

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**İLLEGAL ALKOLLÜ İÇECEK VE CEVİZ TÜKETİMİNİN  
KARACİĞER DOKUSU VE KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ  
ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ŞAHİN ÖZTÜRK

**Danışman**  
Doç. Dr. Zafer YÖNDEN

**HATAY – 2014**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**İLLEGAL ALKOLLÜ İÇECEK VE CEVİZ TÜKETİMİNİN  
KARACİĞER DOKUSU VE KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ  
ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ŞAHİN ÖZTÜRK

**DANIŞMAN**  
Doç. Dr. Zafer YÖNDEN

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
2014-02/9 nolu proje olarak desteklenmiştir.

**HATAY - 2014**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**İLLEGAL ALKOLLÜ İÇECEK VE CEVİZ TÜKETİMİNİN  
KARACİĞER DOKUSU VE KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ  
ÜZERİNE ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi  
Şahin ÖZTÜRK

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 03/11/ 2014 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:** Jüri başkanı: Doç. Dr. Zafer YÖNDEN.....(imza)  
Üye: Doç. Dr. O. Hasan ÖZTÜRK .....(imza)  
Üye: Doç. Dr. Akın YAKAN.....(imza)

Bu tez, Enstitümüz Tıp Biyokimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

...../...../ 2014

Doç. Dr. Yaşar ERGÜN  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladığım andan itibaren desteğini her zaman yanımda hissettiğim, akademik bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarıma büyük bir özveri ile katkıda bulunan tez danışmanım aynı zamanda anabilim dalı başkanımız değerli hocam sayın Doç.Dr. Zafer YÖNDEN'e

Yüksek lisans eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocalarım sayın Doç.Dr. O. Hasan ÖZTÜRK ve Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR'a

Akademik bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarıma katkıda bulunan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ali ÖZCAN ve Yrd. Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN'a

Deneylerin gerçekleştirilmesinde ve laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli asistan arkadaşlarıma

Büyük bir fedakârlık ve anlayışla her konuda olduğu gibi yüksek lisans eğitimim boyunca da beni destekleyen aileme, yakınlarıma ve arkadaşlarıma teőkekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	VII
ÖZET .....	VIII
ABSTRACT .....	IX
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Alkoller .....	3
2.1.1. Boğma Rakı .....	3
2.1.2. Etil Alkol .....	7
2.1.3. Metil Alkol .....	8
2.2 Rakıda Bulunan Diğer Bileşenler .....	10
2.2.1 Fermantasyon Sonucunda Ortaya Çıkan Diğer Uçucu Bileşikler .....	12
2.2.1.1. Yüksek Alkoller .....	12
2.2.1.1.1. İzobütanol .....	14
2.2.1.1.2. n-propanol .....	15
2.2.1.1.3. Aktif amil alkol .....	15
2.2.1.1.4. n-bütanol .....	15
2.2.1.1.5. İzamilalkol .....	15
2.2.1.1.6. 2-bütanol .....	16
2.2.1.1.7. Esterler .....	16
2.2.1.1.8. Aldehitler .....	16
2.3. Anasonla Damıtma Sırasında Oluşan Uçucu Bileşikler .....	17
2.4. Ceviz ve İçeriği .....	17
2.5. Oksidatif Stress .....	21
2.5.1. Serbest Radikaller ve Türleri .....	21
2.5.2. Reaktif Oksijen Türleri .....	22

2.5.2.1. Singlet Oksijen Atomu .....	22
2.5.2.2. Süperoksit Radikali .....	23
2.5.2.3. Hidrojen Peroksit.....	23
2.5.2.4. Hidroksil Radikali .....	24
2.5.2.5. Nitrik oksit (NO) .....	24
2.6. Serbest Radikal Kaynağı .....	25
2.6.1. Biyolojik Kaynaklar .....	25
2.6.2. İntrasellüler kaynaklar .....	26
2.7. Serbest Radikallerin Sistem Üzerine Etkileri.....	26
2.7.1. Lipid Peroksidasyonu .....	26
2.7.2. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi.....	27
2.7.3. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkisi.....	27
2.7.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkisi .....	28
2.8. Antioksidan Sistemler .....	28
2.8.1. Süperoksit Dismutaz .....	29
2.8.2. Glutasyon Peroksidaz .....	29
2.8.3. Glutasyon Redüktaz.....	30
2.8.4. Glutasyon S-transferaz.....	30
2.8.5. Katalaz.....	30
2.5.6. Transaminazlar (Aspartat amino transferaz ve alanin amino transferaz).....	31
3. GEREÇ YÖNTEM.....	32
3.1. Çalışma Şekli.....	32
3.2. Kullanılan Cihazlar .....	33
3.4. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması .....	34
3.5. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi .....	35
3.6. Analiz Yöntemleri .....	35
3.6.1. Serum Enzim Seviyelerinin Belirlenmesi .....	36
3.6.1.1. Malondialdehid Ölçümü.....	36
3.6.1.2. Katalaz Ölçümü.....	37
3.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü.....	38
3.6.1.4. Süperoksit Dismutaz Ölçümü.....	40
4.7. İstatistiksel Analiz .....	41
4. BULGULAR .....	42

5.	TARTIŞMA.....	51
6.	SONUÇ .....	59
7.	KAYNAKLAR.....	60
	ÖZGEÇMİŞ.....	67

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Etanol ve asetaldehit metabolizması ve serbest radikal oluşumu (Artun 2008)....	5
Şekil 2.2. Fermantasyonla etil alkol üretimi (Solomons ve ark. 2002) .....	7
Şekil 2.3 Metanolün oluşumu .....	9
Şekil 2.4 Ehrlich yolu ile yüksek alkol oluşumu(Gözen 2006).....	12
Şekil 2.5. Ehrlich mekanizması ile bazı yüksek alkollerin meydana gelişi(Koçak 1993)...	13
Şekil 2.6. Valin amino asidinden izo-bütanolün oluşum mekanizması (Koçak 1993).....	13
Şekil 2.7. Maya fermantasyonunda yüksek alkollerin oluşması (Varnam ve ark. 1994) ....	14
Şekil 3.1. MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA kompleksinin yapısı .....	36
Şekil 5.1. Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda ALT seviyelerinin karşılaştırılması .....	43
Şekil 5.2. Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda AST seviyelerinin karşılaştırılması .....	43
Şekil 5.3 Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda MDA seviyelerinin karşılaştırılması .....	45
Şekil 5.4. Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda SOD seviyelerinin karşılaştırılması .....	46
Şekil 5.5. Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda GSH-Px seviyelerinin karşılaştırılması .....	48
Şekil 5.6. Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda GSH-Px seviyelerinin karşılaştırılması .....	49



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Rakıda bulunan uçucu bileşiklerin toksisite değerleri (Koca, 2007b).....	11
<b>Çizelge 2.2.</b> Cevizdeki yağ asitleri .....	18
<b>Çizelge 2.3.</b> Cevizdeki aminoasitler .....	19
<b>Çizelge 3.1.</b> İllegal olarak üretilen Boğma Rakı'daki kimyasal bileşenler (% v/v). .....	33
<b>Çizelge 5.1.</b> Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda serum enzimi seviyeleri.....	44
<b>Çizelge 5.2.</b> Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda lipid peroksidasyon ürünü seviyeleri. ....	45
<b>Çizelge 5.3.</b> Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda süperoksit dismutaz enzim seviyeleri.....	46
<b>Çizelge 5.4.</b> Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda glutatyon peroksidaz enzim seviyeleri.....	48
<b>Çizelge 5.5.</b> Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda glutatyon peroksidaz enzim seviyeleri.....	49

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\delta$	Delta
$\varepsilon$	Epsilon
$\zeta$	Zeta
$\gamma$	Gamma
$\omega$	Omega
AA	Araşidonik asit
ADH	Alkol dehidrogenaz
ALA	Alfa-linolenik asit
ALDH	Asetaldehit dehidrogenaz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartate aminotransferaz
CAT	Katalaz
DHA D	Okzaheksanoik asit
EPA	Eikozapentaenoik asit
EYA	Esansiyel yağ asidi
GLA	Gama-linolenik asit
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
FAD	Flavin adenin dinükleotid
GSH	Redükte glutatyon
GSH-Rd	Glutatyon redüktaz
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Okside glutatyon
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GST	Glutatyon S transferaz
Hb	Hemoglobin
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz

NADPH	Redükte nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NO	Nitrik Oksit
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz

## ÖZET

### **İllegal Alkollü İçecek ve Ceviz Tüketiminin Karaciğer Dokusu ve Karaciğer Fonksiyon Testleri Üzerine Etkisi**

Bu çalışmada; Çukurova bölgesinde çok sık tüketilen ve önemli derecede toksikasyonlara neden olan İllegal alkollü içeceğin (Boğma Rakı) karaciğer dokusu üzerine etkisi araştırılmıştır. Aynı zamanda omega-3 içeriğinden zengin ve vücut için eser elementleri barındıran Ceviz'in boğma rakı ile birlikte tüketildiğinde karaciğer dokusunda ne gibi değişikliklere neden olduğu incelenmiştir.

Deneylerde,  $250\pm 20$  g ağırlığında 48 adet wistar albino rat kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele seçilerek 4 gruba ayrılmıştır. Gruplar: Kontrol grubu (n=12), boğma rakı grubu (n=12), ceviz grubu (n=12) ve boğma rakı+ceviz grubu (n=12) olarak dizayn edilmiştir. Ratlara 4 hafta boyunca bulunduğu gruba göre ceviz ve/veya boğma rakı verilmiştir. Bu sürenin sonunda ratlar, kalplerinden kan alınarak kurban edilmiş ve karaciğerleri çıkartılarak biyokimyasal analizler için soğuk zincir altında  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' ye kaldırılmıştır. Karaciğer dokusundan lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) ile antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Karaciğer enzimlerinden aspartate aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzim seviyeleri tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre deneysel çalışmada boğma rakı verilen ratların karaciğer dokusundaki MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış, CAT, SOD ve GSH-Px aktivitelerinde ise anlamlı bir azalma olmuştur. Yine karaciğer enzimleri olan ALT ve AST aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış gözlenmiştir. Ceviz grubunda, kontrol grubuna göre ölçülen parametrelerde herhangi bir değişkenlik izlenmemiştir. Ceviz ile boğma rakının birlikte verildiğinde MDA seviyesinde boğma rakı grubuna göre daha fazla artış, SOD aktivitesinde ise boğma rakı grubuna göre anlamlı bir azalış görülmüştür.

Sonuç olarak, ceviz kullanımının, boğma rakının etkisiyle oluşan lipid peroksidasyonundaki artışı ve prooksidan antioksidan dengesindeki bozukluğu düzeltmediği, aksine ceviz ve boğma rakının birlikte tüketiminin bu dengenin daha da bozulmasına yol açtığı tespit edilmiştir.

## ABSTRACT

### **Illegal Alcoholic Beverage and Walnut Consumption Effects on Liver Tissue and Liver Function Tests.**

In this study, we aimed to investigate the effect of illegal alcoholic beverages (Bogma Raki), which are too often consumed and causes toxicity, on liver tissue. We also evaluated the effects of walnut, which is rich in omega-3 and trace elements, and bogma raki on liver tissue when consumed together.

In this study, 48 Wistar albino rats were used. Animals were randomly divided into 4 groups; Group A, Control (ad-libitium); Group B, Bogma Raki (Illegal Alcoholic Beverages); Group C, only walnut and Group D, Bogma Raki and Walnut. Walnuts and illegal Alcoholic Beverages (Bogma Raki) were given to the rats during 4 weeks. At the end of this period, rats were sacrificed after taking blood from their hearts. Liver tissues were removed in a precise manner. Tissue and serum samples quickly stored at -80 ° C without breaking the cold chain for biochemical analysis. Lipid peroxidation product (MDA) and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), which are antioxidant enzymes, were measured spectrophotometrically in liver tissue. Aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) enzyme levels, which are liver enzymes in serum, were determined by autoanalyzer using commercial kits.

In this experimental study it was found that, MDA levels in liver tissue of bogma raki treated rats were significantly higher than those of the control group, whereas CAT, SOD, GSH-Px levels were found to be significantly decreased. Also, ALT and AST enzymes activities in serum, which reflect liver damage, were significantly increased compared to the control group. There was no significant difference between control and walnut treated group for these parameters. However, when bogma raki and walnut consumed together, they caused increased MDA levels and decreased SOD levels compared to control group and bogma raki group as well.

In conclusion, we speculate that walnut consumption has not any improving effect against lipid peroxidation resulted from bogma raki consumption and prooxidant-oxidant balance in liver tissue. In contrast, walnut has increased both the peroxidation in liver tissue and oxidative stress when consumed together with bogma raki.

# 1. GİRİŞ

Alkolizm, gelişmiş ülkelerde başta olmak üzere, sosyal ve ekonomik olarak gittikçe büyüyen kesimlerde, özellikle yaşlı ve sigara kullananlarda daha da zararlı olan çok önemli bir sağlık sorundur (WHO 2010). Ülkemizde hızlı nüfus artışı, ekonomik gelişme, geleneksel aile baskısının azalması, stresli şehir hayatı, yoğun mesai, çağdaş yaşama biçimlerine özenme ve çeşitli psikolojik nedenlerle alkollü içki tüketimi hızla artmaktadır (Özcan ve ark. 1998). Bununla birlikte Ülkemizde Çukurova bölgesi ili başta olmak üzere çeşitli bölgelerde yöresel illegal alkol üretimi ve tüketimi oldukça fazladır. İlegal olarak fermente olmuş alkollü içeceklerin alkol oranı çoğunlukla %3-13 arasında değişirken damıtık alkollü içecekler % 40'ın üzerinde alkol içermektedir. Elde edilen alkol konsantrasyonunun yanı sıra, alkol üretimi için kullanılan değişik hammaddelerin önce alkol fermantasyonuna uğratılması ile elde olunan olgun meyşenin damıtılması sırasında meyşenin tüm uçucu maddeleri etil alkolle birlikte buhara ve dolayısıyla damıtığa geçer ve çoğunlukla sağlığa zararlı etki yapan bu maddelerin konsantrasyonu da son üründe fazlalaşır. Eğer üretimde gerekli özen gösterilmez ve teknolojik işlemler eksik veya yanlış uygulanacak olursa, bu zararlı maddelerin miktarı daha da yükselir ve bu toksik maddeler insan metabolizmasında ciddi hasarlara yol açabilir (Özcan ve ark. 1998; Şahin ve ark. 1983).

Alkolizmin çeşitli sağlık ve sosyal problemlere neden olduğuna dair çok sayıda yapılmış çalışmalar ve araştırmalar mevcuttur olup (Aşıcıoğlu 2005; Jurczuk ve ark. 2004; Lachenmeier ve ark. 2014; Masalkar ve ark. 2005), alkol tüketiminin özellikle karaciğer dokusunda harabiyete ve birçok olumsuz metabolik değişime neden olduğu ve bu olumsuzlukların alınan doza ve süreye, bireysel dayanıklılığa, diyetle ve diğer faktörlere bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Murray ve ark. 1988; Özcan ve ark. 1998).

Ceviz üzerine birçok çalışma yapılmış olup günlük ceviz tüketiminin kandaki lipoprotein seviyesini uygun bir şekilde etkilediğini ve toplam kolesterol seviyesini düşürdüğünü gösterilmiştir (Joan Sabate ve ark. 1993). Fitostereollerce zengin olan ceviz, fitosteroller kolesterolün bağırsaklarda emilimini engelleyerek toplam plazma kolesterolünün ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'lerin seviyelerini aşağı çekmektedir (Plat ve ark. 2001). Bunların yanı sıra ceviz serbest radikalleri yok eden ve

metal şelat (bağlama) aktivite nitelikleri olan polifenoller de içermekte ve bu polifenollerin in vitro plazma ve LDL oksidasyonunun etkili bir engelleyicisi olarak ta düşünülmektedir (Berliner ve ark. 1996).

Yağ asitleri sahip oldukları antioksidan özellikleri nedeniyle organizmanın prooksidan/antioksidan dengesini etkileyen önemli bir faktördür (Amaral ve ark. 2003; Avramovic ve ark. 2012; Bourre 2005). Çoklu doymamış yağ asitleri ise, serum lipit düzeylerini düşürücü bir etkiye sahip olmasına rağmen, organizmada lipit peroksidasyonuna duyarlılığı arttırmakta ve prooksidan-antioksidan dengeyi prooksidasyon yönünde bozmaktadır (Calder 2008; de Lorgeril ve ark. 2004; Dönmez 2006; Gil 2002; Lada ve ark. 2003).

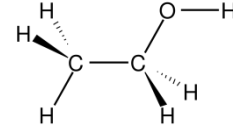
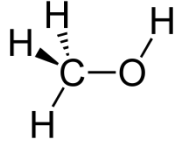
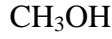
Son yıllarda yapılan çalışmalarda, cevizin içeriğinde yüksek oranda bulunan PUFA'ların otooksidasyona duyarlı olmaları nedeniyle, zararlı etkileri de dikkat çekmeye başlamıştır. PUFA'ca zengin beslenme organizmada lipit peroksidasyonuna duyarlılığı arttırmakta ve organizmanın antioksidan sistemini etkilemektedir. (Song ve ark. 2000; Thiery ve ark. 1987; Yam ve ark. 1996).

Bu çalışmamızda bu veriler ışığında yola çıkarak Çukurova bölgesi ve özellikle Hatay ilinde çok sık tüketilen ve önemli derecede toksikasyonlara neden olan İllegal alkollü içeceğin (Boğma Rakı) karaciğer dokusu üzerine etkisinin araştırılması planlanmıştır. Bununla birlikte, omega-3 içeriğinden zengin ve vücut için eser elementleri barındıran ceviz'in boğma rakı ile birlikte tüketildiğinde karaciğer dokusunda ne gibi değişikliklere neden olduğu ve aralarındaki ilişkinin incelenmesi planlanmıştır. Bu amaçla deneysel çalışmadaki grupların tamamında oksidatif stres belirteçleri olan, lipid peroksidasyon ürünü (MDA), antioksidan enzimler (SOD, CAT, GSH-Px), serum enzimlerinden aspartate aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) enzim parametrelerinin ölçülmesi ve birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Alkoller

Alkoller, moleküllerinde doymuş bir karbon atomuna bağlı hidroksil grubu bulunduran bileşiklerdir. Doymuş karbon atomu, aşağıdaki örneklerde görülen basit alkil gruplarının karbon atomları gibidir.



#### 2.1.1. Boğma Rakı

Fermantasyon olaylarının keşfinden sonra, özellikle şekerli sıvıların fermantasyonla tümünden değişik bir özellik kazanması, insanları bu olaydan yararlanma çabalarına itmiştir. Önceleri alkol fermantasyonuna uğramış sıvıların uçucu özellikteki ögesinden yararlanma yoluna gidilmiş ve bu çabaların sonucu olarak damıtma işlemi keşfedilerek geliştirilmiştir. Damıtmanın geliştirilmesinden sonra elde edilen alkollü sıvı da keyif verici bir madde olarak kullanılmaya başlanmıştır. Fermente olmuş alkollü içeceklerin alkol oranı çoğunlukla %3-13 arasında değişirken damıtık alkollü içecekler % 40'ın üzerinde alkol içermektedir. Fakat bu iki grup ürün arasındaki fark yalnızca alkol konsantrasyonlarında değildir. Değişik hammaddelerin önce alkol fermantasyonuna uğratılması ile elde olunan olgun meyşenin damıtılması sırasında meyşenin tüm uçucu maddeleri etil alkolle birlikte buhara ve dolayısıyla damıtığa geçer ve çoğunlukla sağlığa zararlı etki yapan bu maddelerin konsantrasyonu da son üründe fazlaşır. Eğer üretim de gerekli özen gösterilmez ve teknolojik işlemler eksik veya yanlış uygulanacak olursa, bu zararlı maddelerin miktarı daha da yükselir (Şahin ve ark. 1983).

Türkiye'de üretimi yapılan damıtık alkollü içkilerin başında gelen rakı, ana hammadde olarak kuru üzüm kullanılarak yapılan ve aromasını anasondan damıtma esnasında alan geleneksel bir Türk içkisidir. Rakı sözcüğünün nereden geldiği hakkında birçok farklı görüşler bulunmaktadır. Bu görüşlerden biri rakı kelimesinin iri, uzun taneli ve kalın kabuklu "Razaki" üzümünden geldiğidir. Bir diğeri ise ilk defa Irak'ta üretilip



buradan komşu ülkelere yayılmış ve bu nedenle “Irakî” (Irak kökenli) kelimesinden gelmiş olabileceğidir. Bugün Irak’ta, özellikle Türkmenlerin yoğun olarak bulunduğu Kerkük bölgesinde, kuru üzümünden elde edilerek anasonla aromatize edilen, değişik bileşimdeki damıtık alkollü içkiye "AraK" denilmektedir. Diğer taraftan Afrika, Asya, Amerika ve Okyanusya’da da yapılan (çeşitli) damıtık içkilere de arak adı verilmektedir. AraK eski Türkçede "daha ince," "en ince" anlamına da gelmektedir (Koca 2007b).

#### *Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığında Patogenez*

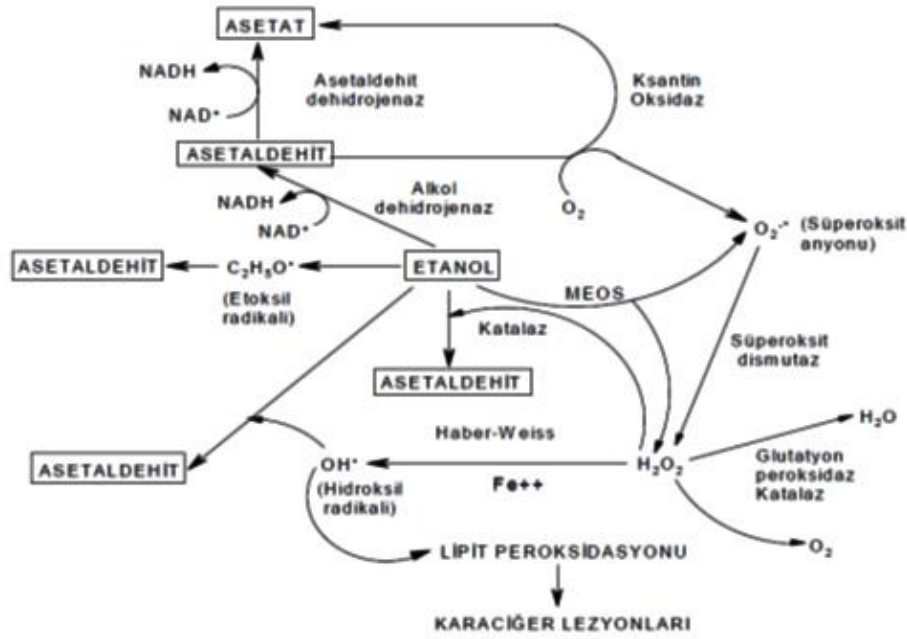
Birçok toplumda önemli bir sağlık sorunu olan alkollü içecekler fazla miktarda ve sürekli alınmasıyla toksik etkilere neden olmaktadır (Beier ve ark. 2010; Dey ve ark. 2006). Karaciğer hastalığı, bu etkiler arasında en önemlisidir ve alkolik karaciğer hastalığı, uzun süreli fazla miktarda alkol tüketimine bağlı, şiddeti değişik derecede olan karaciğer hasarı ile karakterize bir tablodur. Alkolün etkisiyle karaciğerde yağlanma, alkolik hepatit ve alkolik siroz gibi genellikle birbirini izleyen dönemler şeklinde seyreden üç farklı olay meydana gelmektedir. Alkol alınması ile ilk oluşan lezyon karaciğer yağlanmasıdır ve alkolün kesilmesiyle geriye dönebilen ılımlı bir tablodur. Alkolik hepatit genellikle siroz öncesi bir tablo olarak kabul edilmekte olup, karaciğerde histopatolojik olarak sentrilobüller bir hasar, lökosit infiltrasyonu, inflamasyon ve sitoplazmik hiyalen cisimciklerinin (Mallory cisimcikleri) varlığı ile karakterizedir. Alkolik siroz ise genellikle mikronodüler tipte olup, geriye dönüşümü olmayan ciddi bir tablodur (Beier ve ark. 2010; Conde de la Rosa ve ark. 2008; C. S. Lieber 2000).

Alkol karaciğerde metabolize edildiği için alkolle indüklenen oksidatif stres karaciğerde çok daha fazla etkindir. Karaciğer hücresinde alkol metabolizması için üç ana yol bulunur ve bunların her biri farklı subsellüler bölümlerde yer alır. Alkol metabolizmasında rol oynayan enzimler;

1. Sitolde yer alan alkol dehidrogenaz (ADH)
2. Endoplazmik retikulumda lokalize mikrozomal etanol okside edici sistem (MEOS)
3. Peroksizomlarda lokalize katalaz’ dır.

Alkolik olmayan insanlarda temel oksidasyon yolu ADH olup, bu oksidasyon NADH oluşumu ile birliktedir. Sitoplazmik bir enzim olan ADH, alkolün, karaciğer hepatositlerinde asetaldehite çevrilmesini katalize eder ve alkolün parçalanmasında en etkin rolü oynar (Beier ve ark. 2010). MEOS yüksek alkol konsantrasyonlarında önem

kazanmakta ve MEOS kronik olarak alkol alanlarda indüksiyona uğramaktadır. Bu sistem NADPH ve O<sub>2</sub> kullanmaktadır. Her üç reaksiyon sonunda meydana gelen asetaldehitin % 90 gibi büyük bir kısmı karaciğerde asetik asite oksitlenmektedir. Bu dönüşümü sitozolde ve mitokondride bulunan ve NAD<sup>+</sup> kullanan iki ayrı aldehit dehidrojenaz (ALDH) katalizlemektedir. Diğer yandan, aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz da bu dönüşüme katkıda bulunmaktadır (Beier ve ark. 2010; Das ve ark. 2007; C. S. Lieber 2000).



Şekil 2.1 Etanol ve asetaldehit metabolizması ve serbest radikal oluşumu (Artun 2008)

Alkolün akut ve kronik uygulamalarından sonra karaciğerde meydana gelen alkolik karaciğer hasarının patojenezinde; aşırı NADH oluşumunun, toksik bir bileşik olan asetaldehit ve bazı makromoleküllerle kovalan bağlar oluşturan asetaldehitin birikmesinin ve serbest radikallerin oluşmasının rol oynadığı düşünülmektedir.

Yapılan birçok çalışma (Beier ve ark. 2010; Das ve ark. 2007; Dey ve ark. 2006; C. S. Lieber 2000) serbest radikallerin alkolün karaciğer ve karaciğer dışı dokularda lipit peroksidasyonunu uyarması sonucu meydana geldiği serbest radikallerin organizmada prooksidan etki yaptığını ve oksidatif bir baskı oluşturduğunu göstermektedir. Etanol etkisiyle karaciğerde serbest radikal oluşumuna katkıda bulunan reaksiyonlar şunlardır (Şekil 2.1) (Beier ve ark. 2010; Conde de la Rosa ve ark. 2008; Das ve ark. 2007; C. S. Lieber 2000).

1) Mikrozomal NADPH-sitokrom P<sub>450</sub> redüktaz ve sitokrom P<sub>450</sub>: Bunlar MEOS'un bileşenleri olup, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturmaktadır.

2) Aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz: Asetaldehitin asetata dönüşmesinde etkili olan ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikali oluşturan bir sistemdir.

3) Mikrozomal NADPH-oksidad: Gerek akut ve gerekse kronik etanol alınmasından sonra indüklenen O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturan bir enzimdir.

4) Etoksi (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub><sup>-</sup>O) ve hidroksietil (CH<sub>3</sub>CH<sup>-</sup>OH) radikalleri: Etanolden özellikle mikrozomal fraksiyonda oluşmaktadır.

### Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığında Aminotransferazlar

Klinik tanıda karaciğer hasar tespiti için iki önemli enzim vardır. Alanin amino transferaz (serum glutamat – pruvat amino transferaz) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oxaloasetat amino transferaz). Bunlar alanin ve aspartik asidin amino gruplarını α- keto glutarata taşır ve böylece glutamat ve ALT ile pruvat ve AST ile oksaloasetat oluşur. B6 vitamini her iki enzimin de kofaktörüdür (Y. M. Li ve ark. 2004).

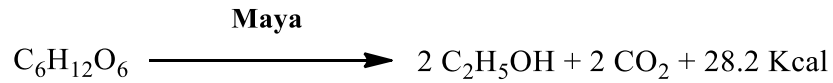
AST karaciğerde olduğu kadar kalp, kas, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, beyaz küre ve kırmızı kürelerde de yoğun olarak bulunurken, ALT yoğun olarak yalnızca karaciğerde bulunur. ALT ve AST aşırı alkol tüketimi belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (Wallach 2000). Hepatositte neticesinde ortaya çıkan AST'nin %80'i mitokondride iken, ALT'nin predominant formu non mitokondrial olanıdır. Bu nedenle hafif hepatosellüler hasarda, hepatosit membranı hasara uğrar ancak mitokondrial membranı sağlam ise sitoplazmik AST ve ALT seruma salınır (Aşıcıoğlu 2005; Wallach 2000).

Alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında AST ve ALT seviyeleri sağlıklı bireylere göre birçok kat artış gösterir. Bu yüzden bu enzimler karaciğer hücre harabiyeti için duyarlı belirteçler olsa da, yalnız başlarına belirteç özelliği taşımazlar (sensitivitesi yüksek ancak spesifitesi düşüktür). Orta şiddette ve ağır alkolik karaciğer harabiyetinde de bu enzim miktarlarında artış olur ancak bu artış nonalkolik hastalıklara nispeten oldukça azdır. Serum aminotransferazları kronik hepatitlerde ve akut viral hepatitlerinin hafif vakalarında ve ilaca bağlı hepatitlerde orta derecede artar (Seth ve ark. 2011). Sirozda, nonalkolik hepatosteatozda kolestatik karaciğer hastalıklarında karaciğer yağlanması ve karaciğer tümörlerinde serum aminotransferazları hafifçe artar. Daha ciddi hepatosellüler hasarlarda mitokondri membranında da hasar olur ve mitokondrial AST salınımı ile sonuçlanır. Böylece AST/ALT oranı yükselir (Conigrave ve ark. 2003; Mırsal ve ark. 2002).

Karaciğer hastalıklarının tanısında AST/ALT oranı bir belirteç olabilir fakat alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında bu oranın azaldığı gözlenirken alkolik karaciğer hasarında AST/ALT oranı artar. Alkolik karaciğer hastalıklarında pridoksal-5-fosfat eksikliği olur. Bu vitamin her iki aminotransferazın yapımı için gereklidir, ancak hepatik ALT'yi daha fazla düşürerek bu oranın yükselmesine neden olur (Aşıcıoğlu 2005; Conigrave ve ark. 2003; Mırsal ve ark. 2002; Sharpe ve ark. 1996).

### 2.1.2. Etil Alkol

Bütün alkollü içkilerde bulunan etanol, şekerlerin fermantasyonu ile elde edilir. Bu şekerler çoğunlukla hububattan elde edildiklerinden, etanole hububattan türediği anlamında, “hububat alkolü” de denilmektedir. Fermantasyon genellikle suyla şekerlerin karışımına maya ilavesiyle yapılır. Mayanın içerdiği enzimler, uzun bir tepkime dizisi sonunda basit şekeri ( $C_6H_{12}O_6$ ) etanol ve karbondioksit'e dönüştürür (Solomons ve ark. 2002).



Şekil 2.2. Fermantasyonla etil alkol üretimi (Solomons ve ark. 2002)

Genel kimyasal formülü  $CH_3CH_2OH$  olan etil alkol normal koşullar altında uçucu, yanıcı, berrak ve renksiz bir sıvıdır. Kendine özgü hoş bir kokusu vardır. Molekül ağırlığı 46.07 g/mol, donma noktası  $-114.1 \text{ }^\circ\text{C}$ , normal kaynama noktası  $78.32 \text{ }^\circ\text{C}$ , yoğunluğu 0.7893 g/mL'dir. Bileşiminde %52.18 karbon, %34.78 oksijen, %13.04 hidrojen vardır (Kılıç 1990).

Fermantasyon sonunda etanol içeriği %12-15' ten daha yüksek olan içki meydana gelmez; çünkü daha yüksek derişimlerde maya enzimleri etkinliklerini kaybederler. Daha yüksek alkol içerikli içkileri üretmek için sulu çözelti damıtılmalıdır. Brandi, viski ve votka bu şekilde üretilir. Bir alkollü içkinin “alkol derecesi” (“prof”) alkol yüzdesinin (hacimce) iki katıdır. Yüz derecelik viskinin %50' si alkoldür. Değişik damıtık likörlerin tat ve kokuları, alkol ve suyla birlikte damıtılan diğer organik bileşiklerden kaynaklanır (Solomons ve ark. 2002).

Etanol ve su çözeltilisinin damıtılmasıyla %95' ten daha derişik alkol elde edilemez. %95 Etanol ve %5 su karışımı, saf etanol (kn 78,3 °C) ve saf sudan (kn 100 °C) daha düşük sıcaklıklarda kaynar. Çeşitli yöntemlerle etanol tamamen saflaştırılabilir. Saf etanole mutlak etanol denir (Solomons ve ark. 2002).

Etanol önemli bir hipnotiktir (uyku verici). Uyarıcı olduğuna inanılmasına karşın, beynin üst kısmının etkinliğini azaltır. Etanol zehirlidir; ancak matanole oranla zehirliliği çok düşüktür. Farelerde etanolün ölümcül dozu, vücut kütlesi başına 13,7 g kg<sup>-1</sup> dır (Solomons ve ark. 2002).

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

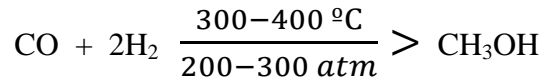
Alkolün hem kimyasal hem de fiziksel olarak hücre membran hasarına yol açtığı bilinmekte olup alkol araştırmaları etanol ile uyarılan biyokimyasal mekanizmalar üzerinde yoğunlaşmıştır (Armutcu ve ark. 2004). Mekanizması net bir biçimde açıklanmamış olsa da etanolün karaciğer dejenerasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Hepatik işlevlerde etanolün etkisi geleneksel olarak serum transaminaz ve histolojik analiz ölçümleri ile değerlendirilir (Conigrave ve ark. 2003; Tirapelli ve ark. 2011). Etanolün aşırı tüketimi oksidatif stres, iltihap, redoks değişiklikleri ve mitokondriyal hasar dahil olmak üzere çeşitli patolojik mekanizmaların kombinasyonu ile karaciğer hastalığına neden olduğu sanılmaktadır (Beier ve ark. 2010). Etanolün karaciğerde Oksidatif stresi arttırdığı (Dey ve ark. 2006) ve reaktif oksijen türlerinin artması ile ilişkilendirildiği belirtilmektedir. Etanol ile indüklenen hepatik fonksiyon bozukluğunda lipid ve proteinlerdeki malondialdehit (MDA) nın artışı görölmektedir (Baldi ve ark. 1993).

### **2.1.3. Metil Alkol**

Metil alkol alifatik bir molekül yapısına sahip olup molekül formülü CH<sub>3</sub>OH olarak tanımlanır. Renksiz bir sıvı olan metanolün molekül ağırlığı 32.04 ve özgül ağırlığı 0 °C 'de 0.8142 olup, donma noktası -94 °C, kaynama noktası +64.7 °C'dir. Su, alkol ve eter gibi çözücülerle her oranda karışabilen etanol endüstride, solvent şeklinde yaygın olarak

kullanılmakta ve çok ucuz olduğundan dolayı diğer alkollere göre daha kolay ulaşılabilir (I. Fidan ve ark. 1993).

Eski yıllarda metanolün çoğu, odunun kuru kuru damıtılması (havasız ortamda odunun yüksek sıcaklıklara ısıtılması) ile elde edilirdi. Bu üretimden dolayı metanole “odun alkolü” de denilmektedir. Günümüzde metanolün büyük bir kısmı, karbonmonoksitin hidrojenlenmesiyle elde edilmektedir. Bu tepkime, yüksek basınç altında 300-400 °C sıcaklıkta meydana gelir.



Şekil 2.3 Metanolün oluşumu

Metanol oldukça zehirlidir. Az miktarda metanolün yutulması körlüğe; fazla miktarı ise ölüme yol açar. Metanol zehirlenmesi, buharların solunması ya da cildin uzunca süre metanole maruz kalmasıyla da meydana gelebilir. (Solomons ve ark. 2002)

Metanol damıtık alkollü içkilerde fermantasyon boyunca pektinden metoksil grubunun hidrolize olması sonucunda pektolitik enzimler vasıtasıyla oluşur. Meyvelerin kabul ve çekirdeklerinde bulunan pektik maddeler, kırmızı şarap, rakı ve diğer yüksek alkollü içkilerin yapımında kuru üzüm, yaş üzüm ve meyveler cibrelere ile birlikte fermantasyon işlemine tabi olduklarında; kabuk, çekirdek, sap gibi kısımlarda bulunan çözünebilir pektik maddeler şıraya geçmekte ve daha fazla metil alkol oluşmaktadır (Apostolopoulou ve ark. 2005). Elde edilen damıtık alkoldeki metanol miktarı ekstraksiyon süresi ve uygulanan işlemler paralellik göstermekte ve fermantasyon ürünlerinde metanol miktarını etkileyen birincil faktör hammaddedir (Soufleros ve ark. 2004).

Rakı üretimi sırasında oluşan metil alkolün bir kısmı, uygulanan işlemlerle ortamdan uzaklaştırılsa da, üründe bir miktar kalabilir ve zehirli olduğundan, içkilerde bulunabileceği maksimum miktarlar, sağlığı korumak amacıyla, mevzuatla belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi'ne göre, rakıda bulunmasına izin verilen metil alkol miktarı en fazla 150 g/hL mA'dır (Anonim 2005). Bu miktardan daha yüksek oranlarda metil alkol içeren ürünler insan sağlığı açısından riskli olarak değerlendirilir. Avrupa Birliği yüksek alkollü içkiler standardına göre ise metanol miktarı şaraptan elde edilen damıtık alkolde 200 g/hL mA' yı, üzüm cibresinden elde edilen damıtık alkolde 1000 g/hL mA'yı geçmemelidir (Anonim 2004).

Metanolün vücutta önce formaldehite, daha sonra da formik asite dönüştüğünden dolayı insan sağlığı üzerindeki zehirli etkisi göstermektedir. Metanolün öldürücü dozu 50-75 g kabul edilmekle birlikte, 11.5 g düzeyinde bile ölüm olayı görülebilir. Kalp ve kas zayıflaması, kramp, titreme nöbeti, görme zayıflıkları ve körlük, görme sinirlerinde iltihaplanmalar metanol zehirlenmesinin temel belirtileridir (I. Fidan ve ark. 1993). Bütün bu olumsuz durumlardan göz önünde bulundurulduğunda yüksek alkollü damıtık içkilerin üretiminde damıtma işleminin, özellikle ikinci damıtmanın sağlıklı şekilde gerçekleştirilmesi sağlanmalıdır. (I. Fidan ve ark. 1996).

## **2.2 Rakıda Bulunan Diğer Bileşenler**

Rakının yapısında bulunan etanol, metanol, eteri yağlar dışındaki diğer uçucu bileşikler rakı kalitesini etkileyen unsurlar. Rakı yapımında kullanılan bu bileşenlerin birbirlerine oranı ve miktarı elde edilen ürünün tat ve aromasının ayarlanmasını sağlar. Fermantasyon koşullarının ve damıtma tekniğinin etkinliği üründe oluşan etanol, metanol ve diğer uçucu bileşenlerin oluşumu ve üründeki oranları üzerine fermente edilen hammaddelerin cinsi, niteliği için oldukça önemlidir. Damıtma esnasında etil alkolle birlikte uçucu bileşenlerin elde edilen üründeki oranı ürün kalitesi açısından önemli oran teşkil etmektedir (Nykanen ve ark. 1989).

Damıtma sonucunda oluşan damıtıkta başlıca su, etil alkol, metil alkol, esterler (etil asetat, metil asetat), aldehytler (asetaldehit, asetal) ve yüksek alkoller (2- bütanol, npropanol, izobütanol, n-bütanol, 2-metil-1-bütanol, 3-metil-1-bütanol) bulunmaktadır.

**Çizelge 2.1.** Rakıda bulunan uçucu bileşiklerin toksisite değerleri (Koca 2007b)

<b>BİLEŞİK ADI</b>	<b>TOKSİTİTE DEĞERLERİ</b>	
Etil alkol	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: >800 mg/1/4 s. : > 20000 mg/kg : > 6200 mg/kg
Metil alkol	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LD50 (Oral, sıçan) LDL0 (Oral, insan)	: 64000 ppm (V)/4 s. : 5628 mg/kg : 143 mg/kg
Asetaldehit	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LD50 (Oral, sıçan)	: > 24mg/1/4 s. : > 661 mg/kg
Asetal	LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: 5000 mg/kg : 4570 mg/kg
Etil asetat	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: 1600 mg/1/4 s. : > 18000 mg/kg : > 5620 mg/kg
Metil asetat	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: 16000 mg/1/4 s. : 2000 mg/kg : 5000 mg/kg
n-propanol	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan) LDL0 (Oral, insan)	: > 34 mg/1/4 s : 4000 mg/kg : 1870 mg/kg : 5700 mg/kg
2-bütanol	LD50 (Dermal, sıçan) LD50 (Oral, sıçan)	: > 2000 mg/kg : 6480 mg/kg
İzobütanol	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: > 24 mg/1/4 s : 2000 mg/kg : 2830 mg/kg
n-bütanol	LC50 (Tenefüs etme, sıçan) LDL0 (Tenefüs etme, insan) LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: > 18 mg/1/4 s : 2,5 mg/100 mL : 3400 mg/kg : 790 mg/kg
2-metil-1-bütanol	LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: > 2900 mg/kg : > 4170 mg/kg
3-metil-1-bütanol	LD50 (Dermal, tavşan) LD50 (Oral, sıçan)	: > 3000 mg/kg : > 5000 mg/kg
LD50	: Deneklerin %50' sini öldüren doz.	
LC50	: Deneklerin %50 'sini öldüren konsantrasyon.	
LDL0	: Öldürücü kabul edilen en düşük doz.	
LCL0	: Öldürücü kabul edilen en düşük konsantrasyon.	

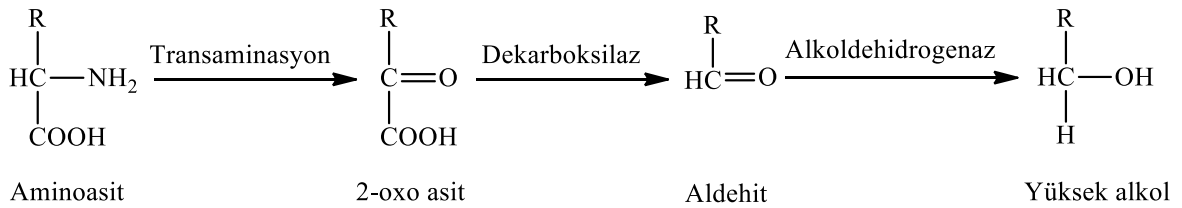


## 2.2.1 Fermantasyon Sonucunda Ortaya Çıkan Diğer Uçucu Bileşikler

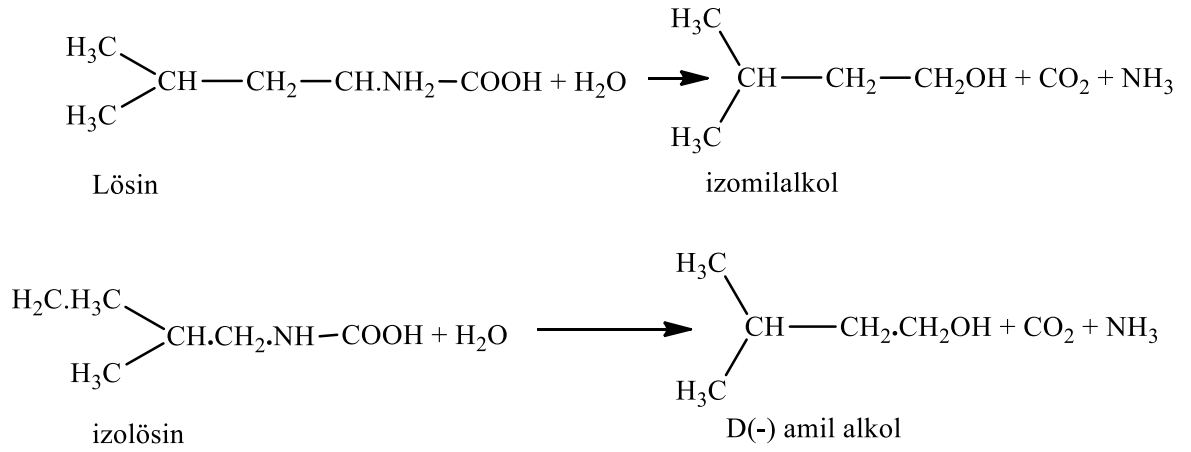
### 2.2.1.1. Yüksek Alkoller

Bütün maya fermantasyonlarında, etanole benzer yüksek kaynama noktasına sahip, yüksek molekül ağırlıklı, az miktarda, yüksek alkol oluşur. Bu yüksek alkoller, üretilen miktarlarına göre, sırasıyla; 3-metil bütanol (izoamil alkol), 2-metil bütanol (aktif amil alkol), 2-metil propanol (izobütül alkol) ve 1-propanol (n-propil alkol)'dur. Fuzel yağları olarak da bilinen yüksek alkoller alkol fermantasyonunun önemli bir yan ürünü olup, alkollü içkilerde aroma üzerinde etkili bir kalite kriteridir (Boulton ve ark. 1996).

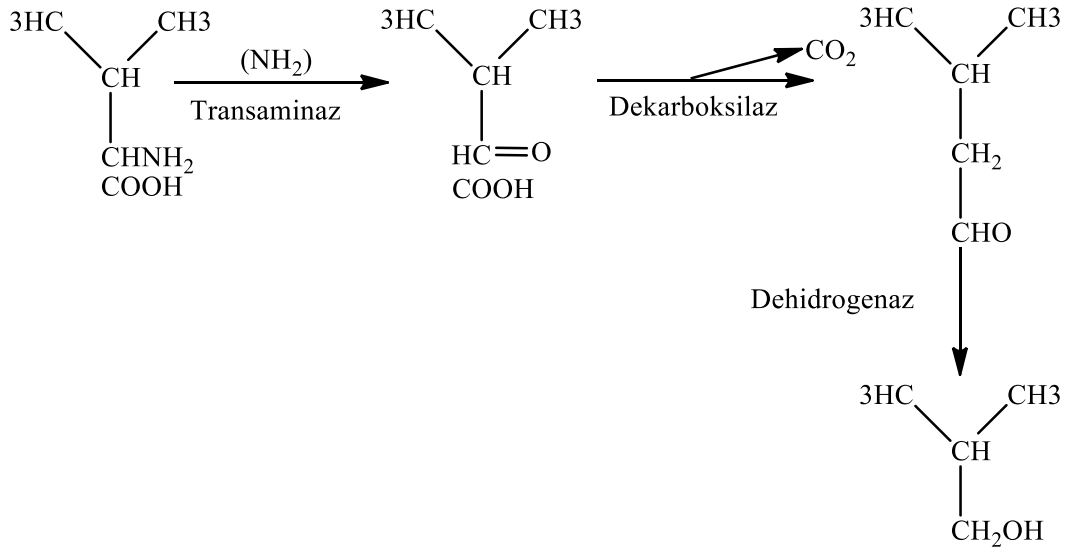
Fermantasyon sırasında yüksek alkoller, Ehrlich veya karbonhidrat sentezi yolları ile meydana gelirler. Ehrlich mekanizması ilk olarak 1905 yılında bulunmuştur. Bu mekanizmaya göre hammaddedeki azotlu bileşikler mayalar tarafından amino asitlere, amino asitler ise yine mayalar tarafından yüksek alkollere dönüşür. Bu dönüşümde fermantasyon ortamında bulunan amino asit maya tarafından hücre içine alınır. Hücre içinde amino asidin amino grubu transaminasyona uğrar ve keto asit oluşur, daha sonra keto asit aldehite dönüşmek üzere dekarboksile olur. Oluşan aldehit indirgenir ve yüksek alkol açığa çıkar (Şekil 2.4) (Şekil 2.5) (Şekil 2.6). Ortamda amino asitler tükendiğinde ise yüksek alkoller karbonhidratlardan biyosentez yolu ile oluşur. Yani şeker metabolizmasından, pirüvat yolu ile önce keto asitler ve daha sonra da yüksek alkoller meydana gelir (Şekil 2.7) (Castor ve ark. 1952; Erten ve ark. 2003).



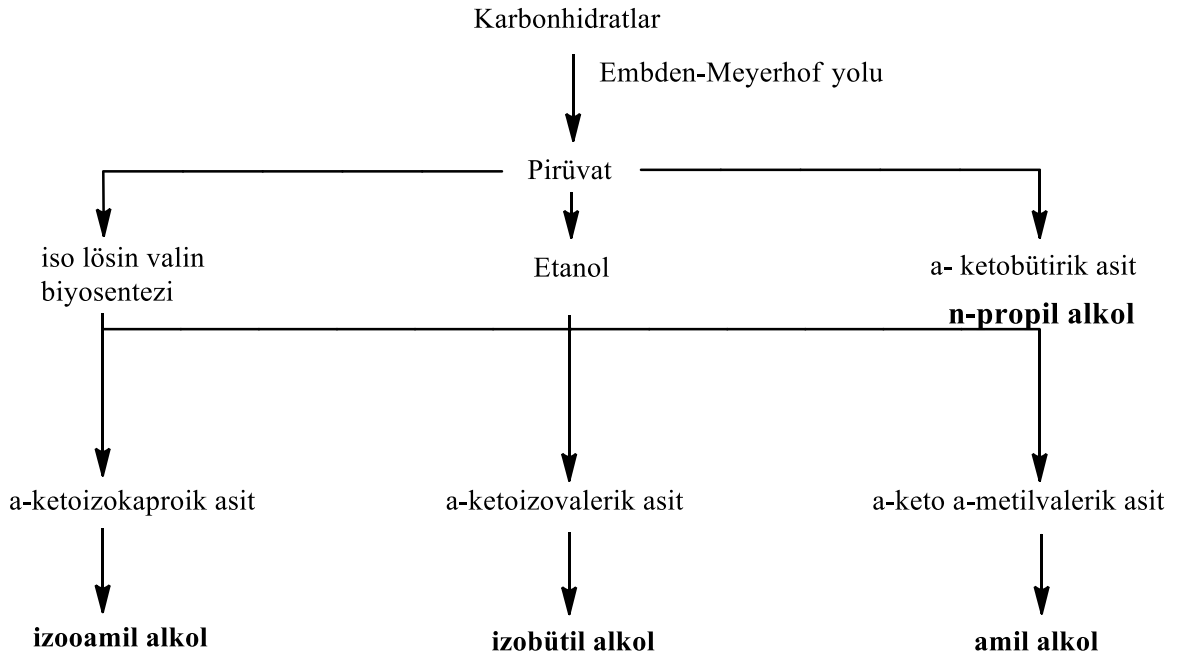
Şekil 2.4 Ehrlich yolu ile yüksek alkol oluşumu(Gözen 2006)



Şekil 2.5. Ehrlich mekanizması ile bazı yüksek alkollerin meydana gelişi(Koçak 1993)



Şekil 2.6. Valin amino asidinden izo-bütanolün oluşum mekanizması (Koçak 1993)



Şekil 2.7. Maya fermantasyonunda yüksek alkollerin oluşması (Varnam ve ark. 1994)

İçeriğindeki hammaddeye bağımlı olan yüksek alkoller, bileşiminin yanı sıra oluşumunu da etkileyen diğer etkenler maya suşu, fermantasyon sıcaklığı ve aşılama miktarıdır. Alkollü içkilerin, özellikle rakının, üretiminde kuvvetli fermantasyon yapan saf mayaların kullanılması önerilmektedir. Ayrıca mayanın olumsuz yaşam koşulları da yüksek alkollerin oluşumunu artırır (I. Fidan ve ark. 1993; Koca 2007a).

Yüksek alkoller renksiz veya sarı-kahverengiye kadar renklere, hoş olmayan öksürtücü ve tırmalayıcı bir kokuya sahiptir. Yüksek alkollerden 2-metil bütanol muz, alkol ve iodoform aroma; 3-metil bütanol tatlımsı ve alkolümsü aroma; n-propanol sıcak ve yakıcı aroma; 2-fenil etanol gül kokusu aroması; hekzanol ham ve keskin kokulu aroma verirler (I. Fidan ve ark. 1993).

#### 2.2.1.1.1. İzobütanol

Kapalı formülü  $C_4H_9OH$  olarak gösterilen izobütanol renksizdir. Su, alkol ve eterde çözünebilmektedir. 2-metil-1-propanol, izopropil karbinol, 1-hidroksimetilpropan izobütanol için kullanılan diğer isimlerdir. Molekül ağırlığı 74.12 g/mol, kaynama noktası 108 °C, yoğunluğu 0.802 g/cm<sup>3</sup> olarak belirlenmiştir. İzobütanol keskin, hoş gitmeyen

alkol ve şarap kokusunda olup algılanma eşik değeri 0.036–0.33 mg/100mL’dir (Burdock 2002. ).

#### **2.2.1.1.2. n-propanol**

Kapalı formülü  $C_3H_7OH$  olan etil karbinol, 1-propanol, propilik alkol olarak da adlandırılmaktadır. Su, alkol ve eterde çözünebilir. Kaynama noktası 97.2 °C ve yoğunluğu 0.80 g/cm<sup>3</sup>’tür. Renksiz, uçucu ve yanıcıdır. Akışkan bir sıvı olan n-propanol alkol kokusunda ve karakteristik olgun meyve aromasına sahiptir. Algılanma eşik değeri 0.57–4 mg/100mL’dir (Burdock 2002. ).

#### **2.2.1.1.3. Aktif amil alkol**

Kapalı formülü  $C_5H_{11}OH$  olan aktif amil alkolün (2-metil-1-bütanol) molekül ağırlığı 88.15 g/mol, yoğunluğu 0.82 g/cm<sup>3</sup> ve kaynama noktası 127-129 °C’dir. Su, etil alkol ve eterde çözüdür. Renksiz, sıvı ve etil alkol kokusundadır (Burdock 2002. ).

#### **2.2.1.1.4. n-bütanol**

Kapalı formülü  $C_4H_9OH$  olan n-bütanol 1-bütanol, bütül alkol, bütan-1-ol olarak da isimlendirilir. Molekül ağırlığı 74.12 g/mol, kaynama noktası 117.7 °C ve yoğunluğu 0.808 g/cm<sup>3</sup>’tür. Renksizdir. Amil alkol ve etil alkol kokularında, kuru ve yakıcı tattadır. Algılanma eşik değeri 0.05-50 mg/100mL’dir (Burdock 2002. ).

#### **2.2.1.1.5. İzoamilalkol**

3-metil-1-bütanol olarak da adlandırılan ve kapalı formülü  $C_5H_{11}OH$  olan izoamilalkol, optikçe aktif (-) amil alkol, fermantasyonda en fazla oluşan yüksek alkoldür. Fuzel yağların üstün koku bileşenidir. Aktif amil alkol ile yapı bakımından benzerdir ve birbirinden ayırmak güçtür. Molekül ağırlığı 88.15 g/mol, yoğunluğu 0.81 g/cm<sup>3</sup>, kaynama noktası 130–131 °C’dir. Su ve organik çözücülerde çözüdür. Fuzel yağı ve karakteristik keskin viski kokusunda olup tiksindirici bir tada sahiptir. Algılanma eşik değeri 0.025–0.41 mg/100mL’dir (Burdock 2002. ).

#### **2.2.1.1.6. 2-bütanol**

$C_5H_{11}OH$  kapalı formülü ne sahip olan 2-bütanol, 74.12 g/mol molekül ağırlığına, 112 °C kaynama noktasına ve 0.815 g/cm<sup>3</sup> yoğunluğuna sahiptir. Akıcı ve renksiz bir sıvı olan 2-bütanol, meyvemsi alkol kokusundadır. Su, etil alkol ve eterde çözünürken algılanma eşik değeri 0.041–0.082 mg/100mL'dir (Burdock 2002. ).

#### **2.2.1.1.7. Esterler**

Asetik asit metil esteri olarak da bilinen metil asetat,  $C_3H_6O_2$  kapalı formülüne sahip, yoğunluğu 0.93 g/cm<sup>3</sup>, molekül ağırlığı 74.08 g/mol, erime noktası -98 °C, kaynama noktası ise 57.5 °C'dir. Metil asetat su, etil alkol ve eterde iyi çözünen olarak bilinir ve renksiz, meyvemsi kokuya ve keskin acı bir tadı bulunur. Aroma algılanma eşik değeri 0.15-4.7 mg/100 mL'dir (Burdock 2002. ).

Güzel koku ve hoş bir meyve aroması katkısı olarak kullanılan esterler damıtık alkollü içkilerde kalite indikatörüdürler (Soufleros ve ark. 2004). Alkollü içkilerde *S. cerevisiae* tarafından üretilen esterlerden en önemlileri etil asetat, izoamil asetat (3 metil bütül asetat), izobütül asetat (2 metil propil asetat), heksil asetat, etil heksanoat (etil kaprat), etil oktanoat (etil kaprilat), etil dekanat (etil kaprat) ve 2-fenil etil asetatdır (Erten ve ark. 2003).

#### **2.2.1.1.8. Aldehitler**

Kapalı formülü  $C_2H_4O$  asetaldehitin, yoğunluğu 0.78 g/cm<sup>3</sup>, molekül ağırlığı 44.05 g/mol, erime noktası -123 °C, kaynama noktası ise 20.4 °C'dir. Asetaldehit su ve etil alkolde iyi çözünürlük özelliği gösterir ve damıtık alkollü içkilerde dikkate alınan iki temel aldehit asetaldehit ve asetaldir (Burdock 2002. ).

Şekerin mayalar tarafından parçalanması sonucunda açığa çıkan karbonil bileşiği olan asetaldehit, alkollü içkilerdeki toplam aldehitlerin %90'ını oluşturur. Asetaldehit alkol fermantasyonu sırasında pirüvattan meydana gelir ve daha sonra alkol dehidrogenaz enzimi ile etil alkole dönüşür (Cabaroğlu 1995).

### 2.3. Anasonla Damıtma Sırasında Oluşan Uçucu Bileşikler

Rakının aromasının sağlanması için kullanılan bir ön hammadde olan anason Doğu Akdeniz ülkelerinde eski tarihi devirlerin bir kültür bitkisidir. Rakı yapımında anason tohumları kullanılır. Kullanılan miktar rakı çeşidine, anasonun kalitesine ve katılan aporak oranına göre değişmekte olup, %6–10 arasındadır. Anason eteri yağı, başlıca iki izomer bileşikten ( $C_{10}H_{12}O$ ) yani, normal sıcaklıkta katı olan anethol (p- methoxyprophenyl benzene,  $C_6H_4C_3H_5OCH_3$ ) ve sıvı olan methylchavicol (p- allyanisole, estragol,  $(CH_2CHCH_2C_6H_4OCH_3)$ ) den oluşur. Diğer komponentler ise; anisketon, anason asidi, anisaldehyt, camphen gibi maddeler, miktarları nedeniyle rakı kalitesinde etkili bileşiklerdir (I. Fidan ve ark. 1993).

### 2.4. Ceviz ve İçeriği

Ülkemiz için hem ekonomik hem de kültürel yönden önemli bir yeri olan ceviz, Akdeniz diyetinin vazgeçilmez bir parçasını oluşturmaktadır. Ceviz, uzun süre depolanabilme özelliği sayesinde insanlığın varışından bu yana günlük diyetinin önemli bir parçası haline gelmiştir (Amaral ve ark. 2003; Ergun ve ark. 2008). 16.ve 17. yüzyıllarda bazı bitkiler benzedikleri vücut azalarının rahatsızlıklarının tedavisinde değerlendirilmiş ve bu bitkilerden biri olan ceviz baş rahatsızlıklarının tedavisinde, zihni geliştirmede ve duygu, his ve heyecanı kontrol altına almada bir bitkisel ilaç olarak kullanılmıştır (Bourre 2005; Ergun ve ark. 2008).

Diğer sert kabuklu meyveler ile karşılaştırıldığında, ceviz daha çok tekli doymamış yağlar içermekle beraber, günlük yağ ihtiyacımızın bir parçası olan omega-3 ve omega-6 çoklu doymamış yağ tiplerince de oldukça zengin bir meyvedir (Amaral ve ark. 2003). Omega-3 serisi yağ asitleri insan organizması için esansiyeldir. Dokozaheksanoik asit (DHA, 22:6  $\omega$ -3), eikozapentaenoik asit (EPA, 20:5  $\omega$ -3) insan beslenmesinde önem arz eden omega-3 yağ asitleridir. Omega-3 yağ asitleri ihtiyacı anne karnında başlayarak çocukluk, ergenlik, yetişkinlik ve yaşlılık boyunca sürmektedir. Omega-3 yağ asitlerinin eksikliğinde büyümede gecikme, nörolojik semptomlar, deri lezyonları ve görme keskinliğinde azalma gibi durumlar ortaya çıkmaktadır.

Yapılan klinik deneyler sonucunda omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine bir çok yararlarının olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmalarda omega-3 yağ asitlerinin,

kardiyovasküler (kalp ve damar sistemi ile alakalı) sistemi koruma (Breslow 2006; Gerber ve ark. 2013; Mozaffarian ve ark. 2011), anlama ve kavrama kabiliyetini artırma (Stevens ve ark. 1995), antiinflamatuvar özellik (Fritsche 2006) , romatoid artrit (James ve ark. 1997) , elzama ve sedef türü inflmatuar deri hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Gil 2002).

Bugüne kadar ceviz üzerine yapılan çalışmalar, günlük ceviz tüketiminin kandaki lipoprotein seviyesini uygun şekilde etkilediğini ve toplam kolesterol seviyesini düşürdüğünü göstermiştir (J. Sabate ve ark. 1993; Zambon ve ark. 2000) Ceviz ayrıca kolesterole yapısal olarak benzeyen fitostereollerce zengin olmasından dolayı, fitosteroller kolesterolün bağırsaklarda emilimini engellemekte; böylece, toplam plazma kolesterolünün ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'lerin seviyelerini düşürebilmektedir (Plat ve ark. 2001; Wong 2001). Epiyomidolojik ve deneysel çalışmalar fitosterollerin kalın bağırsak, göğüs ve prostat kanseri gibi kanser türlerine karşı bir koruma sağladığını ileri sürmektedir (Awad ve ark. 2000; Awad ve ark. 2001).

Aşağıda cevizin bilinen 60 bileşeni gösterilmiştir (USDA 1987).

- Su (total ağırlığının %4' üdür.)
- Makro besin öğeleri (total ağırlığının %94' üdür.)
  1. Yağ (Linolenik ve Linoleik gibi esansiyel yağ asitlerini de içeren altı değişik yağ asidinin bileşimidir.

**Çizelge 2.2.** Cevizdeki yağ asitleri

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

2. Protein (18 değişik aminoasitten oluşur)

Çizelge 2.3. Cevizdeki aminoasitler

Amino Asitler	Cevizin 100 gramındaki miktar
İsolösin	566 mg
Lösin	922 mg
Lizin	388 mg
Metionin	280 mg
Sistin	345 mg
Fenilalanin	682 mg
Tirozin	439 mg
Treonin	488 mg
Triptofan	139 mg
Valin	723 mg
Arjinin	2103 mg
Histidin	359 mg
Alanin	609 mg
Aspartik Asit	1475 mg
Glutamik Asit	2809 mg
Glisin	755 mg
Prolin	553 mg
Serin	782 mg
Total Esansiyel Amino Asitler	6676 mg
Total esansiyel olmayan amino asitler	7767 mg
Total Amino Asitler	14443 mg

3. Karbonhidratlar (şekerlerin 3 değişik tipinden meydana gelir

4. Diyet ile alınan lifler

- Mikro Besin Öğeleri – Mineraller (toplam ağırlığının %1' i)

- ✓ Kalsiyum
- ✓ Demir
- ✓ Magnezyum



- ✓ Fosfor
- ✓ Potasyum
- ✓ Sodyum
- ✓ Çinko
- ✓ Bakır
- ✓ Manganez
- ✓ Selenyum
- Mikro Besin Öğeleri – Vitaminler (total ağırlığının %0.3'üdür)
  - ✓ Vitamin C
  - ✓ Tiamin
  - ✓ Riboflavin
  - ✓ Niasin
  - ✓ Pantotenik asit
  - ✓ Vitamin B6
  - ✓ Vitamin E (alpha-tocopherol)
  - ✓ Vitamin E(delta-tocopherol)
  - ✓ Vitamin E (gamma-tocopherol)
  - ✓ Vitamin K
- Bitki Sterolleri /Total ağırlığın %0.6'sıdır.)
  - ✓ Stigmasterol
  - ✓ Campesterol
  - ✓ Beta-sitosterol
- Diğer maddeler (total ağırlığının %0.1' i dir.)
  - ✓ Melatonin
  - ✓ Beta-karoten
  - ✓ Lutein
  - ✓ Zeaksantin
  - ✓ Ellagik Asit
  - ✓ Gallik Asit

## **2.5. Oksidatif Stress**

Oksijen canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılır (Vaya 2012; Winczura ve ark. 2012). Serbest oksijen radikalleri enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde reaktif ve potansiyel olarak zararlı maddelerdir (Vaya 2012). Serbest radikaller hücrelerimizde DNA'ya, proteinlere ve lipitlere saldırarak zarar verir (Winczura ve ark. 2012). Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir (Jacob ve ark. 1996; Ulutaş 2012).

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Bu denge, hücreyi serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa hücrede serbest radikallerin miktarı artar. Serbest radikallerin hücrede artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye 'oksidatif stres' denir (Jacob ve ark. 1996). Birçok metabolik ve sistemik hastalığın etiolojisinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Caviness ve ark. 2011; Coppo ve ark. 2010; Kaur ve ark. 2008; Loukides ve ark. 2011; Miller ve ark. 2009; Otani 2011; Palm ve ark. 2011; Pellegrino ve ark. 2011; Plafker 2010; Rains ve ark. 2011; Roberts ve ark. 2010; Ulutaş 2012; Victor ve ark. 2011; von Bernhardt ve ark. 2012).

### **2.5.1. Serbest Radikaller ve Türleri**

Son yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip olan serbest radikaller, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin atom veya moleküller olarak tanımlanır. Kararlı bir yapı kazanabilmek için kendisindeki fazla elektronu başka atomlara verinceye ya da başka atomlardan elektron alıncaya kadar çevrelerindeki moleküllere adeta saldırırlar. Birçok zincir reaksiyonu başlatıp daha çok radikal oluşturmalarından ve radikal olmayan moleküller ile reaksiyona girip onları da radikal yapmalarından dolayı serbest radikaller oldukça tehlikelidir (Akkus 1995; Yurt 2010b). Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (Thomas 1995). Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerden olan oksijen radikalleri, süperoksit grubuna bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve şavoproteinlerin etkisiyle indirgenir (Aruoma ve

ark. 1991). Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene çevrilir (Qi ve ark. 1997). Süperoksit grubundan daha zayıf olan  $H_2O_2$ , dokularda bulunan peroksidaz, katalaz (CAT), ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz hale getirilir (Valko ve ark. 2007). Dietilditiyokarbamat gibi süperoksit dismutazın etkinliğini engelleyen maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonu hızlandırırlar (Qi ve ark. 1997; Ulutaş 2012).

### **2.5.2. Reaktif Oksijen Türleri**

Oksijen metabolizması ara ürünleri olan reaktif oksijen türleri, brom ve klor gibi tek atomlu yapılar, sodyum ve potasyum gibi alkali metal atomları, bir orbitalinde tek elektron bulunduran NO,  $NO_2$  gibi atom bileşikleri; oksijen radikalleri olarak bilinmektedir (Karihtala ve ark. 2007). İntoksikasyon, hemoraji, iskemi, radyoaktivite durumlarında mitokondride aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi bozulur. Elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları meydana gelir (Forstermann 2008; Ulutaş 2012).

Normal metabolizmada moleküler  $O_2$ 'nin % 98'i oksidazlar yoluyla suya çevrilmektedir. Geriye kalan kısmı ise oksijenazlar yoluyla hücre içi organellerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştiren, membranlarda oksidatif yıkıma neden olan reaktif toksik ürünlere dönüştürülür. Bu  $O_2$  metabolizması ürünlerinin azaltılması enzimatik süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve nonenzimatik glutatyon (GSH) hücrel savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir (Wickens 2001; Wohaieb ve ark. 1987; Yurt 2010a).

#### **2.5.2.1. Singlet Oksijen Atomu**

Bir radikal olmayıp sıklıkla oksijen radikalleri ile birlikte anılan reaktif oksijen türüdür. Singlet oksijen dış yörününde eşlenmemiş bir elektronu bulunmayan serbest radikal olarak kabul edilmemekte, fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına dâhil edilmiştir (Haleng ve ark. 2007; Kulbacka ve ark. 2009; Ulutaş 2012).  $^1O_2$  mutajenik ve genotoksik olarak bilinir. Ayrıca pekçok biyolojik prosesi

içeren reaktif oksijen türü olarak bilinir. Nötrofil fagozitozisi ve enzimatik süreçler kaynak olarak gösterilebilir (Ravanat ve ark. 2001).

Singlet oksijen ( $O_2$ ), oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi, süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Biyolojik sistemlerde singlet oksijen; fotosentez reaksiyonları sırasında, hidrojen peroksitlerin metal iyonları varlığında vermiş oldukları reaksiyonlar esnasında, iyonize radyasyon ile uyarılma sonucu veya sitokrom p450 tepkimeleri sırasında oluşabilir (Afanas'ev ve ark. 1995; Akkus 1995; Kappus 1987; Karbownik ve ark. 2000).

#### **2.5.2.2. Süperoksit Radikali**

Canlı organizmada meydana gelen ilk radikal süperoksit ( $O_2$ ) radikalidir. Canlılarda tek bir elektronun transfer yoluyla oksijene verilip oksijenin tek değerlikli indirgenmesi ile  $O_2^-$  oluşmaktadır (Jacob ve ark. 1996), enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar çevresel etkenler ile daha kolay bir şekilde oluşur. Moleküler oksijenin suya indirgenmesi sırasında elektron transport zincirindeki elektron kaçağı sonucu süperoksit radikali oluşur. Süperoksitin radikalinin en büyük kaynağı elektron transport zinciridir. Reaktivitesi düşük bir radikaldir (Jialal ve ark. 1993). Moleküler oksijenin dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron vardır. Söz konusu elektronlar paylaşılmayıp ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali  $O_2^-$ ) iki elektron alması ile peroksil anyonu oluşur. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir, böylece oluşan peroksil anyonu ortamdaki iki proton alarak hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşturabilir (Kılınç 1986; Yurt 2010a).

#### **2.5.2.3. Hidrojen Peroksit**

Oksijenin 2 elektronla uyarılması veya  $O_2$ 'nin dismutasyonu ile  $H_2O_2$  meydana gelir (J. H. Kim ve ark. 2011). Hücre hasarında ve özellikle DNA hasarında önemli rolünün olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir.  $H_2O_2$  hücre membranını kolaylıkla

geçer ve fenton reaksiyonu ile veya diğer bir reaksiyon olan Haber-Weiss reaksiyonu ile  $\cdot\text{OH}$  oluşturur.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin toksik sonuçlarına neden olan bu iki reaksiyondur (Reiter ve ark. 2001; Wei ve ark. 2001). Serbest radikal olmadığı halde “ROS” kapsamına giren ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynayan  $\text{H}_2\text{O}_2$  potansiyel oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri tarafından suya dönüştürülerek yerine getirirler (Halliwell 1987; Hemnani ve ark. 1998; Rusyn ve ark. 2000; Ward 1983).

#### **2.5.2.4. Hidroksil Radikali**

Son derece reaktif bir oksidan radikali olan hidroksil radikali tüm biyolojik moleküllerle reaksiyona girebildiğinden dolayı yarılanma ömrü çok kısa ve buna karşın oldukça büyük yıkıcı hasarlara neden olmaktadır (Catala 2009). Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan  $\text{OH}\cdot$ , su dâhil ortamda rastladığı her biyomolekülle difüzyon limiti hızı ile tepkimeye girer (Jiang ve ark. 2011; D. Kim ve ark. 2010; Pang ve ark. 2011).

Fosfolipidler, karbonhidratlar, proteinler, DNA gibi elektronca zengin birçok molekül hidroksil radikalının hedefinde yer alır. Hidroksil radikali DNA üzerinde kırılmalara ve mutajenik etkilere neden olur. Radikal olmayan biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek zincirleme reaksiyonlar başlatabilir (Breen ve ark. 1995; Cadet ve ark. 2003; Dizdaroglu ve ark. 2012; Floyd ve ark. 1992; Halliwell ve ark. 1992; Karam ve ark. 1991; Kawanishi ve ark. 1989; Lett 1988; Simic 1994). Hidroksil radikali lipid peroksidasyonunu başlatarak hücre zarının yapısını bozar ve hücre zarının geçirgenliğini artırabilir ve hücre ölümüne yol açabilir. (Ashley-Koch ve ark. 2008; Bhatt ve ark. 2005; Catala 2009).

#### **2.5.2.5. Nitrik oksit (NO)**

İnorganik bir serbest radikal olan nitrik oksit metabolizma içerisinde birçok göreve sahiptir. Geçmişte sadece çevre kirliliğine sebep olan bir molekül olarak kabul edilmiştir. NO oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilir. NO bir atom azot ile bir atom oksijenin

çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır (Metodiewa ve ark. 2000; Powers ve ark. 2011; Tan ve ark. 2007).

Kan basıncı üzerinde önemli bir etkisi bulunan NO, süperoksit ve geçiş metalleriyle birleşerek peroksinitriti oluşturur. NO' in ortamda birikmesi nöronlarda ileri derecede hasarın oluşmasına yol açar. Yağda çözünebilen nitrik oksit biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilir. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar. Bununla birlikte Süperoksitle reaksiyona girerek prooksidan olarak davranır. Nitrik oksit metabolizmada nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile üretilir ve güçlü bir damar düz kas gevşeticisi olarak görev yapar (Lala ve ark. 2001; Simonian ve ark. 1996; Yurt 2010a).

## **2.6. Serbest Radikal Kaynağı**

Biyolojik sistemlerde normal metabolik sürecin isleyişi sırasında oluşabilen serbest radikaller, dışarıdan gelen yabancı maddelerin metabolize edilmeleri sürecinde de meydana gelebilirler. Normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluşabilir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızarlar, moleküler oksijenle tesadüfen etkileşirler ve sonuçta serbest oksijen radikalleri oluşur. Reaktif oksijen türlerinin, endojen ve eksojen olmak üzere iki önemli kaynağı bulunmaktadır (Haleng ve ark. 2007; Kappus 1987; Reiter ve ark. 2001; Ulutaş 2012).

Endojen kaynaklar; mitokondrial elektron transport sistemi, oksijenaz enzimler (ksantin oksidaz, 7 triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz), fagositik hücreler (nötrofiller, makrofajlar), otooksidasyon reaksiyonları ( $Fe^{+2}$ , epinefrin) olarak sıralanabilir. Eksojen kaynaklar ise radyasyon, sigara dumanı, stres, ilaçlar, pestisitler ve diğer ksenobiyotikler, çevre kirliliği olarak sıralanabilir (Lardinois 1995; Yurt 2010a).

### **2.6.1. Biyolojik Kaynaklar**

Aktive olmuş fagositler (solunumsal patlama = respiratory burst), antineoplastik ajanlar (bleomisin, adriamicine), radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (alkol ve uyuşturucular) ve çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi,

pestisitler, sigara dumanı, anestezipler). Streste katekolaminin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (Akkus 1995).

### **2.6.2. İntrasellüler kaynaklar**

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

### **2.7. Serbest Radikallerin Sistem Üzerine Etkileri**

Serbest radikaller oldukça kararsız moleküller olduklarından dolayı, hücreye mekanizma ve yapıtaşları üzerinden zarar vererek membran fosfolipitleri olmak üzere hücresel bileşiklerin yapısını (karbonhidrat, lipit, protein, DNA.) bozarak, membranlar depolarize olmakta, parçalayıcı enzimlerin aktivitesi artmakta, hücre zarının permeabilitesi ve elektrik yük dengesi değişmektedir (Sinclair ve ark. 1990). Serbest radikaller başlıca hücrede mitokondriyum olmak üzere hücre membranı, lizozomlar, peroksisomlar, çekirdek ve endoplazmik retikulumda lokalize olur (Yurt 2010a).

#### **2.7.1. Lipid Peroksidasyonu**

Serbest radikaller ile çok kolay bir şekilde reaksiyona giren membran yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Kendi kendisini devam ettiren bir zincir reaksiyon olarak ilerlediğinden ve geri dönüşümsüz bir reaksiyon olduğundan dolayı lipit peroksidasyonu oldukça zararlıdır. Lipit, nükleik asit, karbon hidrat veya protein gibi hücresel moleküllere okside edici bir radikalin eklenmesi ile (örneğin  $\bullet\text{OH}$ ) karbon merkezli radikaller oluşur ( $\text{R}\bullet$ ) bunlar daha sonra oksijen molekülü ile birlikte hızlı bir şekilde ilgili proksil radikalini ( $\text{ROO}\bullet$ ) oluşturmak üzere birleşirler. Ayrıca bu proksil radikalleri alkoksil radikalleri ( $\text{RO}\bullet$ ) üreten reaksiyonlara karışabilirler (Reiter ve ark. 2001; Rice-Evans ve ark. 1991). Lipid

peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) ölçümü ile belirlenebilir (Halliwell ve ark. 1995).

Fizyolojik koşullarda lipid hidroperoksidazlar (LOOH) kararlı moleküllerdir, ancak geçiş metalleri ile reaksiyona girerek alkoksil radikalleri (LO<sup>•</sup>) veya peroksil radikallerini (LOO<sup>•</sup>) oluştururlar. Bu işlemler esnasında karbon bağları kırılır ve sonuçta pentan, etan, 4-hidroksinonenal ve MDA gibi bileşikler oluşur. Oluşan MDA protein tiyolleri ile etkileşime girerek protein ve lipidler arasında çapraz köprüler oluşturarak sonuçta hücre hasara neden olmaktadır. Dokuda MDA seviyesinin artması o dokuda serbest oksijen radikallerinin arttığını gösterir (Nazifi ve ark. 2011). 4-hidroksinonenal ise biyolojik olarak çok aktiftir ve trombosit agregasyonu ve aktive edilmiş adenilat siklazı inhibe eder. Pentan linoleik asit ve araşidonik asidin oksidasyonu ile bu zincir reaksiyonları sonunda oluşur. Etan ise linolenik asidin oksidasyonu sonucunda meydana gelir (Rice-Evans ve ark. 1991).

### **2.7.2. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi**

Serbest radikallerin karbonhidratları etkilemesi sonucu, monosakkaritlerin otooksidasyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peroksitler ve okzalaldehyitler oluşabilir. Bunlar, diyabet, kanser, sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik proseslerde önemli rol oynarlar. Doymamış yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glioksalın hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir (Akkus 1995). Okzalaldehyitler DNA, ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Blazovics 2009; Ceriello 2000; Nishinaka ve ark. 1994).

### **2.7.3. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkisi**

Serbest radikallerin proteinler üzerinde ciddi anlamda zararları mevcuttur. Reaktif oksijen türevleri ya peptid bağları ile ya da aminoasit yan zincirleri ile reaksiyona girerek proteinleri okside eder. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler (Calder 2008). Bu reaksiyonlar sonucunda Oksidatif stres ürünleri olan glutatyon (GSH) gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu, tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur.



Bunlar sülfür merkezli radikallerdir (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfid bağı oluşturur. Böylece proteinlerin yapısını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engeller (Jurgens ve ark. 1986; Yamazoe ve ark. 1998). Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu meydana gelmektedir. Proteinlerin, serbest radikal hasarından ne derece etkileneceği aminoasit bileşimlerine bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir (Erenel ve ark. 1992).

#### **2.7.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkisi**

Serbest oksijen radikallerinin en önemli hasarı DNA molekülü üzerinde gerçekleştirir (Halliwell 1994). DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır (Hagen 1986; Sonntag ve ark. 2004). Proteinler, DNA tamir enzimleri ve DNA polimerazlar serbest oksijen radikallerinin major hedefleri arasındadır (Hagen 1986; Sonntag ve ark. 2004). DNA molekülü hasarı sonucu kronik inflamasyon, enfeksiyon, yaşlanma, karsinogenezis, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli patolojilerin görüldüğü bilinmektedir (Cwikel ve ark. 2010; D. Q. Li ve ark. 2010; Masuda ve ark. 2012; Robinson ve ark. 2012). Serbest radikal olan hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca etkileşime girerek değişikliklere neden olur. Sitotoksiste, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır (Akkus 1995). Radikaller, protein yapısındaki enzimlerin aktivitelerini değiştirir, membran transporter proteinlerini ve reseptör etkileşimlerini bozar (Ravanat ve ark. 2012).

#### **2.8. Antioksidan Sistemler**

Organizmada oluşan bir oksidatif stres durumuna karşı antioksidanlar; lipidleri, karbonhidratları, proteinleri, DNA'yı ve diğer oksitlenebilir substratları oksidasyondan korurlar. Serbest radikaller tarafından oluşan oksidasyon dokuların yaşlanmasına, kanser ve kalp-damar rahatsızlıkları gibi bazı hastalıklara neden olurlar (Jacob ve ark. 1996).

Antioksidan savunma sistemi enzimatik ve enzimatik olmayan yapılardan oluşarak, serbest radikal reaksiyonlarını belirli bir düzeye çıkmasını engellemek için görev yaparlar. Canlılar, oluşan toksik ürünlere karşı korunma mekanizmasına sahip olmakla beraber, bazı durumlarda bu korunma sistemi asılabilmekte ve sistem yetersiz kalmaktadır (Thomas 1995). Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ve oksidatif hasara neden olur. Oksidatif stres vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretim ve yıkım arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (Avramovic ve ark. 2012).

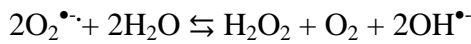
#### Enzimatik Antioksidanlar:

Oksijen serbest radikallerine karşı savunma sistemlerinin belli başlıları süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GRd), katalaz (CAT) ve antioksidan enzimlerdir. Bu enzimler, oksidatif strese bağlı oluşan aşırı hasarın dengelenmesinde büyük öneme sahiptir.

#### **2.8.1. Süperoksit Dismutaz**

Bütün memeli dokularında 3 form SOD bulunur. Cu/Zn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2) ve ekstrasellüler SOD (ecSOD). Bu 3 izoformun lokalizasyonları farklıdır. Cu/ZN-SOD sitozolde, Mn-SOD mitokondride ecSOD ise ekstrasellüler boşluklarda lokalizedir (Fukai ve ark. 2002). Süperoksit anyonunun zararlı etkisini önlemede görev alan önemli bir antioksidan enzimdir.

Sitokrom C ve SOD  $O_2^{\bullet-}$  den  $O_2$  üretimini katalizler. Bu işlem esnasında güçlü bir oksidan olan  $H_2O_2$  oluşur.  $H_2O_2$  SOD'un kataliziyle oluşan bir üründür ve CAT ile selenyum bağımlı GSH-Px tarafından  $H_2O$ 'ya çevrilir (Evans ve ark. 2001). SOD enziminin katalizlediği reaksiyon şu şekildedir:



#### **2.8.2. Glutatyon Peroksidaz**

GSH-Px  $H_2O_2$ 'yi  $H_2O$ 'ya redükte glutatyonun (GSH) disülfid formu olan okside glutatyon (GSSG) dönüşmesi ile çevirir. Böylece  $H_2O_2$ 'nin hasar verici etkisi engellenir.

GSSG NADPH kullanılarak GRd tarafından GSH'a tekrar dönüştürülür. Genelde intrasellüler GSH-Px; klasik GSH-Px (cGSH-Px) ve fosfolipit hidroperoksit GSH-Px (PHGSH-Px) olarak bilinen iki farklı proteinden oluşur (Lander 1997). GSH-Px'in en önemli özelliği selenyum (Se) bağımlı olmasıdır. Fizyolojik durumlarda vücutta GSH/GSSG oranı yüksektir. İhtiyaç duyulunca GSH yoluyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O'ya dönüştürülerek GSSG oluşur. Bu sebeple vücutta GSH/GSSG oranı oksidatif stresin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Wei ve ark. 2001).

### **2.8.3. Glutasyon Redüktaz**

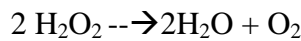
Okside glutasyonun tekrar redükte glutatyona dönüşmesini katalizleyerek dolaylı yoldan antioksidan etki göstermektedir. GSH-Px ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi uzaklaştırırken GSH/GSSG oranını GSSG tarafına kaydırır. Tekrar dengenin sağlanması için GSSG'nin GSH'a döndürülmesi gereklidir. NADPH yardımı ile GRd enzimi bu indirgenme olayında görev alır. NADPH ise glukozun pentoz fosfat metabolik yolunda oksidasyonu sonucu elde edilir (Imai ve ark. 2003).

### **2.8.4. Glutasyon S-transferaz**

Kseno biyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynarlar. Vücutta oluşan lipit peroksitlere karşı Se bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek etki eder (Kovacic 1986).

### **2.8.5. Katalaz**

Glikoprotein yapıda bir hemoproteindir. Dokularda esas olarak mitokondri ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunur. Bunun yanında sitoplazma ve E.R.'da da aktivite gösterir. Okside edici moleküllerin etkisiyle oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya çevirir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin miktarının aşırı arttığı durumlarda aktivite gösterir. Düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerinde ise diğer enzimler (GSH-Px) gibi devreye girer (Agar ve ark. 1986). GSH-Px ile benzer etkiyi gösterirler ancak hücre içi dağılımları farklıdır. GSH-Px esas olarak mitokondri ve sitozolde aktif iken katalaz peroksizomlarda aktiftir. Katalizlediği reaksiyon;



### **2.5.6. Transaminazlar (Aspartat amino transferaz ve alanin amino transferaz)**

Klinik tanıda karaciğer hasar tespiti için iki önemli enzim olan Alanin amino transferaz (serum glutamat – piruvat amino transferaz) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oxaloasetat amino transferaz) alanin ve aspartik asidin amino gruplarını  $\alpha$ - keto glutarata taşır ve böylece glutamat ve ALT ile piruvat ve AST ile oksaloasetat oluşur. B6 vitamini her iki enzimin de kofaktörüdür (Y. M. Li ve ark. 2004).

AST karaciğerde olduğu kadar kalp, kas, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, beyaz küre ve kırmızı kürelerde de yoğun olarak bulunmaktadır. Buna karşılık ALT yoğun olarak yalnızca karaciğerde bulunur. ALT ve AST kronik aşırı içme belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (Wallach 2000). Alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında AST ve ALT seviyeleri sağlıklı bireylere göre birçok kat artış gösterir. Bu yüzden bu enzimler karaciğer hücre harabiyeti için duyarlı belirteçler olsa da, yalnız başlarına belirteç özelliği taşımazlar (sensitivitesi yüksek ancak spesifitesi düşüktür). Orta şiddette ve ağır alkolik karaciğer harabiyetinde de bu enzim miktarlarında artış olur ancak bu artış nonalkolik hastalıklara nispeten oldukça azdır. Karaciğer hastalıklarında tanısında AST/ALT oranı bir belirteç olabilir fakat alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında bu oranın azaldığı gözlenirken alkolik karaciğer hasarında AST/ALT oranı artar. Alkolik karaciğer hastalıklarında piridoksal-5-fosfat eksikliği olur.

### 3. GEREÇ YÖNTEM

Bizim yaptığımız bu çalışmada 48 adet sıçan (Wistar albino) kullanıldı. Hayvanlar rastgele seçilerek kontrol grubu (A,n:12), Boğma rakı grubu (B,n:12), ceviz grubu (C,n:12) ve boğma rakı+ceviz grubu (D,n:12) olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı. Otuz gün boyunca devam eden uygulamalar sonunda karaciğer koruyucu etkilerinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek karaciğer harabiyet biyobelirteçleri olan AST, ALT, enzim seviyeleri tespit edildi. Ayrıca karaciğer dokusu örneklerinde antioksidan kapasite etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden SOD, GSH-Px, CAT, aktiviteleri ile lipid peroksidasyon (MDA) düzeyleri üzerindeki etkileri belirlendi.

#### 3.1. Çalışma Şekli

##### Arastırma Yöntemi:

Çalışmaya 48 adet Wistar albino erkek rat dahil edilmiş ve her grupta 12 rat olacak şekilde toplamda 4 grup oluşturuldu.

Grup A: Kontrol grubu(A); laboratuvar şartlarında ad-libitum beslenmesi sağlanmıştır.

Grup B: Boğma rakı grubu (B); diyeteye boğma rakı (% 30 (v/v), 9,2 ml/kg/gün) eklenmiştir.

Grup C: Ceviz grubu (C); diyeteye ceviz (10g/kg/gün) eklenmiştir.

Grup D: Boğma rakı ile ceviz grubu (D); diyeteye boğma rakı ve ceviz birlikte eklenmiştir.

##### Ceviz

Yapılan deneysel çalışmada sıçanlara verilen cevizler piyasadan satın alma yoluyla temin edildi.

##### Boğma Rakı

Yapılan deneysel çalışmada ratlara verilen boğma rakı illegal olarak tüketilen ev yapımı rakı satın alma yoluyla temin edilmiştir.

### **Bogma Raki için GC/MS parametreleri**

Uçucu bileşenlerin kalitatif ve kantitatif ölçümlerinin yapılmasında standart olarak etanol, metanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-methyl-1-propanol (isobutanol) and 3-metil-1-butanol (isoamyl alcohol) kullanıldı.

Kullanılan kimyasalların analitik aralıkları Merck' den (Darmstadt, Germany) temin edildi. Uçucu bileşenler HP 6890 gaz kromatografi, bir HP 5972 kütle dedektörü (MSD) ve bir HP 6890 otomatik sıvılaştırıcı ile birlikte Hewlett-Packard (Palo Alto, CA) GC/MS sistemi ile tespit edildi.

**Çizelge 3.1.** İlegal olarak üretilen Boğma Raki'daki kimyasal bileşenler (% v/v).

<b>Bileşen</b>	<b>Konsantrasyon</b>
	<b>Boğma Raki (%v/v)</b>
Trans-anetol	1.93
Asetik Asit	0.25
İzobütanol	0.19
İzomil Alkol	0.77
Metanol	1.17
Etanol	94.53
Diğerleri	1.16

### **3.2. Kullanılan Cihazlar**

<b>Cihazlar</b>	<b>Marka &amp; Model</b>
• UV spektrofotometre	➤ Shimadzu-UV 260
• Su Banyosu	➤ Thermomix BU
• Buz makinesi	➤ Scotsman AF-10
• Soğutmalı Santrifüj	➤ NUVE Centrifuge 5403
• Santrifüj	➤ NUVE D7200
• Manyetik karıştırıcı	➤ Heidolph MR 2002
• Vorteks	➤ Elektro-mag M-16
• Dijital pH metre	➤ WTW pH S25
• Elektrikli Terazı	➤ Mettler P 1210
• Otomatik pipet	➤ Gilson P-20, P-100, P-200, P-1000 µl

### 3.3. Kimyasal Maddeler

Kimyasallar (Alfabetik)	Firma	Kullanım Yeri
• Ammonium sulfate (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sigma A6387	SOD, GSH-Px
• n-Butanol (C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O)	Merck 1.00988	MDA
• Bovine Serum Albumin	Sigma A-2153	SOD
• Kloroform (CHCl <sub>3</sub> )	Merck 24.31	SOD
• Cupric chloride (CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O)	Sigma C-6641	SOD
• Na <sub>2</sub> EDTA	Sigma ED2SS	SOD, GSH-Px
• Glutathione Redüktaz	Sigma G-3664	GSH-Px
• Glutathione-reduced (GSH)	Sigma G-6529	GSH-Px
• Hidrojen Peroksit %30	Merck 1,08597	CAT, SOD, GSH-Px
• Reduced NADPH	Sigma N-1630	GSH-Px
• Nitroblue tetrazolium (NBT)	Sigma N-6876	SOD
• Potasium dihidrogen fosfat	Sigma N-6872	GSH-Px
• Sodyum azid (NaN <sub>3</sub> )	Merck 6688	GSH-Px
• Sodyum Karbonat (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	Merck 1.06398	SOD
• Sodyum Cyanide (NaCN)	Sigma S3296	SOD
• Sodyum fosfat dihidrat	Merck 1.0398	SOD
• 2- Thiobarbiturik asit (TBA)	Sigma T-5500	MDA
• Xanthine (C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> )	Sigma X-7375	SOD
• Xanthine Oksidaz (XO)	Sigma X-1875	SOD
• Hidroklorik Asit (HCl)	Sigma S4456	MDA, Lowry
• Tricloroasetik asit (TCA)	Sigma T-5510	MDA
• Sodyum fosfat monohidrat	Sigma S-9638	Tampon
• Sodyum dihidrogen fosfat dekahidrat	Sigma S-8745	Tampon
• Tris (NH <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> )	Sigma 252859	Tampon

### 3.4. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

30 günlük deneme sonunda sıçanlar % 10'luk ketamin ile anesteziye tabi tutularak enjektörler yardımıyla kalplerinden kan alındı. Kanlar biyokimya cam tüplere alınarak serum enzimleri tayini için serum örnekleri hazırlandı. Diğer yandan; 30 gün deneme sonunda sıçanların, karaciğer, dokusu alınarak fizyolojik suyla yıkanıp kurutma kâğıdıyla

kurutulduktan sonra analizlerin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edildi. MDA tayini homojenatında, antioksidan savunma sistemi unsurları ise elde edilen doku süpernatantlarında gerçekleştirildi.

### **3.5. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi**

Muamele sonrası derin dondurucuda (-80 °C) bekletilen sıçanların karaciğer dokusu oda sıcaklığına gelinceye kadar kademeli olarak çözündürüldü. Dokularda antioksidan enzim ve malondialdehid tayinleri için doku ekstraksiyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi. Ekstraksiyon için PH 7.5, 0.2 mM Tris-HCl tamponu; 0.2 mM olarak hazırlanan Tris solüsyonu ve HCl solüsyonu 50 / 39.9 (v/v) oranında karıştırılarak hazırlandı.

Yaş ağırlıkları 0,8 g olarak ayarlanan dokuları soğukluğu muhafaza edilerek temiz cerrahi makasla küçük parçalara ayrıldı. Cam tüpe aktarılan doku üzerine eklenecek tris miktarı doku miktarının (0.8 g) 9 katı ( $0.8 \times 9 = 7.2$  ml ) olacak şekilde hesaplandı ve önce 2 dakika için (4.2 ml) Tris-HCl tamponu eklenip homejenizasyondan sonra kalan 1 dakika için (3 ml) tampon eklenerek homojenizasyon sürdürüldü. Buz doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilen cam tüpteki doku 16.000 devir/dakika hızda homojenize edildi Elde edilen homojenatlardan bir miktar MDA tayinlerinin yapılması için saklandı.

Homojenatlar 3220 rpm / 30 dakika +6 °C soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatan elde edildi. Ayrılan süpernatanlardan CAT, GSH-Px, XO ve protein tayinleri yapılabilmesi için saklandı. Süpernatan 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol (3/5, v/v) ile vortexlenip cam tüpte 3220 rpm / 40 dakika +4°C'de santrifüj edildi. Üstte oluşan etanol fazından protein ve SOD enzim aktivite tayini yapılması için ayrıldı.

### **3.6. Analiz Yöntemleri**

Lipid peroksidasyon ürünü (MDA), antioksidan enzimler (SOD, CAT, GSH-Px) manuel spektrofotometrik olarak ölçüldü.

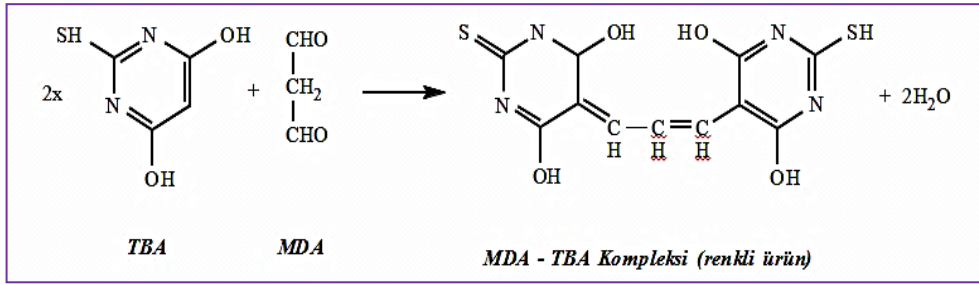


### 3.6.1. Serum Enzim Seviyelerinin Belirlenmesi

Serum enzimlerinden aspartate aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) enzim seviyeleri kitler kullanılarak otoanalizator (BM/HITACHI-911) ile belirlendi.

#### 3.6.1.1. Malondialdehid Ölçümü

Lipit peroksidasyonundaki bu yöntem çift kaynatma esasına dayanır. Birinci ısıtmada bağlı olan MDA proteinlerden serbestleştirilerek proteinler çöktürülür, ikinci ısıtmada ise total MDA, TBA ile sıcak ve asidik ortamda renkli kompleks oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Hammode ve ark. yönteminde, TBA-MDA'nın oluşturduğu (Şekil 3.5.1) renkli kompleksin 532 nm'de verdiği absorbansıyla doğru orantılı olarak MDA'nın konsantrasyonu hesaplanmış olur (Hammouda ve ark. 1995).



Şekil 3.1. MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA kompleksinin yapısı

#### Reaktifler

- % 10'luk triklorasetik asit (TCA)
- % 0.675'lik tiobarbitürik asit (TBA)

#### Deneyin yapılışı

Kontrol ve numune tüplerine 2,5 mL TCA (%10) kondu. Numune tüpüne 0,5 mL serum, kontrol tüpüne ise 0,5 mL distile su eklendi. Tüplerin ağızları sıkıca kapatılarak önceden 90°C'ye kadar ısıtılmış su banyosu içinde 15 dakika bekletildi. Bekleme süresi sonunda tüpler su banyosundan çıkarılarak akan musluk suyu altında soğutuldu. 3.000 rpm de 10 dakika çevrildi.

10 mL'lik vidalı-kap cam tüp	Kör tüpü (mL)	Numune tüpü (mL)
% 10'luk TCA (mL)	2.5	2.5
Numune (mL)	-	0.5
Distile su (mL)	0.5	-

Üstteki süpernatanttan 2'şer mL başka boş tüplere aktarıldı. Bu tüplerin üzerine 1 mL TBA çözeltisi (% 0.675) eklendi ve aynı şekilde ağızları sıkıca kapatılarak 90°C'lik su banyosunda 15 dakika bekletildi.

10 mL'lik vidalı-kap cam tüp	Kör tüpü	Numune tüpü
Süpernatant (mL)	2	2
% 0.675'lik TBA (mL)	1	1

Süre sonunda su banyosundan çıkarılan tüpler akan musluk suyunda soğutuldu. Spektrofotometrede 532 nm'de köre karşı numunenin absorbansı ölçüldü.

### Hesaplama

Körün absorbansı numunenin absorbansından çıkartılarak net absorbanslar bulundu. TBA-MDA kompleksinin 532 nm'deki molar ekstinksiyon katsayısı olan  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , den faydalanılarak ve dilüsyon faktörü de dikkate alınarak nmol/mL cinsinden MDA konsantrasyonları hesaplandı.

#### 3.6.1.2. Katalaz Ölçümü

Katalaz aktivitesi Aebi'nin metoduna göre çalışıldı (Aebi 1974). Deney ortamına eklenen  $\text{H}_2\text{O}_2$  'nin numune içinde bulunan katalaz tarafından ortamdan uzaklaşması esasına göre ölçüm yapılır.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin spektrofotometrik olarak 240 nm' deki absorbansı kaydedilir.

#### Reaktifler

- **Fosfat tamponu** (pH 7, 50 mM)
- **$\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisi:** Absorbansı 0.500 nm'ye tampon ile ayarlanmış olan  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'li fosfat tamponu olup; yaklaşık 300 mL pH 7, 50 mM olan fosfat tamponu renkli

kaba (plastik, cam olabilir) aktarıldı. Spektrofotometre fosfat tamponuna göre sıfırlanıp renkli kabdaki tampona 10-20 µL hacimlerle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilâve edildi. Optik Dansite 0.500 nm oluncaya kadar devam edildi.

### **Deneyin yapılışı:**

Fosfat tamponuna göre 240 nm dalga boyunda fosfat tamponuna göre sıfırlanan köre karşı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinin absorbansı 0.500'e ayarlandı.

<b>Reaktifler</b>	<b>Kör (mL)</b>	<b>Numune (mL)</b>
Fosfat Tamponu	2.99	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi	0.01	2.99
Hemolizat	-	0.01

Numune ilâvesi ile quartz küvetin ağzı bekletilmeden kapatılıp hemen küvet alt-üst edilip absorbans okundu. Absorbans azalması her 10 sn'de bir defa olmak üzere 2 dakika süre ile kaydedildi. Hesaplama 1 dakikalık lineer absorbans azalmasının en yüksek (OD<sub>1</sub>) ve en düşük (OD<sub>2</sub>) değerleri esas alınır.

### **Hesaplama**

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

$$K/\text{mg Hb} = k / [(\text{mg/dl Hb}) \times 1000]$$

#### **3.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü**

GSH-Px aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (Paglia ve ark. 1967). Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) varlığında redükte glutasyonun (GSH) okside glutasyon (GSSG)'a yükseltgenmesini katalizler. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'ın NADP<sup>+</sup>'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplanır.

\*\*\* **Enzim Ünitesi:** Birim zamanda okside olan NADPH'ın mikromol miktarıdır.

## Reaktifler

- GSH-Px Tamponu (pH 7, 50 mM Fosfat Tamponu + 5 mM EDTA)
- Amonyum Sülfat (3.2M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- Redükte Glutatyon (150 mM)
- 1M NaN<sub>3</sub> (Sodyum Azid)
- GSH-Redüktaz
- 2 mM Hidrojen Peroksit
- 

## Deneyin yapılışı:

Reaktifler	Numune (mL)
Fosfat tamponu (pH 7, 50 mM) + EDTA	2.650
150 mM Redükte GSH	0.100
8 mM NADPH	0.100
GSH-Redüktaz	0.010
1 M NaN <sub>3</sub>	0.010
Numune	0.020

\*\*\* 30 dakika oda ısısında inkübasyon yapıldıktan sonra her tüpe 2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'dan 0,100 ml pipetlendi. Dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede numunelerin absorban değerleri 5 dakika boyunca kaydedildi. Lineer aktivite azalışının olduğu absorban aralığının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesap yapıldı.

## Hesaplama

$$IU/L = [(\Delta A/t) / 6.22 \times 10^{-6}] \times (1 / 0.02)$$

$$IU/mg Hb = (IU/L)/(1000 \times W)$$

$$\text{Spesifik aktivite IU/mg Hb} = (IU/L) / (1000 \times W)$$

$\Delta A$  = OD değişimi,  $t$  = zaman (dk),  $W$  = Enzim çözeltisinin protein miktarı (mg/mL)

$$NADPH = 6.22 \times 10^{+3} M^{-1} = 6.22 \text{ mM}^{-1}$$

### 3.6.1.4. Süperoksit Dismutaz Ölçümü

Süperoksit dismutaz aktivitesi; Sun ve arkadaşlarının metoduna (Sun ve ark. 1988) ve Durak ve arkadaşlarının (Durak ve ark. 1993) tariflediği modifikasyona göre tayin metodu: ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitro blue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri ( $O_2^-$ ) ortamdaki NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır. Enzim bulunmayan (Kör) değeri ile enzim bulunan numune absorbans değerleri hesaba katılır.

#### Reaktifler

- 0.3 mmol/L Xanthine
- 0,6 mmol / L EDTA (2 Na tuzu)
- 150  $\mu$ mol / L NBT
- 400 mmol / L  $Na_2CO_3$
- 1g / L bovine serum albumin ( BSA)
- 0.8 mmol/L  $CuCl_2$
- M  $(NH_4)_2SO_4$  (Amonyum sülfat)
- 167 U/L Xanthine Oxidase (XO)

\*\*\* İlk 5 kimyasal hacimleri koyu renk cam şişeye köpürtülmeden birleştirildi (ASSAY reaktifi). Toplam hacim 490 mL oldu; her numune için 2.85 mL kullanılacağından 170 numune çalışılabilir. Miadı yaklaşık 2-8°C'de 2 aydır.

#### Deneyin yapılışı

Reaktifler	Kör (mL)	Numune (mL)
ASSAY reaktifi	2.85	2.85
Ekstrakt (Etanol fazı)	-	0.10
Bidistile su	0.10	-
167 U/L XO		0.05

Kör tüpüne enzim ilâvesi ile t p altüst edilir ve inkübasyon süresi başlatıldı. 25  C'de 20 dakika inkübasyon sonu hemen; k r ve numune tüplerine 0.08 mM/L CuCl<sub>2</sub> pipetlendi ve reaksiyon durduruldu. Distile suya karşı k rden başlanarak numuneler 560 nm.'de okundu.

### **Hesaplama**

$$\% \text{ İnhibisyon} = [\text{Absorbans k r (AK)} - \text{Absorbans numune(AN)}] / (\text{AK}) \times 100$$

% 50'lik inhibisyona 1   denildiği için;

$$\%50 \text{ inhibisyon} = (\text{AK}-\text{AN}) / \text{AK} \times 20 = \text{Spesifik aktivite (SA)}$$

\*\* Eritrosit için: SA x 5 (sulandırma faktörü) / Hb (gr/mL) =  /gr hemoglobin

### **4.7. İstatistiksel Analiz**

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 18.0 programı kullanılmıştır. Her parametreye ait ölümler için verilerin normallik kontrolü Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildikten sonra tanımlayıcı istatistiksel incelemelerde Pearson korelasyon, tek yönlü yaryans analizi (ANOVA) kullanıldı. Anlamlılık seviyesinin değerlendirilmesinde Posthoc analiz için Duncan testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama   SD olarak verildi. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık p<0,05 düzeyinde değerlendirilmiştir.

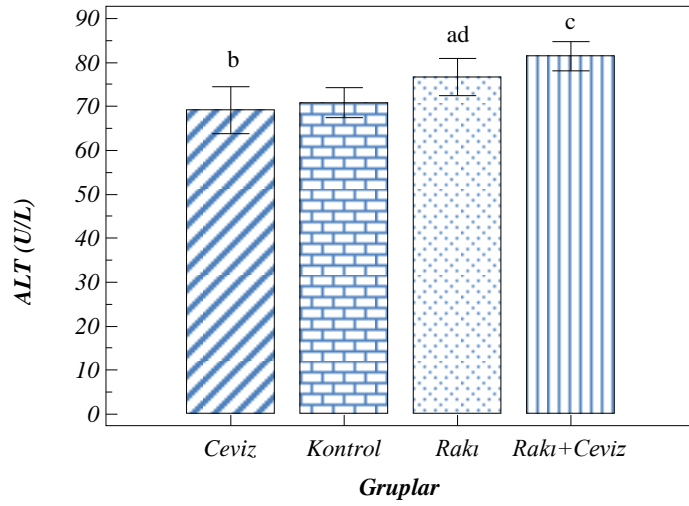
#### 4. BULGULAR

Yapılan bu deneysel çalışma sonucunda elde edilen sonuçlara göre; boğma rakının serum enzimleri ve MDA miktarını arttırmasına karşın, cevizin kontrol grubuna göre karaciğeri koruyucu veya lipid peroksidasyonunu azaltıcı bir etkisi gözlemlenmedi. Bununla birlikte boğma rakının ve cevizin birlikte verildiği grupta bir miktar oksidatif stresin arttığı belirlendi.

Çizelge 5.1' de belirtildiği üzere kontrol, boğma rakı, ceviz ve boğma rakı+ceviz grubun otuz gün sonunda ALT (U/L) değerleri sırasıyla  $70.9 \pm 5.5$ ,  $76.7 \pm 6.6$ ,  $69.2 \pm 8.4$ ,  $81.5 \pm 5.3$ , AST (U/L) değerleri  $212.8 \pm 26.9$ ,  $247.0 \pm 46.7$ ,  $208.4 \pm 29.9$ ,  $253.3 \pm 39.8$  olarak bulundu (Şekil 5.1, Şekil 5.2).

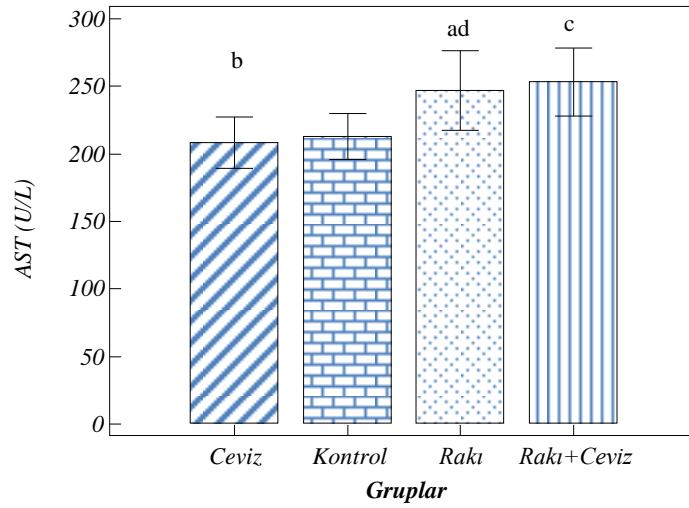
Bu sonuçlara göre, boğma rakı grubu (B) ALT seviyesinin kontrol grubuna (A) göre artması istatistiki olarak önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, ceviz (C) grubunun ALT seviyesinin kontrol grubuna istatistiki olarak önemli bulunmadı. Boğma rakı + ceviz grubunun (D) ALT seviyesinin kontrol grubu (A) ve ceviz grubuna (C) göre artması istatistiki olarak önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, ALT seviyesi boğma rakı grubuna (B) göre kısmi artmış olsa da aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Elde edilen bulgulara göre, boğma rakı grubu (B) AST seviyesinin kontrol grubuna (A) göre artması istatistiki olarak önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, ceviz (C) grubunun AST seviyesinin kontrol grubuna istatistiki olarak önemli bulunmadı. Boğma rakı + ceviz grubunun (D) AST seviyesinin kontrol grubu (A) ve ceviz grubuna (C) göre artması istatistiki olarak önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, AST seviyesi boğma rakı grubuna (B) göre kısmi artmış olsa da aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.



- a:** Boğma Rakı grubu ve Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- b:** Ceviz grubu ile Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.
- c:** Boğma Rakı+Ceviz grubu ile Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- d:** Boğma Rakı ile Boğma Rakı+Ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.
- $X \pm SS$  : Ortalama  $\pm$  Standart Sapma

**Şekil 5.1.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda ALT seviyelerinin karşılaştırılması



- a:** Boğma Rakı grubu ve Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- b:** Ceviz grubu ile Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.
- c:** Boğma Rakı+Ceviz grubu ile Kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- d:** Boğma Rakı ile Boğma Rakı+Ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.
- $X \pm SS$  : Ortalama  $\pm$  Standart Sapma

**Şekil 5.2.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda AST seviyelerinin karşılaştırılması



**Çizelge 5.1.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda serum enzimi seviyeleri.

<b>SERUM ENZİMLERİ</b>				
	<b>Kontrol</b>	<b>Boğma Rakı</b>	<b>Ceviz</b>	<b>Boğma Rakı ve Ceviz</b>
	<b>X ± SS</b>	<b>X ± SS</b>	<b>X ± SS</b>	<b>X ± SS</b>
ALT (U/L)	70.9 ± 5.5	76.7 ± 6.6 <sup>ad</sup>	69.2 ± 8.4 <sup>b</sup>	81.5 ± 5.3 <sup>c</sup>
AST (U/L)	212.8 ± 26.9	247.0 ± 46.7 <sup>ad</sup>	208.4 ± 29.9 <sup>b</sup>	253.3 ± 39.8 <sup>c</sup>

**a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

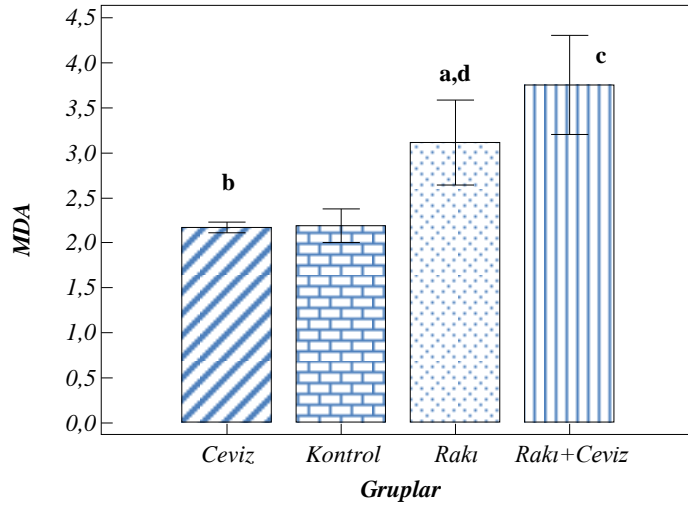
**c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**d:** Boğma Rakı ile Boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

Çizelge 5.2' de belirtildiği üzere kontrol, boğma rakı, ceviz ve boğma rakı+ceviz grubun otuz gün sonunda MDA (nmol/g protein) değerleri sırasıyla  $2.195 \pm 0.2927$ ,  $3.115 \pm 0.7442$ ,  $2.174 \pm 0,095$ ,  $3.753 \pm 0.869$  olarak bulundu. (Şekil 5.3).

Bu bulgulara göre, karaciğer dokusunda, boğma rakı grubu (B) MDA seviyesinin kontrol grubuna (A) göre artması istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulunurken, ceviz (C) grubunun MDA seviyesinin kontrol grubuna istatistiki olarak önemli bulunmadı. Boğma rakı + ceviz grubunun (D) MDA seviyesinin kontrol grubu (A) ve ceviz grubuna (C) göre artması istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulunurken, MDA seviyesinin boğma rakı grubuna (B) göre daha da artmış artması istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulundu.



**a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

**c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**d:** Boğma rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

**Şekil 5.3** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda MDA seviyelerinin karşılaştırılması

**Çizelge 5.2.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda lipid peroksidasyon ürünü seviyeleri.

LİPİD PEROKSİDASYON ÜRÜNÜ				
	Kontrol	Boğma Rakı	Ceviz	Boğma Rakı ve Ceviz
	X ± SS	X ± SS	X ± SS	X ± SS
MDA (nmol/g protein)	2.195 ± 0.2927	3.115 ± 0.7442 <sup>a,d</sup>	2.174 ± 0,095 <sup>b</sup>	3.753 ± 0.869 <sup>c</sup>

**a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

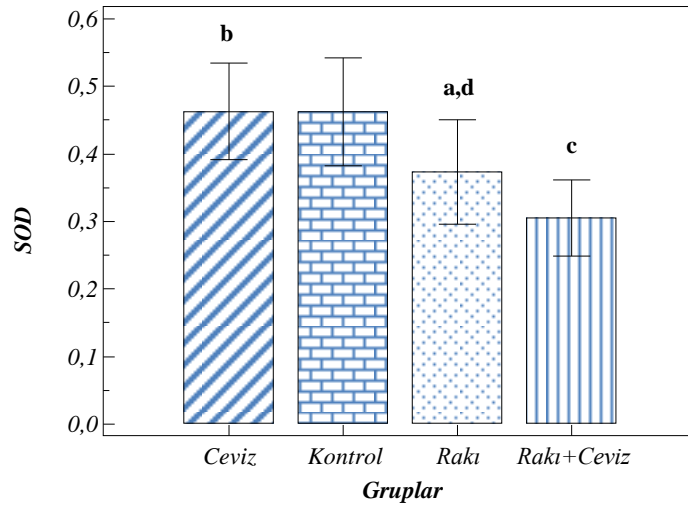
**c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**d:** Boğma rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

Çizelge 5.3' de belirtildiği üzere kontrol, boğma rakı, ceviz ve boğma rakı+ceviz grubun otuz gün SOD (U/mg protein) değerleri sırasıyla  $0.462 \pm 0.039$ ,  $0.374 \pm 0.039$ ,  $0.463 \pm 0.036$ ,  $0.305 \pm 0.028$  olarak bulundu (Şekil 5.4).

Bu bulgulara göre, karaciğer dokusunda, boğma rakı grubu (B) SOD seviyesinin kontrol grubuna (A) göre düşmesi istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulunurken, ceviz (C) grubunun SOD seviyesinin kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli bulunmadı. Boğma rakı + ceviz grubunun (D) SOD seviyesinin kontrol grubu (A) ve ceviz grubuna (C) göre düşmesi istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulunurken, SOD seviyesinin boğma rakı grubuna (B) göre daha da düşmesi istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulundu.



**a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

**c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**d:** Boğma rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

X  $\pm$  SS : Ortalama  $\pm$  Standart Sapma

**Şekil 5.4.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda SOD seviyelerinin karşılaştırılması

**Çizelge 5.3.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda süperoksit dismutaz enzim seviyeleri.

<b>SÜPEROKSİDUSMUTAZ ENZİM SEVİYELERİ</b>				
	<b>Kontrol</b>	<b>Boğma Rakı</b>	<b>Ceviz</b>	<b>Boğma Rakı ve Ceviz</b>
	X ± SS	X ± SS	X ± SS	X ± SS
SOD (U/mg protein)	0.462 ± 0.039	0.374 ± 0.039 <sup>a,d</sup>	0.463 ± 0.036 <sup>b</sup>	0.305 ± 0.028 <sup>c</sup>

**a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

**b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

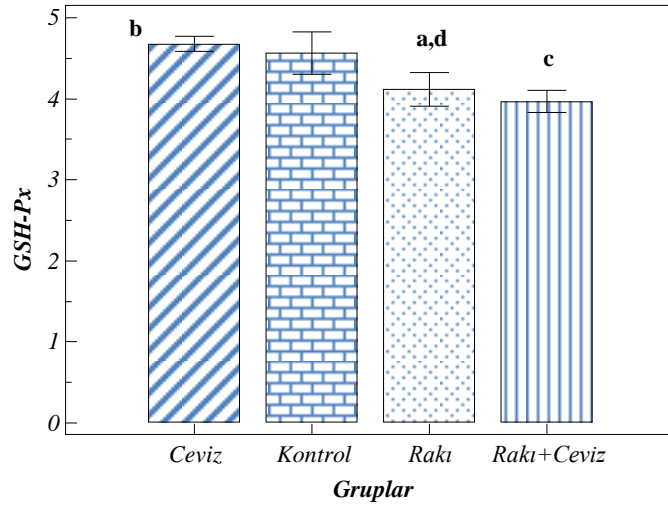
**c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

**d:** Boğma rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

Çizelge 5.4' de belirtildiği üzere kontrol, boğma rakı, ceviz ve boğma rakı+ceviz grubun otuz gün sonunda GSH-Px (U/dl) değerleri sırasıyla  $4.565 \pm 0.407$ ,  $4.115 \pm 0.326$ ,  $4.676 \pm 0.151$ ,  $3.968 \pm 0.221$  olarak bulundu (Şekil 5.5).

Bu sonuçlara göre, karaciğer dokusunda, boğma rakı grubu (B) GSH-Px seviyesinin kontrol grubuna (A) göre düşmesi istatistiksel olarak önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, ceviz (C) grubunun GSH-Px seviyesi kontrol grubuna kısmi artmış olsa da istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Boğma rakı + ceviz grubunun (D) GSH-Px seviyesinin kontrol grubu (A) ve ceviz grubuna (C) göre düşmesi istatistiksel olarak önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, GSH-Px seviyesi boğma rakı grubuna (B) göre kısmi düşmüş olsa da aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.



- a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.
- c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- d:** Boğma Rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.
- X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

**Şekil 5.5.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda GSH-Px seviyelerinin karşılaştırılması

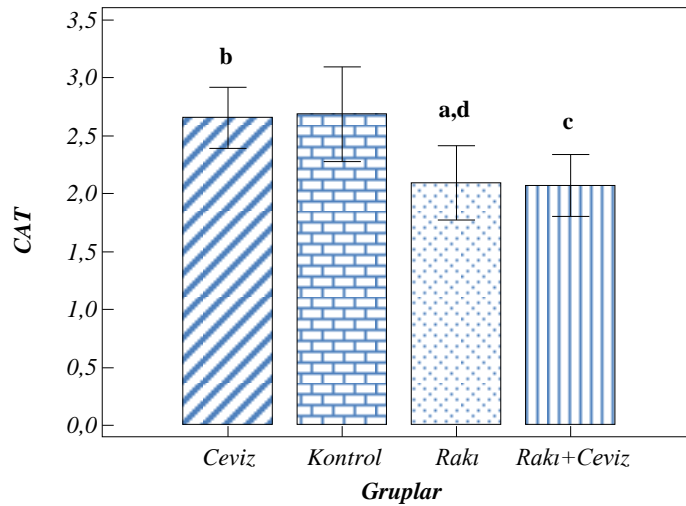
**Çizelge 5.4.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda glutasyon peroksidaz enzim seviyeleri.

GLUTATYON PEROKSİDAZ ENZİM SEVİYELERİ				
	Kontrol	Boğma Rakı	Ceviz	Boğma Rakı ve Ceviz
	X ± SS	X ± SS	X ± SS	X ± SS
GSH-Px (U/dl)	4.565 ± 0.407	4.115 ± 0.326 <sup>a,d</sup>	4.676 ± 0.151 <sup>b</sup>	3.968 ± 0.221 <sup>c</sup>

- a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.
- c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).
- d:** Boğma Rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.
- X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

Çizelge 5.5' de belirtildiği üzere kontrol, boğma rakı, ceviz ve boğma rakı+ceviz grubun otuz gün sonunda CAT (k/g protein) değerleri sırasıyla  $2.686 \pm 0.604$ ,  $2.091 \pm 0.505$ ,  $2.657 \pm 0.417$ ,  $2.070 \pm 0.421$  olarak bulundu (Şekil 5.6).

Bu sonuçlara göre, karaciğer dokusunda, boğma rakı grubu (B) CAT seviyesinin kontrol grubuna (A) göre düşmesi istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulunurken, ceviz (C) grubunun CAT seviyesi kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli bulunmadı. Boğma rakı + ceviz grubunun (D) CAT seviyesinin kontrol grubu (A) ve ceviz grubuna (C) göre düşmesi istatistiki olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulunurken, CAT seviyesi boğma rakı grubuna (B) göre kısmi düşmüş olsa da aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.



**a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

**c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**d:** Boğma Rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

**Şekil 5.6.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda GSH-Px seviyelerinin karşılaştırılması

**Çizelge 5.5.** Boğma Rakı ve Ceviz muamelesine tabi tutulan sıçanlarda glutatyon peroksidaz enzim seviyeleri.

<b>SERUM ENZİMLERİ</b>				
	<b>Kontrol</b>	<b>Boğma Rakı</b>	<b>Ceviz</b>	<b>Boğma Rakı ve Ceviz</b>
	X ± SS	X ± SS	X ± SS	X ± SS
CAT (k/g protein)	2.686 ± 0.604	2.091 ± 0.505 <sup>a,d</sup>	2.657 ± 0.417 <sup>b</sup>	2.070 ± 0.421 <sup>c</sup>

**a:** Boğma rakı grubu ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**b:** Ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

**c:** Boğma rakı+ceviz grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

**d:** Boğma Rakı ile boğma rakı+ceviz grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

X ± SS : Ortalama ± Standart Sapma

## 5. TARTIŞMA

Alkol tüketimi insan vücudunda farklı fizyolojik ve metabolik değişiklikler meydana getirmektedir. Alkolün alınmasıyla birlikte metabolizmada NADH/NAD<sup>+</sup> oranının artması, oluşan asetaldehitin, proteinler ve lipidler ile reaksiyona girerek serbest radikal oluşumu ile hücre hasarına yol açması, NADH/NAD<sup>+</sup> oranının artması ile birlikte demirin serbestleşmesi bu durumda CYP2E1 enzim aktivitesindeki artış, mitokondri hasarından dolayı azalmış ATP sentezi gibi değişimler alkol toksisitesi ile ilgili moleküler patolojilerdir (Brown ve ark. 2004; Ramaiah ve ark. 2004). Alkol kullanımına bağlı serbest radikal aracılı hasarda rol alan diğer bir mekanizma yağ molekülleri üzerine olan etkiler ile gelişir. Oksidatif stres sonucunda oluşan serbest radikaller doymamış yağ asitlerinden elektron alabilir ve lipid radikaller oluşturabilir. Lipid radikaller O<sub>2</sub> ile reaksiyona girer, sonuçta lipid peroksidasyonu oluşur (Charles S. Lieber 2003; Ponnappa ve ark. 2000).

Alkol metabolizmasının gerçekleştiği başlıca organ karaciğerdir ve bu yüzden çeşitli fonksiyonel ve dönüşümsüz değişiklikler için duyarlıdır. Alkole bağlı karaciğer hastalıkları; karaciğer yağlanması, alkolik hepatitis ve karaciğer sirozu olarak tanımlanmaktadır. Karaciğer hücre bütünlüğü etkilendiğinde ve paransim hücrelerinin dejenerasyonunda karaciğer dokusunda oksidatif stresin arttığı ve serumda AST ve ALT gibi enzim aktivitelerinin yükseldiği vurgulanmıştır (Karayılanoglu ve ark. 1991; Özcan ve ark. 1998).

Alkol ile birlikte deneysel aşamada kullandığımız ceviz üzerine birçok çalışma yapılmış olup günlük ceviz tüketiminin kandaki lipoprotein seviyesini uygun bir şekilde etkilediğini ve toplam kolesterol seviyesini düşürdüğünü gösterilmiştir (Joan Sabate ve ark. 1993). Fitostereollerce zengin olan ceviz, fitosteroller kolesterolün bağırsaklarda emilimini engelleyerek toplam plazma kolesterolünün ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)'lerin seviyelerini aşağı çekmektedir (Plat ve ark. 2001). Bunların yanı sıra ceviz serbest radikalleri yok eden ve metal şelat (bağlama) aktivite nitelikleri olan polifenoller de içermekte ve bu polifenollerin in vitro plazma ve LDL oksidasyonunun etkili bir engelleyicisi olarak ta düşünülmektedir (Berliner ve ark. 1996).

Melatonin epifiz bezinin pineolasit adı verilen hücrelerinden salgılanan bir hormon olup uyumayı kontrol eden bir mekanizmada rol alır ve aynı zamanda çok kuvvetli bir



antioksidan özelliği gösterir. Ceviz, melatoninin insan vücudunun kullanıma hazır formunu içermektedir (Reiter ve ark. 2005). Bu hormonun üretimi vücut yaslandıkça azalmakta ve bu azalma sadece uyku düzensizliğine değil muhtemelen antioksidan eksikliği ile de ortaya çıkan serbest radikale bağlı hastalıkların da artmasına neden olabilmektedir (Ergun ve ark. 2008; Reiter ve ark. 2005). Reiter ve ark. (2005) cevizin ne kadar melatonin içerdiğini (2.5-4.5 ng/g), ceviz tüketiminin kandaki melatonin seviyesini artırdığını ve hayvanlarda kandaki antioksidan etkiyi artırdığını ortaya çıkarmışlardır(Reiter ve ark. 2005).

Günlük hayatta tüketilen besinlerin yağ asidi miktarı ve sahip oldukları antioksidan özellikleri organizmanın prooksidan/antioksidan dengesini etkileyen önemli bir faktördür (Amaral ve ark. 2003; Avramovic ve ark. 2012; Bourre 2005). Kolesterolce zengin beslenmenin yanı sıra, doymuş yağ asitleri de serum kolesterol düzeylerini arttırarak organizmada oksidatif strese yol açabilir (Betteridge ve ark. 2003; Catala 2009). Çoklu doymamış yağ asitleri ise, serum lipit düzeylerini düşürücü bir etkiye sahip olmasına rağmen, organizmada lipit peroksidasyonuna duyarlılığı arttırmakta ve prooksidan-antioksidan dengeyi prooksidasyon yönünde bozmaktadır (Calder 2008; de Lorgeril ve ark. 2004; Dönmez 2006; Gil 2002; Lada ve ark. 2003).

Cevizin içeriğinde yüksek oranda bulunan PUFA' ların otooksidasyona duyarlı olmaları nedeniyle, zararlı etkileri de son yıllarda yapılan çalışmalarda dikkat çekmeye başlamıştır. PUFA'ca zengin beslenme organizmada lipit peroksidasyonuna duyarlılığı arttırmakta ve organizmanın antioksidan sistemini etkilemektedir. (Song ve ark. 2000; Thiery ve ark. 1987; Yam ve ark. 1996).

Biz yaptığımız bu çalışmada ilk olarak, bölgemizde çok sık tüketilen ve önemli derecede toksikasyonlara neden olan boğma rakının karaciğer dokusu üzerine etkilerini araştırdık. Alkolün karaciğer üzerine olan zararlı etkileri çokça bilinmekte fakat biz daha önceki çalışmalarımızda (Zeren ve ark. 2012) içeriğini araştırdığımız Hatay ilinde illegal olarak üretilen boğma rakının içeriğindeki yüksek alkollerin ne gibi etkileri yaptığını araştırdık. Araştırmamızın ilk aşaması sonucunda literatür ile benzer sonuçlara ulaştığımızı gördük ve alkol karaciğer harabiyetine yol açtı.

Literatürde yapılan çalışmalara baktığımız da;

Fidan ve ark. (1996), 22 tanesi tekel tarafından, 8 tanesi boğma rakı olarak bilinen ve evlerde illegal üretilen toplam 30 adet rakı örneğinin metanol miktarını belirlemişlerdir. Tekel tarafından üretilen örneklerin metanol miktarını 78.24–117.37 g/hL mA, boğma rakıların metanol miktarını ise 31.99–307.47 g/hL mA olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar,

Tekel tarafından üretilen rakılar arasında farklılık olmadığını, ancak boğma rakıların hem kendi içinde büyük farklılıklar gösterdiğini hem de tekel rakılarına göre birkaç kat fazla miktarda metanol içerdiğini ortaya koymuşlardır (I. Fidan ve ark. 1996).

Apostolopoulou ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, şarap atığından üretilen distile alkollü Yunan içkisi olan “tsipouro” ile ticari olarak üretilen tsipouro ile evde kaçak olarak üretilen tsipouro örnekleri karşılaştırılmıştır. GC analizleriyle asetaldehit, metanol, etil asetat gibi önemli uçucu bileşikler, direkt enjeksiyonla, tespit edilmiştir. Bunun sonucunda, ev yapımı tsipourolarda uçucu bileşiklerin birçoğunun yüksek konsantrasyonda bulunduğu ve özellikle metanol içeriklerinin kabul edilebilir limitlerin çok üzerinde olduğu belirtilmiştir (Apostolopoulou ve ark. 2005).

Seyreltilmiş alkol insan sağlığı için zararlı değilken yüksek konsantrasyonlu alkol canlılar için toksik etkisi yapabilir. Kanda düzenli olarak 24–60 mg/L alkol bulunurken, normal bir alkol alımında bu miktar 1000–3000 mg/L’ye çıkar. Kandaki alkol miktarı %0.35–0.4 seviyesine ulaşınca aşırı bitkinlik hissedilirken, alkol miktarı %7–8 civarı olunca öldürücü alkol zehirlenmesi ortaya çıkar (I. Fidan ve ark. 1993).

Lachenmeier, D. W. Ve ark. (2010) Ukrayna da üretilen ticari ve kaçak alkoller üzerine yapmış oldukları çalışmada, alkol içerisinde bulunan farklı uçucu bileşen (metanol, asetaldehit, yüksek alkoller), etil karbamat, anyonlar, ve inorganik elementler miktarlarını incelediler. Yapmış oldukları çalışma sonucunda kaçak alkol içeriğinde toksik etkiye sahip olan asetaldehit, etil karbamat ve bakır, çinko gibi metaller bulunduğunu belirttiler (Lachenmeier ve ark. 2010).

Lachenmeier, D. W. Ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış oldukları çeşitli data çalışması sonucunda etanol tüketiminin karaciğer sirozu morbiditesi ve mortalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesini incelediler. Bu çalışma göstermiştir ki yüksek miktarda etanol alınması karaciğer siroz mortalitesi oranını yüksek miktarda arttırmaktadır (Lachenmeier ve ark. 2011).

Yine Lachenmeier, D. W. arkadaşlarının 2014 yılında en son yapmış oldukları geniş kapsamlı literatür çalışmasında illegal alkolün karaciğer sirozu üzerine etkilerini araştırdılar. Yapmış oldukları bu çalışma sonucunda, illegal alkol sonucu oluşan karaciğer siroz mortalitesinin ilk olarak yüksek oranda etanol içeriğine ve alkol kalitesine bağlı olduğu ve bunun yanında özellikle illegal alkolün karaciğer üzerine toksik ve kanserojen

etkisi olan Etil karbamat' dan 5000 kez daha zararlı olduğu belirtilmiştir (Lachenmeier ve ark. 2014).

Monakhova, Y.B., Jendral, J. ve Lachenmeier, D. W. (2012) yapmış oldukları bilgisayar destekli literatür çalışmasında illegal alkol içeriğinde bulunan formaldehitin kanser riskini araştırdılar. Bu çalışma sonucunda formaldehitin kanser yapma riskinin ihmal edilebilir düzeyde olduğu ve asıl olarak illegal alkollerde büyük risk faktörünün asetaldehit ve etanol miktarının olduğunu belirttiler (Monakhova ve ark. 2012).

Daha önce yaptığımız bir çalışmada (2012) genel olarak Çukurova bölgesinde illegal olarak üretilen boğma rakının içeriğinin çok miktarda yüksek alkoller içerdiğini (21-71 %vol.), ticari alkollerde ise bu oranın (41.5 %vol.) daha düşük olduğu tespit ettik. Tespit ettiğimiz yüksek alkollerin çoğunlukla toksik etkisi yüksek olan trans-anetol, izomil alkol, bütanol ve 1-propanol olduğu görüldü (Zeren ve ark. 2012).

Yine yaptığımız bir çalışmada (2014) 30 gün boyunca boğma rakı verdiğimiz ettiğimiz ratların duyma yetilerinin nasıl etkilendiği inceledik. Bu amaçla elektron mikroskopisi ile bağma rakıya maruz kalan ratların koklealarını inceledik ve akut dönemde herhangi bir değişikliğin gözlemediğini tespit ettik (Cevik ve ark. 2014).

Özcan, A. ve ark. (1998) ratlarda oral olarak verilen alkolün serum, karaciğer ve böbrek ALT ve AST aktiviteleri ile serum total kolestrol ve lipid düzeylerine etkilerini incelediler. Yapılan deneysel çalışmada 1., 7., 14. ve 21 günlerin sonunda elde edilen bazı kan karaciğer ve böbrek dokusu parametreleri incelenmiştir. Bu araştırma sonucunda 1. gün sonunda serum ALT serum seviyesinin istatistiksel olarak değişmediği, 7., 14. ve 21. Gün sonunda serum, karaciğerde anlamlı olarak değişiklikler gözlediklerini belirtmişlerdir. Deneme grubu ile kontrol grubu serum total kolesterol ve total lipid düzeyleri arasında 1. ve 7. gün sonunda anlamlı bir değişiklik bulunmazken, 14. ve 21. gün sonunda yükselme olduğunu belirtmişlerdir (Özcan ve ark. 1998).

Masalkar, P.D. ve ark. (2005) 100 tane alkolik karaciğer hastasında oksidatif stres ve antioksidan seviyesini alkol içmeyenlere göre incelediler. Yapılan bu çalışma sonucunda, hastalığın artışı ile birlikte lipid peroksidasyon ürünü olan serum MDA ürününün arttığını ve serum vitamin E ve C' nin düşüş gösterdiği belirtilmiştir (Masalkar ve ark. 2005).

Tirapelli, L. F. arkadaşları (2011) yapmış oldukları çalışmada %20 lik kronik alkol tüketiminin rat karaciğerinde MDA miktarında ve hepatik fonksiyonlarda (transaminazlar)

değişime neden olmadığı, histopatolojik olarak steatosis gözleendiği, ve NO seviyesinin arttığını belirttiler (Tirapelli ve ark. 2011).

Kasdallah-Grissaa, A. ve çalışma arkadaşları %35 lik etanol ve % 5 lik sızma zeytinyağının rat karaciğer üzerinde ne gibi değişimler meydana getireceğini incelediklerinde, sadece etanole maruz bırakılan ratlarda hepatik MDA seviyesinin ve serum transaminazların dikkate değer bir biçimde arttığı, hepatik antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin istatistiksel olarak düştüğü belirtilmiştir. Glutasyon redüktaz seviyesinin ise değişmediği belirtilmiştir. Sızma zeytinyağının ise etanolün meydana getirdiği oksidatif stresin tam tersine antioksidan olarak karaciğer etki ettiği bildirilmiştir (Kasdallah-Grissa ve ark. 2008).

Jurczuk, M. ve ark. (2004) yapmış oldukları 12 haftalık deneysel çalışmada ratları etanol ve kadmiyuma maruz bırakıp, ratların karaciğer ve böbrek antioksidan enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyon seviyesini incelediler. Bu deneysel çalışma sonucunda etanolün karaciğerde oksidatif strese neden olarak SOD ve CAT aktivitesinin düştüğünü ve MDA seviyesinin arttığını bildirdiler (Jurczuk ve ark. 2004).

Bu araştırmalar gibi birçok klinik ve deneysel çalışmalar gösteriyor ki aşırı doz etanol karaciğer üzerinde oldukça olumsuz etkilere sahiptir ve özellikle illegal alkollerde içeriğinde bulundurduğu uçucu maddelerden dolayı karaciğer üzerinde ve vücudun birçok yerinde toksik etkilere neden olduğu, antioksidan sistem üzerinde ciddi maruziyetler bıraktığı artık aşikâr bir sonuçtur.

Yaptığımız deneysel aşamada ikincil olarak ise, omega-3 içeriğinden zengin ve vücut için eser elementleri barındıran Ceviz'in, boğma rakı ile birlikte tüketildiğinde karaciğer dokusunda ne gibi değişikliklere neden olduğu incelendi.

Hiçyılmaz, H. ve ark. (2007) ratlarda diyetle ceviz katılmasının serum lipid profili ve nitrik oksit düzeylerine etkisini inceledikleri çalışmada ratlar 8 hafta boyunca ceviz diyeti ile beslendi. Deney süresinin sonunda ceviz diyetinin etkilerini değerlendirildiğinde ceviz diyeti alan ratlarda total ve LDL kolesterol düzeylerinde, kontrol grubu serum total ve LDL kolesterol düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalma, HDL, kolesterol, trigliserid ve NO düzeylerinin değişmediği belirtilmiştir (Hiçyılmaz ve ark. 2007).

Bullo, M. ve ark. (2010) ceviz ve ceviz kabuğunun antioksidan etkisini araştırmak için yapmış oldukları 8 haftalık çalışma sonucunda, plazma oksidasyon seviyesinde ceviz ve ceviz kabuğunun herhangi bir değişiklik meydana getirmediğini belirttiler. Bununla

birlikte ceviz ve ceviz kabuğunun plazma total antioksidan seviyesi ve glutatyon seviyesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirilmiştir (Bullo ve ark. 2010).

Anderson, K. J. ve ark. (2001) yapmış oldukları çalışmada ceviz polifenoliklerin in-vitro insan plazma ve LDL oksidasyonunda ne gibi değişiklikler meydana getireceğini araştırdılar. Yapılan bu deneysel çalışmada ceviz ekstraktının plazma tiobarbitürik asit seviyesini ve LDL oksidasyon seviyesini önemli bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiş ve cevizin polifenolik içeriğinin antiaterojenik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Anderson ve ark. 2001).

Ando, K. Ve ark. (2000) omega-3 yağ asitlerinin rat organlarındaki lipid peroksidasyonunu incelemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada, Omega-3 desteği verilen rat karaciğerinde lipid peroksidasyon miktarında herhangi bir değişikliğin gözlemediği bildirilmiştir (Ando ve ark. 2000).

Venkatraman, J. T. ve ark. (1998) içerik olarak bol miktarda omega-3 ve omega-6 bulunduran balık yağının egzersiz yapan ratlar üzerinde ne gibi etkileri olduğunu incelediler. Ypamış oldukları bu çalışma sonucun da CAT ve GSH-Px aktivitesinin balık yağı ile birlikte arttığını bildirmişlerdir (Venkatraman ve ark. 1998).

Popescu, L. ve ark. (2013) alkolik olmayan karaciğer hastalıklarına diet omega-3 yağ asitlerinin etkisini incelemek amacıyla ratlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada kan ve doku örneklerinden biyokimyasal ve histolojik analizler yapmışlardır. Bu deneysel çalışma sonucunda omega-3 tedavisinin serumda trigliserid, glisemi ve kolesterol miktarını, dokuda ise MDA seviyesini düşürdüğü ve omega-3 diyetinin alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında hepatoprotektif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Popescu ve ark. 2013).

Dönmez, T. ve ark. (2006) fındık ve cevizin sıçanlarda serum lipitleri, aterosklerotik lezyonlar ve prooksidan-antioksidan denge üzerine etkisini incelemek amacıyla aterojen diyetle yapmış oldukları çalışmada serumda, fındık içeren aterojen diyetin total- ve (LDL+VLDL)-kolesterol, diyet plazmada MDA azalma, antioksidan aktivitede artış, buna karşılık, ceviz içeren aterojen diyetin total- ve (LDL+VLDL)-kolesterol düzeylerinde değişiklik meydana getirmediği ve ceviz içeren aterojenik diyet plazmada MDA ve DK düzeylerinde ve antioksidan aktivitede anlamlı artış oluşturdu ve bu durumun bu kuru yemilerin yağ asidi içeriğindeki farklılıktan kaynaklanabileceğini belirtmiştir (Dönmez 2006).

Thiery, J. ve ark. (1987) yapmış oldukları çalışmada, ratlarda kolesterol ile indüklenen aterosklerozun omega-3 içeriğince zengin olan balık yağı ile beslenmesinde tavşan serumlarında ne tür değişiklikler meydana getirdiklerini incelediler. Yapmış oldukları bu çalışma sonucunda, balık yağı ile tedavi edilen grupta serum total peroksit düzeyleri ve MDA seviyesinin artmış olduğunu ve bunun bu hayvanlardaki lipoproteinlerin malondialdehit modifikasyonu nedeniyle olabileceğini bildirmişlerdir (Thiery ve ark. 1987).

Yam, D. ve ark. (1996) ceviz içeriğindedeki bulunan omega-6 yağ asitlerinin muhtemel tehlikelerinden bahsetmiştir. Yüksek omega-6 linoleik asit tüketiminin lipid peroksidasyonu ve serbest radikal oluşumu için bir substrat olmanın yanı sıra, hiperinsülinemi ve insülin direnci ağırlaştırdığını, bu yağ asitlerinin yararlı etkilerinin yanı sıra uzun süreli yan etkileri olarak hiperinsülinemi, ateroskleroz ve kanser oluşumunda etkili olduğu belirtilmiştir (Yam ve ark. 1996).

Bizim yaptığımız deneysel çalışmada boğma rakı verdiğimiz ratların MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış, CAT, SOD ve GSH-Px, aktivitelerinde anlamlı bir azalma gözledik. Yine karaciğer fonksiyon testleri olan ve ALT, AST aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış gözlemledik. Bizim sonuçlarımıza benzer olarak yapılan birçok çalışmada yine alkolik karaciğer hasarlarında MDA seviyelerinde artış, enzim aktivitelerinde genel olarak azalma olduğu belirtilmiştir (Jurczuk ve ark. 2004; Kasdallah-Grissa ve ark. 2008; Masalkar ve ark. 2005; Tirapelli ve ark. 2011). Masalkar, P.D. ve ark (Masalkar ve ark. 2005) alkolik karaciğer hastalığında MDA seviyesinin arttığını, Tirapelli, L. F. arkadaşları kronik alkol tüketiminin rat karaciğerinde MDA miktarında (Tirapelli ve ark. 2011), Kasdallah-Grissaa, A. ve çalışma arkadaşları %35'lik etanolün MDA miktarını arttırdığını (Kasdallah-Grissa ve ark. 2008), Jurczuk, M. ve ark. yine etanolün MDA miktarını arttığını bildirmiştir (Jurczuk ve ark. 2004). Özcan, A. ve ark, etanolün ALT ve AST düzeylerini yükselttiğini, Tirapelli, L. F. arkadaşları (Tirapelli ve ark. 2011) %20'lik alkolün transaminazları etkilemediğini belirtmişlerdir. Jurczuk, M. ve ark. (Jurczuk ve ark. 2004) etanolün SOD ve CAT aktivitesini düşürdüğünü, yine Kasdallah-Grissaa, A. ve çalışma arkadaşları (Kasdallah-Grissa ve ark. 2008) %35 lik etanolün hepatik antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerini düşürdüğünü belirttiler.

Deneysel çalışmamızın ikinci aşamasında ratlara verdiğimiz cevizin kontrol grubuna göre herhangi bir etki meydana getirmediği fakat bu cevizin boğma rakı ile

birlikte ratlara verildiğinde MDA seviyelerinde artış ve SOD aktivitelerinde diğer tüm gruplara karşı anlamlı derecede azalış, ALT, AST, CAT, GSH-Px aktivitelerinde ise kontrol ve ceviz grubuna göre anlamlı olan bir artış, boğma rakı grubuna göre ise anlamlı olmayan bir artış gözlemledik. Bizim sonuçlarımıza benzer biçimde; Bullo, M. ve ark. (Bullo ve ark. 2010) ceviz ve ceviz kabuğunun plazma oksidasyon seviyesinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediğini, Ando, K. ve ark. (Ando ve ark. 2000) omega-3 desteği verilen rat karaciğerinde lipid peroksidasyon miktarında herhangi bir değişikliğin gözlemediği, Anderson, K. J. ve ark. (Anderson ve ark. 2001) ceviz ekstraktının plazma tiobarbitürik asit seviyesini ve LDL oksidasyon seviyesini önemli bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiş ve cevizin polifenolik içeriğinin antiaterojenik potansiyele sahip olduğunu, diğer taraftan Dönmez, T. ve ark. (Dönmez 2006). ceviz içeren aterosklerotik diyetin plazmada MDA ve antioksidan aktivitede anlamlı artış oluşturduğunu, Thiery, J. ve ark. (Thiery ve ark. 1987), ratlarda kolesterol ile indüklenen aterosklerozun tedavisi için kullanılan omega-3 içeriğince zengin olan balık yağının MDA seviyesini arttırdığını belirtmiş, Hiçyılmaz, H. ve ark. (Hiçyılmaz ve ark. 2007) diyete ceviz katılmasının serum lipid profilinde anlamlı bir azalma meydana getirdiğini, Popescu, L. ve ark. (Popescu ve ark. 2013) alkolik olmayan karaciğer hastalıklarına diyet omega-3 yağ asitlerinin serumda trigliserid miktarını, dokuda ise MDA seviyesini düşürdüğü belirtiler. Hiçyılmaz, H. ve ark. (Hiçyılmaz ve ark. 2007) ratlarda diyete ceviz katılmasının NO düzeylerinin değiştirmedeğini, Bullo, M. ve ark. (Bullo ve ark. 2010) ceviz ve ceviz kabuğunun plazma total antioksidan seviyesi ve glutatyon seviyesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, Venkatraman, J. T. ve ark. (Venkatraman ve ark. 1998) içerik olarak bol miktarda omega-3 ve omega-6 bulunduran balık yağının CAT ve GSH-Px aktivitesini arttırdığını, Thiery, J. ve ark. (Thiery ve ark. 1987) ratlarda kolesterol ile indüklenen aterosklerozun omega-3 içeriğince zengin olan balık yağı ile beslendiğinde, balık yağı ile tedavi edilen grupta serum total peroksit düzeylerinin arttığını belirtmişlerdir.

Bu sonuçlar, ceviz kullanımının boğma rakının etkisiyle oluşan lipid peroksidasyonu düzeylerindeki artışı ve prooksidan antioksidan dengedeki bozukluğu düzeltmediğini, aksine ceviz ve boğma rakının birlikte tüketildiğinde bu dengenin daha da bozduğunu göstermektedir.

## 6. SONUÇ

Boğma rakı ile birlikte ceviz tüketiminin karaciğer dokusu ve oksidan-antioksidan sistemler üzerine etkilerini araştırdığımız bu çalışmada;

- ALT ve AST düzeylerinde hem rakı hem de rakı-ceviz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığını,
- MDA düzeylerinde de benzer olarak hem rakı hem de rakı-ceviz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığını ve bununla birlikte rakı-ceviz grubunun rakı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığını,
- SOD aktivitesinin, hem rakı hem de rakı-ceviz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığını ve rakı-ceviz grubunun rakı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığını,
- CAT ve GSH-Px aktivitelerinin hem rakı hem de rakı-ceviz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığını ve rakı-ceviz grubunun rakı grubuna göre olan azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını,
- Boğma rakı kullanımının içeriğindeki etanolün ve diğer yüksek alkollere bağlı olarak oksidatif strese neden olduğunu,
- Ceviz kullanımının, boğma rakının etkisiyle oluşan lipit peroksidasyonundaki artışı ve prooksidan antioksidan dengesindeki bozukluğu düzeltmediğini, aksine ceviz ve boğma rakının birlikte tüketiminin bu dengenin daha da bozulmasına yol açtığını,

yaptığımız deneysel çalışmalar sonucu gösterdik.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Aebi, H.**, Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. *HU B (ed.) Academic Press: New York*, **1974**, 673-677.
2. **Afanas'ev, I. B., Suslova, T. B., Cheremisina, Z. P., Abramova, N. E., ve Korkina, L. G.**, Study of antioxidant properties of metal aspartates. *Analyst*, **1995**, *120*(3), 859-862.
3. **Agar, N. S., Sadrzadeh, S. M., Hallaway, P. E., ve Eaton, J. W.**, Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense? *J Clin Invest*, **1986**, *77*(1), 319-321.
4. **Akkus, İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları
5. **1995**,
6. **Amaral, J. S., Casal, S., Pereira, J. A., Seabra, R. M., ve Oliveira, B. P.**, Determination of sterol and fatty acid compositions, oxidative stability, and nutritional value of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars grown in Portugal. *J Agric Food Chem*, **2003**, *51*(26), 7698-7702.
7. **Anderson, K. J., Teuber, S. S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse, A. L., ve ark.**, Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. *J Nutr*, **2001**, *131*(11), 2837-2842.
8. **Ando, K., Nagata, K., Yoshida, R., Kikugawa, K., ve Suzuki, M.**, Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on lipid peroxidation of rat organs. *Lipids*, **2000**, *35*(4), 401-407.
9. **Anonim.** Definition, Description and Presentation of Spirit Drinks, **2004**, (EEC) No: 1576/89, pp. 25.
10. **Anonim.** Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Tebliği, **2005**, 14
11. **Apostolopoulou, A. A., Flouros, A. I., Demertzis, P. G., ve Akrida-Demertzi, K.**, Differences in concentration of principal volatile constituents in traditional Greek distillates. *Food Control*, **2005**, *16*(2), 157-164.
12. **Armutcu, F., Gürel, A., Sögüt, S., Aksu, N., ve Ünalacak, M.**, Alkol alışkanlığı olanlarda eritrosit oksidan ve antioksidan parametre düzeyleri. *Fırat Tıp Dergisi*, **2004**, *9*(2).
13. **Artun, B. C.** *Kornizon Uygulanmasının Sıçanlarda Alkole Bağlı Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi*. İstanbul Üniversitesi, **2008**.
14. **Aruoma, O. I., Kaur, H., ve Halliwell, B.**, Oxygen free radicals and human diseases. *J R Soc Health*, **1991**, *111*(5), 172-177.
15. **Ashley-Koch, A. E., Elliott, L., Kail, M. E., De Castro, L. M., Jonassaint, J., ve ark.**, Identification of genetic polymorphisms associated with risk for pulmonary hypertension in sickle cell disease. *Blood*, **2008**, *111*(12), 5721-5726.
16. **Aşcıoğlu, Y. T.** *Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi*. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, **2005**.
17. **Avramovic, N., Dragutinovic, V., Krstic, D., Colovic, M., Trbovic, A., ve ark.**, The effects of omega 3 fatty acid supplementation on brain tissue oxidative status in aged wistar rats. *Hippokratia*, **2012**, *16*(3), 241-245.
18. **Awad, A. B., ve Fink, C. S.**, Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr*, **2000**, *130*(9), 2127-2130.
19. **Awad, A. B., Williams, H., ve Fink, C. S.**, Phytosterols reduce in vitro metastatic ability of MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Nutr Cancer*, **2001**, *40*(2), 157-164.
20. **Baldi, E., Burra, P., Plebani, M., ve Salvagnini, M.**, Serum malondialdehyde and mitochondrial aspartate aminotransferase activity as markers of chronic alcohol intake and alcoholic liver disease. *Ital J Gastroenterol*, **1993**, *25*(8), 429-432.
21. **Beier, J. I., ve McClain, C. J.**, Mechanisms and cell signaling in alcoholic liver disease. *Biol Chem*, **2010**, *391*(11), 1249-1264.
22. **Berliner, J. A., ve Heinecke, J. W.**, The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med*, **1996**, *20*(5), 707-727.
23. **Betteridge, D. J., ve Morrell, J. M.** Clinicians' guide to lipids and coronary heart disease, Arnold, Hodder Headline Group, **2003**, pp. xvi + 368 pp.
24. **Bhatt, P., Swarup, D., Patra, R. C., Pattanaik, A. K., ve Ranjan, R.**, Enhanced erythrocytic lipid peroxides level in rabbits after repeated parental administration of iron. *Indian J Exp Biol*, **2005**, *43*(10), 854-858.
25. **Blazovics, A.**, [From free radicals to science of nutrition]. *Orv Hetil*, **2009**, *150*(2), 53-63.
26. **Boulton, B. R., Vernon, L. S., Linda, F. B., ve Ralph, E., K.** Principles and Practices of Winemaking, **1996**, 604 s.

27. **Bourre, J. M.**, Dietary omega-3 Fatty acids and psychiatry: mood, behaviour, stress, depression, dementia and aging. *J Nutr Health Aging*, **2005**, 9(1), 31-38.
28. **Breen, A. P., ve Murphy, J. A.**, Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radic Biol Med*, **1995**, 18(6), 1033-1077.
29. **Breslow, J. L.**, n-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, **2006**, 83(6 Suppl), 1477S-1482S.
30. **Brown, L. A., Harris, F. L., Ping, X. D., ve Gauthier, T. W.**, Chronic ethanol ingestion and the risk of acute lung injury: a role for glutathione availability? *Alcohol*, **2004**, 33(3), 191-197.
31. **Bullo, M., Nogues, M. R., Lopez-Uriarte, P., Salas-Salvado, J., ve Romeu, M.**, Effect of whole walnuts and walnut-skin extracts on oxidant status in mice. *Nutrition*, **2010**, 26(7-8), 823-828.
32. **Burdock, G., A.**, Handbook of Flavor Ingredients, CRC Pres. BocaRaton, **2002**, (4th Ed.) pp. (1831)s.
33. **Cabaroğlu, T.** *Neveşehir- Ürgüp Yöresinde Yetiştirilen Beyaz Emir Üzümünün ve Bu Üzümünden Elde Edilen Şarapların Aroma Maddeleri Üzerinde Araştırmalar*. Çukurova Üniversitesi, **1995**.
34. **Cadet, J., Douki, T., Gasparutto, D., ve Ravanat, J. L.**, Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutat Res*, **2003**, 531(1-2), 5-23.
35. **Calder, P. C.**, Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res*, **2008**, 52(8), 885-897.
36. **Castor, J. G., ve Guymon, J. F.**, On the mechanism of formation of higher alcohols during alcoholic fermentation. *Science*, **1952**, 115(2980), 147-149.
37. **Catala, A.**, Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids*, **2009**, 157(1), 1-11.
38. **Caviness, J. N., Lue, L., Adler, C. H., ve Walker, D. G.**, Parkinson's disease dementia and potential therapeutic strategies. *CNS Neurosci Ther*, **2011**, 17(1), 32-44.
39. **Ceriello, A.**, Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism*, **2000**, 49(2 Suppl 1), 27-29.
40. **Cevik, C., Ozler, G., Arli, C., Tatar, I., Sargon, M., ve ark.**, Electron microscopic examination of effects of bogma raki and walnut on cochlea: An experimental study. *Hum Exp Toxicol*, **2014**.
41. **Conde de la Rosa, L., Moshage, H., ve Nieto, N.**, [Hepatocyte oxidant stress and alcoholic liver disease]. *Rev Esp Enferm Dig*, **2008**, 100(3), 156-163.
42. **Conigrave, K. M., Davies, P., Haber, P., ve Whitfield, J. B.**, Traditional markers of excessive alcohol use. *Addiction*, **2003**, 2, 31-43.
43. **Coppo, R., Camilla, R., Amore, A., ve Peruzzi, L.**, Oxidative stress in IgA nephropathy. *Nephron Clin Pract*, **2010**, 116(3), c196-198, discussion c199.
44. **Cwikel, J. G., Gidron, Y., ve Quastel, M.**, Low-dose environmental radiation, DNA damage, and cancer: the possible contribution of psychological factors. *Psychol Health Med*, **2010**, 15(1), 1-16.
45. **Das, S. K., ve Vasudevan, D. M.**, Alcohol-induced oxidative stress. *Life Sci*, **2007**, 81(3), 177-187.
46. **de Lorgeril, M., ve Salen, P.**, Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, **2004**, 14(3), 162-169.
47. **Dey, A., ve Cederbaum, A. I.**, Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology*, **2006**, 43(2 Suppl 1), S63-74.
48. **Dizdaroglu, M., ve Jaruga, P.**, Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res*, **2012**, 46(4), 382-419.
49. **Dönmez, T.** *Fındık ve cevizin sıçanlarda serum lipitleri, aterosklerotik lezyonlar ve prooksidan-antioksidan denge üzerine etkisi.*, İstanbul Üniversitesi, **2006**.
50. **Durak, I., Yurtarslan, Z., Canbolat, O., ve Akyol, O.**, A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta*, **1993**, 214(1), 103-104.
51. **Erenel, G., Erbas, D., ve Arıcıoğlu, A.**, Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi*, **1992**, 3, 243-250.
52. **Ergun, M., ve Sütyemez, M.**, Sağlıklı bir Yaşam Tarzı için Ceviz. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, **2008**, 11((1)), 1-2.
53. **Erten, H., ve Canbaş, A.**, Alkol Fermantasyonu Sırasında Oluşan Aroma Maddeleri. *Gıda Dergisi*, **2003**, 28(6)(6), 615-619.
54. **Evans, P., ve Halliwell, B.**, Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr*, **2001**, 85 Suppl 2, S67-74.
55. **Fidan, I., Denli, Y., ve Anlı, E.**, Türkiye'de Üretilen Rakılarda Metanol Miktarı Üzerine Bir Araştırma. *Gıda*, **1996**, 21(6).
56. **Fidan, I., ve Şahin, İ.**, Alkol ve Alkollü İçkiler Teknolojisi. *A.Ü.Z.F. Yayınları*, **1993**, (863).

57. **Floyd, R. A., ve Carney, J. M.**, Free radical damage to protein and DNA: mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann Neurol*, **1992**, *32 Suppl*, S22-27.
58. **Forstermann, U.**, Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, **2008**, *5(6)*, 338-349.
59. **Fritsche, K.**, Fatty acids as modulators of the immune response. *Annu Rev Nutr*, **2006**, *26*, 45-73.
60. **Fukai, T., Folz, R. J., Landmesser, U., ve Harrison, D. G.**, Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*, **2002**, *55(2)*, 239-249.
61. **Gerber, P. A., Gouni-Berthold, I., ve Berneis, K.**, Omega-3 fatty acids: role in metabolism and cardiovascular disease. *Curr Pharm Des*, **2013**, *19(17)*, 3074-3093.
62. **Gil, A.**, Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomed Pharmacother*, **2002**, *56(8)*, 388-396.
63. Gözen, O. *Türk Rakırlarının Bazı Uçucu Bileşikleri Üzerine Bir Araştırma*. Çukurova Üniversitesi, **2006**.
64. **Hagen, U.**, Current aspects on the radiation induced base damage in DNA. *Radiat Environ Biophys*, **1986**, *25(4)*, 261-271.
65. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., ve Chapelle, J. P.**, [Oxidative stress]. *Rev Med Liege*, **2007**, *62(10)*, 628-638.
66. **Halliwell, B.**, Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J*, **1987**, *1(5)*, 358-364.
67. **Halliwell, B.**, Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev*, **1994**, *52(8 Pt 1)*, 253-265.
68. **Halliwell, B., ve Dizdaroglu, M.**, The measurement of oxidative damage to DNA by HPLC and GC/MS techniques. *Free Radic Res Commun*, **1992**, *16(2)*, 75-87.
69. **Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S., ve Aruoma, O. I.**, Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **1995**, *35(1-2)*, 7-20.
70. **Hammouda, A. e.-R., Khalil, M. M., ve Salem, A.**, Lipid peroxidation products in pleural fluid for separation of transudates and exudates. *Clin Chem*, **1995**, *41(9)*, 1314-1315.
71. **Hemnani, T., ve Parihar, M. S.**, Reactive oxygen species and oxidative DNA damage. *Indian J Physiol Pharmacol*, **1998**, *42(4)*, 440-452.
72. **Hiçyılmaz, H., Yılmaz, N., Sütçü, R., Vural, H., ve Delibas, N.**, Ratlarda Diyete Ceviz Katılmasının Serum Lipid Profili ve Nitrik Oksit Düzeylerine Etkisi. *Türk Klinik Biyokimya Derg.*, **2007**, *5(3)*, 97-101.
73. **Imai, H., ve Nakagawa, Y.**, Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radic Biol Med*, **2003**, *34(2)*, 145-169.
74. **Jacob, R. A., ve Burri, B. J.**, Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr*, **1996**, *63(6)*, 985S-990S.
75. **James, M. J., ve Cleland, L. G.**, Dietary n-3 fatty acids and therapy for rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum*, **1997**, *27(2)*, 85-97.
76. **Jialal, I., ve Fuller, C. J.**, Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol*, **1993**, *16(4 Suppl 1)*, I6-9.
77. **Jiang, Y., Zhu, W., Li, H., Yin, S., Liu, H., ve ark.**, Oxidative desulfurization of fuels catalyzed by Fenton-like ionic liquids at room temperature. *ChemSusChem*, **2011**, *4(3)*, 399-403.
78. **Jurczuk, M., Brzoska, M. M., Moniuszko-Jakoniuk, J., Galazyn-Sidorczuk, M., ve Kulikowska-Karpinska, E.**, Antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to cadmium and ethanol. *Food Chem Toxicol*, **2004**, *42(3)*, 429-438.
79. **Jurgens, G., Lang, J., ve Esterbauer, H.**, Modification of human low-density lipoprotein by the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal. *Biochim Biophys Acta*, **1986**, *875(1)*, 103-114.
80. **Kappus, H.**, Oxidative stress in chemical toxicity. *Arch Toxicol*, **1987**, *60(1-3)*, 144-149.
81. **Karam, L. R., Bergtold, D. S., ve Simic, M. G.**, Biomarkers of OH radical damage in vivo. *Free Radic Res Commun*, **1991**, *12-13 Pt 1*, 11-16.
82. **Karayılanoglu, T., Demirci, D., ve Karayılanoglu, V.**, Kronik alkoliklerde bazı biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi. *Biyokimya Derg.*, **1991**, *3*, 51-56.
83. **Karbownik, M., ve Reiter, R. J.**, Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation. *Proc Soc Exp Biol Med*, **2000**, *225(1)*, 9-22.
84. **Karihtala, P., ve Soini, Y.**, Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS*, **2007**, *115(2)*, 81-103.
85. **Kasdallah-Grissa, A., Nakbi, A., Koubaa, N., El-Fazaa, S., Gharbi, N., ve ark.**, Dietary virgin olive oil protects against lipid peroxidation and improves antioxidant status in the liver of rats chronically exposed to ethanol. *Nutr Res*, **2008**, *28(7)*, 472-479.
86. **Kaur, C., ve Ling, E. A.**, Antioxidants and neuroprotection in the adult and developing central nervous system. *Curr Med Chem*, **2008**, *15(29)*, 3068-3080.
87. **Kawanishi, S., Inoue, S., ve Yamamoto, K.**, Hydroxyl radical and singlet oxygen production and DNA damage induced by carcinogenic metal compounds and hydrogen peroxide. *Biol Trace Elem Res*, **1989**, *21*, 367-372.

88. Kılıç, O. Alkollü İçkiler Teknolojisi, Uludağ Üniversitesi Yayınları **1990**, No:7-- pp. 236.
89. Kılınç, K., Oxygen radicals: Their production, function and toxic effects. *Biyokimya Dergisi*, **1986**, 9(3), 59-76.
90. Kim, D., Chen, J. K., ve Yen, T. F., Naval derusting wastewater containing high concentration of iron, treated in UV photo-Fenton-like oxidation. *J Environ Sci (China)*, **2010**, 22(7), 991-997.
91. Kim, J. H., Patra, C. R., Arkalgud, J. R., Boghossian, A. A., Zhang, J., ve ark., Single-molecule detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediating angiogenic redox signaling on fluorescent single-walled carbon nanotube array. *ACS Nano*, **2011**, 5(10), 7848-7857.
92. Koca, İ. *Rakılara etanol ve özellikle metanol olmak üzere uçucu bileşenlerin belirlenmesi*. Ankara Üniversitesi, **2007a**.
93. Koca, İ. *Rakılarda Etanol ve Özellikle Metanol Olmak Üzere Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi*. Ankara Üniversitesi, **2007b**.
94. Koçak, S. *Çeşitli Alkollü ve Yüksek Alkollü İçkilerde Metil Alkol ve Yüksek Alkol Düzeylerinin Araştırılması*. Ege Üniversitesi, **1993**.
95. Kovacic, P., Free radicals in biology and medicine Barry Halliwell and John M. C. Gutteridge. The Clarendon Press, Oxford University Press, New York, NY 10016. 1985. xii + 346 pp. 16.2 × 24.2 cm. ISBN: 0-19-8541376. \$35.00. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1986**, 75(1), 105-106.
96. Kulbacka, J., Saczko, J., ve Chwilkowska, A., [Oxidative stress in cells damage processes]. *Pol Merkur Lekarski*, **2009**, 27(157), 44-47.
97. Kundak, A. A., Erbas, H., Gülen, S., Dökmeci, G., Çelik, H., ve ark., C ve E vitaminlerini, kronik olarak alkolle beslenen sıçanlarda beyin dokusu arjinaz aktivitesi, ornitin ve üre düzeylerine etkisi. *Trakya Üniv. Tıp Fak. Dergisi*, **2007**, 24(1).
98. Lachenmeier, D. W., Kanteres, F., ve Rehm, J., Epidemiology-based risk assessment using the benchmark dose/margin of exposure approach: the example of ethanol and liver cirrhosis. *Int J Epidemiol*, **2011**, 40(1), 210-218.
99. Lachenmeier, D. W., Monakhova, Y. B., ve Rehm, J., Influence of unrecorded alcohol consumption on liver cirrhosis mortality. *World J Gastroenterol*, **2014**, 20(23), 7217-7222.
100. Lachenmeier, D. W., Samokhvalov, A. V., Leitz, J., Schoeberl, K., Kuballa, T., ve ark., The composition of unrecorded alcohol from eastern Ukraine: is there a toxicological concern beyond ethanol alone? *Food Chem Toxicol*, **2010**, 48(10), 2842-2847.
101. Lada, A. T., ve Rudel, L. L., Dietary monounsaturated versus polyunsaturated fatty acids: which is really better for protection from coronary heart disease? *Curr Opin Lipidol*, **2003**, 14(1), 41-46.
102. Lala, P. K., ve Chakraborty, C., Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol*, **2001**, 2(3), 149-156.
103. Lander, H. M., An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J*, **1997**, 11(2), 118-124.
104. Lardinois, O. M., Reactions of bovine liver catalase with superoxide radicals and hydrogen peroxide. *Free Radic Res*, **1995**, 22(3), 251-274.
105. Lett, J. T., Double strand breakage in DNA and cellular radiation sensitivity: linear energy transfer and the oxygen effect. *Basic Life Sci*, **1988**, 49, 419-428.
106. Li, D. Q., ve Kumar, R., Mi-2/NuRD complex making inroads into DNA-damage response pathway. *Cell Cycle*, **2010**, 9(11), 2071-2079.
107. Li, Y. M., Chen, S. H., Yu, C. H., Zhang, Y., ve Xu, G. Y., Effect of acute alcoholism on hepatic enzymes and oxidation/antioxidation in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, **2004**, 3(2), 241-244.
108. Lieber, C. S., Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments. *J Hepatol*, **2000**, 32(1 Suppl), 113-128.
109. Lieber, C. S., Relationships Between Nutrition, Alcohol Use, and Liver Disease. *Alcohol Research & Health*, **2003**, 27(3), 220.
110. Loukides, S., Bakakos, P., ve Kostikas, K., Oxidative stress in patients with COPD. *Curr Drug Targets*, **2011**, 12(4), 469-477.
111. Masalkar, P. D., ve Abhang, S. A., Oxidative stress and antioxidant status in patients with alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta*, **2005**, 355(1-2), 61-65.
112. Masuda, Y., ve Kamiya, K., Molecular nature of radiation injury and DNA repair disorders associated with radiosensitivity. *Int J Hematol*, **2012**, 95(3), 239-245.
113. Metodiewa, D., ve Koska, C., Reactive oxygen species and reactive nitrogen species: relevance to cyto(neuro)toxic events and neurologic disorders. An overview. *Neurotox Res*, **2000**, 1(3), 197-233.
114. Miller, E., Mrowicka, M., Zolynski, K., ve Kedziora, J., [Oxidative stress in multiple sclerosis]. *Pol Merkur Lekarski*, **2009**, 27(162), 499-502.

115. **Mırsal, H., Kalyoncu, Ö. A., ve Pektaş, Ö.**, Alkol Kullanımının Biyokimyasal Belirleyicileri ve Klinik Uygulamaları. *Bağımlılık Dergisi*, **2002**, 3(3), 165-172.
116. **Monakhova, Y. B., Jendral, J. A., ve Lachenmeier, D. W.**, The margin of exposure to formaldehyde in alcoholic beverages. *Arh Hig Rada Toksikol*, **2012**, 63(2), 227-237.
117. **Mozaffarian, D., ve Wu, J. H.**, Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol*, **2011**, 58(20), 2047-2067.
118. **Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., ve Rodwell, V. W.** Harper's Biochemistry., Appleton & Lange., **1988**, 21th
119. **Nazifi, S., Razavi, S. M., Kianiamin, P., ve Rakhshandehroo, E.**, Evaluation of erythrocyte antioxidant mechanisms: antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and serum trace elements associated with progressive anemia in ovine malignant theileriosis. *Parasitol Res*, **2011**, 109(2), 275-281.
120. **Nishinaka, Y., ve Yokota, M.**, [Free radical]. *Nihon Rinsho*, **1994**, 52 Suppl(Pt 1), 196-200.
121. **Nykanen, L., ve Suomalainen, H.** Aroma of Beer Wine and Distilled Alcoholic Beverages, Reidel Publishing Company, **1989**, 413
122. **Otani, H.**, Oxidative stress as pathogenesis of cardiovascular risk associated with metabolic syndrome. *Antioxid Redox Signal*, **2011**, 15(7), 1911-1926.
123. **Özcan, A., ve Menhi, A.**, Ratlarda Oral Olarak Verilen Alkolün Serum, Karaciger ve Böbrek Ö-GT, ALT ve AST Aktiviteleri ile Serum Total Kolesterol ve Lipid Düzeylerine Etkileri. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **1998**, 22 181-185.
124. **Paglia, D. E., ve Valentine, W. N.**, Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, **1967**, 70(1), 158-169.
125. **Palm, F., ve Nordquist, L.**, Renal oxidative stress, oxygenation, and hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **2011**, 301(5), R1229-1241.
126. **Pang, S. Y., Jiang, J., ve Ma, J.**, Oxidation of sulfoxides and arsenic(III) in corrosion of nanoscale zero valent iron by oxygen: evidence against ferryl ions (Fe(IV)) as active intermediates in Fenton reaction. *Environ Sci Technol*, **2011**, 45(1), 307-312.
127. **Pellegrino, M. A., Desaphy, J. F., Brocca, L., Pierno, S., Camerino, D. C., ve ark.**, Redox homeostasis, oxidative stress and disuse muscle atrophy. *J Physiol*, **2011**, 589(Pt 9), 2147-2160.
128. **Plafker, S. M.**, Oxidative stress and the ubiquitin proteolytic system in age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol*, **2010**, 664, 447-456.
129. **Plat, J., ve Mensink, R. P.**, Effects of plant sterols and stanols on lipid metabolism and cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, **2001**, 11(1), 31-40.
130. **Ponnappa, B. C., ve Rubin, E.**, Modeling alcohol's effects on organs in animal models. *Alcohol Res Health*, **2000**, 24(2), 93-104.
131. **Popescu, L. A., Virgolici, B., Lixandru, D., Miricescu, D., Condrut, E., ve ark.**, Effect of diet and omega-3 fatty acids in NAFLD. *Rom J Morphol Embryol*, **2013**, 54(3 Suppl), 785-790.
132. **Powers, S. K., Talbert, E. E., ve Adhietty, P. J.**, Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J Physiol*, **2011**, 589(Pt 9), 2129-2138.
133. **Qi, X., Guy, J., Nick, H., Valentine, J., ve Rao, N.**, Increase of manganese superoxide dismutase, but not of Cu/Zn-SOD, in experimental optic neuritis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **1997**, 38(6), 1203-1212.
134. **Rains, J. L., ve Jain, S. K.**, Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med*, **2011**, 50(5), 567-575.
135. **Ramaiah, S., Rivera, C., ve Arteel, G.**, Early-phase alcoholic liver disease: an update on animal models, pathology, and pathogenesis. *Int J Toxicol*, **2004**, 23(4), 217-231.
136. **Ravanat, J. L., Cadet, J., ve Douki, T.**, Oxidatively generated DNA lesions as potential biomarkers of in vivo oxidative stress. *Curr Mol Med*, **2012**, 12(6), 655-671.
137. **Ravanat, J. L., Di Mascio, P., Martinez, G. R., ve Medeiros, M. H.**, Singlet oxygen induces oxidation of cellular DNA. *J Biol Chem*, **2001**, 276(8), 40601-40604.
138. **Reiter, R. J., Acuna-Castroviejo, D., Tan, D. X., ve Burkhardt, S.**, Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci*, **2001**, 939, 200-215.
139. **Reiter, R. J., Manchester, L. C., ve Tan, D. X.**, Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition*, **2005**, 21(9), 920-924.
140. **Rice-Evans, C., Diplock, A. T., ve Symons, M. C. R.** Preface, Elsevier, **1991**, Volume 22 pp. v-vii.
141. **Roberts, R. A., Smith, R. A., Safe, S., Szabo, C., Tjalkens, R. B., ve ark.**, Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, **2010**, 276(2), 85-94.
142. **Robinson, L., Gallos, I. D., Conner, S. J., Rajkhowa, M., Miller, D., ve ark.**, The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*, **2012**, 27(10), 2908-2917.

143. **Rusyn, I., Rose, M. L., Bojes, H. K., ve Thurman, R. G.**, Novel role of oxidants in the molecular mechanism of action of peroxisome proliferators. *Antioxid Redox Signal*, **2000**, 2(3), 607-621.
144. **Sabate, J., Fraser, G. E., Burke, K., Knutsen, S. F., Bennett, H., ve ark.**, Effects of Walnuts on Serum Lipid Levels and Blood Pressure in Normal Men. *New England Journal of Medicine*, **1993**, 328(9), 603-607.
145. **Sabate, J., Fraser, G. E., Burke, K., Knutsen, S. F., Bennett, H., ve ark.**, Effects of walnuts on serum lipid levels and blood pressure in normal men. *N Engl J Med*, **1993**, 328(9), 603-607.
146. **Seth, D., Haber, P. S., Syn, W. K., Diehl, A. M., ve Day, C. P.**, Pathogenesis of alcohol-induced liver disease: classical concepts and recent advances. *J Gastroenterol Hepatol*, **2011**, 26(7), 1089-1105.
147. **Sharpe, P. C., McBride, R., ve Archbold, G. P.**, Biochemical markers of alcohol abuse. *QJM*, **1996**, 89(2), 137-144.
148. **Simic, M. G.**, DNA markers of oxidative processes in vivo: relevance to carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Cancer Res*, **1994**, 54(7 Suppl), 1918s-1923s.
149. **Simonian, N. A., ve Coyle, J. T.**, Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **1996**, 36, 83-106.
150. **Sinclair, A. J., Barnett, A. H., ve Lunec, J.**, Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med*, **1990**, 43(5), 334-344.
151. **Solomons, G., ve Craig, F.** Organik Kimya, Literatür Yayınları, **2002**, 84 pp. 477-485.
152. **Song, J. H., Fujimoto, K., ve Miyazawa, T.**, Polyunsaturated (n-3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils. *J Nutr*, **2000**, 130(12), 3028-3033.
153. **Sonntag, D. M., de Boer, J., Medvedovic, M., Baxter, C. S., LeMasters, G., ve ark.**, Mutational biases associated with potential iron-binding DNA motifs in rodent lacI and human p53 mutational databases. *Mutat Res*, **2004**, 550(1-2), 73-88.
154. **Soufleros, E. H., Mygdalia, A. S., ve Natskoulis, P.**, Characterization and safety evaluation of the traditional Greek fruit distillate "Mouro" by flavor compounds and mineral analysis. *Food Chem*, **2004**, 86(4), 625-636.
155. **Stevens, L. J., Zentall, S. S., Deck, J. L., Abate, M. L., Watkins, B. A., ve ark.**, Essential fatty acid metabolism in boys with attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Clin Nutr*, **1995**, 62(4), 761-768.
156. **Sun, Y., Oberley, L. W., ve Li, Y.**, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, **1988**, 34(3), 497-500.
157. **Şahin, İ., ve Özçelik, F.**, Damıtık Alkollü İçkilerimizin Bileşimi, Özellikle Metanol Miktarı Üzerine Bir Araştırma. *Gıda Dergisi*, **1983**, 7(3)(121-129).
158. **Tan, D. X., Manchester, L. C., Terron, M. P., Flores, L. J., ve Reiter, R. J.**, One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res*, **2007**, 42(1), 28-42.
159. **Thiery, J., ve Seidel, D.**, Fish oil feeding results in an enhancement of cholesterol-induced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, **1987**, 63(1), 53-56.
160. **Thomas, M. J.**, The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr*, **1995**, 35(1-2), 21-39.
161. **Tirapelli, L. F., Batalhao, M. E., Jacob-Ferreira, A. L., Tirapelli, D. P., Carnio, E. C., ve ark.**, Chronic ethanol consumption induces histopathological changes and increases nitric oxide generation in the rat liver. *Tissue Cell*, **2011**, 43(6), 384-391.
162. **Ulutaş, K. T.** Orak Hücre Anemili Hastalarda Fetuin-A, Enflamatuvar Marker ve Oksidatif Stres İlişkisinin Değerlendirilmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi, **2012**.
163. **USDA.** Nutrient Database, Handbook, **1987**, 8
164. **Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., ve ark.**, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, **2007**, 39(1), 44-84.
165. **Varnam, A., ve Sutherland, J. M.** Beverages: Technology, Chemistry and Microbiology, Springer, **1994**,
166. **Vaya, J.**, Exogenous markers for the characterization of human diseases associated with oxidative stress. *Biochimie*, **2012**.
167. **Venkatraman, J. T., Angkeow, P., Satsangi, N., ve Fernandes, G.**, Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. *J Am Coll Nutr*, **1998**, 17(6), 586-594.
168. **Victor, V. M., Rocha, M., Herance, R., ve Hernandez-Mijares, A.**, Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes. *Curr Pharm Des*, **2011**, 17(36), 3947-3958.
169. **von Bernhardt, R., ve Eugenin, J.**, Alzheimer's disease: redox dysregulation as a common denominator for diverse pathogenic mechanisms. *Antioxid Redox Signal*, **2012**, 16(9), 974-1031.

170. **Wallach, J.** Interpretation of Diagnostic Tests Lippincott, **2000**, 8
171. **Ward, P. A.**, Role of toxic oxygen products from phagocytic cells in tissue injury. *Adv Shock Res*, **1983**, *10*, 27-34.
172. **Wei, Y. H., Ma, Y. S., Lee, H. C., Lee, C. F., ve Lu, C. Y.**, Mitochondrial theory of aging matures--roles of mtDNA mutation and oxidative stress in human aging. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*, **2001**, *64*(5), 259-270.
173. **WHO.** Global Status Report Alcohol., **2010**,
174. **Wickens, A. P.**, Ageing and the free radical theory. *Respiration Physiology*, **2001**, *128*(3), 379-391.
175. **Winczura, A., Zdzalik, D., ve Tudek, B.**, Damage of DNA and proteins by major lipid peroxidation products in genome stability. *Free Radic Res*, **2012**, *46*(4), 442-459.
176. **Wohaieb, S. A., ve Godin, D. V.**, Starvation-related alterations in free radical tissue defense mechanisms in rats. *Diabetes*, **1987**, *36*(2), 169-173.
177. **Wong, N. C.**, The beneficial effects of plant sterols on serum cholesterol. *Can J Cardiol*, **2001**, *17*(6), 715-721.
178. **Yam, D., Eliraz, A., ve Berry, E. M.**, Diet and disease--the Israeli paradox: possible dangers of a high omega-6 polyunsaturated fatty acid diet. *Isr J Med Sci*, **1996**, *32*(11), 1134-1143.
179. **Yamazoe, K., Inaba, T., Bonkobara, M., Matsuki, N., Ono, K., ve ark.**, Changes of hepatic tissue phospholipid peroxidation, malondialdehydes, and antioxidative enzyme activities in dogs with halothane inhalation. *J Vet Med Sci*, **1998**, *60*(1), 15-21.
180. Yurt, B. *Etil Alkol ile Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Kayısı ve Kayısı Çekirdeğinin Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi* Yüzüncü Yıl Üniversitesi, **2010a**.
181. Yurt, B. *Etil alkol ile oksidatif stress oluşturulan sıçanlarda kayısı ve kayısı çekirdeğinin karaciğer koruyucu ve antioksidan etkilerinin belirlenmesi.*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, **2010b**.
182. **Zambon, D., Sabate, J., Munoz, S., Campero, B., Casals, E., ve ark.**, Substituting walnuts for monounsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesterolemic men and women. A randomized crossover trial. *Ann Intern Med*, **2000**, *132*(7), 538-546.
183. **Zeren, C., Aydin, Z., Yönden, Z., ve Bucak, S.**, Composition of Bogma Raki, Turkish Traditional Alcoholic Beverage. *Journal of Food Technology*, **2012**, *10*(3), 87-91.

## ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Eleşkirt'de doğdu. 2006 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı ve 2010 yılında mezun oldu. Aynı yıl aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Organik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı ve 2012 yılında mezun oldu. 2012 yılında aynı üniversitenin Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında Yüksek Lisansa başladı ve 2012' de Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında açılan sınavı kazanarak araştırma görevlisi olarak atandı.