

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

**ETİL ALKOL İLE DENEYSEL OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
ÜZÜM (*Vitis vinifera* L.) ÇEKİRDEĞİNİN KARACİĞER KORUYUCU VE
ANTIOKSİDAN ROLÜNÜN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdulahad DOĞAN

VAN-2010

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

**ETİL ALKOL İLE DENEYSEL OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA ÜZÜM (*Vitis vinifera* L.) ÇEKİRDEĞİNİN KARACİĞER
KORUYUCU VE ANTİOKSİDAN ROLÜNÜN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdulahad DOĞAN
DANIŞMAN : Prof. Dr. İsmail ÇELİK

VAN-2010

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'nın 2010-FBE-YL033 nolu projesiyle desteklenmiştir.

KABUL ve ONAY SAYFASI

Prof. Dr. İsmail ÇELİK danışmanlığında, **Abdulahad DOĞAN** tarafından hazırlanan “**Etil Alkol İle Deneysel Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Üzüm (Vitis Vinifera L.) Çekirdeğinin Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi**” isimli bu çalışma **15/12/2010** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Biyoloji** Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

İmza:

Üye: Doç. Dr. Suat EKİN

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Yasin TÜLÜCE

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/....../2010 Gün
ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

ETİL ALKOL İLE DENEYSEL OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ÜZÜM (*Vitis vinifera* L.) ÇEKİRDEĞİNİN KARACİĞER KORUYUCU VE ANTİOKSİDAN ROLÜNÜN BELİRLENMESİ

DOĞAN, Abdulahad

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

Kasım 2010, Sayfa 75

Bu çalışmada, üzüm çekirdeğinin etil alkol ile deneysel oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda karaciğer koruyucu ve antioksidan rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. 24 adet Wistar albino cinsi sıçanlar 4 deney gruba ayrılmıştır (kontrol, %20 alkol, %15 çekirdek ve %15 çekirdek+%20 alkol). 50 gün muamele sonunda; üzüm çekirdeği katılımlı yemin karaciğer koruyucu ve antioksidan rolü için; karaciğer harabiyeti serum enzimlerinden aspartate aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gamma glutamil transpeptidaz (GGT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviyeleri, beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokularında antioksidan savunma unsurlarından süperoksid 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; alkol grubunun serum AST, ALT, GGT ve LDH enzim seviyeleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde artarken, üzüm çekirdeği %15 + alkol grubu AST ve LDH enzim seviyeleri alkol grubuna göre önemli oranda azaldı. 50 gün deneysel muamele sonunda; kontrol grubu ile kıyaslandığında alkol grubu tüm dokularında MDA miktarı artarken, %15 üzüm çekirdeği + alkol grubunda ise alkol grubuna göre tüm dokularda istatistiki açıdan önemli düzeyde azalma tespit edildi.

Ayrıca, alkol sıçanların farklı dokulardaki oksidatif stres sonucu antioksidan savunma sistem unsurlarının seviyelerinde dalgalanmalara neden olurken, üzüm çekirdeğinin bu dalgalanmalara karşı kesin iyileştirici etkileri belirlenememiştir.

Sonuçlar gösterdi ki, üzüm çekirdeği içeriğinin alkolün 50 günlük süre boyunca oksidatif hasarına karşı karaciğer koruyucu ve antioksidan rolünün olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Üzüm çekirdeği, Serum enzimleri, Antioksidan savunma sistemi, Malondialdehit, Sıçan

ABSTRACT

DETERMINATION OF HEPATOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT ROLE OF GRAPE KERNEL (*Vitis vinifera* L.) AGAINST ETHYL ALCOHOL INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RATS

DOĞAN, Abdulahad

Master, Biological Science

Supervisor: Prof. Dr. İsmail ÇELİK

November 2010, pages 75

This study was aimed to determine the hepatoprotective and antioxidants effects of grapes kernel against ethyl alcohol induced oxidative stres in rats. 24 Wistar albino rats were divided into four experimental groups (control, 20% alcohol, 15% kernel and 15% kernel+20% alcohol). At the end of 50 days experiment, the hepatopreventive and antioxidant role of grapes kernel supplementation feed were evaluated by measuring level of serum liver damage enzymes, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transpeptidase (GGT) and lactate dehydrogenase (LDH) levels, antioxidant defense systems (ADS), 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 alcohol group as compared to those of control, AST and ALT were decreased significantly in 15% grapes kernel+alcohol as compared to those of alcohol group. Also, while alcohol increased significantly in the all tissues MDA content in comparison to those of control, the tissues MDA contents significantly decreased in the kernel supplementation group in comparison to those of alcohol.

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

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

Key words: Grapes kernel, Serum enzymes, Antioxidant defense system, Malondialdehyde, Rat

ÖN SÖZ

Her şeyin hızla değiştiği günümüz dünyasında, bu değişime paralel olarak yeryüzünde yaşamını idame eden canlılar üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak etki meydana getirmesi kaçınılmazdır. Bu hızla gelişen değişim (fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak) organizmaların yapısında olumlu veya olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Bazen organizmalar bu değişime yeterli direnç gösterirken bazen de bu değişime yenik düştüğü görülmüştür. Biz insanoğlunu da çok yakından ilgilendiren bu süreç canlının bünyesini dirençli tutacak sentetik ilaçlar yerine, doğal ürünlerin iyileştirici özelliklerini bulmanın arayışı içine sokmuştur. Sentetik gıda katkı maddelerinin yerine doğal antioksidanlar kullanma çabaları da artmaktadır.

Organik bileşiklerin oksidasyona uğramasıyla serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller dokuların yaşlanmasına, kanser, görme bozuklukları ve kalp-damar rahatsızlıkları gibi birçok hastalıklara neden 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.

Ülkemiz üzüm ihracatın da dünyada %12' lik üretimle 5. sırada bulunmakta olup ülkemiz ekonomisine önemli döviz girdisi sağlayan üzüm ve çekirdeğinin iyileştirici özelliklerinin bilimsel çalışmalarla araştırılması son derece önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, Ülkemizin önemli ürünlerinden üzüm çekirdeğinin insan sağlığı için önemi olan karaciğer koruyucu ve antioksidan rolünün in vivo olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Böylesine önemli bir konuya beni yönlendiren ve yoğun mesai saatlerin de dahi kapısını bana hep açık tutan gerek lisans hayatımda gerekse yüksek lisansın tüm aşamasında desteğini esirgemeyerek büyük özveride bulunan danışman hocam sayın Prof. Dr. İsmail ÇELİK'e, çalışmalarım boyunca yardımlarını gördüğüm sayın Yrd. Doç. Dr. Yasin TÜLÜCE'ye, Yrd. Doç. Dr. Halil ÖZKOL'a, Uzman Necati ÖZOK'a, Yrd. Doç. Dr. Bayram YURT'a, İsmail IŞIK'a, Dr. Emre EREZ'e, Arş. Gör. Mehmet Ali TEMİZ'a, Yıldırım BASBUGAN'a, Bayram ALTUN'a, Musa İŞNAS'a, Bedia BATI'ye ve Biyoloji Bölümünün değerli öğretim elemanlarına, Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'nün personeline, projemize

destek sağlayan YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na (YYÜ-BAP-2010-FBE-YL033) ve her konuda desteğini gördüğüm kıymetli aileme teşekkür ederim.

Kasım, 2010

Abdulahad DOĞAN

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller	1
1.2. Sebest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	3
1.2.1. Singlet oksijen	4
1.2.2. Süperoksit radikali	4
1.2.3. Hidrojen peroksit	5
1.2.4. Hidrosil radikali	5
1.2.5. Nitrik oksit radikali	6
1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	7
1.3.1. Biyolojik kaynaklar	7
1.3.2. İntrasellüler kaynaklar	7
1.4. Serbest Radikallerin Etkileri	7
1.4.1. Karbonhidratlara etkileri	8
1.4.2. Proteinlere etkileri	8
1.4.3. Membran lipidlerine etkileri	8
1.4.4. Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri	9
1.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	10
1.5.1. Endojen (doğal) antioksidanlar	10
1.5.1.1. Enzimatik olan antioksidanlar	10
1.5.1.1.1 Süperoksit dismutaz	11
1.5.1.1.2. Katalaz	12
1.5.1.1.3. Glutasyon peroksidaz	12
1.5.1.1.4. Glutasyon -S- transferazlar	13

1.5.1.1.5. Glutasyon redüktaz	13
1.5.1.2. Enzimatik olmayan (nonenzimatik)	
antioksidanlar	14
1.5.1.2.1. Melatonin	15
1.5.1.2.2. Glutasyon (GSH)	15
1.5.2. Eksojen antioksidanlar	16
1.5.2.1. Vitamin eksojen antioksidanlar	16
1.5.2.2. Gıdalarda bulunan eksojen antioksidanlar	17
1.5.2.3. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar	17
1.6. Antioksidan Etki Tipleri	17
1.7. Serum Enzimleri	18
1.7.1. Transaminazlar (Aspartat amino transferaz ve alanin amino transferaz)	18
1.7.2. Gamma glutamil transferaz (GGT)	19
1.7.3. Laktat dehidrogenaz (LDH)	19
1.8. Oksidatif Stres	20
1.9. Etil Alkol	20
1.10. Üzüm (<i>Vitis vinifera L.</i>) ve Çekirdeği	21
1.11. Araştırmanın Amacı	23
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM	30
3.1. Deneyde Kullanılan Materyaller	30
3.1.1. Deney hayvanı materyali	30
3.1.2. Analizlerde kullanılan cihazlar ve malzemeler	30
3.1.3. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler	30
3.2. Yemlerin Hazırlanması ve Deney Muamelesi	31
3.3. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	32
3.4. Eritrosit Paketinin Hazırlanması	32
3.5. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi	33
3.6. Analizlerin Yapılması	33
3.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim tayini	33
3.6.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim tayini	35
3.6.3. Glutasyon -S-transferaz (GST) enzim tayini	36

3.6.4. Lipid peroksidasyon (MDA) tayini	37
3.6.5. Redükte glutatyon (GSH) tayini	38
3.6.6. Glutatyon redüktaz (GR) enzim tayini	39
3.7. İstatistiki Analizler	39
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	55
KAYNAKÇA	65
ÖZGEÇMİŞ	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.1. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin AST seviyelerinin karşılaştırılması	41
Şekil 4.2. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin ALT seviyelerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4.3. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin GGT seviyelerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4.4. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin LDH seviyelerinin karşılaştırılması	43
Şekil 4.5. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması	44
Şekil 4.6. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeylerinin karşılaştırılması	46
Şekil 4.7. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması	47
Şekil 4.8. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması	49
Şekil 4.9. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeylerinin karşılaştırılması	51
Şekil 4.10. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 4.1. Etil alkol ve üzüm çekirdeği muamelesine tabi tutulan sıçanların karaciğer harabiyet biyobelirteçleri olan serum enzim düzeyleri	41
Çizelge 4.2. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeyleri	43
Çizelge 4.3. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeyleri	45
Çizelge 4.4. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri	47
Çizelge 4.5. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeyleri	49
Çizelge 4.6. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeyleri	50
Çizelge 4.7. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeyleri	52

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μ	Mikron
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
E	Enzim
g	Gram
L	Litre
M	Molar
U	Unite

Kısaltmalar

ΔA	Absorbans değişimi
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen radikali
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5, 5' - (2 - ditiobis) nitrobenzoik asit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EU	Enzim ünitesi
GGT	Gamma glutamil transferaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Redükte glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSH	Okside glutasyon
GST	Glutasyon -S- transferaz
H_2O_2	Hidrojen peroksit
INT	2-(-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride
LDH	Laktat dehidrogena
MDA	Malondialdehit

NADP	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
nm	nanometre
nmol	Nanomol
NO [·]	Nitrik oksit radikali
O ₂ ^{·-}	Süperoksit radikali
RO [·]	Alkoksil radikali
ROO [·]	Peroksil radikali
ROOH	Lipid hidroperoksit
rpm	Devir/dakika
SOD	Süperoksid dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikarboksilik asit

1. GİRİŞ

1.1. Serbest Radikaller

Canlı hücrelerin yapı taşlarını oluşturan moleküllerin atomları kovalent bağlarla birbirlerine bağlıdır. Bu tip bağlar birbirine paralel olmayan yörüngelere sahip iki komşu atomun arasındaki elektronun ortaklaşa kullanılmasına dayanmaktadır. Yeterli bir enerji kaynağı ile (genelde kimyasal etkiler) bu bağ kopabilir. Bu tip bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktifleri yüksek molekül veya atomlar serbest radikal olarak adlandırılır. Radikal eşlenmemiş elektronun atomik yada 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.



2. Heterolitik bölünme ile radikal oluşumu: Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi, 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.



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).

Canlı organizmanın serbest radikallerin etkisinden korunması için antioksidatif korunma sistemine sahip olduğu bilinmektedir. Bazı durumlarda antioksidatif koruyucu sistemin iyi çalışmamasından dolayı, serbest radikallerin vücutta fazlalaştığı görülür. Bu da vücutta bazı hasarlara neden olur, serbest radikallerin miktarı arttıkça önce yaşlanma hızlanır, hücre ölümü, sonra doku ölümü daha sonra ise beyin damarlarının tahribatına varan hasarlar oluşur (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999). Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküller olup, bu elektronlarını paylaşabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerler. Böylece somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran ve kanser, alerji, diabet, katarakt, nörodejeneratif hastalıklar, arterioskleroz gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynayan moleküllerdir (Hurst ve ark. 1997; Jornot ve ark. 1998; Mills ve ark. 1998).

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. Serbest radikal olan atom veya moleküller, dış orbitallerindeki elektron konfigürasyonlarının yanı sıra, termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri göz önünde bulundurularak da değerlendirilirler. Bu tip atom ya da atom kombinasyonları, elektron konfigürasyonlarını pozitif yüklerle dengelemek eğiliminde olduklarından stabil değildir (Akkuş, 1995; Sen, 1995; Halliwell ve ark., 1995). Vücut savunmasının yetersiz kaldığı durumlarda bu tür maddeler hedef olmayan organizmaya çeşitli yollarla girmekte ve bu organizmada sinir sistemi, endokrin sistem, immün sistem, karaciğer, kas, kalp, kan, boşaltım ve diğer sistemleri etkileyebilmektedirler (Blasiak ve ark., 1991).

Serbest radikaller başlıca, oksijenin normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkmaktadır. Ayrıca, organik maddelerin çürümesi, boyaların kuruması ve plastik maddelerin işlenmesi gibi endüstriyel işlemlerde oksijenin kısmi redüksiyonu ile oluşabilmektedir (Thomas, 1995). Öte yandan hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi çevresel kimyasal etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde radikallerin çoğaldığı ve hipoksi, inflamasyon, ısı, yoğun egzersiz, iskemi, travma, intoksikasyon gibi durumların radikal oluşumunu tetikleyen faktörler olduğu ileri sürülmektedir (Aslan ve ark., 1995;

Wickens, 2001). 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 düzenleyici etkileri olduğu gösterilmiş olup, kardiyovasküler hastalıklarda oluşan oksidatif stresin iyileştirilmesinde kullanılan antioksidanlar yeni terapötik yaklaşımlara ışık tutabilecek belirtmiştir (Sayın ve ark., 2008).

1.2. Sebest 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). Metabolik olayların normal seyrinde oksijen toplam dört elektron kabul edebilir. Oksijene bir elektron eklenmesi süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi hidrojen peroksit, üç elektron eklenmesi hidroksil radikali ve dört elektron eklenmesi su oluşumuna neden olur (Özdem ve Sadan, 1994; Wickens, 2001).

1.2.1. Singlet oksijen

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen molekülüdür. Moleküler oksijende eşleşmemiş iki dış elektronun spinleri aynıdır. Fakat farklı yörüngelerde bulunurlar. Moleküler oksijen yüksek enerji ile uyarıldığında bu eşlenmemiş elektronlardan biri ya kendi spininin tersi yönünde hareket eder ya da bulunduğu orbitalden başka bir orbitale geçiş yapar. Böylece singlet oksijen ortaya çıkar. Singlet oksijende eşleşmemiş elektronların spinleri birbirine zıttır. Singlet oksijenin iki farklı formu bulunur. Bu zıt spinli eşleşmemiş elektronlar aynı yörüngede bulunuyorlarsa delta singlet oksijen, farklı yörüngelerde bulunuyorlarsa sigma singlet oksijen formu oluşur (Perl-Treves ve Perl, 2002; Hurst ve ark., 1997; Akkus, 1995). Oksijenin yüksek enerjili bu formunun reaktivitesi moleküler oksijene göre çok yüksektir. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Radikal olmadığı halde çok reaktif olması ve radikal tepkimelerinin başlamasına sebep olması sebebiyle radikal sınıfına kabul edilir. Biyolojik sistemlerde singlet oksijen; fotosentez reaksiyonları sırasında, hidrojen peroksitlerin metal iyonları varlığında vermiş oldukları reaksiyonlar esnasında, iyonize radyasyon ile uyarılma sonucu veya sitokrom p450 tepkimeleri sırasında oluşabilir. Singlet oksijen, içerdiği enerjiyi çevreye dalga enerjisi olarak yayıp daha düşük enerji seviyelerine inerek tekrar moleküler oksijene dönebilir (Akkus, 1995; Stahl ve Sies, 2002; Halliwell ve Gutteridge, 1990).

1.2.2. Süperoksit radikali

Organizmada meydana gelen ilk radikal süperoksit (O_2^-) radikalidir. Çevresel etkenler, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarla çok kolay bir şekilde oluşur. Biyolojik sistemlerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit radikal anyonu oluşur. Moleküler oksijenin suya indirgenmesi sırasında elektron transport zincirindeki elektron kaçağı sonucu süperoksit radikali oluşur. Süperoksitin en büyük kaynağı elektron transport zinciridir. Her ne kadar süperoksit bir radikal olsa da reaktifliği yüksek değildir (Jialal ve Fuller, 1993; Akkus, 1995). Moleküler oksijenin dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron vardır. Söz konusu elektronlar paylaşılmayıp

ayrı orbitallerde bulunduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali O_2^-) iki elektron alması ile peroksil anyonu oluşur. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir, böylece oluşan peroksil anyonu ortamdan iki proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturabilir (Kılınç, 1986).

1.2.3. Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), yapısında paylaşılmamış elektron bulundurmadığı için radikal özelliği yoktur. Bakır, demir gibi metal iyonlarının varlığında en reaktif ve en zararlı radikal olan hidroksil radikalinin öncülü olarak rol oynadığından reaktif oksijen türleri içerisine dahil edilir. Hidrojen peroksit proteinlerin yapısında bulunan gruptaki demirle etkileşerek reaktif demir formlarını oluşturur. Bu reaktif formdaki demir lipid peroksidasyonunun başlamasında etkili olabilir (Nordberg ve Arner, 2001; Cheeseman ve Slater, 1993). Hidrojen peroksit hücreler için toksik olmakla beraber, özellikle indirgenmiş metal iyonlarıyla reaksiyona girdiğinde önemli serbest radikal hasarına neden olmaktadır (Erenel ve ark., 1992). İnsan metabolizması bir saat içerisinde yaklaşık olarak 3×10^9 toksik hidrojen peroksit molekülü oluşturmaktadır (Wickens, 2001).

1.2.4. Hidroksil radikali

Oksijen radikalleri içerisinde en reaktif ve en zarar verici etkiye sahip olan tür hidroksil radikalidir. Hidroksil radikali ($OH^\cdot$) olduğu yerde hiçbir ayırım yapmaksızın herhangi bir molekülle etkileşebilir. Bunun sebebi hidroksil radikalinin eşlenmemiş elektron bulunduran dış orbitaline bir an önce elektron alma ilgisinden kaynaklanmaktadır. Hemen etkileşime girdiği için uzak mesafelere dağılamaz ve yarılanma ömrü çok kısadır (Yanbeyi, 1999; Kenneth ve Bruce, 1998). Hidroksil radikalinin yüksek reaktivitesi nedeniyle istenmeyen toksik etkileri yanı sıra, üretilmeleri normal biyolojik fonksiyonlar için de gereklidir. Fagositoz ve pek çok

enzimatik tepkimenin zorunlu bir parçası olarak OH üretilir ve kataliz olayına doğrudan katılır (Kılınç, 1986). Hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$), oluştuğu yerde büyük hasara sebep olur. Hücrede hemen hemen bütün yapılarla reaksiyona girebilir. Fosfolipidler, karbonhidratlar, proteinler, DNA gibi elektronca zengin birçok molekül hidroksil radikalinin hedefinde yer alır. Lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Lipid peroksidasyonu hücre zarının yapısını bozar. Geçirgenliğini artırabilir ve hücre ölümüne yol açabilir. DNA üzerinde kırılmalara ve mutajenik etkilere neden olur. Radikal olmayan biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek zincirleme reaksiyonlar başlatabilir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004, Halliwell ve Gutteridge, 1990).

1.2.5. Nitrik oksit radikali

Nitrik oksit, inorganik bir serbest radikaldir. NO metabolizma içerisinde birçok göreve sahiptir. Geçmişte sadece çevre kirliliğine sebep olan bir molekül olarak kabul edilmiştir. Günümüzde ise makrofaj ve nötrofiller gibi hücreler tarafından sentezlenip metabolik sürece dahil oldukları anlaşılmıştır. NO'nun kan basıncı üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır. NO, süperoksit ve geçiş metalleriyle reaksiyona girer. NO, süperoksit radikali ile birleşerek peroksinitriti oluşturur. Peroksinitrit, nitrik oksite göre daha az stabildir. Fakat nitrik oksitten daha toksik özellik gösterir. Peroksinitritin protonlanmasıyla da oldukça etkili olan peroksinitröz asit meydana gelir. NO'nun ortamda birikmesi nöronlarda ileri derecede hasarın oluşmasına yol açar. Yağda çözünebilen nitrik oksit biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilir. Oldukça basit bir yapıya sahip olmasına rağmen farklı ve zıt etkilere sahiptir. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar. Bununla birlikte süperoksitle reaksiyona girerek prooksidan olarak davranır. Metabolizmada nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile üretilir. Nitrik oksit, güçlü bir damar düz kas gevşeticisi olarak görev yapar (Simonian ve Coyle, 1996; Lala ve Chakraborty, 2001).

1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

1.3.1. Biyolojik kaynaklar

Aktive olmuş fagositler (solunumsal patlama = respiratory burst), antineoplastik ajanlar (bleomisin, adriamisin), radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (alkol ve uyuşturucular), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, anestezikler), stres. Streste katekolemin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (Akkuş, 1995).

1.3.2. İntrasellüler kaynaklar

Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tioller, hidrokinonlar. Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz, hemoglobin. Mitokondrial elektron transportu. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (stokrom P-450). Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler. Plazma membranı: lipoksijenaz, lipid peroksidasyonu. Oksidatif stres yapıcı durumlar: iskemi, travma, intoksikasyon (Akkuş, 1995).

1.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, genelde iç ve dış etkenlere bağlı olarak üretimlerindeki artışı takiben başta membran fosfolipitleri olmak üzere hücresel bileşiklerin tümüne (karbonhidrat, lipid, protein, DNA) zarar vermekte, membranlar depolarize olmakta, parçalayıcı enzimlerin aktivitesi artmakta, hücre zarının permeabilitesi ve elektrik yük dengesi değişmektedir (Kavas, 1989; Sinclair ve ark., 1990). Hücrede başlıca mitokondriyum olmak üzere hücre membranı, lizozomlar, peroksizomlar, çekirdek ve endoplazmik retikulumda lokalize olur (Bendich, 1990).

1.4.1. Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bunlar diabet gibi patolojik proseslerde önemli rol oynarlar. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkariti olan hiyalüronik asit, sinoviyal sıvıda da bol bulunur. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvıya çok sayıda polimorf hücreler göç eder ve immün komplekslerle aktivasyonu sonucu ekstraselüler sıvıya H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ salgırlar. Hiyalüronik asit parçalanması enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvının karakteristik bir özelliğidir. Gözün vitreous humor'unda bulunan hyaluronik asidin oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (Akkuş, 1995).

1.4.2. Proteinlere etkileri

Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu meydana gelmektedir. Proteinlerin, serbest radikal hasarından ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir (Kavas, 1989; Erenel ve ark., 1992).

1.4.3. Membran lipidlerine etkileri

Poliansatüre (doymamış) yağ asitleri serbest radikal hasarına karşı hassastırlar. Bu oksidatif hasara “lipit peroksidasyonu” denir. Sonuçta membran akışkanlığında azalma 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 lipit molekülünden bir H atomu çıkarır, lipit hidroperoksil oluşturur.

Böylece zincirleme reaksiyon başlar. Siklik peroksitler yeniden düzenlenme ile endoperoksitlere, daha ileri oksidasyon ile de malondialdehite (MDA) dönüşebilirler (Sinclair ve ark., 1990; Erenel ve ark., 1992). MDA hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlar doğurur. MDA bu özelliklerinden dolayı DNA'nın nitrojen bazlarıyla de reaksiyona girebilir. Bundan dolayı hücreler için genotoksik ve karsenogeniktir (Moslen, 1994).

1.4.4. Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca etkileşime girer ve değişikliklere yol açar. Sitotoksiste, büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (Akkuş, 1995). Mitokondrial, endoplazmik ve nükleer elektron transport sistemlerinde (sitokrom p450), peroksizomlarda, monosit ve nötrofillerin fagositozu gibi normal metabolik olaylar sırasında bol miktarda serbest radikal üretilir. Bir anlamda serbest radikaller, solunum ve sindirim gibi normal vücut faaliyetlerinin zehirli atıkları durumundadır. Araştırmacılar, insan vücudundaki her hücrenin günde ortalama 10.000 serbest radikalın hücumuna uğradığını belirtmektedirler. Eğer serbest radikaller nötralize edilmese; hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, membran lipit ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek, nükleustaki genetik kodu içinde taşıyan, hücrenin üretimini ve büyümesini sağlayan nükleik asite (DNA) etki edip, DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sistemini zorlamak, yaşlanma ve kanser gibi olaylara neden olabilirler (Akkuş, 1995; Dünder ve Aslan 2000).

1.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar ‘antioksidan savunma sistemleri’ veya kısaca ‘antioksidanlar’ olarak bilinen; serbest radikalleri nötralize eden, serbest radikal hasarlarını tamir etmeye yardımcı olan ve vücudun onlardan etkilenmesini minimize eden veya kendini yenilemesini sağlayan besinlerin bir sınıfıdır (Ames ve ark. 1993). Antioksidanları anlayabilmek için onların nötralize ettiği serbest radikallerin kaynağını ve neler yapabileceğini bilmemiz gerekir. Antioksidanlar olarak adlandırılan mikro besin maddeleri, yiyecekleri özellikle yağları oksidasyon ve bozulmaktan koruyan maddelerdir. Adlarından da anlaşılacağı üzere oksijenin diğer maddelerle birleşmesini önleyerek canlıdaki maddelerin okside olmasını engellerler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidan sistem bütün bunları yaparken temelde; serbest radikalleri hücre zarına, nükleik asitlere (DNA) ve hücre bileşenlerine saldırmadan kendine çeker ve bağlar. Antioksidan özelliği bilinen birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmını özellikle bitkilerden alırken, bir kısmını vücut kendisi üretir. Antioksidanlar, endojen kaynaklı (doğal) ve eksojen kaynaklı olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim olanlar ve olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler. Hücrelerin hem sıvı hem membran kısımlarında bulunabilirler.

1.5.1. Endojen (doğal) antioksidanlar

1.5.1.1. Enzimatik olan antioksidanlar

- Süperoksit Dismutaz (SOD)
- Katalaz
- Selenyum bağımlı Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

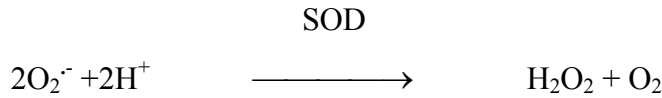
- Glutasyon –S- Transferaz (GST)
- Glutasyon Redüktaz (GR)
- Hidroperoksidaz
- Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi

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

1.5.1.1.1 Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1, EC-SOD) süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$)

hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Fizyolojik olarak metabolik aşamalarda üretimi oldukça fazla olan süperoksit, hücre içi aktivitesini düşük tutarak hücrel $O_2^{\cdot-}$ düzeylerinin kontrolünde ve hücreleri $O_2^{\cdot-}$ radikalının etkilerinden korumada görev alır.

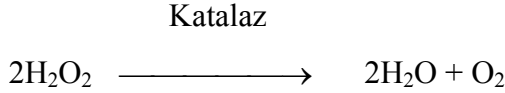


Spontan olarak da oluşabilen bu reaksiyon SOD katalizörlüğünde yaklaşık 4000 kez daha hızlı oluşur.

Üç büyük SOD tipi bildirilmiştir. Cu, Zn ve Mn içeren birer enzim ökaryotik hücrelerde bulunmuştur. Cu, Zn içeren enzim sitoplazmada, Mn içeren enzim ise mitokondride bulunmaktadır (Kahraman, 1998).

1.5.1.1.2. Katalaz

Katalaz ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}_2$ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunan ve yapısında demir bulunduran bir enzim olarak H_2O_2 'nin suya dönüştürülmesinden sorumludur (Erenel ve ark., 1992).

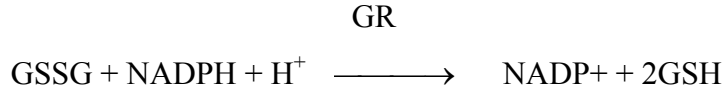
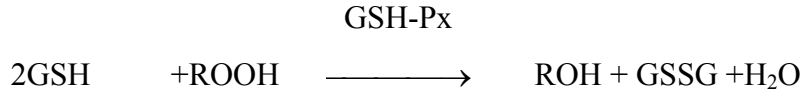


İnsan eritrositlerinde önemli miktarda katalaz bulunmasına rağmen, hidrojen peroksitin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutatyon redüktaz / peroksidaz yolu olduğu düşünülmektedir (Gaetani ve ark., 1989).

Katalaz reaksiyonu için Michaelis Sabiti (K_m) nispeten yüksektir ve katalaz H_2O_2 'in oluştuğu tüm komponentlerde bulunmaz, bu da katalazın oksijen radikallerinin oluşumundan korunmada ikincil öneme sahip olduğunu akla getirmektedir (Erenel ve ark., 1992).

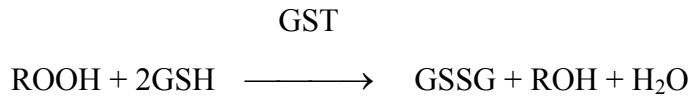
1.5.1.1.3. Glutatyon peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (glutatyon: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px enzimi sitozolda bulunan tetramerik yapıda 84000 dalton molekül ağırlığında olup her bir molekül başına 4 atom selenyum içerir. 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 redükte glutatyon gereksinim duymasından dolayı okside glutatyon (GSSG) formunun, redükte formuna (GSH) dönüşümünü glutatyon redüktaz katalizler (Kahraman, 1998).



1.5.1.1.4. Glutatyon -S- transferazlar

Glutatyon S-transferazlar (GST), (EC 2.5.1.18) kodlu ve her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı GST'lar Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar.



GST'lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptir. GST hem detoksifikasyon yapar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; ksenobiyotikleri GSH'daki sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar (Akkuş, 1995).

1.5.1.1.5. Glutatyon redüktaz

GSH'nun yüksek konsantrasyonları ve GSSG'un düşük düzeyleri hayvanların yaşamları için gereklidir. GSH, oksidazlar tarafından protein sülfidlerine tercih edilen bir substrat olup protein sülfidril oksidasyonunu önler. GSH, protein sülfidrillerinin oksidasyonunu geriye de çevirir. Yüksek GSH ve düşük GSSG düzeyleri önemlidir, çünkü yüksek GSSG düzeyleri protein sülfidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri

inaktive eden karışık glutatyon-protein sülfidrilleri oluşturur. Gerekli GSH-GSSG oranları glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6 fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleri tarafından devam ettirilir. NADPH'nin G6PD ile üretimi de oksijen hasarının tamirinde gerekli biyosentetik süreçlerde önemli olabilir (Erenel ve ark., 1992).



1.5.1.2. Enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar

- Glutatyon
- Melatonin
- Seruloplazmin
- Hemoglobin
- Metiyonin
- Transferin
- Bilirubin
- Sistein
- Ürat
- Albumin
- Miyoglobin
- Laktoferrin

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, miyoglobin, hemoglobindir (Akkuş, 1995).

1.5.1.2.1. Melatonin

Melatonin en zararlı radikal olan $\cdot\text{OH}$ radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Bu yüzden, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatonin, $\cdot\text{OH}$ 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).

1.5.1.2.2. Glutasyon (GSH)

GSH tripeptit yapısında olan, glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelen bileşiktir. Çok önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif zarara karşı korur. Proteinlerin $-\text{SH}$ gruplarını redükte halde tutarak, protein ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur. Bu

görevleriyle beraber yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membranlarda geçişini de sağlamaktadır (Akkuş, 1995).

İndirgenmiş glutatyon reaktif ksenobiyotiklere karşı hücrel membran yapılarını korumaya iştirak ettiği bilinen önemli hücrel redoks tepkimelerinde potansiyel biyolojik madde olarak görev alır. Bu önemli fonksiyonları bize devamlı azalan GSH konsantrasyonunun yaşlanma prosesleri ve neoplastik hastalıklarda kolaylaştırıcı faktör olabileceğini göstermiştir (Laganieri ve Yu, 1989).

1.5.2. Eksojen antioksidanlar

1.5.2.1. Vitamin eksojen antioksidanlar

- Vitamin A
- Vitamin C
- Vitamin E

Vitamin C (Askorbik Asit, AA): İnsanlar, primatlar, kobaylar ve meyve yiyen yarasaların, L-glukonolakton oksidaz enzimi içermediklerinden sentezleyemedikleri esansiyel bir vitamindir. AA, güçlü bir redükleyici ajan (e^- donörü) ve antioksidan olup süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidroaskorbik asiti oluşturur. AA, dehidroaskorbat redüktaz tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile glutatyon tarafından rejenere edilir (Erenel ve ark., 1992).

Vitamin E (α Tokoferol): Bu vitamin, lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu bir serbest radikal temizleyici olarak davranır. Lipitte çözünür doğası, hücre zarlarının fosfolipit tabakası ve kan lipoproteinleri içerisinde yoğunlaşmasına izin vermektedir. Her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurur. Vitamin E, AA tarafından rejenere edilebilir. Böylece bir antioksidan olan AA'nın başka bir rolü daha ortaya çıkmaktadır (Erenel ve ark., 1992).

1.5.2.2. Gıdalarda bulunan eksojen antioksidanlar

- Sodyum Benzoate
- Butylated hydroxyanisole (BHA)
- Butylated hydroxytoluene (BHT)
- Propylgalate
- Ethoxyquim

1.5.2.3. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

- NADPH oksidaz inhibütörleri (Adenozin, Lokal anestezikler, Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
- Ksantin oksidaz inhibütörleri (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).

1.6. Antioksidan Etki Tipleri

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "**antioksidan savunma sistemleri**" ya da kısaca "**antioksidanlar**" olarak bilinirler.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller 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**.

1.7. Serum Enzimleri

1.7.1. Transaminazlar (Aspartat amino transferaz ve alanin amino transferaz)

Bu enzimler glutamati oluşturmak için aspartat veya alanin amino grubunun reversible olarak α -ketoglutarata transferini sağlarlar. Kofaktör olarak pridoksal fosfata ihtiyaç duyarlar. AST'nin yarı 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 mitokondrial membranın sağlam kalıp hücre membranının bütünlüğünün bozulduğu durumlarda sitoplazmik ALT ve AST seruma salınır. Ama eğer ağır karaciğer hasarı var ve hem sitoplazmik hem de mitokondrial membran hasar gördüyse mitokondrial AST de kana geçer ve AST/ALT oranında yükselik görülür (Adam ve Ardıçoğlu, 2002).

L-Aspartat + α -ketoglutarat	AST (GOT)	Okzalasetat + Glutamat
L-Alanin + α -ketoglutarat	ALT (GPT)	Glutamat + Piruvat

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

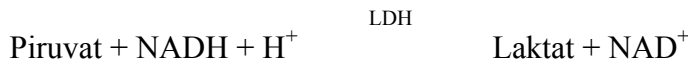
1.7.2. Gamma glutamil transferaz (GGT)

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, kolanjit 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).

1.7.3. 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).



1.8. 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 Küfreviöglu, 2004; Halliwell ve Gutteridge, 1986). 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 (Akkus, 1995). Oksidatif stres; proteinler, membran lipitleri, 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 ateroskleroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, karsinogenezis, parkinson, down sendromu, iskemi-reperfüzyon injürisi olarak sayılabilir (Keha ve Küfreviöglu, 2004; Keser, 2005; Bowler ve Crapo, 2002).

1.9. Etil Alkol

Mekanizması net bir biçimde açıklanmamış olsa da etanolün karaciğer dejenarasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Etanol uygulanan hayvanlarda karaciğer ekstraktlarındaki Tiyoobarbütirik 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 süre 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).

1.10. Üzüm (*Vitis vinifera L.*) ve Çekirdeği

Asma, dünyada kültürü yapılan en eski meyve türlerinden birisidir. Yeryüzünde bağcılığın tarihçesi M.Ö. 5000 yılına kadar dayanır. Asmanın anavatanı Anadolu'yu da içine alan ve Küçük Asya denilen bölgedir. Bu bölge Kafkasya'yı da kapsamaktadır. Asma, diğer meyvelerle kıyaslandığında en fazla çeşide sahip olan türlerinden biridir. Dünya da 10.000'nin üzerinde üzüm çeşidi olduğu tahmin edilmektedir. Yurdumuz ise asmanın anavatanı olması nedeniyle 1200'ün üzerinde üzüm çeşidine sahiptir. Fakat bunlardan ancak 50-60 kadarının ekonomik önemi olup, geniş çapta üretilmektedir. Dünyada bağcılığın yapıldığı alanlar kuzey yarımkürede 20-52, güney yarımkürede 20-40. Enlem dereceleri arasında kalmaktadır. Ekvatora yaklaştıkça bağcılık ancak yüksek yaylalarda yapılabilmektedir. Bacılığın kuzey sınırını oluşturan yörelerde ise özellikle güney yamaçlarda ve nehir kenarlarında yapılabilmektedir (Uzun, 1996). Anadolu, asmanın anavatanı olarak bilinen bölgeler içerisinde yer alan, hem çeşit zenginliğine hem de geniş bağ alanlarına ve üzüm üretimine sahip dünya üzerindeki önemli bağcılık merkezlerden birisidir. Asma ise; üzüm verimi bakımından ekonomik, çeşit zenginliği ile de genetik materyal açısından yurdumuzun önemli bir bitkisidir (Çelik, 1998). Anadolu insanı da bu tarım ürününden daha fazla yararlanması için mevcut alanları korumasıyla birlikte bu alanlara yeni alanlar ekleyerek daha fazla yararlanma yoluna gidilmiş ve bu yararlanma yolunda devam edilmektedir. 1998 verilerine göre; bağ alanımız 541.000 hektar yıllık üretimimiz ise 3.600.000 tondur (Anonim, 1998).

Bağcılığımız bu değerleriyle Rusya hariç dünya da alan bakımından 4. üretim bakımından ise dünyada 5. sıradadır. Ülkemiz de en geniş bağ alanlarına sahip bölgemiz ege bölgesinde rastlanır (157.000 hektar). Bu bölgeyi 109.000 hektarlık alanla Akdeniz izlemektedir. Bu bölgeler arasında üzüm alınımından elde edilen verim bir birinden farklıdır. Özellikle Ege, Akdeniz, Marmara ve G. Anadolu bölgesi de elde edilen üzüm verimi iyidir (Göktaş, 2008).

Üzüm sıcaklık isteyen bir meyve olduğundan özellikle Türkiye de olduğu gibi dünyanın pek çok bölgesinde de sıcak bölgelerde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Örneğin: Doğu Anadolu ve Karadeniz hatta iç Anadolu bölgelerinde üzüm yetiştiriciliğinin nadir olmasına neden olan en önemli etken sıcaklığın diğer bölgelere göre daha düşük olmasından kaynaklanır. Üzüm tarımının yaygın olmasını sağlayan en önemli etkenlerden bir tanesi diğer pek çok meyve türüne göre daha az çaba ve emek istemesidir. Üzüm yüksek şeker içeriğinden dolayı da kalorisi çok yüksek olan meyvelerden birisidir. Ayrıca mineral maddelerinden kalsiyum (Ca), potasyum (K), sodyum (Na) ve demir (Fe) yönünden zengin olduğu gibi bazı vitaminler (A, B1, B2 ve C vitaminleri) yönünden de önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Üzümün beslenme değerini oluşturan maddelerin niteliği ve miktarı üzümün yaş veya kuru olmasına bağlı olarak kalori değeri de değişmektedir. Kuru üzümün içeriğinde fazla su bulunmadığından kalorisi yaş üzüme göre oldukça fazladır. Ayrıca kuru üzümde demir ve kalsiyum miktarı da yaş üzüme göre oldukça fazladır. Üzümün kurutulması sırasında üzümün yapısında bulunan A ve C vitaminlerde büyük kayıplar meydana gelir (Westwood, 1993).

Üzüm dünyada yaygın bir şekilde üretimi yapılan ve tüketilen meyvedir. *Vitis vinifera L.*'nin çok sayıda alt varieteleri bulunmaktadır. Üzüm polifenoller bakımından oldukça zengindir. Bu polifenollerin %60-70'i üzüm çekirdeğinde, yaklaşık %4'ü de üzüm pulpunda bulunmaktadır. Üzümün kabuğunda da antosiyanin olarak adlandırılan başka bir tip polifenol vardır. Antosiyanin üzümdeki polifenollerin %30'unu oluşturmaktadır (Zhao ve ark., 1999). Üzüm çekirdeğinde bulunan polifenollerin bazıları çayda da vardır, ancak üzüm çekirdeğindeki polifenoller çaydakilerden oldukça farklıdır (Agarwal ve ark., 1992). Ultraviyole ışınlarının neden olduğu peroksidasyon aktivitesini de engellediği ortaya konmuştur (Bouhamidi ve ark., 1998). Üzüm çekirdeği prosiyanidinlerinin 6 gün boyunca günde 3 kez 3 mg/kg dozda oral alınması,

hayvanlarda dekstran ile indüklenen deri ödeminin oluşumunu engellediği, ayrıca xylene ile lokal kutanöz uygulamayla meydana getirilen kapillar damar permeabilite artışını da engellediği ve kapillar duvarda stabilizasyonu sağladığı belirtilmiştir (Zafirov ve ark., 1991). İnsanlarda üzüm çekirdeği poliyfenollerinin oral olarak alınmasının görme performansını artırdığı saptanmıştır (Corbe ve ark., 1998). Epidemiyolojik çalışmalarda da üzüm tüketiminin artmasıyla kanser oluşma riskinin azaldığı belirlenmiştir (Zheng ve ark., 1993). Üzüm çekirdeği ekstraktının pankreatik lipaz, lipoprotein lipaz ve hormonal duyarlı lipaz gibi yağları metabolize eden enzimler üzerindeki etkilerinin araştırıldığı in vitro çalışmada, ekstraktın bu yağ metabolize eden enzimleri inhibe ettiğini, dolayısıyla diyetdeki yağın absorpsiyonunu engelleyerek adipoz dokularda akümülayonunu sınırlamak amacıyla kullanılmasının faydalı olduğu belirtilmiştir (Moreno ve ark., 2003). Üzüm çekirdeği ekstraktının solar ultraviyole radyasyon ile indüklenen photocarcinogenesisin inhibisyonunu sağladığını, bu etkisinin ekstraktın alımıyla doku yağ içeriğinin azalması ve solar ultraviyole radyasyon ile indüklenen oksidatif hasarın azalmasıyla ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (Mittal ve ark., 2003). Proanthosiyanidinlerin rat ve farelerde akut oral LD₅₀ değerinin 4g/kg olduğu, ayrıca oral olarak ratlara 6 ay boyunca 60 mg/kg dozda verilmesinin toksik bir etki oluşturmadığı tespit edilmiştir. Proanthosiyanidinlerin mutajenik ve teratojenik etkilerinin de olmadığı belirtilmiştir (Bombardelli and Morazzoni, 1995). Ayrıca akut ve subkronik toksikasyon etkisi konusundaki çalışmada da ratların yemine %2 (=1410 mg/kg) oranında üzüm çekirdeğinden elde edilen proanthosiyanidince zengin ekstrakt katılarak 90 gün verilmiş ve toksikasyon gözlenmemiştir (Yamakoshi ve ark., 2002).

1.11. 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.

Ülkemiz üzüm ihracatın da dünyada %12' lik üretimle 5. sırada bulunmakta olup ülke gelir payında çok önemli bir konumda bulunmaktadır. Türkiye'nin bulunduğu coğrafik konum nedeniyle pek çok üzüm çeşidini barındırmakta olup kuru üzüm, pekmez, pestil, şarap ve ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır. Son zamanlarda üzüm çekirdeğine yönelik araştırmalar pek çok hastalık tedavisinde önemli rol oynandığını göstermektedir. Örneğin: yüksek tansiyon, göz bozuklukları, diyabet, kalp ve cilt hastalıklarının iyileştirmesinde çok önemli rol oynamaktadır.

Bu araştırmanın hedefleri de kısaca şöyledir. Bazı gıdaların hastalıklardan koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir. İnsan beslenmesinde önemli etken maddeler ihtiva eden üzüm çekirdeğinin; deneysel olarak etil alkolle oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda karaciğer koruyucu etkilerinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek karaciğer harabiyet biyobelirteçleri olan serum Aspartate 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 SOD, GSH-Px, GST, GR aktiviteleri ve redükte GSH seviyeleri ile MDA içeriklerine bakılarak, adı geçen biyolojik parametreler üzerine üzüm çekirdeğinin 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 kanaatindeyiz.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Dünyada artan nüfus yoğunluğu ve buna paralel olarak ihtiyaç duyulan barınma ve beslenme ihtiyacı, canlıları ekolojik dengeyi daha fazla tahrip etmesine neden olmaktadır. Bu nüfus artışına çare bulmak, insanoğlunun daha rahat ve daha sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesi için ulusal ve uluslar arası alanlarda pek çok iyileştirme çalışmaları yapılmaktadır. Özellikle sanayinin gelişmesiyle kimyasal maddelerin kullanımının artması ve bu kimyasalların içindeki toksik maddeleri azaltmak için insanoğlunu daha çok yapısında antioksidan barındıran doğal ürünlerin tüketimine yönlendirmiştir. Bitkisel ürünlerin yapılarında bulunan antioksidan sekonder metabolit ürünleri pek çok hastalıkla mücadelede en doğal biyolojik tıbbi müdahale yöntemleri olduğu pek çok makalede ele alınmıştır. Günümüzde çeşitli medikal bitkiler, destekleyici tıbbi yardım olarak yaygın bir şekilde kullanılmakta ve “Alternatif Tıp” gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Dünya Sağlık örgütünün (WHO) tahminlerine göre dünya üzerinde 20.000'den fazla bitki türü tıbbi maksatlı kullanılmaktadır (Wagner ve Fransworth, 1990).

Dünyada çokça tüketilen etil alkolün dokularda meydana getirdiği tahribat ile ilgili pek çok araştırmacı tarafından belirlenmeye çalışılmıştır. Bunlarla ilgili yapılan bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Butterfield ve ark. (1999), bazı çalışmalarında alkolik içecekler evrensel olup dünyanın en geniş fizikoaktif kronik tüketim içeceği. Aşırı alkol tüketimi organların zarar görmesine hatta ölmelerine yol açar. İndüklenmiş alkol beyinin pek çok bölgesine sinsice saldırarak bilişsel zararlar gibi öğrenme ve hafıza kayıplarına neden olduğuna dikkat çekmişler.

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 etanol tüketiminin nöro toksik kronik etkilerini hem insanlar hem de deneysel hayvanlar üzerinde gelişmiş sinir sistemi üzerindeki dejenerasyonuna dikkat çekmişler.

Iqbal ve ark. (2004), çalışmalarında alkol terimiyle ilgili nöro gelişimsel karışıklık (ARND) gebelik süresince etanola maruz kalmanın bir sonucu olacak ki merkezi sinir sisteminin fonksiyon bozukluğunu (CNS) bildirmişlerdir.

Andreoli ve Mallet, (1997); Eskay ve ark. (1995), yaptıkları çalışmalarda uyarılmış etanolün sinirsel tahribatı arkasındaki mekanizma hala iyi anlaşılmış değil, fakat çeşitli öneriler sunulmaktadır. Bunların içinde eksitotoksiti ile ilgili olarak nörotransmitter maddenin

aşırı yayılmasıyla oluşan oksidatif stres serbest radikaller zararlarının oluşmasına neden olduğunu belirtmişler.

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

Liber ve ark. (1985), çalışmalarında akut alkol kullanımının karaciğer üzerindeki toksik etkileri uzun zamandan beri bilindiği ve karaciğer gibi çeşitli organlar üzerinde ki olumsuz etkilerine dikkat çekmişler.

Seitz (1985), çalışmasında alkol kullanımı hücre membranlarının geçirgenliğini bozar, hücre sitoplazmasında bulunan enzimler hücre membranının geçirgenliğinin bozulmasıyla hücre dışına çıkarak kanda seviyelerinin artışına sebep olduğuna dikkat çekmiştir.

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

Baraona ve ark. (1980), çalışmalarında karaciğerde oluşturulup safraya salgılanan ekstreksiyon enzimlerinin (Lösi amino Peptidaz, Alkalen Fosfataz, Gamma Glutami Transferaz) serum aktivitelerinin artışı da karaciğerin salgı fonksiyonunu tam yerine getirmediğinin göstergesi olduğuna dikkat çekmişler.

Boros ve Hegyi (2003), çalışmalarında akut ve kronik etanol tüketimi, pankreas ve karaciğerde oksidatif parametreler üzerinde oksidatif strese yol açtığını belirtmişler.

Mezey (1985), çalışmada da etanol uygulaması doz ve zamana bağlı olarak; serum etanol konsantrasyonu, hepatik enzim aktiviteleri yükselterek karaciğerde morfolojik tahribata sebep olduğunu, protein sentezine ket vurduğunu, karaciğer yağlanmasına sebep olduğunu ve serum tirigliserid seviyelerinde yükselmelere sebep olduğunu belirtmişlerdir.

Tamai ve ark. (2002), başka bir çalışmada da uzun süreli etanol tüketimi, bağırsağın geçirgenliğini ve ağızdan endoksin uygulamasına karşı hepatik hassasiyeti sıra ile yükseltebilen endoksin emilimini artırdığını bildirmişlerdir.

Asker ve ark. (1998), alkol ve alkol + taurine ile tedavi edilen farelerde düşük kolestasis kanıtı ortaya çıkmış, ayrıca bu gruplarda yüksek serum asitleri ve ALT'nin olduğu ortaya koymuşlar.

Kerai (1999), alkolden sonra Taurine uygulanan farelerde yüksek seviyede AST, ALT, ALP, LDH yükselmesi olduğunu görmüşler.

Waterfield ve ark. (1999), çalışmalarında kronik etanol tüketimi sonucu olarak oluşan hepatik steatosis ve lipit peroksidasyon sonrası taurine uygulamasıyla oluşumlar geriye dönüş bildirmişlerdir.

Noveli ve ark. (1997), kronik alkol alımı lipoperoksid konsantrasyonları ve asit fosfat aktivitelerini artırırken Cu-Zn SOD'ü düşürür diye belirtmişlerdir.

Santos ve ark. (1997), kronik alkol alımını sonucu SOD aktivitesi superoksid radikal ve lipoperoksid formasyonunu inhibe edemediği için orta derecede prostat tahribatına neden olduğunu vurgulamışlar.

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

Boros ve ark. (2003), listeria antijenine bağışıklığı olan farelerde etanol tüketiminde karaciğerde yağ birikmesine ve serum ALT seviyesinde artışa sebep olduğunu dile getirmişlerdir.

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

Sato (1978), çalışmasında kronik etil alkolün ratların karaciğer lizozomal enzim ve lizozom büyüklükleri üzerinde etkili olduğunu ortaya koymuştur.

Diğer yandan çeşitli üzüm (*Vitis vinifera L.*) ve çekirdeğinin iyileştirici etkileri ile ilgili araştırmacılar tarafından belirlenmeye çalışılmış olup bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Çetin ve ark. (2008), sıçan karaciğerinde radyasyonun yol açtığı oksidatif strese üzüm çekirdeği ekstresinin etkisi incelenmiş. Üzüm çekirdeği ekstresi hücre membranında protein ve lipit peroksidasyonunu engelleyerek takiben oksidatif hasarı azalttığı ayrıca üzüm çekirdeği ekstresinin verilmesiyle RTx grubundaki malondialdehid seviyesinde orta derecede bir azalma gözlemlenmiştir.

İkizler ve ark. (2003), çalışmalarında üzüm de bulunan bir antioksidan olan resveratrol, oksidatif stresi önleyerek iskemi/reperfüzyon hasarında koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Singh ve Lippman (1998); Hong ve Sporn, (1997), çalışmalarında meyve, sebze ve bazı medikal bitkilerin değişik kanser türlerinin önleminde etkili kimyasal bileşiklere sahip oldukları gösterilmiştir. Bu kimyasallar arasında doğal polifenolik antioksidanların antikanserojen oldukları gösterilmiştir.

Zhao ve ark. (1999), üzüm, özellikle çekirdeğinin polifenoller bakımından oldukça zengin bir bitki olduğu ve kansere karşı iyileştirici özelliğini rapor etmişlerdir.

Maffei Facino ve ark. (1996), üzüm çekirdeğindeki polifenoller; prosiyanidin veya proantosiyanidin kombine isim olarak adlandırmış olup, son zamanlarda yapılan çalışmalarda üzüm çekirdeğinde bulunan prosiyanidinlerin yangı, artritis ve allerji oluşumunu engelleme gibi birçok etkisinin yanında, kalp hastalıkları ve deri yaşlanmasından korunmada da etkili olduğunu göstermişlerdir.

Bagchi ve ark. (1997); Bagchi ve ark. (1998), ayrıca üzüm çekirdeği poliyfenollerinin vitamin C ve E'den çok daha güçlü serbest oksijen radikal temizleyicisi olduğu gösterilmiştir.

Özel (2006), yaptığı çalışmada karaciğerde iskemi/reperfüzyonun (İ/R) 45 dakikalık iskemi ve 1 saatlik reperfüzyon sonunda karaciğer GSH düzeyleri anlamlı derecede azalırken, üzüm çekirdeğinden izole edilen proantosiyanidin ekstresi (GSPE) bu azalmayı anlamlı olarak önlemiştir. Keza, MDA, değerlerinde İ/R sonucunda artış gözlenmişken bu değerlerdeki artış seviyesi GSPE uygulaması ile azalmıştır.

Son zamanlarda üzüm (*Vitis vinifera L.*) çekirdeğinin yapısında bulunan güçlü antioksidan özelliğinden daha geniş alanlarda yararlanmaya başlanmış olup bu alanlardan biri de gıdaların muhafazasıdır.

Madavi ve Salunkhe (1995), gıda ürünlerinin muhafazası sürecinde butilat hidroksianisol (BHA) ve butilat hidroksitoluen (BHT) lipid peroksidasyonu ve bu gıdaların bozulmasının önlenmesinde önemli bir rol oynar. Özellikle yağlar ve yağ içeren gıdalar raf ömrünün uzatılmasında antioksidanların ilavesi sayesinde bu gıdaların raf ömürleri uzattığı ve bozulmaları önlendiği görülmüştür. Ancak, bu tür sentetik antioksidanlar kanserojenik olabilirliği kuşkusuyla bu antioksidanların kullanımı sınırlandırılmış.

Loliger (1991), bu yüzden doğal antioksidan araştırmaları, özellikle bitki orjinli olanlar son yıllarda kullanımda büyük artış olduğunu belirtmiş.

FAO (1997), üzüm (*Vitis vinifera L.*) yıllık yaklaşık 58 milyon ton üretimle dünyanın en büyük ürün alınan meyve olduğunu rapor etmiş.

Saito ve ark. (1998), üzüm çekirdekleri monomerik fenolik bileşenlerle zengin kaynaklardır. Monomerik fenolik bileşenlerden, (+)-katezin (poliyfenolik antioksidan bitki metaboliti), (-)-epikatezin ve (-)-epikatezin-3-O-gallate ve dimerik, trimerik ve tetramerik prosiyanidinlerin antimutajenik ve antiviral ajanlardır.

Frankel ve ark. (1995); Teissedre ve ark. (1996), fenoller ve kırmızı şarap ta düşük-yoğunluklu-lipoprotein (LDL) in vitro olarak insanda oksidasyonu engellediği tespit edildiğini kanıtlamışlar.

Laparra ve ark. (1979), çalışmalarında katezin ve prosiyanidinler gibi sağlık açısından faydalı olduğunu kanıtlaması üzm çekirdeği ekstratının diyetisyenlikte dengeli beslenme için kullanılmasına yol atığını belirtmişler.

Singh ve Lippman (1998), kanserin kimyasal bileşiklerle önlenmesi konusu geniş bir araştırma konusu olmaktadır. Bu amaçla doğal veya sentetik bazı kimyasal bileşiklerle kanser oluşumunun engellenmesi konusunda araştırmalar yapıldığını dile getirmektedirler.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Deneyde Kullanılan Materyaller

3.1.1. Deney hayvanı materyali

Araştırmamızın canlı materyali olan 200-350 gr ağırlığında, 5.5-6 aylık, 24 adet sağlıklı (*Vistar albino*) ırkı erkek ratlar standart plastik rat 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 üzüm (*Vitis vinifera L.*) çekirdeğini (halk arasında mazrona olarak bilinen çeşidi) Mardin'nin Dargeçit ilçesi yöresinden temin edilen çeşidi kullanıldı.

3.1.2. Analizlerde kullanılan cihazlar ve malzemeler

Gerhaeld çalkalayıcı, Nüve NM 110 vorteks, Bosch S 2000 hassas terazi, Chyo JI-180 dijital terazi, sıcak su sanyosu BM 101 Nüve, otomatik pipet Socorex Swiss, ağır derin dondurucu, Orion pH metre 420 A, BHG Hermle Z 320 K soğutmalı santrifüj (14.000 rpm), Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometre, Harris derin dondurucu (-80 °C), Ultrasonic processor homojenizatör, iklim dolabı, kıyma makinası, çekirdek ezme değirmeni, makas, neşter, jilet, plastik tepsiler, Whatman süzgeç kağıdı No.42.

3.1.3. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kit ve kimyasal maddelerden: Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim kiti Randox-Ransel, Redükte glutasyon (GSH), Okside glutasyon (GSSG), Bütillenmiş hidroksitolüen (BHT) Tiyobarbitürik asit

(TBA), 1.1.3.3.tetraethoksiopropan (MDA), 5-5'-Ditiobis 2- nitrobenzoik asit (DTNB), Süktroz, Glioksilik asit, Tris (Hidroksi metil amino metan hidroklorit tris HCl), Sodyum sülfat Sigma'dan, Beta Nikotinamiddinukleotit fosfat (NADPH), Metafosforik asit, Triklor asetik asit (TCA), Sodyum klorür (NaCl), Sodyum hidroksit (NaOH), Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), Sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) Sodyum sitrat, Sulfosalisilik asit (SSA), Askorbik asit, ketamin (%10 luk).

3.2. Yemlerin Hazırlanması ve Deney Muamelesi

Mardin'nin dargeçit ilçesinden getirilen üzüm (*Vitis vinifera L.*) çekirdekleri Van tarım il müdürlüğünde küçük bir elektronik değirmende ün haline getirildi. Un haline getirilen üzüm çekirdekleri laboratuvarında normal sıçan yemine öğütölmüş olan üzüm çekirdekleri %15 oranında normal yeme karıştırılarak 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 haline gelen yem 25 °C de iklim dolabında 48 saat bekletildi. İyice kuruyan bu yem daha sonra çıkarılarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi araştırma hastanesindeki deney hayvanları ünitesin de muhafaza edilerek belirlenen sıçan gruplarına gerekli oranda verilmesi sağlandı. Deneme 50 gün devam etti. 24 adet rat; kontrol grubu, alkol grubu, üzüm çekirdeğı ilaveli yem + su grubu ile üzüm çekirdeğı ilaveli yem + etil alkol grupları olmak üzere 6'şarlı 4 gruba ayrıldı. Gruplardan kontrol grubu sadece standart rat yemi ve su ile beslendi. Alkol grubuna standart rat yemi ve etil alkol verildi. Üçek + su grubuna üzüm çekirdeğı ilaveli yem ve su verildi. Üçek + alkol grubuna ise üzüm çekirdeğı ilaveli yem ve alkol verildi. Çalışma grubundaki ratlara, her gruba ilk gün 200 gram yem ve 500 ml su veya alkol verildi. Daha sonraki her gün bir önceki günden kalan yem tartılarak/ölçölerek her bir grubun günlük yem ve su/alkol tüketimleri kayıt edildi. Ayrıca, ratların net ağırlıkları da 50 günlük boyunca her hafta tartılarak kayıt edildi. Deneme boyunca gözlemlerimde kontrol ile üçek + su gruplarındaki ratların ağırlıklarında artma tespit edilirken, alkol ile üçek + alk gruplarında ise ratların net ağırlıklarında azalma göröldü. Deneme aşaması boyunca yeme ve içmelerinde hiçbir

kısıtlamaya gidilmeden gerekli miktarda verilip, ayrıca temizliğe çok dikkat edilerek 50 günlük deneme aşaması bitirildi.

3.3. 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 kullanırken, diğer kan ise serum enzimleri serum örnekleri hazırlandı. Diğer yandan; 50 gün deneme sonunda sıçanların beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokuları alınarak 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).

3.4. 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 yıkanması 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 malondialdehit ile redükte glutatyon tayini gerçekleştirildikten sonra süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz ve glutatyon redüktaz enzim aktiviteleri tayinine kadar eritrosit paketleri derin dondurucuda -20 °C'de muhafaza edildi (Randox Lab., 1996).

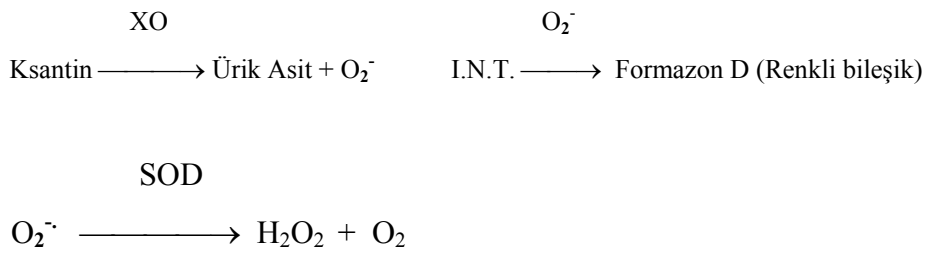
3.5. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi

Muamele sonrası derin dondurucuda (-80°C) bekletilen sıçanların beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokuları oda sıcaklığına gelinceye kadar kademeli olarak çözündürüldü. 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 Ultrasonic homojenizatörde 3 dakika homojenize edildi. Ekstrakt hemen 30 dakika 9500 rpm'de soğutmalı santrifüj cihazında (BHG Hermle) $+4^{\circ}\text{C}$ '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).

3.6. Analizlerin Yapılması

3.6.1. Süperoksid dismutaz (SOD) enzim tayini

Prensip: Süperoksid dismutazın rolü, oksidatif enerji basamağında üretilen toksik süperoksid radikalini ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktır. Bu metotla aşağıdaki formülde görüldüğü gibi ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksid radikali, 2-(-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) ile kırmızı boya formuna dönüşür. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür (McCord ve Fridovich, 1969).



Ayır��lar	Konsantrasyonları
1.Miks Substrate	
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.Xanthine Oxidase	80 U/l
4.Standart	5.70/ml

Deneyin yapılışı: SOD enzim aktivitesi Randox-Ransod enzim kiti ile Perkin Elmer Lambda 1A UV/VIS spektrofotometrede 505 nm'de 37 °C'de          (Randox Lab., 1996). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar - 80  C'de derin dondurucuda 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 aşağıdaki 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

İçerik karıştırlarak ilk absorbans A_1 30 saniye sonra okundu ve eş zamanlı olarak zaman başlatıldı. Son absorbans A_2 3 dakika sonra okundu.

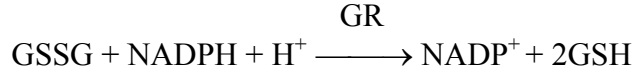
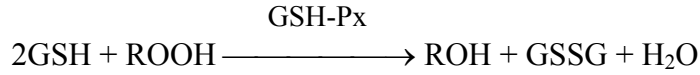
Hesaplama: Spektrofotometreden alınan optik dansite sonuçları aşağıdaki denklemde yerine konarak SOD enzimi % inhibisyonları hesaplandı.

$$100 - \frac{(\Delta A_{StdDk} \cdot x100)}{(\Delta A_{Blank Dk.})} = \% \text{ İnhibisyon} \quad 100 - \frac{(\Delta A_{  rnekDk} \cdot x100)}{(\Delta A_{Blank Dk.})} = \% \text{ İnhibisyon}$$

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

3.6.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim tayini

Prensip: Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), formülde görülen kumen hidroksidin ile indirgenmiş glutasyonu (GSH) okside eden reaksiyonunu katalizler. Ortamda glutasyon redüktaz (GR) ve nikotin adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) var ise yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), NADPH'ın NADP'ye oksidasyonu ile GSH'a indirgenir (Paglia ve Valentine, 1967).



Ayıraçlar	Konsantrasyonları
-----------	-------------------

1. Ayıraç

Glutasyon	4.0 mmol/l
-----------	------------

G.Reduktaz	≥ 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. Kumen Hidroperoksit	0.18 mmol/l
------------------------	-------------

4. Sulandırma Ayıracı

Deneyin yapılışı: Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi, Randox-Ransel enzim kitleri ile Perkin Elmer Lambda 1A UV/VIS spektrofotometrede 340 nm'de ultraviyole metotla 37 °C'de ölçülecek (Randox Lab., 1996). Analiz materyali olarak, daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -80°C'de derin dondurucuda muhafaza edilen eritrosit paketi ve doku süpernatantları kullanıldı.

Analiz için eritrosit paketinden 10 µl alınarak. 2 ml sulandırma ayıracı 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 absorbensları 1 dakika sonra okundu. Zaman başlatılmasından, 1 ve 2 dakika sonra absorbenslar tekrar okunarak dakika absorbens değişimi hesaplandı.

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

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

Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -80 °C’de derin dondurucuda muhafaza edilen eritrosit paketi ve doku süpernatantları kullanıldı. 3 ml quvartz küvette, 340 nm de absorbens ölçümü gerçekleştirildi. Absorbanslar 3 dakika boyunca 15 saniyede bir kaydedildi. Absorbans aralığındaki değişimin Lineer olduğu kısımdan dakika başına absorbens değişimi tespit edilerek ($EU = 3 (A / 9.6)$) formülden sulandırma faktörünü de hesaba katılarak hesaplamalar yapıldı.

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	

3.6.4. Lipid peroksidasyon (MDA) tayini

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

Ayırıcılar

1. EDTA Çözeltisi (0.1 M) : 37.224 g EDTA-Na₂H₂O 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 Na₂HPO₄, 0.194 g NaH₂PO₄ distile suda eritilerek 1 litreye tamamlanır. pH'sı 7.4 'e ayarlanır.

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 Na₂H₂O, 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) yapılarak okundu (Slater, 1984; Sushil ve ark., 1989).

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

A = Absorbans a = Ekstinksiyon katsayısı

b = Işık yolu c = Konsantrasyon

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

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

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

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

$$c = A \times 1 \times F \times 10 / 1.56 = \text{nmol} / \text{ml eritrosit}$$

3.6.5. 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. indirgenmiş glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda sülfidril gruplarının DTNB (5,5'-2-ditiobis 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 (disodyum etilen diamin tetraasetik asit), 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 (5,5'-(2-ditiobis) nitrobenzoik asit), %1 sodyum sidrat, 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

Deneyin yapılışı: Eritrosit paketi veya doku süpernatantından 200 µl alınarak, 3 ml çöktürücü çözeltisi ile karıştırıldı. 5 dakika bekleme sonrası, karışım watman 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. Blank 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 dansiteler okundu. Sonuçlar mg/g doku olarak hesaplandı (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

3.6.6. Glutasyon redüktaz (GR) enzim tayini

Analiz materyali olarak, daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -80 °C’de derin dondurucuda 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 (Süpermatant)	-	1200 µl

GR aktivitesi (EU), 340 nm’de 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).

3.7. İstatistik Analizler

Ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) hazır program olan (Minitab for Windows) kullanarak standart metotlara göre, grup ortalamaları arasındaki fark ise ANOVA One way (unstacked) kullanılarak ortaya konuldu. Önem derecesi bütün testler için ($p < 0.05$) olarak kabul edildi (İkiz ve ark., 1996).

4. BULGULAR

Yirmi dört adet sıçan (Wistar albino) her grupta 6 tane sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, etil alkol grubu, % 15 üzüm çekirdeği içeren yem grubu + su ve % 15 üzüm çekirdeği içeren yem grubu + alkol olmak üzere gruplar oluşturuldu. 50 günlük deneme boyunca kontrol grubuna çeşme suyu ile normal yem, etil alkol grubuna % 20 etil alkol ile normal yem verildi, 3. gruba % 15 üzüm çekirdeği içeren katkılı yem ile çeşme suyu verilirken, 4. gruba da % 15 üzüm çekirdeği içeren katkılı yem ile % 20 etil alkol verildi. 50 gün boyunca devam eden uygulamalar sonunda karaciğer koruyucu etkilerinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek karaciğer harabiyet biyobelirteçleri olan serum Aspartate aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), Gamma glutamil transpeptidaz (GGT) ve Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviyeleri tespit edildi. Ayrıca eritrosit, karaciğer, beyin, böbrek, dalak ve kalp dokusu örneklerinde antioksidan kapasite etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) aktiviteleri ve redükte glutatyon (GSH) seviyeleri ile Malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerindeki etkileri belirlendi.

Elde edilen sonuçlara göre; etil alkolün serum enzimleri ve MDA miktarını kontrol grubuna göre arttırmasına karşın, farklı gruplara üzüm çekirdeği ilave edilen muamele gruplarında üzüm çekirdeğinin karaciğer koruyucu ve lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi gözlemlendi. Ayrıca, etil alkolün çeşitli dokularda oksidatif stres oluşturmaya rağmen üzüm çekirdeği ilaveli yem gruplarında ise antioksidan etki göstererek oksidatif strese karşı direnç gösterdikleri belirlendi.

Çizelge 4.1’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, alkol grubu, üçek + su grubu ile üçek + alkol gruplarındaki karaciğer koruyucu etkilerinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek karaciğer harabiyet biyobelirteçlerinden olan serum Aspartate aminotransferaz (AST) enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla; 101.0 ± 7.2 , 140.8 ± 31.4 , 96.3 ± 6.6 ve 101.3 ± 15.3 , Alanin aminotransferaz (ALT) enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla; 54.2 ± 3.2 , 71.0 ± 16.5 , 56.0 ± 5.0 ve 66.7 ± 8.7 , Gamma glutamil transpeptidaz (GGT) enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla; 0.02 ± 0.01 , 1.3 ± 0.5 , 0.03 ± 0.01 ve 1.7 ± 0.5 ve son olarak Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviye değerleri (U/L) sırasıyla; 854.2 ± 132.2 , 1116.3 ± 97.0 , 760.2 ± 132.5 ve 568.0 ± 75.8 olarak bulundu.

Çizelge 4.1. Etil alkol ve üzüm çekirdeği muamelesine tabi tutulan sıçanların karaciğer harabiyet biyobelirteçleri olan serum enzim düzeyleri

SERUM	SERUM ENZİMLERİ			
	KONTROL	ALKOL	ÜÇEK+SU	ÜÇEK+ALKOL
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
AST U/L	101,0±7,2	140,8±31,4 ^a	96,3±6,6	101,3±15,3 ^d
ALT U/L	54,2±3,2	71,0±16,5 ^a	56,0±5,0	66,7±8,7 ^c
GGT U/L	0,02±0,01	1,3±0,5 ^a	0,03±0,01	1,7±0,5 ^c
LDH U/L	854,2±132,2	1116,3±97,0 ^a	760,2±132,5	568,0±75,8 ^{c,d}

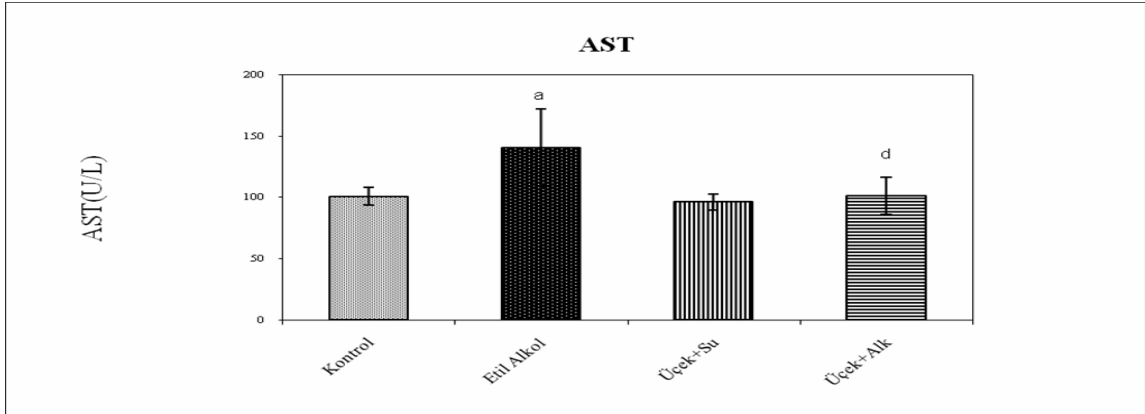
a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; AST değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) bulunurken, diğer yandan üçek + alkol grubu alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı. Diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı.

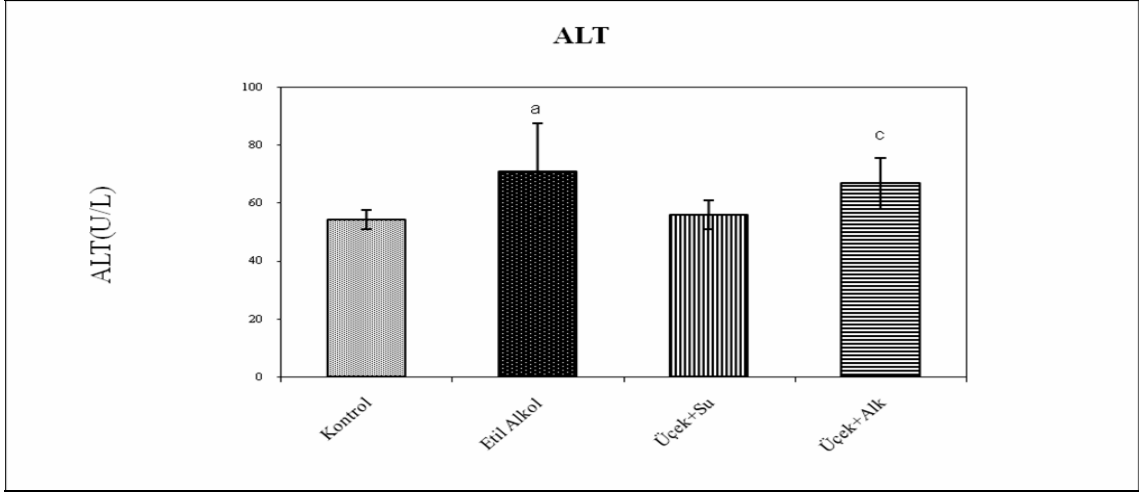


a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.1. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin AST seviyelerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; ALT değerleri alkol grubu ile üçek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı.

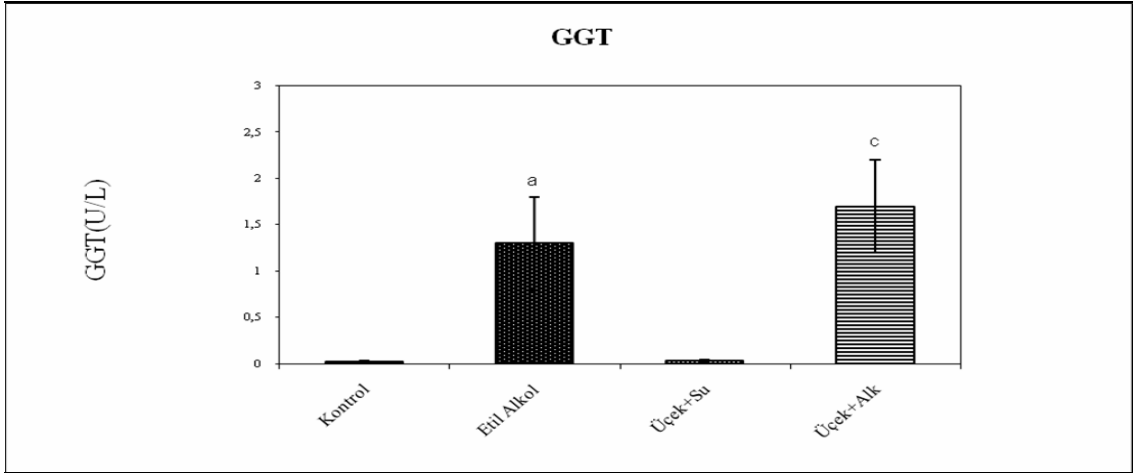


a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

Şekil 4.2. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin ALT seviyelerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; GGT değerleri alkol grubu ile üçek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p < 0,05$) bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı.

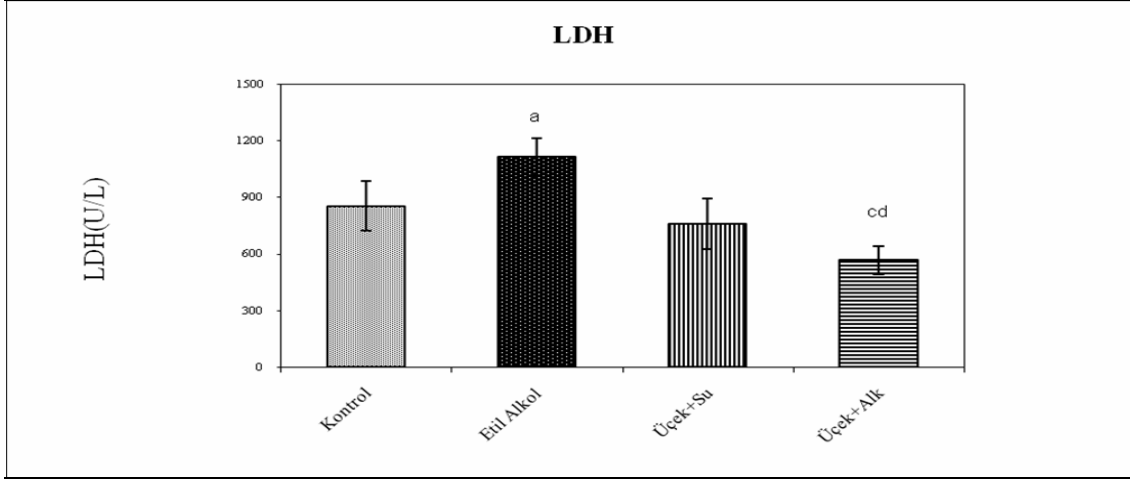


a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

Şekil 4.3. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin GGT seviyelerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.1'deki sonuçlara göre; LDH değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p < 0,05$) saptanırken, kontrol ile üçek + su grupları arasında LDH değerlerinde önemli fark bulunmadı. Diğer yandan, üçek + alkol grubu LDH değeri kontrol ve alkol gruplarına göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p < 0,05$) saptandı.



a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.4. Etil alkol muamelesine tabi tutulan sıçanlarda üzüm çekirdeğinin LDH seviyelerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.2. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeyleri

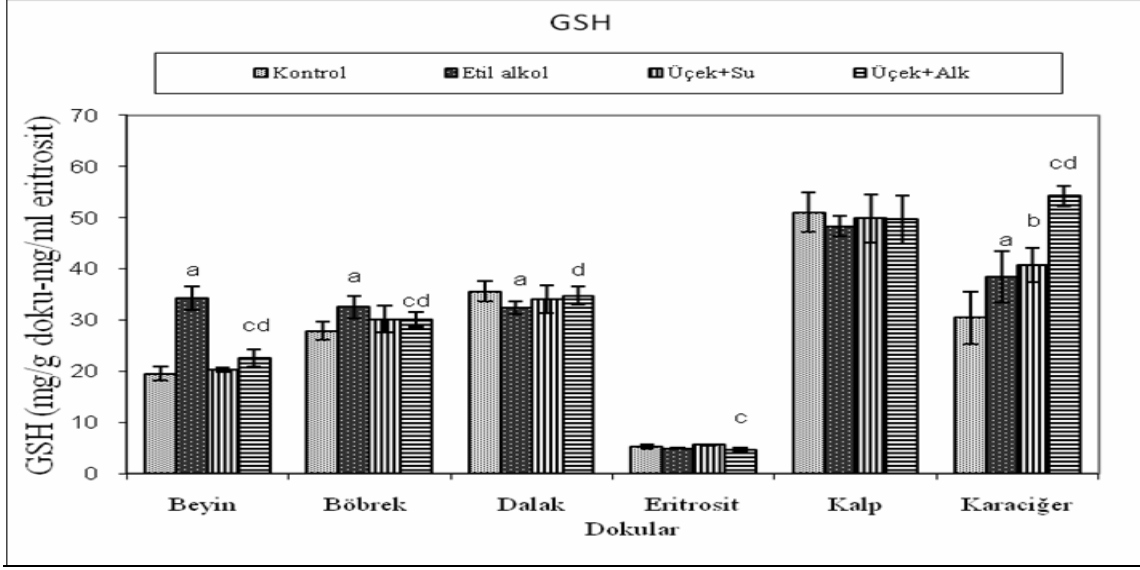
DOKU	GSH			
	KONTROL	ALKOL	ÜÇEK+SU	ÜÇEK+ALKOL
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
Beyin mg/g	19,48±1,39	34,21±2,31 ^a	20,23±0,48	22,59±1,74 ^{c,d}
Böbrek mg/g	27,89±1,73	32,51±2,12 ^a	30,16±2,68	30,07±1,41 ^{c,d}
Dalak mg/g	35,55±1,97	32,34±1,20 ^a	34,00±2,74	34,78±1,76 ^d
Eritrosit mg/ml	5,28±0,44	4,90±0,17	5,55±0,17	4,67±0,33 ^c
Kalp mg/g	51,04±3,83	48,33±1,95	49,84±4,71	49,62±4,62
Karaciğer mg/g	30,40±5,16	38,38±4,99 ^a	40,75±3,27 ^b	54,25±1,95 ^{c,d}

a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.5. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.2’de belirtildiği üzere, kontrol grubu, alkol grubu, üçek + su grubu ve üçek + alkol gruplarındaki beyin dokusunun redükte glutatyon GSH (mg/g) değerleri sırasıyla; 19.48 ± 1.39 , 34.21 ± 2.31 , 20.23 ± 0.48 ve 22.59 ± 1.74 , böbrek dokusunda (mg/g) sırasıyla; 27.89 ± 1.73 , 32.51 ± 2.12 , 30.16 ± 2.68 ve 30.07 ± 1.41 , dalak dokusunda (mg/g) sırasıyla; 35.55 ± 1.97 , 32.34 ± 1.20 , 34.00 ± 2.74 ve 34.78 ± 1.76 , eritrosit dokusunda (mg/ml) sırasıyla; 5.28 ± 0.44 , 4.90 ± 0.17 , 5.55 ± 0.17 ve 4.67 ± 0.33 , kalp dokusunda (mg/g) sırasıyla; 51.04 ± 3.83 , 48.33 ± 1.95 , 49.84 ± 4.71 ve 49.62 ± 4.62 , karaciğer dokusunda (mg/g) sırasıyla; 30.40 ± 5.16 , 38.38 ± 4.99 , 40.75 ± 3.27 ve 54.25 ± 1.95 , olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GSH değerleri alkol grubu ile üçek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptanırken, diğer yandan üçek + alkol grubu alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) tespit edildi.

Böbrek GSH değerleri alkol grubu ile üçek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptanırken, diğer yandan üçek + alkol grubu alkol grubuna göre istatistiksel açıdan azalma ($p<0.05$) tespit edildi.

Dalak GSH değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptanırken, üçek + alkol grubu ise alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandı.

Eritrosit GSH değerleri üçek + alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Karaciğer GSH değerleri alkol grubu, üçek + su grubu ve üçek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandığı gibi üçek + alkol grubu da alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandı.

Diğer muamele grupların GSH değerlerinin çaprazlanmasında istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Çizelge 4.3. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeyleri

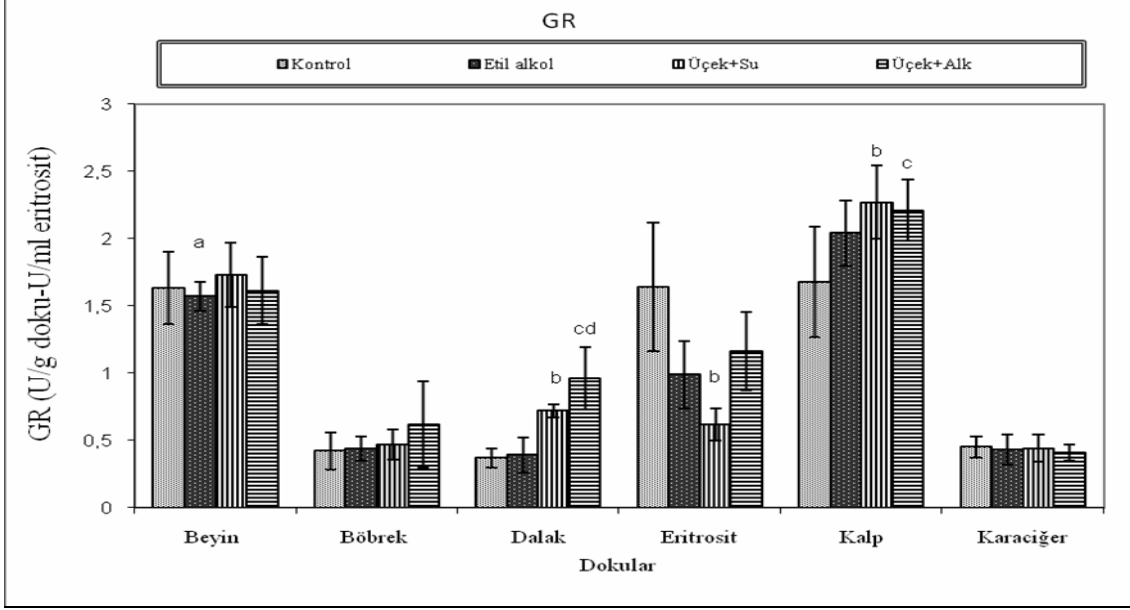
DOKU	GR			
	KONTROL	ALKOL	ÜÇEK+SU	ÜÇEK+ALKOL
	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD
Beyin U/g	1,63 $\pm$ 0,27	1,57 $\pm$ 0,11 ^a	1,73 $\pm$ 0,24	1,61 $\pm$ 0,25
Böbrek U/g	0,42 $\pm$ 0,14	0,44 $\pm$ 0,09	0,47 $\pm$ 0,11	0,62 $\pm$ 0,32
Dalak U/g	0,37 $\pm$ 0,07	0,39 $\pm$ 0,13	0,72 $\pm$ 0,05 ^b	0,96 $\pm$ 0,23 ^{c,d}
Eritrosit U/ml	1,64 $\pm$ 0,48	0,99 $\pm$ 0,25	0,62 $\pm$ 0,12 ^b	1,16 $\pm$ 0,29
Kalp U/g	1,68 $\pm$ 0,41	2,04 $\pm$ 0,24	2,27 $\pm$ 0,27 ^b	2,21 $\pm$ 0,23 ^c
Karaciğer U/g	0,45 $\pm$ 0,08	0,43 $\pm$ 0,11	0,44 $\pm$ 0,10	0,41 $\pm$ 0,06

a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.6. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GR düzeylerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.3' te belirtildiği üzere, kontrol grubu, alkol grubu, üçek + su grubu ile üçek + alkol gruplarındaki beyin dokusunun glutatyon redüktaz GR (U/g) değerleri sırasıyla; 1.63 ± 0.27 , 1.57 ± 0.11 , 1.73 ± 0.24 , ve 1.61 ± 0.25 , böbrek dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 0.42 ± 0.14 , 0.44 ± 0.09 , 0.47 ± 0.11 ve 0.62 ± 0.32 , dalak dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 0.37 ± 0.07 , 0.39 ± 0.13 , 0.72 ± 0.05 ve 0.96 ± 0.23 , eritrosit dokusunda (U/ml) değerleri sırasıyla; 1.64 ± 0.48 , 0.99 ± 0.25 , 0.62 ± 0.12 ve 1.16 ± 0.29 , kalp dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 1.68 ± 0.41 , 2.04 ± 0.24 , 2.27 ± 0.27 ve 2.21 ± 0.23 , karaciğer dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 0.45 ± 0.08 , 0.43 ± 0.11 , 0.44 ± 0.10 ve 0.41 ± 0.06 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GR değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) tespit edildi.

Dalak GR değerleri üçek + su ile üçek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptandığı gibi üçek + alkol grubu da alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptandı.

Eritrosit GR değerleri üçek + su grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) saptandı.

Kalp GR değerleri üçek+ su ile üçek+ alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptandı.

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

Çizelge 4.4. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri

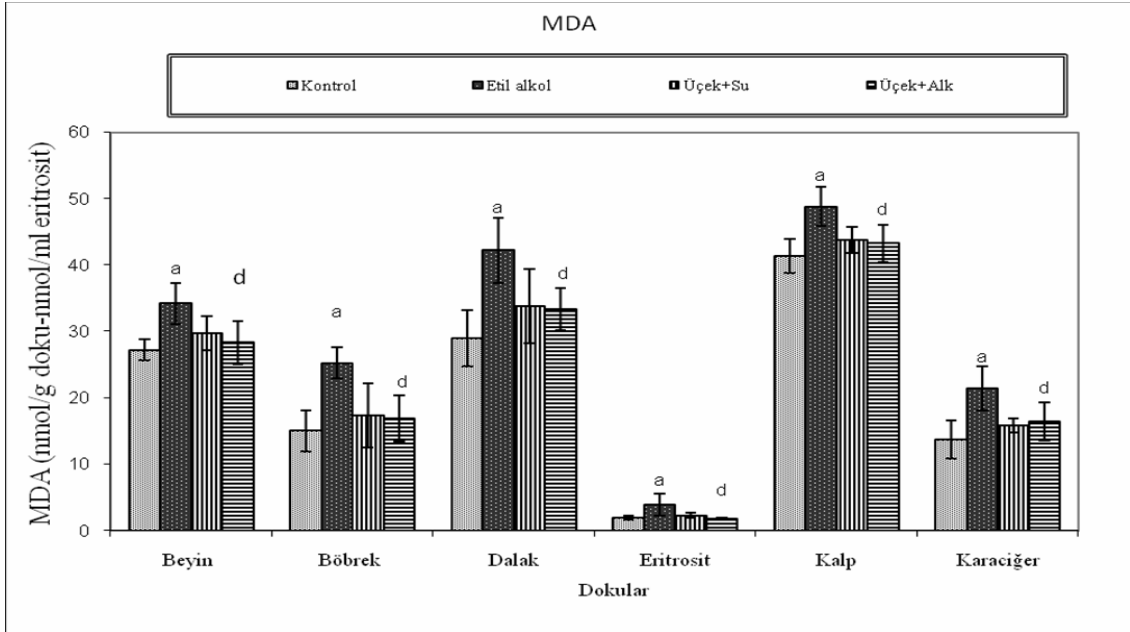
DOKU	MDA			
	KONTROL	ALKOL	ÜÇEK+SU	ÜÇEK+ALKOL
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
Beyin nmol/g	27,20±1,53	34,21±3,07 ^a	29,68±2,53	28,28±3,26 ^d
Böbrek nmol /g	15,00±3,13	25,25±5,41 ^a	17,38±2,36	16,83±3,45 ^d
Dalak nmol /g	28,92±4,26	42,20±4,92 ^a	33,78±5,53	33,35±3,21 ^d
Eritrosit nmol /ml	1,92±0,24	3,85±1,68 ^a	2,23±0,39	1,75±0,13 ^d
Kalp nmol /g	41,34±2,63	48,78±2,94 ^a	43,71±1,95	43,28±2,82 ^d
Karaciğer nmol/g	13,70±2,93	21,37±3,32 ^a	15,86±1,06	16,40±2,82 ^d

a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Şekil 4.7. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.4' te belirtildiği üzere, kontrol grubu, alkol grubu, üçek + su grubu ile üçek + alkol gruplarındaki beyin dokusunun Malondialdehit (MDA) (nmol/g) değerleri sırasıyla; 27.20 ± 1.53 , 34.21 ± 3.07 , 29.68 ± 2.53 ve 28.28 ± 3.26 , böbrek dokusunda (nmol/g) değerleri sırasıyla; 15.00 ± 3.13 , 25.25 ± 5.41 , 17.38 ± 2.36 ve 16.83 ± 3.45 , dalak dokusunda (nmol/g) değerleri sırasıyla; 28.92 ± 4.26 , 42.20 ± 4.92 , 33.78 ± 5.53 ve 33.35 ± 3.21 , eritrosit dokusunda (nmol/ml) değerleri sırasıyla; 1.92 ± 0.24 , 3.85 ± 1.68 , 2.23 ± 0.39 ve 1.75 ± 0.13 , kalp dokusunda (nmol/g) değerleri sırasıyla; 41.34 ± 2.63 , 48.78 ± 2.94 , 43.71 ± 1.95 ve 43.28 ± 2.82 , karaciğer dokusunda (nmol/g) değerleri sırasıyla; 13.70 ± 2.93 , 21.37 ± 3.32 , 15.86 ± 1.06 ve 16.40 ± 2.82 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin dokusunda MDA değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p < 0.05$) saptanırken, üçek + alkol grubunda ise alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p < 0.05$) tespit edildi.

Dalak MDA değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p < 0.05$) saptanırken, üçek + alkol grubunda ise alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p < 0.05$) saptandı.

Eritrosit MDA değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p < 0.05$) tespit edilirken, üçek + alkol grubu alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p < 0.05$) saptandı.

Kalp MDA değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p < 0.05$) saptanırken, üçek + alkol grubu alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p < 0.05$) saptandı.

Karaciğer MDA değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p < 0.05$) saptanırken, üçek + alkol grubu alkol grubuna göre ise istatistiksel açıdan önemli azalma ($p < 0.05$) saptandı.

Çizelge 4.5. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeyleri

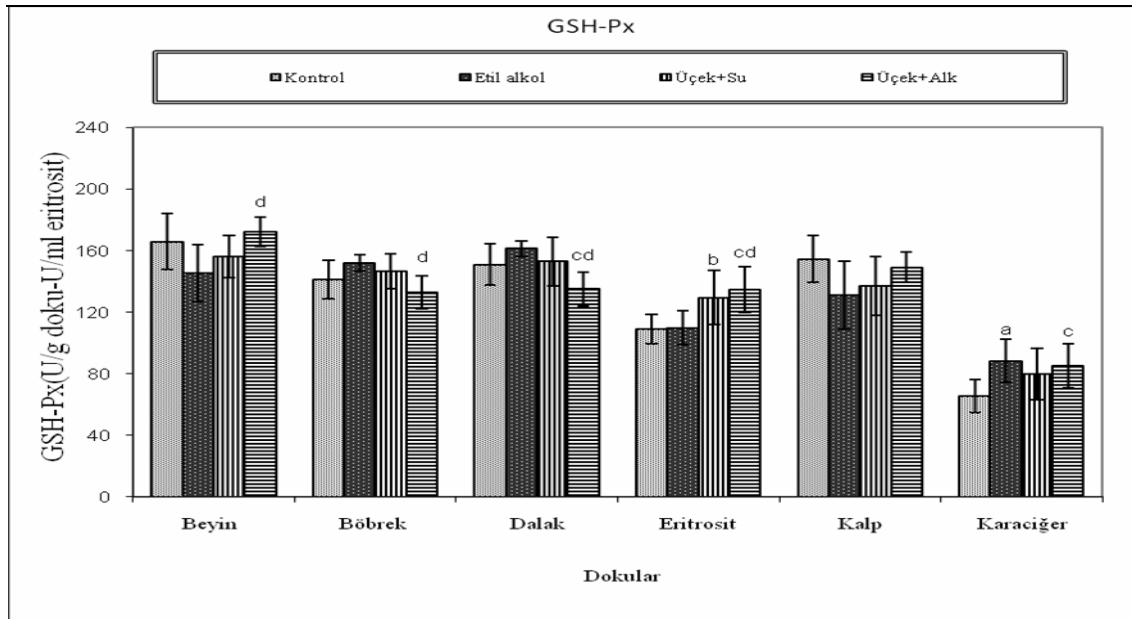
DOKU	GSH-Px			
	KONTROL	ALKOL	ÜÇEK+SU	ÜÇEK+ALKOL
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
Beyin U/g	166,01±18,39	145,63±18,51	156,25±13,78	172,14±9,38 ^d
Böbrek U/g	141,41±12,47	152,03±5,28	146,57±11,34	132,92±10,90 ^d
Dalak U/g	151,02±13,33	161,34±5,16	152,92±16,06	135,09±10,96 ^{c,d}
Eritrosit U/ml	109,03±9,77	109,93±11,09	129,44±17,53 ^b	134,45±14,93 ^{c,d}
Kalp U/g	154,49±15,28	130,90±22,04	137,00±19,05	149,30±9,77
Karaciğer U/g	65,48±10,53	88,24±14,00 ^a	79,83±16,75	85,44±14,36 ^c

a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).



a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Şekil 4.8. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.5'te belirtildiği üzere, kontrol grubu, alkol grubu, üçek + su grubu ile üçek + alkol gruplarındaki beyin dokusunun glutatyon peroksidaz GSH-Px (U/g) değerleri sırasıyla; 166.01±18.39, 145.63±18.51, 156.25±13.78 ve 172.14±9.38, böbrek dokusunda (U/g)

değerleri sırasıyla; 141.41±12.47, 152.03±5.28, 146.57±11.34 ve 132.92±10.90, dalak dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 151.02±13.33, 161.34±5.16, 152.92±16.06 ve 135.09±10.96, eritrosit dokusunda (U/ml) değerleri sırasıyla; 109.03±9.77, 109.93±11.09, 129.44±17.53 ve 134.45±14.93, kalp dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 154.49±15.28, 130.90±22.04, 137.00±19.05 ve 149.30±9.77, karaciğer dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 65.48±10.53, 88.24±14.00, 79.83±16.75 ve 85.44±14.36 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GSH-Px değerleri üçek + alkol grubu alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) görüldü.

Böbrek GSH-Px değerleri üçek + alkol grubu alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) saptandı.

Dalak GSH-Px değerleri üçek + alkol grubu kontrol ve alkol gruplarına göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) saptandı.

Eritrosit GSH-Px değerleri üçek + su grubu ile üçek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptanırken, üçek + alkol grubunda da alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptandı.

Karaciğer GSH-Px değerleri alkol grubu ile üçek + alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptandı.

Diğer muamele grupların GSH-Px değerlerinin çaprazlanmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

Çizelge 4.6. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeyleri

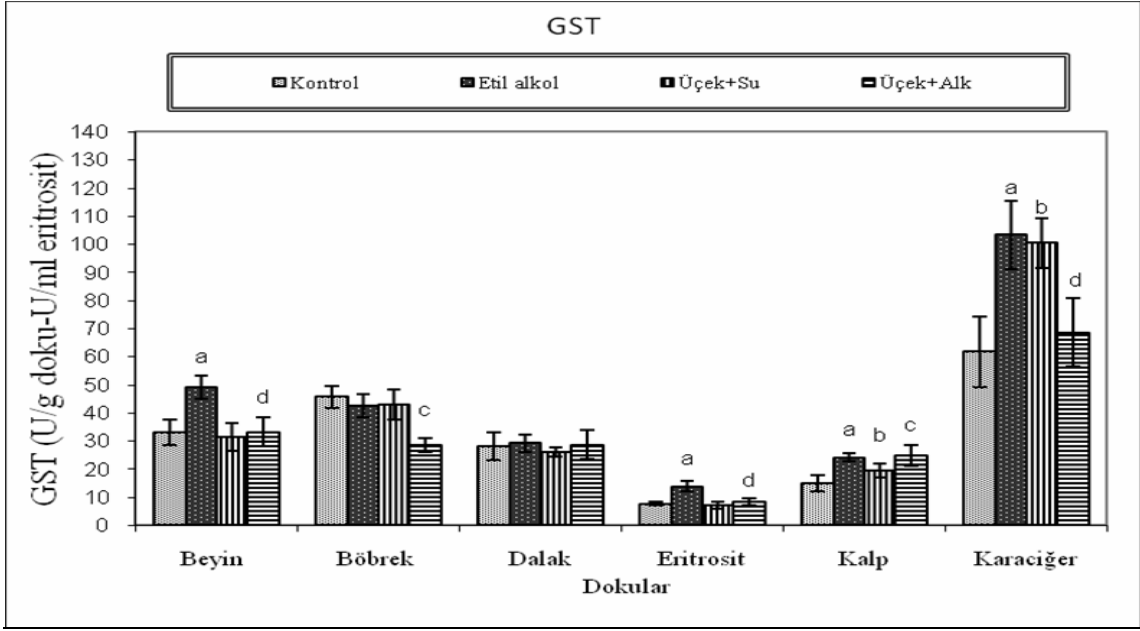
DOKU	GST			
	KONTROL	ALKOL	ÜÇEK+SU	ÜÇEK+ALKOL
	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
Beyin U/g	33,12±4,56	49,07±3,95 ^a	31,29±5,03	33,14±5,24 ^d
Böbrek U/g	45,70±3,85	42,53±4,1	42,90±5,30	28,43±2,52 ^c
Dalak U/g	28,15±4,92	29,14±3,01	26,02±1,81	28,62±5,17
Eritrosit U/ml	7,65±0,70	13,77±1,76 ^a	7,11±1,24	8,37±1,29 ^d
Kalp U/g	14,91±2,69	24,17±1,53 ^a	19,33±2,46 ^b	24,77±3,55 ^c
Karaciğer U/g	61,78±12,59	103,30±12,03 ^a	100,35±8,98 ^b	68,64±12,02 ^d

a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.9. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki GST düzeylerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.6' da belirtildiği üzere, kontrol grubu, alkol grubu, üçek + su grubu ile üçek + alkol gruplarındaki beyin dokusunun glutatyon-S-transferaz GST (U/g) değerleri sırasıyla; 33.12 ± 4.56 , 49.07 ± 3.95 , 31.29 ± 5.03 ve 33.14 ± 5.24 , böbrek dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 45.70 ± 3.85 , 42.53 ± 4.1 , 42.90 ± 5.30 ve 28.43 ± 2.52 , dalak dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 28.15 ± 4.92 , 29.14 ± 3.01 , 26.02 ± 1.81 ve 28.62 ± 5.17 , eritrosit dokusunda (U/ml) değerleri sırasıyla; 7.65 ± 0.70 , 13.77 ± 1.76 , 7.11 ± 1.24 ve 8.37 ± 1.29 , kalp dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 14.91 ± 2.69 , 24.17 ± 1.53 , 19.33 ± 2.46 ve 24.77 ± 3.55 , karaciğer dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 61.78 ± 12.59 , 103.30 ± 12.03 , 100.35 ± 8.98 ve 68.64 ± 12.02 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin GST değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptanırken, üçek + alkol grubunda ise alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) saptandı.

Böbrek GST değerleri alkol grubu ile üçek + alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) saptandı.

Eritrosit GST değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptanırken, çek + alkol grubunda ise alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) saptandı.

Kalp GST değerleri alkol grubu, çek + su grubu ve çek + alkol grupları kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptandı.

Karaciğer GST değerleri alkol grubu ile çek + su grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0.05$) saptanırken, çek + alkol grubunda ise alkol grubuna istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0.05$) saptandı.

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

Çizelge 4.7. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeyleri

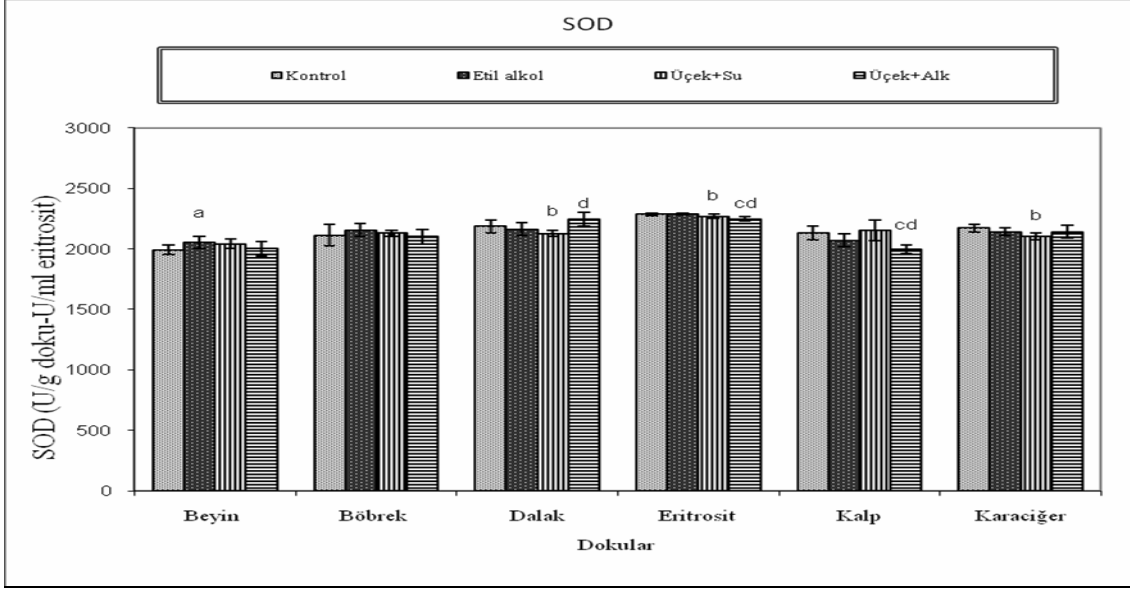
DOKU	SOD			
	KONTROL	ALKOL	EK+SU	EK+ALKOL
	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD
Beyin U/g	1992,64 $\pm$ 40,74	2053,47 $\pm$ 48,25 ^a	2041,65 $\pm$ 38,70	2002,12 $\pm$ 62,11
Böbrek U/g	2114,69 $\pm$ 86,03	2156,97 $\pm$ 51,81	2130,72 $\pm$ 24,78	2101,02 $\pm$ 63,18
Dalak U/g	2189,40 $\pm$ 53,21	2163,18 $\pm$ 52,29	2126,28 $\pm$ 25,34 ^b	2248,48 $\pm$ 58,32 ^d
Eritrosit U/ml	2288,44 $\pm$ 10,34	2291,76 $\pm$ 7,36	2269,92 $\pm$ 16,60 ^b	2249,13 $\pm$ 16,18 ^{c,d}
Kalp U/g	2133,21 $\pm$ 54,69	2070,97 $\pm$ 52,95	2153,76 $\pm$ 83,07	1995,79 $\pm$ 36,08 ^{c,d}
Karaciğer U/g	2172,74 $\pm$ 32,26	2141,32 $\pm$ 31,48	2105,83 $\pm$ 27,17 ^b	2142,05 $\pm$ 53,17

a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile ek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile ek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile ek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



a: Kontrol grubu ile Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

b: Kontrol grubu ile Üçek + Su grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

c: Kontrol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

d: Alkol grubu ile Üçek + Alkol grubu arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 4.10. Etil alkol ve üzüm çekirdeği uygulanan sıçanların çeşitli dokularındaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması

Çizelge 4.7' de belirtildiği üzere, kontrol grubu, alkol grubu, üçek + su grubu ile üçek + alkol gruplarındaki beyin dokusunun süperoksit dismutaz SOD (U/g) değerleri sırasıyla; 1992.64 ± 40.74 , 2053.47 ± 48.25 , 2041.65 ± 38.70 ve 2002.12 ± 62.11 , böbrek dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 2114.69 ± 86.03 , 2156.97 ± 51.81 , 2130.72 ± 24.78 ve 2101.02 ± 63.18 , dalak dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 2189.40 ± 53.21 , 2163.18 ± 52.29 , 2126.28 ± 25.34 ve 2248.48 ± 58.32 , eritrosit dokusunda (U/ml) değerleri sırasıyla; 2288.44 ± 10.34 , 2291.76 ± 7.36 , 2269.92 ± 16.60 ve 2249.13 ± 16.18 , kalp dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 2133.21 ± 54.69 , 2070.97 ± 52.95 , 2153.76 ± 83.07 ve 1995.79 ± 36.08 , karaciğer dokusunda (U/g) değerleri sırasıyla; 2172.74 ± 32.26 , 2141.32 ± 31.48 , 2105.83 ± 27.17 ve 2142.05 ± 53.17 olarak bulundu.

Bu sonuçlara göre; beyin SOD değerleri alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandı.

Dalak SOD değerleri üçek + su grubu kontrol grubuna istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptanırken, üçek + alkol grubunda ise alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma ($p<0,05$) saptandı.

Eritrosit SOD değerleri üçek + su grubu ile üçek + alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptanırken, üçek + alkol grubunda da alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Kalp SOD değerleri üçek + alkol grubu kontrol grubu ve alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Karaciğer SOD değerleri üçek + su grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma ($p<0,05$) saptandı.

Diğer muamele grupların SOD değerlerinin çaprazlanmasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Zararlı kimyasal maddelerin çevre kirliliği, endüstri atıkları, güneş ışınları, egzoz gazları, ağır metaller, sigara, alkol, ozon ve çeşitli zararlıların salınmasıyla serbest radikallerin meydana gelmesi arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Bu faktörlerin etkisi sonucu canlılarda serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Bu durumda antioksidan savunma sistemi çoğu zaman yetersiz kalabilmekte ve çeşitli hastalıkların meydana gelmesi kaçınılmaz bir durum alabilmektedir. Diyabet, kalp hastalıkları, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, kas, deri, göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal ve lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumunda artma sonucu, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı gözlenmiştir. Yalnız bu hastalıkların patogenezisinde serbest radikallerin hastalığın sebebi mi yoksa bir sonuç olarak mı ortaya çıktıkları kesin olarak bilinmemektedir. Bilinen bilginin hasta dokularda yoğun bir şekilde oksijenin mevcudiyetidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Ikeda ve Long, 1990; Janssen ve ark., 1993). Deneysel çalışmalar da, 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 katalaz aktiviteleri dâhil 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 aktivasyonda artış meydana gelir (Özdem ve Sadan, 1994; Akkus, 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 (Akkus, 1995).

Bu çalışmada etkileri araştırılan etil alkolün ve fonksiyonel gıda olan üzüm (*Vitis vinifera* L.) çekirdeğinin seçiliş sebebi kısaca şöyle açıklanabilir. Araştırmanın başında da belirtildiği gibi; Yurdumuzda çokça kullanılan etil alkol ağız, solunum, deriye temas ve gıda zinciri yollarıyla canlı bünyesine girebildikleri ve canlı üzerindeki toksik etkileri literatürlerden anlaşılmaktadır. Burada; etil alkolün 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 Mardin ilimizin önemli tarım ürünlerinden olan Mazrona üzüm çeşidi çekirdeğinin karaciğer koruyucu etkileri ile antioksidan rolü araştırma gereği duyduk.

Bu çalışmada oksidatif stressi oluşturmak için etil alkolün seçilme sebebi; etil alkolün 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). Ülkemizde çokça tüketilen etil alkolün ve fonksiyonel gıda olan üzüm çekirdeğinin subkronik uygulamalarına maruz bırakılan sıçanların serum ve çeşitli dokularından alınan örneklerde; etil alkolün karaciğer harabiyet ve oksidatif stres etkilerinin göstergesi ve etil alkolün oluşturacağı olumsuz etkilerine karşı üzüm çekirdeğinin karaciğer koruyucu etkisi ve antioksidan rolü olarak değerlendirilebilecek biyobelirteçlerden: serum aspartate aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gamma glutamil transpeptidaz (GGT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim seviyeleri, çeşitli dokularda antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon redüktaz aktiviteleri ve glutatyon düzeyleri ile lipid peroksidasyonu (Malondialdehit) içeriklerine bakılmıştır. Bu parametrelerin seçiliş nedeni ise: etil alkolün moleküler toksisitesini ve bu fonksiyonel gıdaların gıda biyokimyası açısından sıcakkanlı canlılar üzerindeki iyileştirici özelliklerini ortaya koymak açısından önem taşıdığı için seçilmiştir. Çalışmada Rat kullanılması nedeni; fareden sonra araştırmalarda en çok kullanılan omurgalı hayvandır. Ratlar, temel tıp, ilaç, gıda, davranış ve toksisite çalışmalarında kullanılmaktadır (Van Zutphen ve ark., 2003).

Yapılan çalışmada analiz edilen parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındı. Dolayısıyla, kontrol ve tüm deneme gurubundaki 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 olmasından bu yöntemler seçilmiştir. 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; çeşitli dokulardaki muamele gruplarının GSH aktivitesindeki değişiklikler Çizelge 4.2’de; GR aktivite değişiklikleri Çizelge 4.3’te; MDA aktivite değişiklikleri Çizelge 4.4’te; GSH-PX aktivite değişiklikleri Çizelge 4.5’te; GST seviyesi değişiklikleri Çizelge 4.6’da ve SOD içerik sonuçları Çizelge 4.7’de görüleceği gibi etil alkolün, üzüm çekirdeğinin muameleleri sonrası; serum enzim seviyeleri ile beyin, böbrek,

dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokusunun GSH düzeylerinde, MDA içerikleri ile GST, GR, SOD, GSH-Px gibi önemli antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişimler ortaya çıkmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; Serum enzimlerinden AST düzeylerinin çizelge 4.1’de incelenmesinde etil alkol grubu AST seviyesinin kontrol grubuna göre artması istatistiki olarak önemli bulunurken, üzüm çekirdeği + alkol grubu ise alkol grubuna göre istatistiki açıdan önemli azalma tespit edildi. Diğer AST muamele grupların kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı. ALT enzim seviyesinde ise, etil alkol grubu ve üzüm çekirdeği + alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma saptanırken, diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı. Serum enzimlerinden GGT enzim seviyesinde, etil alkol grubu ve üzüm çekirdeği + alkol grubu kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli artma saptanırken, diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı. LDH enzim değerinde ise; etil alkol grubu kontrol grubuna göre artma önemli bulunurken, üzüm çekirdeği + alkol grubu kontrol grubu ve etil alkol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli azalma saptandı. Diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise istatistiksel açıdan önemli bulunmadı. Serum enzimlerinden AST, ALT, GGT ve LDH düzeylerindeki etil alkol grubunun kontrol grubuna göre istatistikî açıdan önemli düzeylerde arttığı, ancak bu artışın üzüm çekirdeği yem katkılı gruplarında daha az olduğu görülmektedir. Çalışmamızda bu enzimlerin seviyelerindeki artış etil alkolün toksik etkileri sonucu karaciğerin metabolizma ve detoksifikasyon faaliyetlerinde meydana gelen değişmelerin bir sonucu olabilir. Keza, 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 ve ark., 1987). 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 (Yağı, 1994; Niki ve ark., 1987). Bu değerlendirmeden farklı olarak bazı yazarlara (Mehmetoğlu, 2002) göre, serum AST ve ALT aktivitesindeki azalma karaciğer hasarı ve normal karaciğer fonksiyonunun bozulmasını göstermektedir.

Üzüm çekirdeğinin beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokularındaki redükte glutatyon (GSH) enzim aktivite sonuçları çizelge 4.2’de sunuldu. Çizelgede

görülebileceği gibi üzüm çekirdeğinin etil alkole karşı antioksidan özelliğinin çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda etil alkol grubu ile üzüm çekirdeği + alkol gruplarının GSH seviyesi kontrol grubuna göre istatistikî olarak önemli artış göstermiştir. Diğer yandan, üzüm çekirdeği + alkol grubu etil alkol grubuna göre azalış istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise önemli değişiklik görülmedi.

Böbrek dokusunda etil alkol grubu ile üzüm çekirdeği + alkol gruplarının GSH seviyesi kontrol grubuna göre istatistikî olarak önemli artış göstermiştir. Diğer yandan, üzüm çekirdeği + alkol grubu etil alkol grubuna göre azalış istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise önemli değişiklik görülmedi.

Dalak dokusunda etil alkol grubu GSH seviyesi kontrol grubuna göre, üzüm çekirdeği + alkol grubu ise GSH seviyesi etil alkol grubuna göre azalış istatistiksel açıdan önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise önemli değişiklik görülmedi.

Eritrosit dokusunda üzüm çekirdeği + alkol grubu GSH seviyesi kontrol grubuna göre azalış istatistiksel açıdan önemli bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanmasında ise önemli değişiklik görülmedi.

Karaciğer dokusunda etil alkol grubu, üzüm çekirdeği + su grubu ile üzüm çekirdeği + alkol gruplarının GSH seviyeleri kontrol grubuna göre artma istatistiksel açıdan önemli bulundu. Üzüm çekirdeği + alkol grubunda da GSH seviyesi etil alkol grubuna göre artma istatistiksel açıdan önemli bulundu.

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. Glutatyon, 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 glutatyon düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda lipid peroksidasyon ürünlerinde artış, glutatyon 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 (Avellini ve ark., 1993; Kurata ve ark.; 1993). Antioksidatif koruma fonksiyonundan dolayı GSH'nun tüketildiğini göstermiştir. 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, 1995). Glutasyon, hücrelerin serbest radikallerden ileri gelen oksidatif hasardan korunması yanı sıra yabancı toksik bileşiklerin ortadan kaldırılmasında görev alan reaksiyonlarda da yer almaktadır (Akkus, 1995). Bununla birlikte, GSH'nun GSSG'na oksidasyonu ve adaptasyon mekanizmasının kaybedilmesinden dolayı ciddi bir oksidatif stres GSH düzeyini baskılayabilir.

Üzüm çekirdeğinin beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokularındaki glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivite sonuçları çizelge 4.3'te sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi üzüm çekirdeğinin etil alkole karşı antioksidan özelliğinin çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda etil alkol grubun GR seviyesinin kontrol grubuna göre azalması istatistikî olarak anlamlı bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanması anlamlı bulunmadı.

Dalak dokusunda üzüm çekirdeği + su grubu ile üzüm çekirdeği + alkol grupları GR seviyelerinin kontrol grubuna göre artma anlamlı bulunurken, aynı zamanda üzüm çekirdeği + alkol grubu GR seviyesinin etil alkol grubuna göre de artma anlamlı bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması anlamlı bulunmadı.

Eritrosit dokusunda üzüm çekirdeği + su grubu GR seviyesinin kontrol grubuna göre azalması anlamlı bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanması anlamlı bulunmadı.

Kalp dokusunda üzüm çekirdeği + su grubu ile üzüm çekirdeği + alkol grupları GR seviyelerinin kontrol grubuna göre artma anlamlı bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanması anlamlı bulunmadı.

İnsan eritrositlerinde önemli miktarda katalaz bulunmasına rağmen, hidrojen peroksitin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutasyon 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'ın önemini ortaya çıkarmaktadır (Beutler, 1986). GR aktivitelerindeki indüklemeye oksidatif streslerin potansiyel biyokimyasal indikatörüdür. GSH'un azalan seviyesini doldurmadaki randımanlı çalışmasıyla bir antioksidan olan GR'ın 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.

Üzüm çekirdeğinin beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokularındaki lipid peroksidasyon (Malondialdehit-MDA) sonuçları çizelge 4.4'te sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi üzüm çekirdeğinin etil alkole karşı lipid peroksidasyon özelliğinin çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Böbrek dokusunda etil alkol grubu ile üzüm çekirdeği + su grupların MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre artma anlamlı bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanması anlamlı bulunmadı.

Dalak dokusunda etil alkol grubu MDA seviyesi kontrol grubuna göre artma anlamlı bulunurken, üzüm çekirdeği + alkol grubu MDA seviyesi etil alkol grubuna göre azalma saptandı. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise anlamlı bulunmadı.

Eritrosit dokusunda etil alkol grubu MDA seviyesi kontrol grubuna göre artma anlamlı bulunurken, üzüm çekirdeği + alkol grubu MDA seviyesi etil alkol grubuna göre azalma saptandı. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise anlamlı bulunmadı.

Kalp dokusunda etil alkol grubu, üzüm çekirdeği + su grubu ile üzüm çekirdeği + alkol grubu MDA seviyeleri kontrol grubuna göre artma önemli bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanması ise anlamlı bulunmadı.

Karaciğer dokusunda etil alkol grubu MDA seviyesi kontrol grubuna göre artma anlamlı bulunurken, üzüm çekirdeği + alkol grubu MDA seviyesi etil alkol grubuna göre azalma saptandı. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise anlamlı bulunmadı.

Çeşitli faktörlerin etkisi (radyasyon, ilaç toksikasyonları, kimyasal maddeler) veya çeşitli hastalıkların oluşumu ile birlikte serbest radikal üretiminde artış ve buna bağlı olarak hücresel bileşiklerde çeşitli hasarlar oluşmaktadır (Halliwell, ve Gutteridge, 1990; Janssen ve ark., 1993; Stevens, 1993; Moslen, 1994). 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, 1984; Sushil, 1984). 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. Glutatyon, 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.

Üzüm çekirdeğinin beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokularındaki glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivite sonuçları çizelge 4.5'te sunuldu. Çizelgede görüleceği gibi üzüm çekirdeğinin etil alkole karşı antioksidan özelliğinin çeşitli dokularda farklı etkileri ortaya çıkardığı görüldü.

Beyin dokusunda üzüm çekirdeği + alkol grubu GSH-Px seviyesi etil alkol grubuna göre artma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise anlamlı bulunmadı.

Böbrek dokusunda üzüm çekirdeği + alkol grubu GSH-Px seviyesi etil alkol grubuna göre azalma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise anlamlı bulunmadı.

Dalak dokusunda üzüm çekirdeği + alkol grubu GSH-Px seviyesi kontrol grubu ve etil alkol grubuna göre azalma önemli bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

Eritrosit dokusunda üzüm çekirdeği + su grubu GSH-Px seviyesi kontrol grubuna göre, üzüm çekirdeği + alkol grubu GSH-Px seviyesi ise hem kontrol grubuna göre hem de etil alkol grubuna göre azalma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

Karaciğer dokusunda etil alkol grubu ile üzüm çekirdeği + alkol grubu GSH-Px seviyesi kontrol grubuna göre artma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

GSH-Px hidrojen peroksidi glutasyon varlığında suya katalizler (Deneke ve ark., 1985). Bu arada redükte glutasyon ise okside forma geçer. GSH-Px enzimi etki için redükte glutasyona gereksinim duyar. Okside glutasyonun (GSSG), redükte glutasyona (GSH) dönüşümünü glutasyon redüktaz 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; Akkus, 1995).

Üzüm çekirdeğinin beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokularındaki glutasyon-S-transferaz (GST) enzim aktivite sonuçları çizelge 4.6'da sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi üzüm çekirdeğinin etil alkole karşı çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda etil alkol grubu GST seviyesi kontrol grubuna göre artma önemli bulunurken öte yandan üzüm çekirdeği + alkol grubu GST seviyesi etil alkol grubuna göre azalma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

Böbrek dokusunda üzüm çekirdeği + alkol grubu GST seviyesi kontrol grubuna göre azalma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

Eritrosit dokusunda etil alkol grubu GST seviyesi kontrol grubuna göre artma önemli bulunurken öte yandan üzüm çekirdeği + alkol grubu GST seviyesi etil alkol grubuna göre azalma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

Kalp dokusunda etil alkol grubu, üzüm çekirdeği + su grubu ile üzüm çekirdeği + alkol grubu GST seviyesi kontrol grubuna göre artma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

Karaciğer dokusunda etil alkol grubu ile üzüm çekirdeği + su grubu GST seviyesi kontrol grubuna göre artma önemli bulundu. Diğer yandan üzüm çekirdeği + alkol grubu GST seviyesi etil alkol grubuna göre azalma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması önemli bulunmadı.

GST detoksifikasyon yapan, hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolü olan bir enzimdir. Katalitik olarak yabancı maddeleri glutatyondaki (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 (Akkus, 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.

Üzüm çekirdeğinin beyin, böbrek, dalak, eritrosit, kalp ve karaciğer dokularındaki süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite sonuçları çizelge 4.7’de sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi üzüm çekirdeğinin etil alkole karşı antioksidan özelliğinin çeşitli dokularda farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Beyin dokusunda etil alkol grubun SOD değerlerinin kontrol grubuna göre artması önemli bulunurken, diğer muamele grupların kıyaslanması ise önemli bulunmadı.

Dalak dokusunda üzüm çekirdeği + su grubun SOD değerlerinin kontrol grubuna göre azalması önemli bulundu. Diğer yandan üzüm çekirdeği + alkol grubu SOD değerlerinin etil alkol grubuna göre artma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise önemli bulunmadı.

Eritrosit dokusunda üzüm çekirdeği + su grubu ile üzüm çekirdeği + alkol grubun SOD değerlerinin kontrol grubuna göre azalma önemli bulundu. Üzüm çekirdeği + alkol grubun SOD seviyesinin etil alkol grubuna göre de azalma önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise önemli bulunmadı.

Kalp dokusunda üzüm çekirdeği + alkol grubun SOD seviyesinin hem kontrol grubuna göre hem de etil alkol grubuna göre azalması önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise önemli bulunmadı.

Karaciğer dokusunda üzüm çekirdeği + su grubun SOD seviyesinin kontrol grubuna göre azalması önemli bulundu. Diğer muamele grupların kıyaslanması ise önemli 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 sipesifik aktivitesi down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematurelerin ve yaşlıların eritrositlerinde düşük bulunmuştur. SOD'un ekstraselüler aktivitesinin düşük olduğu belirtilmiştir (Akkus, 1995). Süperoksit radikallerinin artışına bağlı olarak SOD enziminin aktivitesi artmış olabilir. 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. Karaciğer dokusunda SOD aktivitesindeki artış ise süperoksit radikalının aşırı üretiminden dolayı bu enzimin sentezini tetiklemiş olabilir.

Sonuç olarak; Bu biyokimyasal verilerin doğrultusunda etil alkolün rat karaciğerlerinde meydana getirmiş olduğu tahribata bağlı olarak karaciğer harabiyet göstergesi olan serum enzimlerinin seviyelerinin artışına neden olmuştur. Yine etil alkolün sebep olduğu oksidatif stres sonucu serbest radikal üretiminin göstergesi olarak lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit tüm dokularda artarken, birçok dokuda antioksidan savunma sistemi biyobelirteçlerinde dalgalanmalara sebep olmuştur. Diğer yandan, üzüm çekirdeğinin karaciğer harabiyet göstergesi olan serum enzimlerini kontrollere yakın değere çekerken, bu etkinin çekirdek içerikli yemlerle beslenenlerde görülmemiştir. Yine, etil alkolün neden olduğu oksidatif stres sonucu olarak tüm dokularda artan malondialdehit üzüm çekirdeği kontrol değerlerine çektiği ve yine çeşitli dokularda

dalgalandan antioksidan savunma sistemi biyobelirteçlerinde de etil alkol grubuna göre iyileştirme sağladığı tespit edilmiştir. Üzüm çekirdeğinin bu etkileri kesin söylenememekle birlikte içerdiği polifenollerin kombine ismi olan prosiyanidin veya proantosiyanidin gibi etken maddelerin karaciğer koruyucu ve antioksidan rolü sayesinde böyle etkiler göstermiş olabileceği sonucuna varıldı. Çünkü Zhao ve ark. (1999), üzüm, özellikle çekirdeği poliyfenoller bakımından oldukça zengin bir bitki olduğu ve kansere karşı iyileştirici özelliğini, Maffei Facino ve ark. (1996), üzüm çekirdeğinde bulunan prosiyanidinlerin yangı, artrit ve allerji oluşumunu engelleme gibi birçok etkisinin yanında, kalp hastalıkları ve deri yaşlanmasına karşı etkili olduğu rapor etmişlerdir. Bagchi ve ark. (1997); Bagchi ve ark., (1998), ayrıca üzüm çekirdeği polifenollerinin vitamin C ve E'den çok daha güçlü serbest oksijen radikal temizleyicisi olduğu bildirmiş olmaları bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

Diğer yandan, alkol ve üzüm çekirdeğini içeren yemlerle beslenen sıçanların dokularında antioksidan savunma sistemleri ve lipid peroksidasyon seviyelerinde görülen farklı düzeyde etkiler olmasının nedeni ise; dokuların hücrel fizyolojik adaptasyonun dokulara göre farklı nitelikte olmasından kaynaklanabilir. Etkileri incelenen üzüm çekirdeği ile ilgili çalışmalara, bu uygulama tarzında daha önce literatür taramalarında rastlanmadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Bu çalışmada, farklı dokular üzerinde farklı etkiler gösteren üzüm çekirdeği deney hayvanları üzerinde yapılacak *in vivo* denemelere ışık tutacağı kanaatindeyiz. Diğer yandan ülkemizde bolca kullanılan diğer üzüm ve çekirdeği çeşitleri de *in vivo* çalışma kapsamına alınarak canlılar üzerindeki etkileri ortaya çıkarılmalıdır.

KAYNAKÇA

- Adam, B., Ardıçoğlu, Y., 2002. **Klinik Biyokimya Analiz Metodları** (Editör: Adam, B.) Ankara. 207s.
- Agarwal, R., Katiyar, S.K., Zaidi, A., Mukhtar, H., 1992. Inhibition of skin tumor promoter-caused induction of epidermal ornithine decarboxylase in SENCAR mice by polyphenolic fraction isolated from green tea and its individual epicatechin derivatives. **Cancer Res.**, **52**: 3582–3588.
- Agrawal, D., Sultana, P., Gupta, G.S.D., 1991. Oxidative damage and changes in glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclo hexane. **Food and Chemical Toxicology**, **29**: 459-62.
- Akkuş, İ., 1995. **Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri**. Mimoza Yayınları, Konya.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen, T.M., 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. **1**;90(17):7915-22.
- Andreoli, S. P., Mallett, C. P., 1997. Disassociation of oxidant-induced ATP depletion and DNA damage from early cytotoxicity in LLC-PK1 cells. American **Journal of Physiology. Cell Physiology**, **272**(6 Pt 2): F729–F735.
- Anonim, 1998. Tarım İstatistikleri Özeti. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No: 2275, Ankara
- 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.
- 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 etanol consumption in rats. **Amino acids**, **15** (1-2): 53-76
- Aslan, R., Şekeroğlu, R., Bayıroğlu, F., 1995. Serbest radikal türlerinin membran lipit 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.
- 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.

- Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R.L., Bagchi, M., Bagchi, D.J., Balmoori, J., Stohs, S.J., 1998. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation and peritoneal macrophage activation in mice. **Gen. Pharmacol.**, **30**: 771–776.
- Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R.L., Bagchi, M., Tran, M.X., Stohs, S.J., 1997. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamin C and E and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, **95**: 179–189.
- Ball, C.R., 1966. Estimation and identification of thiols in rat spleen after cysteine or glutathione treatment, relevance to protection against nitrogen mustards. **Biochem. Pharmacol.**, **15**:809-816.
- Baraona, E., Dikkarainen, P., Salaspuro, M., 1980. The role of gamma - glutamyl transpeptidase in alcoholism. **Neurobehav. toxicol. teratol.**, **7** (2): 171-5
- Bayramoğlu, M., 2008. *Artemisia taurica willd. ve Salvia kronenburgii Rech. Fil. Bitkilerinin uçucu yağlarının antioksidan özellikleri ve ksantin oksidaz enzimine etkileri*. YYÜ, yüksek lisans tezi-Van
- Bendich, A., 1990. **Antioxidant Nutrients and Immune Functions**, Plenum Press, New York
- 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. **Toxicology letters**, **107**: 33-47.
- Beutler, E., 1984. **Red Cell Metabolism**: A manual of Biochemical methods, Thirteenth edition. Grune and Stratton, 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.
- Bilaloğlu, G.V., Harmandar, M., 1999. Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd.Şti. p.336-343, İstanbul
- Blasiak, J., Walter Z., Bawronska, M., 1991. The changes of osmotic fragility of pig erythrocytes induced by organophosphorus insecticides. **Acta Biochim. Pol.** **38** (1): 75-80.
- Bombardelli, E., Morazzoni, P., 1995. *Vitis vinifera* L, **Fitoterapia**, 291–317.
- Boros, I., Rakonczoy, J.R., Jbrmay, K., Hegyi, P., Lonovics, J., Takacs, T., 2003. Ethanol administration generates oxidative stress in the pancreas and liver. **Journal of gastroenterology and hepatology**, **18** (7): 858-67.

- Bouhamidi, R., Prevost, V., Nouvelot, A., 1998. High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. *C.R. Acad. Sci. III*, **321**: 31–38.
- Bowler, R.P., Crapo, J.D., 2002. Oxidative Stres in Allergic Respiratory Diseases. *J. Allergy Clin Dimmunol.*, **110**(3):349-356.
- Butterfield, D. A., Howard, B., Yatin, S., Koppal, T., Drake, J., Hensley, K., et al. 1999.Elevated oxidative stress in models of normal brain aging and Alzheimer'sdisease. *Life Sciences*, **65**(18–19): 1883–1892.
- 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). *Alcoholism, clinical and experimental research*, **23** (10): 1660-7.
- Carlberg, I., Mannervik, B., 1985. Glutathione reductase. *Methods Enzymology*, **113**: 484-490.
- Chen, S. Y., Sulik, K. K., 1996. Free radicals and ethanol-induced cytotoxicity in neural crest cells. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, **20**(6): 1071–1076.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993. An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **49**: 481–493.
- 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.
- Corbe, C., Boissin, J.P., Siou, A., 1998. Light vision and chorioretinal circulation. Study of the effect of procyanidolic oligomers. *J. Fr. Ophthalmol*, **11**: 453–460.
- Çelik, S., 1998. Bağcılık (Ampeloloji), Trakya Univ. Ziraat Fak. Bahçe Bit. Böl., Cilt-1, Tekirdağ.
- Çetin, A., Kaynar, L., Koçyiğit, İ., Hacıoğlu, S.K., Saraymen, R.,Öztürk, A., Orhan, O., Sağdıç, O., 2008. The effect of grape seed extract on radiation-induced oxidative stress in the rat liver. *Turk J Gastroenterol*, **19** (2): 92-98.
- Deneke, S.M., Lynch, B.A., Fanburg, B.L., 1985. Transient depletion of lung glutathione by diethylmaleate enhances oxygen toxicity. *Journal of Applied Physiological Society*, **58**(2): 571-574.
- Diamond, I., Messing, R. O., 1994. Neurologic effects of alcoholism. *Western Journal of Medicine*, **161**(3): 279–287.
- Dündar, Y., Aslan, R., 2000. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. 1. Baskı. T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. Uyum Ajans, ISBN: 975 7150 29 0, Ankara.

- Dündar, Y., Aslan, R., 1999. Hücre moleküler statüsünün anlaşılmaması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antiosidanlar. *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi*, 2(2): 134-142.
- Erenel, G., Erbaş, D., Arıcioğlu, A., 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Derg.*, 3: 243-250.
- Eskay, R. L., Chautard, T., Torda, T., Daoud, R. I., Hamelink, C., 1995. Alcohol, corticosteroids, energy utilization, and hippocampal endangerment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 771: 105–114.
- FAO, Production Year Book., 1997. FAO statistics no. 51. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome (p.151).
- Fernandez, V., Videla, L.A., 1981. Effect of acute and chronic ethanol ingestion on the content of reduced glutathione of various tissues of the rat. *Experientia*, 37: 392-394.
- Fhole, L., Günzler, W.A., 1984. Assays of Glutathione Peroxidase. *Methods in Enzymology*, 105: 114-115.
- Frankel, E. N., Waterhouse, A. L., Teissedre, P. L., 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 43: 890–894.
- 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.
- Göktaş, A., 2008. Eğridir Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü. Ziraat Yüksek Mühendisliği Yayın No: 18.
- Habig, W. H., Jakoby, W. B., 1981. Assays for differentiation of glutathione-s-transferase. *Medhods Enzymol.*, 77: 398-405
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *The Lancet*, 23: 1396-1397.
- 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 and in vivo: what they do and how they work. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 35 (1): 7-20.
- Heaton, M. B., Mitchell, J. J., Paiva, M., 2000. Amelioration of ethanol-induced neurotoxicity in the neonatal rat central nervous system by antioxidant therapy. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 24(4): 512–518.

- Hong, W.K., Sporn, M.B., 1997. Recent advances in chemoprevention of cancer. *Science*, **278**: 1073–1077.
- 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.
- 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.
- İkizler, M., Dernek, S., Erkasap, N., Kaygısız, Z., Sevin, B., Kural, T., 1996. The hemodynamic efficacy of resveratrol on reperfusion injury in isolated rat hearts. *Türk göğüs kalp damar cererahi dergisi*, **11**:91-95.
- 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.
- Jialal, I., Fuller, C. J., 1993. *Oxidized LDL and Antioxidants.* *Clin. Cardiol.*, **16**(4):16-19.
- 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 (doktora tezi).* Y Y Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kavas, G.Ö., 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri, *Türkiye Klinikleri*, **9**: 18.
- Keha, E., Küfrevioglu, Ö., 2004. *Biyokimya.* Aktif yayınevi. Erzurum.
- Kenneth, B.B., Bruce, N.A., 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol Reviews*, **78**(2):547-581.
- Kerai, MD., Waterfield, C.J., Kenyon, SH., Aker, D.S., Timbrell, J.A., 1999. Reversal of ethanol – induced hepatic steatosis and lipid peroxidation by taurine. *Alcohol and alcoholism*, **34** (4): 529-41.
- Keser, G., 2005. *Nasturtium officinale R. Br.'de Kursunun Strese Bağlı Enzimlerin Aktivitelerine, Gelismeye, Mineral ve Klorofil İçerigine Etkileri* (doktora tezi, basılmamış).Çukurova Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kılınç, K., 1986. Oxygen radicals: Their production, function and toxic effects. *Biyokimya Dergisi*, **9**(3): 59-76.

- Kolankaya, D., Selmanoglu, 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.
- 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.
- Kurata, M., Suzuki, M., Agar, N.S., 1999. Antioxidant system and erythrocyte life span in mammals. *Comp. Biochem .Physiol. B*. **106**: 477-487
- Laganieri, S., Yu, B.P., 1989. Effect of chronic food restriction in ageing rats II. liver cytosolic antioxidants and related enzymes. *Mech of Age and Develop*, **48**: 221-230.
- Lala, P.K., Chakraborty, C., 2001. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *The Lancet Oncology*, **2**: 149-156.
- Laparra, J., Michaud, J., Masquelier, J., 1979. Action of oligomeric procyanidins on vitamin C deficient guinea pig. *Bulletin de la Societe de Pharmacie de Bordeaux*, **118**: 7-13.
- Lieber, C.S., 1985. Alcohol and the liver, metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. *Acta. Med .Scand*, **11** (1): 703.
- Loliger, J., 1991. The use of antioxidants in foods. In I. O. Auroma & B. Halliwell, free radicals and food additives (pp. 121). London: Taylor & Francis
- Madavi, D. L., & Salunkhe, D. K., 1995. Toxicological aspects of food antioxidants. In D. L. Madavi, S.S. Deshpande, & D. K. Salunkhe, *food antioxidants* (pp. 267). New York: Marcel Dekker inc.
- Maffei Facino, R., Carini, M., Adlini, G., Berti, F., Rossoni, G., Bombardelli, E., Morazzoni, P., 1996. Procyanidines from *Vitis vinifera* seeds protect rabbit heart from ischemia/reperfusion injury: antioxidant intervention and/or iron and copper sequestering ability. *Planta Med.*, **62**: 495-502.
- Marklund, S.L., 1990. Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. *Methods in Enzymology*, **186**: 260-265.
- McCord, J.M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase, An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem*, **244**: 6049-6053.
- 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.
- Mezey, E., 1985. Metabolic effects of alcohol. *Federation Proceedings*, **44** (1): 134-8.

- 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 65-8.
- Mittal, A., Elmets, C.A., Katiyar, S.K., 2003. Dietary feeding of proanthocyanidins from grape seeds prevents photocarcinogenesis in SKH-1 hairless mice: relationship to decreased fat and lipid peroxidation. *Carcinogenesis*, **24**: 1379-88.
- Moreno, D.A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle, D.L., Fried, S.K., Raskin, I., 2003. *Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. Nutrition*, **19**: 876-9.
- Moslen, M.T., 1994. Reactive Oxygen species in normal Physiology, cell injury and phagocytosis. *Free Radicals in Diagnostic Medicine* (Editors: D Armstrong) Plenum Press, New York. 1-15s.
- Murt, C.N., Verney, E., Sidransky, H., 1980. Acute effect of ethanol on membranes of the endoplasmic reticulum and protein synthesis in rat liver. *C – lin. Exp. Res*, **4**: 93.
- Niki, E., 1987. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, **44**: 227-253.
- Nordberg, J., Arner, E.S.J., 2001. Reactive oxygen species, Antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, **31**(11): 1287-1317.
- 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.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, **95**: 351-358.
- Özdem, S., Şadan, G., 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşum ve klinik açıdan önemi, *AÜ, Tıp Fak. Derg.*, **11** (1): 63-71.
- Özel, Y., 2006. Ratlarda karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarında grape seed proanthocyanidin koruyucu etkilerinin incelenmesi. Türkiye cumhuriyeti sağlık bakanlığı Haydarpaşa numune eğitim ve araştırma hastanesi İSTANBUL-2006.
- Paglia, D.E., Valentine, W.N., 1967. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* **70**: 158.
- Pari, L., Suresh, A., 2008. Effect of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf extract on alcohol induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology* **46** : 1627–1634.
- Perl-Treves, R., Perl, A., 2002. *Molecular Oxygen and Its Reactive Derivates. Oxidative Stres in Plants*. Taylor & Francis Inc., London, 1-31.
- Porter, N.A., 1984. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, **105**: 273-283.

- Randox Lab. Ltd., 1996. Ransod süperoxide dismutase enzim kiti, Ransel glutathione peroxidase enzim kiti.
- 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.
- Roediger, W.E.W., 1995. New views on the pathogenesis of kwashiorkor: methionine and other amino acids. *J Pediatr. Gastroent. and Nutr.*, **21**: 130-136.
- Rouach, H., Houze, P., Gentil, M., Orfanelli, M. T., Nordmann, R., 1994. Effects of acute ethanol administration on the uptake of ⁵⁹Fe-labeled transferrin by rat liver and cerebellum. *Biochemical Pharmacology*, **47**(10): 1835–1841.
- Saito, M., Hosoyama, H., Ariga, T., Kataoka, S., Yamaji, N., 1998. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 1460–1464.
- Santos, C.X., Rodrigues, N.L., Martinez, F.E., Novelli, J.L., Santos, C.X., Noveli, E.L., 1997. Toxic effects of alcohol intake on prostate of rats. *The prostate*, **31** (1): 37-41.
- Sato, R., 1978. Clinical and experimental histochemical studies on the activities of liver lysosomal enzymes and gamma-glutamyltranspeptidase. *Hokkaido journal of medical science*, **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. Gastroenteol*, **23** : 1.
- Sen, C.K., 1995. Oxidants and antioxidants in exercise. *J. Appl. Physiol.*, **79** (3): 675-686.
- Simonian, N.A., Coyle, J.T., 1996. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **36**:83-106.
- 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.
- Singh, D.K., Lippman, S.M., 1998. Cancer chemoprevention, Part 1: retinoids and carotenoids and other classic antioxidants. *Oncology*, **12**: 1643–1659.
- Slater, T.F., 1984. 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. *Clinical and experimental immunology*, **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.
- Stahl, W., Sies, H., 2002. Introduction: Reactive oxygen species. *Research monographs*, 7: 12.
- 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.
- 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.
- 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.
- Uzun, İ., 1996. Bağcılık. Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bit. Böl., yayın No: 69, Antalya
- Ürkek, T., 2009. Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Aflatoksikozisde Üzüm (*Vitis vinifera*) Çekirdeği Ekstraktının Karaciğer Lezyonlarını Engelleyici Etkisinin Biyokimyasal Ve Histopatolojik Olarak Araştırılması (yüksek lisans tezi) Y.Y.Ü. Sağlık bilimleri Enstitüsü, Van
- Wagner, H., Fransworth, N.R., 1990. Economic and Medicinal Plant Research, Vol. 4, Plants and Traditional Medicine. Academic press, London, England.
- Waterfield, C.J., Kerai, M.D., Kenyon, S.H., Aker, D.S., Timbrell, J.A., 1999. Reversal of ethanol – induced hepatic steatosis and lipid peroxidation by taurine. *Alcohol and alcoholism*, 34 (4): 529-41.
- Westwood, M.N., 1993. Temperate-Zone Pomology. Physiology ve Kulture. Timber Press inc. Portland, Oregon, 523p.
- Wickens, A.P., 2001. Ageing and free radical theory. *Respiration Physiology*, 128: 379-391.
- 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.

- 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.
- Van Zutphen, L.F.M., Baumans, V., Beynen, A.C., 2003. *Laboratuvar hayvanları biliminin temel ilkeleri*. Medipres yayıncılık, Malatya
- Yagi, K., 1994. Lipid Peroxides in Hepatic, Gastrointestinal, and Pancreatic Disease. *Free Radicals in Diagnostic Medicine* (Editor: Armstrong, D.) Plenum, 165-169s.
- Yamakoshi, J., Saito, M., Kataoka, S., Kikuchi, M., 2002. Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food Chem. Toxicol.*, **40**: 599-607.
- Yanbeyi, S., 1999. *Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ünTavsanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri*. (Doktora tezi). Ondokuz Mayıs Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Yılmaz, F., Çelik, H., 2005. *Grafting success of foxy izabella (Vitis labrusca L.) grape type on some American grape rootstocks*. *BAHÇE* **34** (2): 21 – 29.
- Zafirov, D., Bredy-Dobreva, G., Litchev, V., Papasova, M., 1991. Antiexudative and capillaritonic effects of proanthocyanines isolated from grape seeds (*V. vinifera*). *Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.*, **16**: 50–54.
- Zhao, J., Wang, J., Chen, Y., Agarwal, R., 1999. Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation–promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*, **20**: 1737-1745.
- Zheng, T., Boyle, P., Willett, W.C., Hu, H., Dan, J., Evstifeeva, T.V., Niu, S., MacMahon, B., 1993. A case control study of oral cancer in Beijing, People's Republic of China. Associations with nutrient intakes, foods and food groups. *Eur. J. Cancer B Oral Oncol.*, **29**: 45–55.36.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Mardin'in Midyat ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Mardin'in Dargeçit ilçesinde tamamladı. 2003 yılında Van Kazım Karabekir Lisesi'nden mezun oldu. 2004 yılında Üniversite eğitimine Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde başladı. Bu bölümden 2008 yılında mezun oldu. 2008 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı ve Aralık 2010 da mezun oldu.