtalarında omega 3 yağ asitlerinin araştırılması. **Dünya Gıda**. **10**: 61-64.

- Temiz, M., Temur, A., Çelik, İ., 2011, ***Etil Alkol ile Oluşturulan Oksidatif Stresli Siçanlarda Keçiboyunuzu Çekirdeği'nin (Ceratonia siliqua L.) Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Etkisi.*** Yüksek lisans tezi, YYÜ Fen Bil. Ens. Van.
- Thomas, M., 1995. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working. ***Critical Rev. Food Sci. Nutr.***, **35** (1): 21-39.
- Thurnham, D.I., 1990. Antioxidants and prooxidants in malnourished populations. ***Proceedings Nutr. Society***, **49**: 247-259.
- Torun, B., 1999. ***Ceviz Ezmesi Üretim Yöntemi Kalitesi ve Raf Ömrünün Geliştirilmesi.*** Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 90 s., Antalya.
- Tuik., <http://www.tuik.gov.tr>
- Tuna Keleştemur, G., Özdemir, Y. 2011. Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif stres. ***Türk Bilim. Der. Derg.*** **4**(1):69-73
- Tyulina, O., Prokopieva, V., Dodd, R., Hawkins, J., Clay, S., Wilson, D., Boldyrev, A., Johnson, P., 2002. In vitro effects of ethanol, acetaldehyde and fatty acid ethyl esters on human erythrocytes. ***Alcohol***, **37**: 179-186.
- USDA Nutrient Database. 1987, Handbook 8
- Vaca, C.E., Wilhelm, J., Harms-Ringdahl, M., 1987. Interactions of lipid peroxidation products with DNA. ***A review. Mutat. Res.***, **195**: 137– 149.
- Van Haaften, R.I., Evelo, C.T., Penders, J., Eijnwachter, M.P., Haenen, G.R., Bast, A., 2001. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. ***Biochim. Biophys. Acta.***, **1548**: 23-28.
- Van Zutphen, L.F.M., Baumanns, V., Beynen, A.C., 2003. ***Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri.*** Medipres yayıncılık, Malatya.
- Velioğlu, S., 2000. Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. ***Gıda***, **25**(3): 167-176.
- Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P., Feldman, E.L., 2004. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. ***Endocrine Reviews***. **25**: 612–628
- Von Sonntag, C., 2006. ***Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair: A Chemical Perspective.*** Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York. 505.
- Weiss, S.J., Lobuglio, A.F., 1982. Phagocyte - generated oxygen metabolites and cellular injury. ***Lab. Invest.***, **47**: 5–18.

- Wickens, A.P., 2001. Ageing and free radical theory. ***Respiration Physiology***, **128**: 379-391.
- Willet, W. C., Sacks, F., Trichopolou, A., 1995. Mediterranean diet pyramid: A cultural model for healthy eating. ***Am. J. Clin. Nutr.*** **61**: 1402-1407.
- Winston, G.W., Di Giulio, R.T., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organism. ***Aquat. Toxicol.***, **24**: 143-152.
- Wohaieb, S.A., Godin, D.V., 1987. Starvation related alterations in free radical tissue defense mechanisms in rats. ***Diabetes***, **36**: 169-173.
- Woodroof, J.G., 1979. ***Tree Nuts Productions Processing, Products*** (Second Edition). Avi Publishing Company Inc., Westport, Connecticut.
- Xia, E., Rao, G., Remmen, H.V., Heydari, A.R., Richardson, A., 1994. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male fischer 344 rats are altered by food restriction. ***J. Nutr.***, **125**: 195-201.
- Yagi, K., 1994. ***Lipid Peroxides in Hepatic, Gastrointestinal and Pancreatic Disease. Free Radicals in Diagnostic Medicine*** (Editor: Armstrong, D.) Plenum, 165-169.
- Yiğit, A., Ertürk, Ü., Korukluoğlu, M., 2005. Fonksiyonel bir gıda: ceviz. ***Bahçe Ceviz*** **34**(1): 163-169.
- Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. ***J. Clin. Pathol.*** **54**: 176-186.
- Yurt, B., Çelik, İ., 2010. ***Etil Alkol ile Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Kayısı ve Kayısı Çekirdeğinin Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi***. Doktora tezi, YYÜ Fen Bil. Ens. Van.

ÖZ GEÇMİŞ

1985 yılında Van'ın Gevaş ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Gevaş'ta tamamladı. Lise öğrenimini 2002 yılında tamamlayarak yine 2002 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2006 yılında lisans öğrenimini tamamladıktan sonra aynı yıl Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında yüksek lisansa başladı. 2010 yılında yüksek lisans programını bitirdi ve aynı yıl Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladı. Evli ve bir çocuk annesidir.