

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARA FARKLI ÇÖZÜCÜLERDE HAZIRLANARAK
VERİLEN *MENTHA SPICATA LAMIACEAE* NANE
EKSTRELERİ İLE KURU TOZUNUN KANDA, β - KAROTEN,
A, C VİTAMİNLERİ, KATALAZ, GLUTATYON PEROKSİDAZ,
GLUTATYON REDÜKTAZ, MALONDİALDEHİD,
SUPEROKSİD DİSMUTAZ ENZİMLERİ VE TOTAL
ANTIOKSİDAN KAPASİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Ayşe ÖZDEMİR

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nalân BAYŞU SÖZBİLİR

**Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
08-VF-07 proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No:2010-003

2010-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı


çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

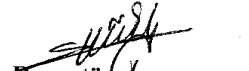
Tez Savunma Tarihi: 26./05./2019



Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nalân BAYŞU SÖZBİLİR

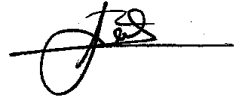

Üye
Prof. Dr. Recep ASLAN


Üye
Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ


Raportör
Doç. Dr. Gülcan AVCI


Üye
Yrd. Doç. Dr. Miyase ÇINAR

Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi Ayşe ÖZDEMİR'in "Ratlara Farklı Çözücülerde Hazırlanarak Verilen *Mentha Spicata L.* Nane Ekstreleri İle Kuru Tozunun Kanda, Beta Karoten, A, C Vitaminleri, Katalaz, Glutatyon Peroksidaz, Glutatyon Redüktaz, Malondialdehid, Superoksid Dismutaz Enzimleri Ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 03.06./2019 günü saat 16.00'da Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Esmâ KOZA
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Günlük yaşantımızda çok kullandığımız flavonoid içerikli bitkilerden mentha çeşitleri hakkında ve özellikle antioksidan etkileri yıllardır araştırılıyor olmasına karşın, ekstrelerinin yanında kuru tozuyla birlikte antioksidan kapasite ve β - karoten, A ve C vitaminleri, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, malondialdehid, süperoksid dismutaz enzimlerinin beraber değerlendirmeye alındığı çalışmalara rastlanılmaması dikkate değerdir. Bu tez, Mentha spicata'nın antioksidan aktivite düzeylerine ve bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Sağlık bilimlerinin temeli olan biyokimya doktora eğitimim boyunca benden yardımlarını, desteğini, sabrını ve bilgisini esirgemeyen, mesleki anlamda kendilerinden çok şey öğrendiğim, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan tezimin son aşamasına kadar büyük zaman ve emek harcayan değerli hocam Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nalân Bayşu Sözbilir Hanımefendiye saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Engin bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan ve yetişmemizde büyük emeği olan Prof. Dr. Nihat Bayşu'ya ve Prof. Dr. Yılmaz Dünder'a, doktora tez konumun planlanmasında ve yürütülmesinde yardım ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Recep Aslan, Prof. Dr. Abdullah Eryavuz'a, Doç. Dr. Gülcan Avcı'ya ve çalışmamın değişik aşamalarında desteğini gördüğüm tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora programına girişten bitiş anına kadar bana gösterdikleri destek ve güven için Uşak Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Adnan Şişman'a saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Eğitimim süresince keyifli anlar paylaştığım, literatür araştırmalarımnda ve deneysel çalışmalarımnda bana birebir yardımcı olan Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalındaki öğretim görevlisi ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Tez çalışmasında kullanılan bitkilerin botanik tanımlamasını yapan Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Başkanı Prof. Dr. Mecit Vural'a ve Doç Dr Esra Akkol'a, 08.VF.07 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne teşekkür ederim.

Tez yazımında, ingilizce metinlerin çevirisinde bana destek olan, Uşak Üniversitesi ve Sağlık Yüksekokulundaki hocalarım ile isimlerini tek tek sayamayacağım bütün sekreter ve personel arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Sadece mesleki alanda değil hayatın diğer alanlarında da hiçbir zaman yardımını ve desteğini esirgemeyen, laboratuvar ve ders çalışmaları sırasında engin hoşgörü gösteren sevgili eşim Opr. Dr. Dalyan Özdemir'e, bitkilerin toplanmasından deneylerin yapılmasına kadar tezimin tüm aşamalarında yanımda bulunan, Afyon-Uşak karayolunda ko-pilotluk yapan sevgili babam Enver Özbek'e, doktoramın dörtgözle bitmesini bekleyen oğullarım Eren ve Emir ile yaşamımın her anında bana sabır gösteren ve güven duyan annem Şengül Özbek'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL ve ONAY	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER.....	x
TABLolar.....	xi
GRAFİKLER.....	xii
RESİMLER.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Lamiaceae Familyası.....	5
2.2. Bitkiler ve Nanede Antioksidan Aktivite	10
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri	11
2.3.1. Oksijen Toksisitesi ve Reaktif Türler Olarak Radikaller	13
2.3.2. Reaktif Oksijen Radikalleri	15
2.3.2.1. Hidrojen Peroksid (H ₂ O ₂).....	17
2.3.2.2. Süperoksid Radikali (O ₂ •-).....	19
2.3.2.3. Singlet Oksijen (O ₂ [˙])	20
2.3.2.4. Hidroksil Radikali (OH)	21
2.3.3. Reaktif Nitrojen Türleri (NO)	21
2.3.4. Serbest Radikal Kaynakları	23
2.3.4.1. Eksojen Kaynaklar	23
2.3.4.2. Endojen Kaynaklar	23
2.3.5. Serbest Radikallerin Etkileri	25
2.3.5.1. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri	27
2.3.5.2. Serbest Radikallerin DNA ve Nükleik Asitler Üzerine Etkileri.....	28
2.3.5.3 Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	29
2.3.5.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	30

2.3.6. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi	30
2.4. Antioksidanların Etki Mekanizması	36
2.4.1. Antioksidan Aktiviteden Sorumlu Bileşikler	37
2.4.1.1. Flavonoidler	37
2.4.1.2. Fenolik Bileşikler	39
2.4.1.3. Karotenoitler ve β -karoten	40
2.4.2 Doğal Antioksidan Kaynakları	43
2.4.3. Enzimatik ve Nonenzimatik Antioksidanlar	45
2.4.3.1. Superoksit Dismutaz (SOD)	45
2.4.3.2. Glutatyon (GSH)	46
2.4.3.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)	49
2.4.3.4. Glutatyon Redüktaz (GR)	51
2.4.3.5. Glutatyon S-Transferaz (GST)	51
2.4.3.6. Katalaz (KAT)	51
2.4.4. Malondialdehid (MDA)	52
2.4.5. Antioksidan Vitaminler	53
2.4.5.1. E Vitamini (Tokoferol)	53
2.4.5.2. A Vitamini	56
2.4.5.3. C Vitamini (Askorbik asit)	57
3. GEREÇ VE YÖNTEM	60
3.1. Gereç	60
3.1.1. Deney Hayvanı	60
3.1.2. Deneysel Gruplar ve Deneme Protokolü	60
3.1.3. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	62
3.1.4. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	63
3.1.5. Mentha Spicata L'nin Ekstrelerinin Hazırlanması	64
3.1.6. Mentha Spicata L'nin Ekstrelerinin Hazırlama Yöntemi	64
3.2. Yöntem	65
3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması	65
3.2.2 Eritrosit Paketlerinin Hazırlanması	66
3.2.3. %0,5 lik Karboksümetilselüloz (CMC) Hazırlanması	66

3.2.4. Biyokimyasal Analizler	66
3.2.4.1. Vitamin A ve β - karoten Düzeyi Ölçümü	66
3.2.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Ölçümü	67
3.2.6. Katalaz (KAT) Aktivite Ölçümü	70
3.2.7. Malondialdehid (MDA) Düzeyi Ölçümü	71
3.2.8. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Ölçümü	72
3.2.9. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivite Ölçümü	73
3.2.10 Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri Ölçümü	74
3.2.11 Glutasyon Düzeyi Ölçümü	77
3.2.12 Vitamin C Düzeyi Ölçümü	77
3.3. İstatistik Analizler	78
4. BULGULAR	78
4.1. Canlı Ağırlığı Profilleri	78
4.2. Vitaminler ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler	80
4.2.1. Malondialdehid (MDA) Düzeyleri	81
4.2.2. Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri	82
4.2.3. Glutasyon (GSH) Düzeyleri	83
4.2.4. Vitamin A Düzeyleri	84
4.2.5. β - karoten Düzeyleri	85
4.2.6. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi Aktivitesi	86
4.2.7. Katalaz (KAT) Enzimi Aktivitesi	87
4.2.8. Glutasyon peroksidaz(GPx) Enzimi Aktivitesi	88
4.2.9. Glutasyon Redüktaz(GR) Enzimi Aktivitesi	89
4.2.10. Vitamin C Düzeyleri	90
5.TARTIŞMA	92
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	110
ÖZET	115
SUMMARY	118
KAYNAKLAR	121
ÖZGEÇMİŞ	130

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADP	: Adenozindifosfat
AOA	: Antioksidan Aktivite
BHT	: Bütil Hidroksi Toluen
-CCl ₃	: Triklorometil Radikali
CMC	: Karboksimetil Selüloz
Co	: Kobalt
CoA	: Koenzim A
Cu	: Bakır
CuCl ₂	: Bakır Klorür
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DTNB	: 5.5'-2-Ditiyo Bisnitro Benzoik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asiti
FAD	: Flavinamid Adenin Dinüklotit
Fe	: Demir
Fe-EDTA	: Demir Etilen Diamin Tetra Asetik Asidi
Fe-S	: Demir Sülfür
g	: Gram
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
GR	: Glutatyon Redüktaz
GSH	: Redükte Glutatyon
GSSH	: Okside Glutatyon
GST	: Glutatyon S-Transferaz
H•	: Hidrojen
HO ₂ •	: Perhidroksi Radikal
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HOCl	: Hipoklorik Asit
KAT	: Katalaz

L	: Labiatae (Lamiaceae)
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LP	: Lipit Peroksidasyonu
M	: <i>Mentha</i>
MDA	: Malondialdehit
MD	: <i>Mentha</i> Dietil Eter Ekstresi
Mn	: Mangan
Mo	: Molibden
MS	: <i>Mentha</i> Sulu Ekstresi
MT	: <i>Mentha</i> Toz
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Difosfat Hidrojen
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
ng	: Nanogram
nm	: Nanomol
NO	: Nitrojen Oksit
NO ₂	: Nitrojen Dioksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
O ₂	: Oksijen
O ₂ •-	: Süperoksid Radikali
O ₂ •	: Singlet Oksijen
O ₃	: Nonradikal Ozon
OH•	: Hidroksil Radikali
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
ONOOH	: Peroksinitröz Asit
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
PEG	: Polietilen Glikol
PMSF	: Fenilmetilsülfonil
PTX	: Pentoksifilin

PUFA	: Poli Ansatüre Yağ Asidi
RO·	: Alkoksil
RO ₂ ·	: Reaktif Oksijen Radikali
ROO ⁻	: Peroksil Radikal
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RS•	: Thyl radikali
SH	: Sülfhidril
Sit c	: Sitokrom C
SOD	: Superoksit Dismutaz
STW	: Iberogast
TBA	: Tiobarbitürik Asit
TBARS	: Tiobarbitürik Asit Reaktif Substans
TCA	: Trikloroasetik Asit
Zn	: Çinko
β	: Beta

ŞEKİLLER**Sayfa**

Şekil 2.1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türlerinin Vücuttaki Etkileri.....	26
Şekil 2.2. Lipit Peroksil Radikali	27
Şekil 2.3. Oksidatif Stres	31
Şekil 2.4. Oksidatif Stres ve Metabolizma Değişiklikleri	33
Şekil 2.5. Terpen Bileşiklerinin Oluşumu	42
Şekil 2.6. Besin Maddelerinde Yaygın Olarak Bulunan Karotenoitlerin Yapı Formülleri	43
Şekil 2.7. Heksozmonofosfat Yolu	49
Şekil 2.8. Hücrenin Lipid Fazı (Zarlar) İle Sulu Fazında (Sitozol) Çalışan Antioksidan Sistemleri Arasında Etkileşim Ve Sinerjizm	55

TABLOLAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Mentha L. Cinsinin Taksonomik Olarak Sınıflandırması.....	8
Tablo 2.2. Mentha Cinsine Dahil Olan Önemli Türlerin Taksonomisi ve Bazı Özellikleri.....	9
Tablo 2.3. Tıbbi Olarak Nane İhracatımız.....	10
Tablo 2.4. Sık Karşılaşılan Radikaller, Simgeler ve Kimlikleri.....	17
Tablo 2.5. Bilinen Endojen Antioksidanlar ve Etkinlikleri.....	34
Tablo 2.6. Başlıca Eksojen Antioksidanlar ve Özellikleri	35
Tablo 2.7. Terpenoitlerin Sınıflandırılması.....	40
Tablo 3.1. Araştırmada Kullanılan Standart Rat Yeminin Ham Besin Madde Analiz Sonuçları.....	61
Tablo 4.1. . Çalışma Başlangıcı (0. Gün), Ortası (14. Gün) ve Sonunda (28. Gün) Elde Edilen Rat Ağırlıkları(gr) Genel ortalamalar (Total), Ortalama (Mean), Standart sapma (Std. Deviation) ve Rat sayısı (N)	78
Tablo 4.2. Vitaminler ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Bulguların Aritmetik Ortalama (\bar{X}), Standart Hata (SEM) ve Anlamlılık Düzeyleri (P).....	81

GRAFİKLER

	<u>Sayfa</u>
Grafik 4.1. Gruplarda Gözlenen Canlı Ağırlığı Değişimi	80
Grafik 4.2. Gruplar Arasındaki MDA Düzeyi Farklılıkları.....	82
Grafik 4.3. Gruplar Arasındaki TAK Düzeyi Farklılıkları.....	83
Grafik 4.4. Gruplar Arasındaki GSH Düzeyi Farklılıkları.....	84
Grafik 4.5. Gruplar Arasındaki Vit A Düzeyi Farklılıkları.....	85
Grafik 4.6. Gruplar Arasındaki β - karoten Düzeyi Farklılıkları.....	86
Grafik 4.7. Gruplar Arasındaki SOD Düzeyi Farklılıkları.....	87
Grafik 4.8. Gruplar Arasındaki KAT Düzeyi Farklılıkları.....	88
Grafik 4.9. Gruplar Arasındaki GPx Düzeyi Farklılıkları.....	89
Grafik 4.10. Gruplar Arasındaki GR Düzeyi Farklılıkları	90
Grafik 4.11. Gruplar Arasındaki Vit C Düzeyi Farklılıkları	91

RESİMLER

Sayfa

Resim 1.1. Naneli Bir İlaç Listesi	4
Resim 2.1. Mentha Spicata Bitkisi (Spermint).....	5
Resim 2.2. Mentha Spicata Bitkisi (Spermint).....	7

1. GİRİŞ

Ülkemiz farklı iklim bölgelerine ait çok zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. İklim değişiklikleri doğal olarak bitki topluluklarının dağılışı üzerinde etkili olmuştur. Ülkemizde yer alan bitkilerin yaklaşık üçte biri günümüz iklim şartlarının ortaya çıkmasından daha önce oluşmuş kalıntı bitkilerdir. Ülkemizin yer şekillerinin çok çeşitlilik göstermesi ve geçmişte sık sık önemli iklim değişimlerinin yaşanması, endemik türler bakımından da zenginleşmesini sağlamıştır. Avrupa'daki 2500 endemik bitki türüne karşılık, tek başına Türkiye'de 3000 endemik tür vardır (Ekim, 1998).

Ülkemizin her bölgesinde bitkiler değişik amaçlarla ve yöntemlerle, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmakta, bazı bitkiler çay olarak tüketilmekte, yabancı bitkilerin çoğu baharat olarak, koku ve tat vermek için kullanılmaktadır (Şimşek ve ark., 2002).

İlkçağlardan beri birçok uygarlıkta kullanılmasının yanında, Osmanlı ve Türk tıbbında da, nane bitkisinden (*Mentha Piperitae, Labiatae*) elde edilen, nane yaprağı (*Folium Menthae Piperitae*) ve nane yağı (*Oleum Menthae Piperitae*), çok fazla kullanılan bir baharat türü olup, her türlü hastalığın tedavisi için başvuru bir maddeydi. Eski Mezopotamya Kodeksi 250 adet bitkisel ve 120 adet kadar da madeni ve hayvanî drog bulundurmada, bu kodeksde nane de ilaç olarak yer almaktadır. Ortaçağın ünlü Türk hekimi İbni Sina'nın (980 -1037) yanında, 15. yüzyılda Fatih Sultan Mehmed döneminde, sarayda kullanılan baharatlar arasında da nane bulunmaktadır. Sonbahar mevsiminde Osmanlı sarayında nane çorbası yapılır, Topkapı Sarayı'nda hekimbaşları sarayda ilaçlar hazırlayarak halka bunları sunarlardı. Kırmızı, hazine yağı, bazı macunlar ve şerbetler bu ilaçlar arasında olup, nane de bir baharat ve ilaç olarak kırmızı ve macunların yapısına girmiştir. Nane 1877 tarihli *Düstür al-Edviye* adı verilen eski Türk kodekslerinde de kayıtlıdır. 1774 tarihli naneli bir ilaç listesi Resim 1.1.'de görülmektedir (Erdemir, 1999).

Nane, çok eski bir kültür bitkisidir ve tıbbi bitkiler arasına girmiştir. Türk farmakopesinde yer almasının yanında Avrupa, Fransa, Hint ve İngiliz farmakopesilerinde de yer almıştır (Demirezer, 2007).

Halk arasında da bugün *Mentha Spicata* yaprağı hem baharat, hem de mide bulantılarını kesici, gaz çıkaran karminatif bir drog olarak, sindirim kanalı hareketlerini uyarıcı ve irrite edici ve koku verici olarak infüzyon, nane suyu veya nane şurubu halinde kullanılmaktadır. Mentol maddesi içerdiğinden dolayı nane antiseptik olup, baharat özelliği nedeniyle de dostluk ve sevgi mesajı veren bir drog olduğu, tansiyon düşürücü olarak içildiği, siyatikden dolayı ağrıyan bölgelere sürüldüğü, kan temizleyici, kalp hastalıklarında uyarıcı, idrar söktürücü olarak kullanıldığı, karın ağrıları ve kalın barsak iltihabında, soğuk algınlığında, karaciğer rahatsızlıklarında ve birçok hastalığa karşı ilaç olarak, Osmanlı dünyasında yüzyıllarca kullanılmış, bu yararlı kullanımları bugün de devam etmektedir (Şimşek ve ark., 2002; Erdemir, 1999; Demirezer, 2007).

Baytop (1999); Sezik ve ark. (1991, 2001); Yeşilada ve ark.(1998), yaptıkları çalışmalardan elde edilen bulgularda, ülkemiz zengin bir flora ve kültür mirasına sahip olmasına rağmen, Anadolu'da yabani bitkilerin halk arasındaki tedavi, gıda ve diğer amaçlarla kullanılışını konu alan bilimsel nitelikte çalışmalar az olduğu görülür. Buna bağlı olarak etnobotanik çalışmaların yapılması da giderek zorlaşmaktadır (Erdemir, 1999; Eryiğit, 2006).

Sentetik olarak elde edilen ilaçların istenmeyen yan etkilerinin olması, sadece tek etkiye sahip olmaları, doğal ilaçların ise birkaç etkiye birden sahip olmaları yüzünden, günümüzde insanların tekrar doğal yolla elde edilen bitkisel drogları kullanmaya yönelmiş olduğu gözlemlenmektedir (Eryiğit, 2006).

Ülkemizin bitki türü bakımından Avrupa ülkelerinden daha zengin olmasının sebebi, Türkiye'nin değişik iklim ve ortam koşullarına sahip olması ve üç floristik bölgenin birleştiği bir kesimde bulunmasıyla ilgili bir durumdur. Ülkemiz florasında yaklaşık olarak 10.000 kadar bitki türü yetişmekte ve bunlardan 650 kadarı halk

hekimliğinde tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Eryiğit, 2006). Ancak, halk hekimliğinde yaygın olmasına rağmen bitkisel ilaçlar, hala ilaç rehberlerinde resmi olarak yerlerini yeterince alamamışlardır.

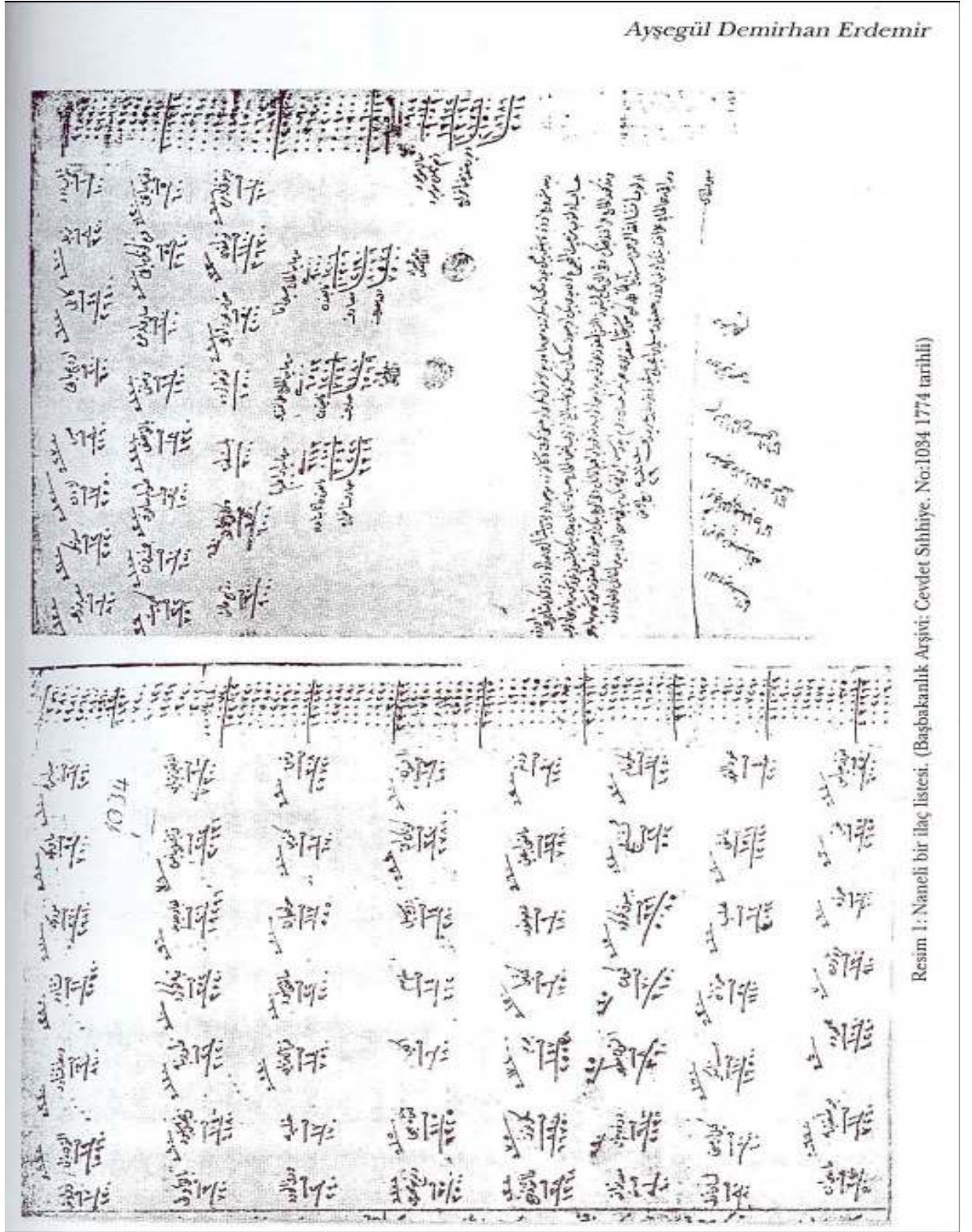
2002–2005 yıllarında, dört yıl süre ile yürütülen, Ege ve Güney Marmara Bölgeleri'nde Uşak'ın da yer aldığı toplam 10 ilde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler ve kullanım şekillerini belirlemeye yönelik çalışma sonucunda en fazla sayıda veri içeren *Lamiaceae (Labiatae)* familyasına ait bilgilere ulaşılmış ve bu bitkilerin halk ilacı olarak kullanıldığıyla ilgili 90 kayıt elde edilmiştir (Eryiğit, 2006).

Pek çok hastalığın başlangıç ve gelişiminde, uygun patolojik ve biyokimyasal mekanizma reaktif oksijen türleri ve antioksidan savunma sistemlerinin dengesizliği ile oluşur. Antioksidanlar düşük derişimlerde organik moleküllerin serbest radikal mekanizmalı oksidasyonunu önleyen bileşiklerdir. Son yüzyılda sentetik antioksidanlar gıda endüstrisinde koruyucu amaçlı olarak kullanılmakta, ancak kanserojen etkilerinin var olduğuna dair bulguların görülmesiyle, sentetik antioksidanların kullanımı ile ilgili yasal sınırlamalar getirilmeye başlandığı görülmektedir. Gıda endüstrisi ve farmasotik tıbbın bitkisel kökenli doğal antioksidanlara karşı ilgisi bu yüzden giderek artmaktadır. Bununla beraber, diyetle koruyucu etki sağlayan bazı bitki fenoliklerinin, gıdalardaki biyolojik miktarının ve ne kadar alınması gerektiğinin bilinmesi önemlidir (Eryiğit, 2006).

Günlük yaşantımızda çok kullandığımız mentha çeşitleri hakkında yapılan çalışmalar olmasına rağmen ekstrelerinin yanında kuru tozuyla birlikte β - karoten, A ve C vitaminleri, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, malondialdehid, süperoksid dismutaz enzimlerinin, antioksidan kapasite ile beraber değerlendirmeye alındığı çalışmalara rastlanılmaması dikkate değerdir.

Elde edilecek verilerin; bitkisel kökenli doğal antioksidanların kullanımına ve nanenin tüm bilinen etkilerinin yanında antioksidan aktivitesinin tüm ayrıntılarıyla açığa çıkarabilecek çalışmalara katkı sağlayacağı, diyetle eklenecek farklı *M. spicata*

düzeylerinin pet ve çiftlik hayvanlarının beslenmesinde, yeni rasyonların geliştirilmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir.



Resim 1.1. Naneli Bir İlaç Listesi (Erdemir, 1999)

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lamiaceae Familyası



Resim 2.1. Mentha Spicata Bitkisi (Spearmint)

18. yy başlarına kadar bitkisel tıp alanında kullanılmayan nane; Doğu Asya'ya özgü bir bitkidir. *Labiatae* ailesinin bir üyesi olan, spearmint (kıvırcık nane) veya genellikle *Mentha* türlerine verilen bir isim olarak bilinen bu tür, uzun zamandır değişik amaçlarla kullanılmaktadır. *Mentha*'nın iki ana formu vardır. *M. Piperita* (peppermint) ve Resim 2.1 ve Resim 2.2 de görüldüğü gibi *M. Spicata* (spearmint) formu (Telci, 2001).

Nane türlerinin pekçoğu ilaç, çay, gıda ve parfümeri sanayiinde kullanılmakta ve *M. Arvensis* ile *M. piperita* cinslerinin uçucu yağlarındaki mentol oranlarının yüksek olmasından dolayı Çin, Amerika, Hindistan gibi bazı ülkelerde tarımı yapılmaktadır. *Spearmint* olarak bilinen, karvonca zengin *M. Spicata* ve *M. Gracilis* türleri baharat olarak ve ayrıca uçucu yağları da gıda, kozmetik ve temizlik ürünlerinde, sakız, likör, diş macunlarında, konfeksiyon ve parfüm sanayiinde ve tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Kumar ve ark., 2008; Telci, 2001).

Bu bitki özellikle stimulan, karminatif, insektisid, antimikrobik, antispazmotik, antiplatelet özelliklerinden dolayı iştah azaltıcı, nezle ve gribin semptomlarını giderici, mide bulantısı ve kusmayı önleyici, hazımsızlık, bronşit ve sinüzitte, hıçkırık ve geğirmeyi dindirici, gebelik ve histeri kusmalarında, ağrı tedavisinde, ayrıca insektisid olarak kullanılan bitkisel bir ajandır. Nane yağı ise kas gevşetici olarak kullanılır. Ancak alerjiye sebep olduğu için kullanıldığı doz önemlidir (Akdoğan ve ark., 2004; Akdoğan ve ark., 2003).

Türkiye de yetişen ilaç ve baharat bitkileri, çoğunlukla yerel genotipler olup, bu konudaki çalışmalar son yıllarda yoğunluk kazanmıştır. *Mentha* L. temel olarak çoğunlukla Avrasya, Güney Afrika ve Avustralya'nın nemli bölgelerinde büyüyen bitkiler olup, dünyada bu cinse ait 25 den fazla türün bulunduğu, bu türler arasında Türkiye florasında yaygınlık gösteren cinslerin *M. pulegium*, *M. arevensis*, *M. aquatica*, *M. longifolia*, *M. piperita* ve *M. suaveolens* olduğunu bildiren çalışmalar yapılmıştır (Güllüce ve ark, 2007).

Batı Anadolu' da yayılış gösteren *Mentha* türleri üzerinde yapılan bir çalışmada, *M. longifolia* (L.) Hudson türünün daha geniş alanlarda bulunduğu ve yayılış alanlarının deniz düzeyinden 1450 m' ye kadar çıktığını; ayrıca *M. rotundifolia* (L.) Hudson ve *M. aquatica* (L.) türlerinin 0-1000 m arası yüksekliklerde yayılış gösterdiği, soğuk iklimlere karşı hassas olduğu, soğuk bölgelerde kışları toprak altında inaktif olarak geçirdiklerini belirlemiştir (Telci, 2001).



Resim 2. 2. Mentha Spicata Bitkisi (Spear-mint)

Mentha sürünücü gövdelere sahip, çok yıllık, otsu bitkilerdir. Kokkini and Vokou (1989), *Mentha Spicata*'nin *M. Longifolia* (L.) Hudson ile *M. Suaveolens*'ın, türlerarası melezlerinin kromozom katlanmasıyla oluştuğunu ve tür içerisinde morfolojik ve kalite özellikleri bakımından geniş bir varyasyonun bulunduğunu açıklamışlardır. *Mentha* türleri kendi aralarında kolayca melezlendiği için taksonomik açıdan oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu nedenle *Mentha* cinsine ait türlerin sayısı ile ilgili ileri sürülen görüşler farklıdır. Son yıllarda yapılan karakterizasyon çalışmalarında, dünyada *Mentha* cinsine ait 80'in üzerinde taksonun ve bu taksonlara ait çok sayıda çeşit, klon ve tiplerin bulunduğu belirlenmiştir. Tablo 2.1.'de *Mentha* Cinsinin taksonomik olarak sınıflandırılması görülmektedir (Telci, 2001).

Kokkini (1992), *spicata* grubuna ait *Mentha* türlerini birbirinden ayırmak için 11 özelliğin bulunduğunu ve bunlardan yaprak alt yüzeyindeki tüylerin basit veya dallı olmasının önemli bir ayırıcı özellik olduğunu saptamıştır. Ceylan (1987)'a göre; nanenin orjini göz önüne alındığında, nane türleri ekolojik istekleri bakımından geniş varyasyon gösterir. Nane subtropik ve ılıman iklimlerde ve toprak istekleri bakımından çok seçici olmamakla beraber nemli ve humusça zengin toprak tiplerinde daha iyi gelişme gösterir, ayrıca aşırı olmayan sonbahar kuraklığına dayanabilir. Nane türleri, iklim ve toprak istekleri bakımından geniş tolerans göstermesine

rağmen ekolojik ve yetiştirme işlemleri, verim ve kalite özelliklerini önemli şekilde etkiler (Güllüce ve ark, 2007; Telci, 2001).

Tablo 2. 1. Mentha Cinsinin Taksonomik Olarak Sınıflandırılması (Telci, 2001)

Divisio	Spermatopyta(Embryophyta)
Subdivisio	Angiospermae
Klassis	Dicotyledonae
Altklassis	Metachlamydeae(Sympetalae, Gamopetalae)
Ordo	Tubiflorae
Familya	Labiatae
Subfamilya	Nepetoideae
Tribüs	Mentheae
Cins	Mentha L.

Lamiaceae türleri, bir ya da çok yıllık, genellikle otsu, nadiren ağaç şeklinde veya tırmanıcı, çoğunlukla salgı tüylü ve aromatik çalimsı bitkileri içermektedir. Yapraklar basit, bazen parçalı, stipulasız, karşılıklı çapraz, gövde ise genellikle dört köşelidir. Özellikle terpenoit bileşikler yönünden zengindir, ayrıca flavonoitler, uçucu yağlar, az da olsa kinoit yapıda maddelerle bazen basit alkaloitleri de taşırlar. Ülkemiz florasında 6 tür, 4 alttür, 2 melez olmak üzere 12 taksonu bulunduğunu Davis (1998) çalışmalarında bildirmiş, ancak son yıllardaki çalışmalarda Türkiye florası için yeni kayıtların bulunduğu ortaya çıkmıştır. Yine *M. x dumetorum* Schuldes (*M. aquatica x M.longifolia*) ve (*M.longifolia x Mentha spicata*) türlerinin Türkiye florasında yayılış gösterdiği belirlenmiştir (Karabacak, 2007; Telci, 2001). Mentha cinsine dâhil olan önemli türlerinin taksonomisi ve bazı özellikleri Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Tablo 2. 2. Mentha Cinsine Dâhil Olan Önemli Türlerin Taksonomisi ve Bazı Özellikleri (Telci, 2001)

Altıncı I. Pulegium (Miller) Lank et. DC
Seksiyon A: Euplogin Briq.
<i>Mentha pulegium</i> L. (syn. Pulegium vulgare Miller), 2n=20 (40).
Keskin kokulu, çok yıllık otsu, 10-40 cm boyunda yarı yatık veya dik habituslu bitkilerdir. Yapraklar dar eliptik, yarı dairemsi, dişli; brakteler yaprak benzeri, kaliks tüplü, 2 dudaklı, kaliks boğazı tüylüdür. Bitkide %1-2 oranında uçucu yağ bulunur. Uçucu yağında ana bileşen pulegon %80-95'e kadar çıkabilir. Bu bileşen eczacılıkta önem taşır ve bu nedenle bazı ülkelerde kültürü yapılmaktadır.
Altıncı II. Menthastrum Cossom et Germain
Seksiyon B: Verticillate
<i>Mentha arvensis</i> L. 2n=72, 96
Tüylü, çok veya tek yıllık, 60 cm kadar boylanan dik gelişen bitkilerdir. Yapraklar eliptik mızrak şeklinde, geniş oval yapıdadır. Brakteler yaprak benzeridir. M. Arvensis L. subsp. haplocalix Briguet. var. Piperascens Holmes ıslah edilmiş bir varyete olup, yüksek menthol oranından dolayı, dünyada en fazla kültürü yapılan Mentha türüdür. Uçucu yağ oranları %1,59-2,20, menthol oranları %70-80 arasında değişir.
Seksiyon B: Capitata L.
<i>Mentha aquatica</i> L. (syn. Hirsuta Hudson), 2n=(36) 96
Çok yıllık, genelde mor renkli, 100 cm'ye kadar boylanan bitkilerdir. Yapraklar saplı ve ovattan lanseolataya kadar değişen yapıdadır. Çiçekler kömeç şeklinde, 2-3 vertisillattan oluşur ve 20 mm çapındadır. Uçucu yağ %0.3-0.8 arasında değişir. Mentafuran ve linalolca zengindir. Ancak farklı kimyasal bileşen içeren kemotipleri de mevcuttur.
Seksiyon C: Spicatae
<i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. (Syn: M.rotundifolia (L.) Hudson) 2n=24 (18, 36, 54),
Tüylü, çok yıllık, otsu, rizomlar genelde toprak altında, 40-100 boyunda, dik gelişen habituslu bitkilerdir. Yapraklar sapsız, oblong ovat, kenarlar dişli, yaprak yüzeyi oldukça rugros. Vertisillatlar çok sayıda, sık ve uçta spica şeklindedir. Uçucu yağ oranı %0.7 olup, kimyasal yapısı bakımından çeşitlilik gösterir, karvonca zengin kemotipleri mevcuttur.
<i>Mentha longifolia</i> (L.) Hudson 2n=24
Çok yıllık, keskin kokulu, rizomlar genelde toprak altında, 40-120cm boylarında bitkilerdir. Yapraklar sapsız olarak ana gövdeye bağlanır ve yaprak ayası uçta geniş, yüzeyi düz veya kırışıktr. Vertisillatlar çok sayıda ve yoğun bir şekilde bulunur. Uçucu yağ oranı %0.3-1.8 olup, karvonca zengin kemotipleri baharat olarak kullanılmaktadır. Birçok alt tür ve varyetesi bulunmaktadır.
<i>Mentha spicata</i> L. 2n=48
Çok değişkenlik gösteren, keskin kokulu, kültür formları tüysüz, 30-110 cm boyunda, dik veya yarı yatık habituslu bitkilerdir. Yapraklar çoğunlukla tabandan daha geniş olup, yaprak kenarları dişli, yüzeyi düz veya hafif dalgalıdır. Vertisillatlar spica şeklindedir. Karvonca zengin kemotipler ekonomik öneme sahip olup, çok yönlü kullanıma sahiptir. Uçucu yağ oranları %0.12-2.1, karvon oranları %49-74 arasında değişmektedir.
Türler Arası Melezler
<i>Mentha villosa-nervata</i> Opiz (M.longifolia (L. Hudson x M.spicata L.) 2n=36, 48
Bitki çok yıllık, 20-70 cm boyunda, gövde küf veya keskin kokulu bir bitkidir. Rizomlar toprağın derinliklerinde yer alır. Yapraklar sapsız, kenarlar dişlidir. Geniş varyasyon gösterir. Spicata, daha dardır. Uçucu yağ oranı %0.4.-0.6 arasında değişir. Karvonca zengin türleri baharat olarak kullanılır.
<i>Mentha x dumetorum</i> Schuldes (M.aquatica x M.longifolia) 2n=60, 72, 84
Çok yıllık, 30-80 cm boyunda, rizomlar yüzeye yakın bir bitkidir. M.aquatica ile M.longifolia'nın türler arası melezi. M.aquatica'ya benzer yapraklar oldukça ovat lanseolatır. Yaprak ucu daha küttür. S. M.longifolia'dan kısadır. Uçucu yağ oranı %0.2.-1.5 arasında değişir, uçucu yağ bileşenleri oldukça değişkendir.
<i>Mentha x piperita</i> L.(M.aquatica x M.spicata)2n=36
Çok yıllık, dik veya yatık habituslu, 40-70cm boylarında bitkilerdir. M. Dumetorum'a benzer. Uçucu yağ oranları ve uçucu yağdaki değerli ana bileşenlerden (mentho ve mentolve metil asetat) dolayı kültürü yapılmaktadır. Yurt dışında pek çok ıslah edilmiş çeşidi bulunmaktadır.
<i>Mentha citrata</i> Ehrh. (syn: M. Piperita nm. Citrata) 2n=?
M. citrata M.aquatica ile M. Viridis L.(Syn: M.spicata subsp. Spicata) nın türler arası melezi. Bitkiler 30-60 cm boyunda, yapraklar uzun ovat ve yaprak sapı ile gövdeye bağlanır. Vertisillat kısa yoğun terminal başaklıdır. Uçucu yağ oranı %1.3-1.5 arasında değişir. Yağda en fazla linalool ve linalool asetat bulunur. Bu nedenle, bir çok sınırlı alanlarda tarımı yapılır.

Türkiye’de baharat amacıyla sınırlı alanlarda daha çok *Mentha spicata*’nın bahçe kültürü yapılmakta, *M.longifolia*, *M. villosa-nevata* türlerinin tüsüz, karvonca zengin tipleri de *Mentha spicata* gibi baharat veya tat ve aroma vermek amacıyla bahçe kenarlarında ekilmekte, *M. dumetorum* ve *M. aquatica* ise bahçelerde daha ziyade süs bitkisi, çay gibi diğer amaçlar için yetiştirilmektedir (Güllüce ve ark, 2007; Telci, 2001).

İlisulu’nun (1992) yapmış olduğu araştırmada nane, ilaç sanayinde önemli bir yer tutmakta ve çeşitli endüstri kollarında büyük ölçüde kullanılmaktadır. Özellikle batı Avrupa ülkelerinde naneye olan ihtiyacın artmasıyla dünya pazarında daima alıcı bulmakta, birçok ülkede geniş olarak yapılıyorsa da Türkiye’deki üretim miktarı buralara göre daha azdır. Nane ülkemizde sebze ve tıbbi olarak ihraç edilen bir bitkidir. Tıbbi olarak ihraç edilen miktar Tablo 2.3.’ de gösterilmiştir. 1996–1997 yıllarında ihracat yapılmamıştır (Demirezer, 2007).

Tablo 2. 3. Tıbbi Olarak Nane İhracatımız (Demirezer, 2007)

Yıllar	Miktar(kg)
1994	30. 673
1995	39. 531

2.2. Bitkiler ve Nanede Antioksidan Aktivite

Birçok çalışmada bitkilerde yüksek oranda antioksidan aktivitesi bulunan kimyasal maddeler saptanmıştır. Bunun yanında Madsen ve Bertelsen (1995) tarafından günlük hayatta tükettiğimiz temel meyve ve sebzelerin de bu maddeleri içerdiği ve vücudumuzdaki zararlı olan maddeleri etkisizleştirerek çeşitli yararlar sağladığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada Polonya’nın en önemli bitkisel ürün üreticisi olduğu ve Polonya’da son zamanlarda bu yüksek antioksidan madde içeren meyve ve sebzelerin tüketimi artmış olduğu ancak Akdeniz ülkelerinde hala çok tüketilmediği saptanmıştır (Capecka ve ark., 2005).

Bitkilerin antioksidanlarla dolu olduğu düşünülür. Gerçekten de bitkilerde vitamin C, karotenoidler, tokoferoller, tokotrienoller ve flavonoidler gibi pek çok polifenoller bulunur. Bütün bu moleküller diğer metabolik rollerinin yanında çok önemli antioksidanlar olarak görülmektedir. İnsanlar E ve C vitaminlerini, karotenoidleri ve flavonoidleri kendi kendilerine yapamadıkları için, bu ihtiyaçlarını bitkilerden sağlamak zorundadır. 1980–1990 yılları arasında yapılan epidemiyolojik çalışmalar insanların diyetleriyle vitamin C, β -karoten ve diğer karotenoidlerin alımının muhtemelen çok az olduğunu ve miyokardial infarktüs, diğer vasküler hastalıklar, diyabet ve kanserin birçok formundan zarar gördüklerini rapor etmişlerdir (Halliwell, 2007).

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlı organizmalar yeryüzünde ilk evrimleştiklerinde, söz konusu evrimsel süreç çok az miktarda O_2 içeren bir atmosferde gerçekleşmiştir; yani söz konusu organizmalar, çoğunlukla oksijensiz ortamda yaşayabilen mikroorganizmalar yani anaerob canlılardı. Anaerobik mikroorganizmalar günümüze kadar hala yaşamlarını sürdürmektedir. Fakat büyümeleri sınırlıdır ve %21'lik oksijen basıncı yani mevcut atmosfer düzeyine maruz kalmaları onların ölümüne yol açmaktadır. Fotosentetik kapasiteye sahip organizmaların evrimleşmesinin bir sonucu olarak, atmosferin O_2 içeriği arttığından ilkel organizmaların pek çoğunun ölümüne sebep olmuştur. Günümüzde yaşayan anaerobik mikroorganizmalar muhtemelen bu ilkel organizmaların soyundan gelmektedir. Bu mikroorganizmalar kendilerini O_2 düzeyinin nüfus etmediği ortamlarla sınırlandırarak artan atmosferik O_2 düzeyine uyum sağlayacak evrim sürecini izlemişlerdir. Bununla birlikte, diğer organizmalar, O_2 toksisitesine karşı koruma sağlayacak, gelişen antioksidan savunma sistemlerinin evrimsel sürecini başlatmışlardır. O_2 'nin varlığını tolere edebilen mikroorganizmalar, metabolik dönüşümler (oksidazlar, oksijenazlar, nitrik oksid sentazlar gibi) ve verimli enerji üretimi için de bu yolu kullanılmış olabilir. Aeroblar %21'lik oksijen düzeylerine karşı korunmak için antioksidan savunma sistemi geliştirmişler fakat bu oranın üstündeki düzeylere karşı geliştirememişlerdir (Reznick ve ark., 1998).

Oksijen toksiktir ve biz antioksidan sistemin çoğalmasını geliştirmemiz sayesinde sadece onun varlığında yaşamımızı sürdürürüz. Antioksidan sistemler oksijen radikallerinin ve diğer reaktif oksijen türlerinin düzeylerini azaltırlar ama onları tamamen elimine etmezler (Halliwell, 2007). Gıdalardaki bitkisel ve hayvansal yağların oksidatif yıkımı, sekonder potansiyel toksik bileşiklerin oluşumuyla besin kalitesini ve güvenilirliğini düşürerek tat ve koku bozunumundan sorumludur. Antioksidanların ilavesi besinlerin lezzetini, rengini korumak ve vitaminlerin yıkımını engellemek için gereklidir (Eryiğit, 2006).

Lipid peroksidasyonu sadece acıma gibi besinlerin bozulmasından sorumlu olmayıp aynı zamanda birçok hastalıkta rol oynayan doku hasarından da sorumludur. Lipid peroksidasyonu doğada görülen çoğul doymamış yağ asitlerinden peroksit oluşması sırasında oluşan serbest radikallerin, yağ asidi yan zincirlerine saldırıda bulunmasıyla başlatılır. Zincir reaksiyonu devam ederek lipid peroksidler membran içinde birikir ve membranları destabilize ederek iyonlara karşı geçirgenliklerini artırır. Peroksil radikalleri yalnızca lipidlere değil aynı zamanda membran proteinlerine de saldırarak enzimlere ve reseptörlere zarar verir, kolesterolü okside eder. Peroksid çözünmesinin son ürünü olarak çok sayıda zararlı karbonil bileşik özellikle de doymamış aldehidler oluşur. Reaktif oksijen türleri kontrolsüz bir şekilde üretildiğinde, membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerini peroksit ve peroksinitritler (NO gibi), alkoller, aldehidler (MDA gibi), hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkımlanmasına sebep olur ve oksidatif hasar meydana getirir. Özetle lipid peroksidasyonu, direkt hasarını membran yapısında değişikliklere sebep olarak, indirekt hasarını da reaktif aldehidler oluşumuna yol açarak göstermektedir. Reaktif aldehidler membran bileşenlerinde çapraz bağlanmalar ve polimerizasyona neden olur. Bu durum membran yapısının bozulmasına, iyon transportu ve enzim aktivitesi gibi membran işlevlerinde değişikliklere yol açmaktadır. Reaktif aldehidlerin, kolay difüze olduklarından dolayı, hasarı geniş bir alana yayabildikleri bildirilmiştir (Yurdakul, 2009; Joreno, 1990; Murray ve ark.,1998; Reznick ve ark.,1998; Akkuş, 1995).

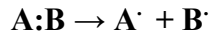
Reaktif Oksijen Türleri (ROS) sadece oksijen radikallerini (O_2^- , RO_2^- ; $RO\cdot$ ve $OH\cdot$) değil, H_2O_2 , $ONOO^-$, $HOCl$ ve nonradikal ozonu (O_3) da içine alan bilim adamları tarafından sıklıkla kullanılan ortak bir terimdir. (Murray ve ark., 1998). Metabolik reaksiyonlar sırasında serbest radikallerin endojen olarak ortaya çıkmaları nedeniyle tüm aerobik organizmalar doku hasarından korunmak için antioksidan savunma sistemleri geliştirmiştir. Antioksidanlar, okside edilebilir substrata oranla çok düşük konsantrasyonlarda bile substratın oksidasyonunu geciktiren veya engelleyen maddelerdir. Fizyolojik koşullarda, organizmada oksidan etkenler ve antioksidan mekanizmalar bir denge halinde bulunmaktadır. Bu dengenin oksidanlar lehine değişmesi ile oksidatif stres olarak adlandırılan doku hasarı oluşmaktadır (Canbolant, 2006).

2.3.1. Oksijen Toksisitesi ve Reaktif Türler Olarak Radikaller

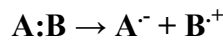
Gerschman ve ark. 1954 yılında, O_2 'nin zararlı etkilerinin oksijen radikallerinin oluşumundan kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu hipotez popüler hale gelmiş ve McCord ve Fridovich tarafından süperoksid dismutaz (SOD) enzimini keşfinden sonra oksijen (O_2) toksisitesi, süperoksid (O_2^-) teorisi olarak dönüştürülmüştür. Bu teori, en basit haliyle, O_2 toksisitesinin aşırı süperoksit radikalinin oluşumundan kaynaklandığını ve SOD enzimlerinin önemli antioksidan savunmalar olduğunu anlatmaktadır. Serbest radikal kavramı, antioksidan kavramı tersine, kolayca tanımlanabilmektedir. Atomların ve moleküllerin yapısında, elektronlar genellikle çekirdeğin etrafında belirli bir bölgede çift olarak hareket ederler. Bu alan *atomik* veya *moleküler yörünge* olarak adlandırılır. Serbest radikal bağımsız yaşama yeteneğine sahip olup, tek elektronları (bağımsız elektronlar) barındıran bir veya daha fazla yörüngesi vardır. En basit serbest radikal, bir proton ve tek bir elektronu olan hidrojen elementidir (Reznick ve ark.,1998). Ortaklanmamış elektron, genel olarak üst kısma yazılan bir nokta ile gösterilir (Akkuş, 1995). Radikaller, dış orbitallerinde *paylaşılmamış elektron (ortaklanmamış, çiftlenmemiş)* içeren kimyasal türlerdir (Altan ve ark., 2006; Dündar ve Aslan, 2000).

Bu tip maddelerin ortaklanmamış ya da paylaşılmamış elektronlarından dolayı diğer maddelerden bir elektron kazanma eğilimi göstermesi bunu ileri düzeyde tepkici hale getirir (Kılınç ve Kılınç, 2002; Murray ve ark.,1998). Atomların dış orbitallerindeki elektronlar düzeyinde kimyasal ve biyokimyasal tepkimeler gerçekleşir. Atomik yapılarında paylaşılmamış elektron içerdiklerinden dolayı elementlerin bir kısmı(hidrojen, karbon, nitrojen, oksijen), doğada atomlar şeklinde değil; moleküller şeklinde bulunurlar ve reaktiviteleri yoktur (Kılınç ve Kılınç, 2002; Brent ve Rumack, 1993). Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar.

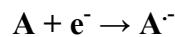
1.Kovalent bağların homolitik kırılması: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya *homolitik kırılma* denir ve bu durumda her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron kalır.



2.Normal bir molekülün elektron kaybetmesi veya bir molekülün heterolitik bölünme: Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır ve iyonlar meydana gelir.

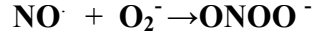


3.Normal bir moleküle elektron transferi: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle, bir elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron taşıyıcı hale gelirse, bu indirgenme radikal oluşumuna neden olur (Altan ve ark., 2006; Kılınç ve Kılınç, 2002; Dündar ve Aslan, 2000; Akkuş, 1995).



Farklı türdeki serbest radikaller geniş bir kimyasal reaktivite yelpazesi göstermektedir. Eğer iki serbest radikal karşılaşırsa, eşsiz elektronlarını bir kovalent

bağla birleştirebilir ve her iki radikal de kaybolabilir. Böylece atomik hidrojen diatomik hidrojen formuna dönüşür. Biyoloji ile ilgili bir örnek verilmek istenirse; $\text{NO}\cdot$ ve $\text{O}_2\cdot^-$ nin son derece hızlı reaksiyonu ile oluşan nonradikal bir ürün olan peroksinitrit reaksiyonudur.



Fizyolojik pH 'da peroksinitrit (ONOO^-) peroksinitröz aside (ONOOH) dönüşür. Bir kaç saniye sonra kaybolur, son ürün olarak büyük ölçüde nitrat oluşur. Peroksinitrit/ peroksinitröz asid reaksiyonunun kimyası son derece kompleks ve anlaşılması güç bir olaydır. Fakat peroksinitrit (ONOO^-) hücre ve dokulara nüfuzu lipidlerin, DNA' nın ve proteinlerin nitrasyonu ve oksidasyonuna öncülük eder ve sıklıkla hücre hasarı ve ölümüyle sonuçlanır (Reznick ve ark.,1998).

2.3.2. Reaktif Oksijen Radikalleri

Reaktif Oksijen Türleri (ROS) sadece oksijen radikallerini ($\text{O}_2\cdot^-$, $\text{RO}_2\cdot^-$, $\text{RO}\cdot$ ve $\text{OH}\cdot$) değil, H_2O_2 , ONOO^- , HOCl ve nonradikal ozonu (O_3) da içine alan bilim adamları tarafından sıklıkla kullanılan ortak bir terimdir. Reaktivite göreceli bir terimdir. Ne süperoksit ne de hidrojen peroksit, özellikle sulu solusyonlarda reaktif değildir. Bundan dolayı, bazı yazarlar reaktif terimi yerine “oksijenden türeyen türler” terimini kullanır. Diğer ortak kullanılan terim ise “oksidanlar” dır. Bununla birlikte $\text{O}_2\cdot^-$ ve H_2O_2 sulu solusyonlarda redüktan ve oksidan olarak aktivasyon gösterir (Reznick ve ark.,1998).

Serbest oksijen radikali biyokimyasında kilit rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile sonucusu meydana gelir. Radikal tanımına göre oksijen *diradikal* yapıya sahip bir moleküldür. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar (Akkuş, 1995).

Oksijenin herhangi bir molekülle tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülün de farklı orbitallerde spinleri aynı yönde elektron içermesi gerekir. Başta organik moleküller olmak üzere, atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler veya paylaşılmamış elektronlar kovalent bağlara katıldıkları için oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlanmıştır. Bu kısıtlama *spin kısıtlaması* olarak adlandırılır. Canlıların oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron transferi yaparak spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar geçiş elementleri sınıfındaki Fe, Cu, Mn, Zn, Co ve Mo gibi metal iyonlarından yararlanırlar. Canlılarda oksijeni kullanan enzimler ya da oksijenle etkileşime giren proteinler, bu elementlerden en az bir tanesini içermek zorundadırlar. Canlıda ve çevremizde sadece oksijen merkezli radikaller değil, aynı zamanda diğer atom merkezli radikaller de oluşabilirler. Oysa özellikle biyolojik sistemlerde “radikaller” kavramı reaktif oksijen türleri manasında kullanılmaktadır (Kılınç ve Kılınç, 2002).

Oksijen bulunan bir ortamda, oksijenin metabolize edildiği aerobik canlılarda daima radikal üretimi gerçekleşir. Hücresel koşullarda oluşabilen oksijen radikalleri ile oksijen içeren reaktif türlerin önemli olanları Tablo 2.4.’de görülmektedir (Dündar ve Aslan, 2000). Süperoksit ve nitrik oksit enzimatik mekanizmalarla, devamlı olarak ve önemli derişimde üretilen radikaller olduğundan, bu radikaller içinde süperoksit ve nitrik oksit temel radikaller sayılabilir. Ayrıca bu iki radikal, biyolojik sistemlerde tanıdığımız diğer bütün önemli radikaller ile radikal yapıda olmayan reaktif türlerin oluşumunu başlatabilecek özelliktedirler (Kılınç ve Kılınç, 2002).

Tablo 2. 4. Sık Karşılaşılan Radikaller, Simgeler ve Kimlikleri (Dündar ve Aslan, 2000)

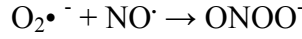
Radikal	Simge	Tanımlama
Hidrojen	H•	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	O ₂ •-	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürün
Hidroksil	OH•	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O ₂ ⁻	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif etkili
Perhidroksi radikal	HO ₂ •	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikal	ROO ⁻	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Triklorometil	CCl ₃	CCl ₄ metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikali	RS•	Sülfürlü ve paylaşılmamış elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO•	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO•	L- arjinin amino asitinden in vivo üretilir.
Nitrojen dioksit	NO ₂	NO•'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir.

Singlet oksijen ve hidrojen peroksit gibi bütün tepkici oksijen türleri serbest radikal değildir. Tek değerli indirgenme ile her defasında bir tek elektron kazanılabilir ve bu da total oksijen tüketiminin %1-5'inden sorumludur. Tek değerli indirgemede bireysel moleküller ileri derecede tepkici olup dokular için potansiyel olarak tahrip edicidir (Murray ve ark.,1998).

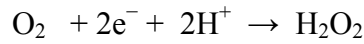
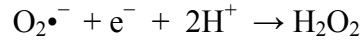
2.3.2.1. Hidrojen Peroksid (H₂O₂)

Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikali, kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açmaz. Süperoksitin asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri

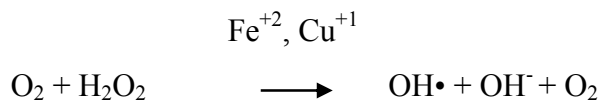
iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksid ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir (Akkuş, 1995).



Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir. Hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır.



Süperoksit dismutasyon reaksiyonuyla moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü süperoksit, Fe^{+2} ve Cu^{+2} gibi geçiş metalleri ve radikal türleriyle kolay reaksiyona girer ve H_2O_2 ile “*Haber-Weis*” tepkimesini vererek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Bu reaksiyon katalizör varlığında veya katalizörsüz oluşabilir. Demirle katalizlenen reaksiyon ise çok hızlıdır ve bu reaksiyona *Fenton reaksiyonu* adı verilir. Bu reaksiyonda $\text{O}_2\cdot^-$ ve H_2O_2 demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan $\text{OH}\cdot$ radikalleri oluşmaktadır (Dündar ve Aslan, 2000; Akkuş, 1995; Brent ve Rumack, 1993).



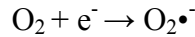
H_2O_2 'i çözmek suretiyle $\text{OH}\cdot$ oluşturabilen, lipid peroksidasyonunu destekleyebilen ve ootoksidasyon reaksiyonlarını katalizleyebilen kimyasal formdaki demir ve bakır iyonları canlılarda yetersizdir. İnsan vücudu proteinin depolanması ve taşınması için mümkün olduğunca demir ve bakırı tutmak zorundadır. Gerçekten de

metal iyonlarının sekestrasyonu önemli antioksidan savunma mekanizmasıdır. Doku zedelenmeleri metal iyonlarının ve hem proteinleri gibi katalitik bileşenlerin geçişine izin verir. Dolayısıyla canlıda aşırı reaktif oksijen türlerinin yol açtığı hasarların niteliğinin temel belirleyicisi, hidroksil radikal formasyonunun metal iyon katalizörlerinin varlığı ve bulunma koşullarıdır (Reznick ve ark.,1998).

2.3.2.2. Süperoksid Radikali ($O_2^{\bullet-}$)

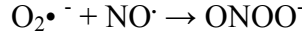
Süperoksid radikali ($O_2^{\bullet-}$) oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Canlılarda fagositik hücreler tarafından(nötrofil, monosit, makrofaj, eozinofil) yapılır ve bakterilerin, mantarların ve virusların inaktive edilmelerinde onlara yardım eder. Birçok hücre tarafından yapılan süperoksid radikali ($O_2^{\bullet-}$) bu konseptlerle uyumlu kültürler içindeki hücrelerle yapılan deneylerde büyümenin düzenlenmesi ve hücre içi sinyalleri de içerir. Bununla beraber henüz canlılarda meydana geldiği kanıtlanmamıştır. Süperoksid radikali ($O_2^{\bullet-}$) canlılarda sadece tasarlayarak değil, “kimyasal olaylar” olarak adlandırılan mekanizmalarla da oluşur (Reznick ve ark.,1998).

Kendileri oksitlenirken, dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında ve mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanımı sırasında üretilmektedir (Dündar ve Aslan, 2000; Kılınç ve Kılınç, 2002; Dündar ve Aslan, 2000; Akkuş, 1995).

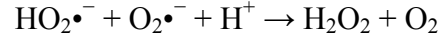


Süperoksid ve hidrojen peroksid, otooksidasyon reaksiyonları tarafından yapılır. Katekolaminler, tetrahidrofolatlar ve flavinler gibi bileşikler O_2 den $O_2^{\bullet-}$ radikalini direkt olarak reakte eder. Birçok otooksidasyon reaksiyonu O_2 ile invitro(ve büyük bir ihtimalle invivo olarak da) spontan reaksiyonlarla gelişir, ama geçişli metal iyonlarının yeter miktarda bulunması ile reaksiyon kolaylaştırılır yani katalize edilir (Reznick ve ark.,1998).

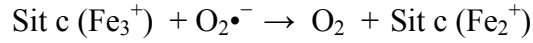
Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikali kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açmaz. Süperoksitin asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksidin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksid ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan ve doğrudan proteinlere zararlı etkileri olan peroksinitrit meydana gelir. Böylece NO[•] nun normal etkisi inhibe edilir (Akkuş, 1995).



Süperoksid anyonu, hem oksitleyici hem de redükleyici özelliğe sahiptir. Oksidan olarak görev yaptığında hidrojen perokside indirgenir.



Redükta olarak görev yaptığında örneğin ferrisitokrom c nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Sitokrom c'yi indirgemesi SOD tarafından inhibe edilir. Bundan faydalanılarak SOD aktivitesi ve fagositler tarafından üretilen O₂⁻ tayini yapılır (Akkuş, 1995).



Süperoksid radikali (O₂^{•-})'nin major hücrel kaynağı mitokondridir. Elektron transport zinciri, NADH/NAD⁺ çiftinin büyük ölçüde indirgenme reaksiyonundan sitokrom oksidazın katalizlediği ½ O₂/H₂O çiftinin oksidasyonuna derece derece değişen indirgenme reaksiyonudur (Reznick ve ark.,1998).

2.3.2.3. Singlet Oksijen (O₂⁻)

Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen türlerinden bir tanesi de Singlet Oksijen (O₂⁻)dir. Serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına sebep olabildiği gibi serbest radikal reaksiyonları sonucu da meydana gelebilir (Akkuş, 1995). Singlet oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi

sonucunda oluşabileceği gibi, süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir (Oğul, 2006; Kılınç ve Kılınç, 2002).

Delta ve sigma olmak üzere 2 şekli vardır. Singlet oksijen, uyarılmış elektronların daha düşük enerji düzeylerine inmesiyle ışık yayar (Akkuş, 1995). Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini (ROO \cdot) oluşturur ve OH \bullet kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Güzel, 2007; Oğul, 2006; Kılınç ve Kılınç, 2002; Sakac ve Sakac, 2000).

2.3.2.4. Hidroksil Radikali (OH \cdot)

Biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikal ve radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu kimyasal türdür. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali canlılarda iyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle su moleküllerinin iyonlaşması ve hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile oluşabilir. (Dündar ve Aslan, 2000; Kılınç ve Kılınç, 2002; Akkuş, 1995).

OH \cdot radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler olmak üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. Hidroksil radikalının, DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür (Müftüoğlu, 2003; Dizdaroğlu, 1991).

2.3.3. Reaktif Nitrojen Türleri (NO)

Serbest radikallerin kimyasal reaktivitesi değişiklik gösterir ve kontrollü miktarlarda kullanımını metabolik olarak yararlıdır. Bunlardan biri de Nitrik Oksit (NO \bullet) olup

genellikle canlılarda vasküler endotel hücreler, fagositler, belirli nöronlar ve pek çok hücrede sentez edilir (Reznick et al., 1998). Nitrik oksit (NO^\bullet) hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip olup muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjinin ve oksijenden sentezlenir. Nitrik oksit sentazın (NOS), nöronal (tip I, nNOS), endotelial (tip III, eNOS) ve indüklenebilir (tip II, iNOS) olmak üzere farklı lokalizasyon ve düzenlenmeye sahip üç izoenzimi vardır (Altınışık, 2001).

Reaktif nitrojen türleri, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde önemli rol oynar. NO^\bullet in radikal oksijen türleri ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturduğu ve OH^\bullet radikalinin oluşumuna yol açtığı ifade edilmektedir (Çelik, 2005 ; Kolaylı ve ark., 2007; Özkan ve Yüksekol, 2003).

Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen reaktif nitrojen türleri, düşük molekül ağırlıklı, lipofilik özellikte olup biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir. NO^\bullet 'in yarı ömrü 10–20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçerek damar gevşemesini sağlar. Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için hücre içi demir trafiğini kontrol eder (Çelik, 2005 ;Demiryürek ve ark., 2004; Şimşek, 1999).

Nitrik oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet -}$) radikaliyle etkileşmesi sonucu toksisitesinin başlıca sorumlusu olan peroksinitrit (ONOO^-) oluşur (Altınışık, 2001). Nitrik oksit ayrıca bazı memelilerde parazitlerin makrofajlarla öldürülmesinde de etken olabilir. Her ne kadar fizyolojik düzeylerde yararlı olsa da aşırı düzeylerde sitotoksik olabilir. Gerçekten de aşırı üretiminde pek çok kronik inflamatuvar hastalıkların patolojisinde rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (Reznick ve ark.,1998).

2.3.4. Serbest Radikal Kaynakları

Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında olduğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkilerin etkisiyle de oluşabilir. Bunların yanısıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttıırırlar. Triptofan dioksijenaz, Sitokrom p-450, sitokrom b-5, prostoglandin sentetaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz gibi enzim sistemleri, lipid peroksidasyonu, oksidatif stres yapan iskemi, intoksikasyon ve travma gibi durumlar, mitokondrial elektron taşıma sistemi, moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin, flavoproteinler, hemoglobin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücresele serbest radikalleri oluştururlar (Altuntaş, 2007; Oğul, 2006; Tekkes, 2006; Freeman ve Crapo, 1984). Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

2.3.4.1. Eksojen Kaynaklar

Hava kirliliği, çevresel kimyasallara maruz kalma, organik yanık madde ve yanmış gıdaların alımı, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi faktörler başlıca eksojen hücrelerde radikal oluşumu ve serbest radikal reaksiyonlarını artırarak oksidatif strese yol açmaktadır (Özel, 2006; Dündar ve Aslan, 2000).

2.3.4.2. Endojen Kaynaklar

Her ne kadar serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için normal olarak metabolizmada, serbest radikallerin oluşması kaçınılmazdır. Fizyolojik koşullar altında serbest radikal üretiminin en önemli kısmını mitokondriyal elektron transport sistemi oluşturmaktadır (Akpoyraz ve Durak, 1995; Erden, 1992). Endojen serbest

radikallerin kaynaklarını şu başlıklar altında toplayabiliriz (Oğul, 2006; Akkuş, 1995):

1. Mitokondrial elektron transportu
2. Aktive olmuş fagositler
3. Endoplazmik retikulum ve çekirdek membranlarına bağlı sitokromların (sitokrom P₄₅₀ ve b₅) oksidasyonu
4. Enzimatik reaksiyonlar

Membrana ilişkin P₄₅₀ ve b₅ gibi sitokromların yağ asitleri ile ksenobiyotiklerin oksidasyonu ve dioksijenin redüksiyonu ile endoplazmik retikulum ve nükleer membranda moleküllerin indirgenmesi ve oksitlenmesi ile serbest radikaller oluşur (Çelik, 2005; Oğul, 2006; Kavas, 1989).

Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla değil ilave bir paylaşılmamış elektron kazanma eğiliminde olan bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girerek meydana gelir. Tekrar ana bileşiğe dönüşmek isteyen radikaller oksijenle kolayca oksitlenir ve süperoksit radikalini oluştururlar (Gürbüz, 2008).

Reaktif oksijen türlerinin üretildiği önemli kaynaklardan biri de araşidonik asit metabolizmasıdır. Enzimatik oksidasyon sonucu araşidonik asidin lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu lökotrienleri, siklooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu prostaglandinlerin sentezi içinde gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanır ve bu tepkimeler sırasında serbest radikaller oluşur (Akkuş, 1995).

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırırlar. Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle savaşta önemli rol oynar (Yarıktaş, 2003; Oğul, 2006).

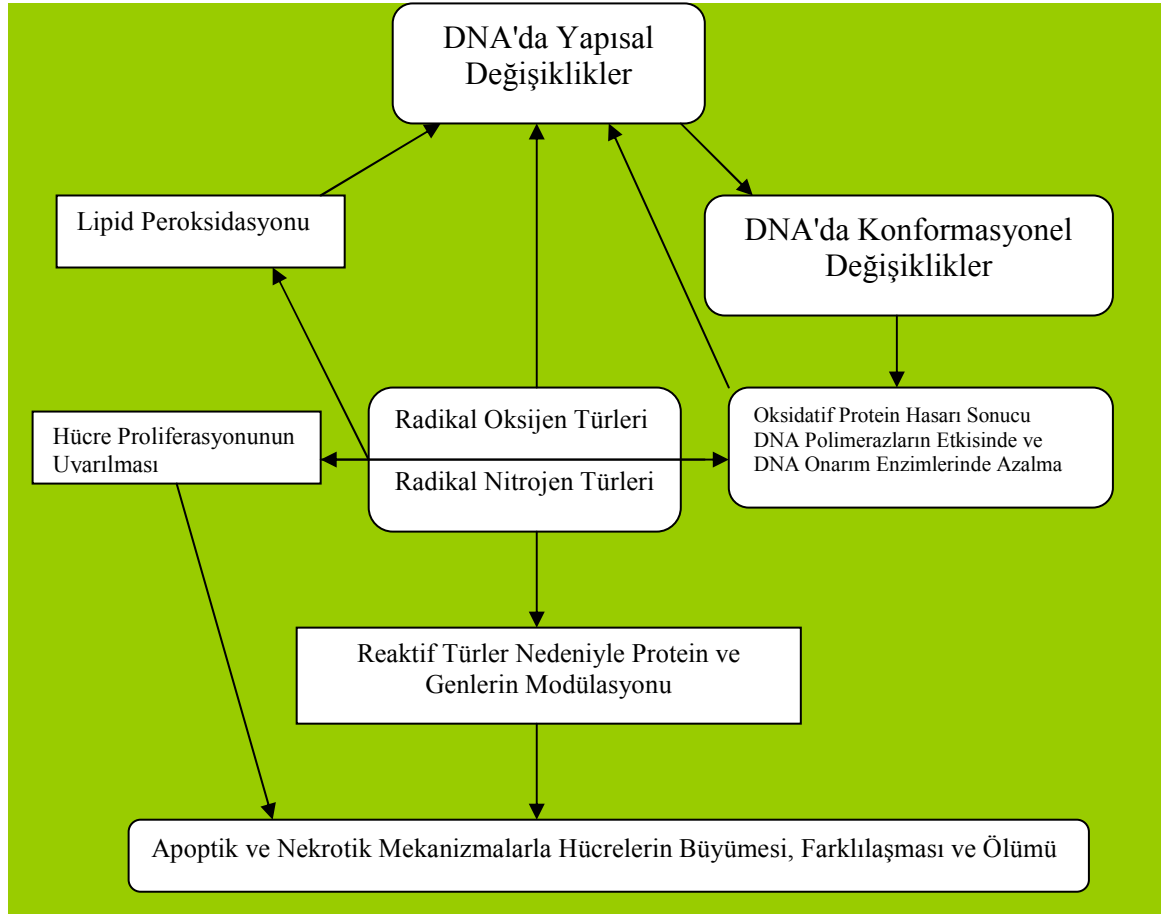
Nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granüositler ile monositler, kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar gibi doku makrofajları immunojenik veya özel bir uyararla (kompleman fragmanı C5a, opsonize mikroorganizmalar, lökotrien B4, bakteriyel orjinli N-formylated oligopeptidler) uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar (Akkuş, 1995). Reaktif oksijen oluşumunun yanı sıra oksidan ajanlar sağlamak için mitokondri dışındaki respiratory burst adı verilen oksijen üretiminde bir patlama olur. Oksidan ajanlar fagosite edilmiş patojenleri öldürmenin yanı sıra güçlü bir antimikrobiyal aktivite ile ototoksik, immunosupresif ve mutojenik etki gösterir (Gürbüz, 2008, Logani ve Davies, 1980).

Otooksidasyon endojen serbest radikal üretim kaynakları arasında önemlidir. Doku bileşenlerinin birçoğu oksijenin varlığında kimyasal olarak instabildir ve metabolik şartlar altında otookside olur ve bu sırada serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilir. Oksidan enzim reaksiyonları serbest radikal üretiminde önemlidir (Çelik, 2005; Logani ve Davies, 1980).

2.3.5. Serbest Radikallerin Etkileri

Oksijen molekülünün hücre membranındaki doymamış yağ asitlerine karşı yüksek affinitesi vardır. Dokularda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması sonucu, reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelir. Fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler gibi membranı oluşturan doymamış yağ asitleri ile membran proteinleri radikaller için ana hedeflerdir. Yoğun olarak radikaller üretimi sırasında aerobik solunumu ve kapillar permeabiliteyi bozarak, birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunan hücrel potasyum kaybını ve kapillar trombosit agregasyonunu hızlandırdığı düşünülmektedir (Çelik, 2005; Altınışık, 2001; Dündar ve Aslan, 2000). Hücrede serbest radikallerin lipid, protein, DNA ve karbonhidrat gibi önemli hücrel yapı ve bileşiklere etkili olduğu Şekil 2.1.' de görülmektedir (Çelik, 2005).

Oksidatif stres akut ya da kronik, geri dönüşümlü ya da geri dönüşsüz hücre hasarına yol açabilir. İskemi-reperfüzyonda, akut enflamasyonda ve hiperoksi'de kısa süreli bir oksidatif stres varken, kronik enflamasyonda uzun süreli bir oksidatif stres vardır. Bu uzun süreli oksidatif stres kanser gelişiminde rol oynar. Özellikle sigara kullanımı ile oluşan serbest radikaller DNA ile etkileşerek karsinogenezisde etkin rol oynarlar (Tez ve ark., 2005; Dinçer ve ark., 2003).



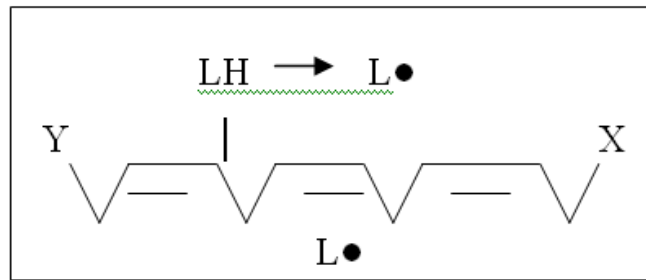
Şekil 2. 1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türlerinin Vücuttaki Etkileri (Fidan, 2007)

Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu bilinmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsis, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diyabet, akut renal yetmezlik, Down Sendromu, yaşlanma, retrolental fibroplazi, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon injürisi gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur (Gürbüz, 2008).

Üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal maddeler olarak görülmemelidir. Yaşlılık, kanser, diyabet ve komplikasyonlarının gelişimi, Behçet hastalığı gibi çok sayıda hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunmaların yetersiz olduğu, metabolik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller toksik etkilerden sorumlu olduğu ve düşük konsantrasyondaki radikal yapımının etkileri yaşlanma gibi çok uzun bir süreç sonunda görülürken; yüksek konsantrasyonlarda ve yaygın radikal yapımının sonuçları ciddi bir patolojik durum olarak ve oldukça kısa bir sürede karşımıza çıktığı bildirilmiştir (Yurdakul, 2009; Nalçacı, 1994).

2.3.5.1. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri

Biyomoleküllerin büyük gruplarının tamamı serbest radikaller tarafından etkilenirler, ancak bunlar içinde en hassas olanı lipidlerdir. Serbest radikallerin lipidler üzerine yaptığı etki lipid peroksidasyonu (LP) olarak adlandırılır (Akkuş, 1995). Biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonundaki hidrojen atomunu uzaklaştıran radikalin süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikali olduğu, bu nedenle lipid peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikalinin başlattığı kabul edilmektedir. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksid hidroksil radikale dönüşmektedir (Dündar ve Aslan, 2000; Niki, 1987). Oluşan radikaller substrat ile hemen reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan radikallerini oluştururlar. Bu şekilde oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur. Zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder (Burton, 1989). Şekil 2.2.'de lipid peroksil radikalinin yapısı görülmektedir.



Şekil 2.2. Lipid Peroksil Radikali (Altınışık, 2001)

Plazma membranı ve organel lipid peroksidasyonu, serbest radikal kaynaklarının tümüyle uyarılabilir ve metallerin varlığında artar. Lipidlerden, araşidonik asid metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise “non-enzimatik lipid peroksidasyonu” adı verilir. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur. Bakır veya Fe tuzları peroksidasyonun hızını arttırarak, hücre zarı permabilitesini ve akışkanlığını azaltır, bu oluşan tablo da hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olabilir. (Akkuş, 1995; Burton, 1989; Braugher ve ark.,1987; Logani ve Davies, 1980).

Lipid peroksidasyonu sonucu meydana gelen lipid hidroperoksitlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehid oluşur. Bu metod lipid peroksid düzeylerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. Peroksidasyon ile oluşan malondialdehid, intrensek membran özelliklerini değiştirir ve genotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkilere sebep olur (Akkuş, 1995).

2.3.5.2. Serbest Radikallerin DNA ve Nükleik Asitler Üzerine Etkileri

Günde yaklaşık 10.000 kez serbest radikal saldırısına maruz kalan DNA. iyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller tarafından etkilenecek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH^\bullet) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) tarafından oluşan hasar DNA onarım sistemleri tarafından onarılmakla birlikte, çok fazla olduğu veya onarım sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açar. DNA hasarının çeşitli hastalıkların etyolojisinde ve yaşlanmada önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (Dizdaroglu, 1991; Debeleç-Bütüner ve Katrancı, 2006; Burçak ve Andican, 2004; Halliwell ve Dizdaroglu, 1992). Serbest radikaller DNA yapısındaki deoksiriboz fosfat iskeletinde

hasara, DNA-protein çapraz bağlanarak hasara yol açabilir (Yokuş ve Çakır, 2002; Dizdaroğlu, 1991).

Yapılan çeşitli araştırmalar süperoksit anyonu ve onun dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksitin doğrudan DNA ile eşleşerek baz oksidasyonuna ve zincir kırıklarına yol açmadığı ancak geçiş metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu ile oluşan ve daha aktif bir serbest radikal olan hidroksil radikalının DNA hasarı oluşturduğunu göstermişlerdir (Aruoma ve ark.,1989a, Aruoma ve ark.,1989b). Nükleik asitlerin yapısında temel olarak bulunan bazlardan birisi guanindir. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu 2008, Steeken, 1989). Nitrik oksid ve reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler (Thomas ve ark.,1998).

2.3.5.3 Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallerin etkilerine karşı, poliansature yağ asidinden daha az hassastır ve zincir reaksiyonu hızlı ilerlemez. Serbest radikallerin proteinleri etkileme derecesi aminoasit içeriğine göre değişir (Akkuş, 1995).

Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali (OH) ile başlar. Oksijen ile birlikte, süperoksit anyon radikali ve süperoksit radikalının protonlanmış formu olan hidroperoksil (HO)'in aminoasitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile protein fragmentasyonuna neden olur (Çakatay ve Kayalı, 2004). Doymamış yapılar taşıyan aromatik aminoasitlerden fenilalanin, tirozin ve triptofan ve sülfürlü aminoasitler oksidatif ataklara karşı çok hassasiyet gösterir (Reznick ve ark.,1992).

Serbest radikal türlerinin lizozomal membranlara zararlı etkisi sonucu, hidrolitik enzimlerin hücre içine salınması duyarlı aminoasit kalıntılarını okside ederek veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarına neden olarak enzimleri inaktive edebilir (Karabulut ve ark., 2004; Burton, 1988, Braughler ve ark.,1987).

2.3.5.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

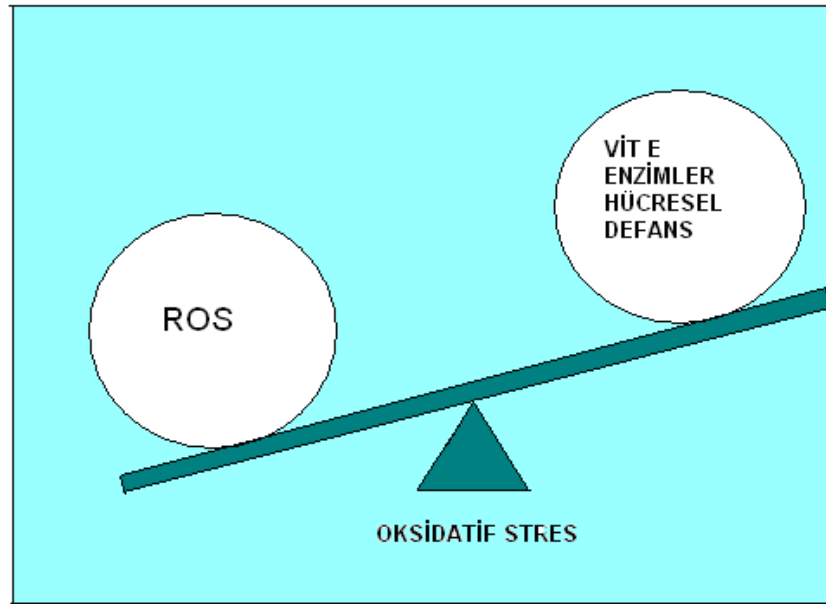
Karbonhidratlar üzerine serbest radikallerin önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu gelişen hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler, diyabet ve sigara kullanımı ile gelişen kronik hastalıklarda önemli rol oynarlar. Poliansatüre yağ asidi (PUFA) ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glyoxal'in hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir. Enflamatuar eklem hastalıklarında synovial sıvıya geçen polimorf nukleer lökosit'lerin extrasellüler sıvıya bıraktıkları H_2O_2 ve O_2 hyalüronik asidi parçalar. Hyalüronik asit, gözün vitröz sıvısında bol miktarda bulunur ve oksidatif hasarı katarakt oluşumuna yol açar (Akkuş, 1995).

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatoit artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir (Altınışık, 2001).

2.3.6. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi

Oksidatif stres oldukça belirsiz bir terimdir. Ama antioksidan savunma sistemleri ile reaktif oksijen türlerinin üretimi arasında ciddi bir dengesizlik olduğu öne sürülmektedir (Reznick et al., 1998). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "**antioksidan savunma sistemleri**" veya kısaca "**antioksidanlar**" olarak bilinirler Hücrede oluşan reaktif oksijen türleri, hücrenin geliştirdiği "antioksidan savunma sistemleri" ile ortadan kaldırılırlar (Altınışık, 2001; Dündar ve Aslan, 2000).

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum **oksidatif denge** olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Ancak, akut fiziksel aktiviteler, gebelik gibi fizyolojik durumlar ve pek çok patolojide lokal ve genel antioksidan kapasite aşılabilmekte ve antioksidan savunma sistemi yetersiz kalıp oksidatif denge bozulmaktadır. Bu durumlarda hücrel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırıldan daha fazla reaktif oksijen türleri oluşabilir. Organizmada hücrel savunma mekanizması aracılığıyla daha fazla reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesi **oksidatif stres** olarak tanımlanır. Şekil 2.3.' de görüldüğü gibi **oksidatif stres** serbest radikal oluşumu (ROS) ile antioksidan savunma (vitaminler,enzimler ve hücrel defans) mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Altan ve ark., 2006; Altınışık, 2001).



Şekil 2.3. Oksidatif Stres (Altınışık, 2001)

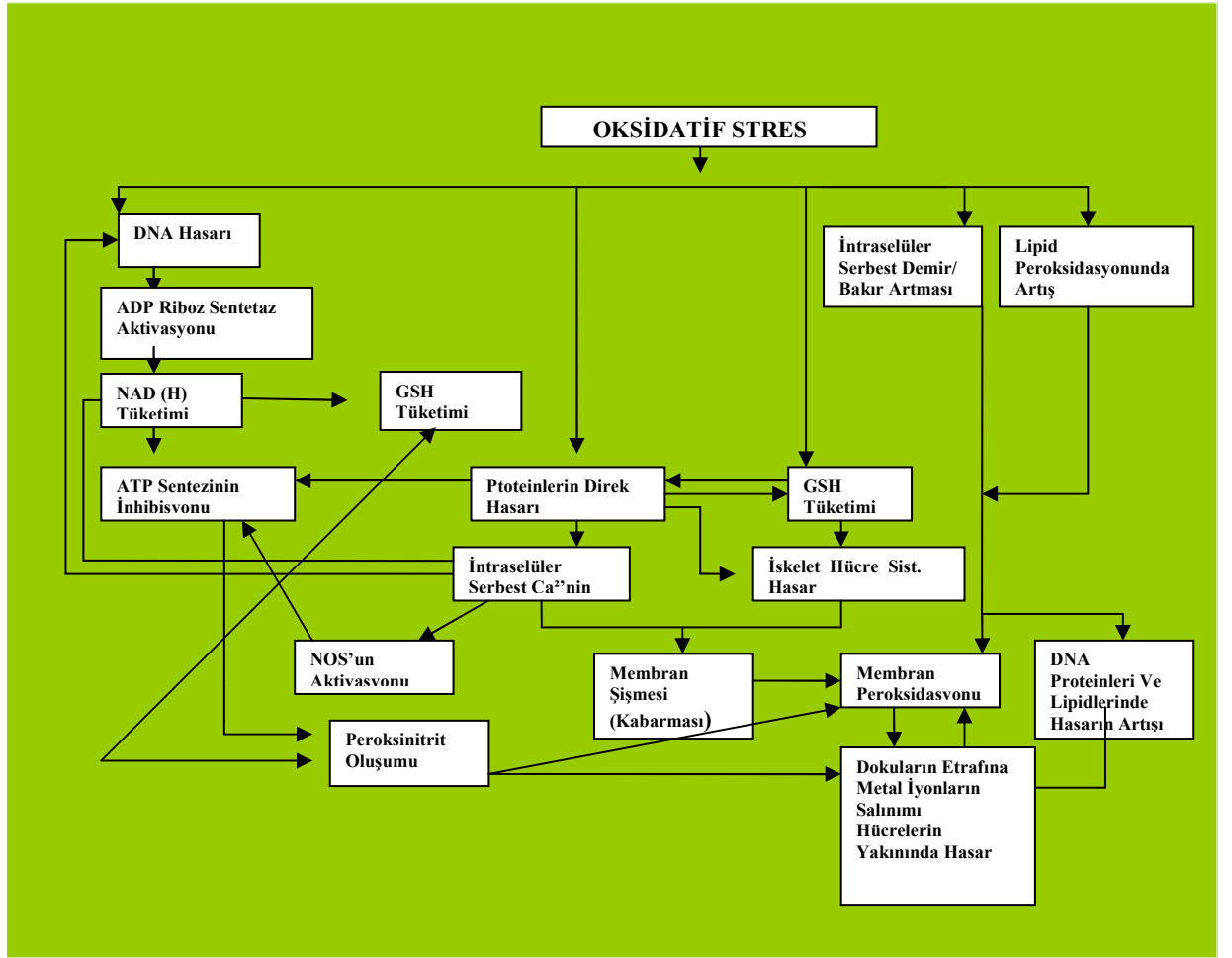
Serbest radikal üretimindeki artış, hücre yapıları ve fonksiyonları için toksik etkili görülmektedir. Antioksidan sistemi oluşturan elemanların görevi, bu toksik etkilere karşı organizmayı ve hücrel dengeyi korumaktır. Koruma işlemi; toksik etkili oksidan metabolitlerin üretimlerinin engellenmesi, var olan radikallerin temizlenmesi, sekonder oksidan üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması, endojen

antioksidan kapasitenin artırılması ve inflamatuvar mediatörlerin blokajı gibi yollarla oluşturulmaktadır (Dündar ve Aslan, 2000).

Serbest radikaller çok tehlikeli ürünler değilse de radikallerin aşırı artışı tehlikelidir. Bu zararın giderilmesi amacıyla kullanılan antioksidan maddeler ne saf ne de spesifik antioksidandır. İnterselüler antioksidan enzimlerin artışı ve antioksidan düzeylerinin yükselmesi, hipervitaminosis ve bilinçsiz antioksidan madde kullanımı gibi olgularda oksidan-antioksidan denge antioksidanlar lehine bozulmakta ve gerçekte bir **antioksidatif stres** tablosu oluşmaktadır. Günlük yaşamın karşılaşılan reaktif metabolitlerin giderilmesi ve fizyolojik olayların devamında endojen antioksidanlar önemlidir. Bununla birlikte antioksidan kapasitenin güçlendirilmesi amacıyla, eksojen antioksidan maddelerin alımı gündeme gelmiştir (Dündar ve Aslan, 2000).

Oksidatif stres tablosu sonucu, diyetten sağlanan antioksidanların veya endojen antioksidanların (yapımı ve metabolizmasındaki hatalar sebebiyle) azalması malnutrisyona sebep olabilir. Toksinlerin varlığında veya yüksek oksijen basıncına maruz kalma sonucu serbest radikallerin yapımı ya da romatoid artrit ve ülseratif kolit gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda fagositik hücrelerin uygunsuz aktivasyonunda olduğu gibi doğal radikal üretim sistemi metabolize olabilir. Hücreler, dengeyi sağlamak adına antioksidan savunma sisteminin sentezinin düzenlenmesiyle orta düzeyde oksidatif stresi tolere edebilir. Bununla beraber hücre metabolizmasında birbirine bağımlı major düzensizlikler ile birçok oksidatif stres meydana gelebilir. Ayrıca oksidatif stres hücre ölümüne yol açabilir. Oksidatif stresle birlikte vücuda ne gibi değişiklikler olduğu Şekil 2.4.' da gösterilmiştir (Reznick ve ark.,1998).

Hücresel enzimler ile nonenzimatik yapılardan oluşan endojen antioksidanlar ile eksojen antioksidan maddeler ve özellikleri Tablo 2.5. ve Tablo 2.6.' da listelenmiştir (Dündar ve Aslan, 2000).



Şekil 2.4. Oksidatif Stres ve Metabolizma Değişiklikleri (Reznick ve ark., 1998)

Tablo 2.5. Bilinen Endojen Antioksidanlar ve Etkinlikleri (Dünder ve Aslan, 2000)

Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	İşlevi
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksid nötralizanı
SOD	Cu Zn, Mn SOD	Mitokondri, serum,	Süperoksidi H ₂ O ₂ 'e çevirir
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı
GSH-Px	Selenoprotein	Sitosol, mitokondri	LP ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfidleri indirger
α-tokoferol	Yağda çözünen vit.	Membranlar, eksensel ortama	Peroksidasyonu azaltır
B-karoten	Vit A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptid	İntraselüler ortam, alveoller	GSH redoks substratı
Askorbik asit	Suda çözünen vit.	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, vit C korur
Sistein	Aminoasit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikalleri giderir
Bilirubin	Hemoprotein ürünü	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksidi H ₂ O ₂ 'e çevirir
Transferin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı

Tablo 2.6. Başlıca Eksojen Antioksidanlar ve Özellikleri (Dündar ve Aslan, 2000)

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz inhibitörleri	Allopurinol	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Oksipurinol	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Pterin aldehit	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Tungsten	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
Proteaz inhibitörleri	Soya tripsin inhibitörü	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Serin proteaz inhibitörleri	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Fenilmetilsülfonil (PMSF)	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
NADPH oksidaz inhibitörleri	Adenozin	Makrofaalarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Lokal anestezikler	Makrofaalarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Kalsiyum kanal blokerleri	Makrofaalarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Nonsteroid Antinflamatuarlar	Makrofaalarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Cetiedil	Makrofaalarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
Katalazlar	Doğal katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi ve nötralizasyonu
	PEG-katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi ve nötralizasyonu
	Lipzom kapsüllü katalaz	H ₂ O ₂ 'ni O ₂ ve H ₂ O'ya çevirir
Nonenzimatik toplayıcılar	Mannitol	Hidroksil radikal giderici
	Albumin	Geniş çaplı oksidan toplayıcı
	Dimetil sulfoksit	Fe, süperoksit, hidroksil toplayıcı
	17-aminosteroid lazaroidler	H ₂ O ₂ ve hidroksil giderici
	Glutasyon	Süperoksit giderici
	Ürik asit	Süperoksit ve hidroksil giderici
	Spin tuzakları	Tüm radikalleri toplar
	Bilirubin	Peroksidasyon zincirini bozar
Demir redoks zinciri inhibitörleri	Deferoksamin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
	Apotransferrin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
	Seruloplazmin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
Endojen savunmayı artıran ajanlar	Antinötrofil serumu	Hücre sel glutasyon peroksidaz enzim aktivitesini artırır
	Monoklonal antibodiler	Nötrofillerin endotele adezyonu inhibe eder
	Platelet aktive edici faktör	Nötrofillerin adezyonunu inhibe eder

2.4. Antioksidanların Etki Mekanizması

Normal koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı gelişen oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemli rol oynamaktadır. Kan, antioksidanların bütün vücuda taşınmasını ve dağıtılmasını sağlar (Akkuş, 1995; Dündar ve Aslan, 2000). Homeostasis için canlılarda (aerobik) en önemli tehdit edici unsur oksijen metabolizma ürünleri olarak hem de fizyolojik ve metabolik işlemlerde aşırı üretilen reaktif metabolitler ve reaktif oksijenli ortamlardır. Doğal olarak oluşan serbest radikallerin protein, nükleik asit ve diğer hücrel yapılar zarar verdiği ve bu zararın antioksidanların koruyucu etkileriyle azaltıldığı bildirilmektedir. Antioksidanlar oksidatif zincir reaksiyonlarının başlamasını ve devam etmesini engelleyen lipidlerin oksidasyonunu durduran ya da geciktiren bileşiklerdir (Dündar ve Aslan, 2000). Antioksidanların serbest radikal zincirini durdurduğuna ve fenolik hidroksil gruplarından hidrojen vererek kararlı bir son ürün oluşturarak ileri lipid yükseltgenmesinin başlamasını ve ilerlemesini engellediğine inanılır (Haris, 1992).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler (Haris, 1992);

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi:
 - a. Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,
 - b. Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki,
 - c. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.
2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:
 - a. Toplayıcı (*scavenging*) etki: ROS'lerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme. (Ör: Enzimler.)
 - b. Bastırıcı (*quencher*) etki: ROS'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma veya inaktif şekle dönüştürme olayına bastırıcı etki denir (Ör: Flavinoidler, vitaminler).
 - c. Onarıcı (*repair*) etki

- d. Zincir kırıcı (*chain breaking*) etki: ROS'lerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki. (Ör: Hemoglobun, seruloplazmin, mineraller)

2.4.1. Antioksidan Aktiviteden Sorumlu Bileşikler

2.4.1.1. Flavonoidler

Flavonoidler ve diğer polifenoller canlılarda ROS'ların geniş bir kısmını temizleyerek çok güçlü bir antioksidan aktivite gösterirler. Bitkilerdeki antioksidan etkiden sorumlu baş faktör onlardaki flavonoidlerdir. Flavonoidler bitkilerde yaygın olarak bulunan, sarı renkli, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan difenil propan (C₆-C₃-C₆) yapısındaki fenolik bileşikler olup vitamin benzeri maddelerdir. *Mentha spicata* türleri aromatik bitkiler olarak yetiştirilir. Bu bitki genuserlerinden birçok terpenoid ve flavonoid izelenmiştir. Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin radikal temizleme, demir ve bakır şelasyonu, tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına ek olarak; damarları genişletici, vücut direncini arttırıcı, alerjiyi önleyici, östrojenik ve virüslere karşı koruyucu etkileri de söz konusudur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu , 2008; Arzani ve ark.,2007).

Weiss ve Landauer (2003) yaptıkları çalışmada fitokimyasalların birçoğunun hastalıkların oluşumunu ve mortalite oranlarını azaltıcı yönde etkiye bağlı belirli antioksidan kapasiteye sahip olduğunu, bitkilerde bulunan birçok doğal maddenin antioksidan aktivite yönünden zengin, serbest radikal süpürücü moleküllerin (fenolik bileşikler, nitrojen bileşikler, vitaminler, terpenoidler, saponinler ve diğer endojen bileşikler) geniş bir bölümünü içerdiğini bildirmişlerdir. (Fidan ve ark. , 2008). Flavonoidce zengin kaynaklardan olan havuç, narenciye, çilek, elma, frambuaz, brokoli, ginkobloba, siyah ve yeşil çay, maydanoz, soya fasulyesi, tahıllar, lahana, kabak, patates, domates, salatalık gibi sebze ve meyvelerin günlük diyetlerle

tüketilmesi de bir antioksidan kapasite oluşturulması açısından önemlidir (Sur ve ark., 2001; Ren ve Lien, 1997).

Fosfolipaz-A₂, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu ile vücutta iltihap yapmayı önleyici özellik gösterir. Kuersetin ve rutin gibi başlıca flavonoidlerin, serum trigliserit düzeyini ve kanın pıhtılaşmasını azaltıcı etki göstermeleri yanında kuersetin, meme kanserinde p⁵³ tümör supressör geninde düzenleme, ovarian karsinoma hücrelerinde inhibitör aktivitesi gösterilmiştir. Yeni tanımlanan bir flavonoid bileşik olan 3-hidroksifarrerolün antibakteriyel özellik gösterebileceği bildirilmiştir. Ayrıca, ksantin oksidaz, glutasyon redüktaz, NADH-oksidad, protein kinaz gibi bazı enzimleri inhibe ettiklerine dair veriler de mevcuttur (Eryiğit, 2006).

Tüm flavonoidler antioksidan aktiviteye sahiptir. B halkasının hidroksilasyonu antioksidan aktivite için önemlidir. Robinetin ve mirisetin'in antioksidan aktiviteleri güçlüdür. Naringenin ve hesperitin daha az antioksidan aktiviteye sahiptirler. Fenolik asitler ve onların esterlerinin antioksidan aktiviteleri molekül içerisindeki hidroksil grubu sayısına bağlıdır (Eryiğit, 2006).

İnsanlarda flavonoidlerin absorpsiyon ve metabolizması ile ilgili farklı farmakokinetik özelliklerin varlığı düşünülmektedir. Ratlardaki diyet çalışmaları flavonoidlerin sadece %20'sinin gastrointestinal sistemden absorbe edildiğini göstermiştir. Flavonoidler çeşitli hidroksiaromatik asitlere dönüştürülerek üriner sistemden atılırlar (Halliwell, 2007). Bitki dokularında en az 5000 farklı bileşik tanımlanmıştır, bunların 2000 tanesini flavonoidler oluşturmaktadır. Metal iyon şelasyonu katalitik olarak inaktivasyon sağlar (Akdoğan ve ark., 2004). Flavonoidlerin bakır iyonlarıyla kompleks oluşturma kabiliyeti antioksidan etkilerine bağlanabilir (Eryiğit, 2006). Flavonoidlerin, Vitamin C, E ve β karotenden daha aktif olmadığı ve onların kolonda absorbe olmalarından dolayı belirli sistemik antioksidan aktivitelerinin bulunmadığı saptanmıştır. Bazı çalışmalar (Halliwell,2007), flavonoidlerden zengin yiyeceklerin total antioksidan kapasiteyi arttırdığını gösterir. Ancak burada bir şeye dikkat edilmelidir; bazı yiyecekler plazma ürik asid düzeyini

arttırabilir ve ürat farklı total antioksidan kapasite analizleriyle saptanır. Üratın yükselişi bazı hastalıklar için risk faktörü oluşturabilir ve antioksidan yarar sağlanmamış olur. Sonuçta flavonoidler ve diğer fenoller multiple aktivasyonlardan dolayı (telomeraz inhibisyonu, siklooksijenaz ve lipooksijenaz inhibisyonu, ksantin oksidaz azalması gibi), kompleks moleküllerdir. Flavonoidler hücrenel ilaç taşıma sistemleri ile etkileşebilir, membranlar arası taşıma için glukozla yarışabilir (Halliwell, 2007).

2.4.1.2. Fenolik Bileşikler

Fenoller, hidroksil gruplarından dolayı radikal giderme yeteneğine sahip oldukları için bitkilerdeki önemli bileşenlerdendir. Fenolik bileşikler serbest radikallerin nötralizasyonuna yol açıp hidrojen peroksidin verdiği zararlardan insan hücrelerini koruyarak önemli bir rol üstlenirler. (Fidan ve ark., 2008).

Polifenolik bileşiklerin fonksiyonel grubu bir ya da daha fazla hidroksil grupdan yapılmış aromatik halkadan oluşur. Polimerik polifenoller basit monomerik fenoliklerden daha etkili antioksidan iken, basit fenoller aracılığıyla peroksit radikallerinin giderilmesinde hidrolize edilebilen taninler daha düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Flavonollerin polimerizasyon derecesi yükseldikçe süperoksit giderim aktiviteleri de artmaktadır. Genel bir eğilim olarak fenoksil radikallerinin kararlılığının arttırılması istenilen bir şeydir, ancak lipitler için moleküllerin lipofilik yapıları ve antioksidanların benzerliği belirleyici olmalıdır. Farklı sebzelerden elde edilen flavonların şeker grupları ihtiva etmesi, flavonların antioksidan aktivitesini önemli derecede etkilemektedir (Eryiğit, 2006; Akdoğan ve ark., 2004).

Kahkönen ve ark. (1999) yaptıkları araştırmada, antioksidanların hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterdiklerini ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere döndürerek oluşan antioksidan radikalinin, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki paylaşılmamış elektronun yer değiştirmesiyle stabilize olduğunu ve

bu nedenle antioksidan moleküllerin yapılarında genellikle fenolik fonksiyon taşıdıklarını belirtmişlerdir (Başer, 2002). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteyle ilişkilendirildiği ve lipid peroksidasyonunda önemli bir rol oynadığı, meyve ve sebzelerde zengince bulunan polifenolik bileşiklerin günlük bir gramın üzerinde alındığında gen mutasyonu ve kanser hücrelerinin oluşumu üzerine inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (Eryiğit, 2006)

2.4.1.3. Karotenoitler ve β -karoten

Karotenoitler terpenoit bileşiklerin bir alt grubudur. Terpenoitler, bitkiler ve hayvanlarda bulunan doğal bileşiklerin en önemli ve en geniş sınıflarından birisidir. Bu bileşikler yapısal olarak birbirlerinden çok farklı olmalarına rağmen bunların hepsi için kullanılabilen basit bir özelliğe sahiptirler. Bitkilerde serbest halde bulunabildikleri gibi glikozitlerle, organik asit esterleriyle ve bir kısmı da proteinlerle birlikte bulunurlar. Terpenoitlerin biyosentezinde önemli yeri bulunan mevalonik asit, 3 mol asetil CoA'nın kondenzasyonu ile oluşur (Şekil 2.5.). Mevalonik asidin su ve karbondioksit kaybetmesi ile terpenleri oluşturan izopren birimleri meydana gelir. Serbest asetattan direk sentezlenebildiği gibi şekerlerin oksidasyonu, pirüvik asidin veya yağ asitlerinin kondensasyonu sonucu oluşan asetil CoA, pek çok doğal bileşiğin sentezinde olduğu gibi mevalonik asit sentezinde de başlangıç maddesi olarak kullanılır (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Karabacak, 2007).

Terpenoit bileşikler izopren birimlerine bölünebilen yapılardır ve izopren birimlerinin sayısına bağlı olarak kendi aralarında sınıflandırılırlar (Tablo 2.7.).

Tablo 2.7. Terpenoitlerin Sınıflandırılması (Karabacak, 2007)

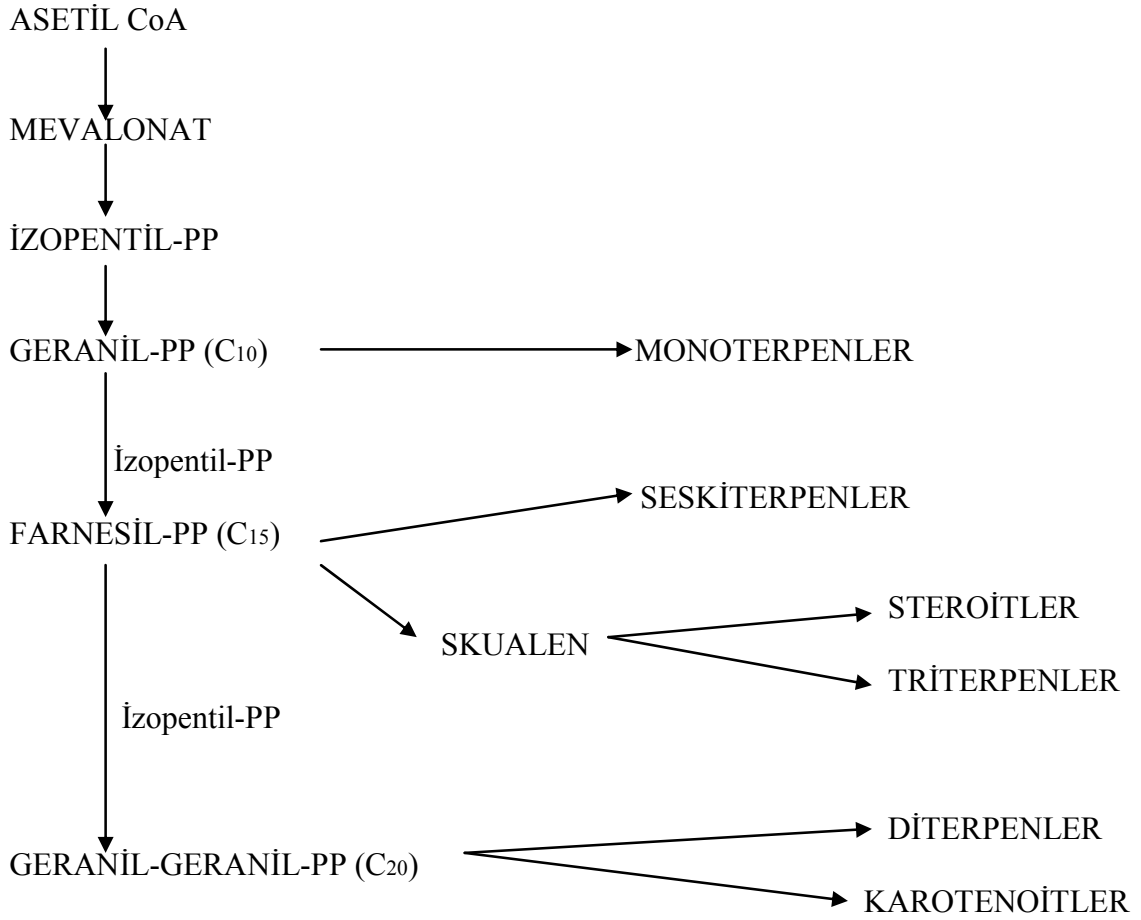
Monoterpenler	C10		Triterpenler	C30
Seskiterpenler	C15		Karotenoitler	C40
Diterpenler	C20		Politerpenler	(C5) _n
Sesterterpenler	C25			

Karotenoitlerin singlet oksijen ve peroksit radikallerini giderme gibi çok çeşitli antioksidan aktiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir. Ayrıca singlet oksijen ve radikallerin oluşumunu içeren uyarıcı moleküllerin oluşmasında kuvvetli deaktivate edicilerdir. Oksijenin indirgenmiş formunun uyarılmış hali olan singlet oksijen, kararsız ve oldukça reaktiftir. Karotenoitlerin etkili antioksidan olmaları, kimyasal tepkime hızlarının sadece fiziksel giderim aktivitelerinin %5'i kadar olmasıyla izah edilebilir (Eryiğit, 2006).

Singlet oksijen giderim aktiviteleri ile ilgili hala bazı belirsizlikler olmasına karşın, lipid peroksidasyonundaki peroksit radikallerinin giderimi hususu geniş ölçüde kabul görmüştür. Karotenoitlerin antioksidan tepkimelerine bakıldığında; peroksit radikallerinin karotenoitlerin ilavesiyle giderildiği, bunun yanı sıra çok sayıda ayrılma ürünlerinin de oluşabildiği, bu ürünlerin bazılarının oluşumunun net bir antioksidan etkiyi göstermediği rapor edilmiştir (Konukoğlu ve Akçay, 1995).

Vitamin A ve karotenoitlerin antioksidan potansiyelleriyle ilgili karşılaştırmalı çalışmaların çoğu invitro sistemlerde gerçekleştirilmiştir. Örneğin likopen, singlet oksijen gidericilerin en etkilileri arasındadır ve aynı zamanda peroksit radikal giderimine katkıda bulunan bileşiklerden olup β -karoten, kriptoksantin, lutein, likopen ve zeaksantin gibi karotenoitlerin oksidatif direnci retinil palmitat, retinoik asit ve retinol gibi retinoitlerinkinden yaklaşık 5 kat daha etkilidir (Eryiğit, 2006).

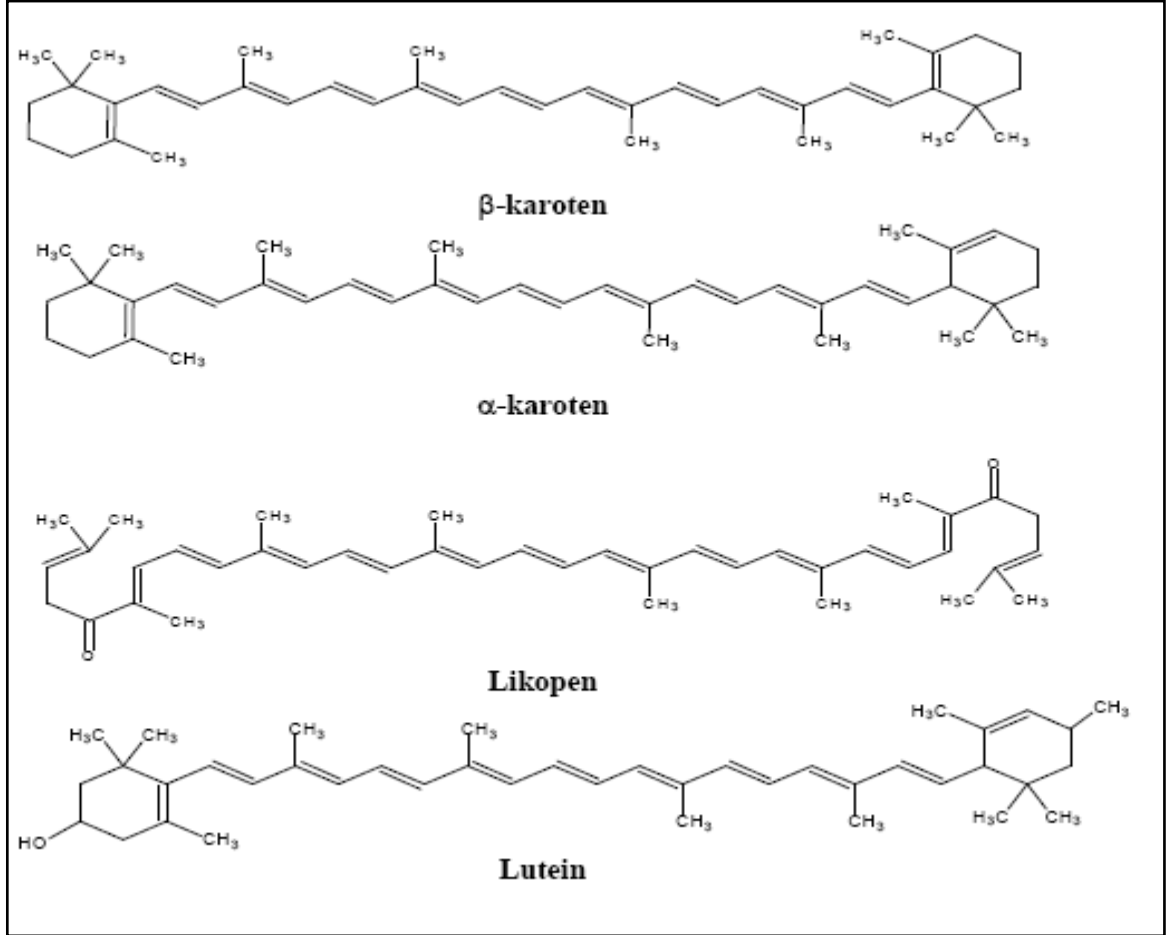
Beta-karoten, hızlı bir şekilde peroksidasyonun artmasına neden olurken, kantaksantin peroksit radikallerini kararlı kılarak daha uzun süre etkili bir antioksidan olarak görev yapmaktadır (Eryiğit, 2006).



Şekil 2. 5. Terpen Bileşiklerinin Oluşumu (Karabacak, 2007)

Krinsky ve Deneke (1982) karotenoitlerin süperoksit ve hidroksil radikallerinin ataklarına karşı lipitleri koruyabildiğini söyleseler de bu sonuçlar doğrulanmamıştır. β -karotenin, enzimatik antioksidan olan süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinde bir artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Eryiğit, 2006). Özellikle akciğer ve kolon kanserlerinde ROS' lar mutagen olarak rol oynadığı, serum antioksidanları ve diyet üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda E vitamini ve β -karoten'in akciğer ve kolon kanserlerinde mortaliteyi azalttığına dair sonuçlar bildirilmiştir (Konukoğlu ve Akçay, 1995). Hidrojen atomunun ayrılmasının karotenoitin antioksidan aktivitesini etkileyen önemli bir faktör olabileceği, luteinin sülfür radikallerini ve β -karotenin glutasyon (Tiyil), sülfonil ve azot dioksit radikallerini yok ettiği bilinmektedir. Tiyil radikali karotenin ilave edilmesiyle

giderilir (Eryiğit, 2006). Şekil 2.6.'da besin maddelerinde yaygın olarak bulunan karotenoitlerin yapı formülleri gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Besin Maddelerinde Yaygın Olarak Bulunan Karotenoitlerin Yapı Formülleri (Eryiğit,2006)

2.4.2. Doğal Antioksidan Kaynakları

Son derece zengin bitki örtüsüne sahip olmamız ve günümüzde değerini arttıran fitokimyasalların bol bulunduğu sebze, meyve, kabuklu yiyecekler ve tahılların insanlardaki birçok hastalığa karşı içerdikleri antioksidanlardan dolayı koruyucu olduğu, ayrıca gıda teknolojisinde kullanılan sentetik antioksidanların kanserojen etkiler yaratabildiğini düşündüğümüzde, bitkisel doğal ürünlerin kullanımının ve

biyokimyasal yaklaşımın ne denli önemli olduğu anlaşılmaktadır (Reznick ve ark., 1998).

Biyoaktif maddeler bakımından zengin doğal ürünlerin kullanımından doğan yararlar, ilaç, yiyecek ve kozmetik endüstrisinin bu maddelere ilgisinin artmasına sebep olmuştur. Bitkilerde yüksek oranda antioksidan aktivitesi bulunan kimyasal maddeler saptanmıştır (Capecka ve ark.,2005).Bunun yanında günlük hayatta tükettiğimiz temel meyve ve sebzelerin de bu maddeleri içerdiği ve vücudumuzdaki zararlı olan maddeleri etkisizleştirerek çeşitli yararlar sağladığı Madsen ve Bertelsen (1995) tarafından yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir. Halvorsen ve ark. (2002) diyetteki bitkilerde total antioksidan aralığının 1000 ve üzeri olduğunu saptamışlardır. Askorbik asid ve karotenoitlerin de dâhil olduğu fenolik bileşikler, serbest radikallere karşı hücrel savunma sistemi içindeki çok önemli bileşiklerdir. Kalt, Forney, Martin ve Prior'a göre meyvelerin antioksidan içeriğindeki askorbik asidin etkisi önemsizdir. Larson (1998)'ın yaptığı bir çalışmada benzer şekilde karotenoitlerin antioksidatif özellikleri tartışmalı görülmektedir ve bitki dokularında yüksek oksijen basıncı gibi bazı durumlarda prooksidan aktivite etkisi görülebilir. Bitkiler, yaş ve kuru olarak iki biçimde kullanılır. Jambor ve Czosnowska (2002), taze bitkilerin kurutulması süresince meydana gelen enzimatik olayların, bitkilerde bulunan fitokimyasalların kompozisyonlarında belirgin değişikliklere yol açtığını bildirmişlerdir. Zheng ve Wang (2001), taksonomik açıdan 39 ayrı bitkisel tür saptamışlar ve keklikotunun da fenolik bileşiklerin düzeyinin çok yüksek olduğunu göstermişlerdir. Yine Wang vd. (1996) ve Kalt vd. (1999) meyvelerde bulunan güçlü antioksidan bileşikler hakkında önemli çalışmalar yayınlamışlardır (Capecka ve ark., 2005).

Sebze ve meyvelerin bazıları yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşikler içerirler. Vitamin C, vitamin E ve karotenoitlerden başka antioksidanların çoğu gıda bileşiği olarak bulunur. Önemli aktiviteye sahip antioksidanlar çilek, kiraz, turunçgiller ve kivi meyvelerinde, kuru erik ve zeytinde, aynı zamanda zeytinyağı ve meyve sularında da yüksek antioksidan aktivite belirlenmiştir. Pek çok çalışmada

kakao taneleri, patates, domates ve ıspanak gibi çeşitli sebzelerin antioksidan potansiyeli analiz edilmiştir (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Eryiğit, 2006).

Şaraplar çeşitli polifenolik bileşikler içerir ve bunların çoğu antisiyaninlerdir. Viskinin ve sakenin de antioksidan aktivitesi olduğu rapor edilmiştir. Asya ülkelerinde içecek olarak bolca tüketilen çayın tansiyon düşürücü, antioksidatif, damar tıkanmasını önleyici, kanseri önleyici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Yeşil çay yaprakları değişik oranlarda kateşinler içerirler (Eryiğit, 2006). Kateşinler, metal iyonlarını bağlayıcı ve oksijen radikalini tutan etkili antioksidanlar olarak tanınırlar. Bitkilerdeki antioksidatif etkiden sorumlu baş faktör onlardaki flavonoitlerdir. Flavonoitler iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan difenil propan yapısındaki fenolik bileşiklerdir. Doğal antioksidanların birçoğu özellikle de flavonoitler çok çeşitli biyolojik etkiler sergilerler. Meyve ve sebze tüketimiyle kanser ve kalp-damar hastalıkları arasındaki ters ilişki onlarda bolca bulunan flavonoitlere dayandırılmaktadır (Eryiğit, 2006).

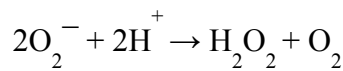
2.4.3. Enzimatik ve Nonenzimatik Antioksidanlar

2.4.3.1. Superoksit Dismutaz (SOD)

Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiş bir enzimdir. Üç tür Superoksit Dismutaz vardır:

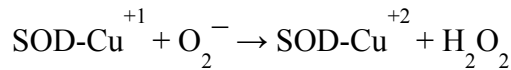
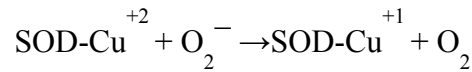
1. Mitokondride lokalize Mn-SOD
2. Sitozolda lokalize Cu-Zn SOD
3. Bakır içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dir.

Metalloprotein olan SOD bir süperoksit molekülünü O_2^- molekülüne yükseltgeyip, diğer süperoksit molekülünü H_2O_2 'e indirger.



Bu dismutasyon reaksiyonu superoksit radikalinin anyon ve katyon formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4,8 de kendiliğinden de cereyan eder. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH'nın 7,35- 7,45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaş olmaktadır. Süperoksit dismutaz enzimi varlığında ise pH en az 7,4 olduğu koşullarda bu reaksiyon 4 kat daha hızlı gerçekleşmektedir. Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijen metabolize eden hücreleri superoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Aynı zamanda lipid peroksidasyonunu da inhibe eder. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. Normal metabolizma sırasında superoksit üretimi yüksek orandadır. Süperoksit dismutaz enziminin ekstraselüler aktivitesi ise çok düşüktür (Memişoğulları, 2005).

SOD'ın, süperoksit anyonuna olan etkisi şu şekildedir: Superoksit anyonu, Cu^{+2} ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanınca, bir elektron Cu^{+2} 'ye bağlanır ve Cu^{+1} ve moleküler oksijen oluşur. İkinci bir reaksiyonda superoksit Cu^{+1} 'den bir elektron alarak H_2O_2 ve Cu^{+2} oluşur.



SOD granülosit fonksiyonu için önemlidir. Çünkü fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler olarak öldürülmesinde rol alır. Lenfositlerde daha fazla SOD bulunur (Memişoğulları, 2005).

2.4.3.2. Glutatyon (GSH)

Glutatyon (GSH); glutamik asid, sistein ve glisinden oluşan, memeli hücrelerinde multipl metabolik fonksiyonları olan, milimolar konsantrasyonda bulunan, intraselüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir. Önemli bir indirgeyici ajan ve nonenzimatik antioksidan olan glutatyon, hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların

zararlı etkilerinden korumaktadır (Reznick ve ark.,1998).Hücre içi ortamın en önemli antioksidan molekülü olan redükte glutatyonun antioksidan savunma sisteminde görev almaktan başka ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesi, aminoasitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril gruplarının redükte halde tutulması, bazı enzimatik reaksiyonlarda koenzim görevi görmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyonlara sahiptir (Reznick ve ark.,1998).

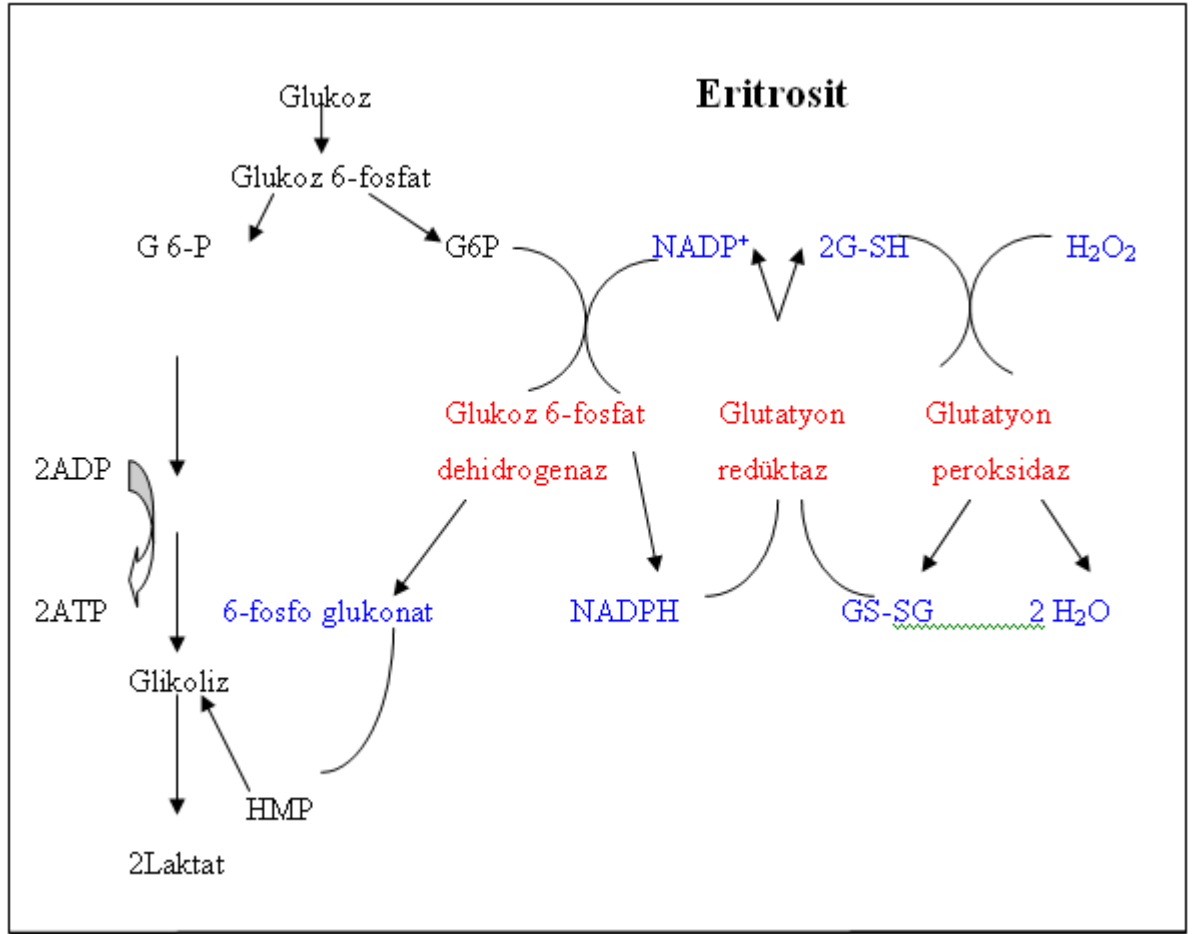
Alyuvarlardaki pentoz fosfat yolu (Heksozmonofosfat yolu (HMY), C₁ oksidatif döngüsü, Warburg-Diekens-Hörecker döngüsü), okside olmuş glutatyonun FAD içeren bir flavoprotein enzimi olan glutatyon redüktaz ile katalize edilerek indirgenmiş glutatyona çevirimi için gereken NADPH'ı sağlar. Daha sonra indirgenmiş glutatyon selenyum iz elementini içeren bir enzim olan glutatyon peroksidaz tarafından katalizlenen bir tepkime ile H₂O₂ 'yi alyuvarlardan uzaklaştırır (Bayşu Sözbilir ve Bayşu , 2008; Murray ve ark.,1998).

Gama glutamil transpeptidaz membran bağlı transpeptidaz olup, glutatyonun hem kullanımında, hem de yıkımında rol oynamaktadır. Glutatyon intrasellüler olarak sentez edilir. Aminoasitlerin varlığında gama glutamil transpeptidaz tarafından katalizlenen reaksiyonlar meydana gelir ve sonuçta gama glutamil amino asitler oluşur. Sistein en önemli gama glutamil grubunu alan amino asiddir. Bu reaksiyon metionin ve glutamin gibi aminoasitlerle de çok aktiftir. Gama glutamil amino asitler hücre içine taşınır ve gama glutamil siklotransferaz ile 5 oxoprolin amino asidi oluşturur. 5 oxoprolin, 5 oxoprolinazın katalizlediği reaksiyonla glutamata dönüşür(Çavdar ve ark, 1997).

Hücre içine alınan sisteinil-glisin, membran bağlı bir dipeptidaz tarafından sistein ve glisin aminoasitlerini oluşturur. Sentetaz reaksiyonlarıyla sırasıyla gama glutamil sistein ve gama glutamil-sisteinil-glisin (glutatyon, GSH) oluşur ve oluşan glutatyon gama glutamil transpeptidaz ile hücre dışına taşınır. Bu reaksiyonların tümüne birden *gama glutamil siklusu* denir. Bu siklus sırasında 3 ATP yüksek enerjili fosfat bileşiği olarak kullanılarak 3 ADP + 3 Pi oluşur (Çavdar ve ark, 1997).

İntrasellüler glutatyon, selenyum içeren glutatyon peroksidaz tarafından okside glutatyona (GSSH) dönüştürülür. Bu enzim aynı zamanda hidrojen peroksidi ve diğer peroksidlerin indirgenmesinide katalizler. Glutatyon peroksidazın substrat spesifikliğine bağlı olarak iki tipi tanımlanmıştır. Selenyum bağımsız glutatyon peroksidazın etkisi hidrojen peroksid dışındaki organik hidroperoksitler üzerinedir. Selenyum bağımlı enzim ise ayrıca hidrojen peroksid üzerine etkilidir. Eritrositlerde (glutatyon ve glutatyon peroksidaz varlığında) H_2O_2 'nin redüksiyonu; GSSG redüktaz aktivitesi için gerekli olan NADPH'ları sağlayan pentoz fosfat yoluyla ilişkilidir. Bu önemli reaksiyonlar membran lipidlerini oksidasyona karşı korumaktadır. Biyolojik sistemlerde, superoksid radikali ve H_2O_2 ara madde olarak oluşmaktadır. Bu maddeler organik peroksid oluşumuna yol açarak, reaktif oksijen türlerini meydana getirir. Bu olay da okside glutatyon (GSSH) sentezini ve salınımını artırır (Konukoğlu ve Akçay, 1995). Şekil 2.7.'de eritrositlerde (glutatyon ve glutatyon peroksidaz varlığında) H_2O_2 'nin redüksiyonu GSSG redüktaz aktivitesi için gerekli olan NADPH'ları sağlayan pentoz fosfat yoluyla ilişkisi görülmektedir (Altınışik, 2001; Çavdar ve ark, 1997).

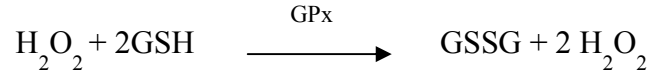
Proteinlerdeki SH gruplarının korunması ve bazı reaksiyonlarda koenzim olarak görev almasının yanısıra amino asitlerin transportunda, protein ve DNA sentezinde de önemli rol oynar. Glutatyon dokularda birbiriyle dengede bulunan, indirgenmiş glutatyon (GSH) ve okside glutatyon (GSSG) olmak üzere iki şekilde bulunur. (Reznick ve ark.,1998; Aktaş ve ark., 2005).



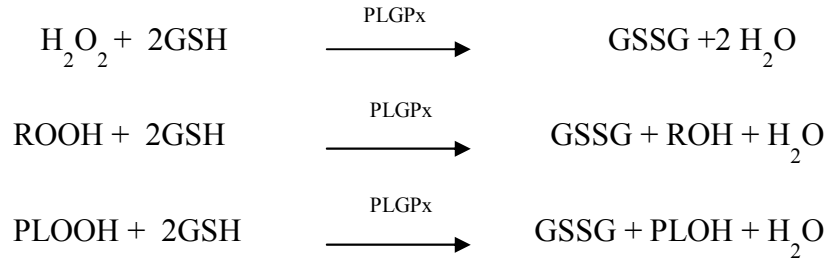
Şekil 2.7. Heksozmonofosfat Yolu (Altınışık, 2001)

2.4.3.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

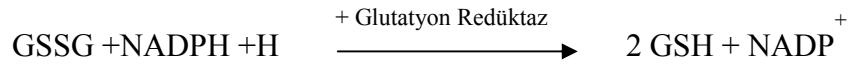
Glutatyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinde sorumlu metalloenzimdir. Lipid peroksitlerini daha az toksik yağ asitlerine indirger. Oluşan H₂O₂, glutatyon peroksidaz ya da katalaz aracılığı ile suya indirgenir. Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz, H₂O₂ ve organik hidroperoksitlerin glutatyon tarafından indirgenmesinin katalize eden peroksidazlardan biridir (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Eryiğit, 2006).



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGPx) monomerik, selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipid hidroperoksidlerini alkole indirger.



Hidroperoksitlerin redükte olması ile oluşan GSSG, glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile yeniden GSH'ya dönüşür.



Eritrositlerde de glutatyon peroksidaz oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. Glutatyon peroksidaz aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur. Hidrojen peroksit, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından su ve moleküler oksijene dönüştürülerek metabolize edilmektedir. Glutatyon peroksidaz serbest oksijen radikalleri, peroksitler ve kanserojenlere karşı savunmada önemli rol oynar. Ayrıca glutatyon peroksidaz lipooksijenaz ve siklooksijenaz yollarını değiştirerek tümör oluşumunda anahtar bir rol oynar. Tümörlerde H_2O_2 ve diğer peroksitlere karşı enzim savunmasının ilk enzimi olan glutatyon peroksidaz aktivitesinde önemli artış bildirilmiştir (Yılmaz ve Ozan, 2003).

2.4.3.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

Yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 altünitten oluşmuş bir dimerdir. Her bir altünit NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere 3 tane yapısal alan içerir. Glutasyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'ye transfer edilir. Daha sonra subünitlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutatona aktarılmış olur. Yapılan çalışmalarda diyabette glutasyon reduktaz aktivitesinin azalmış olduğu belirtilmektedir (Memişoğulları, 2005).

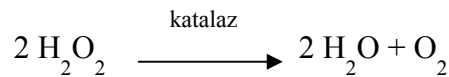
2.4.3.5. Glutasyon S-Transferaz (GST)

Toksik metabolitlerle glutasyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonuna yol açan başka bir antioksidan enzimdir. Yapılan çalışmalarda diyabette kesin olarak antioksidan sistemlerde bozukluk olduğu, antioksidan enzimlerin arttığı veya azaldığı şeklinde raporlar vardır (Memişoğulları, 2005).

2.4.3.6. Katalaz (KAT)

Katalaz enzimi memeli eritrositlerinde bol miktarda bulunur. Katalaz enzimi diğer hücrelerin peroksizomlarında lokalize olmuştur. Katalaz, tetramerik yapıya sahip molekül ağırlığı 240.000 olan aktif merkezinde 4 tane "ferrihem" içeren bir hemoproteindir. Aynı zamanda KAT somatik bir oksidan koruyucudur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Katalazın H₂O₂ ye affinitesi glutasyon peroksidaza göre daha fazladır ve KAT eritrosit içerisinde bol miktarda bulunur. Hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalar.



Bu enzimin peroksidaz aktivitesine ilave olarak hidrojen peroksidi elektron verici substrat olarak, diğeri de oksidan ve elektron alıcısı olarak kullanma özelliği vardır. Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksid ve metil, etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü hidroperoksitlerine ise etki etmez (Karabulut ve Özerol, 2002).

Katalaz ve glutasyon peroksidaz primer enzimatik savunma sistemleridir. Katalaz; kanser, diyabet, katarakt, ateroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli bir enzimidir (Yılmaz ve Ozan, 2003).

2.4.4. Malondialdehid (MDA)

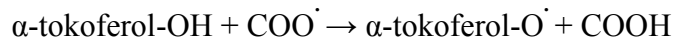
Malondialdehid (MDA), çoğunlukla oksidatif stres belirteci olarak kullanılmaktadır. Malondialdehid kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehid ölçülmesi lipid peroksid düzeylerinin indikatörü olarak kullanılır. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Bu bileşiklerden sonuncusu olan MDA, tiyobarbitürikasit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksidasyonunun saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır (ARLAP, 2009; Altınışık, 2001).

2.4.5. Antioksidan Vitaminler

2.4.5.1. E Vitamini (Tokoferol)

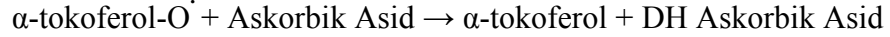
İnsanlar bir kısım antioksidanları diyetleriyle sağlarlar. Bunların bazılarının, özellikle E vitamininin fizyolojik rolü çok iyi saptanmışsa da diğerlerinin rolü henüz belirsizdir. Endojen antioksidanlar insan vücudundaki reaktif oksijen partikülleri, reaktif nitrojen partikülleri tarafından oluşturulan zarara karşı bütünüyle koruyucu değildirler. Oksidatif zararlanmada çeşitli biyomarkırların varlığı hemen hemen her zaman % 100 etkin değildir. E vitamini insanda esansiyel antioksidandır (Reznick et al., 1998). Evans ve Bishop tarafından 1922 yılında keşfedilen bu maddeye, 1924 yılında Sure tarafından “E vitamini” ismi verilmiştir (Güzel, 2007).

Yağda çözünen vitamin olduğu için hem sellüler hem de subsellüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur. Sellüler ve subsellüler zar fosfolipidlerinde bulunan çoğul doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattı E vitaminidir. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma zarlarının fosfolipidleri α -tokoferole afinite gösterir ve vitamin E bu noktalara yoğunlaşır. Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. En aktif formu α -tokoferoldür. Tokoferoller, fenolik bir hidrojeni, peroksitlenmiş çoğul doymamış yağ asidine aktarıp serbest radikal zincir tepkimesini kırarak antioksidan etki gösterirler (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Güzel, 2007; Murray et al., 1998). Hidrofobik kısmına hidrojenini kolaylıkla verebilen –OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine α -tokoferolle birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur (Memişoğulları, 2005; Murray ve ark., 1998).



Böylece α -tokoferol yeni bir radikal olan α -tokoferol-O[•] e dönüştürülmüş olur. Bu radikalın ise başka bir yağ asidiyle birleşebilme aktivitesi düşüktür. Sonuçta

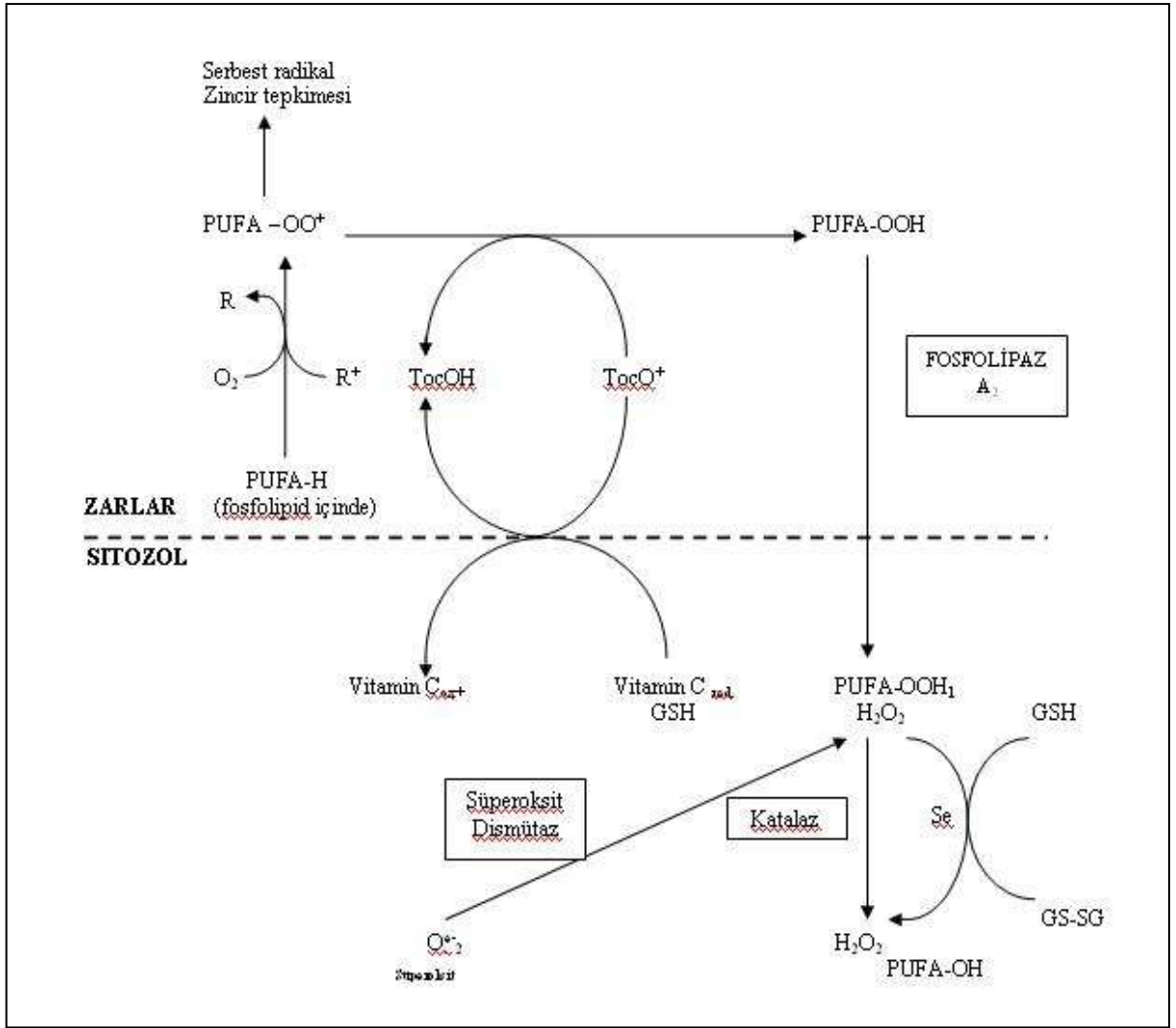
zincir reaksiyonunu durdurur. Oluşan bu tokoferoksil radikali membran yüzeyinde askorbik asitle (C vitamini) reaksiyona girerek tekrar tokoferole dönüşmektedir.



Bu oksidasyon ürünü glukuronik asitle konjuge olur ve safrayla atılır. Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen derişimlerinde etkilidir (Şekil 2.8.) (Memişoğulları, 2005; Murray ve ark.,1998).

C vitamini ve α -tokoferolün organizmada düşük düzeylerde olması miyokard enfarktüsü ve bazı kanserlerin artmış insidansı ile ilişkili bulunmuştur. Diyabetli ratlara vitamin E ve C suplementasyonunun lipid peroksidasyonunu azalttığı rapor edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da tip 2 diyabetli hastalara 1 ay boyunca 800 IU/gün E vitamini suplementasyonunun bütün lipidleri ve lipid fraksiyonlarını, açlık kan glukozunu ve fruktozamin düzeylerini, TBARS düzeylerini azalttığını, insülin ve C peptid düzeylerini, glutatyon peroksidaz ve SOD aktivitelerini artırdığını, kısacası tip 2 diyabetten korunmada ve tedavisinde E vitamininin yararlı etkiler sağladığı rapor edilmektedir. Antineoplastik bir ajan olan karboplatinin sıçanlarda çeşitli organ ve dokular üzerindeki toksisitesi üzerine pentoksifilin (PTX), C ve E vitamininin koruyucu etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmış ve karaciğer üzerine koruyucu etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Özbek ve ark., 2003).

Esansiyel bir antioksidan olmasının yanında E vitamininin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olduğu Gey (1995) tarafından rapor edilmiştir. Diplock (1997) tarafından yapılan açıklamaya göre E vitamininin büyük oranda eksikliği nörodejenerasyona ve aterosklerozun hızlanmasına sebep olmaktadır (Memişoğulları, 2005). Başka bir çalışma geçici serebral iskemide antioksidan savunma sistemindeki etkinliğin ilk 24 saatte azaldığını ve bu azalmanın preiskemik dönemde C ve E vitamini uygulanmasıyla önlenemediği, ayrıca iskemiye bağlı lipid peroksidasyon artışı ve serebral ödemin büyük bir olasılıkla antioksidan savunma sistemindeki zayıflamaya bağlı olduğuna işaret etmektedir (Deniz ve ark., 2004).



Şekil 2.8. Hücrenin Lipid Fazı (Zarlar) İle Sulu Fazında (Sitozol) Çalışan Antioksidan Sistemleri Arasında Etkileşim ve Sinerjizm (Murray ve ark., 1998)

Trakya Üniversitesinde yapılan bir çalışmanın sonucunda, kronik alkol kullanımında arttığı bilinen nitrik oksit sentazın (NOS), L-arjinin havuzunun tükenmesine yol açarak arjinaz enzim aktivitesinde azalmaya neden olabileceği, antioksidan vitaminler olarak C ve E vitaminlerinin kullanımının, oksidatif stresi azaltıp arjinaz/NOS yolağını arjinaz lehine çevirebileceği ve olumsuz etkileri bilinen nitrik oksit üretiminin azalmasının söz konusu olabileceği düşünülmüş aynı anda üretimi artan poliaminler bu olumlu etkiyi daha da artırabileceği dolayısı ile kronik alkol kullanımının zararlı etkilerini azaltmada C ve E vitaminlerinden yararlanılabileceği yönünde açıklama yapılmıştır (Kundak ve ark., 2007).

2.4.5.2. A Vitamini

A vitamini, β -iyonon halkasına sahip bütün karoten ve karotenoidlerden oluşabilir. Onun için bu maddelere *provitamin A* da denir. Terminal 2β -iyonon halkasına sahip β -karotenden oksidatif parçalanmayla 2 molekül vitamin A, buna karşılık α - ve γ -karotenlerden ise 1 er molekül vitamin A₁ anlaşılır. Aşağıda bu yapılar görülmektedir (Bayşu Sözbilir ve Bayşu , 2008).

R= -CH₂OH = all-trans-**retinol** (vitamin A₁ alkol şekli)

R= — C $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H} \end{matrix}$ = **Retinal** (vitamin A₁ aldehit şekli)

R= — COOH = **Retinik asit** (vitamin A₁ asit şekli)

Vitamin A denilince, genellikle vitamin A₁ anlaşılır. Vitamin A₁ karada yaşayan hayvanlarla tuzlu su balıklarının karaciğerinde bulunur. Tatlı su balıklarının karaciğerinde ise vitamin A₁ 'in %30'u kadar etkin olan vitamin A₂ bulunur. Vitamin A₂'de β -iyonon halkasında 3. ve 4. C'lar arasında bir çift bağ daha bulunur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

A vitamini kavramı retinol, retinoik asit ve retinal gibi biyolojik aktif moleküllerin tümü için kullanılır. Retinol uzun zincirli yağ asitleriyle oluşturduğu retinil esteri formunda hayvansal dokularda, β -karoten ise, hemen hemen tüm bitkisel kaynaklarda bulunur. β -karoten incebağırsakta parçalanır ve iki molekül retinol oluşur. Diyetle bulunan retinol esterleri incebağırsak mukozasında hidroliz edilir, retinol ve serbest yağ asitleri oluşur. Esterler ve β -karotenlerin kırılması ve indirgenmesi sonucu oluşan retinol, incebağırsak mukoza hücrelerinde uzun zincirli yağ asitleriyle tekrar esterleştirilir ve şilomikronların bir bileşeni olarak lenfatik sisteme verilir. Şilomikronlardaki retinol esterleri karaciğer tarafından alınır ve

depolanırlar. Bu bakımdan serum A vitamini düzeyleri karaciğerdeki depolar aracılığıyla korunur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Murray ve ark.,1998).

Sebze, meyve, kabuklu yiyecekler ve tahılların insanlardaki birçok hastalığa karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Bu koruyucu etki, antioksidanların bir sonucu olabilir. Epidemiyolojik kanıtlar yüksek vücut oranlarının; kısmen sigara içiciliği, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar riskinin azaltılmasıyla ilişkili olduğu ve antioksidan gıdalar olarak vitamin A ve vitamin C'nin sıklıkla kullanıldığını göstermiştir (Reznick ve ark.,1998). A vitaminleri görme, üreme, büyüme ve epitel dokusunun sağlamlığı için gerekli olan bir grup bileşiklerdir. Diyetteki retinolün oksidasyonu sonucu oluşan retinoik asit, retinoidlerin görme dışında diğer etkilerinin çoğuna aracılık eder. Alfa-tokoferolle karşılaştırıldığında oldukça zayıf bir antioksidandır. İnsan LDL'sinde α - tokoferol'ün 1/20'si oranında bulunur ve α - tokoferol bittikten sonra kullanılır (Memişoğulları, 2005).

Vitamin A ve vitamin C nin antioksidan aktivitelerinden dolayı insanlardaki hastalıklara karşı koruyucu etkilerinin olup olmadığı henüz tamamen ispatlanmamıştır (Reznick ve ark.,1998).

Yapılan bir çalışma guatr hastalarında görülen antioksidan aktivitelerdeki azalma, guatr hastalığının etkisiyle oluşabilecek serbest radikallerin zararsız hale getirilmesinde antioksidan vitaminlerin(A, E, C) ve selenyumun, kısmen de olsa etkili olabileceği ve diğer antioksidan sistemlerle birlikte antioksidan savunma sistemini daha da güçlendirebileceğini ve ayrıca bu antioksidan vitaminler (A, E, C) ve selenyumun hastalığın oluşturduğu serbest radikallerin etkisini pasifleştirebileceğini göstermiştir (Karataş ve ark., 2006).

2.4.5.3. C Vitamini (Askorbik asit)

C vitamini; moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona

girebilme kabiliyetinde olan suda eriyen bir vitamindir. Yapısı L- askorbik asit olup bu madde L-gulonik asidin enediol laktonudur. C vitamininin asit karakteri 1. C'daki -COOH grubundan değil, 3. C atomuna bağlı enolik hidrojeninden ileri gelir. Işık, bakır ve gümüş iyonları karşısında hızlı bir oksidatif parçalanmaya uğrar. Ayrıca ısı ile etkisini önemli derecede kaybeder. İndirgeyici özellikte olup bu özellik 2. ve 3. C atomlarına bağlı (OH) gruplarındaki (H) lerin serbest hale geçmesinden ileri gelir (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

C vitamini plazmada oksidan ajanlara karşı ilk antioksidan defansı oluşturur. LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı korunmada yardımcı olur. Kollojen sentezinde, tirozin yıkımında, adrenalın sentezinde, safra oluşumunda ve pek çok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak rol alır (Memişoğulları, 2005).

C vitamininin metabolik rollerinden biri antioksidan aktivitesi olup reaktif oksijen partikülleri ve reaktif nitrojen partiküllerini süpürücü etkisi yoğun olarak gözlemlenmektedir. Canlılarda demir ve bakır iyonlarının birbiriyle etkileşimi sonucu pro-oksidan aktivitelerde kullanılabilir (Reznick ve ark.,1998).

Süperoksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksit radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar. Bu esnada kendisi de dehidroaskorbata okside olur. C vitamini yetersizliği durumlarında oluşan tokoferoksit radikalleri tokoferole dönüşmesi için GSH ile reaksiyona girer ve böylece hücredeki GSH miktarını azaltır. Yine plazma C vitamini düşük (0.2 mmol/L'den düşük) olduğu zaman oksidan etki de gösterebilir. C vitamini süperoksit dışında Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeyen başka bir ajandır. Bu şekilde demiri Fenton reaksiyonuna girmeye uygun hale getirir. Böylece plazma düzeyleri düşük olduğu zaman süperoksit üretimine katkıda bulunur (Memişoğulları, 2005).

Sigara toksikasyonunun karaciğer dokusunda oluşturduğu yapısal ve biyokimyasal değişiklikler üzerine C vitamini ve melatoninin koruyucu etkilerinin

belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, sigara inhalasyonunun, lipid peroksidasyonunu artırdığı, karaciğer dokusunda yer yer yapısal değişiklikler oluşturduğu tespit edilmiş ve bununla birlikte, C vitamini ve melatonin uygulamasının sigara toksikasyonuna karşı karaciğerde kısmi bir koruma sağladığı saptanmıştır (Çolakoğlu ve ark., 2005).

Deneysel olarak yapılan bir çalışmada sıçan tiroid bezinde kadmiyumun sebep olduğu hasara karşı C vitamini, E vitamini, selenyum ve metallothioneinin tiroid bezinde kadmiyum hasarına karşı müşterek koruyucu bir etki gösterdiği saptanmıştır (Karabulut ve ark., 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereç

3.1.1. Deney Hayvanı

Araştırmada deneysel amaçlı 2–3 aylık 180–240 g ağırlığında 55 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Hayvanların seçiminde sağlıklı ve başka bir çalışmada kullanılmamış olmalarına özen gösterildi. Araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi biyokimya laboratuvarında; AKÜ, Hayvan Etik Kurulunun 05-08 referans numaralı onayı doğrultusunda gerçekleştirildi. Sıçanlar Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde barındırıldı. Her bir grupta 10 adet sıçan bulunacak şekilde, toplam 50 adet sıçan, ikisi kontrol, üçü deneme olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Gruplar birbirleriyle temas kuramayacak şekilde 10 adet bölme her bir bölmede 5-6 adet sıçan olmak üzere yerleştirildi. Araştırmada kullanılacak kontrol ve deneme grubunu oluşturan hayvanlar araştırma süresince içeriği Tablo 3.1’de verilen temel rasyonla *ad libitum* beslendiler.

3.1.2. Deneysel Gruplar ve Deneme Protokolü

Deney hayvanları 7 günlük diyetle alıştırma dönemini takiben, 21 günlük deneme süresi boyunca kendilerine tahsis edilen yemle beslendiler. Yemleme gün içinde saat 09:00 ile 19:00 da olmak üzere iki kez yapıldı. Sıçanlar deneme boyunca normal oda sıcaklığında ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde barındırıldı. Deneme süresi boyunca rat gruplarına aşağıda hazırlanan ekstreler + standart yem verilmiştir.

1. **Grup: Pozitif kontrol grubu(K):** Standart rat yemi+ İçme suyu
2. **Grup: Negatif kontrol grubu(CMC):** Standart rat yemi + 1ml %0,5lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC)(gavajla) + İçme suyu
3. **Grup *Mentha Spicata L.* sulu ekstreli grup (MS):** Standart rat yemi + 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi (gavajla) + İçme suyu

4. Grup *Mentha Spicata L.* dietileter ekstreli grup (MD): Standart rat yemi + 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi+1ml %0,5lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC) (gavajla)+ İçme suyu

5.Grup *Mentha Spicata L.* kuru tozu verilen grup (MT): Standart rat yemi +200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu: *Mentha Spicata L.* kuru tozu yem içine karıştırılarak verilmiştir. + İçme suyu

Tablo 3.1. Araştırmada Kullanılan Standart Rat Yeminin Ham Besin Madde Analiz Sonuçları

Kuru Madde	(%) 88
Ham Protein	(%) 23
Ham Selüloz	(%) 7
Ham Kül	(%) 8
HCl' de Çözülmüş Kül	(%) 2
NaCl	(%) 1
Metabolize Olabilir Enerji (kcal/kg)	2600
Kalsiyum (En az, %)	1,0
Fosfor (En az, %)	0,9
Sodyum (En az, %)	0,5
Mangan (En az, mg/kg)	10
Çinko (En az, mg/kg)	4
Lizin (%)	1,0
Methionin (%)	0,3
Sistin (%)	0,1
Vitamin A (En az IU/kg)	400
Vitamin D ₃ (En az IU/kg)	300
Vitamin B ₂ (En az mg/kg)	5
Vitamin B ₁₂ (En az mg/kg)	20
Vitamin E (En az IU/kg)	30

3.1.3. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmamızda Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ve Fizyoloji Anabilim Dallarında bulunan ve aşağıda özellikleri verilen cihazlar/laboratuvar malzemelerinden yararlanılmıştır:

- Spektrofotometre (Shimadzu. UV-1601)
- Kültür plağı okuyucusu (Multiscan Spectrum. Thermo Labssystem.)
- Buzdolabı/Derin Dondurucu (Siemens)
- Soğutmalı santrüfuj (Nüve. NF 1000 R.)
- Vorteks (Nüve. NM 110)
- Hassas terazi (Precisa. 205 ASC. 0,0001 g'a duyarlı)
- Su banyosu (Nüve. BM 402)
- Isıtıcı tabla (Nüve. HP 221)
- Shaker (Nüve. SC 350)
- Dijital pH metre (Inolab)
- Değişik hacimlerde otomatik pipet (Ependorf, Scorex)
- Farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (Isolab)
- Ependorf tüpü (0,5-1,5 ve 2 ml'lik, Roth)
- Mikro Playte (96 kuyucuklu, Roth)
- Cerrahi makas, pens, doku tutucular
- Cerrahi eldiven
- Polietilen enjektör (2,5, 5, 10 ml, Aysset)
- İnsulin enjektörü
- Lityum-Heparinli tüp

3.1.4. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Amonyum Demir İki Sülfat (Merck, kat no:1.03791.1000)
- Etilendiamin Tetraasetik Asid Anhidroz = %98,5(sigma-aldrich, kat no:E 6758)
- Trikloroasetik Asid(Riedel-De Haen, kat no:33731)
- Hidrojen Peroksid %30 luk (Riedel-De Haen, kat no:18312)
- Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Fluka, kat no:71639)
- Sodyum Hidroksid (Riedel-De Haen, kat no:06203)
- Sodyum Sitrat (Merck)
- Sodyum Benzoat (Fluka, kat no:71300)
- Ürik Asid (Fluka, kat no:51449)
- Tiobarbitürik Asid (Merck, kat no:1.08180.0025)
- Fosforik Asid (Merck, kat no:1.00546.0100)
- Glutasyon Redüktaz (Cayman, kat no:703202)
- Glutasyon Peroksidaz (Cayman, kat no:703102)
- Dinitro Ditioldibenzoik Asid (Merck, kat no:L 381991)
- Asetik Asid (Merck, kat no:1.00056.2500)
- N-Hekzan (Merck. 4368),
- Absolut Etanol (Merck. 0986),
- Bütil Hidroksi Toluen (BHT) (Sigma. B-1378).
- Ksantin Stok Çözeltisi: NaOH (Sigma. X-7375)
- EDTA Çözeltisi (EDTA- Na_2) (Merck)
- Nitroblue Tetrazolium (NBT) Çözeltisi(Fluka, kat no:74032)
- Sodyum Karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi(J.T. Baker, kat no:A 6952)
- Sığır Albümini Çözeltisi(Sigma, A 7030)
- CuCl_2 (Sigma Aldrich, kat no:22201-1)
- Ksantin Oksidaz Çözeltisi(Sigma, kat no:x 1875-50 UN)
- Sülfürik asid (H_2SO_4) (Merck)
- Sodyum tungstat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck)
- Sodyum fosfat, dibasik dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck)

3.1.5. *Mentha Spicata L*'nin Ekstrelerinin Hazırlanması

Literatür bilgileri göz önüne alınarak Uşak ili çevresinden nane örnekleri toplanmış ve bunların Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Başkanı Prof. Dr. Mecit VURAL tarafından yapılan incelemeleri sonucunda Uşak ili Kaşbelen Köyü mevkiinden toplanan örneklerin *Mentha spicata L.* olduğu tespit edilerek kullanılmak üzere ayrılmıştır (Eryiğit, 2006) . Eş örneği Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır. *Mentha spicata L.* toprak üstü kısımları, 2008 yılının haziran ayının 3. haftasında, bitki çiçekli haldeyken toplanmış ve gölgede kurutulduktan sonra toz edilerek kullanılmıştır.

3.1.6. *Mentha Spicata L* nin Ekstrelerinin Hazırlama Yöntemi

Ekstraksiyon: *M. spicata* üzerinde biyolojik çalışmaların yürütülebilmesi amacıyla bitkinin toprak üstü kısımları su ve dietil eter ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur.

Oda Sıcaklığında Sulu Ekstrenin Hazırlanması: Kurutularak toz edilmiş toprak üstü kısımlar (500 g.) oda ısısında üç defa 700 ml. distile su ile 24 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ekstre edilmiştir. Birleştirilen sulu ekstraktler liyofilizatörde kurutularak “Sulu ekstresi” elde edilmiştir(verim: 15.95 g., % 3.19).

Dietil eterli Ekstrenin Hazırlanması: Kurutularak toz edilmiş kökler (500 g.) dört defa 700 ml dietil eter ile oda ısısında 24 saat süre ile manyetik karıştırıcı vasıtasıyla ekstre edilmiştir. Birleştirilen dietil eterli ekstraktler alçak basınç altında, rotavaporda 40 °C sıcaklıkta yoğunlaştırılmıştır. Vakumlu desikatörde alçak basınç altında kurutulup, “Dietil eter ekstresi” elde edilmiştir (verim: 64.3 g., % 12.86).

3.2.Yöntem

3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması

21 günlük deneme süresi sonunda, bir gece öncesinden yem verilmeyen hayvanlar 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alındı. Daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri açıldı. Çalışır durumda iken kalpten 5ml'lik enjektörlerle heparinli ve heparinsiz tüplere ortalama 6-9 ml kan alınarak soğuk zincir altında zaman kaybetmeden laboratuara getirildi.

Kanda, malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) aktivite tayinleri hemen gerçekleştirildi. Kanda glutatyon düzeyleri Beutler et al., (1986) ve malondialdehid düzeyleri Draper and Hardley (1990) göre spektrofotometrik olarak belirlendi. Heparinli kan örneklerinin Nüve NF 1000 R model santrüfuj cihazı ile 3500 rpm'de 10 dk. santrüfuj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Plazmalar 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınarak, biyokimyasal parametreler inceleninceye kadar -30°C de derin dondurucuda korunmuştur. Heparinsiz tüplere alınan kan örnekleri oda sıcaklığında bekletildikten sonra santrüfuj edilerek tüpün üstünde toplanan berrak serum numunesi ependorf tüplere aktarıldı ve analiz yapılan kadar derin dondurucuda 2 hafta saklandı (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Fidan, 2007). Serum C vitamini düzeyleri Kway (1978) tarafından bildirilen yöntemle, Serum A vitamini ve β -karoten düzeyleri Suzuki ve Katoh (1990) tarafından bildirilen yöntemle saptandı. Serumda antioksidan aktivite düzeyleri Koracevic et al., (2001) göre yapıldı.

Eritrosit paketleri elde edildikten sonra derin dondurucuda süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz enzim aktiviteleri tayinine kadar saklandı. Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz (Cayman Chemical Company,2006), glutatyon peroksidaz(Cayman Chemical Company,2006) enzimlerinin tayinleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçümü ve değerlendirilmesi gerçekleştirildi.

3.2.2 Eritrosit Paketlerinin Hazırlanması

Deneyleer için gerekli olan kan, enjektörler yardımıyla deney hayvanının kalbinden heparinli cam tüplere alındı. Bir saat +4 °C de bekletildikten sonra 3000 rpm'de 15 dk. santrüfuj edilerek ayrıldı. Oluşan plazma atıldı. Altta kalan hacme eşit oranda serum fizyolojik(% 0,9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanması sağlandı. Serum fizyolojik eklenen tüpler +4 °C 2000 rpm' de 8 dakika santrüfuj edilerek eritrosit yıkama işlemleri 3 kez tekrarlandı. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz enzim aktiviteleri tayinine kadar derin dondurucuda saklandı.

3.2.3. % 0,5 lik Karboksimetilselüloz (CMC) Hazırlanması

0,5 gramlık karboksimetilselüloz hassas tartı ile tartıldı.100 ml distile suda çözdürüldü. Hazırlanan % 0,5 lik karboksimetilselüloz çözeltisi deney gruplarında kullanıldı.

3.2.4. Biyokimyasal Analizler

3.2.4.1. Vitamin A ve β - karoten Düzeyi Ölçümü

Serumda A vitamini ve β - karoten düzeyleri Suzuki ve Katoh (1990)'un geliştirdikleri yöntem kullanılarak ölçüldü (Suzuki ve Katoh, 1990). Prensibi A vitamini'nin 325 nm ve β -karoten'in 453 nm dalga boylarında maksimum ışık absorpsiyonu esasına dayanır.

Kullanılan ayıraçlar: Absolut etanol (%99,5), n-Hekzan, Bütil hidroksi toluen (BHT) Absolut etanol (%99,5): Distile su ile %95'lik etil alkol hazırlandı ve her ml'sinde 20 μ g olacak şekilde butil hidroksi toluen (BHT) ilave edildi. n-Hekzan: Analiz saflığında kullanıldı.

Analizin Yapılışı

Işık geçirmemesi için alüminyum folyo ile kaplanmış kapaklı bir santrüfuj tüpüne 1 ml taze serum konuldu. Daha sonra üzerine sırasıyla 1 ml BHT'li etanol ve 3 ml n-hekzan ilave edildi. Tüp içeriği 10 dakika altüst edilerek karıştırıldı ve 2000 rpm'de 10 dakika santrüfuj edildi. Santrüfujden sonra hekzan fazından 3 ml bir kuvartz spektrofotometre küvetine alınarak n-hekzana karşı sırasıyla A vitamini için 325 nm ve β - karoten için 453 nm dalga boyunda absorbanlar okundu.

Hesaplama:

Absorbanslar aşağıdaki formüllerde yerine konularak A vitamini ve β - karoten düzeyleri hesaplandı.

$$\beta\text{- karoten } (\mu\text{g/dl}) = \text{Absorbans (453 nm)} / 0,00258$$

$$\text{A vitamini } (\mu\text{g/dl}) = \text{Absorbans (325 nm)} - [\beta\text{- karoten konst.} \times 0,00017] / 0,00182$$

0,00258 = 1 $\mu\text{g/dl}$ konsantrasyondaki β - karoten standardının n-hekzan fazında 453 nm dalga boyundaki absorbanıdır.

0,00017 = 1 $\mu\text{g/dl}$ konsantrasyondaki β - karoten standardının n-hekzan fazında 325 nm dalga boyundaki absorbanıdır.

0,00182 = 1 $\mu\text{g/dl}$ konsantrasyondaki retinol standardının n-hekzan fazında 325 nm dalga boyundaki absorbanıdır.

3.2.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivite Ölçümü

Reaksiyon ortamında enzimatik bir tepkime ile ortaya çıkan süperoksid gruplarının, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) indirgemesinin, örnekte bulunan SOD ile engellenmesi prensibine dayanır. Yöntemde süperoksid grupları üretilen ksantin-oksidadaz reaksiyona girerek maddeyi indirgemesi sonucunda, en yüksek absorbanının 560 nm'de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen grupları

dismutasyona uğratması nispetinde NBT indirgeme tepkimesi yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değerleri düşer. Dolayısı ile formazon oluşumunun baskılanmasının tayin edilmesiyle SOD aktivitesi dolaylı olarak belirlenir (Sun ve ark.,1988).

Çözeltiler

1. Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS): 8.06 g NaCl, 0.201 g KCl, 12.636 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g KH_2PO_4 bir litre deiyonize suda çözüldü ve pH 7,4'e ayarlandı ve hemolizat eldesinde kullanıldı.
2. Ksantin stok çözeltisi (3mmol/l): 23 mg ksantin, 50 ml balon joje içinde 2 damla 1 M NaOH ile hafifçe ısıtılarak çözüldü. Distile su ile 50 ml'ye tamamlandı. Kullanılacağı zaman 10 kez seyreltildi.
3. EDTA çözeltisi (0.6 mmol/l): 0.249 g EDTA (dihidrat) 1 litrelik balon joje içinde distile su ile çözümlenerek hacim litreye tamamlandı.
4. Nitroblue tetrazolium (NBT) çözeltisi (150 mmol/l) 12.3 mg NBT 100 ml'lik bir balon jodede distile su ile çözümlenerek hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
5. Na_2CO_3 çözeltisi (400 $\mu\text{mol/L}$): 4.2 mg Na_2CO_3 100 ml'lik balon jodede distile su ile çözüldü ve hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
6. Sığır albümini çözeltisi (1g/L): 100 mg sığır albümini 100 ml'lik balon jodede çözüldü ve hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
7. CuCl_2 (0.8 mmol/L): 10.7 mg CuCl_2 100 ml'lik balon jodede çözüldü ve hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
8. Ksantin oksidaz çözeltisi (167U/L): 20 U/L 0.2 ml aktiviteye sahip ksantin oksidaz çözeltisinden 20 μl alınarak 2 ml 2 M amonyum sülfat çözeltisi ile karıştırıldı.
9. Tepkime karışımı: 20 tüplük bir seri analiz için 100 ml'lik bir erlen içerisine 20 ml 10 kez sulandırılmış ksantin stok çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml Na_2CO_3 çözeltisi ve 3 ml sığır albümini çözeltisi konuldu ve iyice karıştırıldı.

Analizin Yapılışı

Test (eritrosit paketi) ve kör tüplerine aşağıda gösterildiği gibi sırası ile çözeltiler ilave edildi. Reaksiyon karışımının son hacmi 3 ml olarak belirlendi. Kör ve test işaretli tüplere 2.85 ml tepkime karışımı kondu. Kör tüpüne 0.1ml bidistile su, test tüpüne 0.1 ml örnek kondu. Bütün tüplere 50 µl ksantin oksidaz kondu ve karıştırıldı. 20 dakika 25 °C’de su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tüplere 1 ml CuCl_2 eklenerek reaksiyon durduruldu ve oluşan rengin absorbansı 560 nm’de okundu.

Hesaplama

Aşağıda verilen bağlantıdan yararlanılarak örnekte bulunan enzimin meydana getirdiği yüzde inhibisyonu hesaplandı.

$$\text{Yüzde İnhibisyonu} = \frac{\text{Körün absorbansı} - \text{Testin absorbansı}}{\text{Körün absorbansı}} \times 100$$

$$\text{Spesifik Aktivite (SA)} = \frac{\text{Körün absorbansı} - \text{Testin absorbansı}}{\text{Körün absorbansı}} \times 20$$

$$\text{SOD Aktivitesi} = \frac{\text{SA} \times \text{Sulandırma faktörü}}{\text{Hb(g/ml)}}$$

Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu % 50 oranında baskılayan aktivite olarak kabul edildi. Reaksiyon ortamında bulunan enzim aktivitesi, bu ünite cinsinden hesaplandı ve U/g Hb olarak değerlendirildi.

3.2.6.Katalaz (KAT) Aktivite Ölçümü

Hidrojen peroksit ışık spektrumunun UV alanında dalga boyunun azalmasıyla artan bir absorpsiyon gösterir. Uygun bir tampon içinde bulunan H_2O_2 'nin örnekte bulunan KAT etkisi ile yıkımlanması sonucu bu maddenin 240 nm'de neden olduğu absorbansta azalma meydana gelir. Absorbansta meydana gelen azalma hızı KAT aktivitesi ile orantılıdır (Luck, 1955).

Çözeltiler

1. Fosfat tamponu (1/15 mmol/L; pH'sı 7.0): 3,522 g KH_2PO_4 ve 7.268 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ distile suda çözüldü ve pH 7,0'a ayarlanarak hacmi 1 litreye tamamlandı.
2. Fosfat Tamponunda H_2O_2 çözeltisi (10 mmol/L): % 30'luk H_2O_2 çözeltisinden 0.16 ml alınarak daha önce hazırlanmış olan fosfat tamponunun 100 ml'sinde seyreltili. Bu karışım 240 nm'deki absorbanı 0.5' di. (Luck, 1955).

Analizin Yapılışı

Her örnek (eritrosit paketi) çalışılmadan önce örnekte bulunabilecek ve 240 nm'de absorban verebilen maddelerin sebep olabileceği absorban yükselmesini saptamak için kör hazırlandı. Kör deney için kuartz küvete 2.95 ml fosfat tamponu ve üzerine 50 µl örnek konuldu. Spektrofotometre kör deney olarak kabul edilen bu küvete göre sıfırlandı. Test sonucunda erişilen toplam hacim 3 ml olacak şekilde belirlendi. Ölçümler 20 °C'de gerçekleştirildi. Test işaretli kuartz küvete ise 2.95 ml fosfat tampon içinde hazırlanmış H_2O_2 çözeltisi konuldu ve 50 µl örnek(eritrosit paketi) eklendi. Küvetler alt üst edilerek iyice karışması sağlandı. Spektrofotometre absorban skalasından 240 nm'de absorbanstaki azalma takip edildi. Absorbansın 0.45'ten 0.40'a inmesi esnasında geçen süre tespit edildi. Bu süre 60 saniyeyi

aşmayacak şekilde ölçüldü. Tespit edilen süre kullanılarak formülden k hız sabiti hesaplandı.

Katalaz aktivite tayini hidrojen peroksitin (H_2O_2) parçalanma hızının hız sabitinin (s-1, k) belirlenmesi esasına dayanır. Hız sabiti, $k = (2.3/\Delta t)(a/b) \log (A_1/A_2)$ formülü kullanılarak hesaplandı. Formülde A_1 0. saniye, A_2 15. saniye absorbans değerlerini; a dilüsyon faktörünü, b süpernatant protein içeriğini göstermektedir. Sonuçlar k/gr Hb olarak ifade edildi.

3.2.7. Malondialdehid (MDA) Düzeyi Ölçümü

Prensip

Serbest radikaller sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden MDA tayini, Draper ve Hadley (1990)'in çift kaynatma yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Metot, yağ asitlerinin peroksidasyonunda bir son ürün olan malondialdehitin (MDA), tiobarbitürik asit(TBA) ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbans vermesi prensibine dayanmaktadır (Draper ve Hadley, 1990).

Çözeltiler

1. %10'luk TCA çözeltisi: 10 gr. TCA distile su ile 100 ml.'ye tamamlanarak hazırlanır.
2. % 67'lik TBA çözeltisi: 100 ml. 0.05 N NaOH çözeltisinde 0.67 gr.TBA çözdürülerek hazırlanır.

Analizin Yapılışı

Tam kan örneklerinden alınan 0.5 ml numune, 2.5 ml %10'luk TCA ile temiz vida kapaklı deney tüpünde karıştırılarak 95 °C'de 15 dk. kaynatıldı. Daha sonra hemen soğutulularak 4 °C'de 5000 rpm'de 10 dk. santrüfuj edildi.

Oluşan süpernatandan 1 ml alındı ve üzerine % 67'lik TBA'dan 0.5 ml eklenerek 15 dk kaynatılıp hemen soğutuldu. Soğutmayı takiben en geç 45 dak içerisinde spektrofotometrede, 532 nm dalga boyunda distile suya karşı absorbans değeri okunarak, elde edilen değerler dilusyon katsayısı ile çarpıldı ve nanomol/ml biriminde MDA miktarı belirlendi.

3.2.8. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Ölçümü

Eritrosit paketlerinde, glutasyon peroksidaz aktivitesi ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik yöntemle ölçüldü(Cayman Chemical Company, 2006a).

Analizin Yapılışı

Non-enzimatik sahanlar: 120 µl tahlil tamponu ve 50 µl co-substrat karışımı üç sahana eklendi.

Pozitif kontrol sahanlar: 100 µl tahlil tamponu, 50 µl co-substrat karışım ve 20 µl sulandırılmış GPx (kontrol)'i üç sahana eklendi..

Örnek sahanlar:100 µl tahlil tamponu, 50 µl co-substrat karışım ve 20 µl örneği üç sahana eklendi. Sahana eklenecek numune oranının daima 20 µl olması sağlandı.

Tüm kullanılan sahanlara 20 µl cumene hidroperoksit hızlı bir biçimde ekleyerek reaksiyon başlatıldı. Karıştırmak için plaka birkaç dakika dikkatlice sallandı.

En az 5 zaman noktası elde etmek için, 340nm’de her dakikada bir kez plaka okuyucuyu kullanarak absorbansı okundu. Numune sahanların ilk absorbansı 1.2’nin üzerinde ya da 0.5’in altında olmamasına dikkat edildi

Hesaplama

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{A_{340}(\text{zaman 2}) - A_{340}(\text{zaman 1})}{\text{zaman 2}(\text{min}) - \text{zaman 1}(\text{min})}$$

$$\text{GPx aktivitesi} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min}}{0,00373 \text{ m}^{-1}} \times \frac{0,19 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times \text{Sulandırma faktörü} = \text{nmol/min/ml}$$

3.2.9. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivite Ölçümü

Eritrosit paketlerinde, glutasyon redüktaz aktivitesi ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Sonuçlar nmol/min/ml biriminde belirlendi(Cayman Chemical Company, 2006b).

Analizin Yapılışı

Non-enzimatik sahanlar: 120 µl tahlil tamponu ve 20 µl GSSG’yi üç sahana eklendi.

Pozitif kontrol sahanlar: 100 µl tahlil tamponu, 20 µl GSSG ve 20 µl sulandırılmış GR (kontrol) üç sahana eklendi.

Örnek sahanlar:100 µl tahlil tamponu, 20 µl GSSG ve 20 µl örnek üç sahana eklendi. Sahana eklenecek numunenin oranı 20 µl olması sağlandı. Kullanılan sahanlara 50 µl NADPH’i mümkün olduğu kadar hızlı bir biçimde ekleyerek reaksiyon başlatıldı. Karıştırmak için sahan plakası birkaç dakika dikkatlice sallandı. 340nm’de her dakikada bir kez plaka okuyucuyu kullanarak absorbansı okundu. Numune

sahanların ilk absorptansı 1.2'nin üzerinde ya da 0.5'in altında olmamasına dikkat edildi (Cayman Chemical Company, 2006b).

Hesaplama

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{A_{340}(\text{zaman 2}) - A_{340}(\text{zaman 1})}{\text{zaman 2}(\text{min}) - \text{zaman 1}(\text{min})}$$

$$\text{GPx aktivitesi} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min}}{0,00373 \text{ m}^{-1}} \times \frac{0,19 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times \text{Sulandırma faktörü} = \text{nmol/min/ml}$$

3.2.10. Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri Ölçümü

Prensip

Antioksidan kapasite tayini Koracevic (2001)' den modifiye edilen bir yöntemle serumda spektrofotometrik olarak saptandı (Koracevic ve ark., 2001). Fe-EDTA kompleksi standart solusyonu Fenton reaksiyonu tarafından hidrojen peroksid ile reaksiyona girer, hidroksil radikallerinin oluşumuna izin verir. Bu reaktif oksijen radikalleri TBARS salınımı sonucunda benzoatı bozar. Eklenen antioksidanlar, TBARS üretiminin baskılanmasına sebep olur. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak ölçülür, renk gelişiminin baskılanması antioksidan kapasite olarak saptanır.

Çözeltiler

1. Sodyum fosfat tamponu: 100 mmol/L, pH=7.4
2. Sodyum benzoat: 10 mmol/L
3. NaOH: 50 mmol/L
4. EDTA: fosfat tamponu içinde 2 mmol/L (çözelti 1)
5. Fe(NH₄)₂SO₄: 2 mmol/L

6. Fe-EDTA kompleksi (4. ve 5. çözeltilerin eşit miktarlarından hazırlanır, oda sıcaklığında 60 dakika bekletilir.)
7. H₂O₂ : 10 mmol /L
8. Asetik asit: % 20 lik
9. Tiobarbitürik asit(TBA):50 mmol/L NaOH içinde % 0.8(wt/vol)
10. Ürik asit: 5 mmol/L NaOH içinde 1 mmol/L

Analizin Yapılışı

Her bir örneğin (A₁) Fe-EDTA karışımı kendi kontrol grubu hazırlandı ve asetik asit %20 ulaştığında H₂O₂ eklendi. Analizin her bir serisi için negatif kontrol grubu (K₁ ve K₀) hazırlandı. Ölçüm için 1 mmol/L ürik asit içeren standartlar kullanıldı. Su banyosunda 100 °C de 10 dakika inkube edildi ve sonra soğuk su banyosunda soğutuldu. Antioksidan kapasite spektrofotometrik olarak ölçüldü (Koracevic ve ark., 2001).

Hesaplama

$$\text{AOA (mmol/L)} = (C_{ua})(K-A)/(K-UA)$$

$$K = \text{Kontrol grubu absorpsiyonu}(K_1-K_0)$$

$$A = \text{Örneklerin absorpsiyonu}(A_1-A_0)$$

$$UA = \text{Ürik asit solusyonunun absorpsiyonu}(UA_1-UA_0)$$

$$C_{ua} = \text{Ürik asit konsantrasyonu (mmol/L)}$$

3.2.11. Glutasyon Düzeyi Ölçümü

Analizin Yapılışı

Beutler ve ark (1963) tarafından tanımlanan spektrofotometrik redükte glutasyon ölçüm yöntemine göre 0.2 ml tam kan 2 ml distile su ile karıştırıldı. Elde edilen hemolizattan 2 ml alıp içerisinde 50.1 mg glasiel metafosforik asit, 6 mg disodyum EDTA ve 0.9 g sodyum klorid bulunan 3 ml prespite edici solusyonla karıştırıldı ve 5 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldıktan sonra filtre kağıdı ile süzüldü. Filtrattan 0.5 ml alınarak 2 ml disodyumfosfat solusyonu (0.3 M) ile karşılaştırıldı ve spektrofotometre kullanılarak 412 nm reaktif körüne karşı absorbansı okundu. Daha sonra küvete 5.5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solusyonundan (1 mM, %1'lik sodyumsitrat içerisinde hazırlanan) 0.25 ml eklenip karıştırıldı ve tekrar absorbansı okundu. Her bir örneğin DTNB eklendikten sonra elde edilen absorbans değerinden ilk okunan absorbans değeri çıkarılarak elde edilen optik dansite farkı 1627 μmol 'lük redükte glutasyon standardının optik dansite farkı ile karşılaştırılarak redükte glutasyon konsantrasyonları $\mu\text{mol/L}$ olarak hesaplandı (Beutler ve ark., 1963).

3.2.12. Vitamin C Düzeyi Ölçümü

Kullanılan çözeltiler

1. H_2SO_4 ; Sulfurik asid
2. $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Sodyum tungstat
3. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Sodyum fosfat, dibasik dihidrat

Analizin Yapılışı

Kway (1978) tarafından tanımlanan spektrofotometrik C vitamini ölçümüne göre 15 ml su ve 5 ml sülfürik asid (H_2SO_4) karıştırıldı. Bu karışımdan 1,84 g alındı ve oda ısısında hazırlanan 20 g Sodyum tungstat ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) ve 10 g Sodyum fosfat, dibasik dihidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) içeren solusyonun içine döküldü. Reaktif hafifçe 2 saat boyunca soksalet cihazında işleme tabi tutuldu. 2 ml plazma ve 2 ml reaktiften oluşan karışım 30 dk bekleddikten sonra 15 dk 3000 devir santrüfüj edildi. Oluşan süpernatanın 700 nanometrede absorbans ölçümü yapıldı ve sonuç mg/dl olarak değerlendirildi (Kway A. , 1978) .

3.3. İstatistik Analizler

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler SPSS 13.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir (Özdamar, 2003). Verilerin ortalamaları \pm standart hatalarıyla ifade edilmiştir. Elde edilen verilerin normallik testleri yapılmış ve gruplar arasındaki istatistiksel farkları saptamak için varyans analizi (Anova testi), post-test olarak Duncan testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $P < 0,05$ değeri seçilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Canlı Ağırlığı Profilleri

Çalışmanın başında (0. gün), ortasında(14. gün) ve sonunda (28. gün) olmak üzere 3 kez ratların ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Bu çalışmada aynı farelerden üç kez ölçüm alındığı için eşlenmiş örneklemeler söz konusudur. Tablo 4.1. 'de tanımlayıcı istatistikler verilmiştir.

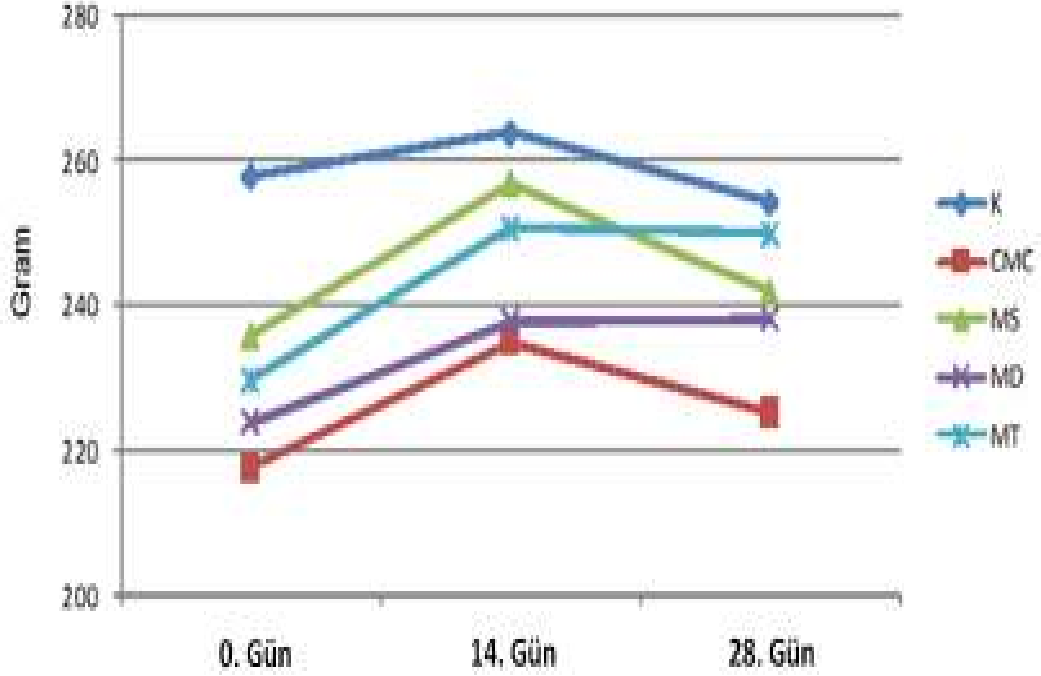
Tablo 4.1. Çalışma Başlangıcı (0. Gün), Ortası (14. Gün) ve Sonunda (28. Gün) Elde Edilen Rat Ağırlıkları(gr) genel ortalamalar (Total), ortalama (Mean), standart sapma (Std. Deviation) ve rat sayısı (N)

	Grup	Ortalama Ağırlık	Standart Sapma	N
Gün-0	K	252,5000	19,90693	8
	CMC	230,3000	37,15448	10
	MS	224,2000	24,95685	10
	MD	236,3000	25,99594	10
	MT	217,8000	26,87337	10
	Total	231,3750	29,01476	48
Gün-14	K	266,7500	29,76935	8
	CMC	250,8000	31,59043	10
	MS	238,2000	21,62714	10
	MD	257,4000	26,64249	10
	MT	235,0000	26,62079	10
	Total	248,9167	28,63775	48
Gün-28	K	254,3750	26,99702	8
	CMC	250,2000	33,50887	10
	MS	238,3000	20,30353	10
	MD	242,7000	23,75827	10
	MT	225,3000	26,15361	10
	Total	241,6667	27,27974	48

Ayrıca istatistiki çalışma sonunda genel olarak günler arasında en az iki ölçüm arasında farklılık olduğu ($p=0,005$ -grup etkisini dahil etmeden) ,ancak grup ve günlerin etkileşimine bakıldığında arada anlamlı bir fark olmadığı görülür ($p=0,975$). Grup ortalamaları (3 ölçüm dikkate alınmadan) genel olarak karşılaştırıldığında anlamlılığı %5'den küçük olan grupların ortalamalarının birbirinden farklı olduğu söylenebilir. Anlamlı fark yalnızca K ile MT grubu arasında vardır. Günler/ölçümler (gruplar dikkate alınmadan) genel olarak karşılaştırıldığında anlamlılığı %5'den küçük olan günlerin ortalamalarının birbirinden farklı olduğu söylenebilir. Anlamlı fark yalnızca 0. gün ile 14. günlerdeki ölçümler arasında vardır. Deneme gruplarına ait deneme süresince beden ağırlığı bulgularının istatistiksel karşılaştırması grafik 4.1.'de sunulmuştur.

Çalışmamızda, deney gruplarındaki ratların beden ağırlıkları, Tablo 4.1. ve Grafik 4.1.'de görüldüğü gibi özellikle deneme süresinin 14. gününden sonra MT ve MD grupları dışındaki tüm gruplarda azalmış ancak başlangıçtaki ölçümlere göre (K) kontrol grubunda azalmış, diğer tüm gruplarda artmıştır. Her grubun (K, CMC, MS, MD, MT) her bir ölçüme göre (0, 14 ve 28. günler) olan ortalama, standart sapma ve %95 güven aralıklıkları için tüm gruplar ve ölçüm günleri karşılaştırıldığında ise ağırlık değişimleri açısından istatistiki olarak anlamlılık görülmemiştir.

AĞIRLIK DEĞİŞİMİ



Grafik 4.1. Gruplarda Gözlenen Canlı Ağırlığı Değişimi (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstreli grup, MD: Diyetilerli ekstreli grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2. Vitaminler ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler

Deneysel süreç sonunda çalışmamızda oluşturulan beş deneme grubundan alınan kan örneklerinde ölçülen β - karoten, A, C vitaminleri, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, malondialdehid, süperoksid dismutaz enzimleri ve total antioksidan kapasite düzeyleri tayin edilmiştir. Bu göstergelerin araştırma süresi sonundaki düzeylerine ait bulguların istatistiksel değerleri ve karşılaştırması yapılmış ve veriler Tablo 4.1.'de sunulmuştur. 5 deneme grubu sıralaması şöyledir:

- 1. Grup: Pozitif kontrol grubu (K):** Standart yem+ İçme suyu
- 2. Grup: Negatif kontrol grubu (CMC):** Standart yem + 1ml %0,5lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC) (gavajla) + İçme suyu

3. **Grup *Mentha Spicata L.* sulu ekstrel grup (MS):** Standart yem +1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi (gavajla) + İçme suyu
4. **Grup *Mentha Spicata L.* dietileterli ekstrel grup (MD):** Standart yem + 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi+1ml %0,5lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC)(gavajla)+ İçme suyu
5. **Grup *Mentha Spicata L.* kuru tozu verilen grup (MT):** Standart yem +200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu: *Mentha Spicata L.* kuru tozu yem içine karıştırılarak verilmiştir. + İçme suyu

Tablo 4.2. Vitaminler ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Bulguların Aritmetik Ortalama (\bar{X}), Standart Hata (SEM) ve Anlamlılık Düzeyleri (P)

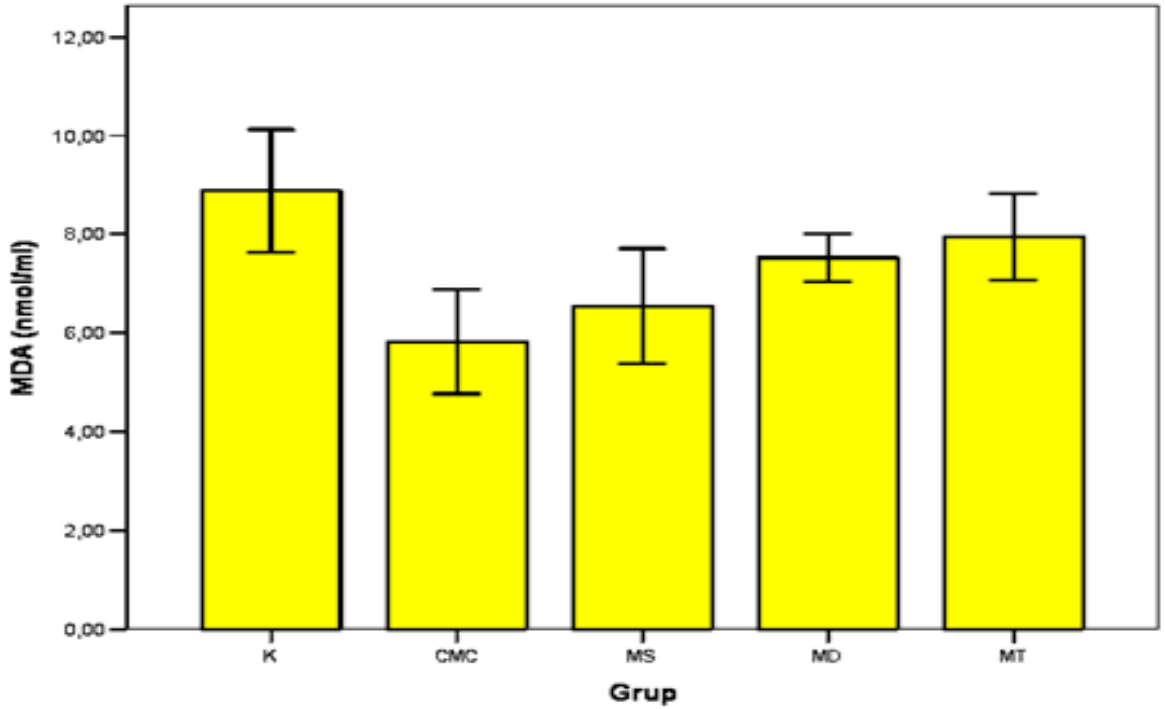
Parametre	n	I. Grup(K) Pozitif Kontrol	II. Grup Negatif kontrol	III. Grup(MS) Sulu ekstrel grup	IV. Grup(MD) Dietileterli ekstrel grup	V. Grup(MT) Kuru tozu verilen grup	P
MDA (nmol/ml)	10	8,88±0,52 ^a	5,82±0,47 ^d	6,54±0,51 ^{cd}	7,53±0,22 ^{bc}	7,95±0,39 ^{ab}	0,000
TAK (mmol/L)	10	1,53±0,18 ^{ab}	1,59±0,08 ^a	1,51±0,17 ^{ab}	1,13±0,16 ^b	1,71±0,06 ^a	0,049
GSH (µmol/L)	10	44,11±1,14 ^{bc}	52,92±2,31 ^a	48,06±2,07 ^{ab}	41,39±2,68 ^c	51,17±1,31 ^a	0,001
Vit A (µmol/dl)	10	27,77±0,73	29,54±1,68	28,40±0,65	30,20±0,85	28,88±0,73	0,486
β-karoten (µmol/dl)	10	4,37±0,31	4,15±0,79	4,82±0,19	5,41±0,29	4,10±0,77	0,171
SOD(u/gHb)	10	8,11±0,59	8,57±1,69	7,20±0,95	6,55±0,79	6,73±0,74	0,578
Katalaz (k/grHb)	10	81,25±6,84	116,21±30,22	89,17±11,65	67,34±5,37	72,47±10,67	0,227
GPx (nmol/min/ml)	10	0,58±0,30 ^{ab}	0,17±0,03 ^b	0,42±0,12 ^{ab}	0,52±0,11 ^{ab}	0,91±0,09 ^a	0,043
GR (nmol/min/ml)	10	0,12±0,05	0,11±0,03	0,13±0,02	0,12±0,03	0,23±0,05	0,212
Vit C (mg/dl)	10	1,73±0,07 ^b	2,78±0,33 ^a	1,71±0,13 ^b	2,25±0,17 ^{ab}	1,96±0,21 ^b	0,003

a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir (p<0.05).

4.2.1. Malondialdehid (MDA) Düzeyleri

Tam kanda MDA düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta 7,95±0,39; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta 7,53±0,22; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi 6,54±0,51;

Pozitif kontrol grubu'nda $8,88 \pm 0,52$; negatif kontrol (CMC) grubunda $5,82 \pm 0,47$ olarak bulunmuştur. Negatif kontrol (CMC) grubunda MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş sergilemiş. K kontrol grubuna göre MS grubunda belirgin bir azalma göstermiştir. MT grubunda ise rakamsal bir düşüş vardır. Negatif kontrol (CMC) grubunda MDA düzeylerine göre dietileterli ekstresi uygulanan MD grupta MDA düzeylerinde artış vardır. (Tablo 4.2 ve Grafik 4.2). K grup ile MS grup ile CMC ve MD grup arasındaki MDA düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir ($p=0,000$).

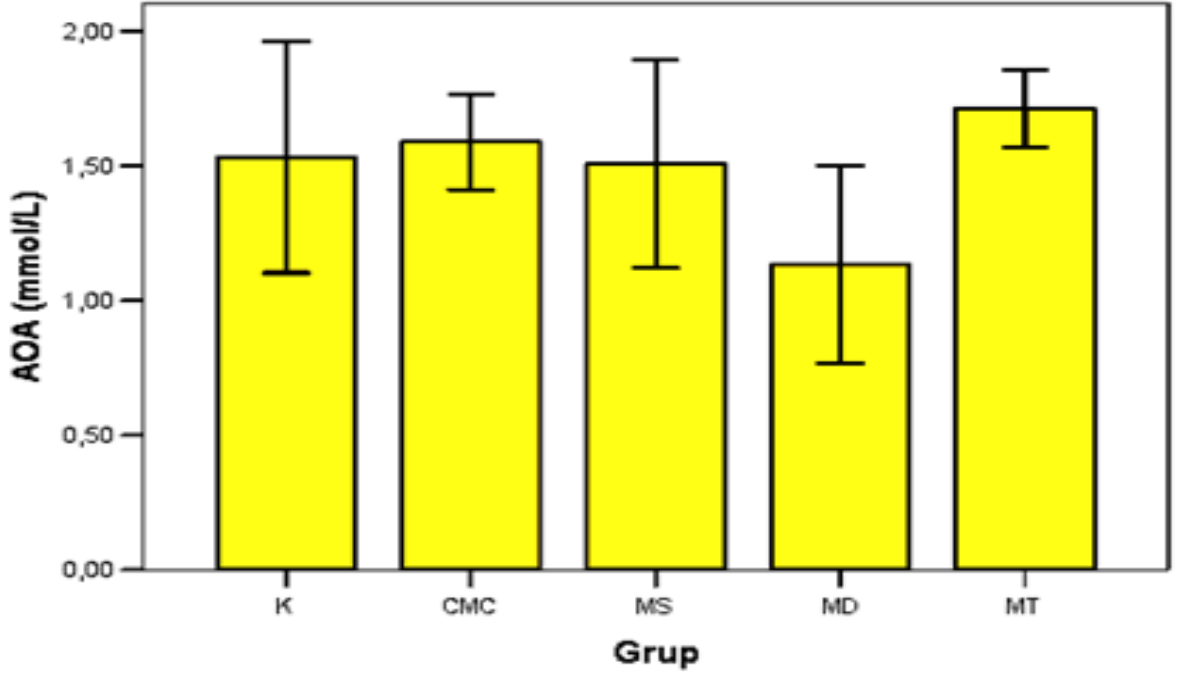


Grafik 4.2. Gruplar Arasındaki MDA Düzeyi Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstrel grup, MD: Dietileterli ekstrel grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.2. Total Antioksidan Kapasite Düzeyleri

Serum antioksidan kapasite düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $1,71 \pm 0,06$ 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $1,13 \pm 0,16$, 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi

1,51±0,17 Pozitif kontrol grubu'nda 1,53±0,18, negatif kontrol (CMC) grubunda 1,59±0,08 olarak bulunmuştur. Deneme gruplarından sadece MT grubunda antioksidan kapasite düzeyi düzeyleri K kontrol grubuna göre istatistiksel olmayan ancak rakamsal anlamda artış göstermektedir (Tablo 4.2 ve Grafik 4.3). Antioksidan kapasite düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir (p=0,049).

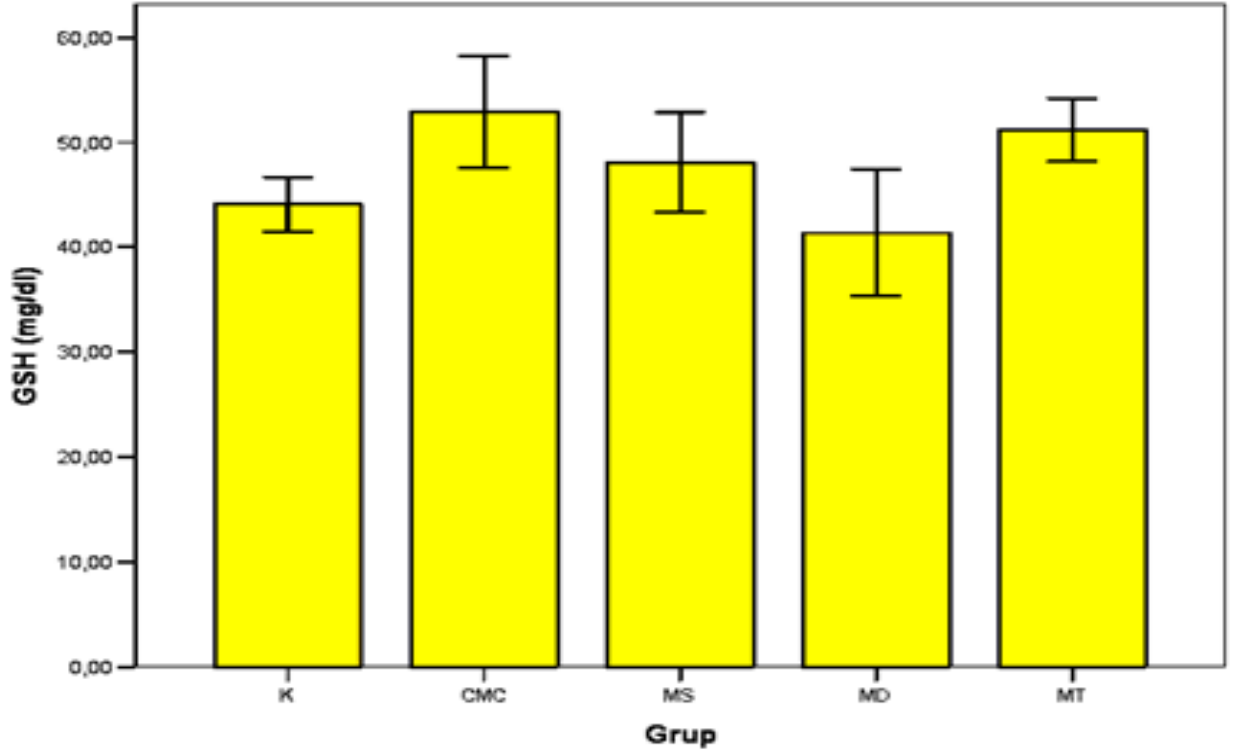


Grafik 4.3. Gruplar Arasındaki Total Antioksidan Kapasite Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstrel grup, MD: Dietileterli ekstrel grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.3. Glutasyon (GSH) Düzeyleri

Tam kanda GSH düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta 51,17±1,31; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta 41,39±2,68; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi 48,06±2,07; Pozitif kontrol grubu'nda 44,11±1,14; negatif kontrol (CMC) grubunda 52,92±2,31 olarak bulunmuştur. K kontrol grubuna göre MT grubunda GSH düzeyinde belirgin bir artış görülmüştür. CMC grubunda ise K kontrol grubuna göre

belirgin bir artış görülmüştür. *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan MD grupta, negatif kontrol (CMC) grubuna göre bir düşüş saptanmıştır (Tablo 4.2 ve Grafik 4.4). Gruplar arasındaki GSH düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir ($p=0,001$).

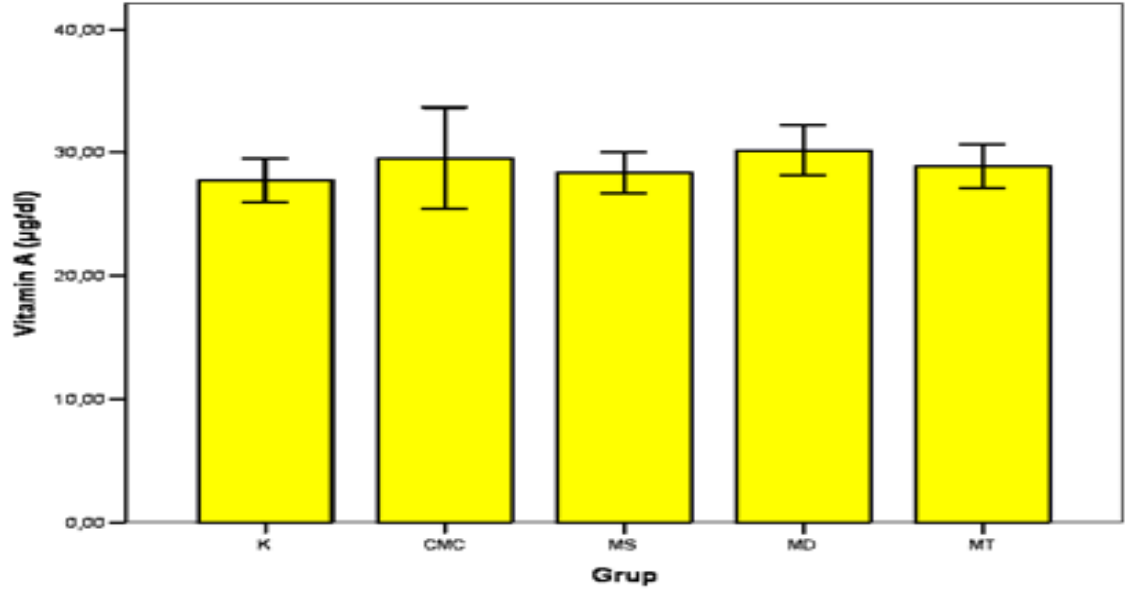


Grafik 4.4. Gruplar Arasındaki GSH Düzeyi Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstresi grubu, MD: Dietileterli ekstresi grubu, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.4. Vitamin A Düzeyleri

Serum vitamin A düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $28,88 \pm 0,73$; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $30,20 \pm 0,85$; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi $28,40 \pm 0,65$; pozitif kontrol grubu'nda $27,77 \pm 0,73$; negatif kontrol (CMC) grubunda $29,54 \pm 1,68$ olarak bulunmuştur. Deneme gruplarındaki vitamin A düzeylerinde kontrol gruplarına göre belirgin bir artış saptanmamıştır (Tablo 4.2 ve Grafik 4.5).

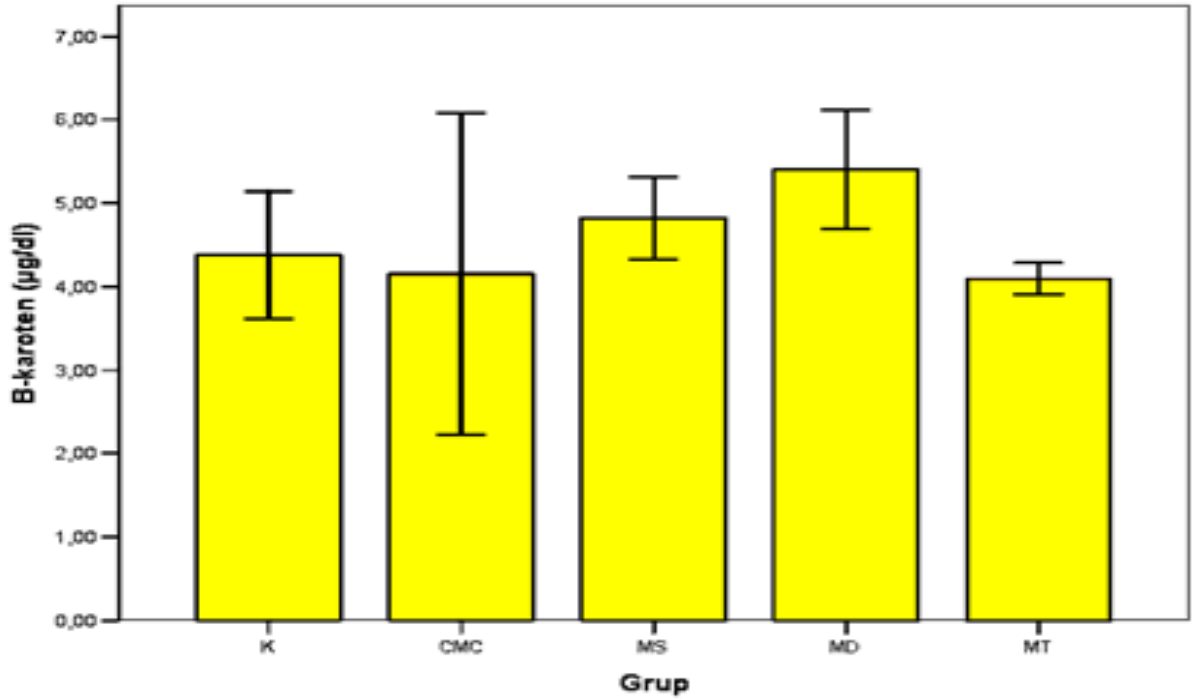
Gruplar arasındaki Vit A düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemli değildir ($p=0,486$).



Grafik 4. 5. Gruplar Arasındaki Vit A Düzeyi Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstrel grup, MD: Dietileterli ekstrel grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.5. β - karoten Düzeyleri

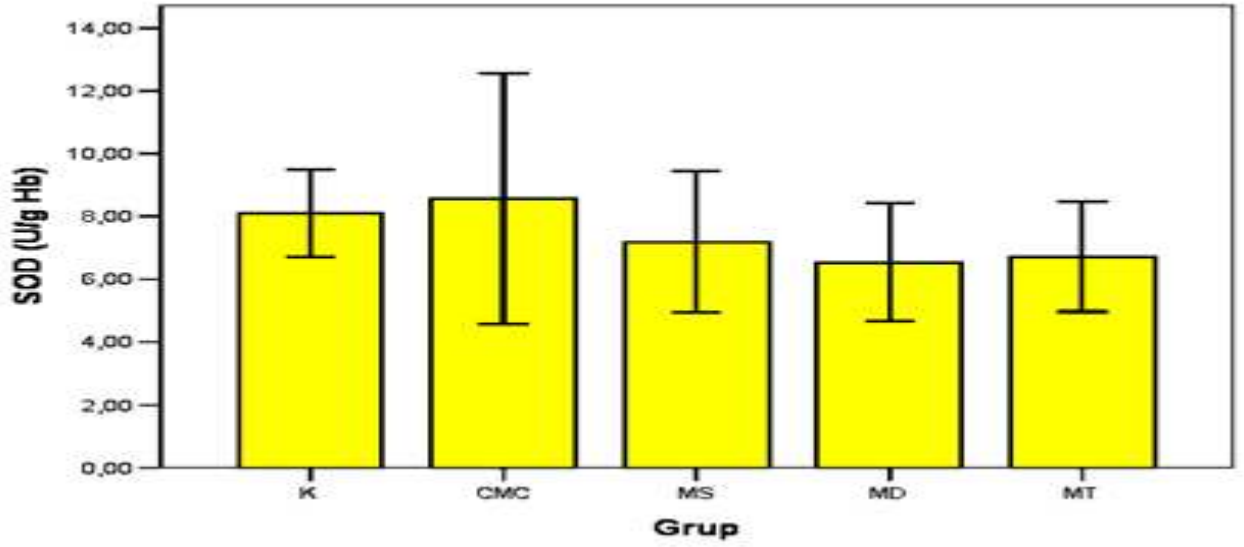
Serum β - karoten düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $4,10 \pm 0,77$; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $5,41 \pm 0,29$; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi $4,82 \pm 0,19$; Pozitif kontrol grubu'nda $4,37 \pm 0,31$; negatif kontrol (CMC) grubunda $4,15 \pm 0,79$ olarak bulunmuştur. Deneme gruplarındaki β - karoten düzeylerinde kontrol gruplarına göre belirgin bir artış saptanmamıştır (Tablo 4.2 ve Grafik 4.6).Gruplar arasındaki β - karoten düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemli değildir ($p=0,171$).



Grafik 4.6. Gruplar Arasındaki β - karoten Düzeyi Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstreli grup, MD: Dietileterli ekstreli grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.6. Süperoksid Dismutaz (SOD) Enzimi Aktivitesi

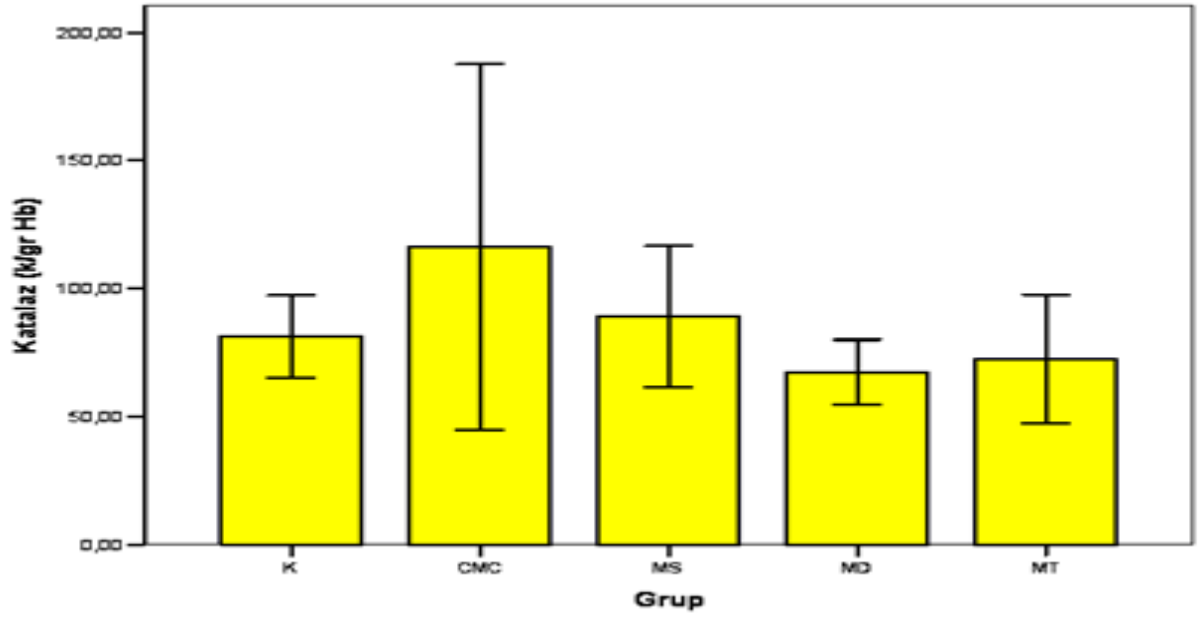
Analiz materyali olarak daha önceden hazırlanan ve derin dondurucuda saklanan eritrosit paketleri kullanılmıştır. Süperoksid dismutaz enzim aktivitesi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $6,73 \pm 0,74$, 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $6,55 \pm 0,79$ 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi $7,20 \pm 0,95$, pozitif kontrol grubu'nda $8,11 \pm 0,59$, negatif kontrol (CMC) grubunda $8,57 \pm 1,69$ olarak bulunmuştur. Süperoksid dismutaz enzim aktivitesinde CMC grubunda rakamsal bir artış görülmektedir. MT ve MS gruplarında K deneme grubuna göre, MD grubunda CMC grubuna göre SOD düzeylerinde rakamsal bir düşüş saptanmıştır (Tablo 4.2. ve Grafik 4.7.). Gruplar arasındaki SOD düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak önemli değildir ($p=0,578$).



Grafik 4.7. Gruplar Arasındaki SOD Enzim Aktivite Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstreli grup, MD: Dietileterli ekstreli grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.7. Katalaz (KAT) Enzimi Aktivitesi

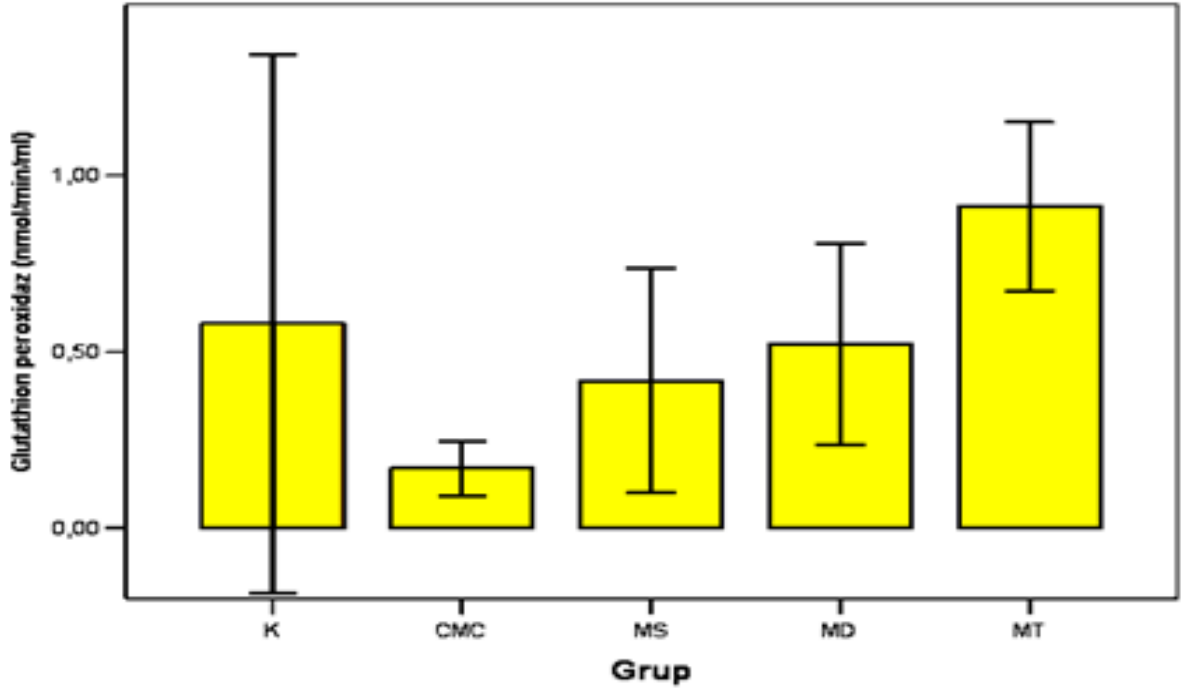
Katalaz düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $72,47 \pm 10,67$; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $67,34 \pm 5,37$; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi $89,17 \pm 11,65$; pozitif kontrol grubu'nda $81,25 \pm 6,84$; negatif kontrol (CMC) grubunda $116,21 \pm 30,22$ olarak bulunmuştur. Kontrol gruplarından CMC deneme grubundaki katalaz düzeyinde belirgin bir artış saptanmıştır. Deneme gruplarından MD grubunda ise CMC grubuna göre belirgin bir düşüş izlenmiştir. Pozitif kontrol K grubuna göre MS grubunda artış, MT grubunda ise azalma kaydedilmiştir (Tablo 4.2. ve Grafik 4.8.). Gruplar arasındaki katalaz düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,227$).



Grafik 4.8. Gruplar Arasındaki Katalaz Enzim Aktivite Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstreli grup, MD: Dietileterli ekstreli grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.8. Glutasyon peroksidaz(GPx) Enzimi Aktivitesi

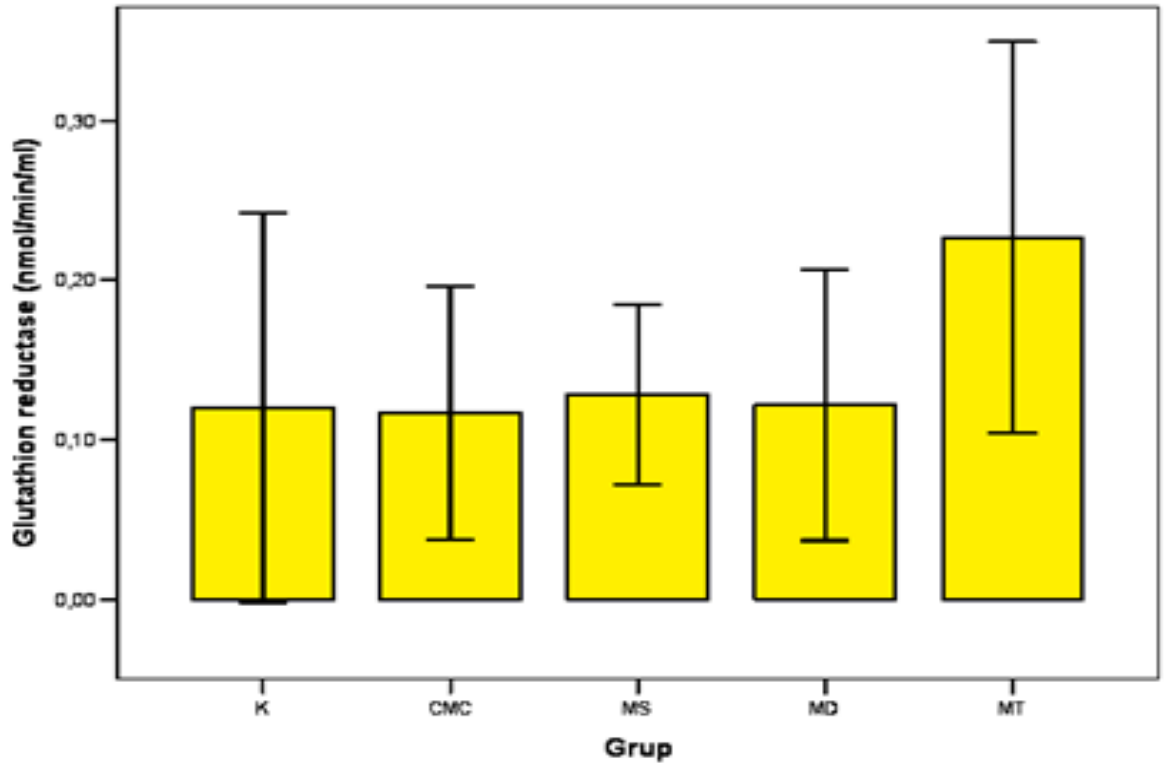
Glutasyon peroksidaz düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $0,91 \pm 0,09$; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $0,52 \pm 0,11$; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi $0,42 \pm 0,12$; pozitif kontrol grubu'nda $0,58 \pm 0,30$; negatif kontrol (CMC) grubunda $0,17 \pm 0,03$ olarak bulunmuştur. MT deneme grubunda K kontrol grubuna göre rakamsal bir artış saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. CMC grubunda ise GPx düzeyinde belirgin bir düşüş görülmüştür. CMC grubuna göre MD grubunda artış olmakla birlikte bu oran istatistiksel anlamlılık ifade etmemektedir (Tablo 4.2. ve Grafik 4.9.). Gruplar arasındaki GPx düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak önemlidir ($p=0,043$).



Grafik 4.9. Gruplar Arasındaki GPx Aktivite Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstresi grubu, MD: Dietileterli ekstresi grubu, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.9. Glutasyon Redüktaz (GR) Enzimi Aktivitesi

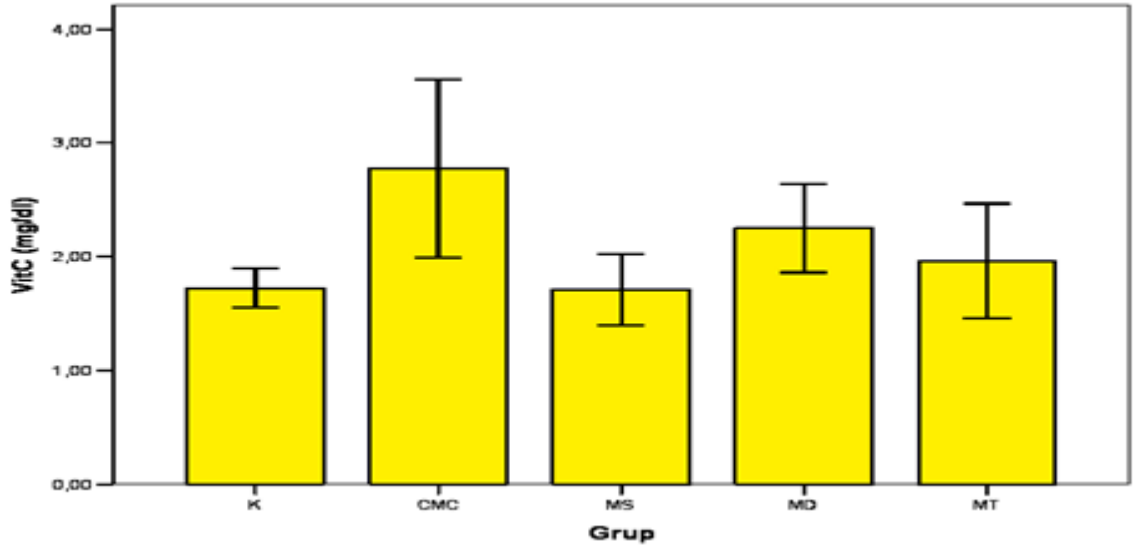
Glutasyon redüktaz düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $0,23 \pm 0,05$; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $0,12 \pm 0,03$; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi $0,13 \pm 0,02$; pozitif kontrol grubu'nda $0,12 \pm 0,05$; negatif kontrol (CMC) grubunda $0,11 \pm 0,03$ olarak bulunmuştur. Pozitif kontrol K grubuna göre MT grubunda kontrol grubunun 2 katı kadar rakamsal düzeyde saptanmış, MS grubunda ise kontrol grubuna çok yakın bir artış gözlemlenmiş, MD grubunda negatif kontrol grubu CMC grubuna göre yine rakamsal bir artış saptanmıştır (Tablo 4.2. ve Grafik 4.10.). Gruplar arasındaki GR düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak önemli değildir ($p=0,212$).



Grafik 4.10. Gruplar Arasındaki GR Aktivite Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstreli grup, MD: Dietileterli ekstreli grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

4.2.10. Vitamin C Düzeyleri

Vitamin C düzeyi, 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta $1,96 \pm 0,21$; 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan grupta $2,25 \pm 0,17$; 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi $1,71 \pm 0,13$; pozitif kontrol grubu'nda $1,73 \pm 0,07$; negatif kontrol (CMC) grubunda $2,78 \pm 0,33$ olarak bulunmuştur. Negatif kontrol grubu CMC grupta pozitif kontrol grubuna göre belirgin bir artış saptanmıştır. Çok belirgin olmamakla beraber, deneme gruplarından MT deneme grubundaki vitamin C düzeylerinde K kontrol grubuna göre rakamsal bir artış saptanmış, MD grubunda ise CMC negatif kontrol grubuna göre rakamsal bir düşüş gözlenmiştir (Tablo 4.2. ve Grafik 4.11.). Gruplar arasındaki Vit C düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak önemlidir ($p=0,003$).



Grafik 4.11. Gruplar Arasındaki Vit C Düzeyi Farklılıkları (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstreli grup, MD: Dietileterli ekstreli grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

5.TARTIŞMA

Tarih boyunca bitkilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Sanayileşme devrimi sonrasında kimyasal madde endüstrisinde görülen ilerlemeler tedavide, verimlilik artışında ve koruyucu hekimlikte bitkiler yerine sentetik ürünlerin kullanımını yaygın ve ekonomik hale getirmiştir. Son yıllarda, bazı kimyasalların çevre dengesi, insan ve hayvan sağlığı ile bitkiler için risk oluşturduğu fark edilmiş, tüm dünyada çevre ve sağlığın korunması amacıyla bu tür kimyasal maddelerin kullanımı kısıtlanmış, yapay kirlilikler taşımayan ürünler tercih edilmeye başlanmıştır. Bu bağlamda hekimler ile gıda ve çevre alanlarında çalışan araştırmacıların pek çoğu, dikkatlerini yeniden bitkisel kaynaklara yoğunlaştırmışlardır (Zinciroğlu ve ark., 1998; Dündar, 2001).

Halk ilaçları olarak kullanımı alternatif tıp doğrultusunda gittikçe yeniden önem kazanan bitkiler, günümüzde ilaç, antibiyotik, baharat, gıda, gıda katkıları, kozmetik, parfümeri, içecek, boya, böcek öldürücü, dekoratif gibi çok geniş bir bölümde hizmete sunulmuşlardır (Karadoğan, 2003). Ayrıca son yıllarda yaygın antibiyotik kullanımının da etkisiyle antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların oluşturduğu infeksiyon oranındaki artış yeni antimikrobiyal bileşik arayışına olan ilgiyi artırmıştır (Salvat ve ark. , 2001; Shtayeh ve ark., 1998). Faydalı terapötik maddelerin kaynağı olan bitkilerin taranması, biyolojik açıdan aktif bileşiklerin belirlenmesi açısından, önemli yaklaşımlardan biridir. Doğal ürünlerin ilaç endüstrisinde önemi giderek artmakta, biyoteknolojik araştırma grupları, yeni antimikrobiyal ilaçları geliştirmek amacıyla doğal bitki bileşiklerine odaklanmakta, antibiyotiklere karşı görülen dirençliliğe bağlı olarak oluşan kronik hastalıklarla birlikte antibiyotiklerle tedaviye alternatif veya destek olabilecek potansiyel stratejiler ortaya çıkarmaktadırlar. (Fux ve ark., 2003; Schachter, 2003; Lewis, 2001).

Günümüzde Türkiye'de baharat, tıbbi ve aromatik bitkilerin pek çoğu doğadan kontrolsüz bir şekilde toplanmakta ve işlenmemiş olarak piyasaya sürülmekte olup, artık dünya pazarında yeri olan ve ekonomik olarak ülkemiz ekolojisinde

yetiştirilmesi mümkün olan türlerin tarımına geçilip, işlenmiş ürün olarak pazarlara sunulması büyük önem taşımaktadır. Türkiye florasında yetişen özellikle *Lamiaceae* (*Labiatae*) familyasının pek çok üyesi (kekik, mercanköşk, sater, karabaşotu, adaçayı, yayla çayı, nane, oğulotu, fesleğen, biberiye, lavanta gibi) koku, tat, baharat, ilaç, içecek gibi pek çok alanda kullanılmakta (Karadoğan, 2003), bu bitkilerin birçoğu içerdiği fitokimyasal maddeler bakımından, hastalıkların tedavi edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden günümüzde, bitkilerin yapısında bulunan kimyasal maddeler araştırılmakta ve bu maddelerin çeşitli hastalıklardaki koruyucu özellikleri incelenmekte, eterik yağlar, kapsaisinler, tanenli maddeler, mineraller, glikozitler, alkaloidler, saponinler, flavonoidler ve vitaminler gibi genel gruplar altındaki binlerce fitokimyasal maddenin etkileri artan bir yoğunlukta çalışılmakta ve tartışılmaktadır (Francis ve ark. , 2002; Dündar, 2001; Sen ve ark. , 1998).

Dünyada yaygın olarak tüketilen ve aromatik bitkiler olarak yetiştirilen, günlük yaşantımızda çok kullandığımız, türlerinden birçok terpenoid ve flavonoid izole edilmiş *Mentha* ve bu bitki genusundaki bitkilerin içerikleri hakkında yapılan çalışmalar olmasına rağmen (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Arzani ve ark., 2007), ekstrelerinin yanında *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozunun verilerek, oksidatif parametreler ve vitaminlerin beraber değerlendirmeye alındığı çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu bakımdan değerlendirildiğinde orjinallik arz eden çalışmamızda, hayvan materyali olarak kullanılan ratlar 5 gruba ayrılarak, bu gruplara standart rat yemi ve bununla birlikte sulu ve dieterli ekstre, CMC ve kuru nane tozu verilmiştir. *Mentha* ve bunların ekstraktlarından incelenmesi amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular neticesinde, oral olarak kullanılan sulu ekstraktının 1 g/kg canlı ağırlık/gün olması gerektiği bildirimlerinden (Samarth ve ark. , 2006; Sharma ve ark. ,2007) hareketle çalışmada, mentha'dan elde edilen sulu ve dieterli ekstrelerinin 1 mg/kg canlı ağırlık dozu kullanılmıştır. Kuru tozu ile yapılan çalışmaya rastlanılmadığından ve toksik doz ile ilgili yeterli çalışma bulunmadığından dolayı 200 ppm mentha kuru tozu ilk defa çalışmamızda kullanılmıştır. Çalışmada mentha ekstraksiyonunda kullanılan CMC nin muhtemel etkilerinin ortaya konması amacıyla, kontrol yemiyle beslenen ratlara 1ml % 0,5 lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC) gavaj yolu ile verilmiştir.

Araştırmada, 28 gün süren denemenin sonunda tüm gruptaki hayvanlardan alınan kan örneklerinde yaptığımız istatistiksel çalışma neticesinde deney gruplarındaki ratların beden ağırlıklarının genel olarak günler arasında en az iki ölçüm arasında farklılık gösterdiği ($p=0,005$ -grup etkisini dahil etmeden), ancak grup ve günlerin etkileşimine bakıldığında arada anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p=0,975$). Deney gruplarındaki ratların beden ağırlıkları ortalamaları genel olarak karşılaştırıldığında, anlamlı farkın yalnızca K ile MT grubu arasında olduğu; günler/ölçümler (gruplar dikkate alınmadan) genel olarak karşılaştırıldığında ise anlamlı farkın yalnızca 0. gün ile 14. günlerdeki ölçümler arasında olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda, deney gruplarındaki ratların beden ağırlıkları, Grafik 4.1'de görüldüğü gibi özellikle deneme süresinin 14. gününden sonra kuru nane tozu verilen MT grubunda ve dietil eterli ekstre verilen MD grubu dışındaki tüm gruplarda azalmış olarak gözlemlense de her grubun (K, CMC, MS, MD, MT) her bir ölçüme göre (0, 14 ve 28. günler) olan ortalama, standart sapma ve %95 güven aralıklarına bakılarak K grubunu değerlendirdiğimizde, bu ortalamaların birbirinden farklı oldukları söylenemez. Hayvanlarda performans ve verimi üzerine aromatik bitkilerin etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, aromatik bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen esans yağların büyüme faktörü olarak kullanımı ile hayvanlarda yem tüketimi, yemden yararlanma, canlı ağırlık artışı gibi parametrelerde önemli düzeyde pozitif yönde gelişme sağlandığı, Alçiçek ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, 6 farklı esans yağ (kekik, adaçayı, defne, mersin, rezene, turunçgil) içeren karışımın 48 mg/kg düzeyinde broyler rasyonuna katılması ile canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma ve karkas veriminin hem kontrol grubuna göre hem de 10 mg/kg düzeyinde antibiyotik katılan gruba göre daha yüksek olduğu, aromatik bitkilerin canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine olan benzer etkileri yapılan birçok araştırma tarafından da doğrulanmış olmasına rağmen (Alçiçek ve ark., 2003; Mandal ve ark., 2000; McCartney, 2002; Tucker, 2002), bu çalışmada tüm gruplar ve ölçüm günleri karşılaştırıldığında ağırlık değişimleri açısından istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir. Jamroz ve Kamel (2002), bitkisel ekstrakt tüketen etlik piliçlerin

kontrolden daha yüksek canlı ağırlık artışı sağladıklarını ve yürüttüğü metabolizma denemelerinde esans yağ tüketen etlik piliçlerin protein, selüloz ve yağı daha yüksek düzeyde sindirdiğini saptamış (Jamroz ve Kamel, 2002), benzer şekilde, Ramakrisna ve ark. (2003) aromatik bitkilerin pankreatik lipaz ve amilaz enzimlerinin etkilerini artırdığını bildirmişlerdir (Ramakrisna ve ark. 2003). Sindirim sistemi üzerine esans yağların olumlu etkileri Langhout (2000) tarafından da vurgulanmaktadır (Langhout, 2000). Koyunlarda yapılan bir çalışmada nane ve fesleğen ekstraktının yemlemede kullanılması durumunda, rumen asetik asit konsantrasyonunu kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı, buna karşın bütirik asit konsantrasyonunun düştüğü saptanmıştır (Djouvinov ve ark., 1997).

Çalışmamızda ratların beden ağırlıkları, özellikle deneme süresinin 14. gününden sonra kuru nane tozu verilen MT grubunda ve dietil eterli ekstre verilen MD grubu dışındaki tüm gruplarda azalmış olarak gözlemlense de ağırlık değişimleri açısından istatistiki olarak anlamlılık görülmediği anlaşılmaktadır. Bu çalışmada elde edilen bulgu ile diğer bildirimler (Alçiçek ve ark., 2003; Mandal ve ark., 2000; McCartney, 2002; Tucker, 2002; Ramakrisna ve ark. 2003; Langhout, 2000; Djouvinov ve ark., 1997) arasındaki farklılığın nedeni, farklı *Mentha* çeşidi kullanılması, kullanılan nane ekstraktlarının uygulama dozu ve ekstraktların eldesinde kullanılan ekstraksiyon işlemi, nanenin kurutulması, değişik sindirim sistemine sahip deney hayvanları ve bunların sindirim sistemi enzimlerinin etkilerinden kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu veriler, uygulanan dozda sadece *Mentha Spicata L.* sulu ve dietileterli ekstrelerinin ratların canlı ağırlığı üzerine koruma kapasitesine sahip olabileceğini ancak günlük ağırlık ölçümü kaydedilerek yapılacak daha spesifik çalışma ile mentha tozunun ve ekstrelerinin ağırlık değişimi ve yem kalitesi gibi parametrelere etkilerinin etkin bir şekilde aydınlatılabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmanın önemli araştırma konularından birisi de lipid peroksidasyonunun derecesinin ve antioksidan aktivite gösteren enzimlerin etkilerinin belirlenmesiydi. Flavonoidler, hemen bütün bitkilerde bulunan sekonder fenolik metabolitlerin bir sınıfı olup birçok çalışmada flavonoidlerin antioksidan, antikarsinojenik ve antimikrobiyal etki gösterdikleri bildirilmiştir (Pietta, 2000). Flavonoidler,

antioksidatif aktivitelerini ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlar ile etkileşime girerek, süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak göstermektedirler. (Disilvestro, 2001; Shi ve ark., 2001).

Fonksiyonel gıda üretiminde kullanılan nane, karabiber, kekik, kırmızıbiber ve sumaktan oluşan baharatların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, en yüksek fenolik bileşik miktarının ve antioksidan aktivite oranının sumaktan sonra nanede olduğu tespit edilmiştir (Altıok ve ark., 2006). Samarth ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada ise mentha ekstraktlarının, içerdikleri kafeik asid, rosmarinik asid, alfa tokoferol, eugenol den dolayı antioksidan ve anti-peroksidan özellikte ve ayrıca radyasyona karşı koruyucu etkide olduğu bildirilmiş; başka bir çalışmalarında ise mentha ekstraktlarının radikal süpürücü etkisinin ve antioksidatif etkisinin güçlü olmasından dolayı radyoprotektif olduğu gösterilmiştir (Samarth ve ark., 2006a, Samarth ve ark., 2006b). Samarth ve ark. (2009) tarafından yapılmış benzer bir çalışmada mentha ekstraktlarının bileşiminde bulunan fenolik bileşiklerin oluşturduğu lipid peroksidasyonunu azaltıcı etki, radikal süpürücü aktivite ve antioksidan etkiden dolayı radyasyondan koruyucu aktivite meydana getirdikleri, başka bir çalışmada ise menthanın bulunduğu *Lamiaceae* ailesinin antioksidan özellikler açısından iyi bir aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Samarth ve Samarth, 2009; Zakaria ve ark., 2008).

Çalışmamızda lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösteren MDA düzeylerini incelediğimizde, negatif kontrol grubu olan CMC grubu MDA düzeyleri anlamlı bir düşüş sergilemiştir. Özellikle K kontrol grubuna göre MS grubunda da belirgin bir azalma görülmüştür. MT grubunda ise düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir. Negatif kontrol (CMC) grubuna göre, dietileterli ekstresi uygulanan MD grupta MDA düzeylerinde artış vardır. CMC ve MD grup arasındaki MDA düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir ($p=0,000$). MT grubundaki MDA düzeyi rakamsal olarak baskılanmış görülsede kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlam ihtiva etmediği görülmüştür. İki kontrol grubu karşılaştırıldığında CMC'li grup ile K kontrol grubu arasında büyük bir fark

olması CMC nin antioksidan özellik sergilemiş olabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca MD grubunda da MDA ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu artmıştır. İntragastrik gavaj yapılması ratlarda stres yaratacağından CMC grubunda MDA nın normalde artması (Oğul, 2006) beklenirken, anlamlı bir düşüş sergilenmiş olması, belli bir süreden sonra ratların bu uygulamaya alışarak adaptif bir yanıt oluşturduklarını düşündürmektedir. Sıklıkla tüketilen bazı gıdaların toplam fenolik madde içeriği kateşin cinsinden hesaplandığı bir çalışmada, nane çayında yüksek miktarlarda fenolik madde olduğu ve serbest radikal yakalama kapasitelerinin yeşil çaydan sonra nane çayında olduğu tespit edilmiştir (El, S.,N. 2008). Çalışmamızda CMC grubunda MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş, dietil eterli ekstreli MD grubunda MDA düzeylerinde artış sergilenmiş olması ilgi çekici bir bulgu olarak görülmekle birlikte sulu ekstre verilen MS grubunda MDA düzeylerinde istatistiksel azalışın görülmesinin, sulu nane ekstresinde fenolik maddelerin daha fazla olabileceğini, deney süresinde lipidlerin otooksidasyona karşı *Mentha Spicata L.*'nin sulu ekstresinin koruyucu etki gösterebileceğini ortaya koymakta, CMC'nin MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş sergilemiş olması lipid peroksidasyonu ve antioksidan kapasiteye etkilerinin araştırılması gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Nane tozunun toksik etkileriyle ve toksik dozlarıyla ilgili yeterli çalışma bulunmamasına rağmen yapılan bir çalışmada nane yağı, 20 fareye sırasıyla 0, 10, 40, 100 mg/kg dozlarda 28 gün boyunca verildiğinde, 40 ve 100 mg/kg dozlarında beyinciğin beyaz cevherinde histopatolojik değişiklikler gözlemlenmiş ve akut toksisite lehine yorumlanmıştır. Doksan gün boyunca aynı dozlarda nane yağı verildiğinde, en yüksek doz olan 100 mg/kg dozda beyincikte kist oluşumlara benzer histopatolojik değişiklikler meydana gelmiş ve subkronik toksisite lehine yorumlanmıştır (Demirezer, 2007).

Güney ve ark. (2006) tarafından yapılan ratlarda uterus dokusu üzerine menthanın yaptığı etkileri içeren bir çalışmada MDA düzeylerine bakılmış ve 20 g/L nane çayı verilen grupta nane çayı verilmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada nanenin sindirim sistemindeki yararlı etkilerinin yanında önerilen dozlarda ve şekillerde kullanılmadığı takdirde toksik

etkilerinin görülebileceği belirtilmiştir. (Güney ev ark. , 2006). Bizim çalışmamızda özellikle sulu nane ekstresi verilen MS grubunda MDA düzeylerinde istatistiksel anlamlı bir azalma, MD grubunda ise istatistiksel anlamlı bir artış görülmüş olup, MD grubunda MDA düzeylerinde görülen bu artışın sebebinin Güney ve ark (2006)'nın yaptığı çalışmada belirtilen toksik etkilerden dolayı çıkmış olabileceği düşünülmüştür.

Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolü yeniden aktifleştirmesini sağlaması verilebilir. Total antioksidan kapasitesinin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisini antioksidan aktivite yansıtır. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlar yerine bunların toplam antioksidan değerini veren antioksidan aktivite ölçümü yaygınlaşmaktadır (Tello ve Halifeoğlu, 2008; Tekkes, 2006; Ching ve ark., 2002). Total antioksidan kapasite, serumda bulunan antioksidan özellikli maddelerin toplam aktivitesini yansıttığı için daha doğru bir yaklaşım sağlamaktadır. Nitekim pulmoner tüberkülozlu hastalarda antioksidan kapasite ölçümü ile ilgili yapılan bir çalışmada SOD, GSH-Px, GR artarken, antioksidan özellikli vitaminler azalmakta; total antioksidan kapasite ise net etkiyi belirleyebilmektedir (Güler ve ark.2004)

Çin'deki antioksidan ve fenolik bileşikleri bulunan 112 çeşit şifalı bitkinin antikanser ilişkisini araştırmak için yapılan incelemede total antioksidan kapasitesi ile total fenolik içerik arasında pozitif ilişki tespit edilmiş ve fenolik içeriğin antioksidan etkiyi oluşturan temel yapı olduğunu vurgulamışlardır. Buradan hareketle de, Çin'deki şifalı bitkilerin doğal bileşimlerinin kemopreventif ajan kaynağı olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (Tello ve Halifeoğlu, 2008). Ayrıca iritabl barsak sendromu, nonülser dispepsi gibi gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılan, içeriğinde *Mentha piperita* ile beraber dokuz bitkinin etanol ekstraktının bulunduğu STW 5'in antioksidan özelliklerinin incelendiği bir çalışma

sonucunda en iyi antioksidan özelliği *Mentha piperita*'nın gösterdiği sonucuna varılmıştır (Schemppa ve ark., 2006).

Jambor ve Czosnowska (2002), taze bitkilerin kurutulması süresince meydana gelen enzimatik olayların, bitkilerde bulunan fitokimyasalların kompozisyonlarında belirgin değişikliklere yol açtığını bildirmişlerdir. Ayrıca Yu ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada doğrudan soyulmuş yerfıstığı kabuklarından elde edilen metanol ve etanol ekstraktlarının total antioksidan kapasite değerleri benzer sonuç verirken, kavrulmuş yerfıstığı kabuğunun etanol ekstraktlarının total antioksidan kapasite değeri metanol ekstraktından fazla bulunmuştur. Pinelo ve ark. (2004)'in çalışmasında da benzer sonuçlar gözlenmiştir (Jambor ve Czosnowska 2002; Yu ve ark. 2005; Pinelo ve ark. 2004) .

Çalışmamızda, deney gruplarından MT grubundaki ratların total antioksidan kapasite düzeyi K kontrol grubuna göre istatistiksel olmayan anlamda artış göstermektedir. Antioksidan kapasite düzeyleri incelendiğinde, CMC li kontrol grubuna göre MD grubunda antioksidan kapasite düzeyinin istatistiki olarak azaldığı, nane tozu verilen MT grubunda, K kontrol grubuna göre antioksidan kapasitenin rakamsal olarak arttığı görülmektedir. Bu bulgumuz incelendiğinde nane tozunun eldesinde kullanılan ekstraksiyon işleminin, nanenin kuru ve yaş olarak kullanılmasının fitokimyasalların kompozisyonlara etkili olabileceği çalışmaları (Jambor ve Czosnowska 2002; Yu ve ark. 2005; Pinelo ve ark. 2004) destekler nitelikte olduğu, lipid peroksidasyonunu çok fazla baskılayamadığı ve antioksidan kapasiteyi yeterli düzeyde güçlendiremediği görülmektedir. Bu çalışmada çözücü amaçla kullanılan CMC'nin antioksidan etkisinin normal deneme gruplarından daha fazla olduğu, CMC nin antioksidan etkisinden dolayı kullanılabilmesini düşündürmektedir. Ancak sadece nane tozu verilerek yapılan çalışmalar olmadığından dolayı, farklı miktarlardaki nane tozu kullanılarak yapılacak spesifik çalışmalarla antioksidan kapasiteye etkilerinin aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan glutatyon, hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır (Reznick ve ark., 1998). Glutatyon vücutta redükte ve okside olmak üzere iki formda bulunur. Glutatyon, akciğer, bağırsak, böbrek ve

kısmen karaciğer gibi eksojen toksinlere direkt olarak maruz kalabilen organlar için çok önemlidir. Karaciğer, ksenubiyotiklerin detoksifikasyonu ile devreye giren ve aynı zamanda GSH için ana depo olan bir organdır. Glutasyon en yüksek hücre içi derişimine (~10 mM) hepatositlerde ulaşır (Aksoy, 2002). Glutasyonun en önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da oksijenin direk etkisi ile hızla aktiviteğini yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup tiyol gruplarını tekrar indirgeyerek bunların aktivasyonunu sağlar. Özellikle H₂O₂ 'nin elemine edilmesinde GSH' ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır (Akkuş, 1995; Carlberg ve Mannervik, 1985). Glutasyon peroksidaz detoksifikasyon sırasında yükseltgenmiş endojen antioksidanları indirgeyerek rejenerasyonlarını sağlar. Bu esnada kendisi de yükseltgenmiş olur. Glutasyon redüktaz NADPH varlığında GSSG' yi GSH'a dönüştürür. Glutasyon peroksidazın katalizlediği bu reaksiyonda, GSH'ın enzim aktivitesi için esas olduğu açıktır. GSH sürekli olarak hücreler tarafından kullanıldığından, sentezinin inhibisyonu hızlı tükenmesine yol açabilir (Ekinci, 2006; Akpoyraz ve Durak, 1995; Burton, 1988).

Çalışmamızda, deney gruplarındaki ratların GSH düzeyleri bu bilgiler doğrultusunda incelendiğinde, K kontrol grubuna göre MT grubunda GSH düzeyinde belirgin bir artış görülmüştür. *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi uygulanan MD grupta, negatif kontrol (CMC) grubuna göre bir düşüş saptanmıştır. Gruplar arasındaki GSH düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir (p=0,001). Her iki kontrol grubu arasında bakıldığında CMC'li grupta glutasyon düzeyi yüksek görülmektedir. Kontrol grubu CMC li grup göz ardı edilerek MT grubu incelendiğinde, K kontrol grubuna göre GSH nin istatistiksel anlamlılıkta arttığı görülmektedir. CMC grubuna göre bakıldığında MD grubunda GSH düzeyi azalmıştır. Arsenikle karaciğer hasarı yapılan farelerde *mentha* 'nın koruyucu etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada *mentha* verilmeyen grupta glutasyon düzeyinde azalma görülmüş bunun yanında mentha verilen grupta ise glutasyon düzeyinde önemli bir artış saptanmıştır (Scott ve Powers, 1999; Sharma ve ark., 2006). Bizim MT grubundaki bulgumuz ile paralellik gösteren bu çalışma ışığında tezimizde

kullandığımız *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozunun GSH düzeyini artırdığı açıkça görülmektedir. Bu sonuç H_2O_2 'nin redüksiyonu ve hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürülmesindeki katkısından kaynaklanıyor olabilir. Ancak MDA oluşumunu engellemedeki potansiyelinin nane ekstrelerine oranla daha az olması, *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozuyla eritrositlerin normal hücre yapısının korunmasını sağlayan glutasyonun ilişkileri sorgulayacak çalışmalara gereksinim olduğu, konu üzerinde bu mekanizmayı anlamaya yönelik yeni çalışmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Nane tozunun, antioksidan aktivite, enzimatik antioksidanlar, glutasyon gibi tüm memelilerde bol miktarda sentezlenen nonenzimatik antioksidan maddeler ve vitaminlerle ilişkilerinin araştırıldığı literatürlere rastlanmamış olması dikkat çekicidir. Bu araştırma, mentha tozunun antioksidan kapasite üzerine etkilerini belirlemeye yönelik elde edilen ilk bulguları içermekte, GSH düzeyini artırdığı ancak MDA oluşumunu engellemedeki potansiyelinin az olduğunu göstermektedir.

A vitamini kavramı retinol, retinoik asit ve retinal gibi biyolojik aktif moleküllerin tümü için kullanılır. Retinol uzun zincirli yağ asitleriyle oluşturduğu retinil esterleri formunda hayvansal dokularda, β -karoten ise, hemen hemen tüm bitkisel kaynaklarda bulunur. β -karoten incebağırsakta parçalanır ve iki molekül retinol oluşur. Diyetle bulunan retinol esterleri ince bağırsak mukozasında hidroliz edilir, retinol ve serbest yağ asitleri oluşur. Esterler ve β -karotenlerin kırılması ve indirgenmesi sonucu oluşan retinol, incebağırsak mukoza hücrelerinde uzun zincirli yağ asitleriyle tekrar esterleştirilir ve şilomikronların bir bileşeni olarak lenfatik sisteme verilir. Şilomikronlardaki retinol esterleri karaciğer tarafından alınır ve depolanırlar. Bu bakımdan serum A vitamini düzeyleri karaciğerdeki depolar aracılığıyla korunur (Bayşu Sözbilir ve , Bayşu 2008; Kayaalp, 2002; Murray ve ark., 1998).

Çalışmamızda vitamin A ve β -karoten düzeyleri gruplar arasında anlamlı bir değişim göstermemiştir. Çalışmamızdaki birbirine yakın A vitamini düzeyleri, A vitamininin depolanmasından kaynaklanıyor olabilir. Tezimizde A vitamini ve β -karoten düzeyleri üzerinde *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozu ve ekstrelerinin ilavesinin etkili olmadığı ancak, β -karoten düzeylerinin istatistiksel olmasa da deneme

gruplarından MD grubunda diğer gruplara göre artmış olması dikkat çekici bir sonuç olarak görülmüştür. Bir antioksidan olan β -karoten düşük oksijen konsantrasyonlarında etkili olmaktadır. Diyetlerinde bol miktarda β -karoten bulunması insanlarda akciğer ve deri kanseri ile kalp hastalığı görülme sıklığını azaltmaktadır. β -karotenin bu koruyucu etkisi antioksidan özelliğinden veya bağışıklık fonksiyonunu artırması gibi başka etkilerden dolayı olabilir (Wetherilt, 2004; Murray ve ark., 1998). β -karotenin üreme fonksiyonu üzerinde etkili olabileceği, eksikliğinde başta progesteron olmak üzere steroid hormon sentezinde azalma meydana getirebileceği belirtilmektedir (Konar ve ark., 2003). Çalışmamızda diyetle dietil eterli ve sulu nane ekstresi ilavesinin serum β -karoten düzeylerini rakamsal artış yönünde etkilemesi, istatistiksel anlamlılık göstermese de, antioksidan kapasite açısından olumlu kabul edilebilir.

Katalaz primer enzimatik savunma sistemlerinden birisidir ve kanser, diyabet, katarakt, ateroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli bir enzimidir (Yılmaz ve Ozan, 2003). Mayıs papatyasının oksidatif hasar üzerine etkinin araştırıldığı bir tez çalışmasında, Mayıs papatyası adı verilen *Marticaria chamomilla L.* ekstresinin CCl_4 ile karaciğerde oluşturulan oksidatif hasar üzerine oksidatif stresi baskılayıp antioksidan sistemi güçlendirdiği, katalaz aktivitesini arttırdığı özellikle artan dozlarda oksidatif stresi daha iyi baskıladığı gözlenmiştir (Tür, 2008). Çimen ve ark (2005) tarafından rat eritrositlerinde katalaz enziminin karakterizasyonu ve kinetiğini incelenmiş ve farelerde katalaz enziminin birçok şekli saptanmıştır. İlaç ve kimyasal maddelerin büyük kısmının vücudun belli organlarında serbest radikal oluşum hızını artırabildiği, bu nedenle, antioksidan enzimlerin hem hücrenin kararlılığını korumada hem de serbest radikalleri yok etmede çok önemli olduğu söylenmiştir (Çimen ve ark., 2005). Benzopiren ile indüklenerek oluşturulan akciğer karsinogenesite ve mutajenesitesi açısından *mentha*'nın koruyucu rolü araştırılan bir çalışmada lipid peroksidasyonda azalma ve SOD ile KAT aktivitesinde artışlar saptanmıştır (Samart ve ark., 2006a, Samart ve ark., 2006b).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular daha önceki çalışmalardan farklı olarak SOD ve KAT düzeylerinde istatistiksel anlamda bir değişiklik meydana getirmemiştir. Deneme gruplarındaki KAT düzeylerinde, kontrol gruplarına göre belirgin bir artış olmamasına rağmen, *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi verilen MS grubunda, kontrol grubunu geçen düzeyde bir artış saptanmıştır. Gruplara göre istatistiksel anlamda olmayan bu artışın katalaz enziminin tipleriyle ilgili olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca yine CMC li grupta bir artış görülmesi CMC nin antioksidan kapasiteye etkili olabileceği ve bu yönde yapılacak araştırmalara gereksinim olduğu yönündedir. Süperoksid dismutaz enziminin canlılardaki dağılımı katalaz ile birlikte incelenmelidir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik ürünlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir (Demirayak, 2007). Katalaz enziminin etkinliğini arttıran yüksek H₂O₂ konsantrasyon düzeyinin (Nalçacı, 1994), bizim çalışmamızda olası düşüklüğünden dolayı, ayrıca SOD aktivitesindeki azalmayla birlikte biriken süperoksid radikalının katalaz enzimini inhibe etmesine bağlı olan çalışmaların ışığında, (Nalçacı, 1994), belirgin bir katalaz değişikliğinin meydana gelmediği düşünülmektedir

Süperoksid dismutaz enzimi serbest radikal hasarına karşı koruyucu enzimlerden birisidir. Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijen metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumak ve lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektir. Süperoksid dismutaz aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. Radyasyon vücuttaki antioksidan düzeylerde bir değişime sebep olur. Samarth ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışma göstermiştir ki *M.Piperita*'nın güçlü bir radikal süpürücü etkisi vardır ve radyasyona maruz kalan farelerde, *M. piperita* çayı verilmesiyle SOD düzeyi belirgin şekilde yükselmiştir (Samart ve ark., 2006). Çalışmamızda rasyona mentha ekstraktlarının eklenmesiyle deneme gruplarındaki SOD düzeyleri kontrol gruplarına göre belirgin bir değişikliğe sebep olmaması süperoksit radikalının birikimi sonucu olabilir, süperoksid radikali katalaz enzimini de inhibe etmektedir. Hem süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinde, hem de β -karoten düzeylerinde bir artış görülmemesi bulgusunun, β -karotenin, enzimatik antioksidan olan süperoksit dismutaz ve katalaz

aktivitelerinde artışa neden olduğu yönündeki bildirimle uyumlu olduğu gözlenmiştir (Eryiğit, 2006).

Ayrıca yapılan çalışmalara bakıldığında, mayıs papatyası ile yapılan çalışmada, CCl₄ ile karaciğerde oluşturulan oksidatif hasar üzerine oksidatif stresi baskılayıp antioksidan sistemi güçlendirdiği, katalaz aktivitesini arttırdığı özellikle artan dozlarda oksidatif stresi daha iyi baskıladı; radyasyona maruz kalan farelerde, *M. piperita* çayı verilmesiyle SOD düzeyi belirgin şekilde yükseldiğinin gözlenmesi daha çok oksidatif stres oluşumunun arttırıldığı durumlarda hem katalazın hem de süperoksid dismutaz enzim aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Tür, 2008; Samart ve ark., 2006). Bizim çalışmamızda ilaç veya radyasyonla indüklenen bir oksidatif stres bulunmadığından enzim seviyelerinde yükselme görülmemesi bu durumla ilişkilendirilebilir.

Eritrositlerde glutatyon peroksidaz oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. Katalaz ve süperoksid dismutaz başlıca membranın hidrofilik bölgelerinde etki göstermesine rağmen, GPx ise hidrofobik membran komponentlerinde lipid peroksidasyonuna karşı indirekt koruyucu etki yapmaktadır. KAT, SOD ve GPx 'ın kombine olduğu durumlarda serbest radikal ataklarına karşı hücre bütünlüğünün korunması etkili olmaktadır. E vitamini yetersiz olduğu durumlarda, membranı peroksidasyona karşı glutatyon peroksidaz korur (Yılmaz ve Ozan, 2003; Turna, 2008). Glutatyon peroksidaz aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur. Glutatyon peroksidaz lipooksijenaz ve siklooksijenaz yollarını değiştirerek tümör oluşumunda anahtar bir rol oynar (Yılmaz ve Ozan, 2003). Glutatyon peroksidaz antioksidan savunma sisteminde görev almaktan başka ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesi, aminoasitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril gruplarının redükte halde tutulması, bazı enzimatik reaksiyonlarda koenzim görevi görmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyona sahiptir (Reznick ve ark., 1998). Katalaz ve GPx aynı fonksiyona sahip fakat substrat olarak H₂O₂' ye farklı affinite gösteren enzimler olup evrimsel ve fonksiyonel açıdan farklılık gösterirler. Katalaz tek hücrelilerden, gelişmiş bitkilere ve hayvanlara kadar geniş bir spektrumda ortak organel olan peroksisomların yapısında bulunur. Ancak

yüksek H₂O₂ konsantrasyonlarında etkindir. Oysa selenyum içeren glutatyon peroksidaz, stoplazma ve mitokondride üretilen organik hidroperoksitleri ve H₂O₂'i temizleyebilme yeteneğine sahiptir. Memeli glutatyon peroksidazı, katalaz ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda bile H₂O₂' ye daha yüksek afinite göstermektedir. Bu haliyle glutatyon peroksidaz gelişimsel açıdan katalazdan daha yeni ve oksidatif fosforilasyonla ilişkili olduğu söylenebilir. Memelilerde en az 5 çeşit GPx izoenzimi bulunmaktadır. Fare epidermisinde rastlanan GPx5 selenyum bağlı değildir (Demirayak, 2007; Nalçacı, 1994).

Çalışmamızda, MT deneme grubunda K kontrol grubuna göre glutatyon peroksidaz enzim düzeylerinde rakamsal bir artış saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. Kontrol grubu CMC grubunda ise GPx düzeyinde belirgin bir düşüş görülmüştür. CMC grubuna göre MD grubunda artış olmakla birlikte bu oran istatistiksel anlamlılık ifade etmemektedir. Gruplar arasındaki GPx düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak önemlidir (p=0,043). Glutatyon peroksidaz düzeyi, *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan grupta rakamsal olarak K kontrol grubunun iki katı kadar yükselme göstermiştir. Çalışmamızda KAT enziminde istatistiksel anlamda bir değişiklik görülmeyip, hücrel savunma elemanlarından glutatyon peroksidaz aktivitesinde görülen bu artışın GPx 'ın düşük konsantrasyonlarda bile H₂O₂' ye daha yüksek afinite gösterdiğinin bir kanıtı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca KAT ve SOD düzeyleri yükselmemesine rağmen MT ve MD gruplarında GPx'ın artışı, oksidan strese karşı en etkili antioksidanlardan biri olduğunun göstergesidir.

Bazı çalışmalarda serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin aşılması halinde antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olacağı bildirilmektedir (Tür, 2008). Deneyimizde antioksidan hücrel savunma elemanlarından glutatyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz enzimlerinin düzeyinin genel anlamda düşük olması kan düzeyinde antioksidan savunma sisteminin aşılmış olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu azalmaya rağmen glutatyon peroksidaz düzeyinin ve total antioksidan kapasitenin nane tozu verilen MT grubunda, K kontrol grubuna göre rakamsal olarak artmış olması, nane tozunun lipid peroksidasyonunu çok fazla baskılamadığı ancak

antioksidan kapasiteyi rakamsal anlamda güçlendirdiğini düşündürmüştür. Oksidasyon reaksiyonlarının yıkımlayıcı etkilerine karşı koruyucu etki sağlayıp sağlayamayacağı konusunda yapılacak yeni çalışmalarla daha net veriler elde edilecektir.

Deneme gruplarında glutatyon redüktaz düzeylerinde kontrol gruplarına göre istatistiksel anlam ifade eden bir artış saptanmamış ancak özellikle rasyona *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan MT deneme grubunda GR düzeylerinde kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmiştir. Samart ve ark., (2006) tarafından gama radyasyona maruz farelere *M. Piperita* ekstraktı verilerek yapılan bir çalışmada, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, süperoksid dismutaz ve katalaz enzimlerinin aktivitelerinde belirgin şekilde artış meydana geldiği ve güçlü radikal süpürücü etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışmanın tersine glutatyon redüktaz düzeylerinde, glutatyon peroksidaz enziminde olduğu gibi kuru tozu uygulanan MT deneme grubunda rakamsal artışlar saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada ise nane ve ekstraktlarının çok iyi antioksidan potansiyele sahip ve sentetik antioksidan olan butil hidroksi toluen (BHT) ile birbirine çok yakın etki gösterdiği söylenmekle birlikte, bizim çalışmamızda beklediğimiz üzere kuru toz uygulaması sonucunda antioksidan enzimlerde istatistiksel anlamda artış saptanmamıştır.

Samarth ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada da *M. Piperita* cinsinin çok güçlü radikal süpürücü etkisi olduğu gösterilmiştir (Kanat ve ark., 2008; Samart ve ark., 2008; Samart ve ark., 2006a). Kumar ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada *M.Piperita* ekstraktlarının radyasyona maruz kalmış testis dokusu üzerinde, bileşiminde bulunan fenolik bileşikler, flavonoidler ve flavonollardan dolayı, radyasyona karşı koruyucu etkisinin olduğu (Kumar ve ark., 2004), diğer bir çalışmada ise *M.Piperita* nın sulu ekstresinin radyasyon ile deri tümörü oluşturulan farelerde antikanserojen ve radyoprotektif etkisi ile iyileştirdiği, ancak klinik olarak deride, eritem, ödem, kırışiklik, fotoyaşlanma, inflamasyon, otoimmün reaksiyon, hipersensivite, keratinizasyon bozuklukları, preneoplastik ve neoplastik lezyonları içeren olumsuz etkilerin de ortaya çıkabildiği belirtilmiştir (Samart ve Samart, 2009). Bu çalışmada elde edilen bulgu ile diğer bildirimler arasındaki farklılığın nedeni,

yapılan bu çalışmalarda genellikle *M.Piperita* cinsi kullanılmış olmasından ve sulu ekstre halinde verilmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir. Antioksidan hücrel savunma elemanlarından glutatyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz enzimlerinde olduğu gibi glutatyon redüktaz enzim düzeyinin de düşük olması, serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak kan düzeyinde antioksidan savunma sisteminin aşılmış olabileceğini de göstermektedir. Özellikle rasyona *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan MT deneme grubunda GR düzeylerinde kontrol gruplarına göre istatistiki anlam ifade etmese de artış olması, bizim çalışmamız açısından olumlu kabul edilebilir.

C vitamini ilk kez 1933 yılında C. Glen King tarafından limondan elde edilmiştir. Hemen hemen tüm organizmalar, bitkiler ve hayvanlar C vitaminini sentezlemelerine rağmen insan, maymun, bazı kuşlar ve balıklar bu sentezi yapamazlar. Pek çok memeli türünde karaciğerde ve böbreklerde sentezlenir. Ancak insanda askorbik asidin sentezlenmesi için esansiyel olan L-gulonolakton oksidaz enzimi bulunmaz ve bu sebeple sentezi gerçekleşemez. Vitamin C'nin singlet oksijen, süperoksit hidroksil, hidroperoksil, lipid peroksil ve lipid alkoksil radikallerini ortamdaki temizleyerek antioksidan etkisini gösterdiği bilinmektedir (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Demirayak, 2007; Kayaalp, 2002). C vitamini endiol sisteminden dolayı kuvvetli redüksiyon ajanı olup adrenal hormonların hidroksilasyonu, kılcal damarların güçlendirilmesi, trombin aktivasyonu, demir absorpsiyonunun artması gibi olaylarda rol oynar. Ayrıca askorbik asit fenolik antioksidanlar için çok kuvvetli sinerjik bir antioksidan etkiye sahip olup (Özkanlı, 2006) E vitamini gibi membranı oksidatif hasara karşı koruyabilen önemli antioksidandır. Askorbik asit tokoferoksil radikalini indirgeyerek tokoferolün radikal temizleme aktivitesini düzenlerken, askorbik asitin redoks durumu hücre içi GSH tarafından kontrol edilen (Aksoy, 2002), ayrıca sentezlenemiyor olması nedeniyle, insanlarda dışardan takviye edilmesi gereken bir vitamindir (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Yapılan bir çalışmada E vitamini ve β -karoten gibi C vitamini de toksik oksijen serbest radikallerini inaktive ederek, serbest radikallerin membran lipidlerine,

proteinlere ve DNA'ya vereceği zarar azaltılmış olacağı saptanmıştır (Konar ve ark., 2003). Bizim çalışmamızda MT deneme grubunda vitamin C düzeylerinde K kontrol grubuna göre rakamsal bir artış saptanmıştır. Gruplar arasındaki vitamin C düzeyi farklılıkları istatistiksel olarak önemlidir. Askorbik asidin fenolik antioksidanlar için çok kuvvetli sinerjik bir antioksidan etkiye sahip olması (Özkanlı, 2006) dolayısıyla, diğer antioksidan enzimlerde belirgin bir artış olmaması çalışmamızda sinerjizm gösterememiş olduğunu düşündürmüştür. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, nane ekstralarının ve kuru tozunun vitamin C'nin singlet oksijen, süperoksit hidroksil, hidroperoksil, lipit peroksil ve lipit alkoksil radikallerini ortamdan temizleyerek antioksidan etkisini gösterdiği çalışmaların aksine sulu ve dietil eterli ekstralarının çok etkili olmadığını göstermektedir (Demirayak, 2007; Kayaalp, 2002). Bu bağlamda yaptığımız çalışma, *mentha*'nın çeşitli tipleri ve dozlarıyla bu bulguları daha ayrıntılı ortaya koymak gerekliliğini göstermektedir. Ayrıca antioksidan aktiviteleri için kullanılan vitaminlerin etkin dozlarının saptanabilmesi konusunda da daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, insan gıdalarındaki kalitenin hayvanlara verilen yemin kalitesi ile yakından ilgili olduğunu göstermektedir (George, 1983). Ayrıca diyetle koruyucu etki sağlayan bazı bitki fenoliklerinin, gıdalardaki biyolojik miktarının ve ne kadar alınması gerektiğinin bilinmesi yan etki insidansı açısından önemlidir (Eryiğit, 2006). Sunulan bu çalışmada, *M. Spicata* 'nın 1g lık sulu ve dieterli ekstraları gavaj yoluyla ve *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozunun 200 ppm'lik miktarlarının deney süresi boyunca rasyona katılarak verilmesinin kanda β - karoten, A ve C vitaminleri, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, malondialdehid, süperoksit dismutaz enzimleri ve total antioksidan kapasite üzerine etkisi araştırılmıştır. Ratların canlı ağırlıkları MT ve MD grupları dışındaki tüm gruplarda azalmıştır. Malondialdehid değerleri için kontrol grupları arasında istatistiksel farklılıklar tespit edilmiş, sulu ekstralı MS grubunda istatistiksel anlamlı azalma görülmüş, MT grubunda glutatyon düzeylerinde istatistiksel artma, glutatyon peroksidaz, vitamin C ve antioksidan kapasite düzeylerinde istatistiksel anlam ifade etmeyen rakamsal değişiklikler görülmektedir. Çalışmamızda süperoksit dismutaz,

katalaz, glutatyon redüktaz, vitamin A ve β -karoten düzeyleri anlamlı bir değişim göstermemiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

M. Spicata'nın 1g lık sulu ve dieterli ekstreleri gavajla ve *Mentha Spicata L.* kuru tozunun 200 ppm'lik miktarlarının deney süresi boyunca rasyona katılarak verilmesinin kanda β - karoten, A, C vitaminleri, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, malondialdehid, süperoksid dismutaz enzimleri ve total antioksidan aktivite kapasite üzerine etkisini araştırdığımız doktora tez çalışmamızda:

Ratların beden ağırlıkları, özellikle deneme süresinin 14. gününden sonra kuru nane tozu verilen MT grubunda ve dieterli ekstre verilen MD grubu dışındaki tüm gruplarda azalmış olarak gözlemlense de ağırlık değişimleri açısından istatistiki olarak anlamlılık görülmediği anlaşılmaktadır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu veriler, uygulanan dozda *Mentha Spicata L.* sulu ve dieterli ekstrelerinin ratların canlı ağırlığı üzerine koruma kapasitesine sahip olabileceğini ancak günlük ağırlık ölçümü kaydedilerek yapılacak daha spesifik çalışma ile mentha tozunun ve ekstrelerinin ağırlık değişimi ve yem kalitesi gibi parametrelere etkilerinin etkin bir şekilde aydınlatılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, negatif kontrol (CMC) grubu, MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş sergilemiştir. Özellikle K kontrol grubuna göre MS grubunda belirgin bir azalma görülmüştür. MT grubunda ise K kontrol grubuna göre rakamsal bir düşüş vardır. Negatif kontrol (CMC) grubunda MDA düzeylerine göre dieterli ekstresi uygulanan MD grupta MDA düzeylerinde artış vardır. CMC ve MD grup arasındaki MDA düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir ($p=0,000$). *M. Spicata* dieterli ekstresi verilen deneme gruplarında, ratların MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılıkta baskılanmadığı görülmektedir. Ayrıca MD grubunda da MDA ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu artmıştır. İntragastrik gavaj yapılması ratlarda stres yarattığı düşünülerek CMC grubunda MDA'nın normalde artması (Oğul, 2006) beklenirken, anlamlı bir düşüş sergilenmiş olması, belli bir süreden sonra ratların bu uygulamaya alışarak adaptif bir yanıt oluşturduklarını düşündürmektedir. CMC grubunda MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş sergilemiş

olması ilgi çekici bir bulgu olarak görülmekle birlikte sulu ekstre verilen MS grubunda MDA düzeylerinde istatistiksel azalışın görülmesi deney süresinde lipidlerin otooksidasyona karşı *Mentha Spicata L.*'nin sulu ekstresinin koruyucu etki gösterebileceğini ortaya koymakla birlikte, kuru tozunun da sulu ve dieterli ekstrelerin yanında etkili olabileceğini ancak farklı mentha çeşitleri ve miktarlarıyla denenmesini, ayrıca CMC'nin lipid peroksidasyonu ve antioksidan kapasiteye etkilerinin araştırılması gerektiğini ortaya koymuştur.

Deney gruplarındaki ratların total antioksidan kapasite düzeyleri incelendiğinde, CMC li kontrol grubuna göre MD grubunda antioksidan kapasite düzeyinin istatistiki olarak azaldığı, nane tozu verilen MT grubunda, K kontrol grubuna göre antioksidan kapasitenin rakamsal olarak arttığı görülmektedir. Bu bulgumuz incelendiğinde *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozunun TAK'yi artırdığı ancak nane tozunun lipid peroksidasyonunu oluşumunu engellemedeki potansiyelinin çok fazla olmadığı ve antioksidan kapasiteyi istatistiksel anlam ifade etmeyen rakamsal anlamda güçlendirdiği görülmektedir. Bu çalışmada çözücü amaçla kullanılan CMC'nin antioksidan aktivitesinin, normal deneme gruplarından daha fazla olduğu görülmektedir. Ancak sadece nane tozu verilerek yapılan çalışmalar olmadığından dolayı, değişik miktarlarda ve farklı *Mentha* çeşidi kullanılarak yapılacak spesifik çalışmalarla antioksidan kapasiteye etkilerinin aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, deney gruplarındaki ratların GSH düzeyleri, K kontrol grubuna göre MT grubu incelendiğinde, istatistiksel anlamlılıkta arttığı görülmektedir. Glutasyon üzerine *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozunun diğer ekstrele göre daha etkin olduğu gözlemlenmiştir ve *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozunun oksidatif stresi azaltabileceği düşünülmektedir. *Mentha Spicata L.*'nin dieterli ekstre uygulanan MD grupta, negatif kontrol (CMC) grubuna göre bir düşüş saptanmıştır.

Tezimizde A vitamini ve β -karoten düzeyleri üzerinde nane kuru tozunun ve ekstrelerinin ilavesinin etkisi olmuyor gibi görünse de, β -karoten düzeylerinin istatistiksel anlam taşımaya da deneme gruplarından MD grubunda diğer gruplara

göre artmış olması dikkat çekici bir sonuç olarak gözlemlenmiştir. MD grubunda β -karoten düzeyinde görülen bu artış dietil eterli grubun antioksidan sistemi güçlendirdiğinin bir göstergesi olabileceği ve dietil eterli, sulu ve kuru tozunun farklı miktarlarında yapılacak çalışmaların yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular daha önceki çalışmalardan farklı olarak SOD ve KAT düzeylerinde istatistiksel anlamda bir değişiklik meydana getirmemiştir. Deneme gruplarındaki KAT düzeylerinde, kontrol gruplarına göre belirgin bir artış olmamasına rağmen, *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi verilen MS grubunda, kontrol grubunu geçen düzeyde bir artış saptanmıştır. Rasyona mentha ekstraktlarının eklenmesiyle deneme gruplarındaki SOD düzeyleri kontrol gruplarına göre belirgin bir değişikliğe sebep olmamasının süperoksit radikalının birikimi sonucu olduğu düşünülmüştür. Daha çok oksidatif stres oluşumunun arttırıldığı durumlarda hem katalazın hem de süperoksid dismutaz enzim aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda ilaç veya radyasyonla indüklenen bir oksidatif stres bulunmadığından enzim seviyelerinde yükselme görülmemesi bu durumla ilişkilendirilebilir. Süperoksid dismutaz ve katalaz düzeylerinde istatistiksel anlamda bir değişiklik meydana gelmemesine rağmen, *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozunun antioksidan kapasiteyi istatistiksel anlam ifade etmeyen rakamsal anlamda güçlendirmiş olması çalışmamız açısından olumlu kabul edilebilir.

Çalışmamızda, GPx düzeylerinde MT deneme grubunda K kontrol grubuna göre bir artış saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. Kontrol grubu CMC grubunda ise GPx düzeyinde belirgin bir düşüş görülmüştür. Kontrol grubu CMC grubuna göre MD grubunda artış olmakla birlikte bu oran istatistiksel anlam ifade etmemektedir. Hücrel savunma elemanlarından glutatyon peroksidaz aktivitesinde görülen artışın GPx 'ın düşük konsantrasyonlarda bile H_2O_2 ' ye daha yüksek afinite gösterdiğinin bir kanıtı ayrıca KAT ve SOD düzeylerinde istatistiksel anlamda artış görülmemesine rağmen MT ve MD gruplarında GPx 'ın artışının oksidan strese karşı en etkili antioksidanlardan biri olduğunun ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki yaptığının da bir göstergesidir. Ayrıca deneyimizde antioksidan hücrel savunma elemanlarından glutatyon peroksidaz ve

süperoksid dismutaz enzimlerinin düzeyinin düşük olması kan düzeyinde antioksidan savunma sisteminin aşılmış olabileceğini de ortaya koymaktadır.

Deneme gruplarında glutatyon redüktaz düzeylerinde kontrol gruplarına göre istatistiksel anlam ifade eden bir artış saptanmamıştır. Ancak MS, MD deneme gruplarında ve özellikle rasyona *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozu uygulanan MT deneme grubunda glutatyon redüktaz düzeylerinde kontrol gruplarına göre rakamsal bir artış olduğu gözlenmiş ve antioksidan sistemi az da olsa güçlendirdiğinin göstergesi olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda antioksidan hücresel savunma elemanlarından glutatyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz enzimlerinde olduğu gibi glutatyon redüktaz enzim düzeyinin de düşük olması, serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin aşılmış olabileceğini göstermektedir. Özellikle rasyona *Mentha Spicata L.* kuru tozu uygulanan MT deneme grubunda GR düzeylerinde kontrol gruplarına göre istatistiki anlam ifade etmese de artış olması, bizim çalışmamız açısından olumlu kabul edilebilir.

Çalışmamızda MT deneme grubunda vitamin C düzeylerinde K kontrol grubuna göre bir artış saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. İnsanlarda dışardan takviye edilmesi gereken bir vitamin olan C vitamininin etkisinin *Mentha Spicata L.*'nin kuru tozu ile rakamsal düzeyde arttırılmış olması bizim çalışmamız açısından dikkat çekici bir sonuçtur. Askorbik asidin fenolik antioksidanlar için çok kuvvetli sinerjik bir antioksidan etkiye sahip olması dolayısıyla diğer antioksidan enzimlerde belirgin bir artış olmaması, dolayısıyla C vitamininin sinerjizm gösterememesi olarak düşünülmüştür. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, vitamin C'nin serbest radikalleri ortamdaki temizlemede sulu ve dietil eterli ekstralarının çok etkili olmadığını göstermektedir.

Mentha Spicata L.'nin kuru tozu ve ekstralarının rasyona katılmasının hayvan yemine besleyici özellik katabileceği, ancak membran lipidlerine, proteinlere ve DNA'ya vereceği doğal oksidasyon reaksiyonlarının zararlı etkilerine karşı koruyucu etki sağlayamayacağı dolayısıyla antioksidan güce etkisinin az olduğu düşünülerek,

aromatik bitkilerin canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine olan etkileri göz önüne alındığında daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Mentha Spicata L.'nin kuru tozu ile ilgili yapılan çalışmalara rastlanmamış olması dikkat çekici olup toksik oksijen radikallerinin inaktivasyonu ve fenolik antioksidanların etkisinin artırılmasını ön plana çıkaracak, *Mentha* nın değişik tür ve farklı miktarları ve uygulama sürelerinde elde edilecek sonuçların karşılaştırılarak parametre artırılıp yapılacak çalışmalarla, daha net yorumlar yapılabilecek veriler elde edilecek ve lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerine karşı *Mentha*'nın koruyucu olduğuna yönelik diğer çalışmalara destek sağlayacaktır.

Yaygın olarak hastalıkların tedavisinde kullanılan, bilinen en eski kültür ve tıbbi bitki olan, insan, pet ve çiftlik hayvanlarının beslenmesi açısından doğal gıda katkı maddesi özelliği taşıyan *Mentha* 'ın, yapılan bu çalışma ile nanenin tüm bilinen etkilerinin yanında antioksidan aktivitesinin tüm ayrıntılarıyla açığa çıkarabilecek , bitkisel kökenli doğal antioksidanların kullanımına ve hem insan hem de hayvan sağlığını korumada ve yeni rasyonların geliştirilmesinde yapılan çalışmalara destek olabileceği, ayrıca serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu durumlarda fitokimyasal ve yardımcı tedavi desteği olarak katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Ratlara Farklı Çözücülerde Hazırlanarak Verilen *Mentha Spicata Lamiaceae* Nane Ekstreleri İle Kuru Tozunun Kanda, β -karoten, A, C Vitaminleri, Katalaz, Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon Redüktaz, Malondialdehid, Superoksid Dismutaz Enzimleri ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Mentha spicata (peppermint), *Labiatae* familyasına ait bir bitkidir. İştah azalması, soğuk algınlığı, bronşit, sinüzit, ateş, mide bulantısı, kusma ve hazımsızlıkta kullanılan bitkisel bir ajandır. Flavonoid içerikli bitkilerin özellikle antioksidan etkileri yıllardır araştırılıyor olmasına karşın, kuru nane tozu ile birlikte enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar ile vitaminler arasındaki etkileşimleri ele alan çalışmalar yok denecek kadar azdır.

Bu tez, *Mentha spicata*'nın bazı biyokimyasal parametrelere etkilerini ve antioksidan aktivitesini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmamız 55 adet 2–3 aylık erkek Sprague-Dawley sıçanlardan oluşan ikisi kontrol, üçü deneme olmak üzere toplam 5 grupta yapılmıştır. Pozitif kontrol grubuna (K) standart rat yemi, negatif kontrol grubuna standart rat yemi ile 1ml %0,5lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC)(gavajla); *Mentha Spicata L.* sulu ekstreli gruba (MS), standart rat yemi ve 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi (gavajla); *Mentha Spicata L.* dietileterli ekstreli gruba (MD), standart rat yemi ile 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha Spicata L.*'nin dietileterli ekstresi ve 1ml %0,5lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC)(gavajla) ; *Mentha Spicata L.* kuru tozu verilen gruba (MT) ise: 200 ppm *Mentha Spicata L.* kuru tozu standart rat yeminin içine karıştırılarak verilmiştir. İçme suları devamlı hazır bulundurulmuştur.

Çalışmamızda, deney gruplarındaki ratların beden ağırlıkları, özellikle deneme süresinin 14. gününden sonra MT ve MD grupları dışındaki tüm gruplarda azaldığı izlenmiştir. Oksidatif stres tablosu göstergelerinden MDA düzeylerinde K kontrol

grubuna göre MS deneme grubunda, istatistiksel olarak anlamlı bir azalma elde edilmiştir. Negatif kontrol grubu olan CMC grubu MDA düzeyleri anlamlı bir düşüş sergilemiştir. Bu düşüş CMC nin antioksidan özellik sergilemiş olabileceğini akla getirmektedir. MT grubunda ise istatistiksel anlam ifade etmeyen bir azalma görülmüştür. *M. Spicata dietil eter* ekstresi verilen MD grubunda ratların MDA düzeylerinde, CMC kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılıkta artış görülmektedir. Ayrıca MD grubunda da MDA ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu artmıştır.

Deney gruplarındaki ratların antioksidan aktivite düzeyleri incelendiğinde CMC li kontrol grubuna göre MD grubunda antioksidan kapasite düzeyinin istatistiki olarak azaldığı, nane tozu verilen MT grubunda, K kontrol grubuna göre antioksidan kapasitenin rakamsal olarak arttığı görülmektedir. Çalışmamızda, deney gruplarındaki ratların GSH düzeyleri incelendiğinde MT grubunda K kontrol grubuna göre GSH nin istatistiksel anlamlılıkta arttığı görülmektedir. MD grupta, negatif kontrol (CMC) grubuna göre bir düşüş saptanmıştır. Gruplar arasındaki GSH düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir ($p=0,001$).

Tezimizde A vitamini ve β -karoten düzeyleri üzerinde nane kuru tozunun ve ekstrelerinin ilavesinin etkisi olmuyor gibi görünse de, β -karoten düzeylerinin istatistiksel olmasa da deneme gruplarından MD grubunda diğer gruplara göre artmış olması dikkat çekici bir sonuç olarak gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular daha önceki çalışmalardan farklı olarak SOD ve KAT düzeylerinde istatistiksel anlamda bir değişiklik meydana getirmemiştir. Deneme gruplarındaki KAT düzeylerinde, kontrol gruplarına göre belirgin bir artış olmamasına rağmen, *Mentha Spicata L.* sulu ekstresi verilen MS grubunda, kontrol grubunu geçen düzeyde bir artış saptanmıştır.

Çalışmamızda, MT deneme grubundaki GPx düzeylerinde, K kontrol grubuna göre bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış istatistiksel açıdan önemli değildir. Deneme gruplarında glutatyon redüktaz düzeylerinde kontrol gruplarına göre istatistiksel anlam ifade eden bir artış saptanmamıştır. Çalışmamızda MT deneme grubunda

vitamin C düzeylerinde K kontrol grubuna göre bir artış saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir

Mentha Spicata L.'nin kuru tozu ile ilgili yapılan literatürlere rastlanmamış olması dikkat çekici olup toksik oksijen radikallerinin inaktivasyonu ve fenolik antioksidanların etkisinin artırılmasını ön plana çıkaracak, *Mentha Spicata L.* nin kuru tozunun farklı miktarları ile parametre artırılıp yapılacak çalışmalar, lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerine karşı koruyucu olduğuna yönelik diğer çalışmalara destek sağlayacaktır.

Yapılan bu çalışma ile bitkisel kökenli doğal antioksidanların kullanımına ve nanenin tüm bilinen etkilerinin yanında antioksidan aktivitesinin tüm ayrıntılarıyla açığa çıkarabilecek, insan, pet ve çiftlik hayvanlarının beslenmesi açısından doğal gıda katkı maddesi özelliği taşıyan *Mentha* 'ın, hem insan hem de hayvan sağlığını korumada ve yeni rasyonların geliştirilmesinde yapılan çalışmalara destek olabileceği, ayrıca serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu durumlarda fitokimyasal ve yardımcı tedavi desteği olarak katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Mentha Spicata L.* , β -karoten, Vitamin A, Vitamin C, Katalaz, Glutatyon Peroksidaz, Glutatyon Redüktaz, Malondialdehid, Süperoksid Dismutaz, Antioksidan

SUMMARY

Investigation of The Effects of *Mentha Spicata Lamiaceae* Mentha Extracts Prepared In Different Solvents Given to Rats With Dry Powder on Blood, β -Carotene, A,C Vitamins, Catalase, Glutathione Peroxidase, Glutathione Reductase, Malondialdehyde, Superoxide Dismutase Enzymes and Total Anti-Oxidant Capacity

The plant *Mentha spicata*, or *peppermint*, is member of the *Labiatae* family, commonly used in the treatment of loss of appetite, common cold, bronchitis, sinusitis, fever, nausea and vomiting, and indigestion as a herbal agent. Although anti-oxidant effects of flavonoid containing plants have been investigated largely, studies in their interactions with enzymatic and nonenzymatic antioxidants and vitamins together with dead mentha powder are rare.

The present thesis was carried out to investigate the effects of certain biochemical parameters *and Mentha spicata*, on anti-oxidant levels. Our study was carried out on 55 Sprague- Dawley rats, aged 2-3-months-old divided into 5 groups as 2 control and 3 experimental groups. While positive control group (C) was fed with standard rat diet, negative control group (CMC) was fed with standard rat diet+ 1ml %0,5 sodium carboxymetyl cellulose (CMC); *Mentha spicata* aqueus group (MS) was fed with standard rat diet + 1gr /kg bwt/day *Mentha spicata* aqueus extract gavage, *Mentha spicata* dietyleter group (MD) was fed with standard rat diet + 1gr /kg bwt/day *Mentha spicata* dietyleter extract+ 1ml %0,5 sodium carboxymetyl cellulose (CMC) gavage whereas 200 ppm dead *Mentha spicata* powder group (MT) was fed with standard rat diet + 200 ppm dead *Mentha spicata* powder. Drinking water is constantly ready.

In this study, the profile of body weight was decreased in the experimental groups (except MT and MD) rats compared to the control group especially the 14 trial period days after malondialdehyde level, an oxidative stress parameter was obtained a decrease in statistical significance in MS group rats compared to control

group K. Malondialdehyde level was obtained a increase in statistical significance in MD group rats compared to control group CMC ($p=0,000$). The CMC group, negative control group showed a significant decrease of MDA levels. CMC exhibit antioxidant properties of this decline may have been suggesting. In the MT group showed a increase is not statistical. In addition, the MD group, MDA, and thus increased lipid peroxidation.

As we investigate the level of rats in experimental groups, antioxidant activity decrease significantly in group MD according to group CMC. In the MT group showed a increase is not statistical compared to control group K. As we investigate the level of glutathione rats in study groups, glutathione increase significantly in group MT according to the control group K. MD group, compared to negative control CMC group had a decline. GSH level differences between the groups is statistically significant ($p=0,001$).

Even if it seems that dead mentha powder and extracts are not effective on Vitamin A and the level of β -carotene, it draws attention that the level of β -carotene increases in the group MD according to the other groups. In our study according to the findings, there is not any significant difference in the level of superoxide dismutase and catalase contrast to the other studies. Although, there is not any increase in the level of catalase in experimental groups according to control groups, it is observed that there is significant increase observed in the control group in a group given *Mentha Spicata* aqueus extract.

In our study, it is observed that there is increase in the level of glutathione peroxidase in the experimental group MT according to the control group K. This increase is not significantly statistically. It is observed that there is not significant increase in the level of glutathione reductase in experimental groups according to the control groups. In our study, MT levels of vitamin C in the experiment group than the control group K was detected, but statistical significance was observed an increase

Not finding any studies about *Mentha Spicata* powder in literature review is remarkable and the studies featuring the increase of the effect of toxic oxygen radicals' inactivation and fenolic antioxdants and studies featuring to increase the parametric with the different level of *Mentha Spicata* powder will contribute to the other studies featuring the protection against harmful effects of lipid peroxidation.

It is thought that this study will contribute to the usage of herbal anti-oxidant and studies featuring the all details of antioxidant besides the all effects of mentha. As an herbal food additive *Mentha* is important for protecting human and animal health in terms of feeding domestic animals and livestock. It is thought that *Mentha Spicata* powder may be support new studies in the developing new ration. It is thought that in the situation where production of free radicals increase and antioxidant defense mechanisms are inadequate, *Mentha* vill contribute as an auxiliary treatment of cases phytochemical support.

Key words: *Mentha Spicata L.*, β -Carotene, Vitamin A, Vitamin C, Catalase, Glutathione, Glutathione Peroxidase, Glutathione Reductase, Malondialdehyde, Superoxide Dismutase, Anti-Oxidant

KAYNAKLAR

- AKDOĞAN, M., KILINÇ, İ., ÖNCÜ, M., KARAÖZ, E., DELİBAŞ, N. (2003). Investigation of Biochemical and Histopathological Effects of *Mentha Piperita* Labiatae and *Mentha Spicata* Labiatae on Kidney Tissue in Rats. *Human & Experimental Toxicology*. 22: 213–219.
- AKDOĞAN, M., ÖZGÜNER, M., AYDIN G., GÖKALP, O. (2004). Investigation of Biochemical and Histopathological Effects of *Mentha piperita* Labiatae and *Mentha spicata* Labiatae on Liver Tissue in Rats. *Human & Experimental Toxicology*. 23: 21 -28.
- AKDOĞAN, M., GÜLTEKİN, F., YÖNTEM, M. (2004). Effect of *Mentha piperita* (Labiatae) and *Mentha spicata* (Labiatae) on Iron Absorption in Rats. *Toxicology and Industrial Health*; 20: 119–122.
- AKKUŞ İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Basım. Mimoza Yayınları. Konya.
- AKPOYRAZ, M., DURAK, İ. (1995). Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri. *Ankara Tıp Mecmuası*, 48: 253–262.
- AKSOY, Y. (2002). Antioksidan Mekanizmada Glutasyonun Rolü. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22: 442–448.
- AKTAŞ, M., DEĞİRMENCİ, U., ERCAN, S., TAMER, L., ATİK, U. (2005). The Comparison of Spectrophotometric and HPLC Methods in Reduced Glutathione Measurements. *Türkiye Klinik Biyokimya Dergisi*, 3(3): 95–99.
- ALÇİÇEK, A., BOZKURT, M. and ÇABUK, M. (2003). The effect of essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *South Afr. J of Anim. Sci.* 33(2): 89-94.
- ALTAN, N., DİNÇEL, A., KOCA, C. (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi* [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem]; 31 (2); 51–56.
- ALTINIŞIK, M. (2001). Serbest Oksijen Radikalleri Ve Antioksidanlar 2000–2001 Eğitim-Öğretim Sunuları Biyokimya anabilim dalı semineri. Erişim: [http://www.mustafaaltinisik.org.uk/sunularim.htm
http://www.mustafaaltinisik.org.uk/s-oa-HeksozmonofosfatYolu.ppt] Erişim Tarihi: 23.07.2009

- ALTIOK, D., ALTIOK, E., BAYRAKTAR, O. (2006). Bazı Baharatın Antioksidan Kapasiteleri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*; 24–26 Mayıs 2006, Bolu.
- ALTUNTAŞ, İ. (2007). Otoimmün Tiroid Hastalığının Tanı ve Takibinde Oksidatif DNA Hasar Belirleyicisi 8-OHdG'nin Önemi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- ARLAP. Malondialdehit Analizi. Erişim: [web.deu.edu.tr/arlalab/arlalab/calisma/protokoller/mda.pdf] Erişim Tarihi: 23.08.2009.
- ARUOMA, O.I., HALLIWELL, B., DİZDAROĞLU, M. (1989a). Iron Ion-Dependent Modification of Bases in DNA by the Superoxide Radical-Generating System Hypoxanthine/Xanthine Oxidase. *J. Biol. Chem.* 264, 13024–13028.
- ARUOMA, O.I., HALLIWELL B., GAJEWSKI, E., DİZDAROĞLU, M. (1989b). Damage to The Bases in DNA Induced by Hydrogen Peroxide and Ferric Ion Chelates *J. Biol. Che.:* 264, 20509–20512.
- ARZANI, A., ZEINALI, H., RAZMJO, K. (2007). Iron and Magnesium Concentrations of Mint Accessions (*Mentha* spp.) Plant Physiology and Biochemistry. 45: 323–329.
- BAŞER, K. H. C. (2002). Fonksiyonel Gıdalar ve Nutrasötikler. *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*. 29–31 Mayıs 2002. Özet Kitabı. Eskişehir.
- BAYŞU SÖZBİLİR , N., BAYŞU, N. (2008). Biyokimya, Güneş Tıp Kitapevleri, 1. Baskı. Ankara.
- BEUTLER E, DURON O, KELLY B.M. Improved Method For The Determination of Blood Glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882–90.
- BRAUGHLER, J.M., CHASE, R.L., PREGENZER, J.F. (1987). Oxidation of Ferrous Iron During Peroxidation of Lipid Substrates. *Biochim Biophys Acta.* 17; 921(3):457-64.
- BRENT J.A., RUMACK, B.H., (1993) Role of Free Radicals in Toxic Hepatic Injury. I. Free Radical Biochemistry. *J Toxicol Clin Toxicol.*; 31(1):139-71.
- BURÇAK, G., ANDİCAN, G. (2004). Oksidatif DNA Hasarı ve Yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 35(4):159–169.
- BURTON, G. W. (1989). Antioxidant Action of Carotenoids. *The Journal Of Nutrition.* 119 (1):109-11

- CANBOLANT, S. (2006). Geçirilmiş Miyokard İnfarktüslerinde Ürik Asit Seviyeleri. Uzmanlık Tezi. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul.
- CAPECKA, E., MARECZEK, A., LEJA, M. (2005). Antioxidant Activity of Fresh and Dry Herbs of Some Lamiaceae Species. *Food Chemistry*. 93: 223–226.
- CARLBERG, I., MANNERVİK, B. (1985). Glutathione Reductase. *Method Enzymol*. 113: 484–90.
- CAYMAN CHEMICAL COMPANY (2006a). Glutathione Peroxidase Assay Kit. Catalog No: 703102. 1180 E.Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108. Printed in U.S.A. 1–20.
- CAYMAN CHEMICAL COMPANY (2006b). Glutathione Reductase Assay Kit. Catalog No: 703202. 1180 E.Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108. Printed in U.S.A. 1–22.
- CHING S, INGRAM D, HAHNEL R, BEILBY J, ROSSI E. (2002). Serum levels of micronutrients, antioxidants and total antioxidant status predict risk of breast cancer in a case control study. *J Nutr*. 132: 303–306.
- ÇAKATAY, U., KAYALI, R. (2004). Protein Oksidasyonunun Klinik Önemi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 35(3):140–149.
- ÇAVDAR, C., SİFİL, A., ÇAMSARI, T. (1997). Hastalıkların Patogenez ve Tedavisinde Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidanlar. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*. 3–4: 96–101.
- ÇELİK H., (2005). Malarya (Sıtma) Hastalarında Oksidatif stres ve Mononükleer Lenfosit DNA Hasarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa.
- ÇİMEN, Ç., ÖTER, Ç., DEMİR, H., SAVRAN, A. (2005). Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu Ve Kinetiğinin İncelenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg*. 16 (1): 15–20.
- ÇOLAKOĞLU, N., OZAN, E., SÖNMEZ, M.F., YILMAZ, S., OZAN, G. (2005). Sigaranın Karaciğerde Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler Üzerine Melatonin ve C Vitamininin Etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*. 10(3): 108–112.
- DEBELEÇ-BÜTÜNER, B., KATRANCI, G. (2006). Mutasyon, DNA Hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kansere İlişkisi. *J. Fac. Pharm*. 35(2) 149–170.

- DEMİRAYAK, I.D. (2007). Egzersiz Yapan Sıçanlarda Oksidatif Stres ve Paraoksonaz Enzimi. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- DEMİREZER, Ö. L. (2007). Tedavide Kullanılan Bitkiler “FFD Monografı” NM Medikal, Nobel Tıp Kitap Sarayı,1. Baskı, Ankara.
- DEMİRYÜREK, Ş., TURAN, N., DEMİRYÜREK, A. T. (2004). Peroksinitritin Akciğerlerdeki Etkileri ve Akciğer Hastalıklarındaki Rolü. *Genel Tıp Dergisi*. 14(4): 163–169.
- DENİZ, B., ŞERMET, A., TÜMER, C., KOÇYIĞIT, Y.,TAŞDEMİR, N.,ATMACA, M., KELLE, M.(2004). Geçici Serebral İskemide Antioksidan Savunma Sistemindeki Değişiklikler E ve C Vitaminlerinin Koruyucu Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi*. 31(3): 29–36.
- DİNÇER, Y., SAYGILI, İ., AKÇAY, T. (2003). Sigaranın DNA Hasarı ve Kan Glutasyon Düzeyi Üzerine Etkisi. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003, 23: 108–111.
- DİSİLVESTRO, RA. (2001). Flavonoids as Antioxidants. p:127-138. In: Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods, Edit.: R.E.C. Wildman, CRC Press, ISBN: 0 8493 8734 5, USA.
- DİZDAROĞLU, M. (1991). Chemical Determination of Free Radical-induced Damage to DNA. *Free Radic. Biol. Med.* 10: 225–242.
- DJOUVINOV, D., PAVLOV, D., ILCHEV, A. AND ENEV, E. (1997). Peppermint (*Mentha Piperita* Huds) and Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Etheric Oil By-Products as Roughages for Sheep Feeding. *Anim. Feed Sci. Tech.* 68: 287–294.
- DRAPER H. H., HADLEY M., (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186: 421–30.
- DÜNDAR Y. (2001). Fitokimyasallar ve Sağlıklı Yaşam. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2: 131–138.
- DÜNDAR Y., ASLAN R. (2000). Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. Uyum Ajans Ankara, 1. Basım.
- EKİM, T. (1998). Endemik Miras. *Yeşil Atlas*, Sayı:1:2.
- EKİNCİ, M. (2006). Bronşiyal Astımlı Çocuklarda Glutasyon-S-Transferaz Gen Polimorfizminin Bir Risk Faktörü Olarak Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul.

EL , S., N. (2008) Türkiye’de Sıklıkla Tüketilen Bazı Gıdaların Toplam Fenolik Madde İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum

ERDEMİR, A. (1999). Nane İlacının Osmanlı Türk Tıbbındaki Yeri ve Bazı Orijinal Belgeler. *13. Türk Tarih Kongresi. Kongre Özet Kitabı.* sy: 1–7. Ankara.

ERDEN, M. (1992). Serbest Radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri.* 12: 201–207.

ERYİĞİT, F. (2006). Mentha Pulegium L. ve Salvia Tomentosa Miller Bitkilerinin Metanol Özütlerinin In Vitro Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.

FİDAN F.A.(2007) Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyete Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu ve Lipid Peroksidasyonu İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

FİDAN, F.A., ENGİNAR, H., CİĞERCİ, I.H., KORCAN, S.E., ÖZDEMİR, A. (2008). The Radioprotective Potential of Spinacia Oleracea and Aesculuc Hippocastanum Against Ionizing Radiation with Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. *Journal of Animal and Veterinary Advances.* 7 (12): 1528–1536.

FRANCIS G., KEREM Z., MAKKAR H.P.S., BECKER K. (2002). The Biological Action Of Saponins In Animal Systems. *Br. J.Nutr.* 88: 587–605.

FREEMAN, B.A., CRAPO, J.D. (1984). Biology of Disease: Free Radicals and Tissue Injury. *Lab Invest.* 47(5): 412–26.

FUX, C. A., STOODLEY, P., HALL-STOODLEY, L., COSTERTON, J.W. (2003). Bacterial biofilms: A diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 1: 667–683.

GEORGE, L. C. (1983). Simultaneous Determination Of Retinol And Alphotocopherol in Serum or Plasma by Liquid Chromatography. *J. Clin. Chem.* 29(4): 708–712.

GÜLER, T., ÇELEBİ, N., SÜRER, H., YILMAZ, M. F., GÜLER, S., ŞİPİT, T., DURANAY, M., YÜCEL, D. (2004). Pulmoner Tüberkülozlu Hastalarda Serum Total Antioksidan Kapasite Türkiye Klinikleri J Med Sci 2004, 24:618-623

- GÜLLÜCE, M., ŞAHİN, F., SOMKEN, M., ÖZER, H., DAFERERA D., SOMKEN, A., POLISSIOU, M., ADIGUZEL, A., OZKAN, H. (2007). Antimicrobial and Antioxidant Properties Of The Essential Oils and Methanol Extract From *Mentha Longifolia* L. Ssp. *Longifolia*. *Food Chemistry*. 103: 1449–1456.
- GÜNEY M., ORAL B., KARAHANLI N., MUNGAN T., AKDOGAN M.. (2006). The Effect Of *Mentha Spicata* Labiatae On Uterine Tissue İn Rats. *Toxicology and Industrial Health*. 22(8): 343–348.
- GÜRBÜZ, D.G. (2008). Demir Eksikliği Anemisinde İntravenöz demir Tedavisinin Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul.
- GÜZEL, E.Ç. (2007). Hipertiroidili Hastalarda Vitamin E Düzeyleri, Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim Araştırma Hastanesi. İstanbul.
- HALLIWELL, B. (2007). Flavonoids: A Re-run of The Carotenoids Story? Dietary supplements and health. Wiley, *Chichester*. *Novartis Foundation Symposium* 282. sy. 93–104.
- HALLIWELL, B., DİZDAROĞLU, M. (1992). The Measurement of Oxidative Damage to DNA by HPLC and GC/MS Techniques. *Free Radical Res Commun*. 16:75–87.
- HARRIS, E. D. (1992). Regulation of Antioxidant Enzymes. *Faseb Jour*. 6: 2675–2683.
- JAMROZ, D., KAMEL, C. (2002). Plant Extracts Enhance Broiler Performance. In Non Ruminant Nutrition: Antimicrobial Agents And Plant Extracts on Immunity, Health And Performance. *J. Anim. Sci*. 80: 41-42.
- JORENO D.R. (1990). Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid Reactivity as Perostic İndices of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissue İnjury *Free Rad Biol Res*. 9: 515–540.
- KANAT, S.R., CHANDER, R., SHARMA, A. (2008). Chitosan And Mint Mixture: A New Perservative For Meat And Meat Product. *Food Chemistry*. 107: 845–852.
- KARABACAK, Ç. (2007). Bazı *Scutellaria Orientalis* Türlerinin İçerisindeki Ekstraktif Bileşiklerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.

- KARABULUT, A., ÖZEROL, E. (2002). Yaş ve Sigara İçiminin Eritrosit Katalaz Aktivitesi ve Bazı Hematolojik Parametreler Üzerine Etkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 9(2): 85–88.
- KARABULUT-BULAN Ö., KOYUTÜRK, M., BOLKENT, Ş., YANARDAĞ, R., TABAKOĞLU, A. (2004). Sıçan Tiroid Bezinde Kadmiyum Hasarına Karşı C Vitamini, E Vitamini Ve Selenyumun Kombine Kullanımının Etkileri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 35 (4):174–180.
- KARADOĞAN, T. (2003). Göller Yöresinde Lamiaceae Familyasına Dahil Bitki Türlerinin Tespiti ve Tıbbi ve Aromatik Değerlerinin Belirlenmesi. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu.
- KARATAŞ, F., AŞKIN, U., HALİFEOĞLU, İ., DÖNDER, E. (2006). Guatrlı Hastalarda Antioksidan Vitaminler (A, E Vec), Selenyum ve Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeylerinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Dergisi*. 20(4): 277–280.
- KAVAS, G. (1989). Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri*. 9(1): 1–7.
- KAYAALP S. O. (2002).Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. (10th Edition), Hacettepe Taş Kitabevi, Ankara.
- KILINÇ K., KILINÇ A. (2002). Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 33(2): 110–118.
- KOLAYLI, S., SİVRİKAYA, A., KÜÇÜK, M., KARAHALİ, F. (2007). Peroksinitritin Katalaz İnhibisyonu. *21. Ulusal Kimya Kongresi*. 23–27 Ağustos 2007. Malatya.
- KONAR, V., ÇİÇEK, M. B., SANDAL, S., HALİFEOĞLU, İ. (2003). Sıçanlarda Östrüs Siklusunun Farklı Evrelerinde Kan Serumunda Vitamin-A, E, C, B-Karoten, Çinko Ve Selenyum Düzeyleri. *F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 15(3): 315–320.
- KONUĞOĞLU, D., AKÇAY, T. (1995). Glutasyon Metabolizması ve Klinik Önemi. *T Klin Tıp Bilimleri*. 15: 214–218.
- KORACEVIĆ, D., KORACEVIĆ, G., DJORDJEVIĆ, V., ANDREJEVIĆ, S., COSIC, V. (2001) Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol*. 54: 356–361.

- KUMAR, A., SAMARTH, R. M., YASMEEN, M., SHARMA, A., SUGAHARA, T., TERADO, T., KİMUR, H. (2004). Anticancer and Radioprotective Potentials of *Mentha Piperita*. *Biofactors*. 22: 87–91
- KUMAR, V., KURAL, R. M., PEREIRA, B. M. J., ROY, P. (2008). Spearmint Induced Hypothalamic Oxidative Stress And Testicular Anti-Androgenicity in Male Rats – Altered Levels of Gene Expression, Enzymes And Hormones, *Food and Chemical Toxicology*. 46: 3563–3570.
- KUNDAK, A., ERBAŞ, H., GÜLEN, Ş., DÖKMECİ, G., ÇELİK, H., ÖZCAN, T. (2007). C ve E Vitaminlerinin, Kronik Olarak Alkolle Beslenen Sıçanlarda Beyin Dokusu Arjinaz Aktivitesi, Ornitin ve Üre Düzeylerine Etkileri. *Trakya Tıp Dergisi*. 24(1): 49–55.
- KWAY A. (1978) A Simple Colorimetric Method For Ascorbic Acid Determination In Blood Plasma. *Clin Chim Acta* ; 16: 151-157.
- LANGHOUT, P. (2000). New additives for broiler chickens. *World Poultry-Elsevier*. 16(3): 22–27.
- LEWIS, K. (2001). Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 45: 999–1007.
- LOGANI, M. K., DAVIES, R. E. (1980). Lipid Oxidation: Biologic Effects and Antioxidants-a review. *Lipids*. 15(6): 485–95.
- LUCK H. (1955). Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods in Analysis*. Academy Pres. London.
- MANDAL, L., BISWAS, T. AND SARKAR, S. K. (2000). Broiler performs well on herbs or enzymes in maize diet. *World Poultry-Elsevier*. 16(5): 19–21.
- McCARTNEY, E. (2002). The natural empire strikes back. *Poult. International*. 41(1): 36-42.
- MEMİŞOĞULLARI, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*. 3: 30–39.
- MURRAY, R. K., GRANER, D. K., MAYES, P. A., RODWELL, V. W. (1998). Harper'ın Biyokimyası (çev. Dikme, N, Özgünen, T.). Barış Kitabevi. 24. Baskı. İstanbul.
- MÜFTÜOĞLU, M. (2003). DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem]*. 28 (1): 20–24.

- NALÇACI, E. (1994). Evrim ve Yaşlanma Sürecinde Antioksidan Savunma. *Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of The Faculty of Medicine)*. 47: 465–474.
- NIKI, E. (1987). Antioxidants in Relation to Lipid Peroxidation. *Chem Phys Lipids*. 44(2–4): 227–53.
- OĞUL, Y.T. (2006). Romatoid Artritli Hastalarda Antioksidan Tablo ve Eritrosit Membran Na⁺/K⁺ ATPaz Aktivitesinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi. Erzurum.
- ÖZBEK, H., KÖSEM, M., ERDOĞAN, E., BAYRAM, İ., DURMUŞ, A., DİLEK, İ. (2003). Karboplatine Bağlı Organ Toksisitelerinde Pentoksifilin, C Vitamini ve E Vitamininin Etkisi. *Ege Tıp Dergisi*. 42 (3):143-148.
- ÖZDAMAR K. (2003). SPSS ile Biyoistatistik. Kaan Kitabevi. Eskişehir.
- ÖZEL, Y. (2006). Ratlarda Karaciğer İskemi/Reperfuzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul.
- ÖZKAN, M., YÜKSEKOL, İ. (2003). Nitrik Oksit ve Akciğerler. *Türk Toraks Dergisi*: 4(1): 88–94.
- ÖZKANLI, F. (2006). Vitaminler. Erişim: [www.farma.hacettepe.edu.tr/akademik/meslekbilimleri/.../vitaminler.pps] Erişim Tarihi: 11.10.2009
- PİNELO, M., RUBİLAR, M., SİNEİRO, J. , NUNEZ, M. J. (2004). Extraction Of Antioxidant Phenolics From Almond Hulls (*Prunus Amygdalus*) And Pine Sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry* 85, 267-273.
- PIETTA, P.G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035–1042.
- REN, S., LIEN E.J. (1997). Natural Products and Their Derivatives as Cancer Chemopreventive Agents. *Progress in Drug Research*. 48: 147–71
- REZNICK, A. Z., CROSS, C. E., HU, M. L., SUZUKİ, Y. J., KHWAJA, S., SAFADİ, A., MOTCHNIK, P. A., PACKER, L., and HALLİWELL, B.(1992). Modification of Plasma Proteins by Cigarette Smoke as Measured by Protein Carbonyl Formation. *Biochem. J.* 286: (607–611).

- REZNICK, A. Z., PACKER, L., SEN, C. K., HOLLOSZY, J. O., JACKSON, M. J. (1998). Oxidative Stress in Skeletal Muscle. Free Radical and Oxidative Damage in Biology and Medicine: (Barry Halliwell). I. Edition. Birkhauser Publisher. London.
- SAKAC, V. , SAKAC, M. (2000). Free Oxygen Radicals and Kidney Diseases--part I. *Med Pregl.* 53(9–10): 463–74.
- SALVAT, A., ANTONNACCI, L., FORTUNATO, R. H., SUAREZ, E.Y., GODOY, H.M. (2001). Screening of some plants from Northern Argentina for their antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology.* 32(5): 293–297.
- SAMARTH R. M. , PANWAR, M., KUMAR, M., KUMAR, A. (2006). Protective Effects of Mentha Piperita Linn on Benzo[a]pyrene-Induced Lung Carcinogenicity and Mutagenicity in Swiss Albino Mice. *Mutagenesis.* 21(1): 61–66
- SAMARTH, R. M. , PANWAR, M., KUMAR, M., KUMAR, A. (2006). Radioprotective Influence Of Mentha Piperita (Linn) Against Gamma Irradiation in Mice: Antioxidant And Radical Scavenging Activity. *Int. J. Radiat. Biol.* 82(5): 331 – 337.
- SAMARTH, R. M., PANWAR, M., KUMAR, M., SONI, A., KUMAR, M., KUMAR, A. (2008). Evaluation of Antioxidant and Radical-Scavenging Activities Of Certain Radioprotective Plant Extracts. *Food Chemistry.* 106: 868–873.
- SAMARTH, R. M. , SAMARTH M. (2009). Protection Against Radiation-Induced Testicular Damage in Swiss Albino Mice By Mentha Piperita (Linn). *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 104(4): 329–34.
- SCHACHTER, B. , (2003). Slimy business-the biotechnology of biofilms. *Nat. Biotechnol.* 21, 361–365.
- SCHEMPPA H. , WEISERB D., KELBER O. (2006). Radical scavenging and anti-inflammatory properties of STW 5 (Iberogast®) and its components. *Phytomedicine.* 13(1): 36–44.
- SCOTT, K., POWERS, K. H. (1999). Antioxidants and Exercise. *Clinics Sports Medicine.* 18(3): 525–536.
- SEN, S., MAKKAR, H. P. S., BECKER, K. (1998). Alfalfa saponins and their implication in animal nutrition. *J.Agric. Food. Chem.* 46: 131–140.

- SHARMA, A., KUMAR, S., KUMAR, M. (2006). Protective Effect of Mentha Piperita Against Arsenic-Induced Toxicity in Liver Of Swiss Albino Mice. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 100(4): 249–257.
- SHARMA, M. K., SHARMA, A. KUMAR, A., KUMAR, M. (2007). Protective Efficacy of Leaves Extract of Mentha Piperita on Sodium Arsenite İnduced Cellular Damage in Mouse. *Toxicology & toxicology Letters* 172S .S71-S72.
- SHI, H. , NOGUCHI, N., NIKI, E. (2001). Intoducing Natural Antioxidants. In Antioxidants in food. Edit.: J Pokorny, N Yanishlieva and M Gordon, CRC Press, USA.
- SHTAYEH, A. , YAGHMOUR, R. M. R., FAIDI, Y. R., KHALID, S., AL-NURI, M. A. (1998). Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in The Palestinian Area. *Journal of Ethnopharmacology*. 60: 265–271.
- STEKEEN, S. (1989). Purine Bases, Nucleosides, and Nucleotides: Aqueous Solution Redox Chemistry and Transformation Reactions of Their Radical Cations and e- and OH Adducts. *Chem. Rev.* 89(3): 503–520.
- SUN, Y., OBERLEY, L. W., Lİ, Y.(1988). A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin Chem.* 34: 497–500.
- SUR, P., CHAUDHURI, T., VEDASIROMONI, J, R., GOMES, A., GANGULY, D. K. (2001). Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea [Camellia sinensis (L) O. Kuntze] root extract. *Phytotherapy Research*. 15(2): 174–176.
- SUZUKI, J. P., KATOH, N. A. (1990). A Simple and Cheap Method for Measuring Serum Vitamin A in Cattle Using Only Spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.* 52: 1281–1283.
- ŞİMŞEK, F. (1999). Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyonu. *Türkiye Klinikleri*. 8: 42–47.
- ŞİMŞEK, I., AYTEKİN, F., YEŞİLADA, E., YILDIRIMLI, Ş. (2002). Anadolu’da Halk Arasında Bitkilerin Kullanılış Amaçları Üzerinde Etnobotanik Bir Çalışma. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Özet Kitabı*. Eskişehir.
- ŞİMŞEK ,Ü. G., GÜLER,T., ÇİFTÇİ, M., ERTAŞ, O.N., DALKILIÇ, B. (2006) Esans Yağ Karışımının (Kekik, Karanfil ve Anason) Broylerlerde Canlı Ağırlık, Karkas ve Etlerin Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi, YYÜ Vet Fak Derg 2005, 16 (2):1-5

- TEKKES, Y. (2006). Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulmuş Farelerde Aspirin ve E Vitamini'nin Dokularda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- TELCİ, İ. (2001). Farklı Nane (*Mentha spp*) Klonlarının Bazı Morfolojik, Tarımsal ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma. Doktora Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- TELLO, S., HALİFEOĞLU, İ. (2008). Meme Kanseri Oluşturulmuş Ratlarda Isırgan Otunun Total Antioksidan Durumu Üzerine Etkisi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 22(4): 179–183.
- TEZ, M., GÖÇMEN, E., KOÇ, M., AKGÜL, H. (2005). Kolektoral Kanserde Oksidatif Stres (Erken Sonuçlar). *Selçuk Tıp Dergisi*. 21: 79–82.
- THOMAS, S., LOWE, J. E., KNOWLES, R. G., GREEN, I. C., GREEN, M. H. (1998). Factors Affecting the DNA Damaging Activity of Superoxide and Nitric Oxide. *Mutat Res*. 402(1–2): 77-84.
- TUCKER, L. (2002). Botanical Broilers: Plant Extracts to Maintain Poultry Performance. *Feed International*. 23(9): 26-29.
- TURNA, G. (2008). Ehrlich Asit Solid Tümör Modeli Oluşturulmuş Farelerde Thymus Sipyaleus Ve Taurinin Karaciğer MDA, Glutasyon, AOPP Düzeylerine ve SOD Aktivitesine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- TÜR L. (2008) Karbon Tetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda *Matricaria Chamomilla L.* nin Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- WETHERILT, H. (2004). Sağlıklı Beslenme, Sağlıklı Yaşam. Lalecan Beslenme Danışmanlık Hizmetleri. Yayın No: 2004-07. s:16.
- YARIKTAŞ, M., DÖNER F., DOĞRU H., AYNALI G., YÖNDEN Z., DELİBAŞ N (2003). Baş-boyun malign tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi:10-(4) 65.67.
- YILMAZ, S., OZAN, S. (2003). Meme Kanseri Hastalarında Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. *Türk Biyokimya Dergisi*. 28 (4): 252–256.

- YOKUŞ, B., ÇAKIR, D. Ü. (2002). Invivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. *T Klin J Med Sci.* 22: 535–543.
- YU, J., AHMEDNA, M. , GOKTEPE, I. (2005). Effects Of Processing Methods And Extraction Solvents On Concentration And Antioxidant Activity Of Peanut Skin Phenolics. *Food Chemistry* 90, 199-206.
- YURDAKUL, Z. (2009). Oksijen ve Canlılar. Erişim: [<http://www.biyokimya.8m.net/oksijen.html>]. Erişim Tarihi: 21.11.2009
- ZAKARIA, Z., AZIZ, R., LACHIMANAN, Y. L., SREENIVASAN, S., RATHINAM, X. (2008). Antioxidant Activity of Coleus Blumei, Orthosiphon Stamineus, Ocimum basilicum and Mentha arvensis from Lamiaceae Family, *International Journal of Natural and Engineering Sciences.* 2(1): 93–95.
- ZİNCİROĞLU. M., KARADAŞ. F., SARICA. Ş. (1998). Etlik Piliç Karma Yemlerinde Enzim Ve Antibiyotiklerin Birlikte Kullanılmalarının Performans Üzerine Etkileri. *V. Ulusal Nükleer Tarım ve Hay. Kong.* 20-22 Ekim 1998. 159-169. KONYA.

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Konya Ereğli’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Konya’da tamamladıktan sonra 1987 yılında başladığı Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden 1993 yılında mezun oldu. İzmir ve Uşak illerinde ve ilçelerinde pratisyen tabiplik yaptıktan sonra Uşak Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü’nde Öğretim Görevliliğine başladı. Halen bu görevini sürdürmektedir. Evli ve 2 çocuk annesidir.