

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA MEYAN KÖKÜNÜN OKSİDATİF-ANTIOKSİDATİF
SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Yunus DOĞAN
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Nurten AKSOY**

ŞANLIURFA - 2004

156915

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA MEYAN KÖKÜNÜN OKSİDATİF-ANTIOKSİDATİF
SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

Yunus DOĞAN

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 28/06/2004 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek
oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr.

Nurten AKSOY

(Danışman)

Doç.Dr.

Özcan EREL

(Üye)

Yrd.Doç.Dr.

Ahmet DERYAOĞLU

(Üye)

06 EKİM 2004
Prof. Dr. Süleyman Zeki ZİYLAN
Sağlık Bil. Enst. Müdürü

ÖZET

Oksidatif-antioksidatif dengenin sürdürülmesi hem vücudumuzun normal fonksiyon görmesi hem de pek çok hastalığın önlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bu amaçla çeşitli doğal ürünler alınarak bu denge, koruyucu antioksidanlar lehine yükseltilmeye çalışılmaktadır. Bu çalışmada antioksidan madde bakımından oldukça zengin olduğu bilinen meyan kökünün oksidatif – antioksidatif etkileri araştırılarak özellikle böbrek hasarı üzerinde tedavi edici ve önleyici özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla 35 adet wistar-albino rat 7 gruba ayrıldı; 1. grup kontrol 2.gruba meyan kökü ekstraktı, 3.gruba gentamisin (100 mg/kg/gün), 4.gruba gentamisin (100 mg/kg/gün) ve meyan kökü ekstraktı, 5.gruba gentamisin (100 mg/kg/gün) ve C vitamini (100 mg/kg/gün), 6. gruba gentamisin (100 mg/kg/gün) ve E vitamini (100 mg/kg/gün) ve 7.gruba ise gentamisin (100 mg/kg/gün) verilerek böbrek hasarı oluşturan ratlara tedavi amacıyla meyan kökü ekstraktı verildi.

Yaptığımız biyokimyasal ve histopatolojik incelemelerle sonucunda meyan kökünden elde edilen ekstraktın nefrotoksik etkili gentamisinin oluşturduğu böbrek hasarını anlamlı ölçüde önlediği ve tedavi ettiğini ortaya çıkardık. Ayrıca meyan kökünün bu etkisinin, bilinen güçlü antioksidan vitaminler olan C ve E vitaminlerine göre daha yüksek olduğunu tespit ettik.

Sonuç olarak; bu tez çalışması meyan kökünün yararlılığını ortaya koymuş ve böylelikle Şanlıurfa yöresi ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde üretimi ve tüketimi lokal olan meyan kökünün bu özelliğini bilim dünyasına duyurarak tanıtımını sağlayacaktır. Dolayısıyla gerek yöresel ekonomi gerekse ülke ekonomisine katkıda bulunulması beklenmektedir.

Anahtar kelimeler: Meyan kökü, antioksidan, akut tübüler nekroz

ABSTRACT

Maintainance of the oxidative-antioxidative balance is important both for normal body functions and preventing many diseases. For this aim, it has been tried to increase the balance on the side of the antioxidants by using several natural products. In this study, searching oxidative-antioxidative effects of Glycyrrhiza glabra (*G. glabra*) known as quite rich in antioxidant substances, protective and treating effects of it on particularly renal injury were investigated. For that reason, 35 Wistar-albino rats were divided into seven groups: 1st group; control, 2nd group; given extract of *G.glabra*, 3rd group; injected gentamicine (100 mg/kg/day), 4th group; injected gentamicine (100 mg/kg/day) and given extract of *G.glabra*, 5th group; injected gentamicine (100 mg/kg/day) and vitamin C (100 mg/kg/day), 6th group; injected gentamicine (100 mg/kg/day) and vitamin E (100 mg/kg/day), and 7th group; injected gentamicine (100 mg/kg/day) as an oxidative agent and given extract of *G. glabra* after diagnosing acute tubular necrosis for treatment of renal injury.

As a result of the biochemical and histopathological assays, we detected that the extract obtained from *G. glabra* prevented and treated the renal injury significantly, due to the nephrotoxic effects of gentamicine. We also detected that this antioxidant effect of *G.glabra* was higher than the effect of two well-known strong antioxidant vitamins; C and E.

As a conclusion, this thesis determined the usefulness of *G. glabra* and by this contributed to the knowledge by providing a scientific evidence for the antioxidative effect of *G. glabra* of that production and consumption local at the region of Şanlıurfa and South-Eastern Anatolia in Turkey. It is, therefore, expected to contribute to both the local economy and country economy.

Key words: Glycyrrhiza glabra, antioxidant, acute tubular necrosis

TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aőamasında katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr. Nurten AKSOY'a, biyokimya anabilim dalı baőkanı Doç.Dr. Özcan EREL'e, bölüm hocalarından Doç.Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT'e, histopatolojik çalışmalarda yardımlarını sunan Yrd.Doç.Dr. Muharrem BİTİREN'e, hayvanların hazırlanması iőlemi sırasında yardımda bulunan Veterinerlik Fakóltesinden Doç.Dr. Mehmet İRIADAM'a, Laboratuar çalıőmalarında yardımcı olan Dr. Alpay KÖYLÜ ve Dr. Hüseyin KELEŐ'e teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca sevgili eőim Gıda Müh. Dilőah MİŐOĐLU'na teőekkürlerimi sunarım.

GRAFİKLER**Sayfa no**

Grafik 1:	Doku lipit peroksidasyon seviyesi	44
Grafik 2:	Doku glutatyon seviyesi	44
Grafik 3:	Doku total peroksidasyon seviyesi	45
Grafik 4:	Doku total antioksidan kapasite seviyesi	45
Grafik 5:	Plazma lipit peroksidasyon seviyesi	47
Grafik 6:	Plazma glutatyon seviyesi	47
Grafik 7:	Plazma total peroksidasyon seviyesi	48
Grafik 8:	Plazma total antioksidan kapasite seviyesi	48
Grafik 9:	Plazma üre seviyesi	49
Grafik 10:	Plazma kreatinin seviyesi	49
Grafik 11:	Plazma ürik asit seviyesi	50

TABLULAR	Sayfa no
Tablo 1: Oksidan ve antioksidan bileşikler	9
Tablo 2: Oksijen türevi bileşikler	12
Tablo 3: Akut tübular nekroza yol açabilen endojen ve eksojen toksinler	33
Tablo 4: Böbrek dokusunda ölçülen lipit peroksidasyon, glutatyon, total peroksidasyon ve total antioksidan kapasite seviyeleri	43
Tablo 5: Plazmada ölçülen lipit peroksidasyon, glutatyon, total peroksidasyon, total antioksidan kapasite, üre, kreatinin ve ürik asit seviyeleri	46

ŒEKİLLER

Sayfa no

Œekil 1: Lipit peroksidasyonu mekanizması

21

Œekil 2: Gentamisinin oluŒturduđu hücre hasarı mekanizması

35



RESİMLER

Sayfa no

Resim 1:	Meyan kökü bitkisinin yaprak ve çiçeği	1
Resim 2:	Meyan kökü bitkisinin yer altı kökleri	2
Resim 3:	Toz haline getirilmiş meyan kökleri	4
Resim 4:	1.grup, 2.grup ve 7.grupta gözlenen 0.derecede nekrotik böbrek dokusu	51
Resim 5:	6.grupta gözlenen 1.derecede nekrotik böbrek dokusu	51
Resim 6:	4.grup ve 5.grupta gözlenen 2.derecede nekrotik böbrek dokusu	52
Resim 7:	3.grupta gözlenen 3.derecede nekrotik böbrek dokusu	52
Resim 8:	3.grupta gözlenen 4.derecede nekrotik böbrek dokusu	53

KISALTMALAR

GSHPx : Glutasyon peroksidaz

GSH : Glutasyon

GSSG : Yükseltgenmiş glutasyon

LOO[·] : Lipit peroksi radikali

LOOH : Lipit hidropèroksit

LDL : Düşük dansiteli lipoprotein

LPO : Lipit peroksidasyonu

MDA : Malon dialdehit

ROOH : Organik hidropèroksit

SOD : Süperoksit dismutaz

TPO : Total peroksidasyon

TAK : Total antioksidan kapasite

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
Özet	I
Abstract	II
Teşekkür	III
Grafikler	IV
Tablolar	V
Şekiller	VI
Resimler	VII
Kısaltmalar	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Meyan kökü	1
1.1.1. Genel özellikleri	1
1.1.2. Biyokimyasal özellikleri	4
1.1.3. Biyolojik etkileri	5
1.1.4. Meyan kökünün tıpta ve halk arasında kullanım alanları	5
1.2. Oksidatif ve antioksidatif sistem	7
1.2.1. Oksidan maddeler ve etki mekanizmaları	9
1.2.1.1. Süperoksit radikali	9
1.2.1.2. Hidrojen peroksit	10
1.2.1.3. Hidroksil radikali	10
1.2.1.4. Singlet oksijen	11
1.2.2. Serbest radikallerin reaksiyonları	11
1.2.3. Organizmada serbest radikal reaksiyonlarını etkileyen koşullar	13
1.2.3.1. Eksojen faktörler	13
1.2.3.1.1. Diyet	13
1.2.3.1.1.1. Çok doymamış yağ asitleri	13
1.2.3.1.1.2. Alkol	14
1.2.3.1.1.3. Kalori	15
1.2.3.1.1.4. Hayvansal ve bitkisel proteinler	15
1.2.3.1.1.5. Demir ve bakır	15

1.2.3.1.1.6. Sebze ve meyveler	16
1.2.3.1.1.7. Yiyeceklerin içeriği, hazırlanma ve saklanma koşulları	16
1.2.3.1.2. Çevresel faktörler	16
1.2.3.1.2.1. Sigara	16
1.2.3.1.2.2. Hava kirliliğini doğuran faktörler	16
1.2.3.1.2.3. Radyasyon	17
1.2.3.2. Endojen faktörler	17
1.2.3.2.1. Aşırı egzersiz	17
1.2.3.2.2. Stres	18
1.2.3.2.3. Yaşlanma	18
1.2.3.2.4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar	18
1.2.3.2.5. Diyetset antioksidanların sağlanmasını etkileyen koşullar	19
1.2.4. Lipit peroksidasyonu mekanizması	19
1.2.4.1. Başlama	19
1.2.4.2. Yayılma	19
1.2.4.2.1. Yayılma zincirinin uzunluğunu etkileyen faktörler	22
1.2.4.2.1.1. Membrandaki lipit / protein oranı	22
1.2.4.2.1.2. Yağ asiti bileşimi	22
1.2.4.2.1.3. Oksijen konsantrasyonu	22
1.2.4.2.1.4. E vitamini gibi zincir reaksiyonlarını kesen antioksidanların varlığı	23
1.2.4.3. Sonlanma	23
1.2.5. Antioksidan maddeler etki mekanizması	23
1.2.5.1. Sitokrom oksidaz	25
1.2.5.2. Süperoksit dismutaz	25
1.2.5.3. Katalaz	26
1.2.5.4. Glutasyon	26
1.2.5.5. Glutasyon peroksidaz	27
1.2.5.6. Glutasyon transferaz	27
1.2.5.7. C vitamini (askorbik asit)	28
1.2.5.8. E vitamini (alfa-tokoferol)	28

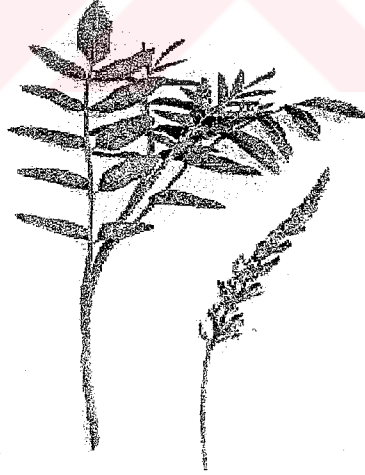
1.2.5.9. Karetinoidler ve retinoidler	29
1.2.5.10. Übikinonlar	29
1.2.5.11. Flavonoidler	29
1.2.5.12. Melatonin	30
1.2.5.13. Ürik asit	30
1.2.5.14. Albumin	31
1.3. Böbrek hasarı oluşturulması	31
1.3.1. Başlangıç fazı	32
1.3.2. İdame fazı	32
1.3.3. İyileşme fazı	32
2. MATERYAL ve METOT	36
2.1. Materyaller	36
2.1.1. Cihazlar	36
2.1.2. Ratlar	36
2.1.3. Kimyasallar	37
2.2. Metot	38
2.2.1. Meyan kökü ekstraktının hazırlanması	38
2.2.2. Ratların hazırlanması	38
2.2.3. Böbrek dokusu ve kan örneklerinin hazırlanması	39
2.2.4. Oksidanların ölçülmesi	39
2.2.5. Antioksidanların ölçülmesi	40
2.2.6. Üre, ürik asit ve Kreatinin'in ölçülmesi	41
2.2.7. Histopatolojik değişimlerin tayini	41
2.2.8. İstatistiksel analiz	42
3. BULGULAR	43
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	54
5. KAYNAKLAR	59
6. ÖZGEÇMİŞ	67

1. GİRİŞ

1.1. Meyan kökü

1.1.1. Genel özellikleri

Meyan kökü, Fabaceae familyasından, 30-60 cm yükseklikte, tüysü yapraklı, mavimsi mor çiçekli, çok yıllık bir bitkidir (Resim 1). Yapraklar 5-9 yaprakçıklıdır. Çiçekler 5-15 cm uzunlukta olup seyrek durumlarda toplanmıştır. Meyvenin üzeri çıplak veya guddeli olup dikenli değildir. Anadolu'da yaygın bir türdür. Bilhassa dere ve nehir kenarlarındaki kumluklarda yetişir (1). Kışın yaprağını döker. Ekin tarlaları, alüvyon arazileri ve ırmak kenarlarında doğal olarak yetişir. Haziran ve temmuz aylarında çiçek açar (65).



Resim 1: Meyan kökü bitkisinin yaprak ve çiçeği

Bu türün Anadolu'da yetişen bazı varyeteleri vardır; *G.glabra* var. *Glandulifera* form (a) ve form (b); *G. Glabra* var. *Glabra*; *G. Glabra* var. *Violacea*. Meyan, piyan, buyan gibi isimlerle tanınan *Glycyrrhiza* türlerinin toprak altında parmak kalınlığında, silindir şeklinde uzun iç yüzü sarı renkli ve lifli kök ve rizomları vardır. Meyan kökü adıyla bilinen bu toprak altı kısımları kodeks ve farmakopelerde kayıtlı *Radix Liquiritiae* (Meyan kökü) oluşturur (Resim 2) (64).

Yurdumuzda yetişen *Glycyrrhiza* türleri arasında *G. iconica* (Konya yöresi), *G. flavescens* (Mersin-Adana yöresi), *G. asymetrica* (Antalya yöresi), *G. aspera* (Kahramanmaraş yöresi), ve *G. echinata* sayılabilir; bunlardan en yaygın olan *G.echinata*'dır, meyveleri küremsi topluluklar oluşturur ve legümenin üzeri dikenlidir, böylece kolay ayırt edilir; kökleri ise acı lezzetlidir, bu nedenle kullanılmaz (64).

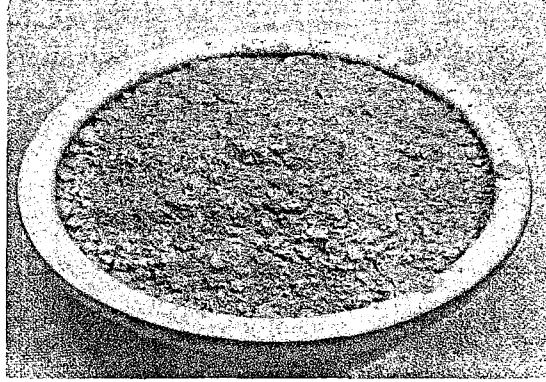


Resim 2: Meyan kökü bitkisinin yer altı kökleri

Meyan kökü (kök ve ekstraktı) tıpta tedavi edici özelliğinden dolayı yaklaşık 3 bin yıldan beri kullanılmaktadır (45). Anavatanı Doğu Akdeniz, İtalya, İspanya, Rusya, Kafkaslar, Anadolu, İran, Kuzey Irak, Afganistan, Türkistan ve Çin olarak bilinen meyan kökünün M.Ö. 2800 yıllarından beri Çinliler, M.Ö. 400'den beri Yunanlılar tarafından kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca Sümerler ve Mısırlar tarafından bilinen meyan kökü oradan da İngiltere'ye götürülmüştür. 6. Asırda Romalı hekim Alexandr tıpta en çok faydalanılan succus liquiritiae (meyan balı) olduğunu yazmıştır.

17. Asırda Evliya Çelebi Seyahatnamesinde meyan kökünün, değirmenlerde öğütüldükten sonra, bir gece suda ıslatılarak elde edilen şerbetin çeşitli hastalıklara iyi geldiğini yazmaktadır (46). Eski Mezopotamya Kodeksinde kayıtlı bir çok drog arasında bulunan meyan kökü, eski İran'da Rishâh-i asl-i sūs olarak bilinirdi. Yine eski Hint'te Brahma tarafından önerilmiştir. Eski Yunan'da içerden göğüs hastalıklarında, dışarıdan ise yaraların tedavisinde kullanılmıştır (46). Major, 'Theophraste'm Enquiry Into Plants' adlı kitabında meyan kökü ve hulasasının astım ya da kuru öksürüğe karşı kullanıldığını yazmıştır (66).

Eski Roma'da Dioscorides (M.S. I. yüzyıl), Materia Medica adlı kitabında, hem meyan kökünden, hem de meyan kökü hulasasından söz etmiştir. Bu önlü hekim, meyan balını boğaz yaralarında kullanmıştır. Meyan kökü orta çağda da çok kullanılmıştır (66). Ortaçağın ünlü İslam düşünürü Abu Yusuf Yakub İbn İshak al-kindî (800-870), Grabadhin adlı kitabında, meyan kökünden söz etmiştir. Lavey, Al-kindî'nin meyan kökü hakkında "Rob sus: meyan kökü, varak-al-sus ise yapraklarıdır" demiştir. Orta Fırat ve güney Babilde de yetişmektedir. Akaçta Shusha olarak bilinmiştir. Babil tıbbında midevi olarak ve idrar yolları rahatsızlıklarında kullanılmıştır (47). Meyankökleri öğütülerek toz halinde de yararlanılmaktadır (Resim 3).



Resim 3: Toz haline getirilmiş meyan kökü

1.1.2. Biyokimyasal özellikleri

Flavonoidler ve isoflavonoidler meyan kökünün sarı rengini oluştururlar (30). Bunlar; liquiritin (temel flavonoid), isoliquiritin, liquiritigenin, rhamnoliquirtin, neoliquirtin, licoflavonol, licoisoflavonlar A ve B, licoisoflavon, formononetin glabrol, glabron, glisarin, glabridin, glabrene, 3-hydroxyglabrol, 4'-O-methylglabridin, 3'-methoxyglabridin, formononetin, phaseollinisoflavan, hispaglabridin A, ve hispaglabridin B'dir (31). Meyan kökünün biyoaktif içeriklerinden olan glabridin, hispaglabridin A, hispaglabridin B, 4'-O-metilglabridin, 3'-hidroksi-4'-O-metilglabridin, Isoprenylchalcone, Isoliquiritigenin ve formononetin antioksidatif aktiviteye sahiptirler (32). İsoflavanlar, LDL (düşük dansiteli lipoprotein) oksidasyonuna karşı antioksidan olarak görev yaparlar (32-35). Hispaglabridin A ve 3'-hidroksi-4'-O-metilglabridin'in her ikisi de peroksidasyonu güçlü bir şekilde inhibe ederler (3). 3'-hidroksi-4'-O-metilglabridin en fazla NADPH-bağlı peroksidasyonu önlemede etkilidir (3). Ayrıca mitokondriyal solunum enzim aktivitelerini yine NADPH-bağlı peroksidasyon hasarından korur (3). İçerdiği diğer bileşikler; saponinler,

kumarinler, steroller, kolinler, ligninler, gum, biyotin, folik asit, inositol, lesitin, östrojenik maddeler, pantotenik asit, para-amino benzoik asit, pentasiklik terpenler, protein, şeker, sarı boya, B1, B2, B3, B6 ve E vitaminleridir (48-50).

1.1.3. Biyolojik etkileri

Meyan kökünün içerdiği bazı flavonoidler (bölüm 1.2’de belirtildiği gibi) antioksidan etkisini oluştururken glykorrhizik asit ise şekerden elli kat daha tatlı olmasını sağlamaktadır (5,6). Her ne kadar çeşitli kaynaklar bütün flavonoidlerin antioksidan özellik gösterdiğini belirtse de yalnız meyan kökünde bulunan flavonoidlerin daha güçlü antioksidan özellik gösterdiği son zamanlarda rapor edilmiştir (6). Pekin’deki Çin Bilim Akademisi ve Huhehot’taki Mongolian Medikal Kolejindeki bilim adamlarının kullandıkları çeşitli test metodlarıyla meyan kökü flavonoidlerinin antioksidan etkisinin E vitaminin antioksidan etkisinden 100 kattan daha fazla güçlü olduğunu ortaya çıkarmışlardır (6). Yapılan bu çalışmada serbest oksijen radikalleri kirliliğinin, test edilmesi için elektron spin rezonans tekniğinde kullanılan ksantin/ksantin oksidaz sisteminde, 2.58 mg/ml meyan kökü flavonoidlerinin bir dozunun E vitaminin 258 mg/ml (%20.6-11.2) dozundan daha fazla serbest oksijen radikali temizlediği bulunmuştur (6,36).

1.1.4. Meyan kökünün tıpta ve halk arasında kullanım alanları

Meyan kökü Çin’de ve Japonya’da ilaç sanayinin önemli bir hammaddesidir. Meyan kökünün kimyasal bileşenlerinden olan glabridin ve glabren helicobacter pilori gelişmesine karşı inhibitör olarak görev yaparlar (26,27). Meyan kökü bileşenleri antiülserojenik etki göstermektedirler (28). İzoflavan olan glabridin LDL oksidasyonunu antioksidatif etkisiyle önlemektedir (29).

Meyan kökü; adrenal-modulator, anti-alerjik, anti-bakteriyel, anti-mutajen, antioksidan, anti-viral, inflamasyonlu iki doku arasında lökositlerin hareketini arttırıcı, yatıştırıcı, tatlandırıcı, karaciğer koruyucu, immun sistem uyarıcı olması gibi bir çok özelliğinden dolayı tıpta kullanılmaktadır (38,41). Ayrıca halk arasında boğaz ağrısı, mide, böbrek, mesane hastalıkları ve diş ağrısının tedavisinde kullanılmaktadır (7). Yine bir çok karışımları deri hastalıklarında, kolesterol tedavisinde, öksürükte, ifraz yollarının çalışmasında ses kısıklığında, ateşli hastalıklarda ve ülser ağrılarının teskini gibi bir çok yerde faydalanılmaktadır (2). Bitkinin kökleri, meyan kökü olarak tanınmakta ve kabuğu soyulduktan sonra veya soyulmadan güneşte kurutularak kullanılmaktadır.

Glisirrizinin köklerdeki miktarı, bölgeden bölgeye değişir ve köklerin de etkili maddesidir. Eczacılıkta toz halinde, hapların hazırlanmasında şekil vermede kullanılır. Sigara ve plastik sanayinde de kullanılan ham maddedir. Kola adı altında hazırlanan içeceklerin terkibine de girmektedir.

Ayrıca taze veya kuru köklerinin kaynar su ile muamelesi ve sonra alçak basınçta yoğunlaştırmak suretiyle meyan balı elde edilir. Ticarete toz veya kalıplar halinde bulunur. Parlak siyah renkli, tatlı lezzetlidir. Suda kolaylıkla erir. Meyan balındaki glisirrizin miktarı daha fazladır. Memleketimizde de meyan balı elde eden tesisler vardır (94).

Meyan kökünün su ile tüketilmesi sonucunda elde edilen hülasa ise meyan şerbeti olarak bilinir. Daha çok Güneydoğu Anadolu bölgesinde elde edilir ve kullanılmaktadır. Meyan şerbeti koyu esmer renkli ve tatlı lezzetlidir. Göğüs yumuşatıcı, balgam söktürücü, öksürük kesici ve serinletici özelliktedir (1).

1.2. Oksidatif ve antioksidatif sistem

Oksijen insan yaşamı için çok gerekli olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir (51). Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (52).

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotit koenzimler gibi bir çok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır (51).

In vivo olarak hücrede normal metabolizmanın ürünleri şeklinde açığa çıkan radikaller olduğu kadar, organizmanın iyonize edici radyasyona, oksitleyici özellik taşıyan ajanlara ve doğal durumda serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiotiklere maruz kaldığı durumlarda da meydana gelirler (10,13).

Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan oksijen radikalleri sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidirler. Ancak, her bir radikalın yapısı ve etkili olduğu yere göre hücre hedefler risk altındadır (14,16).

Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalar oksijen kaynaklı radikalleri oluşturmaya başlamışlardır. Bununla eş zamanlı olarak, serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan

kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzimler serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedir (51). İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (53). Tablo 1’de bazı serbest radikaller ve antioksidanlar belirtilmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunamadığı takdirde; hücre hasarına kadar giden bir çok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır (17). Antioksidanların kan seviyesinde devamlı olarak gerekli düzeyde tutulması ilaçla mümkün olacak gibi görünmemektedir. Gerekli antioksidan seviyesi ancak, her öğünde antioksidanlar açısından zengin besinlerle beslenerek sağlanabilir. Antioksidan kullanmak veya antioksidanlar açısından zengin gıdalarla beslenmekten daha önemli olan serbest radikal üretimine sebep olacak etkenlerden kaçınmaktır (37).

Oksidanlar	Antioksidanlar
Sigara dumanı	Süperoksit dismutaz
Aşırı ekzersiz	Glutasyon
Çevre kirleticiler	Ubikinon
Ateşli hastalıklar	Selenyum
Radyasyon	Ürik asit
Çoklu doymamış yağ asitleri ile zengin diyet	E vitamini
İskemi	C vitamini
Karsinojenler	β-karoten ve diğer karoteonidler
	Polifenoller

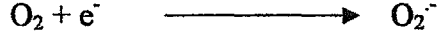
Tablo 1: Oksidan ve antioksidan bileşikler

1.2.1. Oksidan maddeler ve etki mekanizmaları

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir (18).

1.2.1.1. Süperoksit radikali

Süperoksit radikalleri hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşurlar. Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) meydana gelir (67). Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz enzimi ile inaktive edilirler.



Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (67).

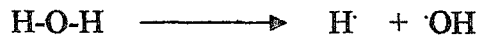
1.2.1.2. Hidrojen peroksit

Membrandan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir (68).

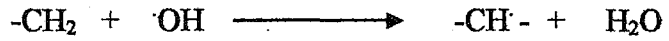
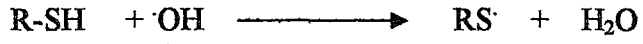


1.2.1.3. Hidroksil radikali

Hidroksil radikalleri birkaç yolla oluşur. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur (Fenton reaksiyonu). Diğer de Haber-Weiss reaksiyonudur.



Son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Oluştugu yerlerde büyük hasarlara neden olur. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur (68).



1.2.1.4. Singlet oksijen

Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spin'inin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşur (68). Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R \cdot), peroksi radikalleri (ROO \cdot), alkoksi radikalleri (RO \cdot), tiyol radikalleri (RS \cdot) gibi önemli serbest radikaller de meydana gelirler. Bunlardan özellikle poliansatüre yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir (68).

1.2.2. Serbest radikallerin reaksiyonları

Serbest radikallerin biyolojik reaksiyonlarını genel bir başlık altında incelemek oldukça güçtür. Çünkü organizmanın yaşamı boyunca karşılaştığı radikal türleri sürekli değişir. Tablo 2'de bazı radikal olan ve radikal olmayan oksijen türevi bileşikler belirtilmiştir. Bir ya da birden fazla tek sayılı elektron içeren bu radikaller hücrede ortaya çıktıktan sonra atom transferini içeren radikal reaksiyon dizileri başlar. Hücre içinde bir diğer önemli radikal reaksiyonu, doymamış yağlara radikal eklenmesidir. Örneğin yağ asitleri ve aromatik halkalarda olduğu gibi. Serbest radikal reaksiyonları ilerleyerek hücre hasarına sonuçlanabilir. Bu tür reaksiyonlar sonsuz olarak sürebildiği gibi serbest

radikalleri kaldırıcı veya temizleyici bileşiklerin etkisi ile ya kısmen veya tamamen ortadan kaldırılabilirler (69).

Radikaller	Radikal olmayanlar
Hidroksil (HO·)	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Alkoksil (RO·)	Singlet oksijen (O ₂)
Peroksil (ROO·)	Ozon (O ₃)
Superoksit (O ₂ ·)	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO·)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ ·)	Peroksinitrit (ONOO·)

Tablo 2: Oksijen türevi bileşikler

Normal metabolizmanın yanı sıra hiperoksi, inflamasyon ve radyasyonla artan oksijen metabolizması süperoksit, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitin oluşumunu artırır (54,55,56). Klinik uygulamalarda kullanılan bir çok preparat özellikle antineoplastik ajanlar (örneğin adriamycin, daunorubicin, gentamisin) ve aktiviteleri için kinon grupları ya da metallere gereksinim duyan antibiyotikler, oksijenin serbest radikallerini açığa çıkarabilirler (57,58,59,60).

1.2.3. Organizmada serbest radikal reaksiyonlarını etkileyen koşullar

Organizmanın prooksidan-antioksidan dengesi birçok faktöre bağlıdır. Bunlar eksojen ve endojen olarak iki ana bölümde incelenebilir. Ancak bu faktörler genellikle birlikte etkilidirler (70).

1.2.3.1. Eksojen faktörler

Diyet, çevresel etkenler ve bazı ilaçlar serbest radikal reaksiyonlarını etkilemektedir.

1.2.3.1.1. Diyet

Yiyeceklerin içeriği ve miktarı organizmanın prooksidan-antioksidan dengesini değiştirmektedir (70).

1.2.3.1.1.1. Çok doymamış yağ asitleri

Bunlar omega 6 (n-6) ve omega 3 (n-3) olmak üzere iki grupta toplanırlar. Omega 6 serisinde temel yağ asidi linoleik asit, omega 3 serisinde ise alfa linoleik asittir. Bu yağ asitlerinin bulunma ve biyolojik fonksiyonları arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Omega 6 serisi yağ asitleri ayçiçek yağı, mısır yağı, pamuk yağı gibi bitkisel yağlarla sağlanmaktadır. Omega 3 serisinin en önemli yağ asitleri olan eikosapentaenoik asit ve dokosaheksanoik asit ise balıklarla alınmaktadır.

Gerek omega 6 ve gerekse omega 3 yağ asitleri antiaterojen yağ asitleri olarak benimsenmektedir. Omega 6 serisi yağ asitleri içeren yağlar 1960'lı yıllardan beri serumda total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerini düşürmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Omega 3 yağ asitleri de giderek önem kazanmaktadır. Bunların aterosklerotik damar lezyonlarının oluşmasını ve gelişmesini engellediği, hatta oluşmuş lezyonları geriletmediği ileri sürülmektedir. Balık yağlarının anti aterojen etkisinin kan lipitlerini düşürmekten ziyade, prostasiklin, tramboksan, lökotrien ve fibrinojen gibi değişik faktörleri etkilemesinden kaynaklandığı saptanmıştır. Gerçekten balık yağları ılımlı dozlarda sadece serum trigliserit düzeylerini düşürmekte, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeylerini etkilememektedir.

Omega 3 ve omega 6 yağ asitleri dayanıklı olmayıp kolayca ootoksidasyona uğramaktadır. Bu olay zararlı lipit peroksitlerinin ve onun parçalanma ürünlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle çok doymamış yağ asitleri ile zengin beslenme organizmada lipit peroksidasyonuna duyarlılığı artırmakta ve organizmanın antioksidan rezervini bozmaktadır. Buna karşılık tek doymamış yağ asitleri ootoksidasyona dirençlidirler. Gerçekten tek doymamış yağ asitleri LDL'nin oksidasyona duyarlılığını azaltmaktadır.

1.2.3.1.1.2. Alkol

Fazla miktarda ve uzun süre alkol alınmasıyla bir çok toksik etki ortaya çıkmaktadır. Bunlar içinde özellikle karaciğer hastalığı önemlidir ve kentlerde yaşayan 25-65 yaş arası nüfusta dördüncü ölüm nedenidir. Alkolün hepatotoksik etkisi büyük oranda karaciğerde serbest radikal oluşumundaki artışa bağlanmaktadır. Bu radikaller gerek etanolün asetaldahide, gerekse asetaldahidin asetata dönüşmesi sırasında oluşmaktadır. Ayrıca etanolden doğrudan etoksi radikalleri de oluşmaktadır. Alkol karaciğerde lipit peroksidasyonunu arttırmakta, antioksidan sistemi etkilemektedir (70,71).

1.2.3.1.1.3. Kalori

Fazla kalorili beslenme ile radikal oluşumu arasında doğrudan bir ilişki vardır. Yüksek kalorili diyet özellikle mitokondri kaynaklı serbest radikal oluşumunu arttırmaktadır. Düşük kalorili diyetle beslenen sıçanlarda yaşam süresinin uzadığı, DNA, protein ve lipitlerde daha az oksidatif hasar görüldüğü, DNA tamir kapasitesinin yükseldiği bulunmuştur. Buna karşılık yüksek kalorili diyetle beslenen sıçanlarda DNA hasarı daha fazladır. Ayrıca, bazal metabolik hızı yüksek olan canlılarda yaşam süresi arasında zıt bir ilişki bulunmuştur. Bazal metabolik hızı yüksek olan canlılarda yaşam süresi daha kısadır. Örneğin sıçanlarda bazal metabolik hız insanlara oranla yedi kat fazla olup yaşam süresi 2-2.5 yıla sınırlıdır.

1.2.3.1.1.4. Hayvansal ve bitkisel proteinler

Bitkisel proteinlerin hayvansal proteinlere oranla otooksidasyona daha dirençli olduğu saptanmıştır. Bu durum bu proteinlerdeki histidin, lizin gibi otooksidasyona açık amino asit içeriğindeki farklılıklardan kaynaklandığı saptanmıştır. Gerçekten, diyete histidin ve lizin eklenmesi ile sıçanlarda yaşam süresi kısaldığı bulunmuştur. Ayrıca hayvansal proteinlerle, özellikle etle birlikte demir de alınmakta, bu da radikal reaksiyonlarının hızlanmasında etkili olmaktadır (71).

1.2.3.1.1.5. Demir ve bakır

Bu elementler organizmada Haber-Weis ve Fenton reaksiyonlarını hızlandırmaktadır (71). Diyetset demir ve bakır içeriğinde artış gerek kanser ve gerekse kalp-damar hastalığı için önemli bir risk faktörüdür.

1.2.3.1.1.6. Sebze ve meyveler

Sebze ve meyveler önemli oranda antioksidanlar ve çeşitli kofaktörler içerdiklerinden antioksidan gücümüzü oluşturmada çok önemli kaynaklardır (71). Örneğin üzüm, siyah havuç, antepfıstığı ve biberde bulunan fenoloik bileşikler ayrıca çayda bulunan kateşinler antioksidan gücü arttırmaktadır.

1.2.3.1.1.7. Yiyeceklerin içeriği, hazırlanma ve saklanma koşulları

Yiyeceklerin çok doymamış yağ asidi içeriği, oksidasyonu kolaylaştırıcı metallerin düzeyi, ısı ve ışık gibi birçok faktör serbest radikal reaksiyonlarını etkilemektedir. Yiyeceklere konulan bazı koruyucular da Zararlı etkiler yaratabilir. Örneğin nitritler nitrozaminlere, sülfidler sülfür trioksit radikallerine dönüşebilir (68).

1.2.3.1.2. Çevresel faktörler

1.2.3.1.2.1. Sigara

Sigaranın duman ve katran fazında çeşitli radikaller oluşmaktadır. Sigara kullanımı DNA hasarına yol açmaktadır ve bu olay yalnız aktif sigara içenleri değil, pasif içicileri de kapsamaktadır (67). Sigara organizmanın antioksidan kapasitesini azaltmaktadır. Sigara kanser dışında kalp-damar hastalıklarının oluşumunda da önemli rol oynamaktadır. Örneğin sigara içenlerde LDL'nin lipit peroksidasyonuna duyarlılığı arttığı, antioksidan gücün azaldığı bulunmuştur.

1.2.3.1.2.2. Hava kirliliğini doğuran faktörler

Bu başlık altında ozon (O₃), azot dioksit (NO₂), kükürt dioksit (SO₂) ve hidrokarbonlar sayılabilir. Ayrıca asbest, böcek ilaçları önemli bir çevre

sorunudur (71). Ozon gerçekte bir serbest radikal değildir, ancak güçlü bir oksitleyicidir. Doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipitlerin otooksidasyonuna sebep olmaktadır. NO₂ ise egzoz gazında mevcut olup ozon oluşturmaktadır. O₂ ve NO₂'ye maruz kalan deney hayvanlarında akciğer hasarının olduğu ve bu hasarın antioksidanlar tarafından önlenemediği bildirilmektedir.

SO₂ akciğer hastalığının önemli bir nedenidir. Sülfür trioksit radikalinin oluşumuna neden olmaktadır. Yiyeceklerde de koruyucu olarak sülfid kullanılmaktadır, bu da sülfür trioksit radikaline dönüşmektedir.

1.2.3.1.2.3. Radyasyon

Gama ve X ışınları ile iyonize partiküller (alfa, beta, proton) iyonizasyon ve eksitasyon yaratırlar. Yüksek enerjili iyonize radyasyon su moleküllerini hidroksil radikalleri dahil birçok radikale dönüştürmektedir. Güneş ışığının önemli bir bileşeni olan ultraviyole ışık da radikal kaynağıdır. Ultraviyole ışık cildin yaşlanmasında ve kanserinde önemli bir faktördür. Yapay ultraviyole kaynakları da radikal oluşturmaktadır (68).

1.2.3.2. Endojen faktörler

1.2.3.2.1. Aşırı egzersiz

Özellikle yoğun egzersizde organizmada oksijen türevi radikal oluşumu artmaktadır. Buna karşılık, düzenli yapılan egzersizle bir adaptasyonun olduğu, antioksidan enzim aktivitelerin arttığı, inflamasyon eğiliminin ve serbest demir düzeylerinin azaldığı, DNA tamir mekanizmalarının indüklendiği ve LDL'nin oksidasyona duyarlılığının azaldığı bulunmuştur (69).

1.2.3.2.2. Stres

Soğukta bırakma veya hareketsiz bırakma gibi stres modellerinde çeşitli dokularda lipitler, proteinler ve DNA'da hasar bulunmuştur (69). Gerçekten, stres sonrası lipit peroksit düzeylerinin, protein karbonil gruplarının ve 8-dihidroksiguanozin düzeylerinin arttığı bulunmuştur.

1.2.3.2.3. Yaşlanma

Serbest radikaller yaşlanmada önemli bir rol oynamaktadır. Bu ilişkiyi doğrulayan önemli deneysel bulgular bulunmaktadır (69).

1 – DNA'da oksidatif hasarın göstergesi olan 8-deoksiguanozin düzeyleri yaşlanmış deney hayvanlarında artmaktadır. Ayrıca yaşlanma ile dokularda protein karbonil gruplarında ve lipit peroksit düzeylerinde artış bulunmuştur.

2 – Oksidatif strese duyarlılık ile yaşam süresi arasında bir ilgi bulunmuştur. Kısa yaşam süreli organizmalarda oksidatif strese duyarlılık fazladır.

3 – Yaşlanma ile birlikte antioksidan sistemde bazı değişiklikler olmaktadır.

4 – Birçok canlı türünün ortalama yaşam süresinin diyetle antioksidanların eklenmesi ile uzatılabildiği bildirilmektedir(69).

1.2.3.2.4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar

Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi durumlarda organizmada oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulmaktadır (68).

1.2.3.2.5. Diyetel antioksidanların sağlanmasını etkileyen koşullar

İştahsızlık, kolestaz malabsorbsiyon gibi koşullarda antioksidan alımı olumsuz yönde etkilenmektedir (68).

1.2.4. Lipit peroksidasyonunun mekanizması

Biyolojik membranlarda serbest radikallerle indüklenen lipit peroksidasyonu, başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonları şeklinde değerlendirilir (72). Şekil 2’de biyomembranlarda, serbest radikallerle indüklenen lipit peroksidasyonu mekanizması belirtilmiştir.

1.2.4.1. Başlama

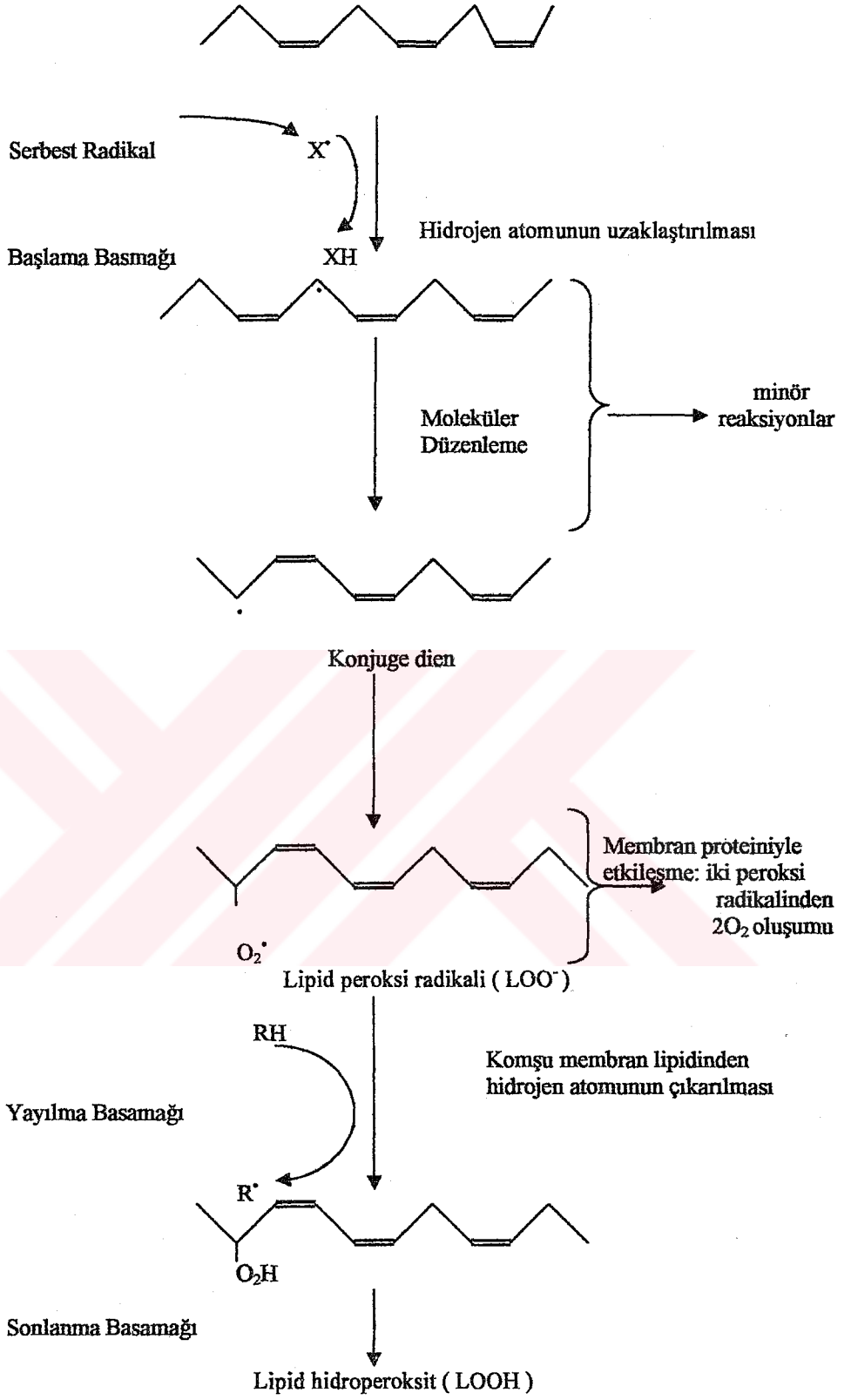
Peroksidasyon, serbest radikallerin, poliansature yağ asitlerinin yan zincirlerindeki metilenik karbonlardan hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Demir ve bakır gibi eşleşmemiş elektronlara sahip olan geçiş metal iyonlarının varlığı, peroksidasyonun başlaması için gereklidir (67). Hidrojen atomunun zincirden çıkarılması, karbon atomu üzerinde eşleşmemiş bir elektron bıraktığında, karbon merkezli lipit radikali (L.) oluşumuna yol açar. Bu lipit radikalinin bir çok akıbeti vardır. Fakat aerobik hücrelerde en sık görülen olay, bu radikalın moleküler düzenleme ile konjuge dien şeklinde çevrildikten sonra, moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksi radikalini (LOO.) üretmesidir (68).

1.2.4.2. Yayılma

Bu peroksi radikali, diğer bir peroksi radikaliyle birleşebilir ya da membran proteinleri ile etkileşebilir. Fakat en önemlisi, peroksi radikallerinin

membrandaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece, yan zincirden hidrojen atomunun çıkarılması ile, her defasında lipid hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni bir peroksi radikali oluşmaktadır. Peroksidasyon, bir kere başladıktan sonra, otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zincirleri, lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir (69).





Şekil 1: Lipid peroksidasyonu mekanizması

1.2.4.2.1. Yayılma zincirinin uzunluğunu etkileyen faktörler

Lipit peroksidasyonu zincirinin uzunluğu membrandaki lipit / protein oranı, yağ asidi bileşimi, oksijen konsantrasyonu ve E vitamini gibi zincir reaksiyonlarını kesen antioksidanların varlığından etkilenmektedir.

1.2.4.2.1.1. Membrandaki lipit / protein oranı

Membran proteini ile etkileşen radikalın şansı, membranın protein içeriği arttıkça yükselecektir (69).

1.2.4.2.1.2. Yağ asidi bileşimi

Membranda poliinsatüre yağ asidi içeriğinin artması peroksidasyona olan duyarlılığı artırmaktadır. Halbuki kolesterolün varlığı peroksidasyonu baskılamaktadır. Normal insan eritrositlerinde lipit peroksidasyonunun derecesi ile, membran kolesterol konsantrasyonu arasında, belirgin bir negatif korelasyon bulunmuştur. Plazma membranında kolesterolün varlığı, bazı radikallerin yollarının kesilmesine neden olduğu gibi; yağ asidi yan zincirleriyle kolesterolün hidrofobik halkasının etkileşmesi, membranın iç yapısını değiştirmektedir (70).

1.2.4.2.1.3. Oksijen konsantrasyonu

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile sonucusu meydana gelir (89).

Oksijenin elektronları o şekilde dağılmışlardır ki bu elektronlardan iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen en son suya indirgenir. Bu arada, kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilirler (89).

1.2.4.2.1.4. E Vitamini gibi zincir reaksiyonlarını kesen antioksidanların varlığı

Biyolojik membranlarda serbest radikal topalayıcısı olarak görev yapan E vitamini, kendi hidrojen atomunu peroksi radikallerine vererek, hidroperoksitlerin oluşumuna yol açar. Bu hidroperoksitler, daha sonra glutasyon peroksidaz ile kendilerine karşılık gelen nontoksik hidroksi bileşiklerine ayrılmaktadır (69).

1.2.4.3. Sonlanma

Demir ve bakır iyonları ya da bu iyonların fosfat esterleriyle oluşturduğu basit kelafları (Fe^{+2} -ADP), hemoglobini ve miyoglobini içeren bazı demir proteinleri, lipid hidroperoksitlerini bozarak peroksidasyonu sonlandırmaktadır. Bu kompleks bozunma reaksiyonlarının ürünleri; etan, pentan gibi hidrokarbon gazlar, ROOH, RCOOH, ROH ve RCHO gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleridir (68,69).

1.2.5. Antioksidan maddeler ve etki mekanizmaları

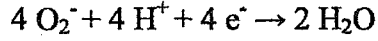
Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için bir çok savunma mekanizmaları meydana gelmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinirler (18).

Antioksidanların ilk belirlenen etkileri zar yapısında bulunan lipitlerin peroksidasyonuna karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak, başlangıçta antioksidanlar lipit peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise antioksidanların tanımı lipitlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini de içerecek şekilde genişletilmiştir. Böylece, antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmakta ve bu tanımla bağlantılı olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir (17).

Akut tübüler nekrozda okidatif ve antioksidatif denge bazı antibiyotik ilaçlarla da bozulmaktadır (62). Gentamisin önemli bir aminoglikozit antibiyotiktir. Hayvanlarda ve insanlarda gram negatiflere karşı etkilidir. Ancak uzun süreli kullanımı nefrotoksiteye neden olmaktadır. Bu sınıf antibiyotiklerin akut renal hasarın en yaygın nedeni olduğu bilinmektedir (62). Nefrotoksite nedeni olan gentamisin proksimal tübüllerde birikerek doğrudan akut tübüler nekroza neden olmaktadır. Bundan dolayı böbrekteki nekrozun oluşmasında antibiyotiklerin neden olduğu bildirilmektedir. Deneysel bulgular gentamisindeki reaktif oksijen türlerinin akut tübüler nekroza neden olduğunu göstermiştir. Akut tübüler nekroz kreatin geçişini azaltmakta, kanda üre nitrojeni artırmakta, kandaki glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesini azaltmakta, idrardaki N-asatil- Di glikozamidazın ve total proteinin dışarı atılışını artırmaktadır. Gentamisinin neden olduğu nefrotoksisitenin mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Ancak reaktif oksijen türünün neden olduğu bilinmektedir. Gentamisine tedavi edilen ratlarda renal kortikol lipoperoksidasyonun ve renal hidrojen peroksit üretiminin artışı ve glutatyonun azalması saptanmıştır (63).

1.2.5.1. Sitokrom oksidaz

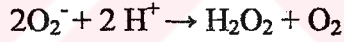
Mitokondrilerde solunum zincirinin en son basamağında yer alan ve bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlar.



Ancak, süperoksit radikallerinin oluşumu çoğu kez enzimin kapasitesini aşar ve diğer enzimlerin devreye girmesiyle süperoksit radikalının zararlı etkileri engellenir (17).

1.2.5.2. Süperoksit dismutaz

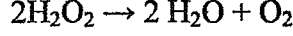
Süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlayarak hücre içindeki süperoksit radikali düzeyini azaltır.



SOD'un insanlarda iki izoenzimi vardır. Bunlar, sitozolde bulunan bakır ve çinko içeren Cu, Zn- SOD ile mitokondride bulunan mangan içeren Mn-SOD'dur. SOD'un fizyolojik görevi hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır. Buna karşılık ekstraselüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür (17).

1.2.5.3. Katalaz

Katalaz enzimi hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler.



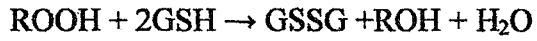
Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Peroksizomlarda lokalizedir. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipit hidroperoksidlerine ise etki etmez (17).

1.2.5.4. Glutasyon

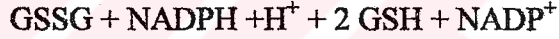
Başta karaciğerde olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan ve glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Suda çözünen önemli bir antioksidan ve indirgeyici ajandır. Glutasyonun pek çok metabolik türevi vardır. GSH peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substratı veya ko-substratıdır. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. Ayrıca protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. İndirgenmiş glutasyon (GSH) çeşitli reaksiyonlarda yükseltgenerek, yükseltgenmiş glutatona (GSSG) dönüşür. GSSG'nin tekrar indirgenmesi NADPH'nin de kullanıldığı bir reaksiyonla olur. Bu şekilde dokularda GSH / GSSG oranı yüksek tutulur (17).

1.2.5.5. Glutasyon peroksidaz

Sitozolde yerleşik bir enzim olan glutasyon peroksidaz (GSH-Px), dört selenyum atomu içerir. GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksitin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar.

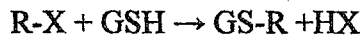


GSH-Px'in iki substratı vardır. Substratlarından biri olan peroksitler alkole indirgenirken, diğer substrat olan glutasyon (GSH) yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşür (17).

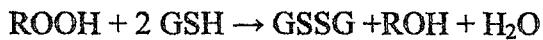


1.2.5.6. Glutasyon transferaz

Esas olarak sitozolde bulunur, çok sayıda izoenzimi vardır. Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli rolleri olan GSH-transferazlar çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin glutasyonla konjugasyonunu katalizler.



Bazı GSH-Tr izoenzimleri selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi gösterir ve araşidonik asit ile lineoleik asit hidroperoksitlerinin metabolizmasını sağlar (17).



1.2.5.7. C vitamini (askorbik asit)

Askorbik asit güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipit peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipitleri ve zarları da oksidan hasara karşı korur. E vitaminin rejenerasyonunda görev alır, tokoferoksil radikalinin alfa-tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korur (17).

1.2.5.8. E vitamini (alfa-tokoferol)

Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka, aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. Dokularda, mitokondri ve mikrozomlar gibi membran yapısı fazla olan hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olarak, zarda bulunan fosfolipitlerin çok doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipit peroksitlerini ve diğer radikalleri indirger. E vitamini ve GSH peroksidaz serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. GSH peroksidaz oluşan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin yapımını engeller. E vitamini, selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Selenyum, hem E vitaminin hem de lipitlerin emilimi için gereklidir. Ayrıca E vitaminin lipoproteinler içinde tutulmasına yardımcı olur. E vitamini ise selenyum kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak organizmanın selenyum ihtiyacını azaltır. E vitaminin zincir kırıcı antioksidan olarak başlıca fonksiyonu, lipit peroksitlerini etkisizleştirerek peroksidasyon zincir reaksiyonunu sonlandırmaktır. Bu sırada tokoferoksil radikali stabil bir moleküldür, glukuronik asit ile konjuge olur ve safra yolu ile atılır (18).

1.2.5.9. Karotenoidler ve retinoidler

Karotenoidler havuç, domates, fasulye, portakal ve diğer narenciyelerde bulunan bitki pigmentleridir. A vitaminin metabolik ön maddesi olan beta-karoten bilinen karotenoidlerden başlıcasıdır. Retinoidler plazmada lipoproteinler ve retinol bağlayıcı protein aracılığıyla taşınırlar. Beta-karoten ve likopen gibi retinoidler LDL yapısında yer alır ve LDL'yi oksidasyona karşı korurlar. Karotenoidler, hücreleri oksidan strese karşı üç farklı şekilde korurlar: a) Flavinler ve porfirinler gibi triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama, b) Singlet oksijeni askılaması, c) Peroksil radikallerinin temizlenmesi (17).

1.2.5.10. Übikinonlar

Übikinonlar lipitlerde çözünen ve izoprenoid yapı içeren kinon türevleridir. Soya yağı, et ve balık gibi besinlerde ve bazı sebzelerde bulunurlar. İndirgenmiş şekilleri olan übikinoller übikinonlara kıyasla antioksidan olarak çok daha etkilidirler. İnsanlarda bulunan temel übikinon, übikinon-10 (Koenzim-Q)'dur. Esas görevi olan solunum zincirindeki redoks taşıyıcılığının yanında, oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşerek lipit peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin hasar görmesini engeller (17).

1.2.5.11. Flavonoidler

Lipitlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Başlıca besinsel kaynakları elma, portakal, limon gibi meyveler ile patates, karnabahar gibi sebzelerdir. Flavonoidlerin farklı yollarla lipid peroksidasyonunu engellediği belirlenmiştir. a) peroksidasyonu başlatan radikalleri tutar, b) metal

iyonlarını bağlarlar, c) radikal oluşturucu enzimleri inhibe ederler. Ancak, bazı flavonoidlerin metal iyonları etkileşerek oksidan etki yaptığı da saptanmıştır (17).

1.2.5.12. Melatonin

En zararlı radikallerden hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Melatoninin hidroksil radikali ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dđnüřtüğü ve bu radikalın de süperoksid radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Melatoninin bir diğer önemli özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin engelini de kolayca geğer. Bu nedenlerle çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin çok yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımında bile toksik etkisi gözlenmemiştir. DNA hasarının melatonin tarafından çok etkili bir şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi azalır. Bu durumu yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde önemli olabileceği düşünölmektedir (17).

1.2.5.13. Ürik asit

Normal plazma konsantrasyonlarında antioksidan etki gösteren bir moleküldür. Antioksidan etkisinin çeşitli kaynakları vardır. a) Demir ve bakır iyonlarını bağlayarak etkisizleştirir, b) singlet oksijen, hipoklorit, hidroksil, süperoksit ve peroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerini temizler. Lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca, C vitaminini oksidasyona karşı korur (17).

1.2.5.14. Albumin

Yapısında bulunan çok sayıdaki sülfidril grubu aracılığıyla bakır iyonlarını bağlar ve lipid peroksidasyonunun başlamasını engeller. Bakır iyonlarının bağlanmasıyla protein yapısında hasar ortaya çıkar, ancak albumin yarı ömrü oldukça kısa bir protein olduğundan kolaylıkla yenilenebilmektedir. Böylece, bakır iyonlarının diğer proteinlerdeki sülfidril gruplarına bağlanması ve proteinleri hasara uğratması engellenmiş olur. Albumin kanda serbest yağ asitlerinin ve bilirubinin taşıyıcısıdır. Bilirubinin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve süperoksit ve hidroksil radikallerinin toplayıcısı olduğu bildirilmiştir (17).

1.3. Böbrek hasarı oluşturulması

Vücudumuzun en önemli organlarından olan böbreklerimiz vasküler, metabolik, immün, veya fiziksel nedenlerle oluşan zedelenmelere cevabı hipertrofi, hiperplazi, nekroz, apoptosis veya ekstrasellüler matriks sentezinde artış şeklinde olmaktadır (21). Bu çalışmada böbrek hasarı oluşturmak için aminoglikozidlerin nefrotoksik etkilerinden faydalanıldı. Aminoglikozidlerin nefrotoksik etkileri oluşturdukları akut tübüler nekrozdan kaynaklanmaktadır. Nekroz canlı hücrelerin lokal ve sınırlı ölümüne denir (20).

Nefrotoksik akut tübüler nekroz, endojen veya ekzojen toksinlere bağlıdır. Toksinler, intrarenal vazokonstriksiyon, doğrudan tübül toksisitesi ve/veya intratübül obstrüksiyona yol açarak akut böbrek yetmezliğine sebep olurlar. Tablo 2’de akut tübüler nekroz’a yol açabilen endojen ve ekzojen toksinler özetlenmiştir. Akut tübüler nekroz; başlangıç, idame ve iyileşme fazı olmak üzere klinik olarak üç fazda incelenebilir.

1.3.1. Başlangıç fazı

İskemik ya da toksik olaya maruziyet ve parankim hasarının ortaya çıkış periyodudur. Bu dönem saatler-günler sürer ve akut tübüler nekroz bu dönemde potansiyel olarak önlenebilir.

1.3.2. İdame fazı

Parankim hasarının yerleşip, glomerüler filtrasyon hızının 5-10 ml/dk düzeyinde sabitleştiği dönemdir. Genellikle 1-2 hafta sürer. Bu periyodda idrar çıkışı en düşük düzeydedir. Üremik komplikasyonlar çoğunlukla idame fazında ortaya çıkar.

1.3.3. İyileşme fazı

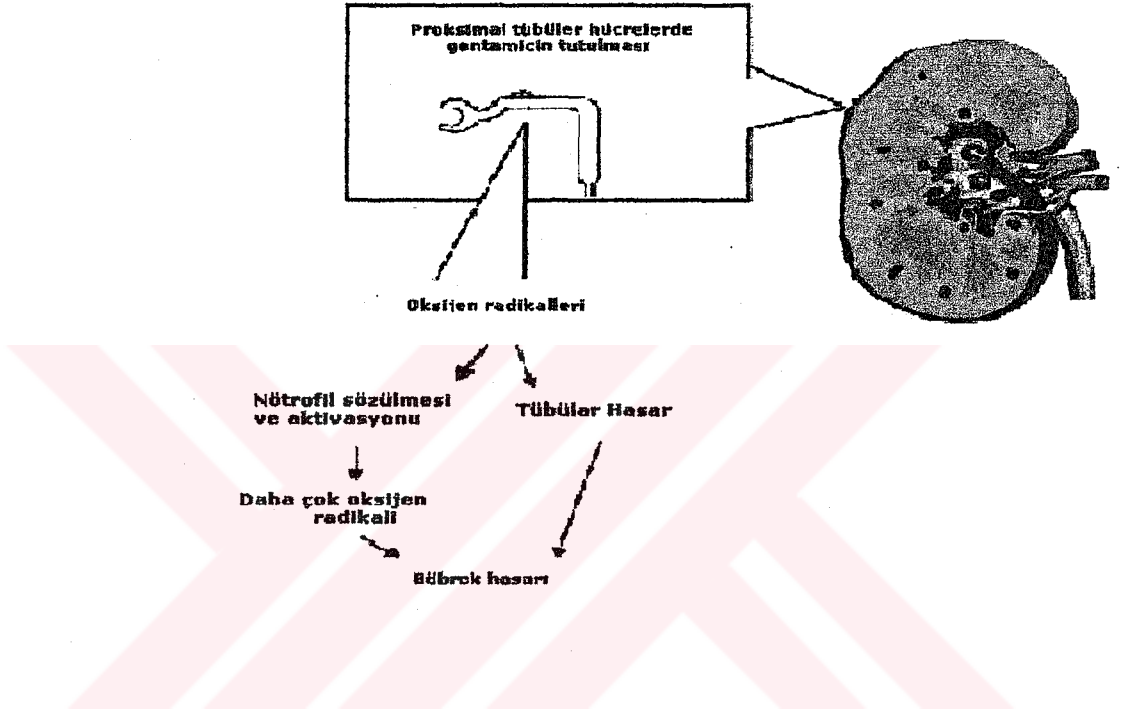
Renal dokunun onarım ve rejenerasyonu ile renal fonksiyonların düzeldiği dönemdir. Ortalama dört hafta sürer. İyileşmenin başladığı, idrar miktarında tedrici artış ve bir iki gün içinde serum kreatinin düzeyinin düşmeye başlaması ile anlaşılır. Post-akut tübüler nekroz diürez, biriken su ve tuz atılımı ve solütlere bağlı ozmotik diüreza bağlıdır. Bazan diüreaz uygunsuz ve aşırı miktarlarda olabilir. Bu dönemde sıvı-elektrolit dengesi bozuklukları ortaya çıkabilmektedir (61).

Endojen toksinler	Eksojen toksinler
Miyogloblin	Antibiyotikler
Hemoglebin	Aminoglikozidler
Ürik asit kristalleri	Organik çözücüler
Miyeloma hafif zincirleri	Etilen glikol
	Toluen
	Zehirler

Tablo 3: Akut tübüler nekroz'a yol açabilen endojen ve eksojen toksinler

Aminoglikozid antibiyotiklerden gentamisin çalışmamızda kullanılmak üzere seçildi. Gentamisin kitlesine göre, streptomisin, kanamisin ve amikasinin güçlüdür. Ayrıca, amikasin'den sonra, spektrumu en geniş ve antibakteriyel etkisi en yüksek olanıdır. Bakterisid etki yapar. Özellikle Enterobacteriaceae grubu (E.Coli, Aerobacter, Klebsiella vb.) bakteriler ve Pseudomonas aeruginosa gibi gram-negatif basillerle penisiline ve metisiline dayanıklı Staph. Aureus suşları üzerine etkilidir. Kanda yaklaşık %10 oranında alyuvarlara bağlanır; bu nedenle anemik hastalarda kandaki serbest gentamisin konsantrasyonu biraz daha yüksek olur. Vücutta biyotransformasyona uğramadan böbreklerden itrah edilir ve idrarda serumdakinden 10-100 kez daha yüksek bulunur (22-24). Gentamisin nefrotoksik ve ototoksik etkisi güçlü olan bir ilaçtır. Bu ilacın renal proksimal kıvrımlı tübüllerde birikmesine bağlı olarak nefrotoksik özelliği ortaya çıkmaktadır (42-44). Böbrek bozukluğunda aktif maddenin itrah hızını azaltır. Böbrekler üzerinde nefrotoksik etkisinden dolayı akut tübüler nekroz oluşturmaktadır (25). Şekil 3'te gentamisinin oluşturduğu böbrek hasarı mekanizması özetlenmiştir.

Gentamisin nefrotoksik etkisinden dolayı klinik kullanımı sınırlıdır. Deneysel bulgular gentamisinindeki reaktif oksijen türlerinin nefrotoksisiteye sebep olduğunu göstermektedir (62). Gentamisinle muamele edilen ratlarda renal kortikal lipoperoksidasyon ve renal hidrojen peroksit üretimi arttığı gözlenmiştir. Keza yapılan çeşitli araştırmalarda gentamisinin sebep olduğu renal hasarların antioksidanlar ile azaldığı saptanmıştır (63). Biz de bu çalışmamızda gentamisinle oluşturduğumuz akut tübüler nekrozlu ratlarda meyan şurubunun böbrek hasarını önleyici ve tedavi edici antioksidan özelliklerini inceledik. Ayrıca elde ettiğimiz sonuçları bilinen diğer antioksidanlar olan C ve E vitaminleriyle elde ettiğimiz sonuçlarla mukayese ederek meyan kökünün antioksidan potansiyel olarak değerini ortaya koymaya çalıştık.



Şekil 2: Gentamisinin oluşturduğu hücre hasarının mekanizması

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Cihazlar

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında rutin olarak kullanılan cihazlardan yararlandık.

- 1- Universal 30 RF model santrifüj (Hettich®)
- 2- V-530 model UV/VIS spektrofotometre (Jasco®)
- 3- 0.0001 g'a duyarlı hassas terazi (Sartorius®)
- 4- NM 110 model vorteks (Nüve®)
- 5- Dijital pH-metre (Hanna®)
- 6- Su banyosu (Nüve®)
- 7- C54285 model derin dondurucu (New Brunswick Scientific®)
- 8 - Biyokimya otoanalizörü (Aeroset®, Abbott)
- 9 – Rotary mikroton (Leicra RM2135®)

2.1.2. Ratlar

35 adet Wistar-albino, karışık cinsiyetli vücut ağırlıkları 180-220 gr olan ratlar Erciyes Üniversitesi Hayvan araştırma laboratuvarından satın alındı. Hayvanlar 3 ay boyunca adaptasyon için aynı ortamda bakıma alındı ve aynı besinlerle beslendi.

2.1.3. Kimyasallar

1 - Meyan kökü ekstraktı

2 - E vitamini (α – tokoferol, Evigen® ampul 300 mg/dl, Aksu Farma Tıbbi Ürünler ilaç sanayi).

3 - C vitamini (Redoxon® ampul 500 mg / dl, Roche)

4 - Gentamisin (Genta® ampul 160 mg/dl İ.E ULAGAY ilaç sanayii).

5 - Orto fosforik asit (Merck Chemical Co.)

6 - Sodyum – EDTA (Carlo Erba Chemical Co.)

7 - Tiobarbiturikasit (TBA) (Sigma Chemical Co.)

8 - Sodyum hidroksid (Merck Chemical Co.)

9 - Bütanol (Reidel- De Haen Chemical Co.)

10 - Sodyum klorür (Merck Chemical Co.)

11 - BHT (Sigma Chemical Co.)

12 - TCA (Carlo Erba Chemical Co.)

13 - Hidroklorik asit (Merck Chemical Co.)

14 – Folin-Ciocalteu (Sigma Chemical Co.)

2.2. Metot

2.2.1. Meyan kökü ekstraktının hazırlanması

Lif haline getirilmiş meyan (*Glycyrrhiza glabra*) köklerinden 1 kg 2 litre saf suda 24 saat bekletilerek ekstraksiyon yapıldı. Elde edilen ekstrakt kaba filtre kağıdı ile süzülüp +4 C° 'de buzdolabında bekletildi. Ratlara verileceği zaman 1/20 oranında sulandırıldı. Toplam 1/60 oranında sulandırıldı.

2.2.2. Ratların hazırlanması

35 adet wistar-albino ratı alınarak 3 ay aynı ortamda bekletilip günlük kontrolleri yapıldı. Sağlıklı olduklarından emin olunan ratlar 7 gruba ayrıldı. Gentamisin + C vitamini grubundan 1 adet rat ex oldu. **1.grup:** Kontrol grubu : Ardışık 12 günde gentamisin ile aynı dozda %0.9 NaCl w/v i.p. enjekte edildi (5 adet rat). **2.grup:** Meyan grubu : Meyan kökü ekstraktı ardışık 12 günde oral olarak verildi (5 adet rat). **3. grup:** Gentamisin grubu : 100mg/kg/gün dozunda gentamisin i.p. verildi. 12 günlük periyotlarda (5 adet rat). **4.grup:** Gentamisin + Meyan kökü grubu : 100mg/kg/gün i.p. gentamisine ilaveten meyan kökü ekstraktı ardışık 12 günde oral olarak verildi (5 adet rat). **5.grup:** Gentamisin +C vitamini grubu : 100mg/kg/gün i.p. gentamisine ilaveten aynı dozda C vitamini 12 gün i.p. serum fizyolojik içinde enjekte edildi (4 adet rat). **6.grup:** Gentamisin + E vitamini grubu : 100mg/kg/gün i.p. gentamisine ilaveten aynı dozda E vitamini, serum fizyolojik içinde 12 gün i.p. enjekte edildi (5 adet rat). **7.grup:** Meyan Tedavi grubu : Önce 12 gün gentamisin 100mg/kg/gün dozunda verildi daha sonra meyan kökü ekstraktı ardışık 13 günde oral olarak verildi (5 adet rat).

2.2.3. Böbrek dokusu ve kan örneklerinin hazırlanması

Ratlar anestezi altında feda edildi. İntrakardiak enjeksiyonla (heparinli enjektör kullanılarak) bütün kanları alındı. Ratların sağ ve sol böbrekleri çıkarılarak yarısı histolojik incelemeler yarısı da biyokimyasal analizler için ayrıldı.

Biyokimyasal analizler için ayrılan böbrek dokusu ultrasonik homojenizatör (Bendalin®) ile homojenize edildi.

2.2.4. Oksidanların ölçülmesi

Plazmada ve dokuda total peroksidasyon miktarı Ferroz iyonun ferik iyonla oksidasyonu ve oluşan ferik iyonun Xyleol Orange boyası ile renk oluşturmaya dayanan metot ile ölçüldü (19).

Doku lipit peroksidasyonu (LPO) Uchiyama ve Mihara'nın Thiobarbituric asit (TBA) reaktivitesine dayanan metodu ile ölçülmüştür. LPO seviyesi, LPO derecesi için bir indeks olarak kabul edilen MDA'nın oluşumuna göre değerlendirilmiştir. Malon dialdehit (MDA), yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünüdür, TBA ile reaksiyona girerek 532 nm'deki maksimum absorbanı veren renkli bir kompleksi oluşturur (92).

Kısaca 0.5 ml doku örneğine 3 ml fosforik asit ve 1 ml % 0.67'lik TBA solusyonu ilave edildi. Karışım 1 saat kaynar suda ısıtıldı ve sonra soğutulup 4 ml 1-bütanol ilave edilerek ve iyice karıştırıldı. Santrifüj edildikten sonra bütanol fazı uzaklaştırıldı ve 532 nm'deki absorbanı ölçümü kullanılarak MDA konsantrasyonu hesaplandı (92).

Doku homojenatlarındaki MDA konsantrasyonu Lawry metodu ile ölçülen protein konsantrasyonu ile normalize edildi.

Plazma LPO seviyesi Satoh'un TBA reaktivitesine dayanan metodu kullanılarak ölçüldü. TBA ile reaksiyona giren MDA'nın oluşturduğu renkli kompleks 532 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Serum LPO seviyesi nanomol/ml olarak belirtilmektedir (93).

2.2.5. Antioksidanların ölçülmesi

Total antioksidan kapasite plazma ve doku homojenatında EreI-TAS (19) (Total Antioxidant Status) ve Randox® -TAC (Total Antioksidan Kapasite) kitleri kullanılarak biyokimya otoanalizöründe (Aeroset®, Abbott) ölçüldü.

Dokuda GSH seviyesi Beutler'in, 5,5' - ditiyobis- 2- nitrobenzoik asit ile oluşturduğu kararlı sarı renkli bileşik gelişmesine dayanan metoduna göre ölçüldü. İndirgen kromojenlerin absorbansı 412 nm'de ölçüldü ve bu absorbans direk olarak GSH konsantrasyonuyla orantılı olmaktadır (92).

Doku homojenatları 15.000g'de, 5000 devirde 60 dk. Santrifüj edilmiştir. Berrak kısım enzim analizleri için kullanıldı. Enzimlerin aktiviteleri Umg^{-1} protein olarak hesaplandı.

Plazma GSH seviyesi Beutler'in, 5,5' - ditiyobis - 2 - nitrobenzoik asit ile oluşturduğu kararlı sarı renkli bileşik gelişmesine dayanan metoduna göre ölçüldü. İndirgen kromojenlerin absorbansı 412 nm'de ölçüldü ve bu absorbans direk olarak GSH konsantrasyonuyla orantılı olmaktadır (92).

2.2.6. Böbrek hasarı parametrelerinin ölçülmesi

Böbrek hasarını gösteren testlerden üre, ürik asit ve kreatin seviyeleri Abbott firmasının Aeroset® System üre, ürik asit ve kreatinin ticari kitleri kullanılarak biyokimya otoanalizöründe (Aeroset®, Abbott) tayin edildi.

2.2.7. Histopatolojik değişimlerin tayini

Histopatolojik değişimler için sağ ve sol böbreklerin yarısı alındı ve ışık mikroskopunda incelenmek üzere % 10'luk formaldehit içinde fikse edildikten sonra parafinde donduruldu. Kesitler 7 µm kalınlığında kesildi ve hematoksilin - eozin boyası ile boyandı. Böbrek dokusunun ışık mikroskopisi analizleri Haughton ve arkadaşlarının tekniği ile çalışıldı (25). Değişimler aşağıdaki gibi derecelendirilmiştir.

0. derece : Normal
1. derece : Küçük odaklar tarzında granülovakuoler epitelyal hücre dejenerasyonu.
2. derece : Korteksin yarısından az aşikar tübüler epitelyal nekroz ve deskuamasyon.
3. derece : Proksimal tübüllerin yarısından fazlasında nekroz ve deskuamasyon olmasıyla beraber sağlam tübül kolayca bulunur.
4. derece : Hemen hemen proksimal tübüllerin tamamında nekroz.

2.2.8. İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler tesadüf parseller analiz yöntemine göre varyans analizine tabi tutulmuş ve farklılıklar Duncan testine göre gruplandırılmıştır. Analizlerde SPSS 11.0 paket programı kullanılmıştır. $P < 0.05$ olması anlamlı olarak değerlendirildi.



3. BULGULAR

Çalışmamızda 7 gruba ayrılan 35 adet wistar-albino rattan alınan kan ve doku örneklerinde oksidan ve antioksidanların seviyeleri tespit edildi. Elde edilen sonuçlar kontrol grubuyla karşılaştırıldı.

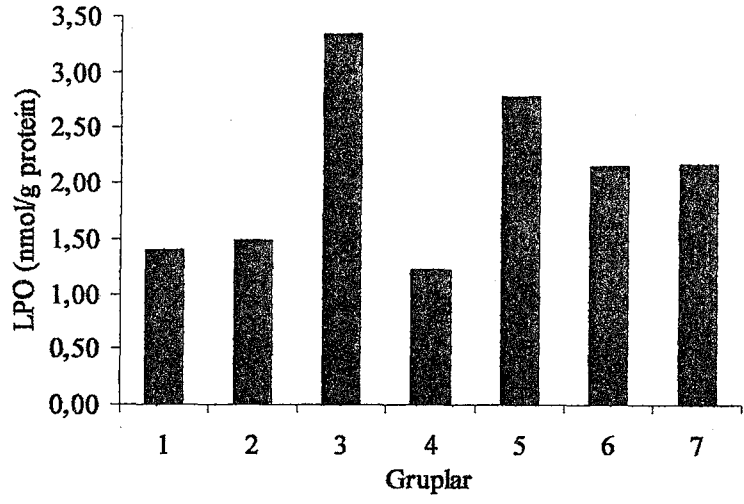
Tablo 4’de böbrek dokusundaki oksidan ve antioksidanların seviyeleri gösterilmektedir. Sırasıyla Grafik 1, 2, 3 ve 4’te; LPO, GSH, TPO ve TAK seviyeleri gösterilmektedir. Tablo 5’te plazmadaki oksidan ve antioksidanların seviyeleri verilmektedir. Sırasıyla Grafik 5, 6, 7, ve 8’de; LPO, GSH, TPO ve TAK seviyeleri gösterilmektedir. Ayrıca böbrek hasarını gösteren biyokimyasal parametrelerden üre, kreatinin ve ürik asit seviyeleri sırasıyla grafik 9, 10 ve 11’de gösterilmektedir.

Tablo 4: Böbrek dokusunda ölçülen LPO, GSH, TPO ve TAK seviyeleri.

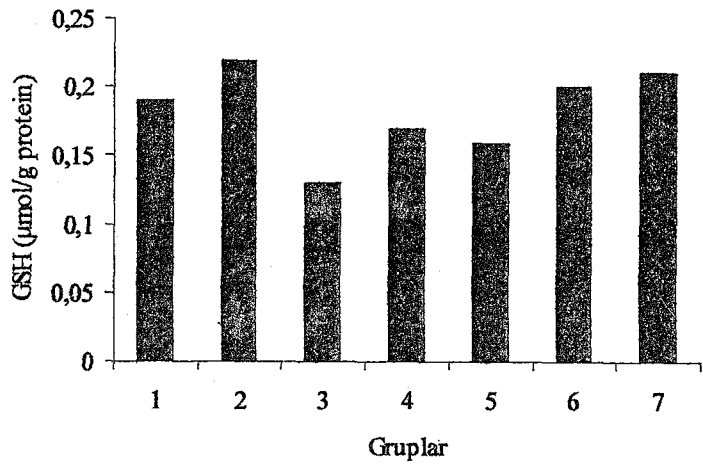
Değişkenler	1.grup	2.grup	3.grup	4.grup	5.grup	6.grup	7.grup
LPO (nmol/g protein)*	1.40±0.35 ^{cd}	1.47±0.39 ^{cd}	3.33±0.44 ^a	1.22±0.15 ^d	2.78±0.13 ^{ab}	2.15±0.71 ^{bc}	2.16±0.50 ^{bc}
GSH (µmol/gprotein)*	0.19 ±0.75 ^{ab}	0.22±0.12 ^a	0.13±0.10 ^c	0.17±0.37 ^{bc}	0.16±0.23 ^{bc}	0.20±0.30 ^{ab}	0.21±0.65 ^a
TPO (mmol/g protein)*	0.07±0.03 ^c	0.06±0.04 ^c	0.39±0.11 ^a	0.21±0.00 ^b	0.11±0.01 ^c	0.07±0.02 ^c	0.07±0.03 ^c
TAK (mmol trolox equivalen/gprotein)**	0.37±0.04 ^a	0.39±0.04 ^a	0.16±0.02 ^b	0.40±0.07 ^a	0.33±0.07 ^{ab}	0.28±0.07 ^{ab}	0.36±0.07 ^a

* Aynı satırda değişik harflerle gösterilen değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.005).

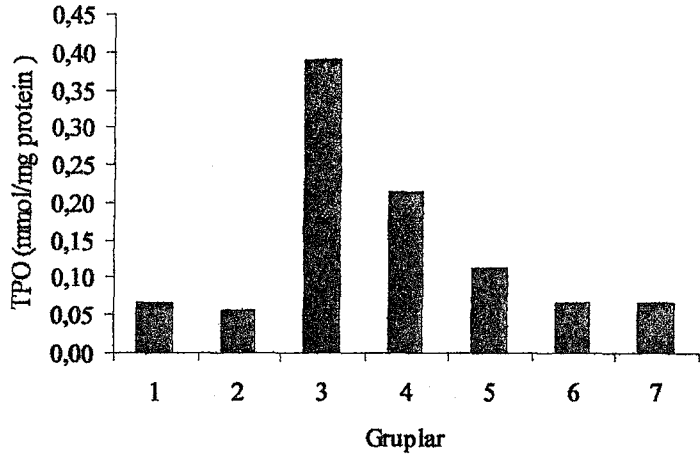
** Aynı satırda değişik harflerle gösterilen değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.0001).



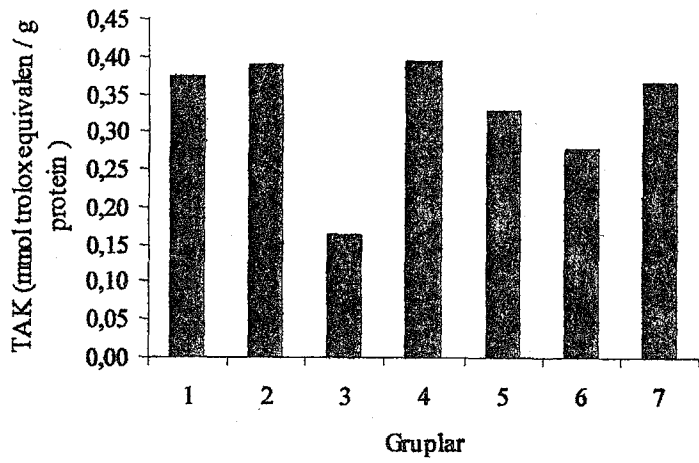
Grafik 1: Doku lipit peroksidasyonu seviyesi



Grafik 2: Doku glutasyon seviyesi



Grafik 3: Doku total peroksidasyon seviyesi



Grafik 4: Doku total antioksidan kapasite seviyesi

Tablo 5: Plazmada ölçülen LPO, GSH, TPO, TAK, üre, kreatinin'in ve ürik asit seviyeleri.

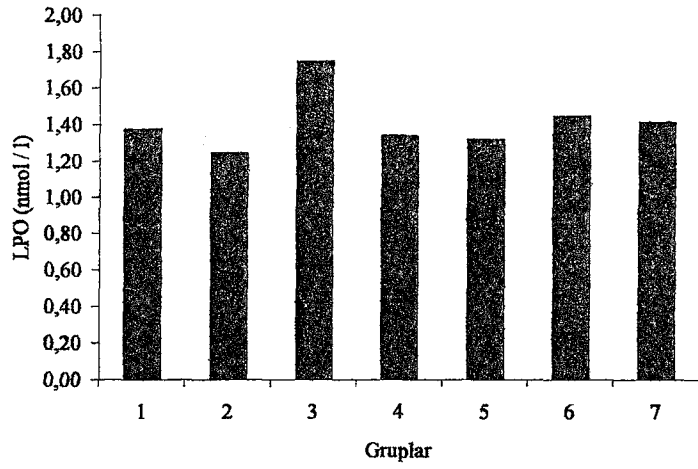
Değişkenler	1.grup	2.grup	3.grup	4.grup	5.grup	6.grup	7.grup
LPO (nmol / l)**	1.37±0.10 ^b	1.24±0.03 ^b	1.74±0.23 ^a	1.34±0.16 ^b	1.31±0.07 ^b	1.44±0.08 ^b	1.41±0.19 ^b
GSH (µmol / l)***	0.18±0.38 ^b	0.22±0.31 ^b	0.12±0.50 ^b	0.28±0.12 ^{ab}	0.23±0.90 ^b	0.19±0.37 ^b	0.43±0.19 ^a
TPO (mmolH ₂ O ₂ /l) ****	0.10±0.00 ^b	0.10±0.00 ^b	0.32±0.04 ^a	0.20±0.00 ^{ab}	0.18±0.05 ^b	0.20±0.07 ^{ab}	0.12±0.04 ^b
TAK (mmol trolox equivalen/l)*	0.39±0.11 ^b	0.56±0.18 ^{ab}	0.13±0.13 ^c	0.53±0.22 ^{ab}	0.58±0.24 ^{ab}	0.51±0.17 ^{ab}	0.77±0.25 ^a
Üre (mg/l)***	318.0±172.0 ^b	338.0±102.3 ^b	2938.0±733 ^a	452.0±69.1 ^b	925.0±418.8 ^b	380.0±39.4 ^b	402.0±72.2 ^b
Kreatinin (mg/l)***	6.4±0.5 ^b	7.0±0.7 ^b	52.8±23.6 ^a	9.2±1.8 ^b	13.3±7.9 ^b	8.4±1.5 ^b	6.6±0.5 ^b
Ürik asit (mg/l)***	14.4±3.6 ^b	24.0±6.0 ^b	151.8±24.9 ^b	38.0±32.8 ^b	27.0±17.3 ^b	31.4±24.6 ^b	53.4±25.0 ^b

* Aynı satırda değişik harflerle gösterilen değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.01).

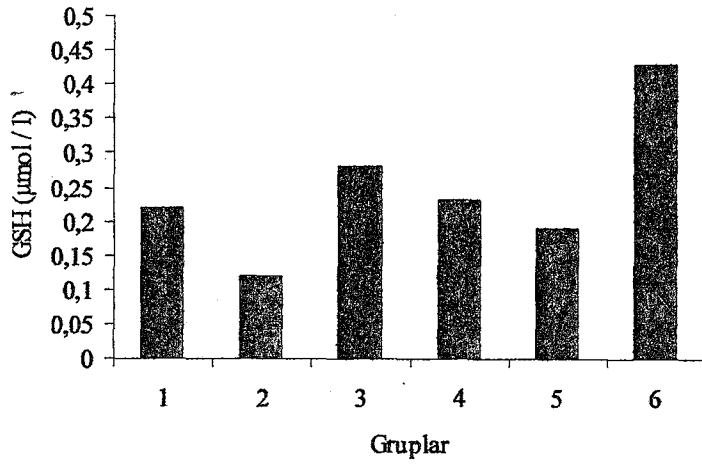
** Aynı satırda değişik harflerle gösterilen değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.005).

*** Aynı satırda değişik harflerle gösterilen değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.001).

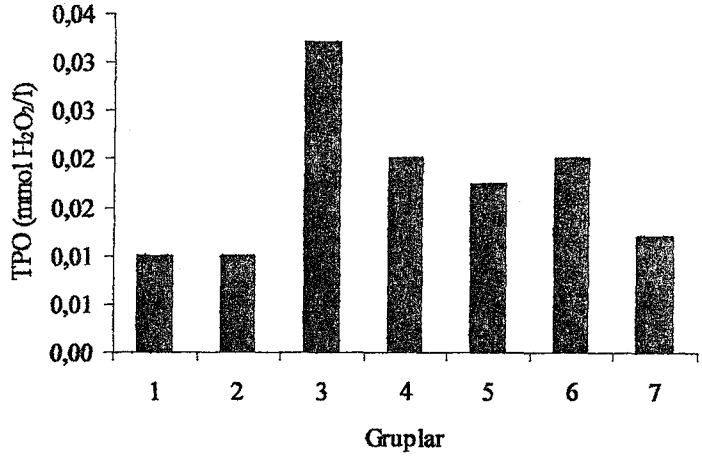
**** Aynı satırda değişik harflerle gösterilen değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.0001).



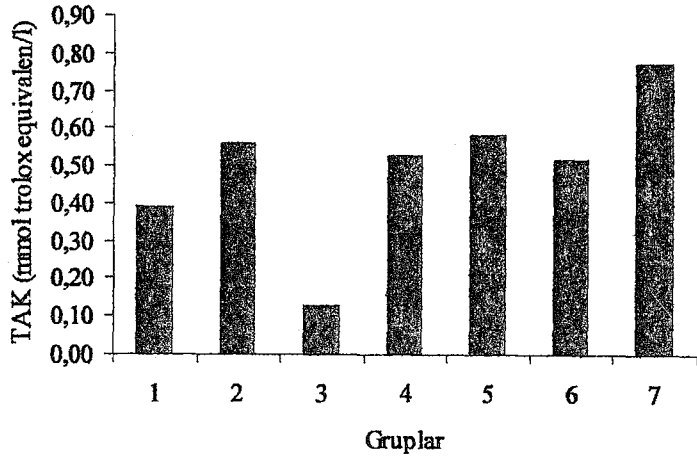
Grafik 5: Plazma lipit peroksidasyon seviyesi



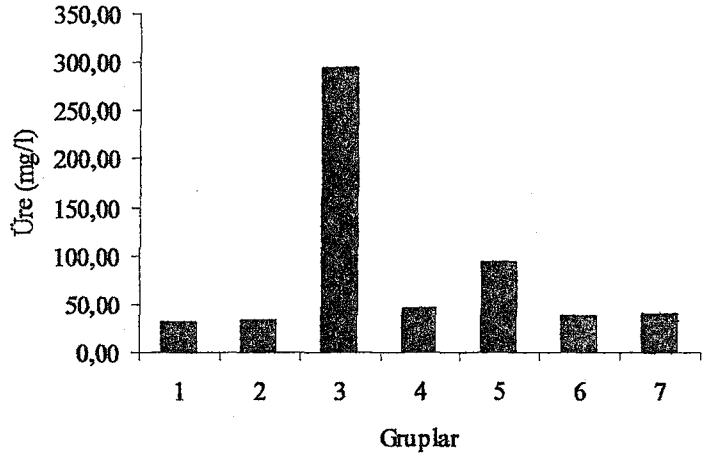
Grafik 6: Plazma glutasyon seviyesi



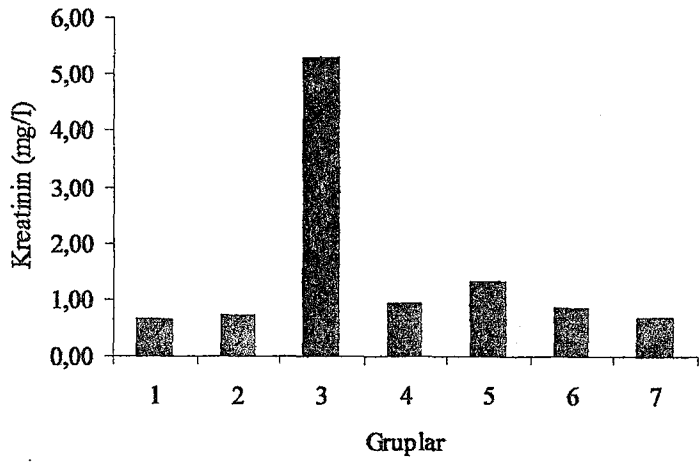
Grafik 7: Plazma total peroksidasyon seviyesi



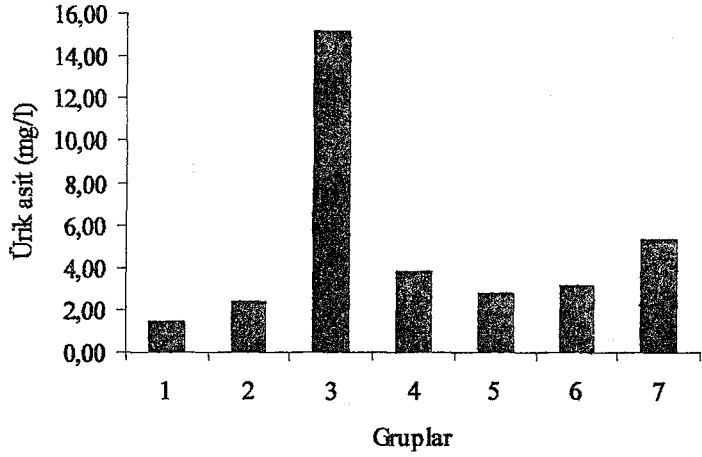
Grafik 8: Plazma total antioksidan kapasite seviyesi



Grafik 9: Plazma üre seviyesi

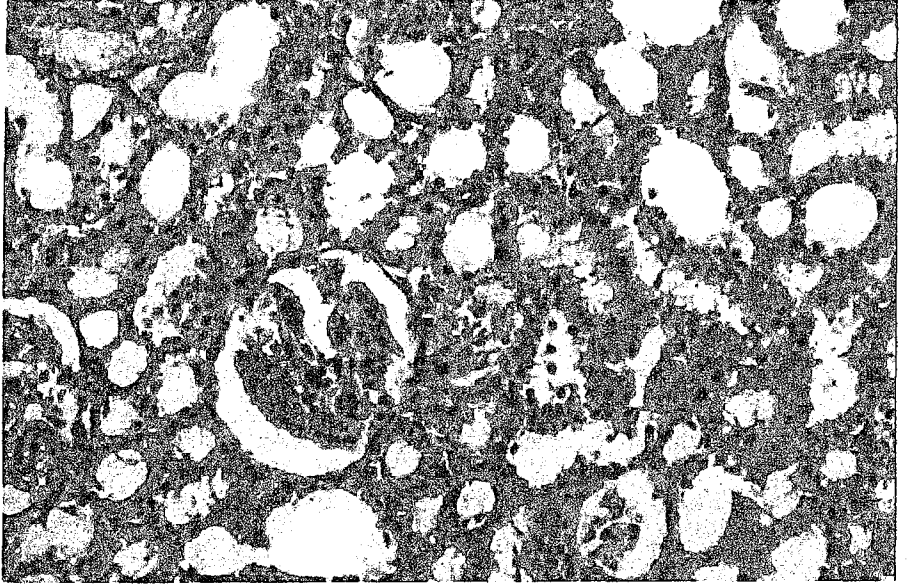


Grafik 10: Plazma kreatinin seviyesi

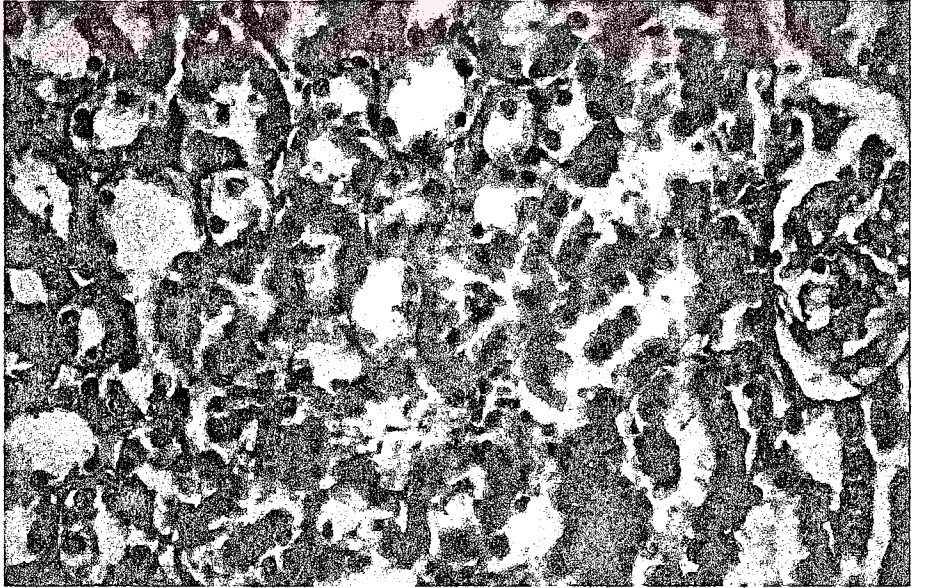


Grafik 11: Plazma ürik asit seviyesi

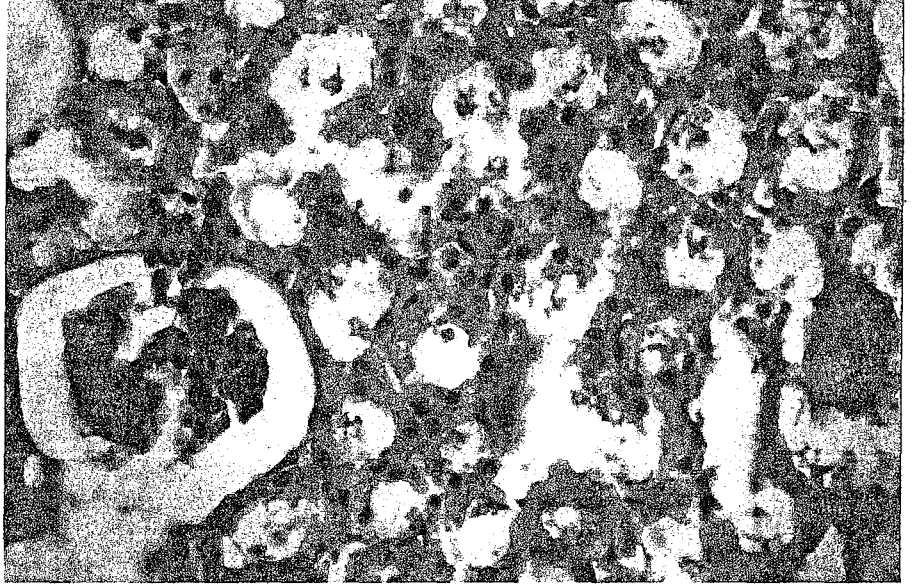
Gentamisin verilen gruplarda histopatolojik olarak yapılan incelemeler sonucunda böbrek dokusunda nekrozun geliştiği gözlemlendi. Böbrek dokusunda meydana gelen nekroz yukarıda da bahsedildiği gibi derecelendirildi. 1.grupta (kontrol grubu) nekrotik doku oluşumu gözlemlenmedi (0.derece, Resim 4). 2. grupta (sadece meyan kökü verildi) kontrol grubuyla aynı derecede nekrotik doku oluşumu gözlemlendi. (0.derece, Resim 4). 3. grupta (sadece gentamisin verildi) 3. ve 4.derecede nekrotik doku oluşumu gözlemlendi (Resim 7 ve 8). 4.grupta (gentamisin ve meyan kökü verildi) 2.derecede nekrotik doku oluşumu gözlemlendi (Resim 6). 5.grupta (gentamisin ve C vitamini verildi) 2.derecede nekrotik doku oluşumu gözlemlendi (Resim 6). 6. grupta (gentamisin ve E vitamini verildi) 1.derecede nekrotik doku oluşumu gözlemlendi (Resim 5). 7.grupta (meyan kökü ile tedavi edildi) kontrol grubuyla aynı derecede nekrotik doku oluşumu gözlemlendi (0.derece, Resim 4).



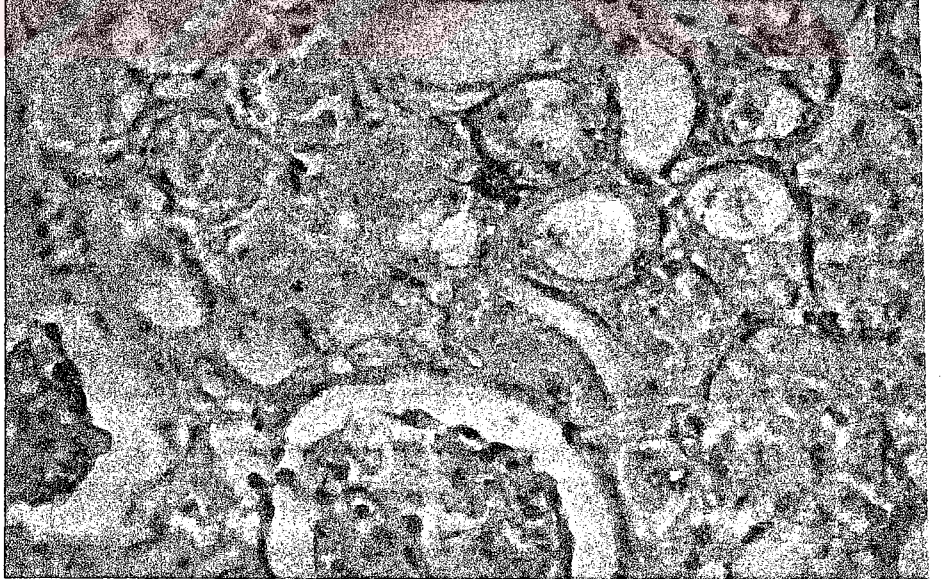
Resim 4: 1. grup, 2.grup ve 7.grupta gözlenen 0.derecede nekrotik böbrek dokusu (HE x 200)



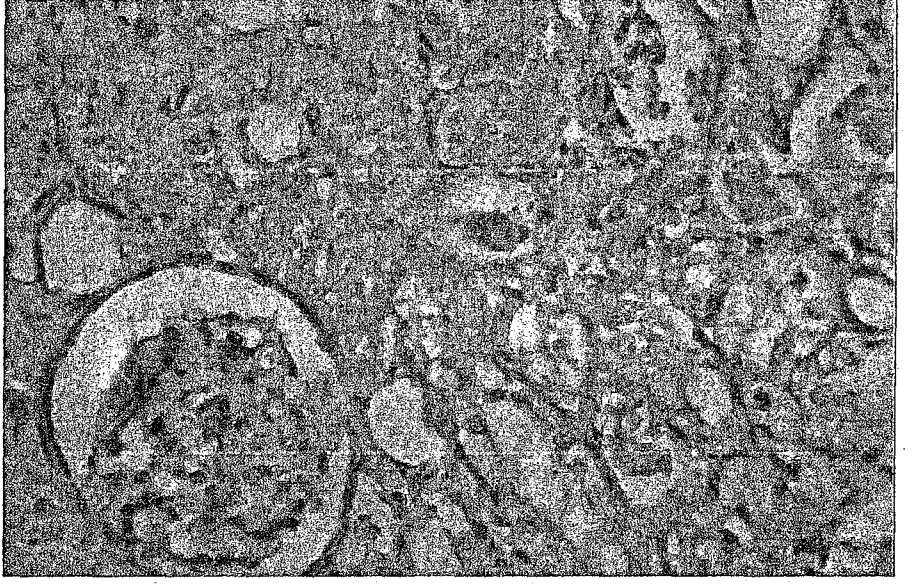
Resim 5: 6. grupta gözlenen 1.derecede nekrotik böbrek dokusu (HE x 200)



Resim 6: 4. grup ve 5.grupta gözlenen 2.derecede nekrotik böbrek dokusu (HE x 200)



Resim 7: 3.grupta gözlenen 3.derecede nekrotik böbrek dokusu (HE x 200)



Resim 8: 3. grupta gözlenen 4.derecede nekrotik böbrek dokusu (HE x 200)

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Doku ve hücrelerimizde çeşitli etkilerle oluşan oksidanlar ve bunlara karşı organizmanın savunma sistemi olan antioksidanlar arasındaki dengenin sürdürülmesi bu doku ve hücrelerimizin bütünlüğünü koruması için gereklidir. Oksidanların harap etme potansiyeline karşı vücudumuzun antioksidan kapasitesinin artırılması bu bütünlüğün korunmasında büyük önem taşır. Bu amaçla günümüzde çeşitli antioksidan vitaminler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu vitaminler direk olarak alınabildiği gibi çeşitli meyve ve sebzeler ile dolaylı olarak da sağlanabilmektedir. Vitamin çeşidi bakımından zengin olduğu bilinen ve yöremizde yaygın olarak tüketilen meyan kökü şerbeti, halk arasında özellikle böbrek hastalıklarında kullanılmaktadır. Halk arasında oldukça iddialı olarak savunulan bu hipotezden yola çıkarak, nefrotoksik etkileri güçlü olan aminoglikozitlerden gentamisini kullanıp böbrek hasarı oluşturduğumuz ratlarda meyan kökü şurubunun hem koruyucu hem de tedavi edici etkilerini araştırdık. Çalışmamızda ayrıca, bilinen en güçlü antioksidan vitaminler olan C ve E vitaminlerini de kullanarak meyan kökünün etkisi ile mukayese ettik.

Çeşitli klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, serbest radikallerin lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile çeşitli hasarlara neden olduğunu göstermiştir (91). Aerobik organizmalarda çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan biyolojik reaksiyonlarla meydana getirilen oksijen serbest radikalleri, lipid, protein, karbonhidrat ve DNA gibi çeşitli makromoleküllerle reaksiyona girer. Deneysel çalışmamızda kullandığımız gentamisinin serbest radikal ürettiği ve LPO'yu arttırdığı bildirilmiştir (90). LPO, serbest radikaller tarafından uyarılan membranlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunda rol oynayan bir zincir reaksiyonudur ve oksidatif hücre hasarının bir indikatörüdür.

Çeşitli antibiyotikler (aminoglikozidler gibi), organik çözücüler, zehirler, kemoterapötikler, radyokontrast ajanlar ve bakteriyel toksinler gibi eksojen ajanların insan vücudunun oksidan – antioksidan dengesini bozduğu bildirilmiştir.

Eksojen faktörler arasında neomycin, paramomycin kanamycin, tobramycin, amikasin ve dibekacin gibi toksik etkili ilaçların da bulunduğu bildirilmiştir (89). Toksik ilaçların oksidan – antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozduğu ve bunun sonucunda çeşitli hastalıklara yol açtığı bildirilmiştir. Doğal olarak alınan, birbirine benzer ve bir arada bulunan antioksidanlar ilaç gibi alınan saf ve bir tip antioksidanlardan daha değerlidir (71).

Son yıllarda gıdaların fizyolojik fonksiyonları bilim adamlarının daha fazla dikkatini çekmiş ve bunların insan sağlığına etkileri pek çok araştırmada *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle incelenmiştir. Bu fizyolojik etkilerin en önemlilerinden biri gıdaların antioksidatif etkileridir (78). Gıdalar bu etkilerinin bir sonucu olarak canlı organizmaları oksidatif hasarların neden olabileceği çeşitli hastalıklara karşı korumaktadır (77). Çalışmamızda nefrotoksik gentamisin vererek oluşturduğumuz oksidatif hasara karşı kullandığımız meyan kökü bitkisinin oksidan – antioksidan dengesi antioksidanlar lehine oldukça güçlü bir şekilde düzelttiğini tespit ettik.

Oksidan – antioksidan sistemin bozulmasının kanser, kardiyovasküler hastalıklar, göz hastalıkları, akciğer, karaciğer, böbrek ve çeşitli kas hastalıklarına yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca serbest radikaller AIDS, merkezi sinir sistemi hastalıkları, motor nöron hastalıkları, parkinson hastalığı, katarakt, romatizma ve bağırsak enflamatuvar hastalıkları gibi çeşitli hastalıklara neden olmaktadır (18).

Meyan kökü bitkisi halk arasında “böbrek ilacı” olarak; idrar arttırıcı, böbrek taşı düşürücü ve diğer böbrek hastalıklarına karşı özellikle şerbet olarak bolca tüketilmektedir (1). Biz bu çalışmamızda meyan kökünün böbrekteki oksidan – antioksidan dengesi antioksidanlar lehine değiştirdiğini tespit ederek halk arasındaki bu yaygın inancı bilimsel olarak doğruladık. Çeşitli nefrotoksik ajanlar böbrek dokusunda oksidan – antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozarak akut tübüler nekroz oluşturmaktadır. Çalışmamızda nefrotoksik ajan olarak kullandığımız gentamisinde böbrek dokusunda akut tübüler nekroz oluşturmuştur. Çalışmamızda ratlarda oluşturduğumuz bu böbrek hasarını, gerek

üre, ürik asit ve kreatinin gibi biyokimyasal testlerle gerekse histopatolojik incelemelerle ortaya koyduk.

Akut tübüler nekroz genellikle günlük veya haftalık periyotlarda böbrekte ani fonksiyon kaybına neden olarak akut böbrek yetmezliğine yol açmaktadır. Akut tübüler nekrozun iskemik ve nefrotoksik olmak üzere iki türü vardır (88). Akut tübüler nekroz koruyucu tıpta önemli bir problemdir. Potansiyel olarak nefrotoksik ilaçlar, steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar, radiokontrast ajanlar, antimikrobiyal ve anestezi ajanları içermektedir. Tübüler hasar sıkça akut renal vasokonstraksiyonun bir kombinasyonundan veya doğrudan toksinin intra sellüler birikiminden dolayı oluşan hücresel toksisite ya da intersitisiyal nefritlerin doğrudan immunolojik aracılığı halinde toksinler tarafından başlatılır (87).

Meyan kökünün temel bileşenlerinden olan glycyrrhizin'in anti-inflamatuar ve anti-allerjik etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca izoflavanların LDL oksidasyonunu önlediği bildirilmektedir. Glabridin'in in vitro olarak insanlarda LDL oksidasyonunu önlediği ve lipit peroksidasyon düzeyini düşürdüğü saptanmıştır (81). Meyan kökünün antiülser, ekspektoran, diüretik, laksatif, sedatif (79,86), antipiretik, antimikrobiyal ve anksiyolitik (85) olduğu bildirilmektedir. Meyan kökünün temel bileşenlerinden olan glycyrrhizin'in antiviral (84), anti-enflamatuar (83) ve antioksidan etki (82) gösterdiği bildirilmiştir. Belinky ve arkadaşları tarafından ratlar üzerine yapılan çalışmada glabridinin ve izoflavanların serbest radikal temizleyicileri olarak etki gösterdikleri bildirilmiştir (81). Yaptığımız çalışmada meyan kökünün böbrekler üzerinde koruyucu etkisinin yanında büyük oranda tedavi edici özelliğe de sahip olduğunu gösterdik. Koruyucu ve tedavi edici olma kapasitesi antioksidan olma potansiyelinden kaynaklanmaktadır. Çünkü oldukça güçlü bir antioksidan kapasiteye (hatta C vitamini ve E vitamini'nden daha güçlü) sahip olduğunu tespit ettik (76).

Çalışmamızda, gentamisin ve meyan kökünün birlikte verildiği gruptaki oksidan – antioksidan dengenin kontrol grubuyla bezerlik gösterirken, yalnızca gentamisin verilen grupta denge oksidanlar lehine bozulmaktadır. Gentamisin verilerek böbreklerinde hasar oluşturulan ratlara meyan kökü verilerek tedavi edilmesi sonucu oksidan – antioksidan dengenin tekrar sağlandığını yaptığımız ölçümlerde saptadık. Yalnız meyan kökü verdiğimiz grupta ise antioksidanların kontrol grubu ve gentamisin grubuna göre yüksek olması meyan kökünün antioksidan kapasiteyi arttırdığını göstermiştir. Amarowicz ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmalarda meyan kökünün serbest radikalleri temizlediğini ve antioksidan kapasiteyi arttırdığını saptamışlardır (80).

Çalışmamızda meyan kökünün antioksidan etkisini, antioksidan etkileri daha önce bilinen C vitamini ve E vitamini ile mukayese etmek için gentamisin + meyan grubunda olduğu gibi, gentamisin + C vitamini ve gentamisin + E vitamini gruplarını oluşturduk. C vitamini güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Süperoksid ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Tokoferoksil radikalının, α -tokoferole redüklenmesini sağlar. Çalışmamızda meyan kökünün antioksidan aktivitesinin, C vitaminin antioksidan aktivitesine göre daha yüksek bulunmuştur. E vitamin'in biyolojik olarak en aktif formu α -tokoferoldür. α -tokoferol, lipoproteinler ve biyolojik membranlar içinde bulunan yağda çözünen bir bileşiktir (73). E vitamini ayrıca zincir-kırıcı bir antioksidandır. En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır (74,75). Yapılan bazı çalışmalarda gıdalara E vitaminin katılması çeşitli hastalıkların riskini antioksidan kapasitesinden dolayı azalttığı bulunmuştur. Çalışmamızda meyan kökü ekstraktının antioksidan aktivitesinin, E vitaminin antioksidan aktivitesine göre de daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak; halk arasında Şanlıurfa ve diğer bazı Güneydoğu illerimizde özellikle böbrek hastalıklarına karşı iyileştirici olarak bolca içilen ve/veya tavsiye edilen bu bitki doğal olarak yetişmektedir. Yöremizde pek çok çiftçinin geçimine katkıda bulunan bu bitkinin hayvanlar üzerinde yapılan bu

Çalışma oldukça güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu yönünde önemli bulgular sağlanmış ve bu etkisiyle böbrek üzerinde oksidan hasarlanmaya karşı hem koruyucu hem de iyileştirici özelliğinin bulunduğunu göstermiştir. Bu tez çalışması meyan kökünün yararlılığını ortaya koymuş ve dolayısıyla şanlıurfa yöresi ve Güneydoğu Anadolu blėesinde üretimi ve tüketimi lokal olan meyan kökünün bu özelliğini bilim dünyasına duyurularak tanıtımını sağlayacaktır. Böylelikle hem tüketimini yaygın hale getirerek halk sağlığına, hem de gerek yöresel ekonomi gerekse ülke ekonomisine katkıda bulunulması beklenmektedir.



5. KAYNAKLAR

1 - Baytop T. Türkiye'de Tıbbi Bitkiler İle Tedavi. sayfa : 124-125, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul -1999.

2 - Metin T., Nevin T., Farmakognozi sayfa : 240-244, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara – 1991.

3 - Hiroyuki H. Protection of Mitochondrial Functions against Oxidative Stresses by Isoflavan from Glycyrrhiza glabra. J. Pharm.Pharmacol 2000;52:219-223.

4 - www.rreading.com/docbooks.html 03.04.2004

5 - Yoshida T., Mori K., Hatano T., Okumura T., Uehara I., Komagoe K., Fujita Y., and Okuda T., Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 1989, 37 1919–1921.

6 - Ju H.S., Effects of Glycyrrhiza Flavonoids on Lipid Peroxidation and Active Oxygen Radicals. Acta Pharmaceutica Sinica 1989; 24:11, 807-812.

7 - www.naturalhealingstore.com/item110.htm. 03.04.2004

8 - Barton D.H.R., Zard S.Z., Radicals: Their importance in synthetic chemistry and their relevance to biology. Phil Trans R Soc Lond. 1998, 85: 311-315.

9 - Mearson F.Z., Kagon V.E., Kozlov Y.P., Belkina L.M., Arkkhipenko Y.V., The role of Lipid peroxidation in pathogenesis of Ischemic Damage and Antioxidant Protection of the Heart. Basic Res Cardiol 1982; 77:465-485.

10 - Borek C., Radiation and chemically induced transformation: Free radicals, antioksidants and cancer. Br. J. Cancer 1987;55:74-86.

11 - Petkau A., Role of superoxide dismutase in modification of radiation injury. Br J Cancer 1987;55:87-95.

12 - Adams G.E., Radiation and cancer. A two edge sword. Br. J. Cancer 1987;55:11-18.

13 - Cohen G.M., d'Arey Doherty M., Free radical mediated cell toxicity by redox cycling chemicals. Br. J. Cancer 1987;55:46-52.

- 14 - Angel M., Free radicals: Basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology and relevance to plastic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 1987; 79:990-997.
- 15 - Bulkley G.B., Free Radical-mediated Reperfusion Injury: A Selective Review. 1987;55:66-73.
- 16 - Galat JA., Postischemia Renal Dysfunction: The limited Role of Xanthine Oxidase Generated Oxygen Free Radicals. *J. Surg. Res.* 1990; 49:88-92.
- 17 - Yalçın A.S., Antioksidanlar. *Klinik Gelişim II* 1998 ;342-346.
- 18 - Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri sayfa :60-120 MIMOZA yayınları, Konya - 1995.
- 19 - Harun M., Hasan M., Erel O., Increased oxidative stress in patients with typhoid fever: role of reactive oxygen species. *Swiss Med Wkly* 2003; 133: 563-566
- 20 - Baytop T., Yenerman M., Genel Patoloji Sayfa :350-352. Ankara-1983.
- 21 - Yurdakök M., Coşkun T., (Ed.). *Pediyatri Güneş Kitabevi* , Ankara - 1995.
- 22 - Kayaalp S.O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Cilt:1; 4.baskı sayfa : 159 Toraman ve Ulucan matbaası, Ankara -1987.
- 23 - Esen A. Ö. D., Farmakoloji; sayfa : 240 İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul -1990.
- 24 - Dökmeci İ. Toksikoloji , sayfa : 351 Nobel Tıp Kitapları, İstanbul -1994.
- 25 - Erdem A., Gündoğan N. Ü., Usubütün A., Küçükali T., and Kılın K., The antioxidant action of N-Acetylcysteine on gentamicin-induced acute tubular necrosis in rat. *Gazi Medical J.* 1999;10:21-28.
- 26 - Fukai T., Marumo A., Kaitou K., Kanda T., Terada S., and Nomura T., Anti-helicobacter pylori flavonoids from *G. glabra* extract ; *Life Sci* 2002 9;71,12: 1449-1463.
- 27 - Williamson E.M., Synergy and other interactions in phytochemicals. *Phytochemistry* 2001 8;5:401-409.

28 - Khayya M.T., el-Ghazaly M.A., and Kenawy S.A., Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. *Arzneimittelforschung* 2001;51,7:545-553.

29 - Belinky P.A., Aviram M., and Fuhrman B., The antioxidative effect of the isoflavan glabridin on endogenous constituents of LDL during its oxidation. *Atherosclerosis* 1998 137(1):49-61.

30 - Li W., Asada Y., and Yoshikawa T., Flavonoid constituents from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. *Phytochemistry* 2000 55(5):447-456.

31 - Hayashi H., Hosono N., and Kondo M., Phylogenetic relationship of six *Glycyrrhiza* species based on rbcL sequences and chemical constituents. *Biol. Pharm. Bull.* 2000 23(5):602-606.

32 - Raggi M.A., Bugamelli F., and Nobile N., The choleric effects of meyan kökü: Identification and determination of the pharmacologically active components of *Glycyrrhiza glabra*; *Bol. Chim. Farm.* 1995 134(11):634-638.

33 - Kitagawa I., Chen W.Z., and Hori K.; Chemical studies of Chinese meyan kökü-roots. I. Elucidation of five new flavonoid constituents from the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. collected in Xinjiang; *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 1994 42(5):1056-1062.

34 - Homma M., Oka K., Niitsuma T., and Itoh H., A novel 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor contained in saiboku-to, a herbal remedy for steroid-dependent bronchial asthma. *J. pharm Pharmacol* 1994; 46 (4):304-309.

35 - Elgamal M.H., Hady F.K., and Hanna A.G., A further contribution to the triterpenoid constituents of *Glycyrrhiza glabra* L.; *Z Naturforsch [C]* 1990 45:(9-10) :937-941.

36 - Pieter M., Constituents of local plants. XVIII. 28-hydroxyglycyrrhetic acid, a new triterpenoid isolated from the roots of *Glycyrrhiza glabra*. *Planta Med* 1975 27;2:159-163.

37 - www.duzen.com.tr/2001/files/antioksidan.htm. 05.11.2003

38 - Beil W., Birkholz C., and Sewing K.F., Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Arzneim Forsch* 1995;45:697-700.

39 - Amamoto K., Kakegawa H., and Ueda H., Gastric cytoprotective anti-ulcerogenic actions of hydroxychalcones in rats. *Planta Med* 1992;58:389-393.

40 - Marle J, Aarsen P.N., and Lind A., Deglycyrrhizinised liquorice (DGL) and the renewal of rat stomach epithelium. *Eur J Pharmacol* 1981;72:219-225.

41 - Johnson B., and McIsaac R., Effect of some anti-ulcer agents on mucosal blood flow. *Br. J. Pharmacol* 1981;1:308.

42 - Walker P.D., and Shah S.V., Gentamisin enhanced production of hydrogen peroxide by renal cortical mitochondria. *Am. J. Physiol* 1987;253:495-499.

43 - Walker P.D., and Shah S.V., Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamisin-induced acute renal failure in rats. *J. Clin. Invest* 1988;81:334-341.

44 - Ramsammy L.S., Ling K.Y., Josepovitz C., Levine R., Kaloyanides G.J., Effect of gentamisin on lipid peroxidation in rat renal cortex. *Biochem Pharmacol* 1985;34;21:3895-3900.

45 - Van Marle J., Aarsen P.N., Lind A., Deglycyrrhizinised liquorice (DGL) and the renewal of rat stomach epithelium. *Eur. J. Pharmacol* 1981;72:219-225.

46 - Hiroyuki H., Protection of Mitochondrial Functions against Oxidative Stresses by Isoflavan from *Glycyrrhiza glabra*; *J. Pharm.Pharmacol.*2000,52:219-223.

47 - Kuroyanagi T., Effect of Prednisone and Glycyrrhizin on Passive Transfer of Experimental Allergic Encephalomyelitis, *Allergy*, 1966,15: 67-75.

48 - Ohyashiki T., Ohtsuka T. and Mohri T., A change in the lipid fluidity of the porcine intestinal brush-border membranes by lipid peroxidation. Studies using pyrene and fluorescent stearic acid derivatives. *Biochimica et Biophysica Acta* 1986, 861: 311-318.

49 - Esterbauer H. and Cheeseman K.H., Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology* 1990, 186 407-421.

50 - Pietta P., Simonetti P and Mauri P., Antioxidant activity of selected medicinal plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, 46: 4487-4490.

51 - Kakkar R., Karla J., Mantha S.V. and Prasad K., Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1995, 151: 113-119.

52 - Halliwell B., Zhao K. and Whiteman M., The gastrointestinal tract: A major site of antioxidant action?. *Free Radical Research* 2000, 33 :819–830.

53 - Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J. A., and Deemer E. K., Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem.* 2002;50, 11; 3122-3128.

54 - Angel M.F.; *Free Radicals: Basic Concepts Concerning Their Chemistry, Patophysiology and Relevance to Plastic Surgery.* *Plast. Reconstr. Surg.* 1987;79:990-997.

55 - Parks D.A., Buikley G.B., Granger D.N., Hamilton S.R., İshemia Injury in The Cat Small Intestine: Role of Superoksid Radicals. *Gastroenterology* 1982; 82: 9-15.

56 - Williams A.T., Burk R.F., Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity: An Example of Free Radical- Mediated Injury. *Seminars in Liver Disease* 1990; 10: 279-284.

57 - Parks D.A., Granger D.N., İshemica-Reperfusion Injury: A Radcal Wiew. *Hepatology* 1988; 8: 680-682.

58 - Kaira J, Chaudhary A.K., Massey K.L., Prasad K. Effect of Oxygen Free Radicals, Hypoxia and pH on The Relase of Liver Lysosomal Enzymes. *Mol. Cel. Biochem* 1990; 94: 1-8.

59 - Erden M., Yüce K., Kiper H., Çolak Ö., Alataş Ö. Böbrek Transplantasyonunda Lipid Peroksid, Redukte Glutasyon ve Glutasyon Reduktaz Enzim Aktivitelerinin Araştırılması Doğa-Tr. *J. Med. Sci.* 1991; 15: 1-7.

60 - Reed D.J., Status of calcium and Thiols in Hepatocelular Injury by Oxidative Stress. *Seminars in Liver Disease* 1990, 10: 285-292.

61 - www.tsn.org.tr/egca/hek/giris. 15.03.2004

62 - Kaloyanides G.J. and Pastoriza-Munoz E., Aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int.* 1980, 18: 571–582.

63 - K. Inui, H. Saito and R. Hori, The use of kidney epithelial cell line (LLC-PK₁) to study aminoglycoside nephrotoxicity. *Dev. Toxicol. Environ. Sci.* 1986,14: 217–226.

64 - Tanker N., Koyuncu M., Coşkun M. Farmosötik Botanik, sayfa 269-270; Ankara Üniversitesi Eczacılık fakültesi yayınları, Ders kitapları No:78, Ankara -1998.

65 - Acartürk R. Şifalı Bitkiler Flora ve Sağlığımız sayfa 60, Ankara - 2001.

66 - Demirhan Erdemir A. Şifalı Bitkiler Doğal İlaçlarla Geleneksel Tedaviler. Sayfa: 306 - 313, Alfa yayıncılık İstanbul - 2001.

67 - Ralph J. F., Joan S. F., Organik Kimya, Çev. Uyar T. (v.d.) ,sayfa: 502 Güneş yayınları, Ankara - 1992.

68 - Uysal M. Serbest radikaller, lipit peroksidleri ve organizmada prooksidan – antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim II 1998 336 – 341.

69 - Erden M., Serbest radikaller., T klin Tıp Bilimleri 1992, 12 : 201-206.

70 - Köse K., Doğan P., Lipit peroksidasyonu., Erciyes Tıp Dergisi Ek – 1 1998: 340-350.

71 - Petkau A. Role of Superoxide Dismutase in Modification of Radiation Injury. Br. J. Cancer 1987; 55:87-95.

72 - Baykal Y., Gök F., ve Erikçi S., Demir, Serbest radikaller ve oksidatif hasar., Sendrom 2002 94-100.

73 - Muggli D. Physiological requirements of vitamin E as a function of the amount and type of polyunsaturated fatty acid. Fatty acids and lipids. 1994; 75: 166 – 168.

74 - Sies H., Stahl W, Sanguist A: Antioxidant functions of vitamins Annals. New York Academy of sciences 1994; 7- 20.

75 - Burton G, Traber M: Antioxidants action of carotenoids. J. Nutr. 1989;119:109-111.

76 - Velioglu S. Et al., Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. J. Agric. Fd. Chem., 1998, 46:4113-4117.

77 - Cook N.C. and Saman S., Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. Nutr. Biochem. 1989:66 – 76.

78 - Huangh M. T., et al., Phenolic compounds in food and their effects on health. II. Antioxidants and Cancer Prevention; ACS Symposium Series 507; American Chemical Society, Washington DC, 1992.

79 - <http://www.sciencedirect.com/science?03.04.2004>

80 - Amarowicz R., Pegg R. B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B. and Weil J. A., Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies., Food Chemistry 2004, 84: 551-562 .

81 - Paula A. Belinky., Aviram M., Fuhrman B., Rosenblat M., and Vaya J., The antioxidative effects of the isoflavan glabridin on endogenous constituents of LDL during its oxidation Atherosclerosis 1998, 137: 49-61.

82 - Ju H.S., Li X.J., Zhao B.L., Han Z.W. and Xin W.J., Effects of Glycyrrhiza flavonoid on lipid peroxidation and active oxygen radicals. Yao Xue Xue Bao 1989 24, 807-812.

83 - Yokota T., Nishio H., Kubota Y. and Mizoguchi M., The inhibitory effect of glabridin from liquorice extracts on melanogenesis and inflammation. Pigment Cell Research 1998,11, 355-361.

84 - Ceremelli C., Portolani M., Cotombari B., Castelli M., Baggio G., Galatulas I., Activity of glycyrrhizin and its diastereoisomers against two new human herpes virus: HHV-6 and HHV-7. Phytochemical Research 1996,10, 527-528.

85 - Ambawade S.D., Kasture V.S., and Kasture S.B., Anxiolytic activity of Glycyrrhiza glabra Linn. Journal of Natural Remedies 2001, 2, 130-134.

86 - Hikino H., Wagner H., Farnsworth N.R., Recent research on oriental medicinal plants. In: Economic and Medicinal Plant Research. Academic Press, London, 1985, 53.

87 - Pieter E., Prevention and Treatment of Acute Renal Failure, Acute toxic renal failure, Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology 2004, 18: 37-52.

88 - Annie S., Effect of Aerva lanata on cisplatin and gentamicin models of acute renal failure; Journal of Ethnopharmacology, 2004, 90: 81-8689 – www.omu.edu.tr/~hakan/ders/26amin2001

90 - José P.C., Diallyl disulfide ameliorates gentamicin -induced oxidative stress and nephropathy in rats, European Journal of Pharmacology 2003, 473:71-78.

91 - Sogabe K., Roeser N.F., Venkatachalam M.A. and Weinberg J.M., Differential cytoprotection by glycine against oxidant damage to proximal tubule cells. *Kidney Int* 1996;50: 845–854.

92 - Aksoy N., Vural H., Sabuncu T., and Aksoy S., Effects of melatonin on oxidative – antioxidative status of tissue in streptozotocin – induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* 2003; 21: 121- 125.

93 - Gürler B., Vural H., Yılmaz N., Satıcı A. and Aksoy N., The role of oxidative stress in diabetic retinopathy. *Clinical Study* 2000;14: 730 – 735.

94 – Doğan Y., Aksoy N., Bitiren M., Eraslan H., Meyan kökünün böbrekler üzerindeki iyileştirici etkisi. III. Lokman hekim tıp tarihi ve folklorik tıp günleri bildiri özetleri. Sayfa : 32 , Adana 2003



ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Şanlıurfa'da doğdum. İlk öğrenimimi Şanlıurfa'da orta öğrenimimi İskenderun'da yaptım. 1997 yılında Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım ve 2001 yılında mezun oldum. Aynı yıl Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Biyokimya anabilim dalında yüksek lisansa başladım.

