

**T.C.
SİİRT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURŞUN ASETATA MARUZ KALAN SIÇAN KARACİĞER DOKUSUNDA
LİKOPEN'İN BAZI ANTIOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rıdvan ESEN

(Enstitü No:163101005)

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi H. Turan AKKOYUN

**Haziran 2019
SİİRT**

TEZ KABUL VE ONAYI

Rıdvan ESEN tarafından hazırlanan “**Kurşun Asetata Maruz Kalan Sıçan Karaciğer Dokusunda Likopen'in Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi**” adlı tez çalışması 14/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Aydın Şükrü BENGÜ



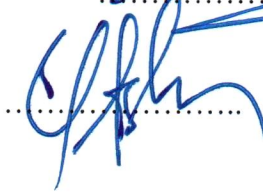
Danışman

Dr. Öğr. Üyesi H.Turan AKKOYUN



Üye

Dr. Öğr. Üyesi Yakup ASLAN



Yukarıdaki sonucu onaylarım.



Doç. Dr. Fevzi HANSU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi H. Turan AKKOYUN'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca biyokimyasal analizlerde yardımcı olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN'a ve deneysel aşamada yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Aydın Şükrü BENGÜ ye teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan ve olacaklarını bildiğim değerli aileme ve dostlarıma sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Rıdvan ESEN

SIIRT-2019

İÇİNDEKİLER	Sayfa
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	9
3. MATERYAL VE METOT.....	11
3.1. Materyaller.....	11
3.2. Metotlar.....	11
3.2.1.Superoksit Dismutaz (SOD)Analizi.....	11
3.2.2.Katalaz enzim aktivite tayini.....	13
3.2.3. Glutasyon Peroksidaz(GSH-Px) Analizi.....	13
3.2.4.Total Glutasyon (GSH) Analizi.....	14
3.2.5.Malondialdehid (MDA) Analizi.....	15
3.2.6.Protein Tayini.....	16
3.3.Kullanılan Kimyasallar.....	17
3.4.Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar.....	18
3.5.İstatiksel Analiz	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	22
5.1.Sonuç.....	22
5.2.Öneriler.....	22
6. KAYNAKLAR.....	23
7.ETİK KURUL.....	27
ÖZGEÇMİŞ.....	28

TABLolar LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Domates ve domates ürünlerinin likopen i erikleri.....	8
Tablo 3.1. Süperoksit dismutaz aktivitesi için kullanılan -reaktif miktarı.....	12
Tablo 3.2. Glutasyon peroksidaz -aktivitesi için kullanılan reaktif miktarı.....	14
Tablo 3.3. Total glutasyon aktivitesi için kullanılan -reaktif miktarı.....	14
Tablo 3.4. Malondialdehid aktivitesi için kullanılan reaktif miktarı.....	15
Tablo 3.5. Malondialdehid aktivitesi için kullanılan pipetleme miktarı.....	16
Tablo 3.6. Protein tayini için kullanılan reaktif miktarı.....	16
Tablo 3.7. Kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların temin edildiği firmalar.....	17
Tablo 3.8. Kullanılan cihaz ve bu cihazların temin edildiği firmalar.....	18



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Antioksidanların hücredeki etkileri.....	4
Şekil 1.2. Likopenin Yapısı.....	6
Şekil 4.1. Karaciğer dokusundaki Süperoksidaz(SOD) düzeyleri.....	19
Şekil 4.2. Karaciğer dokusundaki katalaz(CAT) d düzeyleri.....	20
Şekil 4.3. Karaciğer dokusundaki Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) d düzeyleri.....	20
Şekil 4.4. Karaciğer dokusundaki Glutatyon (GSH) düzeyleri.....	21
Şekil 4.5. Karaciğer dokusundaki Malondialdehid (MDA) düzeyleri.....	21



KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

KAVRAM	KISALTMA
Adenozin trifosfat	ATP
Alfa	A
Asetik asit	CH ₃ COOH
Asetil kolin	ACh
Beta	B
Bikarbonat	HCO ₃ ⁻
Bovine serum albumin	BSA
Çinko sülfat	ZnSO ₄
Dithio 2 nitrobenzoik asit	DTNB
Epsilon	E
Etilen diamintetraasetik, di sodyum tuzu	EDTA
Flavin adenin dinükleotit	FAD
Gama	Γ
Glutasyon	GSH
Glutasyon peroksidaz	GSH-Px
Glutasyon redüktaz	GR
Glutasyon S-transferaz	GST
Hidrojen fosfat	H ₂ PO ₄
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Hidroksil radikali	OH
Hipokloröz asit	HOCl
Kalsiyum	Ca ⁺⁺
Karbon tetra klorür	CCl ₄
Katalaz	CAT
Lipid peroksil radikali	LOO
Malondialdehid	MDA
Merkezi sinir sistemi	MSS
Mililitre	ml / mL
Milimolar	mM
Nitroblue tetrazolium	NBT
Potasyum	K ⁺
Potasyum nitrat	KNO ₃
Reaktif oksijen türleri	ROS
Sigma	Δ
Singlet oksijen	¹ O ₂
Sodyum	Na ⁺
Sodyum dodesil sülfat	SDS
Sodyum hidrojen fosfat dihidrat	NaHPO ₄ ·2H ₂ O
Sodyum karbonat	Na ₂ CO ₃
Sodyum klorür	NaCl
Sodyum nitrat	NaNO ₃
Sodyum nitrit	NaNO ₂
Sülfat	SO ₄ ⁻²
Süperoksit anyonu	O ₂ ⁻
Süperoksit dismutaz	SOD
Tiyobarbiturik asit	TBA

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KURŞUN ASETATA MARUZ KALAN SIÇAN KARACİĞER DOKUSUNDA LİKOPEN'İN BAZI ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİ

Rıdvan ESEN

**Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi H. Turan AKKOYUN
2019, 37 sayfa**

Bu çalışmada, likopen uygulanan sıçanlarda kurşun asetatın meydana getireceği karaciğer doku hasarının engellenmesinde likopenin koruyucu etkileri araştırıldı. Çalışmada ağırlıkları yaklaşık 250-350 gr ağırlığında, 24 adet yetişkin, Wistar albino cinsi erkek ratlar kullanıldı. Çalışmada sıçanlar randomize olacak şekilde üç gruba ayrıldı; Kontrol grubu: İzotonik serum uygulandı (i.p).Kurşun asetat grubu (25 mg/kg) (i.p) kurşun asetat uygulandı. Kurşun Asetat + likopen grubu: (25 mg/kg) (i.p) + likopen (100 mg/kg) oral yol ile uygulama yapıldı. Tüm gruplardaki ratlar 7. günün sonunda sakrifiye edilerek karaciğer dokuları alındı. SOD, CAT, GSH-Px, GSH, MDA düzeyleri değerlendirildi.

SOD enzim aktivitesinin Pb uygulanan grupta kontrole oranla azaldığı ($p<0,001$), likopen uygulanan grupta ise aktivitenin Pb grubu ile kıyaslandığında arttığı ($p<0,05$) tespit edildi. CAT enzim aktivitesinde kontrole oranla Pb ve Pb + likopen uygulanan gruplarda azalma ($p<0,001$) olduğu görüldü. Yine Pb uygulanan grupla karşılaştırıldığında likopen uygulanan grupta artış belirlendi. GPX enzim aktivitesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında Pb ($p<0,001$) ve Pb + likopen ($p<0,05$) uygulanan gruplarda aktivitenin azaldığı görüldü. Pb uygulanan grup ile karşılaştırıldığında likopen uygulanan grupta artış olduğu görüldü ($p<0,001$). Kontrol grubuna oranla Pb uygulaması yapılan grupta GSH değerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$) azalış, Pb uygulaması yapılan gruba oranla likopen + Pb uygulanan grupta artış gözlemlendi. MDA düzeyi değerlendirildiğinde ise; kontrol grubuna oranla Pb uygulaması yapılan grupta artışın ($p<0,01$), Pb uygulaması yapılan gruba oranla Pb + likopen uygulaması yapılan grupta meydana gelen azalışın ($p<0,001$) önemli olduğu belirlendi.

Sonuç olarak: SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzim düzeylerinin ve GSH, MDA parametrelerinin anlamlı olarak değiştiği ve karaciğer dokusunda tespit edilen pozitif etkileri nedeniyle likopenin koruyucu olabileceği düşünülmektedir. Bulunan sonuçların gelecekte yapılacak çalışmalara farklı dozlar uygulamasına bağlı olarak yön verebileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Karaciğer, Kurşun Asetat, Likopen, Rat

ABSTRACT

MS THESIS

THE EFFECT OF LICOPENE ON SOME ANTIOXIDANT ENZYMES IN LIVER TISSUE OF RATS EXPOSED TO LEAD ACETATE

Rıdvan ESEN

**The Graduate School of Natural and Applied Science of Siirt University
The Degree of Master of Science, Department of Chemistry**

**Supervisor: Asst. Prof. Dr. H. Turan AKKOYUN
2019,37 Pages**

The aim of this study was to investigate the protective effects of lycopene in the prevention of liver tissue damage caused by lead acetate in lycopene treated rats. In the study, 24 adult and Wistar albino rats weighing approximately 250-350 g were used. The rats were randomized into three groups; Control group: Isotonic serum was administered (ip). Lead acetate group (25 mg / kg) (ip) lead acetate was administered. Lead Acetate + Lycopene group: (25 mg / kg) (ip) + lycopene (100 mg / kg) administration was done with the oral gauge. Rats in all groups were sacrificed at the end of the 7th day and the liver tissues were obtained. Rats in all groups were sacrificed at the end of 7 days and liver tissues were taken. SOD, CAT, GSH-Px, GSH, MDA levels were evaluated. SOD enzyme activity was decreased in the Pb group compared to the control group ($p < 0.001$), whereas it was found that the activity increased in the lycopene group compared to the Pb group ($p < 0.05$). It was seen that CAT enzyme activity decreased in Pb and Pb + lycopene treated groups ($p < 0.001$). An increase was observed in the lycopene group when compared with the Pb group.

Compared with the control group, GPX enzyme activity was decreased in Pb ($p < 0.001$) and Pb + lycopene ($p < 0.05$) treated groups. There was an increase in the lycopene group when compared with the Pb group ($p < 0.001$). Compared to the control group, a statistically significant decrease ($p < 0.01$) was observed in GSH values in the Pb treated group and an increase in the lycopene + Pb treated group compared to the Pb treated group. When the MDA level was evaluated; It was determined that the increase ($p < 0.01$) in the Pb treated group compared to the control group and the decrease ($p < 0.001$) in the Pb + lycopene treated group compared to the Pb treated group.

As a result, it is thought that the antioxidant enzyme levels such as SOD, CAT, GSH-Px and GSH, MDA parameters are significantly changed, and lycopene may be protective because of the positive effects detected in the liver tissue. Findings of this study may lead to future studies with different dosage schemes.

1. GİRİŞ

"Ağır metal" terimi yaygın olarak kullanılan bir terimdir. Ağır metal, kontaminasyon ve potansiyel toksisite ya da eko-toksisite ile ilişkilendirilen metaller ya da yarı-metaller (metalloidler) olarak isimlendirilirler. Çağımızda ise ağır metal, yoğunluğuna, atomik ağırlığına, kimyasal özelliklerine ya da toksisitesine bağlı olarak birçok yolla tarif edilmiştir (Duffus, 2002). Gerçekte ağır metal tanımı yoğunluğu 5g/cm^3 'den daha büyük olan metaller olarak ifade edilir. Tıpta ise ağır metal tanımı, elementlerin atomik ağırlıklarına bakılmaksızın tüm toksik özelliği taşıyan metaller olarak tanımlanır (Özbolat ve Tuli, 2016). Yüksek konsantrasyonlardaki ağır metaller, bitkileri ve bitkilerle beslenen insan ve hayvanları olumsuz yönde etkileyebildiği görülmüştür. Krom, Nikel ve Kurşun topraklarda 10-100 mg/kg arasında, kadmiyum ise 1 mg/kg'ın altında bulunuyorsa bu miktarlar normal seviyeler olarak kabul edilmektedir (Metin ve Pehlivan, 2009). Ağır metaller doğada maden cevheri olarak bulunurlar; insan aktiviteleri ve endüstriyel kullanımları sonucu çevreye salınırlar. Endüstrinin hızlı gelişimi, kimyasal madde üretim ve tüketiminin fazlalığı, işletmelerde arıtmaya önem verilmemesi, çevre kirliliğinin boyutlarını artırmaktadır. Çevreye yoğun bir şekilde salınan ağır metaller besin zincirine girerek, en son insanda artan yoğunlukta birikir ve değişik sağlık sorunu oluştururlar (Yılmaz ve Hikmet, 2013).

Bu tez çalışmasında kurşun asetata maruz kalan sıçan karaciğer dokusunda likopen'in SOD, CAT ve GSHPx gibi bazı antioksidan enzimler ayrıca GSH ve MDA parametreleri üzerine etkileri araştırıldı.

1.1.Kurşun (Pb)

Kurşun (Pb) atom numarası 82 olan, yumuşak, $327,5^\circ\text{C}$ 'de kaynayan, 11,34 g/mL yoğunluğa sahip, kurşun sülfür (galena), kurşun karbonat (seruzit) ve kurşun sülfat (anglezit) içeren mineraller halinde doğada yaygın olarak bulunan bir elementtir. Kurşun canlıların yaşaması için gerekli bir madde değildir.

Organik ve inorganik kurşun formları arasında kurşun monoksit, tetraoksit, karbonat, silikat, kromat gibi bileşikleri; atimon alaşımları ile tetra etil, tetra metil ve stereat gibi alkil bileşikleri bulunmaktadır (Kara, 2016). Kurşun canlı organizmada toksik düzeyi yüksek olan bir metaldir. Günümüzde endüstri alanında yaygın şekilde kullanılan özellikle petrol, boya, pil, elektronik, takı ve oyuncak sanayisinde kullanılmakta ve bunun sonucu olarak yaşadığımız ortamı tehdit eden ağır metal kirlenmenin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Güler ve ark., 2016). En zararlı ve

kümülatif çevresel kirleticilerden biri olan kurşun; su, hava, toprak ve besin kaynaklarının maruz kalması ile tüm biyolojik sistemleri etkiler. Mesleki kurşun maruziyetinin ana kaynakları benzin, kurşunlu boyalar ve pillerdir (Erişir, 2018). Kurşun beyin, merkezi sinir sistemi, böbrekler, karaciğer ve hematopoetik sistem gibi hemen hemen vücutun bütün organ ve sistemleri üzerine toksik etki gösterebilmektedir (Uzun ve Öztürkmen, 1997). İnsan vücudundaki kurşun miktarı tahmini ortalama olarak 125-200 mg civarındadır ve normal koşullarda insan vücudu normal fonksiyonlarla günde 1-2 mg kadar kurşunu atabilme yeteneğine sahiptir. Birçok kişinin maruz kaldığı günlük miktar 300-400 mg'ı geçmemektedir. Buna rağmen çok eski iskeletler üzerinde yapılan kemik analizleri günümüz insanı kemiklerinde, atalarımızdakinin 500-1000 katı kadar fazla kurşun bulunduğunu göstermektedir (Kahvecioğlu ve ark., 2003).

Kurşun toksisitesinin biyokimyasal ve moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılammıştır. Son zamanlarda kurşun toksisitesi ile ilgili ileri sürülen muhtemel mekanizma oksidatif strestir. Birçok araştırmacıya göre, hücrelerdeki prooksidan ve antioksidan dengesinin bozulmasından ileri gelme olasılığı vardır. Kurşun maruziyetinden sonra hidroksi (OH⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), süperoksit anyon (O⁻²) ve lipid peroksitler (LPO) gibi reaktif oksijen türlerinin üretildiği bildirilmiştir (Dağ, 2012).

1.2.Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin artışı (ROS) ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır (Özcan ve ark., 2015). Yada oksidanlara karşı antioksidan kapasitenin azalması veya oksidanların artması olarak tarif edilir. Oksidan maddeler; hücre dışı matriksin yapısını, biyolojik membranları, DNA hasarı yaparak hücrenin genetik yapısını ve silyer fonksiyonunu bozar, enzimatik olayları etkiler, sürfaktan aktivitesini azaltır, mukus yapımı ve proteazların etkinliğini arttırarak oksidatif strese sebep olurlar (Orhan ve ark., 2003).

Oksidatif strese karşı organizmanın savunma mekanizmaları (antioksidan mekanizmalar) yetersiz kalırsa, hücrelerde oksidatif hasar gelişerek fonksiyonlar önemli oranda aksar. Pek çok hastalığın patogeneğinde kritik bir öneme sahip olduğundan hastalığın şiddeti artar. Bu mekanizma, yaşlanma süreci ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser, sepsis, dejeneratif nörolojik hastalıklar, böbrek yetmezliği, infertilite, kas ve

karaciğer hastalıkları gibi pek çok hastalığın etiyojisinden sorumludur (Tabakoğlu ve Durgut, 2013).

1.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır (Karabulut ve Gülay, 2016; Mercan, 2004). Ancak Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumuna neden olurlar (Gökhan, 2007).

Serbest radikaller elektron transferi sonucu meydana gelirler ve organik veya inorganik moleküller şeklinde pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Cu^{+2} , Fe^{+3} ve Mn^{+2} gibi geçiş metalleri, ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Ancak bu iyonlar, reaksiyonları katalize ettikleri için serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995).

Radikaller, başlıca 3 temel mekanizma ile oluşur:

1. Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık, kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir. Moleküllerdeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her biri farklı atomlar üzerinde kalır.

2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağ oluşturulan her iki elektron atomların birinde kalır. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

3. Radikal özelliği taşımayan normal bir moleküle tek bir elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşturuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur. Bu mekanizma ile radikal yapımı biyolojik sistemlerde yaygın olarak gerçekleştiğinden canlılar için önemlidir (Memişoğulları, 2005; Kılınç ve Kılınç, 2002; Li ve ark., 1993).

1.4. Antioksidanlar

Çeşitli mekanizmalar sonucu ortaya çıkan serbest radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması vardır. Bu savunma mekanizmasını oluşturan bileşiklere

“antioksidanlar” denir (Gökpınar ve ark.2006). Bu tanımın belirttiği gibi antioksidanların fizyolojik rolü, serbest radikallerin kimyasal reaksiyonlarının bir sonucu olan hücresel bileşenlerin hasarını engellemektir. Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu engelleme ve serbest radikalleri süpürme yoluyla sebep oldukları doku hasarını engellerler (Dağ, 2012). Antioksidanlar 4 farklı şekilde etki etmektedirler.

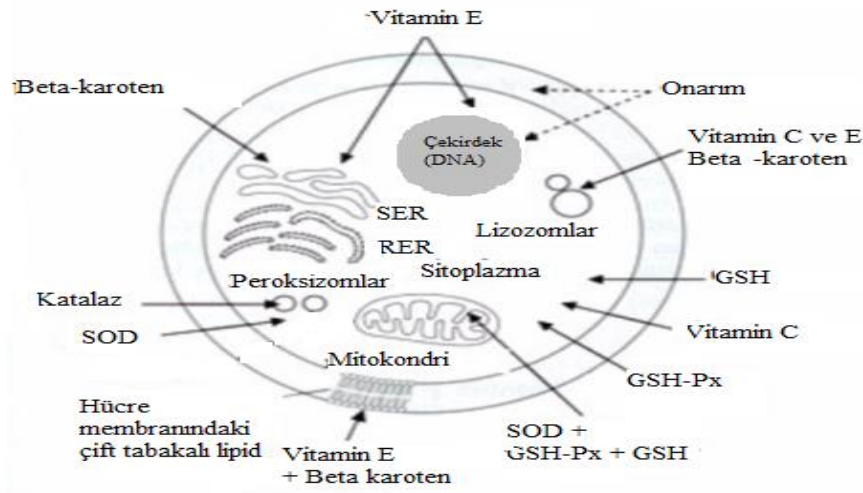
1. Toplayıcı etki: Antioksidanların SOR'u tutarak daha zayıf moleküle dönüştürmesi durumu toplayıcı etki olarak isimlendirilir. Küçük moleküller, antioksidan enzimler buna örnek gösterilmektedir.

2. Baskılayıcı etki: Antioksidanların ROT ile reaksiyona girmesi ve hidrojen aktararak etkilerini azaltmasıdır. Vitaminler, antosiyanoidler, flavanoidler ve trimetazin bu etkiye sahip olanlardır.

3. Zincir kırıcı etki: Antioksidanların SOR'u kendilerine bağlayarak ve zincirleri kırarak radikallerin fonksiyonlarının engellenmesi zincir kırıcı etkidir. Mineraller, seruloplazmin ve hemoglobin zincir kırıcı etki göstermektedir.

4. Onarıcı etki: Antioksidanlar tarafından SOR'un meydana getirdiği hasarın onarılması onarıcı etki olarak adlandırılmaktadır (Akkuş, 1995).

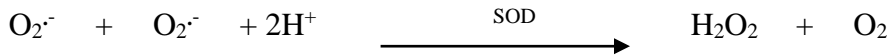
Şekil 1.1’de görüldüğü gibi antioksidanlar hücrenin birçok organelinde meydana gelen oksidatif hasarı en aza indirmek için etki etmektedir (Bardakçı, 2017). Organizmada en etkili olan antioksidanlar SOD, CAT ve GSH-Px’tir (Cheeseman ve Slatter, 1993).



Şekil 1.1. Antioksidanların hücredeki etkileri (Bardakçı, 2017)

1.4.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

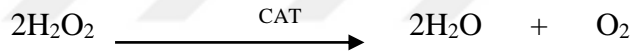
En etkili hücre içi enzimatik antioksidanlardan biri süperoksit dismutazdır (SOD) (EC 1.15.1.1). Süperoksit dismutaz, $O_2^{\cdot-}$ ile O_2 ve daha az reaktif olan H_2O_2 türlerine ayrışmasını katalize eden antioksidan enzimdir. Bu enzim 1939'a kadar sadece izole edilirken, 1969'da Mc Cord ve Fridovich, SOD'un antioksidan aktivitesini kanıtladı. Süperoksit dismutaz, aktif metal merkezinin ve amino asit oluşumunun doğasında olduğu gibi, çeşitli izoformlarda var olduğunu göstermiştir. İnsanlarda üç SOD formu vardır: sitozolik Cu, Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve hücre dışı SOD (EC-SOD) (Mates ve ark., 1999; Kurutaş, 2001; Mc Cord ve Fridovich., Landis ve Tower., 2005).



1.4.2.Katalaz (CAT)

Katalaz (EC 1.11.1.6), bitki, hayvan ve aerobik (oksijen gerektiren) bakterilerin hücrelerinde bulunan bir enzimdir. Katalaz, tüm enzimler için en yüksek devir hızlarından birine sahiptir. Bir katalaz molekülü, bir dakikada 6 milyon hidrojen peroksit molekülünü su ve oksijene dönüştürebilir.

Katalaz bitkilerde en önemli H_2O_2 gidericisi ve peroksizomların ise yapı bileşenidir (Weiting ve ark.,1990; Kuncce ve Trelease.,1986; Valko ve ark., 2006).



1.4.3.Glutatyon peroksidaz

Glutatyon peroksidaz hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu sitosolik bir enzimdir (Mates ve ark., 1999; Benzer ve Ozan., 2003). Biri selenyumdan bağımsız olan (glutatyon-S-transferaz, GST, EC 2.5.1.18), diğeri selenyum bağımlı olan (GPx, EC 1.11.1.19) enzim glutatyon peroksidaz enziminin iki formu vardır. Bu iki enzim, alt birim sayısı, selenyumun aktif merkezdeki bağlanma niteliği ve bunların katalitik mekanizmaları bakımından farklılık gösterir.

Glutatyon metabolizması, antioksidan savunma mekanizmalarının en temellerinden biridir (Valko ve ark., 2006).

1.4.4.Glutatyon (GSH)

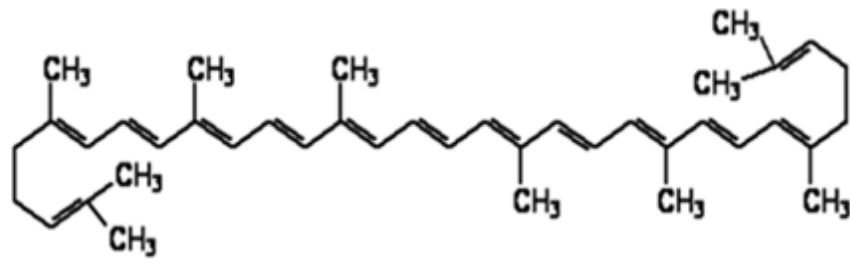
Glutatyon (GSH) karaciğerde glisin, sistein ve glutamat tarafından sentezlenen ve karaciğerde hidroperoksitlerin azaltılması, serbest radikallerin söndürülmesi ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu içeren metabolik koruyucu fonksiyonlarda hayati bir faktör olarak işlev gören bir tiyol ve tripeptittir (Cheng ve ark., 2017).

1.4.5.Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve yaygın olarak lipid molekülleri üzerindeki serbest radikal hasarının bir belirteci olarak kullanılmıştır. Malondialdehit seviyeleri mitokondriyal oksidasyon zinciri reaksiyonunu, hücre zarı geçirgenliğini ve hücre uyarılabilirliğini etkileyebilir. MDA'nın nörodejeneratif hastalık için biyolojik bir belirteç olarak kullanılabileceğini öne sürmüştür. MDA'nın toksik etkisi antioksidanlar tarafından nötralize edildi (Bagis ve ark., 2005).

1.5.Likopen

Likopen ismi, domatesin Latince ismi olan *Solanum lycopersicum*'dan türetilmiştir. Likopen (ψ,ψ -karoten) çeşitli bitki, alg ve diğer fotosentetik organizmalarda bulunan asiklik bir non-provitamin alfa karotendir ve beta karoten dahil çeşitli karotenoid biyosentezinde önemli bir araçtır (Hekimoğlu, 2010). Likopen; çoğunlukla domates (*Lycopersicum esculentum*) ve işlenmiş domates ürünlerinde bulunan, A vitamini aktivitesine sahip olmayan, β -karotenin asiklik 29 izomeridir (Türkmen, 2013). 11 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 13 tane çift bağ içermektedir. Şekil 1.2'de gösterildiği gibidir. Karotenoidlerin renkleri konjuge C=C çift bağlarından kaynaklanır. Konjuge çift bağların sayısı arttıkça renk koyulaşır. Örneğin, yapısında 9 tane konjuge çift bağ içeren β -karoten'in rengi sarı-turuncu iken, yapısında 11 tane konjuge çift bağ içeren likopenin rengi kırmızıdır (İzgi, 2012).



Şekil 1.2. Likopenin Yapısı (Bramley, 2000).

Likopenin yapısındaki çift bağların varlığından dolayı hem *cis* hem de *trans* izomeri formlarında olabilmektedir. Doğada likopenin öncelikle all-*trans* izomerik formları bulunur (Clinton, 1998). İnsan besin kaynaklarında domates all-*trans* formunda bulunurken kan, plazma ve dokularda büyük ölçüde *cis*-izomer formunda

bulunur. Domatesi ısıtma işlemi all-trans likopeni çeşitli cis-izomerlerine çevirir. İn-vivo izomerizasyona uğrayabilmesine rağmen, cis-likopenin çözünürlüğü daha fazladır ve ince barsak lümeninden all-trans formuna göre daha iyi emilir. Likopenin canlıda tanımlanmış olan izomerizasyon yerleri, gastrointestinal lümen, karaciğer ve enterositlerdir (Demircan, 2016). Likopenin besin kaynaklarından emilimi; gıda matriksinin parçalanması, pişirme sıcaklığı, yağlar, yağda çözünebilir diğer karotenoid bileşiklerin bulunması gibi faktörden etkilenmektedir (Parker, 1996). Karotenoidler, besinlerde en fazla salça, domates sosu, ketçap, domates püresi, domates suyu, domates, greyfurt ve kayısıda bulunmaktadır. Domates salçası, domates suyu gibi sıklıkla tüketilen yiyeceklerde yüksek oranda likopen bulunur ve aynı derecede etkin bir şekilde emilir (Rao ve Agarwal, 1998; Canene-Adams ve ark., 2005). Likopen domatese renk vermenin yanında ayrıca birçok özelliğe sahiptir. Güçlü bir antioksidandır, dejeneratif hastalıklarla mücadelede kullanılır, kalp hastalığı gibi. Yapılan araştırmalara göre likopen konsantrasyonu arttıkça koruyucu etkisinin de arttığı gözlenmiştir, bu yüzden likopen konsantrasyonu yüksek, domates püresi, ketçap gibi gıdaları tüketmek bu hastalıklara karşı daha iyi korunmayı sağlar. Ancak; insan vücudu bu molekülü üretmez, bu yüzden domates gibi likopen içeren besinlerden sağlar (www.food-info.net/tr). Likopen içeren gıdaların tüketimi sonucunda kan likopen seviyesi artar ve bu durumda yağların, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasardan daha az etkilenmesine neden olur. Likopen, reaktif oksijen türlerine bağlı serbest radikal hasarına karşı hücreleri korur, hem in vitro hem de insan çalışmalarında lenfosit DNA'sının oksidatif hasara karşı duyarlılığını azaltarak, hidrojen peroksit ve nitrojen dioksiti inaktive ederek ve lenfositleri nitrojene bağlı membran hasarı ve hücre ölümüne karşı beta karotenden daha etkili bir şekilde koruyarak güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (Abdulkadir, 2009). Antioksidan olan likopenin, kronik hastalık riskinin azalmasında önemli bir kaynak olduğu bilinmektedir. Domates ürünlerinin likopen içeriğini değerlendirmek ve beslenme ile günlük alım düzeylerini tespit etmeye yönelik çalışmalar yapılmıştır (Sönmez, 2017). Likopen dejeneratif hastalıkların önlenmesine yardımcı olur, bunu hücreler zarar görmeden önce oksijen serbest radikale elektronunu verip oksijeni nötrleyerek yapar. Serbest radikaller en azından bir tane paylaşılmamış elektronu olan moleküllerdir. Likopen bir elektron vermek suretiyle serbest molekülü stabilize eder. Likopenin bu hastalıklara karşı etkisini mümkün olduğu kadar artırabilmek için birçok çalışma yapılmaktadır. Kalp ile ilgili bir çalışmada 1,374 kişinin (bay) yağ

tabakalarındaki likopen'in kalp krizi riskini 50% azalttığı görülmüş dür (www.food-info.net./tr).

Table 1.1. Domates ve domates ürünlerinin likopen i çerikleri (Hobson ve ark., 1996).

Domates ve domates ürünlerinin	Likopenin i çeriği (μ /g yaş ağırlık)
Taze Domates	8.8 42.0
Pişmiş Domates	37.0
Domates Sosu	62.0
Sal ç	54.0 -1500.0
Domates Çorbas	79.9
Domates Tozu	1126.3- 1264.9
Domates Suyu	50.0 116.0
Pizza Sosu	127.1
Ket çap	99.0 134.4

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Bu kapsamda yapılan bir çalışmada, ratlarda cisplatin ve gentamisin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkilerini araştırmışlar. Ratlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde 5 gruba bölündü ve birinci grup kontrol olarak ayrıldı. Grup 2, 3, 4 ve 5'teki hayvanlara sırasıyla tek doz cisplatin (7 mg/kg); cisplatin uygulamasını takiben 5 gün süreyle likopen (4 mg/kg); 6 gün süre ile gentamisin (100 mg/kg) ve gentamisin ile birlikte likopen uygulamaları yapıldı. Tek doz cisplatin uygulamasını takiben 5. günde, diğer gruplarda ise son uygulamadan 24 saat sonra kan ve karaciğer örnekleri alındı. Bu örneklerde malondialdehid (MDA) ve indirgenmiş glutasyon (GSH) düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi. Likopen verilen grupta bu değerlerin kontrol değerlerine yaklaştığı belirlendi. Karaciğer GSH düzeylerinde ise kontrol grubuna göre bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir (Karahan ve ark., 2006). Ratlarda likopenin dietilnitrozamin kaynaklı oksidatif stres ve katalaz ekspresyonu üzerine koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmada ratlar; kontrol, likopen, DEN, likopen+DEN ve DEN+likopen olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. DEN ratlara 200 mg/kg dozunda tek doz 30 gün süreyle intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Likopen ratlara 10 mg/kg dozunda gün aşırı olarak 10 gün boyunca gavajla uygulanmıştır. Likopen uygulamasına, likopen+DEN grubunda DEN uygulanmasından 10 gün önce, DEN+likopen grubunda ise DEN uygulaması ile birlikte başlanmıştır. Çalışmada kan ve karaciğer dokularında malondialdehit (MDA), redükte glutasyon (GSH) düzeyleri, katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon-Stransferaz (GST), süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ve CAT enziminin ekspresyon düzeyleri ölçülmüştür. Likopen uygulaması hem kan hem de karaciğer dokusunda DEN grubuna kıyasla hepatotoksisitenin biyokimyasal indekslerinde iyileşme sağlamıştır; DEN ile eşzamanlı uygulanması daha etkili olmuştur (Kaya ve ark., 2019). Likopenin sıçanlarda alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı üzerindeki hepatoprotektif ve antioksidan etkileri araştırılmış ve NAFLD sıçan modeli ilk olarak 14 hafta boyunca uygulanmış. Çalışmada 65 rat rastgele olarak normal grup, model grup ve Ly tedavi gruplarına ayrılmış. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), trigliseritler (TG), serumdaki toplam kolesterol (TC) ve düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (LDL-C), yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol (HDL-C), serbest yağ asidi (FFA), malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), karaciğer dokusunda glutasyon (GSH) sırasıyla değerlendirildi. Serum AST (2.07 kat), ALT (2.95 kat) ve 20 mg/kg Ly

dozunda kan lipid TG (2.34 kat) ve TC (1.66 kat) düzeylerinde tedavi edilen sıçanlar (P <0.01), model grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi 5, 10 ve 20 mg/kg Ly ile ön tedavi, doza bağımlı bir şekilde antioksidan enzim SOD seviyelerini doza bağımlı bir şekilde 90.95 ± 9.56 , 109.52 ± 11.34 ve 121.25 ± 10.68 'e (P <0.05, P <0.01) model grubuyla karşılaştırıldığında yükseldiği gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, Ly tedavisinden sonra GSH seviyeleri anlamlı derecede artmıştır (P <0.05, P <0.01). Bu arada, 5, 10 ve 20 mg/kg Ly ile yapılan ön muamele, karaciğer homojenatların'da MDA miktarını sırasıyla % 30.87, 45.51 ve % 54.49 azalttı (P <0.01). Sonuç olarak bu çalışmada, likopen (Ly)'nin NAFLD (Alkolsüz yağlı karaciğer) üzerinde koruyucu bir etkisi olduğunu göstermektedir (Jiang ve ark., 2016). Likopen'in sıçanlarda radyasyona bağlı hepatik toksisiteye karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 80 dişi rat kullanılmıştır. İlk grup sıçanlara kontroller (grup 1), likopen (grup 2), sadece radyoterapi (grup 3) ve likopen + radyoterapi (grup 4) dahil edildi. Likopen (günde 5 mg/kg) 7 gün boyunca oral olarak uygulandı; tek fraksiyon 8 Gy abdominopelvik radyoterapi 8. günde uygulandı. İlk grup sıçanlara 10. günde sakrifiye edilmiş. Son grup sıçanlara (grup 5 - 8) aynı düzende tedavi edildi, ancak 6. ve 8. gruplara, radyoterapiden 60 gün sonra, bütün sıçanlar sakrifiye edilinceye kadar likopen uygulanmış. Radyoterapi grubu karaciğer malondialdehit düzeylerinde anlamlı olarak artma ve glutation (GSH) düzeyleri, (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi anlamlı olarak azaldı. Likopen + radyoterapi gruplarında malondialdehit düzeyleri anlamlı derecede azaldı ve GSH, GSH-Px ve SOD aktivitesi anlamlı olarak arttı. Sonuç olarak likopen takviyesi, karaciğerde radyoterapiye bağlı oksidatif hasarı önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir (Meydan ve ark., 2011). Erkek sıçanlarda likopenin, doğal bir antioksidan ve antikanser olarak, erkek Wistar albino sıçanlarında (rattus) 60 gün boyunca flutamid (10, 100 ve 300 mg/kg) uygulanmasından kaynaklanan hepatotoksisiteye karşı olası koruyucu rolünü araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar, lipid peroksidasyon belirteci olan malondialdehitte (MDA) önemli bir artış gözlemlenmiş fakat flutamid uygulanan grupta ise glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve ana antioksidan belirteçleri olan katalaz (CAT) seviyelerinde belirgin düşüşler görülmüştür. Bu veriler, doğal antioksidan olan likopenin, erkek sıçan (rattusta) ların karaciğerinde flutamide bağlı hepatotoksisiteye karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir (Hemieda ve ark., 2017).

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

Çalışmada ağırlıkları yaklaşık 250-350 gr ağırlığında, 24 adet yetişkin, Wistar albino cinsi erkek ratlar kullanıldı. Ratlar Bingöl Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden temin edildi ve denemeye alınmadan önce ortama adaptasyonlarının sağlanması amacıyla bir hafta süreyle bekletildiler. Ratlara adaptasyon süresince pelet yem ve su adlibitum beslenmeye tabi tutuldular. Çalışmada sıçanlar randomize olacak şekilde üç gruba ayrıldı.

Grup I (8 adet): Kontrol grubu: Bu gruptaki ratlara 7 Gün boyunca intraperitoneal (i.p.) izotonik serum uygulandı. 7. günün sonunda karşılaştırmada kullanılmak üzere karaciğer dokuları alındı.

Grup II (8 adet): Kurşun asetat grubu: bu gruptaki ratlara 7 Gün boyunca i.p. yol ile (25 mg/kg) uygulama yapıldı. 7. günün sonunda karşılaştırmada kullanılmak üzere karaciğer dokuları alındı (Demir ve ark.,2015).

Grup III (8 adet): Kurşun asetat + likopen grubu: bu gruptaki ratlara 7 Gün boyunca i.p. yol ile (25 mg/kg) + likopen (100 mg/kg) oral yol ile uygulama yapıldı ve 7. günün sonunda karşılaştırmada kullanılmak üzere karaciğer dokuları alındı (Demir ve ark., 2015; Kılıç ve ark., 2014).

Araştırmada kullanılan tüm sıçanlar 7. gün sonunda deney hayvanlarına anestezi, 60 mg/kg ketamine hidroklorit + 10 mg/kg dozunda xylazine hidroklorit şeklinde uygulandı ve sıçanlar uyandıkça anestezik dozlar tekrarlandı. Deneme sonunda ratlar anestezi altında laparo-sternotomi yapılarak biyokimyasal testler için gerekli olan doku örnekleri etik kurallara uygun olarak alındı ve analizlerin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-80⁰C) muhafaza edildi. Alınan karaciğer doku örneklerinde SOD, GSH-Px, CAT, MDA, GSH parametreleri aşağıda belirtilen yöntemlerle araştırıldı.

3.2. METOT

3.2.1. Superoksit Dismutaz (SOD) Analizi

Xanthine oksidaz aracılığıyla üretilen O₂⁻ radikalinin reaksiyon ortamında nitroblue tetrazolium (NBT) indirgenmesinin numunede bulunan SOD enzimi tarafından engellenmesi prensibine dayanır (Alp, 2005). NBT'nin indirgenmesi ile 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren mor renkli formazan oluşur. Superoksit dismutaz aktivitesinin büyüklüğü oluşan formazanın absorbansıyla ters orantılı.

Kullanılan Reaktifler:

A) Assay reaktifi:

1. Xanthine(0,3mM):0,00913 gr xanthine 200 mL distile suda çözülür.1M'lık NaOH'dan bir damla çözmek için kullanılır.
2. EDTA(0,6 mM): 0,023 gr EDTA di sodyum tuzu 100 mL distile suda çözülür.
3. Nitroblue tetrazolium: 0,0123 gr NBT 100 mL distile suda çözülür. Renkli şişede saklanır.
4. Na₂CO₃(0,4 M): 2,544 gr Na₂CO₃ 60 mL distile suda çözülür. Günlük taze hazırlanmalıdır.
5. Bovine serum albumin (BSA)(1 gr/L): 0,030 gr Bovine serum albumin 30 mL distile suda çözülür.

Hazırlanan bu beş reaktif +4 °C'de saklanır. Deneyden hemen önce renkli bir şişede 20 mL Xanthine + 10 mL EDTA + 10 mL NBT + 6 mL Na₂CO₃ + 3 mL BSA bu beş reaktif birleştirilir ve iyice karıştırılır.

B)Xanthine oksidaz (167 U/L): 50 µL xanthine oksidaz alıp 600µL 2M (NH₄)₂SO₄ ile dilüe edilmeli ve taze hazırlanmalıdır.

C)(NH₄)₂SO₄ (2M): 2,643 gr (NH₄)₂SO₄ 10 mL distile suda çözülür.

Deneyin yapılışı: Superoksit dismutaz aktivitesi, Sun ve ark. (1988)'nın tarif ettiği metod modifiye edilerek tayin edildi (Sun ve ark.,1988).

Tablo 3.1. S üperoksit dismutaz aktivitesi için kullanılan reaktif miktarı

	Numune	Kör tüpü
Distile su	40 mL	50 mL
Numune	10 mL	-
Xanthine oksidaz	10 mL	10 mL
Assay reaktifi	200 µL	200 µL
Vorteksle 25 °C'de 20 dk inkübe edildi.		

Enzimi 1 dk arayla tüplere katıp 20 dk sonunda oluşan renkli kompleksin absorbanları elisa mikroplate readerde 560 nm de havaya karşı okutuldu.

Hesaplama: 1U : %50'lik NBT inhibisyonu

% inhibisyon: $\% (A_{KÖR} - A_{Numune}) / A_{KÖR}$

SOD (U/mL)=% inhibisyon / (50x0,01)

3.2.2. Katalaz enzim aktivite tayini

Katalaz enzim aktivite tayini spektrofotometrik olarak 240 nm'de hidrojen peroksitin azalan absorbanları ölçülerek belirlendi (Aebi, 1984). Katalaz enzimi bilinen en önemli antioksidan enzimler arasında yer alır ve hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dönüştürülmesini sağlar. Hidrojen peroksit yaklaşık olarak 240 nm dalga boyunda maksimum absorban verir. Ortamda bulunan hidrojen peroksitin, katalaz enzimi tarafından su ve oksijene dönüştürülmesiyle absorbansta azalma gözlemlenir. Absorbansta meydana gelen bu azalma takip edilerek katalaz enziminin aktivitesi belirlenir.

Çalışmada, ölçüm için kalp doku süpernatantlarından, 10 mL alınarak üzerine son hacim 2 mL olacak şekilde pH: 7,0 olan fosfat tamponu ve % 30'luk hidrojenperoksit eklendi. Ölçümler 25 °C'de ve 240 nm dalga boyunda 2 dakika boyunca spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. Sonuçlar, spesifik aktivite cinsinden, IU/mg protein olarak verildi.

3.2.3. Glutasyon Peroksidaz(GSH-Px) Analizi

Glutasyon peroksidaz, H₂O₂ varlığında redükte (GSH) okside glutatyona (GSSG) dönüşümünü katalizler. Bu reaksiyon ile oluşan (GSSG), NADPH'ın indirgeyici substrat olarak kullanıldığı GR reaksiyonu ile tekrar GSH'a dönüşür. Bu reaksiyonlar esnasında NADPH'ın NADP'ye yükseltgenmesi ile oluşan absorban azalışı mikropate reader'de 340 nm'de 6 okutma yapılarak GSH-Px aktivitesi hesaplandı (Alp, 2005).

Kullanılan Reaktifler:

1. Fosfat tamponu (50 mM, pH : 7): 0,988 gr Na₂HPO₄.2H₂O + 0,379 gr KH₂PO₄+ 0,062 gr EDTA + 0,011 gr NaNO₃ tartılarak karışım 90 mL distile su'da çözüldü, hacmi 100 mL' ye tamamlandı ve pH : 7'ye ayarlandı.
2. Kosubstrat: 0,008 gr NADPH + 0,016 gr GSH redüktaz + 100 µL GSH (redükte glutasyon) alınarak 10 mL distile suda çözüldü.
3. %30'luk H₂O₂ çözeltisi: 50 µL H₂O₂ alıp 5 mL distile suda çözüldü ve bu çözeltiden de 50 µL alındı. 5 mL GSH-Px tamponla karıştırılarak 5 dk inkübasyona bırakıldı.

Deneyin yapılışı: Glutasyon peroksidaz'ın aktivitesi, Donalt ve Valentia (1967)'nin tarif ettiği metod modifiye edilerek tayin edildi (Donald ve Valentina, 1967).

Tablo 3.2. Glutasyon peroksidaz aktivitesi için kullanılan reaktif miktarı

	Kör Tüp	Numune tüpü
Modifiye GSH-Px tamponu	150 µL	150 µL
Ko-Substrat	50 µL	50 µL
Numune	-	25 µL
Distile su	25 µL	-
5 dk 37 °C'de inkübasyon		
H ₂ O ₂ (2 mM)	25 µL	25 µL

Hesaplamalar:

$$\text{GSH-Px(IU/L)}: (\Delta\text{Abs/dk}) \times 10 / 6,22 \cdot 10^{-3}$$

$$\text{Spesifik aktivite (IU/gr Hb)}: [(\Delta\text{Abs/dk}) \times 10 \times 51 / 6,22 \cdot 10^{-3}] / (\text{gr/dL Hb})$$

3.2.4.Total Glutasyon (GSH) Analizi

Kullanılan Reaktifler:

A-1mM 5-5'Dithio 2 Nitrobenzoik asit (DTNB)(M.A : 396,3 gr/mol) :0,011 gr DTNB olarak 28 mL distile suda çözüldü

B- 1 mM NADPH: 0,0082 gr NADPH tartılarak 10 mL distile suda çözüldü.

C- 100 mM Na-Fosfat tamponu (pH = 7,5): 0,213 gr NaH₂PO₄.2H₂O + 1,563 gr Na₂HPO₄.2H₂O + 0,038 gr EDTA disodyum tuzu olarak bir miktar suda çözüldü sonra hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

D- GSH stok: 0,0306 gr okside GSH alınarak 1Lt'de çözüldü.

E- % 5'lik metafosforik asit : 5 gr metafosforik asit alınarak bir miktar distile su içinde çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlanır.

Karışım: A'dan 2,8 ml, B'den 3,75 ml, C'den 5,85 ml alınarak üzerine 1 kutu glutasyon redüktaz eklenir.

Deneyin yapılışı: Total Glutasyon'ın aktivitesi, Tietz (1969) ve Fairbans ve ark.(1999)'nın tarif ettiği metod modifiye edilerek tayin edildi (Tietz, 1969; Fairbans ve ark., 1999). Stok standarttan 0, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 16 µm konsantrasyonlarda hazırlandı. Numuneler eşit hacimde % 5'lik metafosforik asitle mumamele edilip, santrifüj edildi. Mikroplate aşağıdaki pipetlemeler yapıldı.

Tablo 3.3.Total glutasyon aktivitesi için kullanılan reaktif miktarı

	Numune	Standart	Kör
Süpernatant	25 µL	-	-
Standart	-	25 µL	-
GSH kokteyl	125 µL	125 µL	125 µL
Distile su	-	-	25 µL

Numunelere ait süpernatantlar analizde kullanıldı. Numunelere ait mikrolate 405 nm'de 2 dakika okutuldu. Standart grafiğe karşı elde edilen numune konsatrasyonları kaydedildi.

3.2.5.Malondialdehid (MDA) Analizi

Lipit peroksidasyon ürünü olan MDA, oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Ölçümün prensibi, MDA ile tiyobarbutirik asidin etkileşimi sonucu oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Karakoç, 2008).

Kullanılan Reaktifler:

1. Sodyum dodesil sülfat (SDS) (% 8.1'lik çözeltisi): 8.1 gr SDS bir miktar saf suda çözünür ve hacim 100 mL'ye tamamlanır.

2. % 20'lik asetik asit çözeltisi: 100mL %100'lük asetik asitten alınarak üzerine 400 mL distile su katılırve iyice karıştırılır.

3. % 0.9'luk tiyobarbit ürik asit (TBA): 4,5 gr TBA alınarak 500 mL distile suda çözünür. (Çalışma günü taze olarak hazırlanmalıdır.)

4. 1/15 piridin/1-bütanol karışımı: 15 mL 1-bütanole 1 mL piridin eklenerek hazırlanır.

5. 200 µM'lık stok standart çözeltisi: 1,1,3,3-tetraetoksipropandan 25 µL alınıp 500 mL saf suda karıştırılarak çözünür. Taze hazırlanmalıdır.Seri dilüsyonla stok standarttan 200 (direkt stoğun kendisi kullanılır), 100, 50, 25, 12, 6, 3 ve 1,5 µM'lık standartlar hazırlanır.

Deneyin yapılışı: Malondialdehid'in aktivitesi, Ohkawa ve ark. (1979)'ın tarif ettiği metod modifiye edilerek tayin edildi (Ohkawa ve ark., 1979).

Tablo 3.4. Malondialdehid aktivitesi için kullanılan reaktif miktarı

	Numune tüpü	Standart tüpü	Kör tüpü
SDS	200 µL	200 µL	200 µL
Asetik asit	1500 µL	1500 µL	1500 µL
TBA	1500 µL	1500 µL	1500 µL
Numune	200 µL	-	-
Standart	-	200 µL	-
Distile su	700 µL	700 µL	900 µL

Vorteksle karıştırdıktan sonra, sıcaklığı 95°C olan su banyosunda 1 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon bittikten sonra tüpler, fazlar karıştırılmadan, çeşme suyu altında soğutuldu. Her bir tüpün üste kalan pembe renkli süpernatanından 600 µL

alınarak karşılık gelen ependorfa aktarıldı. Her bir ependorfa aşağıdaki pipetlemeler yapıldı.

Tablo 3.5. Malondialdehid aktivitesi için kullanılan pipetleme miktarı

	Numune tüpü	Standart tüpü	Kör tüpü
Saf su	150 µL	150 µL	150 µL
Piridin/n-bütanol	750 µL	750 µL	750 µL

Ependorf içeriği iyice vortekslendi, 4000 devirde 10 dakika santrifüjlendi. Fazlar karıştırılmadan üst fazdan 200 µL alınarak mikropate okuyucuda 532 nm’de standart ve numunelerin absorbansı okundu ve standartlara karşı numunelerin konsantrasyonları kaydedildi. Konsantrasyon µmol/L olarak ifade edildi.

3.2.6. Protein Tayini

Kullanılan Reaktifler:

A- Renk reaktifi (Commassie blue brilant G-250) : 50 mL mutlak etanolde 100 gr Commassie blue brilant G-250 çözünür. Buna % 85’lik 100 ml ortafosforik asit ilave edilir. Hacim distile su ile 1000 mL’ye tamamlanır.

B-Stok standart: 1 mL de 1 mg olacak şekilde hazırlanır. Bunun için 10 mg BSA 10 mL suda çözünür.

Deneyin yapılışı: Protein tayini, Bradford (1976)’nın tarif ettiği metoda göre tayin edildi. Numuneler distile su ile 10 kat seyreltildi. Stok standarttan 20, 40, 80, 100, 120, 140, 160, 180 ve 200 mg/mL konsantrasyonlarda standart dilüsyonlar hazırlandı. Numune, standart ve körden 200 µl alınarak mikropate pipetlendi. 595 nm dalga boyunda absorbanslar okunarak standart grafiğe karşı konsantrasyonlar kaydedildi (Bradford,1976)

Tablo 3.6. Protein tayini için kullanılan reaktif miktarı

	Numune	Standart	Kör
Dilüe numune	100 µl	-	-
Standart	-	100 µl	-
Distile su	-	-	100 µl
Renk reaktifi	5000 µl	5000 µl	5000 µl
10 dk inkübasyon			

3.3. Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kimyasalların temin edildiği firmalar Tablo 3.7'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7. Kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların temin edildiği firmalar

Kimyasal madde	Firma
Eter	AK Kimya A.Ş
Glutasyon, red ükte form	Sigma-Aldrich
Glutasyon, okside form	Sigma
Glutasyon red üktaz	Sigma
NADPH, tetrasodyum salt, red ükte form	Sigma
Etilen diamintetraasetik, di sodyum tuzu	Sigma
Meta-fosforik asit	Sigma
Bovine serum albumin	Sigma
Xanthine	Sigma
Tiyobarbit ürik asit	Sigma
Xanthine oksidaz	Sigma
Commassie blue brilant G-250	Merck
Nitroblue tetrazolium	Sigma
5,5 Dithio 2 Nitrobenzoik asit	Fluka
S ülfanil amid	Merck
Çinko s ülfat	Merck
Hidrojen peroksit	Merck
Tris tamponu	Merck
Sodyum nitrit	Merck
Sodyum hidrojen fosfat di hidrat	Merck
Potasyum di hidrojen fosfat	Merck
Sodyum nitrat	Merck
Sodyum dodesil s ülfat	Merck
Asetik asit	Sigma-Aldrich
Flavin adenin din ükleotit	Sigma
N-1 Naphtyletilendamin	Merck
Potasyum nitrat	Sigma
1,1,3,3-tetraetoksi-propan	Sigma
Sodyum klor ü	Merck
Sodyum karbonat	Merck
Piridin	Merck
Ortho-Phosphorsaure % 85'lik reints	Merck
1-B ütanol	Sigma-Aldrich

3.4.Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Çalışmada kullanılan cihaz ve bu cihazların temin edildiği firmalar (Tablo 3.8) gösterilmiştir.

Tablo 3.8.Kullanılan cihaz ve bu cihazların temin edildiği firmalar

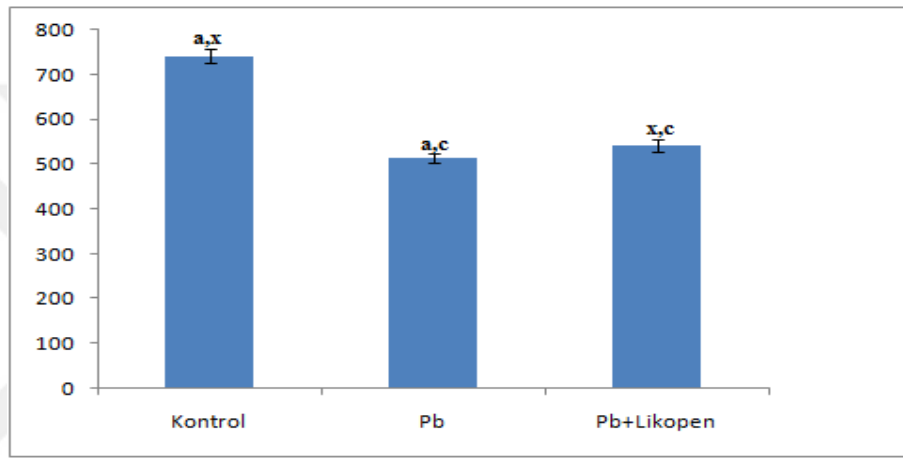
Cihaz veya alet	Firma ve/veya ülke
Makas	Stainless steel Oluşum 11-346
Pens	Stainless
Erlen (1000 mL)	Bomex
pH metre	Istek 730 P, Korea
Mikropipet	Fischer
Santrif üj	Hettich Zentrif ügen Rotofix 32, Germany; MSE Mikro centaur Sanyo, U.K.
Mikrosantrif üj	Sanyo, UK
Hassas terazi	Sartorius AG, Germany
Mikroplate okuyucu	Bio-tek PowerWave XS, The USA
Manyetik karıştırıcı	1. Fisher, USA2. Yellowline MSH basic, Germany
Su banyosu	1 Kotterman, Germany
Vorteks	Heidolph Reax Top, Germany
Homojenizat ör	Castaloy-R
Saf su cihazı	Mes mp minipure Su Arıtma Sistemleri, Türkiye
Derin dondurucular	1. Sanyo Ultra Low Temperature Freezer MDF-U281, Japan 2. Uğur USS 374 DTKL, Türkiye
Ultrasonikat ör	Misonix
Otomatik pipet (çeşitli tür ve hacim)	Multikanallı finnpipette Labsystems; Tranferpette brand, Germany; Ependorf research physio Care concept; Exelpette, elkay; medispec-plus

3.5. İstatiksel Analiz

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirildi. Sonuçlar ortalama (X) ve standart sapma (SD) şeklinde verildi. İstatistiksel değerlendirmesi, SPSS 17 istatistik programın'da anlamlılık sınırı $p < 0,05$ alınarak yapıldı (Akkoyun, 2012).

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

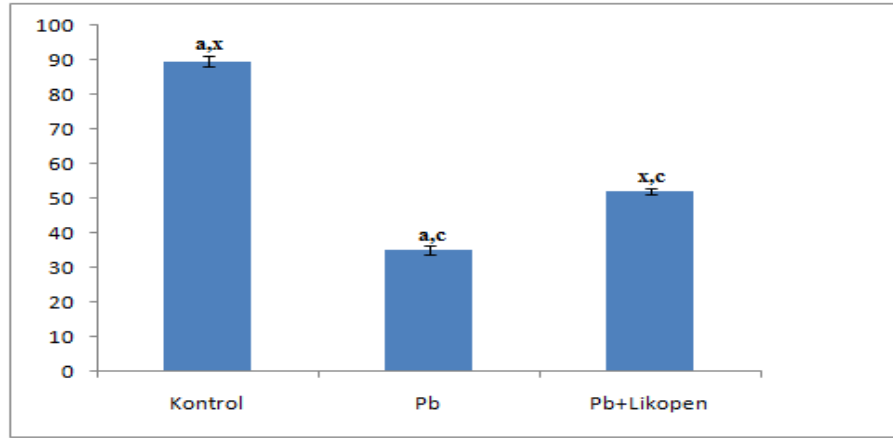
Çalışmada rat karaciğer dokusu antioksidan enzim aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde SOD enzim aktivitesinin Pb uygulanan grupta kontrole oranla azaldığı ($p<0.001$), yine Pb+likopen grubunda da azalmanın ($p<0.001$) olduğu görüldü. Pb grubu ile kıyaslandığında, Likopen uygulanan grupta ise aktivitenin arttığı ($p<0.05$) tesbit edildi (Şekil 7.1). 2019 yılında Kaya ve ark. Dietillitrosaminin (DEN) karaciğer dokusunda neden olduğu oksidatif stress üzerine yapmış oldukları çalışmada SOD enzim aktivitesinin DEN uygulanan grupta kontrole oranla azaldığı ($p<0,001$) ve likopen uygulanan grupta ise aktivitenin DEN grubu ile kıyaslandığında arttığını ($p<0.001$) (Kaya ve ark.,2019)



Şekil 4.1. Karaciğer dokusundaki süperoksidad(SOD) düzeyleri (EU/mg protein)

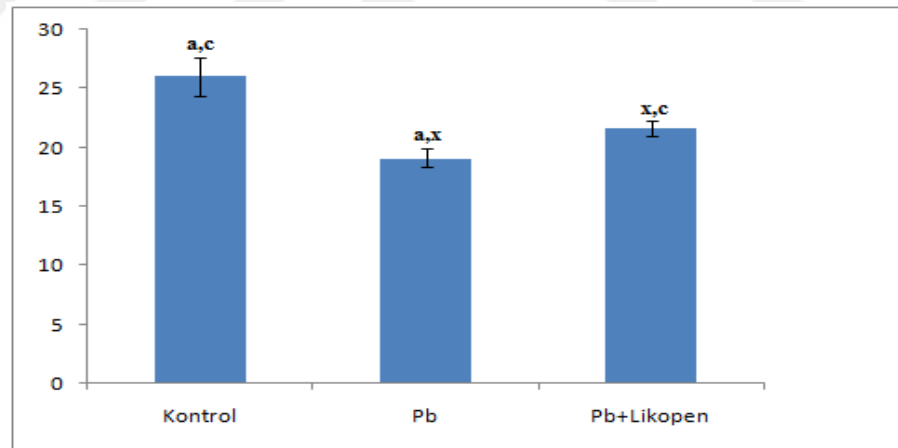
(a,x: $p<0,001$,c: $p<0,05$)

Doğadaki bütün canlılarda bulunan hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü sağlayan önemli savunma enzimlerinden CAT enzim aktivitesi değerlendirildiğinde; kontrole oranla Pb ve Pb+likopen uygulanan gruplarda aktivitede azalma ($p<0.001$) olduğu görüldü. Yine Pb uygulanan grupla karşılaştırıldığında likopen uygulanan grupta enzim aktivitesinde artış belirlendi ($p<0.05$) (Şekil 7.2). 2005 yılında Kurt ve ark. sıçanlarda karbon tetraklorit'in oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada karaciğer CAT düzeyleri değerlendirildiğinde karbontetraklorür uygulanan grup kontrol grubuna göre azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Kurt ve ark., 2005).



Şekil 4.2. Karaciğer dokusundaki katalaz(CAT) düzeyleri (EU/mg protein) (a,x:p<0,001,c:p<0,05)

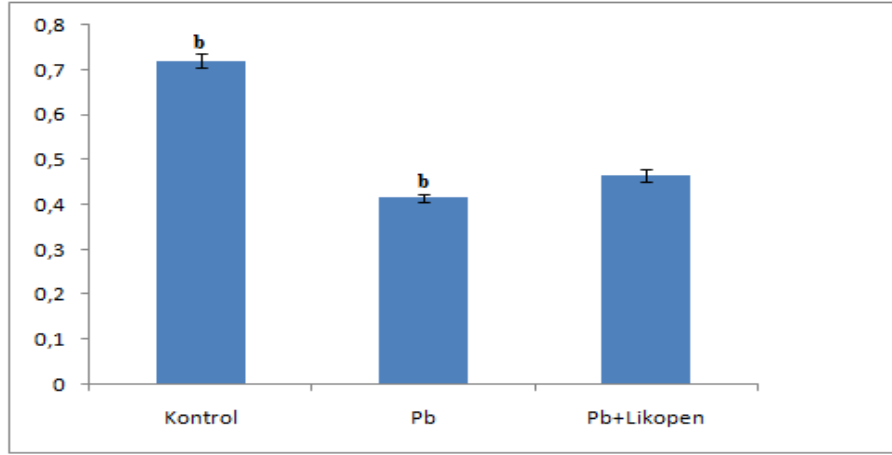
GPX enzim aktivitesi değerlendirildiğinde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında Pb (p<0.001) ve Pb+likopen (p<0.05) uygulanan gruplarda aktivitenin azaldığı görüldü. Ayrıca Pb uygulanan grup ile karşılaştırıldığında likopen uygulanan grupta artış olduğu görüldü(p<0,001) (Şekil 7.3). 2005 yılında Kurt ve ark. sıçanlarda karbon tetraklorit'in oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada karaciğer GSH-Px aktivitesi, karbontetraklorür grubu kontrole göre oldukça düşük olup, bu değer istatistiksel açıdan önemli derecede farklı olduğu belirlenmiştir (p<0.001) (Kurt ve ark., 2005)



Şekil 4.3. Karaciğer dokusundaki glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri (EU/mg protein) (a,x:p<0,001,c,p:<0,05)

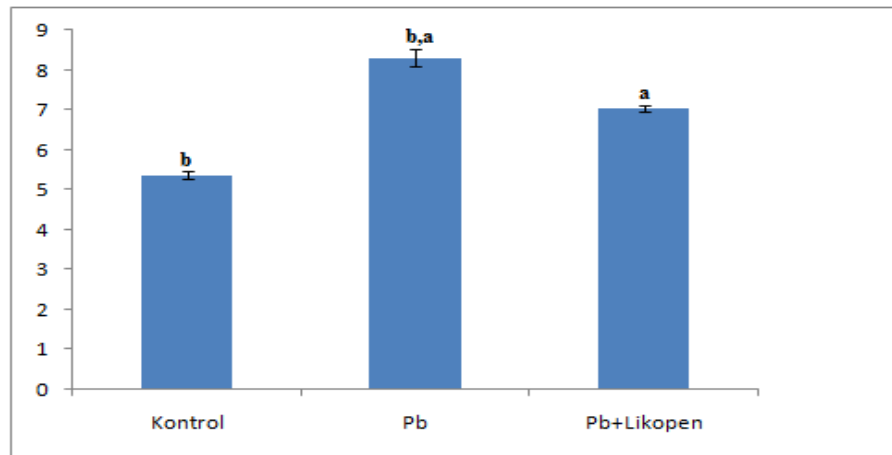
GSH düzeyi değerlendirildiğinde ise; kontrol grubuna oranla Pb uygulaması yapılan grupta GSH değerinde istatistiksel olarak anlamlı (p<0.01) azalış belirlendi. Yine Pb uygulaması yapılan gruba oranla likopen + Pb uygulanan gruplarda artış gözlemlendi (Şekil 4.3). 2006 yılında Karahan ve ark. Ratlarda cisplatin ve gentamisin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri ile ilgili

yaptıkları çalışmada karaciğer GSH düzeylerinin cisplatin uygulamasını takiben likopen ve gentamisin'le eş zamanlı likopen uygulamaları yapılan gruplarda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü (Karahan ve ark., 2006).



Şekil 4.4. Karaciğer dokusundaki Glutatyon(GSH) düzeyleri (EU/mg protein) (b:p<0,001)

MDA düzeyi değerlendirildiğinde ise; kontrol gruba oranla Pb uygulaması yapılan grupta önemli lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyinde artışın ($p<0.01$), yine Pb uygulaması yapılan gruba oranla Pb + likopen uygulaması yapılan grupta meydana gelen azalışın ($p<0.001$) önemli olduğu belirlendi (Şekil 7.5). 2006 yılında Karahan ve ark. Ratlarda cisplatin ve gentamisinin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri ile ilgili yaptıkları çalışmada tek doz cisplatin uygulanan ratlarda plazma MDA ile karaciğer MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli artışın olduğunu gözlemlemişler. Cisplatin uygulamasını takiben likopen verilen grupta hem plazma hemde karaciğer MDA düzeyinde azalmanın olduğunu gözlemlemişlerdir (Karahan ve ark.,2006)



Şekil 4. 5. Karaciğer dokusundaki malondialdehid (MDA) düzeyleri (EU/mgprotein) (a:p<0.001, b:p<0.01)

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1.Sonuçlar

Kurşun asetat uygulanan ratlarda meydana gelen hepatoksisite mekanizmalarından biri oksidatif hasardır. Kurşun asetat uygulanan ratların karaciğer hasarın varlığı biyokimyasal (SOD, CAT, GSH-Px, GSH, MDA düzeyleri değerlendirilerek) olarak tespit edilmiştir.

5.2. Öneriler

SOD, CAT, GSH-Px, gibi antioksidan enzimler ve GSH, MDA düzeylerinin anlamlı olarak değiştiği, karaciğer dokusunda tesbit edilen pozitif etkileri nedeniyle likopenin koruyucu olabileceği, bulunan sonuçların gelecekte yapılacak çalışmalara farklı dozlar uygulamasına bağlı olarak yön verebileceği düşünülmektedir. Araştırma sonuçlarına dayanılarak likopen uygulamasının oksidatif strese bağlı olarak meydana gelen aktivite kayıplarını önlemede önemli olabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abdulkadir, P., 2009. Ratlarda renal hipoksiye bağılı oluşan oksidatif stress üzerine likopen'in olası koruyucu etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Aydın,23.
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro assay methods, *Methods in Enzymology*,105:121-126
- Akkuş, İ.,1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri,1. Ed, Konya, Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım.
- Akkoyun, H.T., 2012. Fötal Dönemde Nikotine Maruz Kalan Sıçanlarda Oluşan Böbrek Hasarının Engellenmesinde Ellagic Asitin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Alp, H.H., 2005. Hiper ve Hipotiroidili Hastalarda Homosistein S-Adenozilmetiyonin ve Antioksidan Düzeyleri, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Bagis, S., Tamer, L., Sahin, G., Bilgin, R., Guler, H., Ercan, B., Erdogan, C, 2005. Free radicals and antioxidants in primary fibromyalgia: an oxidative stress disorder?, *Rheumatology international*, 25(3),188-190.
- Bardakçı, Ö., 2017. Bazı sentetik antioksidanların 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemi ile antioksidan aktivitelerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Aydın.
- Benzer, F. ve Ozan, T.F., 2003. Fasciola Hepatica in enfekte koyunlarda lipid peroksidasyonu antioksidant enzimler ve nitrik oksit düzeyleri, *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 27: 657-661.
- Bradford, M.M.,1976. A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye. *Binding Analytical Biochemistry*, 72:248.
- Bramley, P.M., 2000. Is lycopene beneficial to human health?, *Phytochemistry*,54(3):233- 236.
- Canene-Adams, K., Campbell, J.K., Zaripheh, S., Jeffery, E.H., Erdman, J.W.,2005. The tomato as a functional food, *Journal of Nutrition*. 135(5):1226-30. <http://www.food-info.net/uk/caro/lycopene.htm> [Ziyaret Tarihi: 1 Temmuz 2017].
- Cheeseman, K.H. ve Slater, T.F.,1993. An introduction to free radical biochemistry, *British Medical Bulletin*,49(3), 481-93.
- Cheng, S.B., Liu, H.T., Chen, S.Y., Lin, P.T., Lai, C.Y., Huang, Y.C., 2017. Changes of oxidative stress, glutathione, and its dependent antioxidant enzyme activities in patients with hepatocellular carcinoma before and after tumor resection, *Plos one*, 12(1), e0170016.
- Clinton, S.K., 1998. Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease, *Nutrition Reviews*, 56(2): 35–51.
- Dağ, Ü., 2012. Kurşun asetat ile oksidatif strese maruz kalan sıçan dokularında bazı biyokimyasal parametreler üzerine naringenin etkisi. Yüksek Lisans Tezi, *Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adıyaman.
- Demir, F., Ozan, G., Temizer Ozan, P.S., 2015. Ratlara Uygulanan Kurşun Asetatın Karaciğer Arginazına Etkisi ve Enzimin Bazı Kinetik Özellikleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri, Veteriner Dergisi*. 29 (1): 37 - 43 .
- Demircan Poyraz, M., 2016. Deneysel Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında Likopenin Etkileri, Doktora Tezi, *Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Edirne.

- Donald, E.P. ve Valentina,W.N., 1967. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine*, 70: 158-169.
- Duffus, J.H., 2002. Heavy metals" a meaningless term?(IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry*,74(5), 793-807.
- Erişir, M., 2018. Kurşun Uygulanan Ratların Bazı Dokularında (Kalp, Akciğer, Beyin, Dalak, Kas) Oksidatif Stress Üzerine Naringenin Etkisi, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(1), 34-41.
- Fairbans, V.F. ve Klee, G.G., 1999. Biochemical aspects of hematology. İn: CoA.Burtis and E.R.Ashwood, Editors, Tietz Textbook of clinical Chemistry, *Sounders*, Philadelphia,1991-2106.
- Gökhan, H.B., 2007. Balıklarda Serbest Radikaller Ve Antioksidan Savunma Sistemi. Doktora Semineri, *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elazığ*.
- Gökpinar, Ş., Koray,T., Akçiçek, E., Göksan, E.,Durmaz,Y., 2006. Algal Antioksidanlar,*Erciyes Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*.85-89.
- Güler, O., Şimşek, H., Özçelik, M., Benzer, F., Karahan, İ., Kaplan, S., 2016. Kurşun uygulanan ratlarda lipit peroksidasyon üzerine çörek otu tohumunun antioksidan etkileri, *Doğa ve Fen Bilimleri Dergisi*, 5:1.
- Kara, Haki., 2016. Veteriner Hekimliği Alanında Civa, Kurşun, Kadmiyum, Arsenik ve Bakır Toksikasyonları, *Türkiye Klinikleri Journal Veterinary Science Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 2(3), 30-7.
- Hekimoğlu, A., 2010. Likopenin Antikarsinojenik Etki Mekanizmaları, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 25 (1):57-62.
- Hemieda, F.A.K.E.S., Hassan, H.A., Ibrahim, E.E.B., Mashaly, M. A. E. M., 2017. Protective impact of lycopene on flutamide-induced hepatotoxicity in male rats. *Egyptian Journal Experimental Biology*, 13(1): 1-7.
- Hobson, G., Grierson, D.,1996. Tomato, 403-414, Biochemistry of Fruit Ripening, Seymour, G.B., Taylor, J.E. and Tucker, G.A. (Eds.), *Chapman and Hall*, London.
- İzgi, C., 2012. Farklı Kurutma Metotlarının Domatesteki Likopen Miktarına Etkisi.Yüksek Lisans Tezi, *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*,Tekirdağ.
- Jiang, W., Guo, M. H., Hai, X., 2016. Hepatoprotective and antioxidant effects of lycopene on non-alcoholic fatty liver disease in rat, *World Journal of Gastroenterology*, 22(46), 10180.
- Karakoç A., 2008. Paraoksonaz Polimorfizmleri İle tip 2 Diabetin Makro Ve Mikrovasküler Komplikasyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması,Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016. Serbest Radikaller, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1): 50-59.
- Karahan, İ., Yılmaz, S., Ateşşahin, A., 2006. Ratlarda Cisplatin Ve Gentamisin Kan İle Karaciğerde Oluşturdukları Oksidatif Stres Üzerine Likopenin Etkileri, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*,20(1), 39-43.
- Kaya, E.,Yılmaz, S.,Çeribaşı, A.O.,Telo, S., 2019. Protective effect of lycopene on diethylnitrosamine-induced oxidative stress and catalase expression in rats, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66, 43-52, 2019.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., 2003. Metallerin çevresel etkileri-I, *Metalurji Dergisi*, 136, 47-53.

- Kılıç Süloğlu, A., Girgin, G., Selmanoğlu, G., Balcı, S., Baydar, T., 2014. Possible effects of lycopene and silymarin on rat liver functions and oxidative stress markers, *Turkish Journal of Biochemistry*, 39(3):344–350.
- Kılınç, K., Kılınç, A., 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2002,33:110-118.
- Kunce, M.C., Trelease, R.N., 1986. Heterogeneity of catalase in maturing and germinated cotton seeds, *Plant Physiology*, 81: 1134-1139.
- Kurt, H., Başaran, A., Aral, E., 2005. Sıçanlarda Karbon Tetraklorit'in Oluşturduğu Oksidatif Stresin Likopen İle Önlenmesi, *Türkiye Klinikleri Journal Of Medical Sciences*, 25(2), 167-173.
- Kurutaş, B.E., 2001. Endosulfanın fare eritrosit antioksidan sistemleri ve malondialdehid düzeyleri üzerine etkisi, *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26:14-19.
- Landis, G.N., Tower J., 2005. Superoxide dismutase evolution and life span regulation, *Mechanisms of Ageing and Development*, 126: 365–379.
- Li, C.Q., Windsor, R.A., Perkins, L., 1993. The impact on infant birth weight and gestational age of cotinine-validated smoking reduction during pregnancy, *Journal of the American Medical Association*, 269: 1519-1524.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C., De, Castro IN., 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases, *Clinical Biochemistry*, 32: 595-603.
- Mc Cord, J.M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein), *Journal of Biological Chemistry*, 244: 60409–60455.
- Memişoğulları R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-37.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *Yüzüncüyıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2): 91-96.
- Meydan, D., Gursel, B., Bilgici, B., Can, B., Ozbek, N., 2011. Protective effect of lycopene against radiation-induced hepatic toxicity in rats, *Journal of International Medical Research*, 39(4), 1239-1252.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical Biochemistry*, 1979, 95:351-358.
- Okçu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M., Pehlivan, M., 2009. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri, *Zirai Bilimler Dergisi*, 14-26:1307-3311.
- Orhan, Z., Köksal, N., Gökırmak, M., Hacıevliyagil, S.Ş., Hasanoğlu, H.C., Mehmet, N., Yıldırım, Z., 2003. KOAH Akut alevlenmesinde oksidatif stres ve tedavinin oksidan-antioksidan denge üzerine etkisi, *Solunum Hastalıkları*, 14: 5-10.
- Özbolat, G., Tuli, A., 2016. Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4), 502-521.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z., 2015., Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3).
- Parker, R.S., 1996. Absorption, metabolism and transport of carotenoids, *Faseb Journal*, 10: 542–51.
- Rao, A.V., Agarwal, S., 1998. Bioavailability and antioxidant properties of lycopene from tomato products. *Nutrition Cancer*, 31: 199-203.
- Sönmez, K., 2017. Domatesin Besin İçeriği Ve Gıda Olarak Değerlendirilmesi, *Türkiye Tohumcular Birliği dergisi*, 17,32-35.
- Sun, Yi., Oberley, L.W., Ying, Li., 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34:497-500.

- Tabakoğlu, E. ve Durgut, R.,2013. Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri, *Avkae Dergisi*, 3(1), 69-75.
- Tietz, F., 1969. Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues, *Analytical Biochemistry*, 27:502-522.
- Türkmen, R., 2013. Klorprifos Uygulanan Diyabetli Ratlarda Likopenin Antioksidan Ve Hipoglisemik Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Afyonkarahisar.
- Uzun, M., Öztürkmen, A., 1997. Deneysel İntraperitoneal Kurşun Asetat Uygulamasının Kobaylarda Elektrokardiyogram Üzerine Etkisi, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 44. 259-265.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M.M., Mazur, M.,2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- Weiting, N.I., Trelease, N.R., Eising, R., 1990. Two temporally synthesized charge subunits interact to form the five isoforms of cottonseed (Gossypium hirsutum) catalase, *Biochem Journal*,269: 233-238.
- Yılmaz, O., Dinç, Hikmet., 2013. Ağır Metallerin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(2), 91-94.

7.ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI

Toplantı Tarihi: 26.06.2018		Toplantı Sayısı:2018/07		Karar Sayısı:07/01	
<p>Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında görevli Dr. Öğr. Üyesi H. Turan AKKOYUN tarafından sunulan “Kurşun Asetata Maruz Kalan Sıçan Karaciğer Dokusunda Likopenin Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi” başlıklı araştırma projesi başvurusu etik yönden değerlendirilmiştir.</p> <p>Değerlendirme sonucunda projede Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi ilkelerine uyulduğuna, projenin araştırma etiği açısından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;">Hayvan Türü / Irkı: Rat / Wistar Albino Sayısı: 24</p>					
 Prof. Dr. Hüseyin NURSOY Başkan			 Doç. Dr. Erdal KAYGUSUZOĞLU Başkan Yardımcısı		
 Prof. Dr. Hayati YÜKSEL Üye		İZİNLİ Doç. Dr. Mustafa KOYUN Üye		 Doç. Dr. Bünyamin SÖĞÜT Üye	
 Doç. Dr. Hakan İNCİ Üye		İZİNLİ Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ULUPINAR Üye		KATILMADI Dr. Öğr. Üyesi Halil ŞİMŞEK Üye	
ARAŞTIRMACI Dr. Öğr. Üyesi Aydın Şikrü BENGÜ Üye		 Dr. Öğr. Üyesi Nur Özlem KILINÇ Üye		 Dr. Öğr. Üyesi Aykut ULUCAN Üye	
 Dr. Öğr. Üyesi Aliye BULUT Üye		 Dr. Öğr. Üyesi Fatma CAF Üye		 Dr. Öğr. Üyesi Metin GÜRÇAY Üye	
 Dr. Öğr. Üyesi Yusuf TEMEL Üye		 Arş. Gör. M. Akif KILINÇ Sorumlu Veteriner Hekim		 Arş. Gör. Emre ŞAHİN BÜHADYEK Sekreteri	
KATILMADI Mehmet Yaşar DEVRAN STK			KATILMADI Vahap DANIŞ Sivil Üye		

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Rıdvan ESEN
Doğum Yeri ve Tarihi : Siirt- 15.07.1987
Telefon : +90 05424123409
E-posta : rdvnesn2156@outlook.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise :	Siirt Lisesi	2005
Üniversite :	Dicle Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans :	Siirt Üniversitesi	2019

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2015-2017	MEB-	Ücretli
2017-2018	Gıda Müh.	Sağlık teknikerliği

YABANCI DİLLER

İngilizce