

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ULTRAVİYOLE A IŐIĐİNİN OLUŞTURDUĞU OKSİDATİF
STRESTE
KOENZİM Q₁₀ ve ALFA LİPOİK ASİT' İN
KORUYUCU ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehtap YÜKSEL

Danışman: Prof. Dr. Mine İNAL ERDEN

OCAK-2013

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ULTRAVİYOLE A IŐIĐİNİN OLUŞTURDUĞU OKSİDATİF STRESTE
KOENZİM Q₁₀ ve ALFA LİPOİK ASİT' İN
KORUYUCU ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehtap YÜKSEL

Danışman: Prof. Dr. Mine İNAL ERDEN

OCAK-2013

KABUL VE ONAY SAYFASI

Yüksek Lisans Öğrencisi Mehtap YÜKSEL'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Ultraviyole A (UVA) Işığının Oluşturduğu Oksidatif Streste Koenzim Q₁₀ ve Alfa Lipoik Asit'in Koruyucu Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih 03.01.2013

Üye : Prof.Dr. Özkan ALATAŞ

Üye : Prof.Dr. Mine Erden İNAL (Tez Danışmanı)

Üye : Prof.Dr. Ömer ÇOLAK

Üye : Prof Dr. Güngör KANBAK

Üye : Prof.Dr.Hasan Veysi GÜNEŞ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03/01./2013 tarih ve 940./4367... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR
Sağlık Bil. Enst. Müdürü

ÖZET

UVA ışınlarına maruz kalan hücrelerde oluşan reaktif oksijen ürünleri (ROS) lipid, protein ve nükleik asitlerde hasar oluşturabilirler. Antioksidanlar bu hasardan koruma ve iyileştirmede yararlı olabilirler. Bu çalışmada UVA ışınına maruz bıraktığımız sıçanların deri, kan ve karaciğerinde MDA, GSH ve KAT düzeylerini tespit ederken diğer yandan da bu parametreler üzerinde CoQ₁₀ ve ALA'nın etkisini inceledik. Bunun için sıçanlar kontrol, UVA, UVA+mısır yağı, UVA+CoQ₁₀, UVA+ALA ve UVA+CoQ₁₀+ALA olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Sıçanlara UVA ışını 12 gün 20W/cm² dozunda 4 saat boyunca uygulandı. Enjeksiyonda kullanılan maddeler ışınlama başlamadan 1.5 saat önce verildi. UVA+mısır yağı grubuna mısır yağı, UVA+CoQ₁₀ grubuna 1mg/100 g vücut ağırlığında CoQ₁₀, UVA+ALA grubuna 50mg/kg vücut ağırlığında ALA, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubuna 1mg/100 g vücut ağırlığında CoQ₁₀ ve 50mg/kg vücut ağırlığında ALA ip olarak verildi. Antioksidan verilmeyen kontrol grubuna ve UVA grubuna SF verildi. 12 günlük periyot sonunda sıçanlar dekapite edildi. Plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA grubunda, UVA+mısır yağı grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşüktü. UVA grubuna göre plazma MDA düzeyleri; kontrol grubunda anlamlı olarak yüksekti. Karaciğer (KC) MDA düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA grubunda ve UVA+mısır yağı grubunda anlamlı olarak yüksekti. UVA grubuna göre karaciğer MDA düzeyleri; kontrol grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşüktü. Deri MDA düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA+ALA grubunda anlamlı olarak yüksekti. UVA grubuna göre deri MDA düzeyleri; UVA+CoQ₁₀ grubu ve UVA+ALA grubunda anlamlı olarak yüksekti. KC GSH düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA+mısır yağı grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak yüksekti. UVA grubuna göre KC GSH düzeyi; UVA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak yüksekti. Eritrosit KAT değerleri kontrol grubuna göre; UVA+mısır yağı ve UVA+CoQ₁₀ gruplarında anlamlı olarak düşüktü. KC KAT düzeyi kontrol grubuna göre; UVA grubu ve UVA+mısır yağı grubunda anlamlı olarak yüksekti. UVA grubuna göre KC KAT düzeyi; kontrol grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşüktü. UVA grubuna göre deri KAT düzeyleri; UVA+CoQ₁₀ ve UVA+ALA gruplarında anlamlı olarak arttı. Sonuç olarak, UVA'ya maruz kalan sıçanların KC dokusunda artmış MDA düzeyleri, KC dokusunda azalmış GSH düzeyleri, deride azalmış KAT düzeyleri bize UVA'nın oksidatif strese neden olduğunu göstermektedir. Bu oksidatif stresi önlemede ya da iyileştirmede CoQ₁₀ ve ALA'nın yararlı olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: UVA, oksidatif stresi CoQ₁₀, ALA

SUMMARY

The reactive oxygen products which have been exposed to UVA can occur damages in lipids, proteins and nucleic acids. The antioxidants may be useful in preventing or at least improving photobiologic injury. In this study, we determined MDA, GSH and CAT levels in the skin, blood and liver of the rats which have been exposed to UVA radiation. We also examined the affect of ALA and CoQ₁₀ on the parameters. For this reason, rats were divided into six groups as control, UVA, UVA+corn oil, UVA+CoQ₁₀, UVA+ALA, UVA+ALA+CoQ₁₀. UVA radiation was applied to the rats at the dose of twelve days 20W/cm² for 4 hours. The items which had been used in injection was applied 1,5 hour before the radiation. We gave corn oil to UVA+corn oil group, at 50 mg/kg degrees body weight ALA to UVA+ALA group, at 1mg/100g degrees body weight CoQ₁₀ to UVA+CoQ₁₀, at 1mg/100g degrees body weight CoQ₁₀ to UVA+CoQ₁₀ and at 50 mg/kg degrees body weight ALA intraperitoneal to UVA+ALA+CoQ₁₀ group. The groups which hadn't been given antioxidant took physiological serum. After the twelve days period the rats were killed. When compared to control group plasma MDA levels were significantly low in UVA, UVA+corn oil, UVA+CoQ₁₀ and UVA+ALA+CoQ₁₀ groups. Plasma MDA levels were significantly high in control group according to UVA group. Liver MDA levels were significantly high in UVA group, UVA+corn oil group according to control group. When compared to UVA group liver MDA levels were significantly low in UVA+CoQ₁₀ group, UVA+ALA group, UVA+ALA+CoQ₁₀ group. Skin MDA levels were found significantly high in UVA+ALA group according to control group. When compared to UVA group, skin MDA levels were significantly high in UVA+CoQ₁₀ group and UVA+ALA group. Liver GSH levels were significantly high in UVA+corn oil group, UVA+CoQ₁₀ group, UVA+ALA group and UVA+ALA+CoQ₁₀ group according to control group. Liver GSH levels were found meaningfully high in UVA+CoQ₁₀ group according to UVA group. When compared to control group erythrocyte CAT was found meaningfully low in UVA+corn oil and UVA+CoQ₁₀ groups. When compared to control group liver CAT levels were found meaningfully high in UVA group and UVA+corn oil group. Liver CAT levels were found meaningfully low in control group, UVA+ALA group and UVA+ALA+CoQ₁₀ group according to UVA group. When compared to UVA group skin CAT levels increased in UVA+CoQ₁₀ and UVA+ALA groups. In conclusion, increased MDA levels in the liver tissue, decreased GSH levels in liver tissue, decreased CAT levels in the skin of the rats which have been exposed to UVA radiation show that UVA radiation cause oxidative stress. We conclude that in order to prevent and/or ameliorate oxidative stress, CoQ₁₀ and ALA may be beneficial.

Key words: UVA, oxidative stress, CoQ₁₀, ALA.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. SERBEST RADİKALLER	4
2.1.1. Serbest Radikalın Tanımı.....	4
2.1.2. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Reaktif Oksijen Ürünleri	5
2.1.2.1. Süperoksit radikali	6
2.1.2.2. Hidroksil radikali	7
2.1.2.3. Singlet oksijen	8
2.1.2.4. Hidrojen peroksit	9
2.1.2.5. Nitrik oksit	9
2.1.3. Serbest Radikal Kaynakları	10
2.1.4. Serbest Radikallerin Etkileri	11
2.1.4.1. Membran lipitleri üzerine etkileri	11
2.1.4.2. Proteinler üzerine etkileri	12
2.1.4.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri	13
2.1.4.4. Nükleik asit ve DNA üzerine etkileri	13
2.2. UVA RADYASYONU VE OKSİDATİF STRES	13
2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA	15
2.3.1. Enzimatik Antioksidan Savunma	16
2.3.1.1. Süperoksit dismutaz	16
2.3.1.2. Katalaz	16
2.3.1.3. Glutasyon peroksidaz	17
2.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma	17
2.3.2.1. Redükte Glutasyon	17
2.3.2.2. C vitamini	18
2.3.2.3. E vitamini	18

	2.3.2.4. Koenzim Q ₁₀	18
	2.3.2.4.1. Koenzim Q ₁₀ 'un biyosentezi	20
	2.3.2.4.2. Koenzim Q'un antioksidan fonksiyonu..	21
	2.3.2.5. Alfa Lipoik Asit ve Metabolizması	22
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER	24
	3.1. Deney Hayvanları	24
	3.2. Yöntemler	25
	3.2.1. Plazma ve doku MDA ölçümü	25
	3.2.2. Tam kan ve doku GSH ölçümü	26
	3.2.3. Eritrosit ve doku KAT ölçümü	28
	3.2.4. Biüret yöntemi	29
	3.2.5. Hemogloblin tayini	29
	3.3. İstatistiksel Analiz	30
4.	BULGULAR	31
5.	TARTIŞMA	41
6.	SONUÇ	48
7.	KAYNAKLAR DİZİNİ	49
8.	EK-ÇİZELGELER	60
9.	ÖZGEÇMİŞ	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.2. Oksijenin suya indirgenmesi ve bu sırada ortaya çıkan ara ürünler	6
Şekil 2.1.4.1. Lipit peroksidasyon reaksiyonları	13
Şekil 2.2. Elektromanyetik radyasyon spektrumu	15
Şekil 2.3.2.4. Koenzim Q'nun yapısı	21
Şekil 2.3.2.4.1. Koenzim Q ₁₀ 'un sentezi	22
Şekil 2.3.2.5. LA ve DHLA'nın kimyasal yapıları	24
Şekil 4.1.a. Plazma MDA düzeylerinin karşılaştırılması	33
Şekil 4.1.b. Karaciğer MDA düzeylerinin karşılaştırılması	35
Şekil 4.1.c. Deri MDA düzeylerinin karşılaştırılması	36
Şekil 4.2.a. Kan GSH düzeylerinin karşılaştırılması	37
Şekil 4.2.b. Karaciğer GSH düzeylerinin karşılaştırılması	39
Şekil 4.2.c. Deri GSH düzeylerinin karşılaştırılması	40
Şekil 4.3.a. Eritrosit KAT düzeylerinin karşılaştırılması	41
Şekil 4.3.b. Karaciğer KAT düzeylerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4.3.c. Deri KAT düzeylerinin karşılaştırılması	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.2. Reaktif oksijen ürünleri	7
Çizelge 2.3. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar	17
Çizelge 4.1.a. Plazma MDA düzeyleri	32
Çizelge 4.1.b. Karaciğer MDA düzeyleri	34
Çizelge 4.1.c. Deri MDA düzeyleri	36
Çizelge 4.2.a. Kan GSH düzeyleri	37
Çizelge 4.2.b. Karaciğer GSH düzeyleri	38
Çizelge 4.2.c. Deri GSH düzeyleri	40
Çizelge 4.3.a. Eritrosit KAT düzeyleri	41
Çizelge 4.3.b. Karaciğer KAT düzeyleri	42
Çizelge 4.3.c. Deri KAT düzeyleri	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALA	: Alfa lipoik asit
Asetil- CoA	: Asetil koenzim-A
ATP	: Adenozin trifosfat
CoQ ₁₀	: Koenzim Q ₁₀
DHLA	: Dihidrolipoik asit
DTNB	: 5,5' dithiobis 2-nitrobenzoik asit
FPP	: Farnesil pirofosfat
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
HMG-CoA	: 3-Hidroksi 3-metil glutaril koenzim A
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipokloröz asit
KAT	: Katalaz
L•	: Lipit radikali
LOO•	: Lipit peroksil radikali
LOOH	: Lipit hidroperoksit
MDA	: Malondialdehid
NADPH	: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO•	: Nitrik oksit
NO ₂ •	: Azot dioksit
¹ O ₂	: Singlet oksijen
O ₂ •-	: Süperoksit anyon radikali

O ₃	: Ozon
•OH	: Hidroksil radikali
ONOO-	: Peroksinitrit
PLF	: Pridoksal 5-fosfat
RO•	: Alkoksil
ROO•	: Peroksil
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
SOD	: Süperoksid dismutaz
TBA	: Tiobarbitürik asit
Ubikinol	: Koenzim Q'nun redükte formu
UV	: Ultraviyole
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
UVC	: Ultraviyole C

1. GİRİŞ

Yeryüzünde canlıların yaşamını sürdürmesinde rol oynayan en önemli enerji kaynağı güneştir. Güneş enerjisi görünür ışın, infrared ve ultraviyole (UV) ışıktan oluşmaktadır (114).

UV radyasyonu (320-400nm) organizmanın en yaygın maruz kaldığı sitotoksik, mutajenik, lethal (129) ve karsinojenik bir ajandır (13,43).

Statosferdeki ozon filtresinin tükenmesi ile birlikte UV radyasyonunun dünya yüzeyini etkileyebileceği endişeleri artmaktadır (82).

Solar radyasyonu ultraviyole A (UVA) (spektral aralık 320-400 nm), ultraviyole B (UVB) (spektral aralık 280-320 nm) ve ultraviyole C (UVC) (100-280 nm)' den oluşmaktadır (120). Yer yüzüne ulaşan UV radyasyonunun %95'ini UVA, %5' ini UVB oluşturmaktadır. Daha kısa dalga boyuna sahip olan UVC ise atmosferde büyük oranda ve tamamı ise statosferik gazlar tarafından emildiğinden dünya yüzeyine ulaşmamaktadır (146).

UVA/UVB ile yapılan çalışmalarda genellikle cilt dokuları kullanılmıştır. Çünkü cilt vücut ile çevre arasındaki ilk bariyerdir. UV ışığının cilt dokusu haricindeki (iç) dokularla yapılan çalışmalar sınırlıdır (114).

UVB'nin mutajenik potansiyeli UVA' dan çok daha yüksek olmasına rağmen UVA'da küçümsenmemelidir. Bunun birinci sebebi, UVA'nın UVB'den yaklaşık 30 kat daha fazla dünya yüzeyine ulaşmasıdır, ikinci sebebi de UVA'nın derinin daha derinlerine (üst dermise) penetre olmasıdır (27).

Son elli yıldır araştırmacılar UV ışığının kronik ya da tekrar tekrar maruziyetini incelemişlerdir (114). UV ışığına akut maruz kalındığında güneş yanığı, immün baskılama, DNA hasar ve bağ dokusu bozulması gibi durumlar ortaya çıkar (70,145). Kronik UV radyasyonuna maruz kalındığında ise; inflamasyonun aşırı indüksiyonu, oksidatif stres ve DNA hasarı gibi durumlar ortaya çıkar (74,128).

UV maruziyeti sonucu oluşan biyomoleküller ve sinyal molekülleri kan dolaşımına ulaşır ve bu yolla da kan hücrelerini ve iç organları etkiler. Ayrıca UVA derinin derinlerine penetre olduğundan, dermis ve hipodermiste bulunan kan damarlarını etkiler ve ROS üreterek oksidatif strese neden olur (114). ROS, DNA tek zincir kırılmaları, DNA çapraz bağları, nükleotid baz modifikasyonları, lipitlerin okside parçaları ve ürünlerinin (örneğin; lipit alkoksil radikaller, aldehidler, alkanlar, lipit peroksitler, ve epoksitler) oluşumu gibi durumları yaparak DNA'ya hasar verirler (114).

UV radyasyonu ayrıca elastozis (118), eritem/ ödem ve pigmentasyon (güneş yanığı) ve cildin erken yaşlanması (foto-yaşlanma) (20,70), fotokeratitis, görme duyarlılığında azalma, inflamasyon, oküler yüzeyde yanma (84,132), katarakt (35) dahil bir çok çeşitli tipte yaralanmalara sebep olur. Ayrıca hem melanom hem de nonmelanom (bazal hücre karsinom ve skuamoz hücre karsinom) (24) kanseri riskini artırır (20,70). Mitojen aktifleşmiş protein kinaz (MAPK) yolları gibi büyüme faktörüne bağlı sinyal yolları da UVA ile indüklenir (94).

UV ışınlarının sebep olduğu oksidatif hasardan singlet oksijen (1O_2), süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) gibi reaktif oksijen ürünleri (ROS) sorumludur (129). Bu aktifleşmiş radikaller membran fosfolipitlerine saldırırlar ve lipit peroksidasyonuna neden olurlar (136).

Hücrelerde birçok non enzimatik (askorbik asit, tokoferol, ubikinol ve glutatyon (GSH)) ve enzimatik antioksidanlar katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) mevcuttur. Ve bunlar ROS'ni ortadan kaldırırlar (114). Cilt antioksidan bariyerini geçen ROS hücrelere zarar verebilir ve yukarıda belirtilen hücre hasarlara neden olabilir. Bu nedenle canlılara diyetle antioksidanların verilmesi UV ışınının neden olduğu tümör indüksiyonu ve prekanser lezyonlarının önlenmesinde yarar sağlayabilir (66).

Koenzim Q_{10} (CoQ_{10}), (2,3 dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil benzokuinon) ya da ubiquinon (113) yağda eriyen vitamin benzeri bir quinoldur (81) ve antioksidan özelliği vardır (143). Koenzim Q_{10} ilk olarak 1957 yılında Dr. Fred Crane tarafından bulunmuştur ve mitokondriyal biyoenerji transferinde anahtar rol oynamaktadır (40). Kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi enerji tüketimi yüksek olan dokularda bulunmaktadır (44). Parkinson hastalığı, amyotrofik lateral sklerozis, huntington hastalığı, friedreich ataksia, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar (143) ,yaşlanma ile apoptozis azaltıcı ve iskemiye karşı iyileştirici ve koruyucu etkisi vardır (33,153).

Alfa lipoik asit (ALA), 1,2-dithiolan-3-pentanoik asit ($C_8H_{14}O_2S_2$) ya da tioktik asit (144), tiyol grubu içeren antioksidandır (28). Vücutta doğal olarak indirgenmiş halde bulunur ve bazı dehidrogenaz kompleksleri (pirüvat dehidrogenaz, α -ketoglutarat dehidrogenaz) (153) için esansiyel kofaktördür (98,121). Böbrek kalp ve karaciğerde bulunur (21,98), indirgenmiş formu dihidrolipoik asit (DHLA)'tir (133). Lipid peroksidasyonun neden olduğu beyin fonksiyon bozuklukları, kardiovasküler hastalıklar, kanser ve yaşlanma ile ilişkili dejeneratif süreçlere yararı vardır (153). UV radyasyonuna karşı etkisi hala tam olarak bilinmemektedir (140).

CoQ_{10} , ALA ve bazı vitaminlerin birlikte kullanıldığında yaşlanma sürecine ve birçok hastalığa faydalı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (72). Bu bilgilerin ışığında biz UVA ışığının, deri, karaciğer ve kan üzerindeki oksidatif etkisi ve bu

etkiden korunmada CoQ₁₀, ALA ve bu ikilinin birlikte kullanımının etkisini araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. SERBEST RADİKALLER

2.1.1. Serbest Radikalin Tanımı

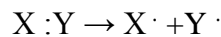
Nötron ve proton'u içeren çekirdek ve çevresinde dönen elektronlar atomun yapısını oluşturmaktadır. Bu yapıda çekirdeğin etrafında bulunan elektronların bulunduğu boşluğa orbital adı verilmektedir. Her orbitalde birbirine zıt spinli ortaklanmış veya eşleşmiş iki elektron bulunabilir (130). En dış orbitalde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküle serbest radikal denir. Son orbitaldeki bu eşleşmemiş elektrona bağlı olarak, bu atom veya molekül reaktif olup diğer moleküller ile reaksiyona girme eğilimindedir (34,56,116). Serbest radikaller pozitif, negatif veya nötral olarak bulunabilirler (73).

Serbest radikaller, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftir. Yarı ömürleri çok kısadır. Normal metabolik olaylar sırasında oluşabilecekleri gibi çok çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler (15,61).

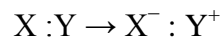
Hidrojen atomu eşleşmemiş elektronu ile bir radikaldir. Halojen atomlar, oksijen türleri, klor ve brom gibi tek atomlu yapılar, sodyum, potasyum gibi alkali metal atomları ile nitrik oksit ve nitrojen dioksit gibi atom kombinasyonları radikal olarak tanımlanmaktadır. Geçiş metalleri (Cu, Fe, Mn, Mo) ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Ancak reaksiyonları katalizledikleri için serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Biyolojik moleküller genellikle kovalent bağlı olup non-radikaldirler (3,11,59,95).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler (34):

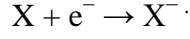
- 1- Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında, elektronlardan birinin, kalarak homolitik bölünmesi.



- 2- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı.



3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.

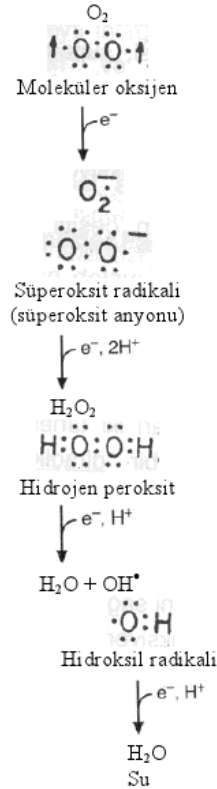


Organizmalarda hücrelerin çoğunluğu, kendilerini serbest radikallerin hasar verici etkilerinden koruyacak hücre içi ve hücre dışı kimyasal mekanizmalarla donatılmış antioksidatif korunma sistemine sahiptirler (134).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2) ve süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi serbest oksijen radikalleri biyolojik sistemler için tehlikelidir (124).

2.1.2. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Reaktif Oksijen Ürünleri (ROS)

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan serbest radikallerdir. Bununla birlikte organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında daha az olarak karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır (32,52,61).



Şekil 2.1.2. Oksijenin suya indirgenmesi ve bu sırada ortaya çıkan ara ürünler.

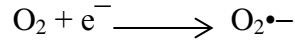
Reaktif oksijen ürünleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Hidroksil ($\bullet\text{OH}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Alkoksil ($\text{RO}\bullet$)	Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
Peroksil ($\text{ROO}\bullet$)	Ozon (O_3)
Superoksit ($\text{O}_2\bullet^-$)	Hipokloröz asit (HOCl)
Nitrik oksit ($\text{NO}\bullet$)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit ($\text{NO}_2\bullet$)	Peroksinitrit (ONOO^-)

Çizelge 2.1.2. Reaktif oksijen ürünleri (87)

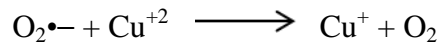
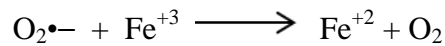
2.1.2.1. Süperoksit radikali ($\text{O}_2\bullet^-$)

Oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur.

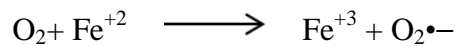


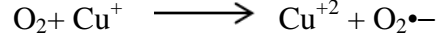
Hem oksitleyici hem de redükleyici özelliği vardır. Zayıf reaktiftir fakat güçlü oksidandır (77). Süperoksitin oluşmasına yol açan mekanizmaların başında mitokondrinin iç membranında oksijenin suya redüksiyonunu sağlayan elektron transport zinciri gelir. Aynı zamanda adrenalin, flavin nükleotidleri, tiyol bileşikleri ve glikoz gibi moleküller, oksijenli bir ortamda okside olarak süperoksit oluştururlar. Bu reaksiyonlar demir bakır gibi reaksiyonlarla önemli derecede hızlandırılırlar (4). Dismutasyon yolu ile H_2O_2 kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarını indirgemesi sebebiyle önemli bir radikaldir (14,60).

Süperoksit radikali okside haldeki demir veya bakır ile reaksiyona girebilir:

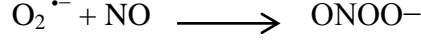


Geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucu $\text{O}_2\bullet^-$ radikali oluşur:



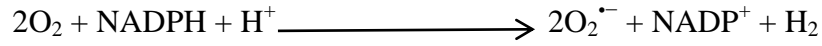


Süperoksit, protein ve lipitleri okside edebilir ya da endotel türevi olan nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girerek reaktif azot türü olan peroksinitrit oluşturur (81).



Mitokondri, endoplazmik retikulum gibi sellüler trasport zincirinin çeşitli komponentlerinden oksijene elektron sızmasıyla süperoksit oluşur. Fagositik hücrelerdeki solunumsal patlama süperoksit kaynağıdır. Nötrofillerin plazma membranının dış yüzünde yerleşmiş olan NADPH oksidaz, nötrofilin uyarılmasıyla oksijene iki elektron aktararak iki molekül süperoksit oluşturur (3,9,16,95).

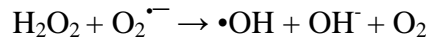
NADPH oksidaz



Solunumsal patlama esnasında tüketilen oksijenin çoğu $\text{O}_2^{\bullet-}$ ara ürünü üzerinden fagositler tarafından bakterisidal bir ajan olan H_2O_2 'e dönüştürülür (120). Aktifleşmiş fagositik hücreler makrofajların bütün tiplerinde ve monositler, nötrofiller, eozinofiller için $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikali üretirler. Ksantin oksidaz, hipoksantini ksantine dönüştürerek $\text{O}_2^{\bullet-}$ üretir (81).

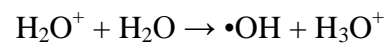
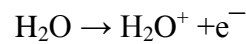
2.1.2.2. Hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$)

Hidrojen peroksitin, süperoksit ile indirgenmesi sonucu oluşur. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir (42).

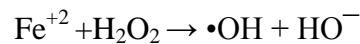


Hidroksil radikalının yapımına sebep olan önemli tepkimeler (127).

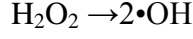
a) İyonlaştırıcı radyasyonun suya etkisi:



b) Fenton tepkimesi:

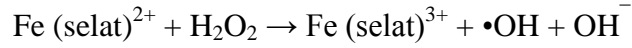
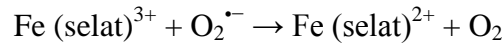


c) Hidrojen peroksidin fotolizi:

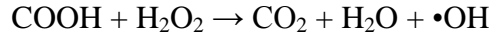


d) Ozona elektron transferi ile OH oluşabilmektedir. Bu nedenle ozon toksisitesinde OH' ın önemli rolü vardır.

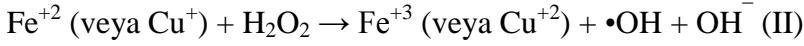
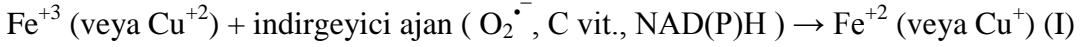
e) İn vivoda OH üretimi açısından en önemli tepkime Haber-Weiss tepkimesidir. İnvivoda $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikalinin H_2O_2 ile $\cdot\text{OH}$ üretmesi şelat yapmış demir tarafından katalizlenir.



f) Radikal tepkimeleri sonucu oluşabilen bir organik radikal, H_2O_2 ile tepkimeye girerek $\cdot\text{OH}$ üretebilir.



Hidroksil radikalinin mekanizması ise iki reaksiyon sonucunda gerçekleşir.



Anlaşıldığı gibi $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikalinin elektron verici olduğu tepkime Haber-Weiss tepkimesi dışında da biyolojik moleküller, metal iyonlarını indirgeyerek H_2O_2 varlığında $\cdot\text{OH}$ oluşumunu sağlarlar (39).

Hidroksil, en reaktif ve en zarar verici oksidan radikalleridir. Su dahil ortamda rastladığı her molekül ile tepkimeye girer. Hidroksil radikalinin sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Hücre zarı su içermediğinden $\cdot\text{OH}$ ' ın başlıca hedefi yağ asididir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilmektedir (5,102).

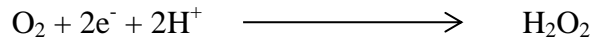
2.1.2.3. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür (3). Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitalle yer değiştirmesiyle oluşur (77). Enerji absorpsiyonu ile uyarılan oksijenin paylaşılmamış dış elektronları spinlerini değiştirerek ayrı ayrı ya da aynı orbitali işgal edebilir. Bu iki

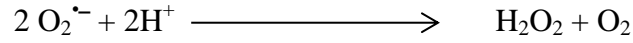
forma singlet oksijen adı verilmektedir. Delta ($^1\Delta_g \text{ O}_2$) ve sigma ($^1\Sigma_g \text{ O}_2$) olmak üzere iki tipi vardır. Sigma formunun enerjisi çok yüksektir ve hızla $^1\Delta_g \text{ O}_2$ 'e dönüşür (149).

2.1.2.4. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Oksijen molekülüne $2e^-$ eklendiği zaman, peroksit anyonu 2 hidrojen protonu ile birleşerek H_2O_2 meydana gelir (77). Hidrojen peroksit ayrıca hidroperoksil radikali ile süperoksit radikalinin reaksiyonu ile oluşur (51).



Biyolojik sistemlerde sıklıkla görülen süperoksidin üretimi yoluyla oluşmaktadır ve böylece iki süperoksit anyon radikali birbiriyle, hidrojen peroksit ve oksijeni verecek şekilde reaksiyona girerler (96).



Süperoksit radikallerinin temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu reaksiyon SOD tarafından veya spontan olarak oluşabilir.

Hidrojen peroksit gerçek anlamda bir serbest radikal olmamakla birlikte, hücre zarından kolay geçebilmektedir. Sonuçta H_2O_2 yüksek derecede reaktif olan hidroksil radikaline çözülmeye önce hücreler arasında veya hücre organelleri içinde difüzyonla önemli mesafeler katedebilir ve buralarda serbest radikal hasarına yol açabilir (4).

2.1.2.5. Nitrik oksit (NO^{\cdot})

Nitrik oksit (NO^{\cdot})'in moleküler orbitalinde eşlenmemiş elektron çifti bulunduğu için serbest radikal olarak yarılanma ömrü çok kısadır. NO^{\cdot} oluşumu memeli hücrelerinde yaygındır (18). Nitrik oksit ile süperoksit radikali reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturur (81). NO^{\cdot} ayrıca bir radikaldir (77). Peroksinitrit ve diğer nitrojen türleri protein, lipid ve hayati enzimatik kofaktörleri okside hale getirerek oksidatif stresi artırır (85,101).

2.1.3. Serbest Radikal Kaynakları

Ekzojen kaynaklar

Radyasyon

Antineoplastik ajanlar

Alışkanlık yapan maddeler: alkol ve uyuşturucu maddeler

Ksenobiyotikler (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)

Stres; streste katekolamin düzeyi artar, artan katekolamin oksidasyonu ile radikal üretimi artmaktadır.

Endojen kaynaklar

Küçük moleküllerin otooksidasyonu: tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, antibiotikler vs.

Enzimler ve proteinler : ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin

Mitokondrial elektron transport zinciri

Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom b5)

Peroksizomlar : oksidazlar, flavoproteinler

Plazma membranı : lipoksijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu

İskemi, travma

Solunumsal patlama

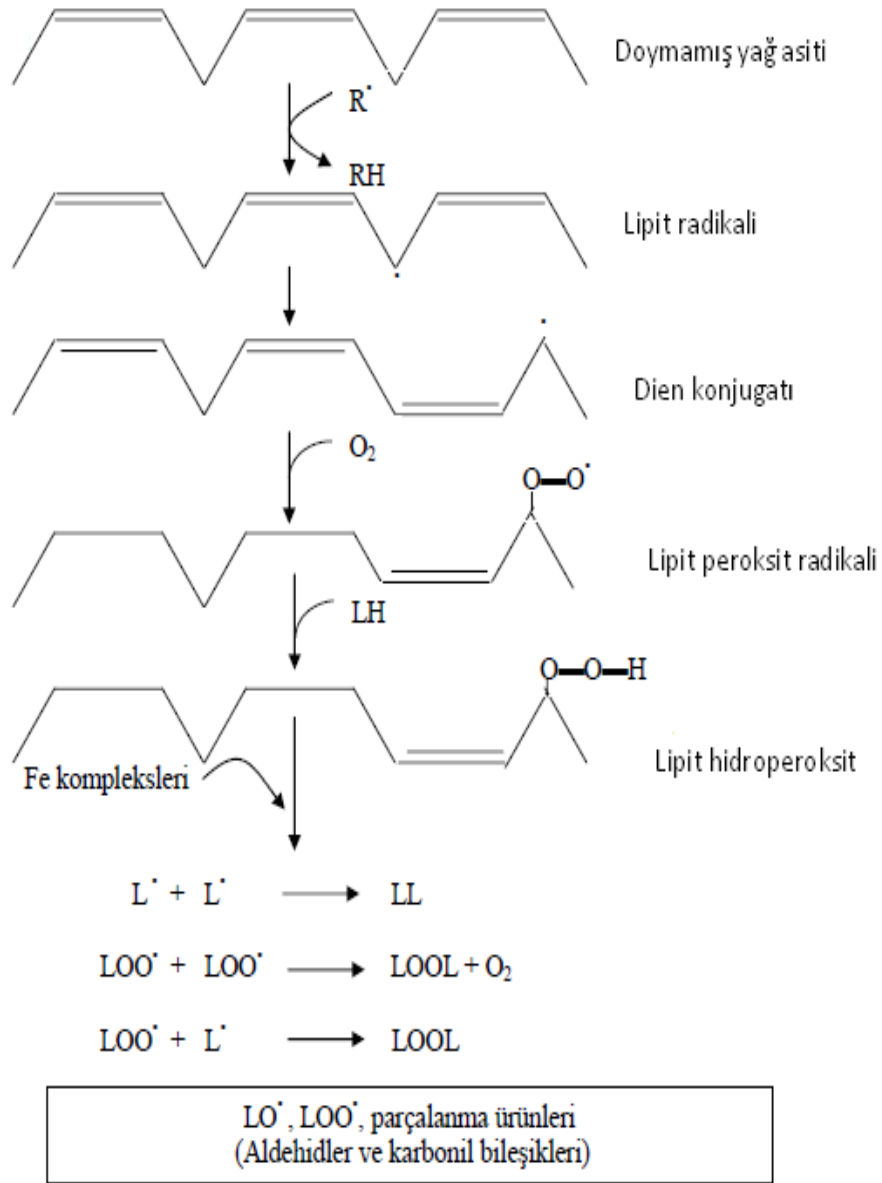
2.1.4. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, biyomoleküllerde hasarlara yol açarlar (87). Bu etkiler aşağıda başlıklar halinde sıralanmıştır:

2.1.4.1. Membran lipidleri üzerine etkileri: lipit peroksidasyonu

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna sebep olurlar (97).

Biyolojik sistemlerde serbest radikal $O_2^{\bullet-}$ ve $\bullet OH$ dir. Serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal olay, 'lipit peroksidasyonu' olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasal olay, organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır (Şekil 1.2). Bu yüzden lipit peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalın $\bullet OH$ olduğu benimsenmektedir. Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan lipit radikali (L^{\bullet}) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Başlangıçta, molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşmaktadır ve daha sonra, lipit radikallerinin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi ile lipit peroksit radikali (LOO^{\bullet}) meydana gelmektedir. Bu lipit peroksit radikalleri de zar yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine ($LOOH$) dönüşmektedir. Böylece reaksiyonun oto-katalitik bir biçimde yürümesi sağlanmaktadır (125,137). Lipit peroksidasyonu, $LOOH$ ' ın aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu ürünlerden başlıcaları olan hidroksinonenal (HNE) ve malondialdehit (MDA), proteinlere ve DNA' ya bağlanarak kalıcı değişikliklere sebep olurlar. Lipit radikalleri hidrofobik yapıda olduğundan, reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskozitesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan MDA membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bunun sonucunda da; deformasyon, iyon transportu, membrana bağlı enzim ve reseptörlerin inaktivasyonu ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirir (152).



Şekil

Şekil 2.1.4.1. Lipit peroksidasyon reaksiyonları

2.1.4.2. Proteinler üzerine etkileri

Proteinlerde serbest radikallerin hedefleridirler. Proteinler lipitlere oranla serbest radikal hasarına daha az hassastır. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri aminoasit dizilişlerine bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt (-SH) içeren aminoasitlerden (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein) meydana gelmiş proteinler kolaylıkla okside olurlar. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Aktifleşmiş oksijen radikalleri proteinlerin primer, sekonder ve tersiyer yapılarını etkiler (107). Enzimler protein yapıdadırlar, enzim aktivitelerinde azalma olduğunda veya denatüre olduklarında fonksiyonlarını yerine

getiremezler (31). Primer yapının oksidatif modifikasyonu sekonder ve tersiyer yapı değişmelerine neden olur. Proteoliz hassasiyetinde artışı beraberinde getiren bu olaylar sonucunda peptit zincirinin fragmentasyonu ve çapraz bağlantılı reaksiyon ürünlerinin agregasyonu olur (107).

2.1.4.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde de önemli etkileri vardır. Oksidan maddelerin karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi, glikolitik ATP sentezinin azalması ve ATP kullanımının artması yönündedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bir okzoaldehit olan glikozil, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterir. Süperoksit ve hidrojen peroksitin in vitro olarak hiyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir (37).

2.1.4.4. Nükleik asit ve DNA üzerine etkileri

DNA yapısında oksidatif hasara sebep olan pek çok faktör vardır. Bunlar, iyonize radyasyon, artmış oksijen konsantrasyonu, ksantin oksidaz ve çeşitli kimyasallardır. Özellikle de iyonize edici radyasyon ile oluşan •OH radikali başta olmak üzere serbest radikaller, siklobutan pirimidin dimerleri, dipirimidinler, tek zincir kırılmaları, DNA-protein çapraz bağları oluştururlar. DNA polimerazı inhibe ederler. Hücrede mutasyon ve ölüme açarlar. DNA serbest radikallerden kolayca etkilenir. Sebebi de hidroksil radikalinin, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebildiği içindir. Bazı serbest radikaller de DNA tamir enzimlerini etkileyerek hasara yol açarlar (30).

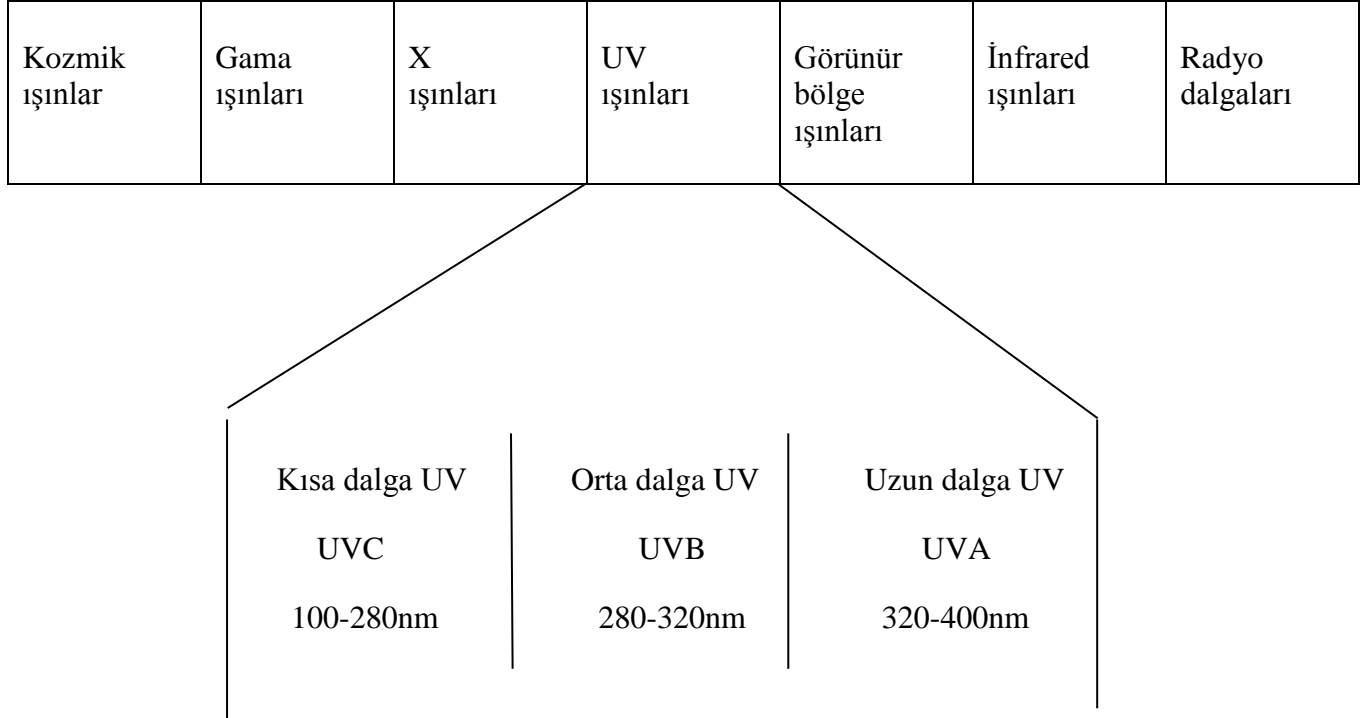
2.2. UVA RADYASYONU VE OKSİDATİF STRES

Elektromanyetik radyasyon spektrumu; kozmik ışınlar, gama ışınları, X ışınları, UV ışınları, görünür bölge ışınları, infrared ışınları ve radyo dalgalardan oluşmaktadır (Şekil 2.2.a). Bu spektrumda bulunan ışınlar farklı dalga boylarına sahiptirler. Bu farklı dalga boylarına sahip ışınlardan biri de UV ışınlarıdır. Ultraviyole ışınları dalga boylarına göre 3'e ayrılırlar:

UVA : 320-400 nm

UVB : 280-320 nm

UVC : 100-280 nm (120).



Şekil 2.2. Elektromanyetik radyasyon spektrumu

Ultraviyole A radyasyonu (UVA 320-380nm), dünyaya ulaşan tüm güneş ışınları spektrumlarının %96'sını oluşturmaktadır. Epidermis, dermis ve derialtı dokulara penetre olarak, deri foto-yaşlanması, inflamasyon, deri kanseri ve diğer hasarlara sebep olmaktadır (49,63). Hücresel düzeyde, UVA radyasyonu, singlet oksijen, süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini (ROS) üreterek, oksidatif strese sebep olur (17,122). UVA radyasyonu glutatyon, askorbat, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi hücresel savunmada görevli yapıları etkiler. UVA hasarı ile oluşmuş stresin sonucunda modifiye edilmiş gen ekspresyonu ve DNA hasarı oluşur. Buna bağlı olarak; anormal hücre morfolojileri, hücre apoptozu veya nekrozu meydana gelir, bu olayların sonunda da deri yaşlanması oluşur (49,70,110). UV radyasyonu ayrıca elastozis (118), eritem/ödem ve pigmentasyon (güneş yanığı) ve cildin erken yaşlanması (foto-yaşlanma) (20,70), fotokeratitis, görme duyarlılığında azalma, inflamasyon, oküler yüzeyde yanma (84,132), katarakt (35) dahil bir çok çeşitli tipte yaralanmalara sebep olur. Ayrıca hem melanom hem de nonmelanom (bazal hücre karsinom ve skuamoz hücre karsinom) (24) kanseri riskini artırır (20,70). Mitojen aktifleşmiş protein kinaz (MAPK) yolları gibi büyüme faktörüne bağlı sinyal yolları da UVA ile indüklenir (94). Bunun yanında Ultraviyole B (UVB, spektral aralık 280-320nm) tarafından da zararlı etkiler oluşturulmaktadır. Daha kısa dalga boyuna sahip olan Ultraviyole C (UVC 100-280nm)

ışınları ise dünya yüzeyine ulaşmamaktadır. UVB güneş yanığından başlıca sorumludur ve tam bir karsinogen'dir. UVA ise derinin erken yaşlanmasının ana sebebidir. UVB'nin mutajenik potansiyeli UVA'dan çok daha yüksek olmasına rağmen UVA da küçümsenmemelidir. Bunun birinci sebebi, UVA'nın UVB'den yaklaşık 30 kat daha fazla dünya yüzeyine ulaşmasıdır, ikinci sebebi de UVA'nın derinin daha derinlerine (üst dermise) penetre olmasıdır. UVB, DNA'ya doğrudan hasar verirken, UVA reaktif oksijen türlerini (ROS) artırarak hücreye hasar verir (120).

2.3. ANTIOKSİDAN SAVUNMA

Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasında hassas bir denge vardır (97). Bu denge korunamadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır. Serbest radikallerin bu zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu koruyucu mekanizmaların bir kısmı serbest radikal oluşumunu önlerken, bir kısmı da oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemektedir. Bu işlevleri yapan maddelere genel olarak 'Antioksidanlar' (41) olarak da 'Antioksidan savunma sistemi' denir.

Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipitlerin peroksidasyonuna karşı koruması olmuştur. Bunun sonucu olarak, başlangıçta antioksidanlar lipit peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise antioksidanların tanımı lipitlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de kapsamaktadır. Böylece, antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır ve bu tanımdan anlaşılacağı gibi antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir (115,147).

Antioksidanların başlıca etkileri şu şekildedir:

Reaktif oksijen türlerinin enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi.

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi.

Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi.

Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi.

Antioksidan savunma mekanizması enzimatik ve non-enzimatik antioksidanları içermektedir (92).

Enzimatik antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar

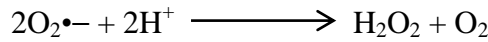
Süperoksit dismutaz	Glutasyon	Antioksidan mineraller (çinko,selenyum)
Katalaz	A,C,E vitamini	Ürat, albümin
Glutasyon peroksidaz	α -lipoik asit	
Glutasyon redüktaz	Karotenoidler	
Glutasyon transferaz	CoQ ₁₀	

Çizelge 2.3. enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar (91).

2.3.1. Enzimatik Antioksidan Savunma

2.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

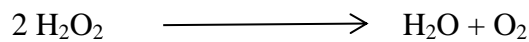
İlk kez 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanmış olan süperoksit dismutaz enzimi (117), süperoksit anyonunu hidrojen perokside (118) ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler.



Enzimatik sistemler sitozolik, mitokondrial ve ekstrasellüler olmak üzere SOD'un 3 tipini içerir (77). İnsanda SOD' nin iki tipi bulunmaktadır. Bunlar sitoplazmada bulunan Cu ve Zn içeren SOD ve mitokondride bulunan Mn içeren SOD' dir. Süperoksit dismutaz enzimi, oksijeni metabolize eden hücreleri serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korur. Lipit peroksidasyonundan hücre membranını korur (80).

2.3.1.2. Katalaz (KAT)

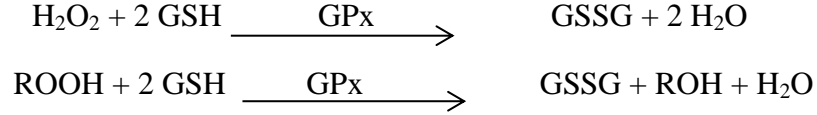
Katalaz enzimi, H₂O₂' yi, oksijen ve suya parçalar (18).



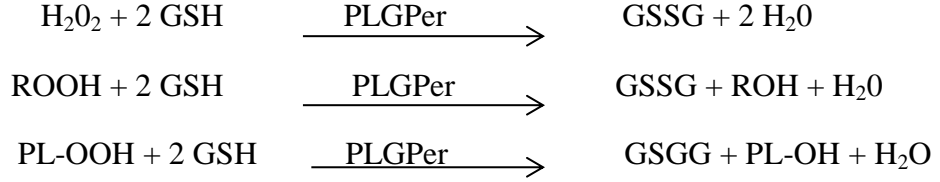
Çoğunlukla hücrelerin peroksisomlarında bulunur (4). Yapısında 4 tane hem grubu bulunur. Katalaz enzimi peroksidaz aktivitesi gösterir ve büyük moleküllu lipit peroksitlerine etki etmez.

2.3.1.3. Glutasyon peroksidaz (GPx)

Sitozolik bir enzim olan GPx tetramer yapıdadır. Dört selenyum atomu içerir. GPx aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksidin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar:



Fosfolipit hidroperoksit glutasyon peroksidaz da (PLGPer) monomerik, selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirgeyerek, özellikle E vitamininin yetersiz olduğu durumlarda peroksidasyona karşı korunma sağlar:



2.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma

2.3.2.1. Redükte Glutasyon (GSH)

Glutasyon, başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptit olup aktif bir (-SH) grubuna sahiptir. Önemli bir suda çözünebilir bir antioksidan ve indirgeyici ajandır. Glutasyonun pek çok metabolik görevi vardır. Glutasyon peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substrat veya kosubstratıdır. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. Ayrıca protein yapısındaki -SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Amino asitlerin membrandan transportunu sağlar. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önler. İndirgenmiş glutasyonun peroksitlerle ve disülfidlerle GPx enzimi varlığında reaksiyonu sonucu GSSG (okside glutasyon) oluşmaktadır. GSH-px redükte glutasyonun (GSH) glutasyon di sülfite (GSSG) dönüşümüyle H₂O₂'nin yıkımını katalizler (155). Oksitlenmiş glutasyon konsantrasyonunda artış, oksidatif stresin bir göstergesi olmaktadır. Oksitlenmiş glutasyon, tiol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkileri olan prooksidan bir madde olduğu için hızla redüklenmesi gerekmektedir. Yükseltgenmiş glutasyonun tekrar indirgenmesi NADPH'ın da kullanıldığı bir reaksiyonla olur.

2.3.2.2. C vitamini (Askorbik asit)

C vitamini (askorbik asit), kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur.. Suda eriyebilen vitaminlerden olan C vitamini, insanlarda sentezlenemediğinden diyetle alınması gerekir (1). Özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. İnce barsaklardan kolayca emilir. Isıtılmaya dayanıksız, dondurulmaya dayanıklıdır. Dokularda ve plazmada askorbat iyonu şeklinde bulunur. Askorbik asidin organizma için önemi, indirgeyici gücünün yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Bu özelliği ile hidrosilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidandır. $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ ve 1O_2 ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipit peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek, lipitleri ve zarları da oksidan hasara karşı korur. C vitamini antioksidan özelliğinin yanında oksidan özelliğe de sahiptir. Fe^{+3} 'i Fe^{+2} 'e indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek hücre içi moleküldür (97). Ancak bu etkisini düşük konsantrasyonlarda göstermektedir, yüksek konsantrasyonlarda ise antioksidan etkiye sahiptir. Sulu fazda önemli bir zincir kırıcı antioksidandır (103).

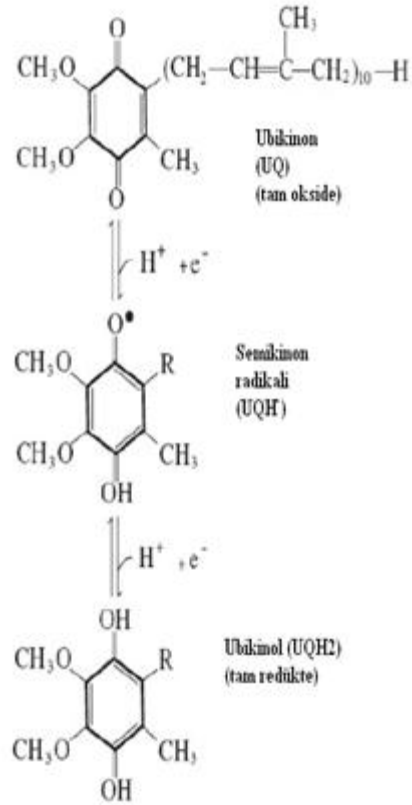
2.3.2.3. E vitamini (α -tokoferol)

E vitamini tokoferoller ve tokotrienoller olarak sınıflandırılmış bir vitamindir (25). Alfa, beta, gama ve delta olarak adlandırılan dört tokoferol karışımıdır (72). Antioksidan aktivitesi en yüksek olanı alfatokoferoldür. E vitamini avokado, asparagus, bitkisel yağlar, fındık, lifli yeşil sebzelerde yüksek oranda bulunmaktadır (81). Lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu serbest radikal temizleyicilerindedir. Zincir kırıcı bir antioksidandır. Aynı zamanda singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca hidroksil radikali, peroksil radikali ve süperoksitle direkt olarak reaksiyona girebilirler. Okside olan E vitamini, parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından tokoferole geri çevrilebilir.

2.3.2.4. Koenzim Q_{10} (Co Q_{10})

Koenzim Q_{10} (Co Q_{10}) (2,3 dimetoksi-5metil-6-decaprenyl benzokinon) (81) yağda çözülebilir, vitamin benzeri bir maddedir (105). Koenzim Q_{10} , 1957'de Dr. Frederick Crane tarafından keşfedilmiştir (40). Co Q_{10} , yüksek enerji turnover'li dokularda (kalp, beyin, karaciğer ve böbrek) yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur (44). İnsanda, CoQ quinone halkasına bağlı 10 izopren yan zincirinden oluşmuştur (38). Koenzim Q_{10} (ubiquinone veya Co Q_{10}) mitokondriyal enerji üretimi için gerekli bir

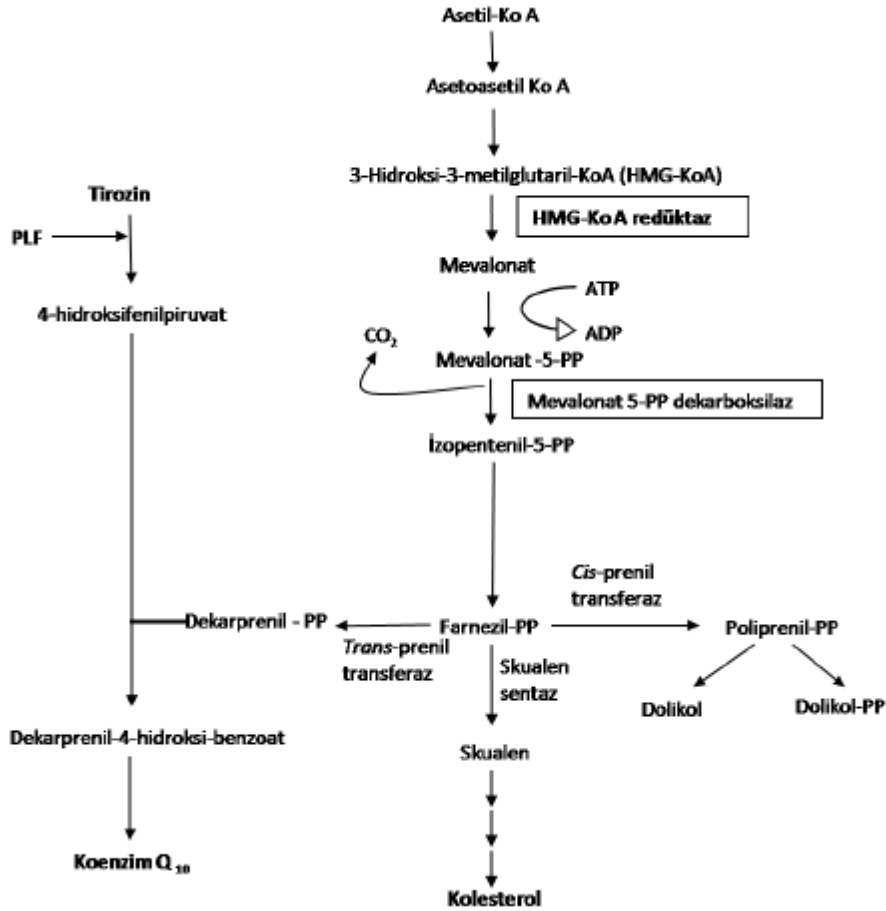
antioksidandır. Vücutta endojen olarak fenilalanin ve mevalonik asitten sentezlenmektedir (36). Hücresel solunumda önemli bir elektron taşıyıcısı olan koenzim Q₁₀ (CoQ₁₀, ubikinon olarak da adlandırılmaktadır) ROS' lerini ortadan kaldırarak ve oksidatif stresten hücreleri koruyarak antioksidan özellik göstermektedir (155). Mitokondrial solunum zinciri elektron taşıyıcısı olarak hareket eder (8). Koenzim Q₁₀ lipit (8) ve proteinlerin peroksidasyonunu engeller. Redükte koenzim Q₁₀ formu hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının yakalayıcısı olarak fonksiyon görmektedir. Koenzim Q₁₀, bir lipit antioksidanı olarak membran akışkanlığını regüle eder, E ve C vitamininin radikal formlarını tekrar kullanılabilir hale getirir ve peroksidasyona karşı membran fosfolipitlerini korur. Doğrudan antioksidan etkisine ek olarak kinol, lipid veya oksijenle reaksiyon sonucu oluşan tokoferil radikallerini tekrar tokoferole indirgeyerek dolaylı etki de gösterir.



Şekil 2.3.2.4. Koenzim Q'nun yapısı (36).

2.3.2.4.1. Koenzim Q₁₀'un biyosentezi

CoQ₁₀ sentezi üç ana basamağa indirgenebilir. Benzokuinon çekirdeği tirozinden, izoprenoid yan zinciri kolesterol sentezi için de ortak yol olan mevalonat yolağı aracılığıyla asetil-koenzim-A'dan sentezlenir (8,40) ve bu iki ana parçanın birleşmesi de transprenil transferaz tarafından katalizlenir. Hidroksimetil glutaril-KoA (HMG-KoA) redüktaz hem KoQ₁₀ sentezinde hem de kolesterol sentezinde anahtar görevdedir.



Şekil 2.3.2. CoQ₁₀'nun sentezi (PLF: pridoksal 5-fosfat) (58).

Mevalonat yolu, asetil-koenzim-A (asetil-CoA) ile başlayıp kolesterol, dolikol ve CoQ öncüsü olan farnesil pirofosfat (FPP) üretimi ile devam eder (58). Bu aşama tüm son ürünler için ortak yol olup daha sonra FPP' den değişik reaksiyonlar sonucunda CoQ'

nun izoprenoid yan zinciri sentezlenir. FPP, aynı zamanda kolesterol ve dolikolün de ön maddesidir. CoQ' nun uzun yan zinciri, farklı türlerde sayısı 6-10 arasında tekrarlayan izopren ünitesi taşır. Tirozin yada fenilalaninden elde edilen 4-OH benzoik asit ile polipirenil pirofosfat transferaz enziminin katalizlediği reaksiyonla Polipirenil 4-OH Benzoik asidi oluşturur ve bu CoQ'un prekürsörüdür (Şekil 2.6). Gösterilen yolda 3-hidroksi 3-metil glutaril koenzim A (HMG-CoA) redükte edilerek mevalonata çevrilir ve bu basamağı katalizleyen HMG-CoA redüktaz bu yolun düzenleyici enzimi olarak düşünülmektedir (26). CoQ sentezi endoplazmik retikulum'da başlar ve golgide tamamlanır, buradan hücredeki diğer bölgelere dağılır. En çok mitokondride bulunur. Hayvan hücrelerinde CoQ' nun mitokondriye ek olarak endoplazmik retikulum, golgi, lizozom, peroksizom ve plazma membranında yer aldığı gösterilmiştir. CoQ yüksüz olduğundan sınırlı miktardaki fazlalık plazma membranından kana geçer ve plazma lipoproteinlerine bağlanır. Kolesterolün tersine CoQ, dolaşım ile farklı dokulara dağılım göstermez. CoQ'nun redükte formu (ubikinol) lipit peroksidasyon inhibitörüdür (40). CoQ' nun lipit peroksidasyonu üzerine etkisi, lipit radikali veya lipit peroksil radikallerini yakalamasına bağlı olabilir. Ubikinol, VitE' nin redükte formunun devamlılığını sağlayarak da lipit peroksidasyonunu inhibe edebilir (46).

2.3.2.4.2. Koenzim Q'un antioksidan fonksiyonu

CoQ membranlarda doymamış lipit zincirlerine yakın olarak bulunur ve primer serbest radikal süpürücüsüdür (106). Hücre membranlarındaki CoQ'nun büyük bir kısmı ubikinol şeklindedir ve CoQ'nun redükte formu olan ubikinol çok etkili bir antioksidandır (38). Ubikinol antioksidan özelliğinden dolayı lipit peroksidasyonunu önler. Redükte Koenzim Q₁₀ formu hidrojen peroksit ve hidroksil radikalinin yakalayıcısı olarak fonksiyon görmektedir. Hücrenin, tüm intraselüler bölgelerinde CoQ'yu redükte tutmak için üç adet enzim bulunmaktadır. Bunlar:

NADH sitokrom-b5 redüktaz,

NADH/NADPH oksidoredüktaz (DT diaforaz)

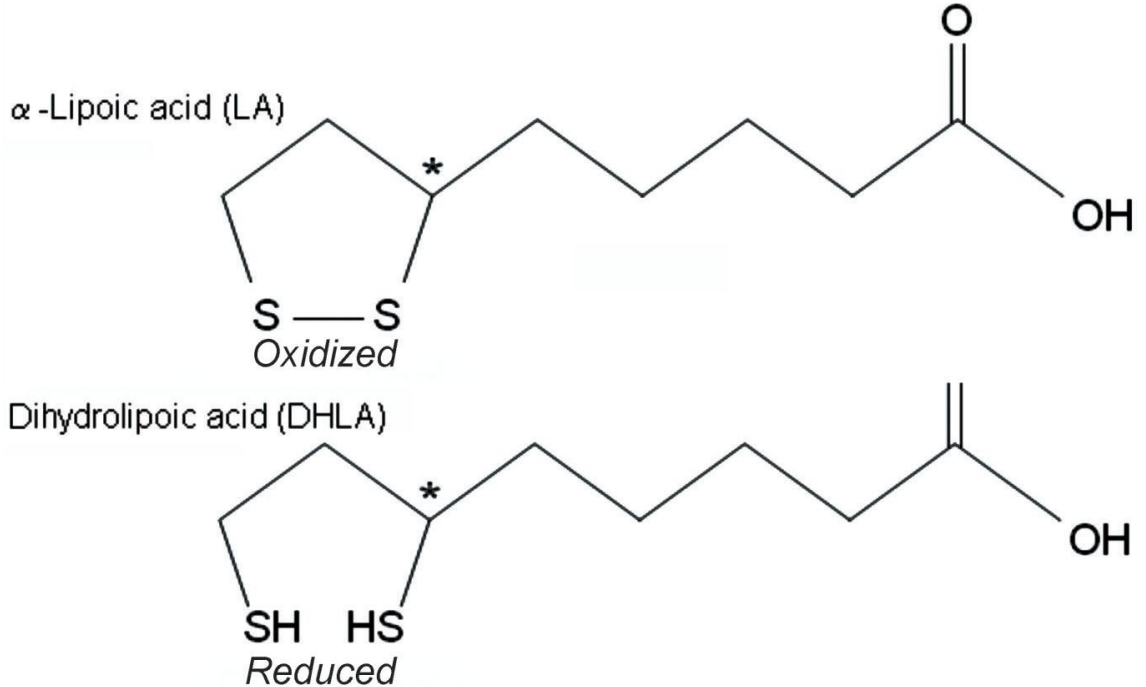
NADPH KoQ redüktazdır.

Endomembrandaki 1 ve 3. redüktazlar özellikle, bir radikal ile reaksiyon sonucu oluşan herhangi bir semikinonun bir elektron ile tekrar redüklenmesi için önemlidir. DT Diaforaz herhangi semikinonu doğrudan redükler ve ara madde olmadan iki elektron transferi ile herhangi bir kinonu redükler (38).

Ayrıca ubikinol, lipit peroksil radikallerinin (LOO[·]) oluşumunu direkt olarak ya da α -tokoperoksil radikallerinden vitamin E'yi rejenere ederek indirekt yolla lipit peroksidasyonunu elimine edebilir (156).

2.3.2.5. α -Lipoik asit (ALA) ve metabolizması

Alfa lipoik asit (ALA) ya da lipoik asit (LA) kimyasal olarak 1,2-dithiolan-3-pentanoik asit ($C_8H_{14}O_2S_2$) ya da 'thioctic' asit olarak adlandırılan doğal bir bileşiktir (54,144). Bitki ve hayvan mitokondrisinde oktanoik asit ve sistein (sülfür kaynağı olarak)'den enzimatik olarak sentezlenmektedir (54). İnsanlarda, ALA karaciğer ve diğer dokulardan sentezlenir ve pirüvat dehidrogenaz ve α -keto-glutarat dehidrogenazın kofaktörü olarak işlev görür (144). Bitkiler içinde en fazla ıspanak, brokoli, domates, bezelye, brüksel lahanası, pirinç kepeği LA içermektedir. Hayvan dokuları içerisinde en fazla böbrek, kalp ve karaciğerde bulunmaktadır (144). ALA asimetrik karbon atomu içerir ve bu yüzden 2 tane optik izomeri vardır. Bunlar R-lipoik asit (R-ALA) ve S-lipoik asit (S-ALA)'dır. ALA R konfigürasyonunda doğal olarak oluşmaktadır (99). S formu sentetiktir. Sekiz karbonlu bir bileşiktir ve ditiyolen halka yapısında iki sülfür atomu içerir. LA oksidize ya da redükte tiyol gruplarını içeren küçük bir moleküldür. Oksidize formu genellikle lipoik asit veya α -lipoik asit, indirgenmiş formu ise dihidrolipoik asit (DHHLA) olarak adlandırılır. Okside lipoik asitte 6. ve 8. pozisyonlarda bulunan kükürtler kapalı bir halka meydana getirir. Lipoik asidin redükte şekli olan DHHLA açık zincir şeklinde olup 6. ve 8. pozisyonda bulunan kükürtler sülfidril grubu halinde bulunmaktadır. LA diyetle kolaylıkla emilebilir ve redükte nikotinamid adenin dinükleotit ya da redükte nikotinamid adenin tarafından DHHLA'ya dönüşmektedir (55).



Şekil 2.3.2.5. LA ve DHHLA'nın kimyasal yapıları (55).

Alfa lipoik asit insan diyetinde yeterli miktarda bulunmasına rağmen, de novo olarak mitokondride lipoik asit sentaz tarafından sentezlenmektedir (144). Hem lipit hem de sulu ortamda çözünür, kolayca emilir ve hücrelere taşınarak, DHLA'ya indirgenir (144). Alfa lipoik asit hücreye girdikten sonra sitozolik enzimler olan GSH redüktaz ve tiyoredoksin redüktaz ve mitokondrial enzim E3 tarafından indirgenmektedir (80). Mitokondrial enzim E3, NAD(P)H harcayarak LA'ı DHLA'de indirger. LA aynı zamanda NADPH'a bağımlı enzim GSH redüktaz için bir substrattır (88). LA ve metabolitleri karaciğerde depolanır. Lipoat metabolizmasındaki katabolik süreçler büyük oranda pentanoik asit yan zincirinin β -oksidasyonu üzerinden gerçekleşmektedir. İnsan metabolizmasında LA'in ana metaboliti 3-ketolipoat' tır. Bu metabolit serbest LA' in β -oksidasyonla yıkıma uğradığını göstermektedir (108). LA'nın hem okside hem de redükte formu güçlü bir antioksidan işleve sahiptir (54). ALA hidroksil radikalleri, singlet oksijen, hidrojen peroksit, hipokloröz asit, peroksinitrit ve nitrik oksit gibi oksidanları ortadan kaldırır. DHLA ayrıca peroksil ve süperoksit radikallerini ortadan kaldırır (144).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 200-250 g ağırlığında dişi Sprague-Dawley türü sıçanlar kullanıldı. 12 günlük ışınlama periyodlarından önce sıçanların sırtındaki tüyler anestezi altında jiletle traşlandı. Sıçanlar standart bir diyetle beslendi ve istedikleri kadar su içmelerine izin verildi. Gece-gündüz sirkülasyonunda, 20-25°C oda sıcaklığında bulunduruldu. 6 gruba ayrıldılar:

Kontrol grubu (n=7): sadece serum fizyolojik (SF) verildi.

UVA grubu (n=8): UVA aşağıdaki protokole göre irradi edildi ve SF verildi.

UVA+mısır yağı grubu (n=6): UVA ile irradi edildi ve mısır yağı verildi.

UVA+CoQ₁₀ grubu (n=7): UVA ile irradi edildi ve CoQ₁₀ verildi.

UVA+ALA grubu (n=8): UVA ile irradi edildi ve ALA verildi.

UVA+ALA+CoQ₁₀ (kombin) grubu (n=9): UVA ile irradi edildi, ALA ve CoQ₁₀ verildi.

(Çalışmada hayvan kayıpları olduğu için grup sayıları farklıdır.)

UVA irradyasyonu: UVA ışını General Electric Corp. tarafından üretilen 5 adet flouresans lambadan (Black light) oluşan bir setle verildi. Işık kaynağı ile ratların sırtı arasındaki uzaklık 30cm'di. Günde 4 saat olmak üzere toplam 20 W/cm² ışın verildi (114). Enjeksiyonda kullanılan maddeler ışınlama başlamadan 1.5 saat önce verildi. UV irradyasyonu 12.00-16.00 arasında uygulandı.

UVA ışının dozu Spectronics Corp. (USA)'un ürettiği DM-365 X Digital Radiometer ile ölçüldü (UVA dozu 365nm'dir)(71).

Kontrol grubuna intraperitoneal olarak SF verildi.

UVA grubuna intraperitoneal olarak ışınlama periyodunun başlamasından 1.5 saat önce SF verildi.

UVA+mısır yağı grubuna sadece mısır yağı intraperitoneal olarak ışınlama periyodunun başlamasından 1.5 saat önce verildi.

UVA+CoQ₁₀ grubuna 1mg/100 g vücut ağırlığı dozunda (48) sıçanlara intraperitoneal olarak, ışınlama periyodunun başlamasından 1.5 saat önce verildi.

UVA+ALA grubuna 50mg/kg vücut ağırlığı dozunda ALA (133) ve sıçanlara intraperitoneal olarak, ışınlama periyodunun başlamasından 1.5 saat önce verildi.

UVA+ALA+CoQ₁₀ (kombin) grubuna 1mg/100 g vücut ağırlığı dozunda CoQ₁₀ (48) ve 50mg/kg vücut ağırlığı dozunda ALA (133), sıçanlara intraperitonel olarak ışınlama periyodunun başlamasından 1.5 saat önce verildi.

Periyotların bitiminden hemen sonra sıçanların 4mg/ kg ketamin, 2mg/ kg ksilazin anestezisi altında intrakardiyak olarak kanları alındı ve heparinli tüplere konuldu. Kan örnekleri 3500 rpm'de 10dak santrifüj edildi. Plazmaları ayrıldı ve daha sonra eritrositler serum fizyolojik ile 3 kez yıkandı ve eritrosit paketi hazırlandı. Çalışma yapılarına kadar plazma ve eritrosit örnekleri -80°C'de saklandı. Dekapite edilen sıçanların karaciğer ve derileri çıkarılıp serum fizyolojikle yıkandıktan sonra analizler yapıncaya kadar -80°C'de saklandı.

1,1,3,3-tetrotoksipropan, 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), GSH, CoQ₁₀, ALA Sigma Chemical Co. (St. Luis, USA)'dan temin edildi.

ALA hazırlanışı: ALA bir miktar serum fizyolojikte çözüldü üzerine 1M NaOH ilave edildi ve 1M HCl ile pH 7.4'e ayarlandı (7).

CoQ₁₀ hazırlanışı: CoQ₁₀ 0,4ml mısır yağında çözüldü (48).

Tüm spektrofotometrik ölçümlerde UV-1601 Shimadzu spektrofotometre kullanıldı.

Tüm doku homojenize işlemi Ultra –Turrax T25 ile yapıldı.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Plazma ve doku malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü

MDA ölçümü, Ohkawa ve arkadaşlarının MDA'nın asidik ortamda tiobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532nm'de absorbansının ölçülmesi prensibine dayanan yöntemi uygulanarak yapıldı (104). Bu metod lipid peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu temeline dayanmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansının 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipid peroksidasyonunun derecesi saptanmaktadır (18).

Reaktifler:

1. KCl 0,15N
2. Sodyum dodesil sülfat %8,1'lik
3. Asetik asit %20'lik pH: 3.5
4. Tiyobarbitürik asit %0,8'lik pH: 5.5

Karaciğer ve deri MDA düzeylerinin ölçümü için, dokular 0.15 M KCl tamponunda homojenize edildi (1gr doku+9ml tampon). 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatandan ve plazma numunesinden 0.5'er ml alınarak her birinin üzerine 0.2ml %8.1 sodyum dodesil sülfat, 5ml %20 asetik asit (pH: 3.5) ve 1.5ml %0.8 tiobarbitürik asit solüsyonu eklenerek 95°C ' de 60 dak ısıtıldı. Çeşme suyunda soğutulduktan sonra 4000rpm'de 10 dak santrifüj edildi. Üst tabakanın absorbanı 532nm'de ölçüldü.

Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan'ın 4.403 µM/ml'lik çözeltisi kullanıldı.

$$\text{Numunenin konsantrasyonu} = \frac{\text{Numunenin absorbanı}}{\text{Standartın absorbanı}} \times \text{Standartın konsantrasyonu}$$

MDA düzeyleri yukarıdaki formüle göre hesaplandı ve plazmada nmol/ml ve dokuda nmol/mg protein olarak ifade edildi.

3.2.2. Tam kan ve doku redükte glutatyon düzeylerinin ölçümü

Redükte glutatyon düzeyi spektrofotometrik olarak Beutler yöntemi ile belirlendi. Tam kan ve dokudaki redükte glutatyonun sülfidril grupları bir disülfid kromojeni olan 5,5'dithiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)'i indirgenmesiyle sarı renkli bir bileşik oluşur. Bu bileşiğin 412nm'de ölçülen absorbanı redükte glutatyon konsantrasyonu ile doğrudan orantılıdır.

Reaktifler:

1. Çöktürücü Çözelti

Glasiyel metafosforik asit 1.67g/dl

Disodyum EDTA 0.2g/dl

NaCl 30g/dl

2. Na₂HPO₄ 0.3M

3. DTNB Çözeltisi (5,5'-2-dithiobis nitrobenzoik asit) 2 mM

Kan GSH'sı için 0.2ml tam kan 1.8ml distile su ile karıştırılarak hemoliz edildi(hemolizat). Karaciğer ve deri dokuları ise 0.15 M KCl tamponunda homojenize edildi (1g doku+ 9ml tampon). 3500rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatandan 0.5 ml alınıp üzerine 1.5ml 0.15 M KCl eklendi. Hazırlanan hemolizat ve süpernatandan numuneleri üzerine 1.67 g/dl metafosforik asit, 0.2 g/dl EDTA ve 30g/dl NaCl içeren çöktürücüden 3 ml eklenerek karıştırıldı. 5 dk oda ısısında bekletildikten sonra Whatman 1 kağıdından süzülerek filtrat elde edildi. Filtrat 2 ml 0.3 M Na₂HPO₄ çözeltisi ilave edilerek 412 nm'de (OD1) okundu ve tüplere 0.5 ml 40 mg/dl DTNB (%1'lik sodyum sitrat içerisinde çözülen) ile muamele edilerek, oluşan rengin absorbanısı 412 nm'de köre karşı okundu (OD2).

$$C \text{ doku} = (OD2-OD1)/13600 \times E1 \times 5/2 \times 1/2$$

$$C \text{ eritrosit} = (OD2-OD1)/13600 \times E1 \times 5/2 \times 1/2$$

13600: GSH ile DTNB etkileşimi sırasında oluşan sarı rengin molar ekstinksiyon katsayısı

E1 : Eni 6 nm'den büyük olan bant kullanılırsa hem ışık yolu hem de bant genişliği farklarını düzelteren bir türev ekstinksiyon katsayısı kullanılır. Hesaplamalarda E1 kullanılmamıştır.

$$C \text{ doku (nmol /mg protein)} = (OD2-OD1) \times 0.092 / \text{Protein (mg/ml)} \times 1000$$

$$C \text{ tam kan (mg/g hemoglobin)} = (OD2-OD1) \times 0.092 / \text{Hemoglobin(g/dl)}$$

OD1 : DTNB ilave edilmeden önce 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite

OD2 : DTNB ilave edildikten sonra 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite

1000: nanomol çevirim katsayısı

Tam kan GSH düzeyleri mg/g Hb ve doku GSH düzeyleri nmol/mg protein olarak ifade edildi (79).

3.2.3. Eritrosit ve doku katalaz (KAT) aktivitesinin ölçümü

Eritrosit CAT aktiviteleri Beutler'in spektrofotometrik metoduna göre çalışıldı (19). CAT aktivitesi, H₂O₂'nin H₂O'ya dönüşmesi esnasındaki absorbans değişimi reaktif körüne (H₂O₂ hariç diğer bütün reaktifleri içeren kör) karşı 230 nm dalga boyunda absorbans farkları alınarak hesaplandı.

Reaktifler:

- Tris-HCl-EDTA pH: 8,0
- Tris-HCl 1 mM
- EDTA 5 mM
- H₂O₂ 10 mM

Eritrosit hemolizatu dilisyonu 1/100'e tamamlandı. 100 µl Tris-HCl-EDTA (pH:8,0) üzerine 1800 µl 10 mM H₂O₂ ve 60 µl distile su eklenip 10 dakika 37 °C'de inkübe edildi. Enzimatik reaksiyon, dilüe hemolizattan (1/2000)'tan 40 µl eklenmesi ile başlatıldı. H₂O₂ 'nin H₂O 'ya dönüşümünü, 4 dakika boyunca reaktif körüne karşı (H₂O₂ hariç diğer bütün reaktifleri içeren kör) absorbans değişimi izlenip kaydedildi (5 ölçüm yapıldı). Bir dakikada oluşan ABS değişimi (ΔABS) bulundu. Enzim ünitesi, absorbans değişimi H₂O₂ 'ye ait ekstinksiyon kat sayısına bölünerek aşağıdaki formüle göre hesaplandı. KAT aktiviteleri U/g Hb olarak ifade edildi. Karaciğer ve deri örnekleri de aynı şekilde çalışıldı. CAT aktiviteleri U/mg protein olarak ifade edildi.

$$A_{\text{eritrosit}} = (\Delta \text{ABS} / (E \times N \times \text{VH})) / \text{Hb}$$

$$A_{\text{doku}} = (\Delta \text{ABS} / (E \times N \times \text{VH})) / \text{Protein}$$

E: Milimolar ekstinksiyon kat sayısı (H₂O₂ için 0,71)

N: İndikatörün molekül sayısı (H₂O₂ için 2)

VH: Homojenatın volümü

ΔABS: Dakikada değişen absorbans

Hb: Hb miktarı (g/dl)

Protein: protein miktarı (mg/ml)

3.2.4. Biüret (protein) yöntemi

Protein tayini biüret yöntemiyle yapıldı (150).

Ayıraçlar:

CuSO₄ 1,5 g

Na-K tartarat 6g

NaOH 30g

Potasyum iyodür 1g

Yöntem: Çözeltiler tüplere aşağıdaki gibi koyulmuştur.

	Kör	Numune
Homojenat	-	50µl
Distile su	50µl	-
Biüret	1,25ml	1,25ml

Hepsi karıştırılır, 15dakika beklenir ve spektrofotometrede standardı bilinen konsantrasyonda protein tayini 545 nm dalga boyunda absorbans okunarak hesaplama yapılmıştır. Protein değerleri mg/ml olarak ifade edilmiştir.

3.2.5. Hemoglobin tayini

Hemoglobin tayini Drabkin çözeltisi ile yapıldı (137). Drabkin çözeltisinde bulunan ferrisiyanür hemoglobindeki +2 değerlikli demiri +3 değere yükseltgeyerek hemoglobini methemoglobine dönüştürür. Bu ise potasyum siyanür ile birleşerek stabil olan siyanomethemoglobini oluşturur. Siyanomethemoglobinin 540 nm dalga boyunda verdiği optik dansite ölçülerek hemoglobin (Hb) miktarı saptanır.

Ayıraçlar:

1. Drabkin Çözeltisi

K₃Fe(CN)₆ 0,2g

KCN 0,05g

NaHCO₃ 1g

Saf su ile 1L'ye tamamlanmıştır.

Yöntem : Çözeltiler tüplere aşağıdaki gibi koyulmuştur.

	Kör	Örnek
Hemolizat	0,02distile su ml	0,02 ml
Drabkin Çözeltisi	6 ml	6 ml

5 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için hemoglobin standardı 1,2,4,8,16 g/dl'lik konsantrasyonlarda hazırlandı. Standartlar 540 nm'de spektrofotometre ile ölçümü sonucu elde edilen absorbanslardaki konsantrasyon değerleri hesaplandı. Hb değerleri g/dl olarak ifade edildi ve aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Numunenin konsantrasonu} = \frac{\text{Numunenin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}} \times \text{Standardın konsantrasyonu}$$

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatiksel değerlendirme; Tüm veri analizleri SPSS 15.0 ve Sigmastat 3.5 paket programı ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, normal dağılım gösterenler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Normal dağılım gösteren verilerin grup sayılarına göre ANOVA, normal dağılım göstermeyen verilerin grup sayılarına göre Kruskal-Wallis (bu testin çoklu karşılaştırılmalarında Dunn's Method ve Holm-Sidak methodtan yararlanılmıştır) ile analiz edilmiştir. P<0.05 olasılık değerleri önemli olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

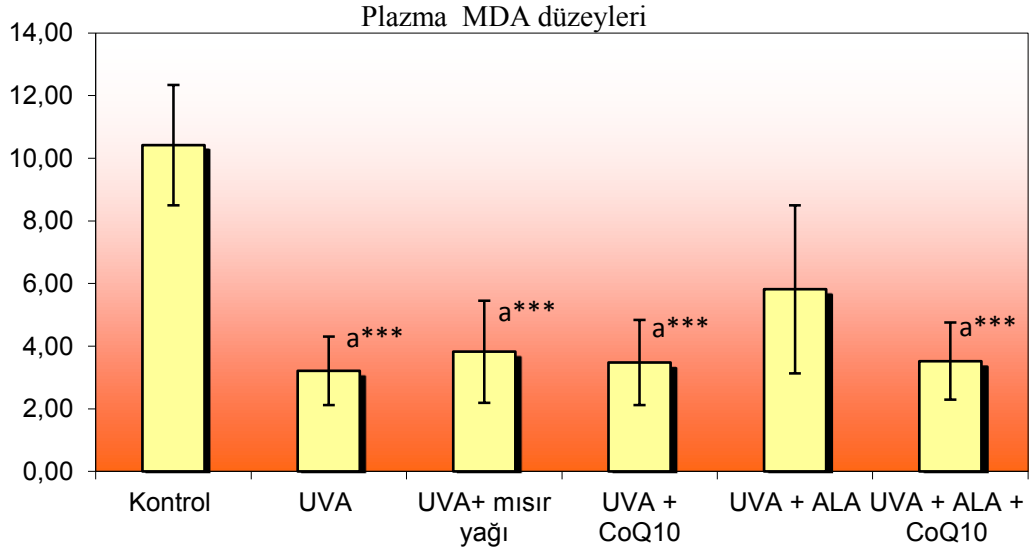
4.1. Plazma ve Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyleri

Plazma MDA düzeyleri çizelge 4.1.a'da gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA grubunda, UVA+mısır yağı grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0,001***). UVA grubuna göre plazma MDA düzeyleri; kontrol grubunda anlamlı olarak yüksekti (p<0,001***). UVA+mısır yağı grubuna göre plazma MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,05*). Ayrıca UVA+ mısır yağı grubuna göre; UVA grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda hafif fakat önemsiz olarak azaldı. Veriler ortalama ± sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.1.a. Plazma MDA düzeyleri (nmol/ml)

Plazma MDA	<i>ortalama ± sd</i>
Kontrol	10,42±1,92 ^{b,c}
UVA	3,21±1,09 ^a
UVA+mısır yağı	3,82±1,63 ^a
UVA+CoQ ₁₀	3,48±1,36 ^a
UVA+ALA	5,81±2,68
UVA+ALA+CoQ ₁₀	3,52±1,23 ^a

- Kontrol grubuna göre (p<0,001***) (ileri düzeyde farklılık var)
- UVA grubuna göre (p<0,001***)
- UVA+mısır yağı grubuna göre (p<0,05*) (önemli farklılık var)



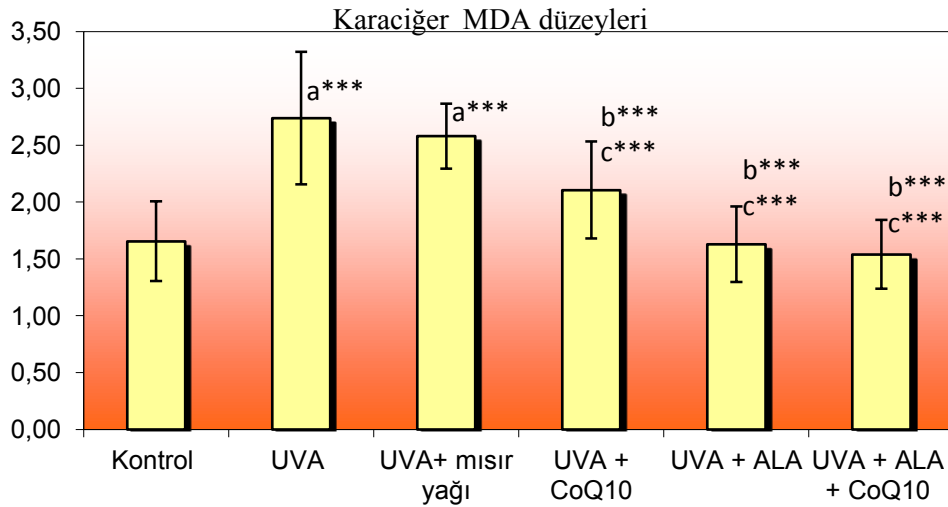
Şekil 4.1.a. Plazma MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Karaciğer MDA düzeyleri çizelge 4.1.b’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre karaciğer MDA düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA grubunda ve UVA+mısır yağı grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA grubuna göre karaciğer MDA düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA+mısır yağı grubuna göre karaciğer MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; kontrol grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). Veriler ortalama \pm sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.1.b. Karaciğer MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Karaciğer MDA	<i>ortalama \pm sd</i>
Kontrol	1,66 \pm 0,35 ^{b,c}
UVA	2,74 \pm 0,58 ^a
UVA+mısır yağı	2,58 \pm 0,29 ^a
UVA+CoQ ₁₀	2,11 \pm 0,43 ^{b,c}
UVA+ALA	1,63 \pm 0,33 ^{b,c}
UVA+ALA+CoQ ₁₀	1,54 \pm 0,30 ^{b,c}

- a) Kontrole göre ($p<0,001^{***}$) (ileri düzeyde farklılık var)
b) UVA’ ya göre ($p<0,001^{***}$)
c) UVA+ mısır yağı grubuna göre ($p<0,001^{***}$)



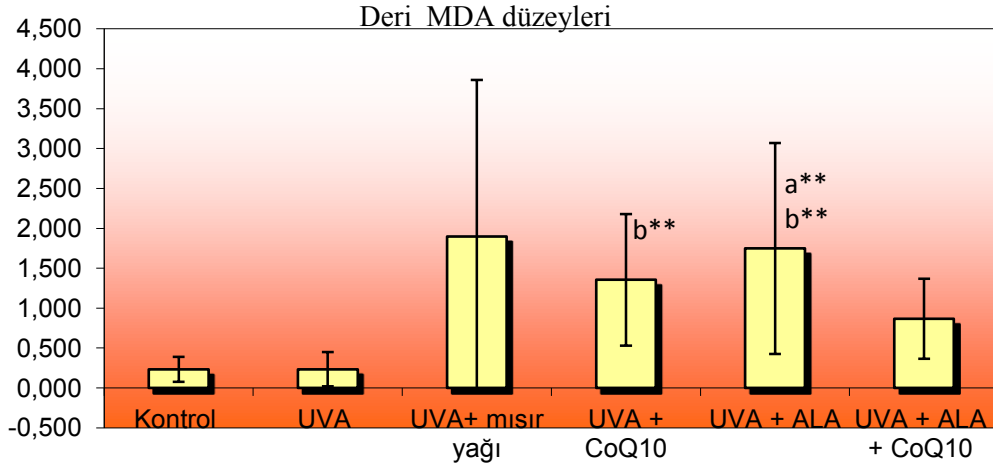
Şekil 4.1.b. Karaciğer MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Deri MDA düzeyleri çizelge 4.1.c’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre deri MDA değerleri kontrol grubuna göre; UVA+ALA grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,01^{**}$). UVA grubuna göre deri MDA düzeyleri; UVA+CoQ₁₀ grubu ve UVA+ALA grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,01^{**}$). UVA+mısır yağı grubuna göre deri MDA düzeyleri; kontrol grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda hafif fakat önemsiz düzeyde azalmıştır. Veriler ortalama \pm sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.1.c. Deri MDA düzeyleri (nmol/ mg protein)

Deri MDA	<i>ortalama \pm sd</i>
Kontrol	0,233 \pm 0,157
UVA	0,234 \pm 0,214
UVA+mısır yağı	1,900 \pm 1,961
UVA+CoQ ₁₀	1,355 \pm 0,825 ^b
UVA+ALA	1,749 \pm 1,322 ^{a,b}
UVA+ALA+CoQ ₁₀	0,867 \pm 0,502

- a) Kontrole göre ($p < 0,01^{**}$) (çok önemli düzeyde farklılık var)
b) UVA’ ya göre ($p < 0,01^{**}$)



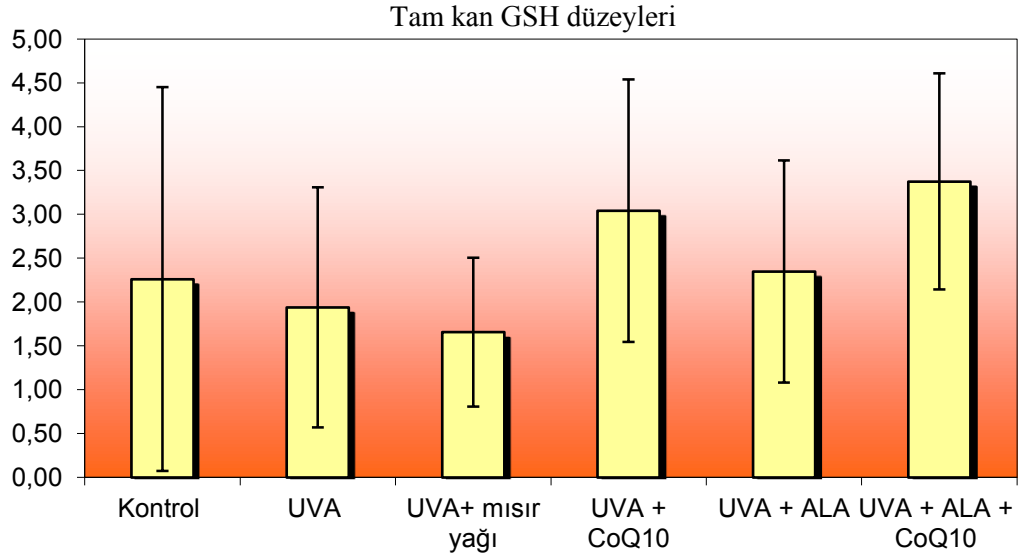
Şekil 4.1.c. Deri MDA düzeylerinin karşılaştırılması

4.2. Tam Kan ve Doku Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyleri

Tam kan redükte glutasyon (GSH) düzeyleri çizelge 4.2.a'da gösterilmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Veriler ortalama \pm sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.2.a. Tam kan GSH düzeyleri (mg/g Hb)

Tam kan GSH	ortalama \pm sd
Kontrol	2,26 \pm 2,19
UVA	1,94 \pm 1,37
UVA+ mısır yağı	1,66 \pm 0,85
UVA + CoQ ₁₀	3,04 \pm 1,50
UVA + ALA	2,35 \pm 1,27
UVA + ALA + CoQ ₁₀	3,38 \pm 1,23



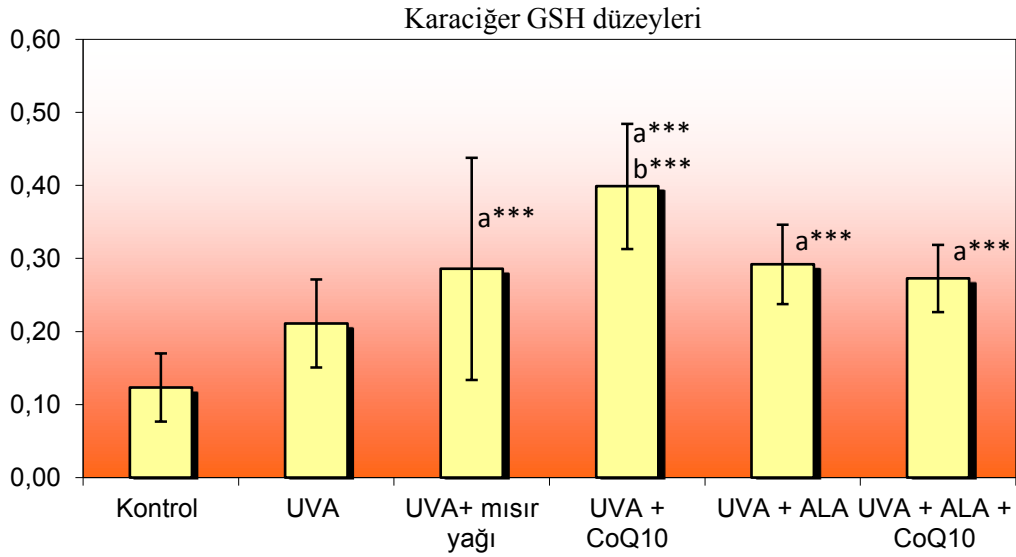
Şekil 4.2.a. Tam kan GSH düzeyleri

Karaciğer redükte glutatyon (GSH) düzeyleri çizelge 4.2.b’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA+mısır yağı grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,001***). UVA grubuna göre karaciğer GSH düzeyi; UVA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,001***). Ayrıca UVA grubuna göre karşılaştırıldığında UVA+mısır yağı, UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında hafif fakat önemsiz düzeyde artmıştır. Veriler ortalama ± sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.2.b. Karaciğer GSH düzeyleri (nmol/mg protein)

Karaciğer GSH	<i>ortalama ± sd</i>
Kontrol	0,12±0,05 ^c
UVA	0,21±0,06
UVA+mısır yağı	0,29±0,15 ^a
UVA+CoQ ₁₀	0,40±0,09 ^{a,b}
UVA+ALA	0,29±0,05 ^a
UVA+ALA+CoQ ₁₀	0,27±0,05 ^a

- a) Kontrole göre (p< 0,001***) (ileri düzeyde farklılık var)
b) UVA’ ya göre (p< 0,001***)
c) UVA+ mısır yağı grubuna göre (p<0,001***)

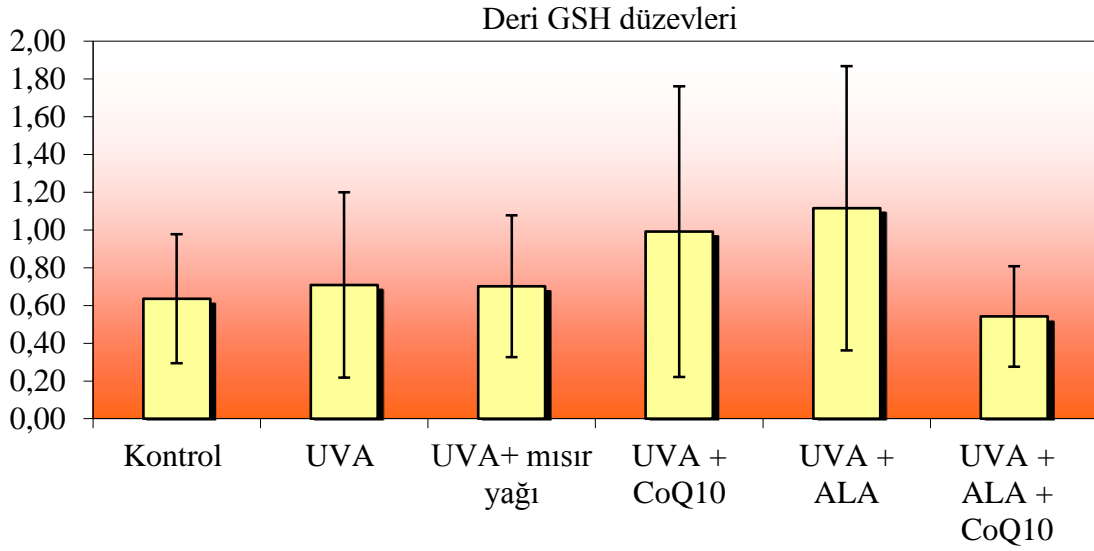


Şekil 4.2.b. Karaciğer GSH düzeylerinin karşılaştırılması

Deri GSH düzeyleri çizelge 4.2.c'de gösterilmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Veriler ortalama \pm sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.2.c. Deri GSH düzeyleri (nmol/mg protein)

Deri GSH	ortalama \pm sd
Kontrol	0,64 \pm 0,34
UVA	0,71 \pm 0,49
UVA+mısır yağı	0,70 \pm 0,38
UVA+CoQ ₁₀	0,99 \pm 0,77
UVA+ALA	1,12 \pm 0,75
UVA+ALA+CoQ ₁₀	0,54 \pm 0,27



Şekil 4.2.c. Deri GSH düzeylerinin karşılaştırılması

4.3. Eritrosit ve Doku Katalaz (KAT) Düzeyleri

Eritrosit KAT düzeyleri çizelge 4.3.a'da gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre eritrosit KAT değerleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; UVA+mısır yağı ve UVA+CoQ₁₀ gruplarında anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0,05*). Veriler ortalama ± sd olarak ifade edilmiştir.

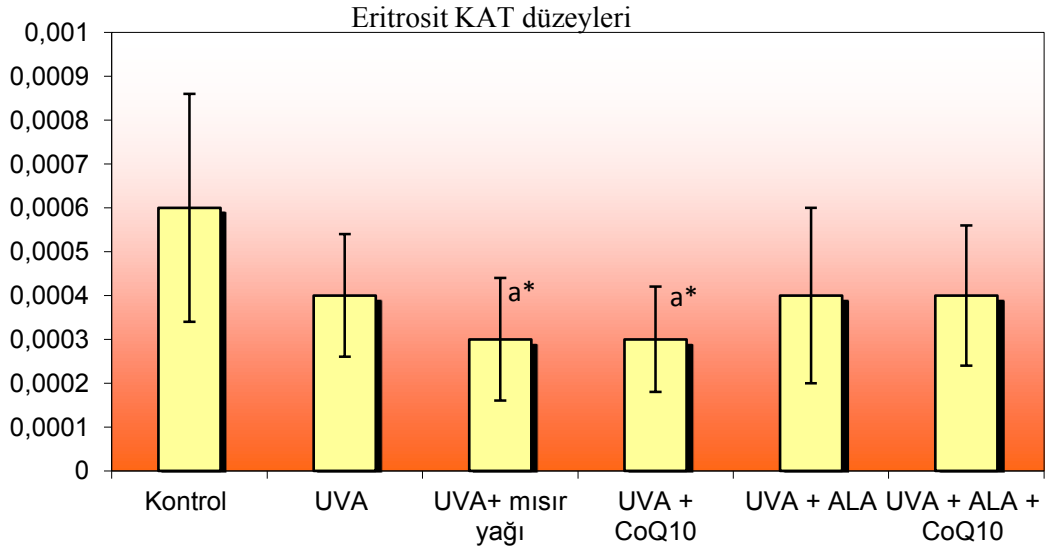
Çizelge 4.3.a. Eritrosit_KAT düzeyleri (U/g Hb)

Eritrosit KAT	<i>ortalama ± sd</i>
Kontrol	0,0006±0,0003 ^c
UVA	0,0004±0,0001
UVA+mısır yağı	0,0003±0,0001 ^a
UVA+CoQ ₁₀	0,0003±0,0001 ^a
UVA+ALA	0,0004±0,0002
UVA+ALA+CoQ ₁₀	0,0004±0,0002

a) Kontrole göre p< 0,05* (önemli düzeyde farklılık var)

b) UVA'ya göre

c) UVA+ mısır yağı grubuna göre p< 0,05*



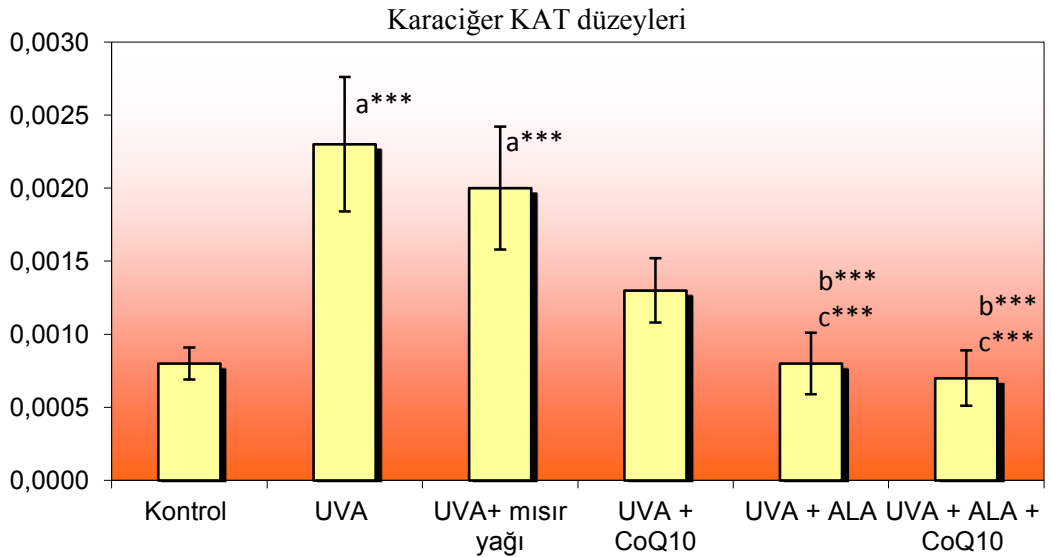
Şekil 4.3.a. Eritrosit KAT düzeylerinin karşılaştırılması

Karaciğer KAT düzeyleri çizelge 4.3.b'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre karaciğer KAT düzeyi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; UVA grubu ve UVA+mısır yağı grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA grubuna göre karaciğer KAT düzeyi; kontrol grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA+mısır yağı grubuna göre karaciğer KAT düzeyi; kontrol, UVA+ALA ve UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). Veriler ortalama \pm sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.3.b. Karaciğer KAT düzeyleri (U/mg protein)

Karaciğer KAT	<i>ortalama \pm sd</i>
Kontrol	0,0008 \pm 0,0001 ^{b,c}
UVA	0,0023 \pm 0,0005 ^a
UVA+mısır yağı	0,002 \pm 0,0004 ^a
UVA+CoQ ₁₀	0,0013 \pm 0,0002
UVA+ALA	0,0008 \pm 0,0002 ^{b,c}
UVA+ALA+CoQ ₁₀	0,0007 \pm 0,0002 ^{b,c}

- a) Kontrole göre $p<0,001^{***}$ (ileri düzeyde farklılık)
- b) UVA'ya göre $p<0,001^{***}$
- c) UVA+ mısır yağı grubuna göre $p<0,001^{***}$



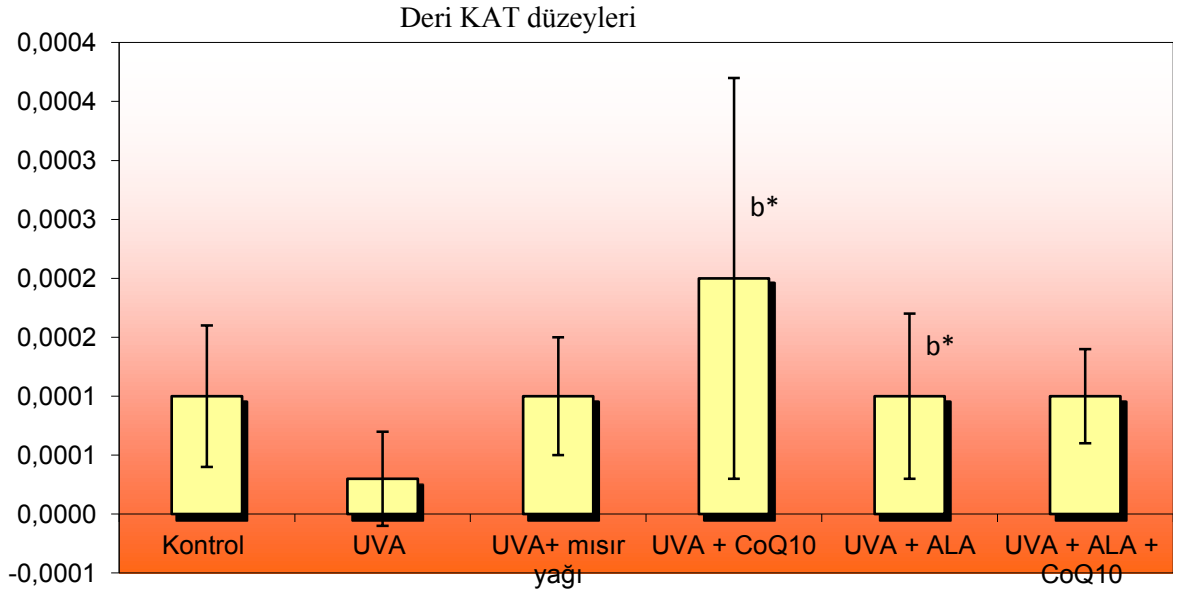
Şekil 4.3.b. Karaciğer KAT düzeylerinin karşılaştırılması

Deri KAT düzeyleri çizelge 4.3.c’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre deri KAT değerleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; UVA grubunda azalma, UVA+mısır yağı, UVA+ALA, UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında aynı düzeye gelmiştir fakat bu sonuç önemsiz düzeydedir. UVA grubuna göre deri KAT düzeyleri; UVA+CoQ₁₀ ve UVA+ALA gruplarında anlamlı olarak artmıştır (P<0,05*). Ayrıca UVA grubuna göre karşılaştırıldığında kontrol ve UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında artış vardır fakat bu artış önemsiz düzeyde kalmıştır. Veriler ortalama \pm sd olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.3.c. Deri KAT düzeyleri (U/mg protein)

Deri_KAT	<i>ortalama \pm sd</i>
Kontrol	0,0001 \pm 0,00006
UVA	0,00003 \pm 0,00004
UVA+mısır yağı	0,0001 \pm 0,00005
UVA+CoQ ₁₀	0,0002 \pm 0,00017 ^b
UVA+ALA	0,0001 \pm 0,00007 ^b
UVA+ALA+CoQ ₁₀	0,0001 \pm 0,00004

- a) Kontrole göre p< 0,05* (önemli düzeyde farklılık var)
b) UVA’ya göre p< 0,05*



Şekil 4.3.c. Deri KAT düzeylerinin karşılaştırılması

5.TARTIŞMA

UV radyasyonunun yarattığı oksidatif stres insanlarda deri kanserlerinin (57) en önemli sebeplerinden biridir. UV radyasyonuna maruz kalan ilk organ deridir. Canlının bir organında meydana gelen olaylardan kan yolu ile diğer organların etkilenmesi de muhtemeldir. UVA radyasyonu (UVA 320-380nm), dünyaya ulaşan tüm güneş ışınları spektrumlarının %96'sını oluşturmaktadır (155). Güneş ışınlarının vücuttaki olumsuz etkisi başlıca UVA tarafından oluşturulmaktadır. UVB 'nin mutajenik potansiyeli UVA' dan çok daha yüksek olmasına rağmen UVA da küçümsenmemelidir (120). Bu nedenle biz UV radyasyonunun etkisini UVA ışını kullanarak, deri ve deriden sonra en çok etkilenebilecek organ olan karaciğer ve kanda inceledik. Eğer organizma oksidatif hasardan etkilenmişse, onu bu oksidatif hasardan koruyabilecek yada iyileştirmede yararlı olabilecek antioksidanlar olan CoQ₁₀ ve ALA etkisini inceledik.

Hücressel düzeyde, UVA radyasyonu, singlet oksijen, süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini (ROS) üreterek, oksidatif strese sebep olur (155).

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır (97). Bu koruyucu mekanizmaların bir kısmı serbest radikal oluşumunu önlerken, bir kısmı da oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemektedir. Bu işlevleri yapan maddelere genel olarak 'Antioksidanlar' denir (41). Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipitlerin peroksidasyonuna karşı koruması olmuştur. Ayrıca lipitlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef moleküllerini de koruyucu etkilere sahiptirler.

Lipit peroksidasyonu ROS tarafından oluşturulmuş oksidatif stresin en önemli ifadelerinden biridir. MDA ise lipit peroksidasyonunun bir indikatörüdür (151). MDA nonenzimatik oksidatif lipit peroksidasyonunun parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerinden biridir.

CoQ membranlarda doymamış lipit zincirlerine yakın olarak bulunur ve primer serbest radikal süpürücüsüdür (38). Hücre membranlarındaki CoQ'nun büyük bir kısmı ubikinol şeklindedir ve CoQ'nun redükte formu olan ubikinol çok etkili bir antioksidandır (38). Ubikinol antioksidan özelliğinden dolayı lipit peroksidasyonunu önler. Ayrıca hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının yakalayıcısı olarak fonksiyon görmektedir. Koenzim Q10, bir lipit antioksidanı olarak membran akışkanlığını regüle eder, E ve C vitamininin radikal formlarını tekrar kullanılabilir hale getirir ve peroksidasyona karşı membran fosfolipitlerini korur (8).

Ubikinol, VitE' nin redükte formunun devamlılığını sağlayarak da lipit peroksidasyonunu inhibe edebilir (46).

CoQ₁₀'un MDA üzerindeki etkisi bir çok araştırıcı tarafından çalışılmış ve MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü görülmüştür (2,76,83,87,105,155). CoQ₁₀'un MDA'yı düşürme etkisi redükte formu olan ubikinoln hidrojen peroksit ve hidroksil radikalinin yakalayıcısı olarak fonksiyon görmesinden ve CoQ'nun lipit peroksidasyonu üzerine etkisi, lipit radikali veya lipit peroksil radikallerini yakalamasına bağlı olabilir.

ALA'nın hem okside hem de redükte formu güçlü bir antioksidan işleve sahiptir (54). ALA hidroksil radikalleri, singlet oksijen, hidrojen peroksit, hipokloröz asit, peroksinitrit ve nitrik oksit gibi oksidanları ortadan kaldırır. DHLA ayrıca peroksil ve süperoksit radikallerini ortadan kaldırır (144).

ALA'nın MDA üzerindeki etkileri de birçok araştırıcı tarafından çalışılmış ve MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü görülmüştür (12,29,80,109,133). ALA'nın MDA'yı düşürme etkisi hidroksil radikalleri, singlet oksijen, hidrojen peroksit, hipokloröz asit, peroksinitrit ve nitrik oksit gibi oksidanları ortadan kaldırmasından ve redükte formu olan DHLA'nın peroksil ve süperoksit radikallerini ortadan kaldırmasından olabilir.

Özellikle linolenik ve araşidonik asitten zengin poliunsature yağ oranındaki artış serbest radikal oluşumunda etkilidir. UV radyasyonu sonucu aktive olan fosfolipaz A2 membranları yıkararak araşidonik asidi açığa çıkarır. Ortaya çıkan araşidonik asitten siklooksijenaz aktivitesiyle prostaglandin ve serbest oksijen radikalleri meydana gelir (22). Yani poliunsature yağ oranındaki artış UV ile oluşan oksidatif hasarı arttırıcı yönde etki gösterir. Biz de çalışmamızda poliunsature yağ olan mısır yağını kullandık.

Bu çalışmada karaciğer MDA düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA grubunda ve UVA+mısır yağı grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA grubuna göre karaciğer MDA düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA+mısır yağı grubuna göre karaciğer MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; kontrol grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$).

Bazı çalışmalarda da bizim çalışmamıza benzer sonuçlar rapor edilmiştir (71,114).

Bizim alışmamızda plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA grubunda, UVA+mısır yağı grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA+mısır yağı grubuna göre plazma MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05^*$). Ayrıca UVA+ mısır yağı grubuna göre; UVA grubunda,

UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda hafif fakat önemsiz olarak azaldı.

Bu sonuç kullanılan antioksidanların dozlarının UVA dozuna göre yetersiz kalmasından kaynaklanıyor olabilir.

Yapılan bazı çalışmalarda bizim çalışmamızın aksine (N-asetil serotonin ve quercetin) plazma MDA düzeyi kontrol grubunda diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur (71,151).

Bir çalışmada ALA'nın serbest halde deri ve plazmada bulunmadığı, oral yada parenteral infüzyon ile plazmada sadece yaklaşık 30 dak kaldığı ve ilk geçişi sırasında karaciğer tarafından temizlendiği belirtilmiştir (65,93,131).

Benzer etki bizim çalışmamızda da olmuş olabilir.

ALA topikal ve oral yolla uygulanmasının fotohasardan korunmada daha etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (111,112).

Bir çalışmada CoQ₁₀'nun zeytinyağı içinde emülsifiye ederek oral yolla sıçanlara vermişler ve plazma ve dokudaki CoQ₁₀ miktarını artırmışlardır (119,148,149). Diyetle alınması sonucunda kanda önemli miktarda artış sağlamışlardır.

Yine aynı çalışmada deriye topikal CoQ₁₀ kullanmışlar ve CoQ₁₀'nun miktarını artırmışlardır (119).

Kullandığımız antioksidanları etkilerinin bu şekilde olmasının intraperitonel uygulamadan dolayı olduğunu düşünmekteyiz.

Deri MDA değerleri kontrol grubuna göre; UVA+ALA grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,01**). UVA grubuna göre deri MDA düzeyleri; UVA+CoQ₁₀ grubu ve UVA+ALA grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,01**). UVA+mısır yağı grubuna göre deri MDA düzeyleri; kontrol grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda hafif fakat önemsiz düzeyde azalmıştır.

Bir hücre çalışmasında bizim çalışmamıza benzer olarak deri fibroblastları üzerine UV ile birlikte CoQ₁₀ emülsiyonu ve suda çözülmüş halde CoQ₁₀ kullanılmış ve suda çözülmüş olan CoQ₁₀'un, emülsiyon CoQ₁₀'a oranla MDA'ya daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (155).

Bizim çalışmamızda çıkan bu sonucun emülsiyon halde CoQ₁₀ kullandığımızdan dolayı olduğunu düşünüyoruz.

Bir hücre çalışmasında bizim çalışmamıza zıt olarak insan deri fibroblastlarına UVB uygulanmış ve antioksidan olarak aucubin kullanılmış. Deri MDA düzeyi kontrol

grubuna göre daha düşük bulunmuştur (66). Başka bir hücre çalışmasında insan deri fibroblastlarına UVB uygulanmış ve koruyucu olarak chlamys farreri kullanılmış ve MDA düzeyini azalttığı görülmüş (142). Başka bir çalışmada UVC ile oksidatif stres oluşturulmuş sıçanlara keten tohumu yağı kullanılmış ve MDA değerlerinin kontrole göre düşük bulunmuş(135).

UVA'nın dozuna bağlı olarak CoQ₁₀ ve ALA'nın uygulama şekli, uygulama dozu süresi yetersiz olduğundan kan seviyesine ve deriye ulaşamadığını düşünmekteyiz.

GSH hücrelerde bulunan en önemli nonenzimatik antioksidanlardan biridir. GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (29). Bunun dışında proteinlerin -SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupların oksidasyonuna engel olarak fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu önler (78).

UVA maruziyeti sonucu meydana gelen serbest radikallerin redükte glutasyonu okside glutatona dönüştürmesi nedeniyle UVA grubunda GSH miktarındaki azalma beklenen bir durumdur. Bunun aksine antioksidan tedavi alan gruplarda bu antioksidanların serbest radikalleri uzaklaştırması beklenildiğinden dolayı GSH düzeylerinde artma beklenen bir durumdur.

Bizim çalışmamızda tam kan redükte glutasyon (GSH) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda da kan GSH düzeyleri arasında önemli bir fark saptanmadığı bildirilmiştir (45,69). Bir çalışmada çalışmamızın aksine UVA ışını alan grubun kan GSH düzeylerinde azalma saptanırken quercetin tedavisi alan grupta kan GSH düzeylerinde artma saptanmıştır (75).

Çalışmamızda karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubuna göre; UVA+mısır yağı grubunda, UVA+CoQ₁₀ grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,001***). UVA grubuna göre karaciğer GSH düzeyi; UVA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,001***). Ayrıca UVA grubuna göre karşılaştırıldığında UVA+mısır yağı, UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında hafif fakat önemsiz düzeyde artmıştır. UVA+mısır yağı grubuna göre; kontrol grubunun GSH değeri anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0,001***).

Bu çalışmada tedavi alan gruplarda karaciğer GSH düzeylerinde artma olması kullanılan antioksidanların oksidatif maruziyetten korumada etkili olduğundan kaynaklanıyor olabilir.

Mısır yağı α - tokoferol içerir ve α - tokoferol güçlü bir antioksidandır. Mısır yağının olumlu etkisi içeriğindeki α - tokoferolden kaynaklı olabilir.

Yapılan bir çalışmada karaciğer GSH düzeyleri açısından gruplar arasında bir farklılık saptanamadığı rapor edilmiştir (71).

Deri GSH miktarı karaciğer ve kan GSH miktarına nazaran daha düşük düzeydedir.

Bizim çalışmamızda gruplar arasında deri GSH düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık saptanamamıştır.

Bu çalışmada deri GSH düzeylerinin etkilenmemesi deri GSH miktarının az olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bir çalışmada CoQ₁₀'u lokal olarak sıçanlara uyguladıkları bir çalışmada deriden gerçekleşen emilim oranlarının doza ve uygulama süresinin uzunluğuna bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (53).

Lokal uygulamayla sonuçlarımızın değişebileceğini düşünmekteyiz.

Yapılan bir hücre çalışmasında magnezyum askorbil fosfat ve CoQ₁₀'nun keratinositlerde UVA ışığına karşı GSH düzeylerini artırdığı rapor edilmiştir (69).

Başka bir çalışmada insan deri fibroblastlarında aucubin tedavisi kullanılmasıyla GSH düzeyleri artmıştır (66).

CoQ₁₀'un GSH'ı artırdığı çalışmalar (2,12,50) ve ALA'nın da GSH'ı artırdığı çalışmalar mevcuttur (10,29).

Katalaz enzimi, H₂O₂'yi, oksijen ve suya parçalar (18). Çoğunlukla hücrelerin peroksizomlarında bulunur (4). Yapısında 4 tane hem grubu bulunur (49,122).

Görünür ışık maruziyeti (UV maruziyeti) ; katalazı ve bu enzimin 4 hem grubundan birini yıkar. Sonuç olarak katalaz aktivitesini kaybeder. KAT aktivitesindeki kayıp UVA tarafından porfirin bağlarının ayrılmasından dolayıdır (71).

Yukarıda anlatıldığı gibi UV irradyasyonundan sonra KAT aktivitesinin azalması beklenen bir durumdur (100,106).

Bizim çalışmamızda UV grubu ile kontrol grubu arasında eritrosit KAT düzeyleri açısından istatistiksel olarak bir fark saptanamamıştır.

Eritrosit KAT değerleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; UVA+mısır yağı ve UVA+CoQ₁₀ gruplarında anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p< 0,05*).

Bu sonuç kullanılan antioksidanların dozlarının UVA dozuna göre yetersiz kalmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bir çalışmada bizim çalışmamıza paralel olarak UV radyasyonundan sonra N-asetil serotonin tedavisi alan grupta eritrosit KAT aktivitesi azalmıştır (151).

Bu çalışmada karaciğer KAT düzeyi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; UVA grubu ve UVA+mısır yağı grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA grubuna göre karaciğer KAT düzeyi; kontrol grubunda, UVA+ALA grubunda ve UVA+ALA+CoQ₁₀ grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$). UVA+mısır yağı grubuna göre karaciğer KAT düzeyi; kontrol, UVA+ALA ve UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında düşük bulunmuştur ($p<0,001^{***}$).

Bir çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak UV radyasyonuna maruz bırakılan sıçanlara tedavi amaçlı uygulanan askorbik asit ve beta karoten uygulanan gruplarda karaciğer KAT aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (67).

Başka bir çalışmada da quercetin tedavisi alan grupta UVA grubuna ve kontrol grubuna göre KAT aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (71).

Bizim çalışmamıza zıt olarak kurşun toksisitesinin araştırıldığı başka bir çalışmada oksidatif stres sonrası karaciğer KAT aktivitesinin azalması gözlemlenmiştir (123). Yine kurşun toksisitesinin araştırıldığı bir çalışmada oksidatif stres sonrası karaciğer KAT aktivitesinin azalması ve lipoik asit ile karaciğer KAT seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (109).

Bu durum farklı antioksidanların kullanılmasından kaynaklı olabilir.

Bizim çalışmamızda deri KAT değerleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında; UVA grubunda azalma, UVA+mısır yağı, UVA+ALA, UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında aynı düzeye gelmiştir fakat bu sonuç önemsenmeyecek derecededir. UVA grubuna göre deri KAT düzeyleri; UVA+CoQ₁₀ ve UVA+ALA gruplarında anlamlı olarak artmıştır ($P<0,05^*$). Ayrıca UVA grubuna göre karşılaştırıldığında kontrol ve UVA+ALA+CoQ₁₀ gruplarında artış vardır fakat bu artış önemsenmeyecek kadar küçüktür.

Bir çalışmada bizim çalışmamıza zıt olarak UV maruziyetinden sonra derinin epidermis ve dermis tabakalarında KAT düzeyinde önemli bir farklılık saptanmamıştır (118).

Bir çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak melatonin tedavisi alan UVA ve UVB radyasyonuna maruz kalmış hayvanlarda deri KAT aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (139). Yine çalışmamıza paralel olarak alfa tokoferol ve beta karoten tedavisi kullanılan başka bir UVA radyasyon çalışmasında deri KAT aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir (47). Ayrıca bunlara zıt olarak deri KAT aktivitesinin beta karoten tedavisinden etkilenmediğini gösteren bir çalışma da mevcuttur (89).

CoQ₁₀'nun KAT üzerindeki etkisi birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve KAT seviyesini artırdığı rapor edilmiştir (2,86,87). Aynı zamanda ALA'nın da KAT aktivitesini artırdığı bir çalışmada rapor edilmiştir (6).

Çevresel faktörlerden olan UV ışığı özellikle de UVA deriyi ve deri yoluyla vücudun diğeri organlarını etkileyebileceğine dair düşüncemiz, araştırmamızda elde ettiğimiz verilerle desteklenmiştir. Antioksidan olarak CoQ₁₀, ALA ve bu ikilinin yeterli dozda kullanıldığında bu zararlı etkileri önleyerek ya da oluşabilecek hasarı azaltarak yararlı olabileceğini düşünürüz.

6. SONUÇ

Güneş ışınları spektrumunun karsinogenezisi için en etkili dalga boyu UVB (280-320nm) olduğu bilinmektedir. Ancak UVA da küçümsenmemelidir. Çünkü UVB'den 30 kat daha hızlı dünya yüzeyine ulaşmaktadır. UVA; epidermis, dermis ve derialtı dokulara penetre olarak, deri foto-yaşlanması, inflamasyon, deri kanseri, modifiye edilmiş gen ekspresyonu ve DNA hasarı yapar ve buna bağlı olarak; anormal hücre morfolojileri, hücre apoptozu veya nekrozu yapar, elastozis, eritem/ ödem ve pigmentasyon , fotokeratitis, görme duyarlılığında azalma, inflamasyon, oküler yüzeyde yanma, katarakt gibi birçok duruma sebep olur. Derideki antioksidan savunma sistemi derideki UV'nin oluşturduğu hasarı önlemede rol oynayabilir. Fakat antioksidan korumayı aşan ROS'nin sistemik olarak bütün vücudu etkilemesi muhtemeldir. Diyetle antioksidanların alınmasının bu hasarı önlemede yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda UVA ışını ile karaciğer MDA düzeyi önemli derecede artmıştır. Plazma MDA düzeyi ise UVA ışını ile önemli derecede azalmıştır. Deri ve tam kanda UVA ışını verildikten sonra GSH düzeylerinde önemli bir farklılık bulunamamıştır. UVA ışını verildikten sonra deri KAT aktivitesi azalmıştır ancak bu azalma önemsenmeyecek derecededir.

CoQ₁₀, ALA ve ALA+CoQ₁₀'nun MDA düzeyine etkisi plazma ve karaciğerde azalma şeklinde görülmüştür. Bu antioksidanlar karaciğer GSH düzeyini önemli derecede arttırmıştır. Deri ve tam kan GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Bu antioksidanların deri KAT aktivitesini önemli düzeyde artırdığı görülmüştür.

Sonuç olarak, Çevresel faktörlerden olan UV ışığı özellikle de UVA deriyi ve deri yoluyla vücudun diğer organlarını etkileyebileceğine dair düşüncemiz, araştırmamızda elde ettiğimiz verilerle desteklenmiştir. Antioksidan olarak CoQ₁₀ ve ALA'nın yeterli dozda kullanıldığında bu zararlı etkileri önleyerek ya da oluşabilecek hasarı azaltarak yararlı olabileceğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Absalan, G., Arabi, M., Tashkhourian, J., 2012, Construction of an optical sensor for the determination of ascorbic acid using ionic liquids as modifier, *Analytical Sciences*, 1225-1230, 5p.
2. Ahmadvand, H., Tavafi, M., Khosrowbeygi, A., 2012, Amelioration of altered antioxidant enzymes activity and glomerulosclerosis by coenzyme Q10 in alloxan-induced diabetic rats. *J Diabetes Complications*.
3. Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Basım, Yayım ve Dağıtım A.Ş., Konya.
4. Alhan, C-C., Şan, M., 2002, Koroner kalp hastalığı tedavisinde anti-oksidanlar yararlı mı?. *T. Klin. J. Cardiol*, 15 s.
5. Altıntaş, S., , 2006, Kahramanmaraş'ta bazı iş kollarında çalışan boya işçilerinde plazma ve eritrosit membranı sialik Asit, glutatyon, plazma nitrik oksit ve lipid peroksidasyonu düzeylerinin değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv., Fen Bil. Enstitüsü, Kahramanmaraş.
6. Arivazhagan, P., Shila, S., Kumaran, S., Panneerselvam, C., 2002, Effect of DL-alfa lipoic acid on the status of lipid peroksidasyon and antioxidant enzymes in various brain regions of aged rats. *Experimental Gerontology*, 37(6): 803-811, 8p.
7. Arivazhagan, P, Panneerselyam, SR, Panneerselyam, C., ,2003, Effect of DL-alphalipoic acid on the status of lipid peroxidation and lipids in aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 58,788-79, 3p.
8. Artuch R., Salviati L., Jackson S., Hirano M., Navas P., 2009, Coenzyme Q10 deficiencies in neuromuscular diseases. *Adv Exp Med Biol.*, 652: 117-128, 11p.
9. Aruoma, O-I., 1994, Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 32: 671-683 p.
10. Ashoura, E-A., Abdel-Hamiedb, H-E., Korashya, H-M., Al-Shabanaha, O-A., Abd-Allah, A-R-A., 2011, Alpha-lipoic acid rebalances redox and immunotesticular milieu in septic rats. *Chemico-Biological Interactions*, Vol 189, 198-205, 7p.
11. Aslan, R., Şekeroğlu, R., Bayıroğlu, F., 1995, Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma, 100. Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 2: 137-142 s.
12. Atroshi, F., Rizzo, A., Biese, I., Veijalainen, P., Antila, E., Westermarck, T., 1997, T-2 toxin-induced DNA damage in Mouse livers: The effect of pretreatment with coenzyme Q10 and α -tocopherol. *Molecular Aspects of Medicine*. Vol:18, pages 225-258, 33p.
13. Ananthaswamy, HN., Pierceall WE., 1990, Molecular mechanisms of ultraviolet radiation carcinogenesis. *Photochem Photobiol*, 52:1119-1136, 17 p.

14. Bachschmid M, Schildknecht S, Ullrich V., 2005, Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system. *Biochem Biophys Res Commun*, 338(1):536-42 p.
15. Barber, D.A., Harris, S.R., 1994, Oxygen Free Radicals and Antioxidants: A review. *Am. Pharmacy*. 34(9), 26-35, 9 p.
16. Bast, A., Haenen, M., Cees, J., Doelwan, A., 1991, Oxidants and antioxidants: state of the art, *The American Journal of Medicine*, 91: 2-10, 8 p.
17. Basu-Modak, S., Gordon, M.J., Dobson, L.H., Spencer, J.P.E., Rice-Evans, C., Tyrrell, R.M., 2003, Epicatechin and its methylated metabolite attenuate UVA-induced oxidative damage to human skin fibroblasts. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 910–921, 11 p.
18. Benzer, F., Temizer Ozan, S., 2002, Fasciola hepatica ile enfekte koyunlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzimler ve nitrik oksit düzeyleri, araştırma makalesi, 657-661, 4s.
19. Beutler, E., 1973, Red cell metabolism, a manual of biochemical methods. Grune & Stratton, Inc., New York.
20. Biesalski, H. K., 2001, Obermueller-Jevic, U. C. UV light, h-carotene and human skin-beneficial and potentially harmful effects, *Arch. Biochem. Biophys.* 389:1-6, 5 p.
21. Biewenga, GP., Haenen, GR., Bast, A., 1997, The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmacol*, 29 (3), 315-331p.
22. Black, H-S, Lenger, W-A., Gerguis, J., et al., 1985, Relation of antioxidants and level of dietary lipid to epidermal lipid peroxidation and ultraviolet carcinogenesis. *Cancer Res*, 45: 6254-6259, 5p.
23. Bliznakov, E-G., 1999, Cardiovascular diseases, oxidative stress and antioxidants: the decisive role of coenzyme Q10, *Cardiovascular Research* 43, 248-249, 1p.
24. Boring CC, Squire TS, Tony T., 1992, 1993, Cancer statistics, *CA Cancer J Clin* 43, 7–26, 19 p.
25. Brigelius-Flohe, R., Traber, M-G., 1999, Vitamin E: function and metabolism. *Faseb J*, 13, 1145- 1155, 10p.
26. Brown, MS, Goldstein, JL., 1986, A receptor-mediated pathway cholesterol hemostasis. *Science* 232:34-47, 13p.
27. Bruls, W. A., Slaper, H., Van der Leun, J. C., Berrens, L., 1984, Transmission of human epidermis and stratum corneum as a function of thickness in the ultraviolet and visible wavelengths. *Photochem. Photobiol.* 40,485–494, 9 p.
28. Budin, B.S., Othman, F., Louis, S.R., Bakar, M.A., Radzi, M., Osman, K., Das, S., J., Mohammed, 2009, *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 50 (1), 23-30, 7 p.

29. Bulut et al, 2011, Beneficial effects of alpha lipoic acid on cerulein-induced experimental acute pancreatitis in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*; 17(5): 383-389, 6p.
30. Burçak, G., Andrican, G., 2004, Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma, *Cerrahpaşa tıp dergisi*, 159-169, 10p.
31. Butterfield, D-A, Howard, B., Subramaniam, R., Hall, N., Hensley, K., Yatin, S., et al., 1998, Structural and functional changes in proteins induced by free radicalmediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha- phenylnitron and vitamin E. *Ann N Y Acad Sci* 854:448–62 p.
32. Carr, A-C., Frei, B., 1999, Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effect in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69 (6): 1086-1107 p.
33. Chaturvedi, R.K., Beal, M.F., 2008, Mitochondrial approaches for neuroprotection, *Ann N Y Acad*, 1147, 395-412 p.
34. Cheeseman, K-H, Slater, T-F, 1993, An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 49(3): 481 -493, 12 p.
35. Chen, B-Y., Pei-Cheng Lin, D., Su, K-C., Chen, Y-L., Wu, C-Y., Teng, M-C., Tsai, Y-T., Sun, C-Y., Wang, S-R., Chang, H-H., 2011, Dietary zerumbone prevents against ultraviolet B-induced cataractogenesis in the Mouse, *Molecular Vision*, 17, 723-730, 13 p.
36. Chew, G.T., Watts G.F., 2004, Coenzyme Q10 and diabetic endotheliopathy: oxidative stress and ‘recoupling hypothesis’. *Q J Med*, 97: 537-548, 11p.
37. Cotran, R, 1994, Hücre zedelenmesi adaptasyon, *Basic Pathology Cotran R, Kumar V, Robbins S. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul*, S: 3 -11, 8s.
38. Crane FL., 2001, Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal Of The American College Of Nutrition*, Vol.20, No. 6, 591-598, 7p.
39. Czapski, G., “Reaction of OH: In Colowick SP. Kaplan NO (eds).”, 1984, *Methods in Enzymology. Academic Pres. New York*, Volume 105: 209-215, 6p.
40. Deichmann, R., MD, Lavie, C., Andrews, S., MD,2010, Coenzyme Q10 and statin-induced mitochondrial dysfunction, *The Ochsner Journal*, 10, 16-21, 5 p.
41. Deveci, H-A., Güven, A., 2008, Mastitisli ineklerde kan MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması, *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 14 (1): 63-66, 3s.
42. Dikici, İ., , 1999, “Akut Viral Hepatitlerle İnterferon Tedavisi Görmüs Kronik Viral Hepatitlerde Oksidatif Stresin Araştırılması”. *Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya*.
43. Eisenstark, A., 1989, Bacterial genes involved in response to near-ultraviolet radiation. *Adv Genet*, 26:99-147, 48 p.
44. Emma, F., Montini, G., Salviati, L., Dionisi-Vici, C., 2011, Renal mitochondriyal cytopathies, 2011, *Inrenational Journal of Nephrology*, 10 p.

45. Erden İnal, M., Bor, N-M., 1984, Changes of reduced glutathione, glutathione reductase and glutathione peroxidase after radiation in guinea pigs. *Biochem Med* 31,217-227, 10p.
46. Ernster, L., Dalliner, G., 1995, Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1271, 195-204, 9p.
47. Evelson, P., Ordonez, CP., Llesuy, S., Boveris, A., 1997, oxidative stress and in vivo chemiluminescence in Mouse skin exposed to UVA radiation. *J Photochem Photobiol B*. 38(2-3): 215-219, 4p.
48. Fouad, A. A., Al-Sultan, A.İ., Refaie, M.S., Yacoubi, T. M., 2010, Coenzyme Q10 treatment ameliorates acute cisplatin nephrotoxicity in mice. *Toxicology* 274, 49-56, 7p.
49. Fuchs, J., Huflejt, M.E., Rothfuss, L.M., Wilson, D.S., Carcamo, G., Packer, L., 1989, Acute effects of near ultraviolet and visible light on the cutaneous antioxidant defense system. *Photochem. Photobiol.* 50, 739–744.
50. Ghule et al., 2009, Effects of pretreatment with coenzyme Q10 on isoproterenol-induced cardiotoxicity and cardiac hypertrophy in rats. *Current Therapeutic Research*, Vol. 70, 460-471, 11p.
51. Gille, G, Sigler, K., 1995, Oxidative stress and living cells. *Folia Microbiol* 40:131–152, 11p.
52. Girotti, A.W., 1998, Lipid hydroperoxide generation turnover and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 39: 1529-1542 p.
53. Givonnini, L., Bertelli, A.A.E., 1988, Skin penetration of CoQ in the rat. *Int J Tiss Reac.*; 2: 103-105, 2p.
54. Golbidi, S., Badran, M., Laher, I., 2011, Diabetes and alpha lipoic acid. *Frontiers in Pharmacology*, Vol 2, Article 69, 15p.
55. Goraca, A., Huk- Kolega, H., Piechota, A., Kleniewska, P., Ciejka, E., Skibska, B., 2011, Lipoic acid- biological activity and therapeutic potential. *Pharmacological Reports*, 63, 849-858, 9p.
56. Greene, E-L, Paller, M-S, 1991, Oxygen Free Radicals in Acute Renal Failure. *Miner Electrolyte Metab.*, 17(2): 124 -132, 8 p.
57. Gruij, F., R., 2002, Photocarcinogenesis: UVA vs. UVB radiation. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 15, 316-320, 4p.
58. Grünler, J, Ericsson, J, Dallner, G., 1994, Branch-point reactions in the biosynthesis of cholesterol, dolichol, ubiquinone and prenylated proteins. *Biochim Biophys Acta*, 1212: 259-77 p.
59. Halliwell, B., 1984, Oxygen radicals: commonsense look at their nature and medical importance, *Medical Biology*, 62: 71-77, 6 p.
60. Halliwell B, Gutteridge JM., 1990, Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186:1-85 p.
61. Halliwell, B., 1994, Free radicals antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence, *The Lancet*, 344: 721-724, 3 p.

62. Hargreaves, I.P., 2007, Coenzyme Q10 in phenylketonuria and mevalonic aciduria. *Mitochondrion*, 7 Suppl, 175-180, 5p.
63. Han, Y., Han, Z., Yu, G., Wang, Y., Cui, R., Wang, C., 2004, Inhibitory effect of polypeptide from *Chlamys farreri* on ultraviolet A-induced oxidative damage on human skin fibroblasts in vitro. *Pharmacol. Res.* 49, 265–274, 9 p.
64. Han, X., Li, J., Brasky, T.M., Xun, P., Stevens, J., White, E., Gammon, MD., He, K., 2012, Antioxidant intake and pancreatic cancer risk: The Vitamins and Lifestyle (VITAL) Study. Doi: 10.1002/cncr.27936.
65. Herman, R., Niebch, G., Borbe, HO., et al; 1996, Enantioselective pharmacokinetics and bioavailability of different racemic alpha-lipoic acid formulations in healthy volunteers. *Eur J Pharm Sci* 4:167-174, 7p.
66. Ho, N-J., Lee, Y-H, Park, J-S, Jun, W-J., Kim, H-K., Hong, B-S., Shin, D-H., Cho, H-Y., 2005, Protective effects of aucubin isolated from *eucommia ulmoides* against UVB-induced oxidative stress in human skin fibroblasts. *Biol. Pharm. Bull.* 28(7) 1244-1248, 4p.
67. Hosotani, K., Yoshida, M., Kitagawa, M., 2005, Effects of administration of beta-carotene, ascorbic acid, persimmons, and pods on antioxidative ability in UV-irradiated ODA rats. *Int J Vitam Nutr Res*, 75 (4): 227-234, 7p.
68. Hsieh, C-L., Yen, G-C, Chen, H-Y., 2005, Antioxidant activities of phenolic acids on ultraviolet radiation-induced erythrocyte and low density lipoprotein oxidation. *J. Agric food Chem* 53, 6151-6155, 4p.
69. Hwang, T-L., Tsai, C-J., Chen, J-L., Changchien, T-T., Wang, C-C., Wu, C-M., 2012, Magnesium ascorbyl phosphate and Coenzyme Q10 protect keratinocytes against UVA irradiation by suppressing glutathione depletion. *Mol Med Report.* 6(2):375-8
70. Ichihashi, M., Ueda, M., Budiyo, A., Bito, T., Oka, M., Fukunaga, M., Tsuru, K., Horikawa, T., 2003, UV-induced skin damage. *Toxicology* 189,21– 39, 18 p.
71. İnal, E.M., Kahraman, A., 2000, The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet a induced oxidative stress in rats. *Toxicology* 154, 21–29, 7p.
72. Janson, M., 2006, Orthomolecular medicine: the therapeutic use of dietary supplements for anti-aging, *Clinical Interventions in Aging*, 1(3), 261–265, 4 p.
73. Jesberger, JA., Richardson JS., 1991, 'Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Intern J Neuroscience*; 57:1-17 p.
74. Jenkins, G., 2002, Molecular mechanisms of skin ageing. *Mech. Ageing Dev.* 123, 801–810, 9 p.
75. Kahraman, A., İnal, M-E., 2002, Protective effects of quercetin on ultraviolet A light-induced oxidative stress in the blood of rat. *J. Appl Toxicol.* 22(5): 303-9.
76. Kalaycı, M., Ünal, M-M., Gül, S., Açıkgöz, S., Kandemir, N., Hancı, V., Edebalı, N., Açıkgöz, B., 2011, Effect of Coenzyme Q10 on ischemia and neuronal damage in an experimental traumatic brain-injury model in rats. *BioMed Central* 12:75, 1-7, 7p.

77. Kanta, J., 2011, The role of hydrogen peroxide and other reactive oxygen species in wound healing, *ACTA MEDICA*, 54 (3): 97-101, 5 p.
78. Kaplowitz, N., Ookhetens, M., 1985, The regulation of hepatic glutathione. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 25: 715-744, 29p.
79. Keskin, Z., 2007, Akrilamidin kanda Na⁺-K⁺ ATPaz enzim aktivitesi glutatyon, hemoglobin, albumin düzeylerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 52s. (yayımlanmamış)
80. Kim, Y.M., Kim, J. E., Kim, Y.N., Choi, C., Lee, B.H., 2011, Effects of α -lipoic acid and L-carnosine supplementation on antioxidant activities and lipid profiles in rats, *Nutrition Research and Practice*, 5(5), 421-428, 7p.
81. Kizhakekuttu J., T., Widlansky E., M., 2010, Natural Antioxidants and hypertension: promise and challenges, *Cardiovascular therapeutics*, 28, e20-e32, 12p.
82. Knowles, R., Eisenstark, A., 1993, Near-ultraviolet mutagenesis in superoxide dismutase-deficient strains of *Escherichia coli*, *Environmental Health Perspectives*, 102, 1, 88-94, 6 p.
83. Kornatowska, K-K., Czuczejko, J., Motyl, J., Golec, K-S., Kozakiewicz, M., Pawluk, H., Kedziora, J., Blaszcak, R., Banach, M., Rysz, J., 2010, Effects of coenzyme CoQ10 supplementation on activities of selected antioxidative enzymes and lipid peroxidation in hypertensive patients treated with indapamide. *Apilot study. Arch Med Sci*, 4: 513-518, 5p.
84. Lassen, N, Black, WJ, Estey T, Vasiliou V., 2008, The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress., *Semin Cell Dev Biol*, 19,100-12 p.
85. Laursen, JB., Somers M, Kurz S, et al., 2011, March 6, Endothelial regulation of vasomotion in apo E-deficient mice: Implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation*. 103(9), 1282-1288, 6p.
86. Lee, BJ., Huang, YC, Chen, SC., Liin, PT., 2012, Coenzyme Q10 supplementation reduces oxidative stress and increases antioxidant enzyme activity in patients with coronary artery disease. *Nutrition* 28 (3): 250-255, 5p.
87. Lee, BJ., Lin, YC., Huang, YC, Ko, YW., Hsia, S., Lin, PT., 2012, The relationship between coenzyme Q10, oxidative stress, and antioxidant enzymes activities and coronary artery disease. *ScientificWorldJournal*. 2012: 792756.
88. Liu, J., 2008, The effects and mechanisms of mitochondrial nutrient α -lipoic acid on improving age-associated mitochondrial and cognitive dysfunction: an overview. *Neurochem Res*, 33, 194-203, 9p.
89. Lomnitski, L., Grossman, S., Bergman, M., Sofer, Y., Sklan, D., 1997, In vitro and in vivo effects of beta-carotene on rat epidermal lipoxygenases. *Int J Vitam Nutr Res*. 67(6): 407-414, 7p.
90. Maria Pinto Vilela, F., Maria Fonseca, Y., Roberto Jabor, J., T.M.C. Vicentini, F., Jose Vieira Fonseca, M., 2011, Effect of ultraviolet filters on skin superoxide

- dismutase activity in hairless mice after a single dose of ultraviolet radiation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*.11,1-11, 10 p.
91. Maritim, A-C, Sanders, R-A, Watkins, J-B., 2003, Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Molec Toxicol* 17:24–38 p.
 92. Matough, A., F., Budin, B., S., Hamid, A., Z., Alwahaibi, N., Mohamed, J., 2012, The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *SQU Medical Journal*, Volume 12, Issue 1.
 93. Matsugo, S., Hand, D., Tritschler, H.J., Packer, L., 1996, Decomposition of alpha-lipoic acid derivatives by photoirradiation- formation of dihydrolipoic acid from alpha-lipoic acid. *Biochem. Mol Biol Int* 38: 51-59, 8p.
 94. Maziere, C., Floret, S., Santus, R., Morliere, P., Marcheux, V., Maziere, J. C., 2003, Impairment of the EGF signaling pathway by the oxidative stress generated with UVA, *Free Radic. Biol. Med.* 34,629–636, 7 p.
 95. McCord, J.M., 1993, Human disease, free radicals and the oxidant antioxidant balance, *Clinical Biochemistry*, 26: 651-357 p.
 96. McCord, J-M., 2000, The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 108(8): 652–659, 7p.
 97. Memişoğulları, R., 2005, Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*; 3: 30-39, 10p.
 98. Moini, H., Packer, L., Saris, NE., 2002, Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid, *Toxicol Appl Pharmacol*, 182 (1), 84-90, 6p.
 99. Monograph, 2006, Alpha-lipoic acid. *Alternative Medicine Review*, vol 11, number 3, 232-237, 5p.
 100. Mulero M., et al, 2006, Oxidative stress-related markers and langerhans cells in a hairless rat model exposed to UV radiation. *J. Toxicol Environ Health A*. 69(14): 1371-1385, 14p.
 101. Munzel, T., Daiber, A., Ullrich, V., Mulsch, A., 2005, Vascular consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling from the activity and expression of the soluble guanylyl cyclase and the cGMP-dependent protein kinase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 25(8), 1551-1557, 6p.
 102. Nishiyama, Y., Ikeda, H., et al, 1998, Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *Am Heart J.*, 135: 115 p.
 103. Odum, EP., Wakwe, VC., 2012, Plasma concentrations of water-soluble vitamins in metabolic syndrome subjects, *ORIGINAL ARTICLE*, 442-447, 5p.
 104. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979, Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95, 351-358, 7p.
 105. Okudan, N., Revan, S., Balcı, SS., Belviranlı, M., Pepe, H., Gökbek, H., 2012, Effects of CoQ10 supplementation and swimming training on exhaustive exercise-induced oxidative stress in rat heart. *Bratisl Lek Listy*. 113(7): 393-9.

106. Ossola, J.O., Tomaro, M.L., 1998, Heme oxygenase induction by UVA radiation. A response to oxidative stress in rat liver. *Int J Biochem Cell Biol.* 30(2): 285-292, 7p.
107. Oxidative stress, 1996, From: <http://www.plantstress.com/Articles/index.asp>. Accessed: Dec.
108. Packer, L., Hiramatsu, M., Yoshikawa, T., 1999, Antioxidant food supplements in human health. ISBN: 978-0-12-543590-1. Sayfa:121.
109. Pande, M., Flora, S.J.S., 2002, Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of α -lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology*, 187-196, 9 p.
110. Podda, M., Traber, M.G., Weber, C., Yan, L., Packer, L., 1998, UV-irradiation depletes antioxidants and causes oxidative damage in a model of human skin. *Free Radic. Biol. Med.* 24, 55–65.
111. Podda, M., Tritschler, H.J., Ulrich, H., Packer, L., 1994, Alpha-lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency. *Bioch Biophys Res Commun*, 204: 98-104, 6p.
112. Podda, M., Zollner, T.M., Grundmann-Kollmann, M., Thiele, J.J., Packer, L., Kaufmann, r., 2001, Activity of alpha lipoic acid in the protection against oxidative stress in skin. *Curr Problems Dermatol*, 29: 43-51, 8p.
113. Quinzii M., C., Hirano, M., 2011, Coenzyme and mitochondrial disease, *Dev Disabil Res Rev.*, 16 (2), 183-188, 5 p.
114. Rajnochova Svobodova, A., Galandakova, A., Sianska, J., Dolezal, D., Ultrichova, J., Vostalova, J., 2011, Acute exposure to solar simulated ultraviolet radiation affects oxidative stress-related biomarkers in skin, liver and blood of hairless mice. *Biol. Pharm. Bull.* 34(4),9, 471-479, 8 p.
115. Rangan U, Bulkley GB., 1993, Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull* ,49(3):700-18 p.
116. Reilly, P-M, Schiller, H-J, Bulkley, G-B., 1991, Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J. Sur.*, 161(4): 488 -503 p.
117. Riemarsma, R-A., Wood, D-A., Elton, R-A., Oliver, M-F., 1991, Risk of angina pectoris and plasma concentration of vitamin A, C, E, and caroten, *The Lancet*, 337: 1-5 p.
118. Sander, S-C., Chang, H., Salzman, S., Mueller, S-L., C., Ekanayake-Mudiyanselage, S., Elsner, P., Thiele, J., J., 2002, Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo, *The Society for Investigative Dermatology*, 118, 618-625, 7 p.
119. Scalori, V., Alessandri, M.G., Mian, M., Giovannini, L., Bertelli, A., 1990, Plasma and tissue concentration of coenzyme Q₁₀ in the rat after intravenous, oral and topical administrations. *Int J. Tissue React* (3); 149-154, 5p.

120. Schauen, M., Hornig-Do, H-T., Schomberg, S., Herrmann, G., Wiesner, R., 2007, Mitochondrial electron transport chain activity is not involved in ultraviolet A (UVA)-induced cell death, *Free Radical Biology & Medicine*, 42, 499–509, 10 p.
121. Shay, KP et al, 2009, Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanism and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*, 1790 (10), 1149-1160 p.
122. Shindo, Y., Hashimoto, T., 1998, Ultraviolet B-induced cell death in four cutaneous cell lines exhibiting different enzymatic antioxidant defences: involvement of apoptosis. *J. Dermatol. Sci.* 17, 140–150, 10 p.
123. Sivaprasad, R., Nagaraj, M., Varalakshmi, P., 2004, Combined efficacies of lipoic acid and 2,3-dimercaptosuccinic acid against lead-induced lipid peroxidation in rat liver. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18-23 p.
124. Skibska, B., Jozefowicz-Okonkwo, G., Goraca, A., 2006, Protective effects of early administration of alpha-lipoic acid against lipopolysaccharide-induced plasma lipid peroxidation, *Pharmacological Reports*, 58, 399-404, 5 p.
125. Southorn, P-A., Powis, O., Free radical in medicine I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988;63(4):381-9 p.
126. Sönmez, M., Bozkurt, T., Türk, G., Gür, S., Kızıl, M., Yüce, A., 2009, The effect of vitamin E treatment during preovulatory period on reproductive performance of goats following estrous synchronization using intravaginal sponges. *Animal Reproduction Science*, 114, 183-192, 9p.
127. Şengil, A., Gürbilek, M., 1992, Serbest Radikaller. *Selçuk Üniv. Tıp Fak. Dergisi*, 13(4): 673-681, 8 s.
128. Takema, Y., Sakaino, Y., Imokawa, G., 1994, Age-related changes in the mechanical properties and thickness of human facial skin. *Br. J. Dermatol.* 131, 641–648, 7 p.
129. Takeshita, K., Chi, C, Hirata, H., Ono M., Ozawa, T., 2006, In vivo generation of free radicals in the skin of live mice under ultraviolet light, measured by L-band EPR spectroscopy, *Free Radical Biology & Medicine* 40, 876 – 885, 9 p.
130. Tekkeş, Y., 2006, “Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv., Fen Bil. Enstitüsü, Kahramanmaraş, 81 s.
131. Teichert, J., Herman, R., Ruus, P., Preiss, R., 2003, Plasma kinetics, metabolism, and urinary excretion of alpha-lipoic acid following oral administration in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*, 43: 1257-1267, 10p.

132. Tenkate, TD., 1999, Occupational exposure to ultraviolet radiation: a health risk assessment. *Rev Environ Health*, 14, 187-209, 22 p.
133. Toklu, H., L., Hakan, T., MD, Celik, H., MD, Biber, N., MD, Erzik, C., Ogunc, V., A., Akakin, D., MD, Cikler, E., MSc, Cetinel, Ş., MD, Ersahin, M., MD, and Sener, G., 2010, Neuroprotective Effects of Alpha-Lipoic Acid in Experimental Spinal Cord Injury in Rats, *J Spinal Cord Med.*, 33(4), 401–409, 8 p.
134. Tunalıer, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, KHC., Duman, H., Kırimer, N., 2002, Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi, *Bitkisel ilaç hammaddeleri*.
135. Tülüce, Y., Ozkol, H., Koyuncu, I., 2012, Photoprotective effect of flax seed oil (*linum usitatissimum L.*) against ultraviolet C-induced apoptosis and oxidative stress in rats, 28(2):99-107, 8 p.
136. Ueda, T., Toyoshima, Y., Moritani, T., RI, K., Otsuki, N., Kushihashi, T. Et al, 1996, Protective effect of dipyrindamole against lethality and lipid peroxidation in liver and spleen of ddymouse after whole-body irradiation, *Int J Radiat Biol*, 69,2, 199-204, 5 p.
137. Uysal, M., 1998, Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 11:336-41 s.
138. Van Lerberghe W., Keegels G., Cornelis G., Ancona C., Mangelschots E., Van Balen H., 1983, Haemoglobin measurement: the reliability of some simple techniques for use in a primary health care setting, *Bull World Health Organ* 61(6):957-65.
139. Vargas, MA., Geihs, MA., Maciel, FE., Cruz, BP., Nery, LE., Allodi, S., 2011, The effects of UV radiation on the visual system of the crab *Neohelice granulata*: a protective role of melatonin. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 154 (4): 427-434, 7p.
140. Wada, N., Wakami, H., Konishi, T., Matsugo, S., 2009, The degradation and regeneration of α -lipoic acid under irradiation of UV light in the existence of homocysteine, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 44, 218-222, 4 p.
141. Wang, C-B., Ding, B-X., Guo, S-B., Wang, Y-Z., Han, Y-T., Wang, Y-J., 2003, Protective effect of polypeptide from *chlamys farreri* on mitochondria in human dermal fibroblasts irradiated by ultraviolet B. *Acta Pharmacol Sin*, 24(7):692-696, 4p.
142. Weber, C., Jakobsen, T.S., Mortensen, S.A., Paulsen, G., Holmer, G., 1994, Antioxidative effect of dietary coenzyme Q₁₀ in human blood plasma. *Int J Vitam Nutr Res.*, 64 (4): 311-315, 4p.
143. Wollen, A., K., 2010, Alzheimer's disease: the pros and cons of pharmaceutical, nutritional, botanical, and stimulatory therapies, with a discussion of threatment strategies from the perspective of patients and practitioners, *Alternative Medicine Reiew*, 15 (3), 223-244 p.

144. Wollin, D.S., Jones, H.J., 2003, α -Lipoic acid and cardiovascular disease, *J. Nutr.*, 133, 3327-3330, 3 p.
145. Yaar, M., Gilchrist, B.A., 2007, Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br. J. Dermatol.* 157, 874-887, 13 p.
146. Yagura, T., Makita, K., Yamamoto, H., Menck, F.M. C., P. Schuch, A., 2011, Biological sensors for solar ultraviolet radiation, *Sensors*, 11, 4277-4294, 17 p.
147. Yalçın A-S., 1998, Antioksidanlar. *Klinik Gelişim II*, 342-6 s.
148. Yamashita, S., Yamamoto, Y., 1997, Simultaneous detection of ubiquinol and ubiquinone in human plasma as a marker of oxidative stress. *Anal Biochem.* 250(1): 66-73, 7p.
149. Yapar B.S., 2006, Alfa lipoik asidin rat karaciğer homojenatlarında indüklenmiş lipid peroksidasyonuna etkisi, Uzmanlık tezi, Trakya Üniv. Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 75s.
150. Yenson, M., 1988, Klinik biyokimya laboratuvar çalışmaları. Beşinci Baskı, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 447-458, 11s.
151. Yıldırım, N., Özer, A., İnal, M., Angin, K., Yurdakul, S., 2003, The effect of N-acetyl serotonin on ultraviolet-radiation-induced cataracts in rats. *Ophthalmologica*, 217 (2): 148-53.
152. Yılmaz, Z., Şenoğlu, M., Kurutaş, E-B., Çıralık, H., Özbağ, D., 2011, Neuroprotective effects of mannitol and vitamin C on crush injury of sciatic nerve; an experimental rat study, *Journal of Neurological Sciences*, Volume 28, Number 4, 538-551, 13p.
153. Young, A.J., Johnson, S., Steffens, D.C., Doraiswamy, P.M., 2007, Coenzyme Q10: a review of its promise as a neuroprotectant, 12, 62-68, 6 p.
154. Young, M., Jin, E., Nam, Y., Choi, C., Lee, B-H., 2011, Effects of α -lipoic acid and L-carnosine supplementation on antioxidant activities and lipid profiles in rats. *Nutrition Research and Practice*, 5 (5), 421-428, 7 p.
155. Yue, Y., Zhou H., Liu G., Li Y., Yan Z., Duan M., 2010, The advantages of a novel CoQ10 delivery system in skin photo-protection. *International Journal of Pharmaceutics* 392, 57-63, 6p.
156. Zhang, Y., Trunen, M., Appelkuist, E.L., 1996, Restricted uptake of dietary coenzyme Q is in contrast to the unrestricted uptake of α -tocopherol into rat organs and cells. *J Nutr*, 126, 2089-2097, 8p.

8. EK-ÇİZELGELER

Ek-çizelge 1. Plazma MDA düzeyleri (nmol/ml)

Kontrol grubu	9,65 9,90 7,20 9,78 11,34 13,16 11,89
UVA grubu	1,69 3,22 2,54 3,17 2,54 3,13 5,29 4,11
UVA+mısır yağı grubu	2,33 2,45 3,34 5,63 3,09 6,10
UVA+CoQ ₁₀ grubu	2,92 5,42 4,11 1,90 4,95 2,24 2,79
UVA+ALA grubu	9,78 3,47 6,14 9,82 3,94 3,01 5,80 4,57

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	2,58
	2,29
	2,96
	5,76
	5,21
	3,89
	2,41
	3,47
	3,13

Ek-Çizelge 2. Karaciğer MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Kontrol grubu	2,21 1,32 1,51 1,54 2,10 1,55 1,38
UVA grubu	3,74 2,28 2,27 2,68 3,56 2,57 2,49 2,31
UVA+mısır yağı grubu	2,60 2,35 2,54 2,98 2,99 2,17 2,58 2,43
UVA+CoQ ₁₀ grubu	2,36 1,97 2,25 1,81 2,56 2,45 1,34
UVA+ALA grubu	1,66 1,49 1,84 2,08 1,26 1,98 1,59 1,13

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	1,66
	2,13
	1,60
	1,34
	1,32
	1,61
	1,55
	1,12
	1,27

Ek-Çizelge 3. Deri MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Kontrol grubu	0,05 0,45 0,09 0,24 0,19 0,38
UVA grubu	0,04 0,29 0,05 0,11 0,14 0,39 0,62
UVA+mısır yağı grubu	0,07 0,03 2,21 5,20 0,95 1,05 3,80
UVA+CoQ ₁₀ grubu	1,87 2,43 1,23 0,30 0,94
UVA+ALA grubu	1,42 1,21 0,72 0,24 3,62 2,94 0,59 3,25

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	0,41 0,84 0,43 0,52 0,65 1,18 1,45 1,81 0,52
------------------------------------	--

Ek-Çizelge 4. Tam kan GSH düzeyleri (mg/g hb)

Kontrol grubu	1,76 1,25 0,93 1,34 3,05 6,90 0,62
UVA grubu	1,29 2,21 0,85 0,62 1,55 2,53 1,51 4,94
UVA+mısır yağı grubu	0,88 1,85 0,76 2,07 3,02 0,63 1,66 2,37
UVA+CoQ ₁₀ grubu	5,08 0,69 2,88 1,94 4,29 2,53 3,87
UVA+ALA grubu	1,54 1,22 0,73 2,55 2,34 4,22 4,11 2,09

UVA+ALA+CoQ ₁₀	2,73
grubu	5,51
	4,42
	1,66
	3,21
	4,14
	2,65
	2,70
	2,79

Ek-Çizelge 5. Karaciğer GSH düzeyleri (nmol/mg protein)

Kontrol grubu	0,04 0,10 0,13 0,19 0,15 0,10 0,15
UVA grubu	0,26 0,19 0,11 0,21 0,28 0,23 0,27 0,15
UVA+mısır yağı grubu	0,08 0,15 0,27 0,50 0,47 0,25 0,38 0,19
UVA+CoQ ₁₀ grubu	0,39 0,25 0,43 0,50 0,48 0,40 0,33
UVA+ALA grubu	0,28 0,30 0,35 0,27 0,28 0,39 0,22 0,26

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	0,23
	0,28
	0,27
	0,25
	0,22
	0,32
	0,27
	0,36
	0,30

Ek-Çizelge 6. Deri GSH düzeyleri (nmol/mg protein)

Kontrol grubu	0,49 0,96 1,14 0,12 0,65 0,41 0,67
UVA grubu	0,35 0,49 0,28 0,18 0,70 1,49 0,83 1,36
UVA+mısır yağı grubu	0,11 0,99 0,50 1,28 0,79 0,45 0,52 0,98
UVA+CoQ ₁₀ grubu	0,42 0,70 1,36 2,55 0,79 0,29 0,84
UVA+ALA grubu	0,90 0,98 0,60 0,34 1,83 2,51 0,39 1,38

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	0,29
	0,56
	0,25
	0,31
	0,40
	0,62
	0,88
	1,02
	0,60

Ek-Çizelge 7. Eritrosit KAT düzeyleri (U/g protein)

Kontrol grubu	0,0011 0,0006 0,0006 0,0005 0,0004 0,0004 0,0003
UVA grubu	0,0002 0,0004 0,0006 0,0002 0,0003 0,0005 0,0005 0,0004
UVA+mısır yağı grubu	0,0003 0,0004 0,0004 0,0004 0,0003 0,0001 0,0001 0,0001
UVA+CoQ ₁₀ grubu	0,0001 0,0004 0,0002 0,0003 0,0003 0,0003 0,0002
UVA+ALA grubu	0,0002 0,0002 0,0002 0,0004 0,0007 0,0003 0,0007 0,0003

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	0,0002
	0,0002
	0,0005
	0,0003
	0,0007
	0,0003
	0,0004
	0,0004
	0,0005

Ek-Çizelge 8. Karaciğer KAT düzeyleri (U/mg protein)

Kontrol grubu	0,0007 0,0010 0,0008 0,0009 0,0008 0,0007 0,0008
UVA grubu	0,0025 0,0025 0,0022 0,0020 0,0029 0,0028 0,0019 0,0016
UVA+mısır yağı grubu	0,0016 0,0021 0,0017 0,0023 0,0025 0,0026 0,0014 0,0021
UVA+CoQ ₁₀ grubu	0,0014 0,0010 0,0012 0,0016 0,0014 0,0012 0,0010
UVA+ALA grubu	0,0010 0,0008 0,0011 0,0008 0,0008 0,0009 0,0008 0,0003

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	0,0008
	0,0009
	0,0006
	0,0009
	0,0008
	0,0009
	0,0006
	0,0004
	0,0006

Ek-Çizelge 9. Deri KAT düzeyleri (U/mg protein)

Kontrol grubu	0,00005 0,00020 0,00007 0,00002 0,00003 0,00009 0,00004
UVA grubu	0,00002 0,00002 0,00002 0,00001 0,00001 0,00003 0,00002 0,00012
UVA+mısır yağı grubu	0,00002 0,00004 0,00009 0,00011 0,00016 0,00011 0,00008 0,00013
UVA+CoQ ₁₀ grubu	0,00014 0,00015 0,00030 0,00051 0,00013 0,00002 0,00005
UVA+ALA grubu	0,00006 0,00012 0,00009 0,00006 0,00021 0,00021 0,00006 0,00017

UVA+ALA+CoQ ₁₀ grubu	0,00015
	0,00007
	0,00003
	0,00005
	0,00004
	0,00006
	0,00012
	0,00011
	0,00007

9. ÖZGEÇMİŞ

Yüksek lisans öğrencisi olan Mehtap Yüksel 1986 yılında Ankara’ da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Çizmeci İlköğretim Okulunda, lise eğitimini Kalaba Lisesinde tamamladı. 2006 yılında Fatih Üniversitesi Sağlık Bilimleri Meslek Yüksek Okulunda önlisans eğitimini tamamladı. 2009 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimini tamamladı. 2009 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisansına başladı.