

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİL ALKOL ile OLUŞTURULAN KARACİĞER
TOKSİKASYONUNDA *Chlorella vulgaris*'in KARACİĞER,
AKCİĞER, BÖBREK, BEYİN ve KALP MAPK AKTİVASYONU ile
LİPİD PEROKSİDASYON ve ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİNE
ETKİSİ

TARIK MECİT

Fizyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEKLİSANS TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU

2016-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİL ALKOL ile OLUŞTURULAN KARACİĞER
TOKSİKASYONUNDA *Chlorella vulgaris*'in KARACİĞER,
AKCİĞER, BÖBREK, BEYİN ve KALP MAPK AKTİVASYONU ile
LİPİD PEROKSİDASYON ve ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİNE
ETKİSİ

TARIK MECİT

Fizyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEKLİSANS TEZİ

Danışman

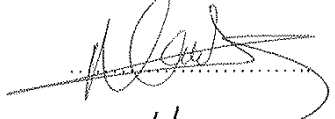
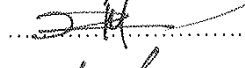

Prof. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU

2016-KARS

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programı çerçevesinde **TARIK MECİT** tarafından hazırlanmış olan “**ETİL ALKOL İLE OLUŞTURULAN KARACİĞER TOKSİKASYONUNDA CHLORELLA VULGARİS’İN KARACİĞER, AKCİĞER, BÖBREK, BEYİN ve KALP MAPK AKTİVASYONU İLE LİPİD PEROKSİDASYON VE ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonucunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca oy *birliği* ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

<u>Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Başkan : Prof.Dr. Nadide Nabil KAMİLOĞLU	
Üye : Prof.Dr. Ali ASLAN	
Üye : Yrd.Doç.Dr. Volkan GELEN	

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof.Dr. Ali Rıza Aksoy

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Dünyada ve ülkemizdeki hızlı artan nüfus, yoğunlaşan ve aşırı strese maruz bırakan iş hayatı, bireylerin özgürlüğünün farkına varması, stresli şehir hayatı ve birçok nedene bağlı psikolojik temelli kontrolsüz alkollü içki tüketimi artmaktadır (Sencer 1988, Aktuna 1993). Alkollü içki çeşitlerinin günden güne artması beraberinde bireyin sağlık sorunları ve sosyal sorunlar olmak üzere birçok sorununu da beraberinde getirmektedir. Artık uzun yıllardır alkolün keyif vericiliğinden çok bunun ‘alkolizm’ olarak adlandırılan psikolojik, ruhsal ve davranışsal bozukluklara yol açan toplumsal sorun haline gelen bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Beyin aktiviteleri ve sinir sistemi fonksiyonlarının sağlıklı işleyişini engelleyici özelliklerine ilaveten toksik etkisi de bilinen alkol kullanımının tarihi M.Ö 4000’li yıllara kadar dayanmaktadır (Köknel 1998, Muhtar 2003).

Vücuda alındığı andan itibaren çok hızlı bir şekilde kana karışabilen ve organizmada fizyolojik olarak ihtiyaç duyulmayan alkol, çeşitli karbonhidatların fermentasyonu aracılığı ile elde edilebilmektedir. Vücuda dışarıdan alınan kimyasallar ve bazı toksik etki gösteren ajanlar gibi alkolün de tekrar vücuttan atılımının çoğu karaciğerde gerçekleşmektedir. Karaciğer hepatositlerindeki reaksiyonlarda biyotransformasyon adı verilen bir mekanizma ile gerçekleşen alkolün atılımı, alkol sürekli olarak alındığında bu hepatositlerde meydana gelen detoksifikasyon reaksiyonlarından dolayı serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır. Oluşan serbest radikaller hücre membranı ve hücre enzimlerinde işlev bozukluğuna neden olabilmektedir. Karaciğerde gerçekleşen detoksifikasyon mekanizmaları bir takım sistemler aracılığı ile meydana gelmektedir. Nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) olarak adlandırılan bir elektron taşıma sistemi olan bu detoksifikasyon mekanizmasında NAD⁺, elektron alarak NADH meydana getirirken ortamdaki NAD molekülleri azalarak yağları ikincil enerji kaynağı olarak kullanımını engeller ve hücrede yağ birikimine zemin oluştururlar.

Vücuda, alınan besinler ve alkol gibi alışkanlığa bağlı ek içeceklerle birlikte yabancı organik ve inorganik maddelerde girmektedir. Bu yabancı organik ve inorganik

maddeler portal sistem aracılığıyla karaciğere ulaşmakta ve karaciğerdeki detoksifikasyon mekanizmaları ile etkisiz hale getirilmeye çalışmaktadır. Detoksifikasyon mekanizmalarının aktif oldukları esnada oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) karaciğer hücrelerinde harabiyetlere sebep olabilmektedir. Bu nedenlere bağlı olarak günümüzde harabiyet meydana gelmiş karaciğer dokuları ya da yetenek kaybına maruz kalmış karaciğer hepatosit hücrelerini tedavide alternatif tıp yöntemleri de hem antioksidan sistemi destekleyici etkilerinden faydalanmak hem de lipid peroksidasyonu azaltıcı etkilerinden dolayı tercih edilmektedir. Antioksidan sistem üzerine etkisinden dolayı tercih edilen alternatif tıp gereçlerinden ve tek hücreli bir alg olan *Chlorella vulgaris*; yapısında flavanoidler, mineraller, zengin α ve β karoten, askorbik asit ve alfa tokoferollerde dahil olmak üzere antioksidan yeteneğinde olan ve özellikle kofaktöre sahip olmasından dolayı karaciğerde oluşan hasarın engellenmesinde etkili olabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Peng ve ark. 2009, Oukarroum ve ark. 2012, Li ve ark. 2013). Yine yapılan bir çalışma neticesinde karaciğerdeki detoksifikasyon reaksiyonları esnasında oksidan molekülleri yok ettiği ve hücre yağlanması sonucunda nekroz oluşumuna izin vermediği bildirilmiştir (Peng ve ark. 2009).

Yapılan bu çalışmada ratlarda etil alkol ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda *Chlorella vulgaris* kullanımının karaciğer, akciğer, beyin, kalp ve böbrek MAPK aktivasyonu ile lipid peroksidasyon ve enzim düzeylerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yapmış olduğum çalışmamda desteğiyle her zaman yanı başımda olup engin bilgilerinden istifade etmeme ve deneyimlerinden faydalanmama izin veren değerli hocam, danışmanım Prof. Dr. Nadide Nabil KAMILOĞLU'na, yine desteklerini esirgemeyen ve akademik alanda bakış açısı kazanmama yardımları olan değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Birkan TOPÇU, Yrd. Doç. Dr. Gözde ATİLA, Yrd. Doç. Dr. Volkan GELEN'e, sevgili arkadaşlarım Dr. Öğr. Barış YILDIZ'a ve YL. Öğr. Pelin ŞAHİN'e ve desteklerini heran yanımda hissettiğim aileme özellikle sevgili ablacığım Meltem Mecit'e, en önemlisi dualarında beni asla yalnız bırakmayan, varlığımın ikincil sebebi ANNEM'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	I
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	IV
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
TABLolar LİSTESİ	X
ÖZET	XI
SUMMARY	XIII
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
1.1. Etil Alkolün Tarihçesi	1
1.2. Etil Alkol Kimyasal Yapısı ve Farmakolojik Özellikleri	2
1.3. Etil Alkol Üretimi ve Kullanım Alanları	3
1.4. Etil Alkol Kullanımı ve Etkileri	5
1.5. Etil Alkolün Metabolizması	6
1.6. Etil Alkol Toksikasyonu ve Karaciğer Üzerine Etkileri	8
1.7. Oksidatif Stres	11
1.7.1. Malondialdehid (MDA)	14
1.8. Detoksifikasyon Mekanizmalarında Antioksidanlar ve Roller	15
1.8.1. Antioksidan Sistemlerin İçinde GSH ve GSH-Px'in Yeri	17
1.8.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar ve Bazı Tek Hücrelilerin Antioksidan Sistemlerdeki Yeri	19
1.9. Algler ve <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Genel Özellikleri	21
1.9.1. Ekonomik Değerleri ve Kullanım Alanları	23
1.9.2. Mikroalgler	24
1.9.2.1. <i>Chlorella vulgaris</i>	24
1.9.2.1.1. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Sistematikteki Yeri	25
1.10. Etil Alkol Toksikasyonunda <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Etkileri	26
1.11. Mitojenlerin Aktive Ettiği Protein Kinaz (MAPK) Yolağı	28

1.11.1	p38-MAPK Yolağı	30
1.11.2.	ERK Yolağı	31
1.11.3.	JNK Yolağı	32
2.	MATERYAL VE METOT	34
2.1.	Materyal	34
2.1.1.	Hayvan Materyali	34
2.1.2.	Çalışmada Kullanılan Aletler	34
2.1.3.	Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler	35
2.2.	Metot	35
2.2.1.	Deney Gruplarının Oluşturulması	35
2.2.2.	MAPK Düzeylerinin Belirlenmesi	36
2.2.3.	MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	36
2.2.4.	GSH Düzeylerinin Belirlenmesi	36
2.2.5.	GSH-Px Düzeylerinin Belirlenmesi	37
2.2.6.	İstatistiksel Analizler	37
3.	BULGULAR	38
3.1.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının MAPK Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	38
3.2.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının MDA Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	40
3.3.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının GSH Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	41
3.4.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının GSH-Px Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler	43
4.	TARTIşMA ve SONUÇ	45
5.	KAYNAKLAR	50
6.	ÖZGEÇMİş	57

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ADH	: Alkol Dehidrogenaz
ALDH-1	: Aldehit Dehidrogenaz-1
ALDH-2	: Aldehit Dehidrogenaz-2
ALT	: Alanin Amino Transferaz
AST	: Aspartat Amino Transferaz
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
CO ₂	: Karbondioksit
DDT	: Diklorodifeniltrikloroetan
E. coli	: <i>Escherichia coli</i>
ECA	: Epidemiological Catchment Area
ERK	: Ekstrasellüler Sinyal Düzenleyici Kinaz
GR	: Glutasyon Reduktaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutasyon
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
LPO	: Lipid peroksidasyon

MAPK	: Mitojenlerin Aktive Ettiği Protein Kinaz
MAPKK	: Mitojenlerin Aktive Ettiği Kinaz Kinaz
MAPKKK	: Mitojenlerin Aktive Ettiği Kinaz Kinaz Kinaz
MDA	: Malondialdehit
MEK	: Mitojen Aktive Edici Kinaz / ERK Kinaz
MEOS	: Mikrozomal Ethanol Oksitleme Sistemi
MKK3	: Mitojen Aktive Edici Kinaz Kinaz 3
MKK4	: Mitojen Aktive Edici Kinaz Kinaz 4
MKK6	: Mitojen Aktive Edici Kinaz Kinaz 6
MKK7	: Mitojen Aktive Edici Kinaz Kinaz 7
N	: Azot
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
nmol/g doku	: Nanomol / Gram doku
NOS	: Reaktif Nitrojen Türleri
O ₂	: Oksijen Molekülü
OG1	: High Osmolarity Glycerol-1
RAF	: Mitojen Aktive Edici Kinaz / ERK Kinaz
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RTK	: Reseptör Tirozin Kinazlar
SAPK	: Stresin Aktive Ettiği Kinazlar
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürk Asit

TGF- β : Transforming Growth Factor Beta

U/g protein : Ünite / Gram protein



ŞEKİLLER DİZİNİ

		<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.	Etil alkol üç boyutlu şekli ve formülü	2
Şekil 2.	Etanol Üretimindeki Temel Basamaklar	5
Şekil 3.	Oksidatif Stres Kaynaklı Metabolik Sorunlar	13
Şekil 4.	Oksidatif Stres Sonucunda Hücre Ölümü	13
Şekil 5.	Antioksidanlar	14
Şekil 6.	<i>Chlorella vulgaris</i> 'in mikroskop altındaki genel görünümü	25
Şekil 7.	MAPK süper ailesinin döngüsü, sinyal yolağı, uyarılar, her bir modülün düzenleyici katmanları ve MAPK tarafından hücresel çeşitliliğe yanıtların ortaya çıkarılması	29
Şekil 8.	P38-MAPK yolağının aktivitesi	31
Şekil 9.	Erk yolağı aktivasyonu	32
Şekil 10.	JNK yolağı aktivasyonu	33
Şekil 11.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin MAPK düzeylerinde belirlenen değişiklikler	39
Şekil 12.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin MDA düzeylerinde belirlenen değişiklikler	41
Şekil 13.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin GSH düzeylerinde belirlenen değişiklikler	42
Şekil 14.	Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin GSH-Px düzeylerinde belirlenen değişiklikler	44

TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in sistematikteki yeri	26



ÖZET

Bu çalışmada, ratlarda etil alkol ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda *Chlorella vulgaris* uygulanmasının karaciğer, akciğer, beyin, kalp ve böbrek MAPK aktivasyonu ile lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim düzeylerine etkisinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla, 10-12 aylık, 200-250 gr ağırlığında 24 adet erişkin erkek Sprague Dawley rat kullanıldı. Ratlar 3 gruba ayrılarak her grupta 8 hayvan bulunacak şekilde 2 deney ve 1 kontrol grubundan oluşturuldu. Kontrol grubuna 5 mg/kg izoklorik maltoz gavajla 12 saatte bir verildi. Alkol grubu (n=8)'nda bulunan ratlara 15g/kg olacak şekilde ve %50 su ile dilüe edilerek Etil alkol, *Chlorella* grubu (n=8)'nda bulunan ratlara önce 300 mg/kg *Chlorella* ve daha sonra %50 su ile dilüe edilerek 15g/kg Etil alkol verildi. Deney sonunda, eter anestezisi altında ratların batın ön duvarı insizyonla açıldı. Diyaframdan kalbe ulaşarak punksiyonla kanları alınan ratlar sakrifiye edildi. İntrakardiyal yolla EDTA'lı tüplere alınan kan numuneleri, +4° C, 3000 rpm'de, 5 dakika santrifüj edilerek plazmalar ve metotlara uygun olarak hazırlanan homojenatlar polietilen tüplere konularak laboratuvar işlemlerine kadar -20° C'de saklandı. Alınan kan numuneleri, MAPK, GSH ve GSH-Px değerlerine bakılmak üzere kullanıldı.

Alkol etkisi ile yükselen MAPK aktivitelerinin karaciğer ve akciğer dokularında *Chlorella vulgaris* ile azaldığı, beyin, böbrek ve kalp dokularında ise alkol etkisi ile azalan MAPK aktivitelerinin *Chlorella vulgaris* ile yükseldiği tespit edilmiştir. Grupların alkol etkisi ile doku GSH-Px düzeylerinde meydana gelen azalmanın *Chlorella vulgaris* uygulaması ile belirgin şekilde yükseldiği belirlenmiştir (p<0.05). Grupların akciğer, kalp ve beyin dokusu GSH düzeyleri açısından istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir. Karaciğer ve böbrek dokusu alkol etkisi ile azalan GSH düzeylerinin *Chlorella vulgaris* ile anlamlı biçimde yükseldiği tespit edilmiştir (p<0.05). Grupların doku MDA düzeyleri karşılaştırıldığında alkol etkisi ile yükselen MDA düzeylerinin karaciğer, akciğer ve kalp dokularında *Chlorella vulgaris* ile anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir (sırasıyla p<0.001, p<0.001, p<0.05). Beyin ve böbrek dokularında ise gruplar arasında MDA düzeyleri açısından önemli bir fark tespit edilememiştir.

Sonuç olarak alkol etkisi ile dokularda oluşan lipid peroksidasyona karşı *Chlorella vulgaris*'in antioksidan enzim düzeylerini özellikle karaciğer ve akciğer dokularında yükselttiği ve bu etkisi ile doku koruyucu aktiviteye sahip olduğu değerlendirilmektedir. Ayrıca alkol toksikasyonu sonucu karaciğer ve akciğer dokularında yükselen MAPK aktiviteleri *Chlorella* etkisi ile düzelmiş, bu durumun *Chlorella*'nın hücre içi enzim sistemleri üzerinde koruyucu etkinliği ile ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Etil alkol, *Chlorella vulgaris*, GSH, GSH-Px, MAPK, MDA.



SUMMARY

In this study, it was aimed to investigate the effect of *Chlorella vulgaris* on liver, lung, brain, heart and kidney MAPK, lipid peroxidation antioxidant enzyme activity with ethyl alcohol toxication. For this purpose, 10-12 monthly, weighing 200-250 gr., 24 adult male Sprague Dawley rats were used. Rats divided into 3 groups in which 2 experiment and a control. Each group had 8 animals. The control group was given 5mg/kg isocaloric maltose by gavage. 15 g/kg ethyl alcohol diluted with 50% water was given alcohol group(n=8) and 300 mg/kg *Chlorella* and then 15 g/kg ethyl alcohol diluted with 50% water was given *Chlorella* group (n=8). Blood samples were taken to EDTA tubes by reaching to heart from diaphragm. After sacrifice of rats tissue samples taken. Tissue and blood samples were kept at -20 °C. Taken blood and tissue samples was used to investigate the GSH/GSH-Px, MAPK activity and MDA levels.

MAPK activities in liver and lung tissue were increased with *Chlorella* which decrease with ethyl alcohol while MAPK activities in brain, kidney and heart tissue decrease with *Chlorella*. The reduction in tissue GSH-Px levels with alcohol was increased markedly with *Chlorella* application ($p<0.05$). No statistically significant difference was observed in lungs, heart, and brain tissue GSH levels. The declining GSH levels of liver and kidney tissue with alcohol was found to significantly increase with *Chlorella* ($p<0.05$). When tissue MDA levels of groups compared, increasing MDA levels with alcohol in liver, lungs and heart tissues was determined to significantly decrease with *Chlorella* ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$ respectively). No difference was determined in brain and kidney tissue MDA levels between the groups.

As a result, *Chlorella vulgaris* was increased antioxidant enzyme activity especially in liver and lung tissues and decreased lipid peroxidation in tissue which arise with ethyl alcohol that was evaluated this effect has tissue protective activity of *Chlorella*. Also, increasing in liver and lung tissues MAPK activities as a result of alcohol toxication was fixed with *Chlorella*. This situation may be associated with protective effect on intracellular enzyme system activity of *Chlorella*.

Keywords: Ethyl alcohol, *Chlorella vulgaris*, GSH, GSH-Px, MAPK, MDA.

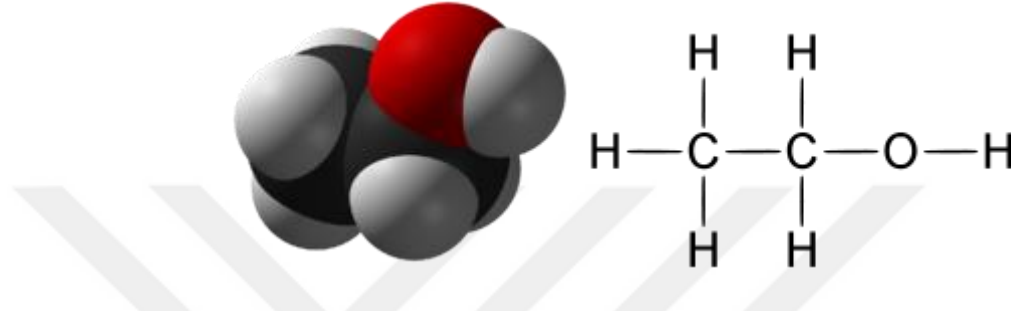
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1.1. Etil Alkolün Tarihçesi

Meyve tahıllarındaki karbonhidratların basit fermentasyonu sonucu kolaylıkla elde edilebilen etil alkol, hemen her toplumda alkollü içeceklerin üretilebilmesine ve kullanılabilmesine yol açmıştır. Alkol insanlık tarihinde bağımlılık yapan ilk madde olarak da kayıtlara geçirilmiştir. Bir Papirüs üzerinde bulunan yazılar ve resimler Mısır'ın yer aldığı coğrafyada arpadan bira yapımının M.Ö. 4000 yılından bu yana bilindiğini göstermiştir. Şarabın elde ediliş ve satışını belirleyen ilk yasaların M.Ö 2000'li yıllarda Babil kralı Hamurabi tarafından yapıldığı bildirilmektedir. Eski Roma ve Yunan döneminde üzüm ve şarap kutsal sayılmış ve Roma'da Bacchus, Atina'da Dionisos şarap tanrıları olarak anılmışlardır (Köknel 1998, Muhtar 2003). Üzümün fermentasyonu ile alkol elde edilerek bilinçli kullanımına ilk olarak M.Ö 6000 yılları civarında Ermenistan'da rastlanmaktadır (McKim 2000). Daha sonraları elma, bal vb. şeker oranı yüksek yiyeceklerin fermentasyonu ile tüketilmeye başladığı düşünülmekte ve o dönemlerde şarap şeklinde tüketildiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Uzbay 2014). Mezopotamya'da bulunan tabletlerde alkol içeriğinin ilaç olarak kullanıldığına işaret eden veriler bulunmaktadır (Uzbay 1981). İlkçağ dinleri alkolü yasaklamış ancak dinsel törenlerde içilmesini özendirmiştir. Orta çağda, Avrupalıların Araplardan gelişmiş damıtma tekniklerini almasından sonra, şarap yapımı manastırların egemenliğinde sürdürülmüştür. Gelişen teknolojik damıtma yöntemleri, 18. yy Avrupa'sında aşağı sınıf arasında alkol kullanımını giderek arttırmış ve 19. yy'da hem Avrupa'da hem de Amerika'da alkol üretim ve tüketimi zirveye ulaşmıştır. 1700'lerde Dr. Benjamin Rush (1790) aşırı alkol kullanımını bir hastalık olarak tanımlarken, tedavisini alkolden tamamen uzak durmak olarak bildirmiştir. İsveç'li bir doktor olan Magnuss Huss ilk kez 1849'da "alkolizm" terimini kullanmıştır.

1.2. Etil Alkol Kimyasal Yapısı ve Farmakolojik Özellikleri

Kimyasal yapısı C_2H_5OH (Şekil 1) olan etil alkol berrak, renksiz, su ve organik çözücülerle her oranda karışabilen 0.789 g/ml yoğunluğunda, $78.4^{\circ}C$ de kaynama noktasına sahip uçucu ve yanıcı bir sıvıdır (Kaya 1998).



Şekil 1. Etil alkol üç boyutlu şekli ve formülü (Campbell ve Reece 2008).

Alkol ağız yoluyla alındığında sindirim kanalının tüm kısımlarından emilir. Emilimi takiben etanol suda kolay çözünebildiği için hızla kan dolaşımına katılarak tüm dokulara yayılır. Özellikle su oranı yüksek dokulara daha kolay ulaşır. Yağda çözünürlüğü de orta derecede olduğundan hücre zarlarını etkiler. Kan alkol düzeyi genellikle en üst seviyeye 45-60 dakikada ulaşılır. Bu düzeye ulaşma midenin boş olmasına veya beraberinde yemekle alınmasına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Midenin boş olması Emilimi hızlandırır. Ayrıca alkolün hızlı alımı da üst düzeye ulaşma zamanını kısaltır. Emilim, %10-30 yoğunluğunda olan alkollü içeceklerde daha hızlıdır.

Kan alkol seviyesi ile ortaya çıkan klinik belirtiler arasında pozitif bir ilişki vardır. Yüksek alkol seviyeleri reflekslerde azalma ve kaslarda uyumsuzluklar ile kendini gösteren davranış bozukluklarına neden olur. İleri derecede toksikasyonlarda solunum kaybına bağlı ölüm şekillenebilir. Kronik zehirlenmelerde karaciğer bozukluğuna ilişkin patolojik lezyonlar ile enzim aktivitelerinde değişmeler gözlemlendiği bildirilmiştir (Can ve ark. 2008). Etil alkolün toksisitesi alınan miktarıyla birebir ilişkilidir. Çeşitli alkollü içeceklerin içerdiği alkol miktarı ile tüketilme oranları insanlardaki toksisiteyi etkileyen en önemli faktörlerdendir. Hayvanlardaki toksisite sebepleri genellikle fermente olmuş ve bozuk yemlerin tüketilmesi sonucu şekillenir.

Etil alkol toksikasyon sonucu genellikle merkezi sinir sistemi hasarları oluşmakla birlikte bağışıklık sisteminde, kalp çalışması üzerinde ve solunum sisteminde farklı bozukluklar oluşturabildiğine dair bilgiler vardır (Kültegin ve Alkol 2003).

Vücutta alkolün %90'ı karaciğerde oksidasyonla, %10'luk kısmı değişikliğe uğramadan akciğer ve böbreklerden metabolize edilmektedir. Oksidasyon oranı değişken olmayıp vücudun enerji ihtiyacından bağımsız kalmaktadır. Saatte 15 mg/dl olarak vücutta metabolize edilen alkol fazla alındığında ihtiyaç duyulan enzimlerin upregulasyonu alkolün hızlı metabolizmasıyla sonuçlanmaktadır.

1.3. Etil Alkol Üretimi ve Kullanım Alanları

Etil alkol endüstriyel olarak elde edilirken fermente edilen madde glukozdur ve oluşturulurken amilaz adındaki enzimin yardımı ile nişastadan oluşturulmaktadır. Bundan ziyade etil alkol elde edilmesinde glukoz veya sakkarozu doğal olarak içeren incir, üzüm ve melas gibi maddeler kullanılmaktadır (Gözükara 1989). Sanayide kullanılan etil alkolün elde edilmesi etenin asit katalizli yoluyla gerçekleşmektedir (Fryhle ve Solomons 2002).

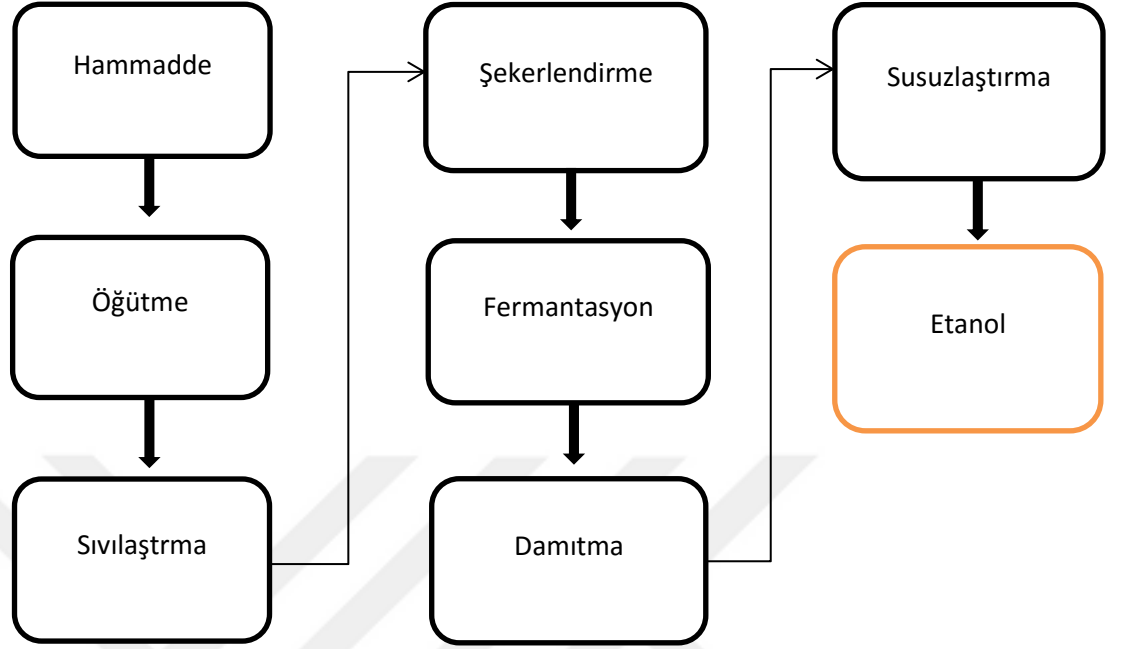
Neredeyse bütün canlılarda az miktarlarda metabolik bakımdan üretilebilen etil alkol bazı meyvelerde doğal olarak % 5'e kadar farklı derivasyonlarda bulunabilir (Sommer ve Spanagel 2013). Bu meyveler fermente edilerek çeşitli alkollü içecekler elde edilir. Alkollü içeceklerin üretiminden ekmek yapımına kadar gerek sanayi gerekse tarımsal anlamda kullanımı oldukça yaygın olan etil alkol şeker kamışı ve mısırdan da elde edilerek ekonomik avantajlar sağlamaktadır (Meral ve Kanberoğlu 2012).

Etil alkol, üretiminde farklı içeriklere sahip biyokütleler ile elde edilmekte, uygulama farklılıkları, işleme süreçlerine göre üç başlık altında sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma; şeker içeren hammaddeler, nişasta içeren hammaddeler ve lignoselülozik hammaddeler olarak adlandırılmaktadır. Şeker içerikli kaynaklar glikoz ihtiva eden hammaddeler olup maya hücreleri tarafından kolayca parçalanabilmelerinden dolayı ön işlem gerektirmemektedirler (Balat 2011). Nişasta içerikli hammaddeler nişastanın maya tarafından parçalanmamasından kaynaklı bazı

enzimlere ihtiyaç duymaktadır. α -amilaz tarafından parçalanan jelatinize haldeki nişasta glikoamilaz ile fermente edilerek Şeker aıĝa çıkartılmaktadır (Aggarwal ve ark. 2001). Lignoselülozik kaynaklar ise tarımsal atıklar ve odunsu bitkiler gibi selüloz içeren hammaddeler olarak bilinmektedir. Fermentasyon ortamına alınmadan önce sakkarifikasyon iŐlemi uygulanarak Őekerin aıĝa çıkartılması saĝlanmaktadır. Sakrifikasyon esnasında lignin ve hemiselüloz uzaklaŐtırılır ve selülozun kristalize yapısı azalarak hammaddenin gözenekli yapısının artırılması amaçlanmaktadır (Sun ve Cheng 2002). Tahıl bazlı ürünlerden etil alkol üretiminde kullanılacak olan materyallerin (Şeker kamışı, mısır vb) hepsinde kullanılan temel yöntemler aynıdır. Etil alkol üretiminde kullanılacak olan biyokütle dört temel aŐamadan geçerek etanol elde edilir (Şekil 2). Bu aŐamalar sırasıyla;

- Şeker ieriĝini aıĝa çıkarmak için ön iŐlemlerin uygulanması,
- Bakteriler ya da mayalar yardımıyla aıĝa çıkan Őekerin etanol ve CO₂'e dönüŐtürülmesi,
- Distilasyon yöntemi kullanılarak etanolün fermente olan diĝer bileŐenlerden ayrılması,
- Dehidrasyon yöntemi uygulanarak suyun etanolden uzaklaŐtırılması,

olarak bildirilmiştir (Bayrakçı 2009).



Şekil 2. Etanol Üretimindeki Temel Basamaklar (Bayrakçı 2009).

İkinci derecede dezenfektan olarak kabul edilen etil alkolün %70'lik solüsyonları kritik olmayan, steril olması istenilen alanlarda (Kurtz ve ark. 1980), sanayide asetik asit, plastiklerin, eter ve kloroformun üretiminde ve insektisit olarak diklorodifeniltrikloroetan (DDT) adıyla bilinen böcek ilacının yapımında da kullanılmaktadır (Elgün 2011). Hemen hemen akla gelebilecek her alanda kullanılan etil alkol temizlik malzemeleri ve kozmetik sanayisinde, kolonya ve losyonlarda, ulaşımda yakıt olarak, kimyevi maddelerin sentezlenmesinde ve çözücü olarak kullanılmaktadır (Kaplan 2009).

1.4. Etil Alkol Kullanımı ve Etkileri

Alkol temelli karaciğer hastalıklarının nedeni olarak adlandırılan alkolizm toplumda gittikçe büyümekte olan bir sorun olarak kabul edilmektedir. Epidemiological Catchment Area (ECA) yapmış olduğu alkolizm çalışmasında hayat boyu alkol kullanım oranını ABD'nde % 13.8 olarak bildirmiştir. Sağlık Bakanlığı Türkiye'deki alkol temelli karaciğer hastalıklarının yaygınlık oranının % 1.8 olduğunu bildirmiş, bu oranın erkeklerde % 1.7, kadınlarda %0.1 olduğunu göstermiştir (Kültegin ve ark.

2003). Alkole olan bağımlılık son dönemlerde ülkelerde en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir. Alkolizmin klinik olarak tespit edilen en fazla psikiyatrik bozukluklardan biri olduğu bildirilmiştir (Dünya Sağlık Örgütü 1992). ABD ve Avrupa ülkelerinde kalp rahatsızlıkları ve kanserden sonra 3. sırada yer alan alkole bağlı olarak oluşan hastalıklar en büyük sosyal ve sağlık problemlerinin başında gelmektedir (İnce ve ark. 2002).

Alkol bağımlılığında ilk kez alkol alımı genellikle ergenlik dönemine denk gelmektedir. Alkol kullanmaya başlamanın erken yaşlarda olması ile bağımlılık düzeyinin şiddeti arasında bağlantı olduğu bildirilmektedir (Yenigün 2006). Alkol bağımlılığı teşhisi konulan bir bireyin sosyal, mesleki ve davranışsal bazı bozulmalar yaşadığı psikiyatri kliniklerince belirlenmiştir. Normalden fazla alkol tüketiminde bireyde şiddet davranışının ortaya çıkması, toplumda yakın ilişkili olduğu bireyler ile tartışmalar ve bilinçsiz kullanım sonucu trafik kazaları, iş kaybı ve üretkenlikte yavaşlama gibi sorunların ortaya çıktığı bilinmektedir (Kaplan ve Sadock 1997). Alkolizm teşhisi konan bireylerin planlama yeteneğinde azalma ve kontrol kaybı olduğu, hem yetenek hem de beyin işlevi gerektiren faaliyetler sırasında sonuca ulaşmada önemli bozulmalar tespit edilmiştir (Meda ve ark. 2009).

1.5. Etil Alkolün Metabolizması

Etil alkolün ekstrem durumlar dışında vücuda alınımı genellikle ağız yoluyla gerçekleşmektedir. Çok az miktarda solunum yoluyla gerçekleştirilmektedir. Oral yolla alınan etil alkolün % 20'si mide % 80'i ince bağırsaklardan emilerek kana geçmektedir. Mideden olan emilim ince bağırsaktaki emilime göre yavaş gerçekleşirken midenin boş olduğu durumlarda emilim hızı artmaktadır. Alkol oranı yüksek olan içecekler tüketildiğinde pilor spazmı, mide mukozasında irritasyon sonucu mukus salgısının artışı ve mide motilitesinde azalma gerçekleşmektedir (Canve ark. 2008).

Alınan alkolün ortalama 1.5-3 saat arasında kana emilimi tamamlanmaktadır. Vücuttaki dokulara ve organlara su ile doğru orantılı olarak dağılan alkol, su oranı düşük olan kemik ve yağ dokuda daha az bulunmaktadır. Etil alkol vücut sıvılarına da

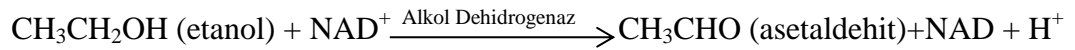
geçerek kandaki konsantrasyonuna yakın bir ölçüde bulunmaktadır. Kandaki alkol konsantrasyonu 1 birim kabul edildiğinde, serum ve BOS' da 1.15; idrar ve tükürükte 1.3; beyinde 0.9; ve alveol havasında 0.0005 birim ölçüsünde bulunmaktadır (Bilge 2008).

Alkolün konsantrasyonu ne olursa olsun eser miktarda (%0.48) idrarla, çok az bir kısmı (% 2-3) akciğerlerde ve (%1-2) böbreklerde değişmeden atılmakta diğer büyük kısmı ise vücut metabolizmasına dahil olmaktadır. Erkeklerdeki metabolize hızı daha yüksek olan etil alkolün eliminasyon süresi 0.1 g/kg/saat, dişilerde ise 0.085 g/kg/saat olmakta ve merkezi sinir sistemi etki alanı olarak bilinmektedir (Murray ve ark. 1993).

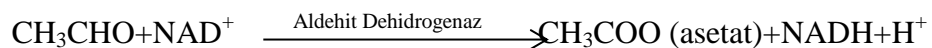
Etil alkolün metabolizması öncelikle karaciğerde meydana gelmekte olup 3 yolak ile ilişkilidir.

- Temel yol olarak bilinen ilk yolakta alkol dehidrogenaz (ADH) ve asetaldehit dehidrogenaz kullanımıyla etanol asetaldehit üzerinden asetat daha sonra da asetil Co-A ya dönüşmektedir (Gözükara 1995).

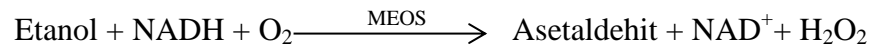
Alkol ilk geçiş metabolizmasına midede ADH enzimi ile uğramaktadır. Gastrointestinal sistem içerisinde en fazla ince bağırsaklarda emilimi gerçekleşen alkol karaciğerde iki temel yol ile metabolize edilmektedir. İlk yolda sitoplazmadaki ADH enzimi etanolün oksidasyonunda hız kısıtlayıcı rol oynamaktadır.



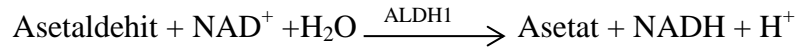
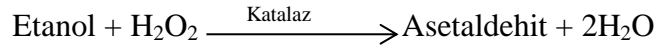
Diğer yolda ise mitokondrideki Aldehit Dehidrogenaz-2 (ALDH-2) aracılığıyla asetaldehit katalizlenmektedir. ALDH-2 polimorfizme uğramış bir enzimdir ve eksikliği görülen bireylerde alkolizm oranını düşürmektedir. ALDH-1 aracılığı ile metabolize olan bu bireylerde yüksek oranda asetaldehit birikmesiyle disulfiram benzeri bir etki meydana geldiği bildirilmiştir (Bunout 1999, Gülgün 2002)



- İkinci yolak ise “Mikrozomal Ethanol Oksitleme Sistemi” olarak bilinen MEOS metabolik yoldur. Bu sistem karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikulumunda bulunmaktadır. Temel yol olan alkol dehidrogenaz reaksiyonunda olduğu gibi yine asetaldehit oluşmaktadır. Asetaldehit etil alkol intoksikasyonunda ölüme yol açan asıl maddedir ve myokard depresyonu, hipotermi, ketoasidoz mekanizmaları aşırı dozla birlikte gelen ölümlerde rol oynayan mekanizmalar olarak bilinmektedir.



- Üçüncü yol da görev alan enzim ise katalaz olarak adlandırılan, karaciğerde peroksizomlarda bulunan alkolün metabolizmasında yıkımlanma aracı olarak kullanılan bir enzimdir. Katalaz peroksizomdaki aktivitesi için Hidrojen Peroksit’e (H₂O₂) ihtiyaç duyan ve bundan dolayı her zaman aktif olmayan bir enzimdir. ALDH1 ise ALDH2 enziminin aktivitesinin azaldığı durumlarda tepkimeye giren bir enzimdir (Tunalı 2001, Kolacinski ve Rusinski 2003).



1.6. Etil Alkol Toksikasyonu ve Karaciğer Üzerine Etkileri

Alkol temelli birçok sağlık ve sosyal sorunların var olduğunu gösteren çok sayıda yayın bulunmaktadır (Yenigün (2006), Kaplan ve Sadock 1997). Tüketilen alkolün öncelikle karaciğerde harabiyete ve daha birçok olumsuz metabolik bozulmaya sebep olduğu ve tüm bu olumsuzlukların alınan miktar, süre, kişinin dayanıklılığı, beslenmesi ve daha birçok faktöre bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Murray ve ark. 1988).

Aşırı alkol kullanımının canlı dokularda oksidatif stres meydana getirdiği belirtilerek (Sivapiriya ve ark 2006) bu etkinin sadece belli bir doku alanından ziyade geniş çapta hücrel hedefleri etkilediği bildirilmiştir (Bondy 1992). Tüketilen alkolün

zamana ve miktarına bağılı olarak karaciğerde bazı değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Alkolizm tanısı konulan bireylerde karaciğer yağlanması, alkolik hepatit, alkolik siroza kadar ulaşan klinik spektrum bireylerin yaklaşık %20'sinde gelişmektedir (You ve Crabb 2004).

Alkol alımı sürekli ve yüksek dozda tekrar edildiğinde karaciğerde tahribat oluşturduğu bildirilmektedir (Sonde ve ark. 2000). Fizyolojik ve kimyasal hücre zarı tahribatına yol açan alkolün sebep olduğu hasarların büyük bir kısmı bilinmekle birlikte, alkol kaynaklı problemlerin çözümüne yönelik çalışmalar etil alkol ile uyarılan biyokimyasal metabolik değişiklikler ile bunların etkileri ve düzeltilmesi yolları üzerinde yoğunlaşmıştır (Armutcu ve ark. 2004).

Karaciğer, en büyük iç organ olarak faaliyet gösteren çok önemli fonksiyonları bulunan ve karın boşluğuna yerleşmiş bir organdır. Safra salınımı, kanın süzülmesi, sekresyon, eksresyon, konjugasyon, hemotopoez, fagositoz ve kanın depolanması karaciğerin görevlerindedir. Büyüme özelliği olan karaciğer kan damarlarında bol miktarda kan depolama yeteneğindedir. Kan ile gelen bakteri ve yabancı parçacıkların tamamını Kupffer hücreleri ile karşılaşma anından 0.01 saniyeden kısa bir sürede Kupffer hücrelerinin içerisinde sindirilene kadar tutulmak kaydı ile kanı süzme özelliği taşımaktadır (Guyton ve Hall 2013). Yapısal ve biyokimyasal olarak farklılıklar gösteren özelleşmiş karaciğer hücrelerine hepatositler denilmektedir. En önemli fonksiyonlarından biri olarak safra salınımı yapan karaciğer, hepatosit adı verilen bu karaciğer hücreleri tarafından kan komponentleri alınarak safra kanalları içerisine salınımı yapar. Safra sıvısında safra asitleri, su, kolestrol, fosfolipidler, bilirubin bulunmaktadır ve hepatositler aracılığı ile kandan alınarak safra kanallıklarına taşınarak ekzokrin görevini tamamlamış olmaktadır (Junqueira ve ark. 1998).

Karaciğerdeki doku hasarı tespitinde iki enzim görev almaktadır. Aspartat Amino Transferaz (AST) ve Alanin Amino Transferaz (ALT) olarak adlandırılan bu enzimler alanin ve aspartik asidin amino gruplarını α – keto glutarata taşıyarak ALT ile pruvat ve AST ile oksaloasetat oluşturmaktadırlar. Karaciğerde bulunduğu kadar kalp, kas, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, beyaz küre ve kırmızı kürelerde de bulunan

AST'ye karşın ALT yoğun olarak sadece karaciğerde bulunmakta ve her iki enzimin kofaktörü olarak B6 vitamini rol oynamaktadır. AST'nin %80'ine yakını hepatositlerde mitokondride yer almaktayken ALT'nin predominant şekli non mitokondriyalde bulunmakta ve buna bağlı olarak orta şiddetli hepatosellüler hasarda mitokondri membranı sağlam kaldığında sitoplazmik AST ve ALT'nin seruma salınımı gerçekleşmektedir (Wallach 2000).

Alkolün karaciğerde meydana getirdiği doku hasarı mekanizmaları doğrudan toksik etki gösteren, oksidatif stress etki mekanizması, asetaldehit mekanizması ve fibrozis oluşum mekanizmalarıdır. Alkol oksidasyonu sonucunda indirgenen $NADH^+$ karaciğerde birçok sürecin etkilenmesine sebep olmaktadır. Ortaya çıkan fazla miktardaki $NADH^+$ 'a bağlı olarak tri-açilgliserol sentezi artarken yağ asitlerinin beta oksidasyonu inhibe olmakta ve yağ asitleri esterifiye olarak trigliserid olarak depolanmaktadır. Bu aşama hepatic steatoz ile sonuçlanmaktadır. Özellikle karbonhidrat malnutrisyon durumu belirlenen alkoliklerde $NADH/NAD^+$ oranı glukoneogenezde birtakım kilit rol oynayan enzimlerin inhibisyonuna yol açmakta ve hipoglisemiyle sonuçlanmaktadır (Çekin ve Boyacıoğlu 2002).

Süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^-) gibi serbest oksijen radikalleri alkolün sitokrom P450 2E1 ile metabolize olması neticesinde ortaya çıkmaktadırlar. Bu oksijen ürünlerinde hidroksil radikali DNA, lipidler ve hücre proteinleri ile etkileşimde bulunarak bir dizi peroksidasyon reaksiyonu başlatmakta ve hücre zedelenmesi sonucunda hücrenin ölümüne yol açmaktadırlar. ADH'ın da aktivitesinin olduğu başka bir yolda alkol metabolizmasında serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Çok fazla miktardaki $NAD/NADH^+$ demirin ferritinden mobilize olmasına yol açmakta ve sonuçta H_2O_2 etkileşime girerek süperoksit ve hidroksil radikallerinin oluşmasına neden olmaktadır. Alkol metabolizması ile karaciğerde meydana gelen oksidatif stres, serbest oksijen radikallerinin şiddetini artırarak karaciğerin kendini savunamadığı durumlarda hasarın boyutunu artırmaktadır. Bu durumda hasarı engellemek için devreye protein olmayan ve kilit bir rol üstlenmiş olan tiol girmekte, kronik alkol tüketiminde karaciğerde vitamin A, E ve glutatyon rezervlerinin azalmasına yol açarak antioksidan

savunması üzerine ters etki yapmakta ve alkolün yaptığı etkiyi artırarak hasarın büyümesine yol açmaktadır (Çekin ve Boyacıoğlu 2002).

Karaciğerde direk hepatosellüler hasara yok açan ve hücre ölümüne sebep olabilecek kadar yüksek aktivite gösteren asetaldehit hücre proteinlerinde lizin rezidülerine bağlanarak asetaldehit-protein yapılarını oluşturmaktadır. Asetaldehit hücrelerde protein yolaklarını etkileyerek hücrelerin şişmesine yol açmakta ve asetaldehit-protein yapılar neoantijen olarak aktivite göstererek immün sistemin aktivasyonuna katkı sağladığı bildirilmektedir (Çekin ve Boyacıoğlu 2002).

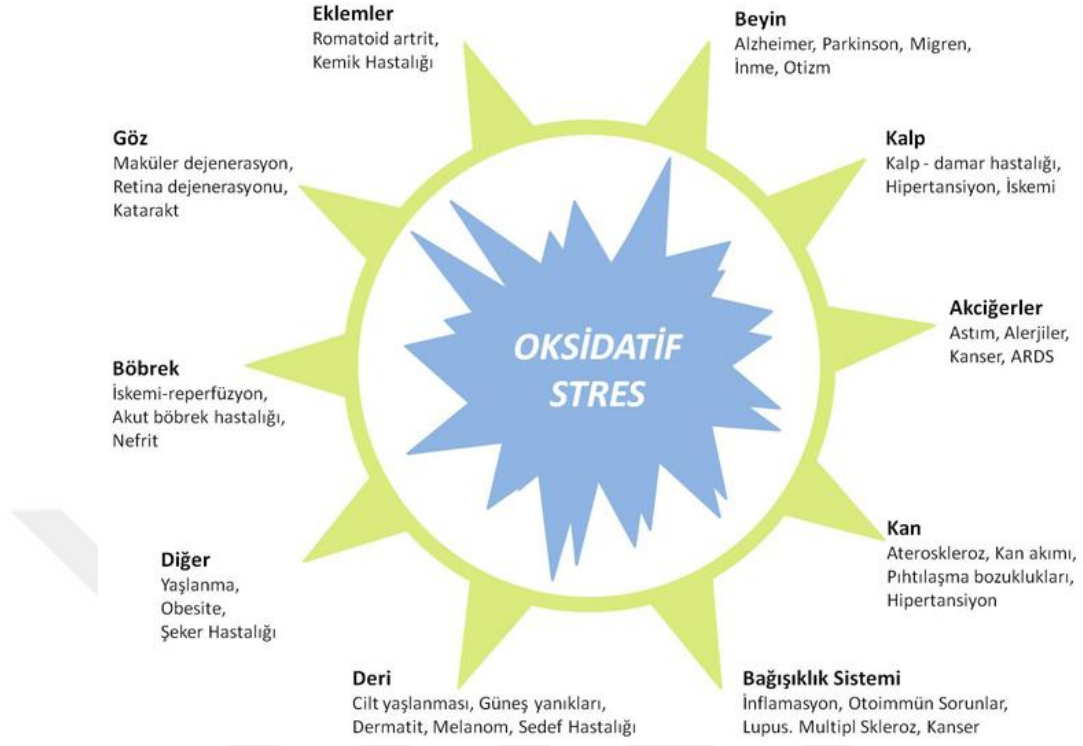
Alkol kullanımında karaciğer üzerinde ciddi ve geri dönüşü mümkün olmayan bir hasara yol açan diğer kronik vaka da fibrizosis oluşumudur. Karaciğer hastalıklarında %50'ye yakın oranda tespit edilen fibrizosis alkolik karaciğer hasarında yaklaşık %10-15 civarında görülmektedir. Alkol temelli karaciğer doku hasarında fibrizosisin altında yatan neden olarak hepatik yıldız hücrelerinin aktivasyonu belirtilmektedir. Toksik etkilerde, infeksiyöz durumlarında ve alkolik karaciğer hasarlarında hepatik hücreler miyofibroblastta benzeyen hücrelere proliferasyon olarak fibrizosis gelişiminden sorumlu tutulmaktadırlar. Hepatik yıldız hücrelerini aktif hale getiren reaksiyonlar hakkında yeterli bilgi bulunmamasına karşın asetaldehit ve asetaldehit-protein yapıları “ Transforming Growth Factor Beta”nın hücrelerin kollojen sentezlenmesine yol açtıkları bildirilmiştir (Çekin ve Boyacıoğlu 2002).

1.7. Oksidatif Stres

Serbest radikallerin ya da oksidant moleküllerin metabolik oluşum süreleri ve oluşan radikallerin organizmada yok edilme hızları belli bir denge içerisinde yer almaktadır ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılmaktadır (Çaylak 2011). Oksidatif dengenin korunumu esnasında metabolizma oksidan moleküllerden etkilenmemekte ve denge, oluşum sürelerinde hızlanma ya da azalma olduğunda “Oksidatif stres” olarak adlandırılan durumu ortaya çıkarmaktadır. Hücre harabiyeti ve doku hasarı ile sonuçlanan oksidatif stres, oksidan moleküllerin oluşumu ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulmasının göstergesi olarak kabul

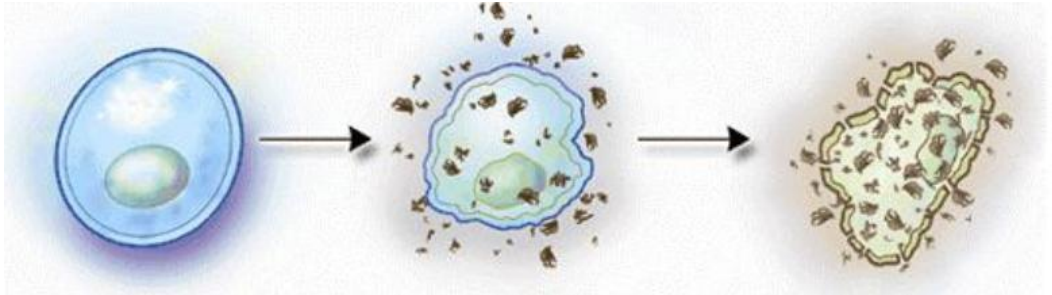
edilmektedir. Metabolizma, oluşan denge durumunun bozulması sonucu ortaya çıkan oksidatif stres olarak adlandırılan hücre ve doku harabiyetini engellemek için detoksifikasyon mekanizmalarına ihtiyaç duymaktadır. Detoksifikasyon mekanizmalarında rol oynayan temel öğeler oksidan moleküllerin verdiği hasarı azaltmak ya da tamamen ortadan kaldırmak üzere aktivasyon gösteren antioksidan olarak adlandırılan bazı enzimler, proteinler, vitaminler, bitkisel polifenoller ve türevleridir (Sefarini ve Rio 2004).

Serbest radikal kaynakları ya da diğer bir ifade ile oksidan molekül kaynakları birçok sebebe bağlı olarak oluşabilmektedir. Aşırı alkol tüketimi, sigara kullanımı, elektromanyetik radyasyon kaynakları, ultraviyole ışınlar, kronik inflamasyonlar, aşırı fiziksel egzersiz ve aşırı demir yüklemesi, yaşlanma ve doğum kontrol hapları metabolizmada hasar oluşturma potansiyeline sahip serbest radikal kaynakları olarak belirtilmektedirler. Bu radikaller aralarında tedavisi ve yeniden onarımı oldukça zor olan bazı patolojik durumların meydana gelmesine neden olmaktadır. Oksidatif stresin oldukça fazla metabolik problemlere sebep olduğu bildirilmektedir (Mccord 1993). Kalp hastalıkları, deri ve göz yapısında meydana gelen problemler, kanser, serebrovasküler rahatsızlıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet ve akut renal yetmezlik, akciğer hastalıkları ve alkol karaciğer hastalıkları, bronşit, anfiyem ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif bozuklukların oldukça ileri seviyelere gelmelerinde aktif rol oynadığı pek çok araştırma ile bildirilmiştir (Şekil 3) (Oksantest Ar-Ge lab 2012).



Şekil 3. Oksidatif Stres Kaynaklı Metabolik Sorunlar (Oksantest Ar-Ge lab 2012).

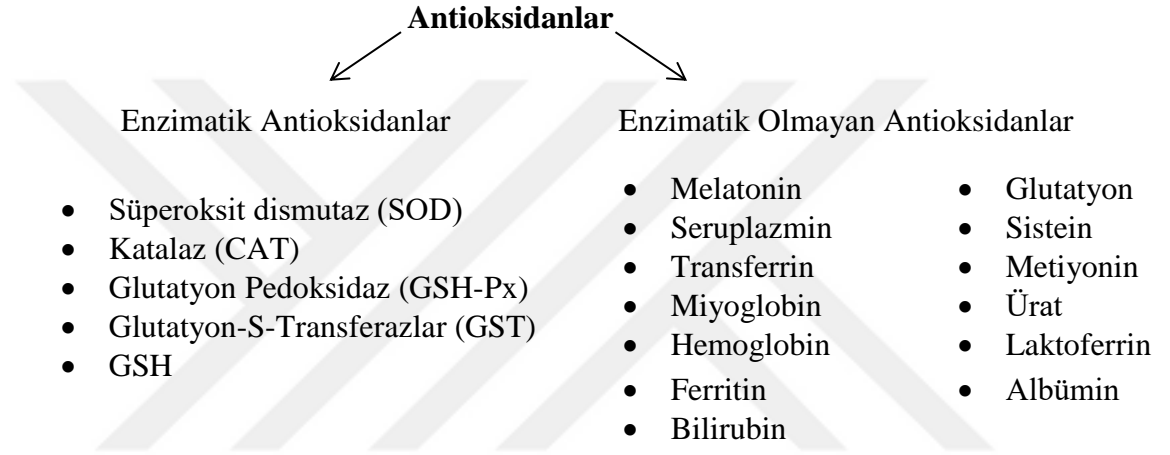
Oksidatif stres ile başlayan oksidant molekülleri, serbest radikaller ya da reaktif oksijen türleri veya metabolitleri olarak tanımlanan moleküller lipid, protein ve DNA hücre bileşenlerine zarar vererek hücrenin tahrip olmasında, sonunda da hücre ölümünün gerçekleşmesine neden olmaktadır (Şekil 4.).



Şekil 4. Oksidatif Stres Sonucunda Hücre Ölümü (Oksantest Ar-Ge lab 2012).

Serbest radikallerin metabolizmada hasar oluşmasına sebep olan ya da mevcut patolojik durumların geri dönüşümsüz durumlara gelmesini engellemek ve oluşan

harabiyetin etkisini azaltıp tamir mekanizmalarında aktif rol oynayarak hasarı yok etmek üzere var olan antioksidan moleküllerden en önemlileri enzim yapılı maddelerden süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazdır. Albümin ve serüloplazmin protein yapıdaki antioksidan moleküller olarak bilinmektedir. Vitamin kaynaklı antioksidanlar tokoferoller ve askorbik asit olarak belirtilmiştir. Karotenoidler, flavonoidler, glutatyon ve tiyoller, koenzim Q, ubikinon ve türevleri diğer antioksidan molekül kaynakları olarak bilinmektedir (Gate ve ark. 1999).



Şekil 5. Antioksidanlar.

1.7.1. Malondialdehid (MDA)

Organizmalarda metabolizmanın ürünü olarak oksidan moleküller ve diğer bazı güçlü oksidanlar ortaya çıkar. Bu oksidanlar ya da serbest radikaller genellikle çözeltilerde ve lipid ortamlarında bağımsız bir şekilde bulunurlar (Agarwal ve ark. 2005). Bu güçlü oksidanlar mitokondriyal elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiyotik metabolizması, fagositik hücrelerin doğal uyananlarla aktivasyonu ve biyokimyasal yıkım olayları gibi doğal durumların neticesinde ortaya çıkmaktadırlar (Öztürk ve ark. 2003). Reaktif oksijen türleri (ROS) reaktif nitrojen türleri (NOS) ile birlikte serbest radikallerin en önemli iki çeşidi olarak bilinmektedir. ROS ve NOS'lar özellikle lipidler üzerinde toksik etkiye sahip olmalarının yanı sıra DNA, proteinler ve karbonhidratlar üzerinde de toksik açıdan oldukça etkilidirler. Hücre ve dokularda işlevsel bozukluklar, doku hasarı, hücre ölümü gibi sorunlara yol açabilmektedirler.

Serbest radikallerin lipidler üzerindeki bu etkileri sonucunda membran ve lipoproteinlerin yapısındaki yağ asitlerine oksitleyici ajanlarının etkisi ile lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir (Gate ve ark. 1999).

Serbest radikallerinin etkileri ile oluşan lipid peroksidasyonu sonucunda oldukça fazla toksik etkiye sahip malon dialdehid ve 4-hidroksinonenal (HNE) gibi ürünler oluşmaktadır. Malondialdehit (MDA) oldukça fazla reaktif özellik gösteren bir aldehit türevi olarak bilinir ve proteinlerin amino grupları, fosfolipidler veya nükleik asitlerle reaksiyona girerek biyolojik moleküllerin yapılarında modifikasyonlarına neden olur. MDA membran yapılarına yapmış olduğu etki ile yapısal bozukluklara, geçirgenliklere, iyon taşıma ve enzim aktiviteleri gibi durumlar üzerine oldukça etkili olup harabiyete sebep olmakta ve oksidatif hasarın sistematik dolaşımında saptanabilen bir göstergesi olarak oksidatif stres indikatörlerinden biri olarak kullanılmaktadır (Knight 1999, Koca 2007). Lipid peroksidasyonunda son ürün olarak bilinen MDA proteinlerin amino gruplarına fosfolipidler veya nükleik asitlerle bağlanarak toksik etkisini göstermekte ve aynı zamanda dokularda meydana gelen aktivitelerin zincirleme hızlarının ve ROS seviyesinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir gösterge olarak kullanılmaktadır (Yarıktaş ve ark. 1996).

1.8. Detoksifikasyon Mekanizmalarında Antioksidanlar ve Roller

Atomların yapısında uzaysal alanda ve çift halde bulunan elektronlara “orbital” adı verilmektedir. Moleküller çoğunlukta çift az sayıda da tek elektronlu ya da bir diğer ifade ile eksik elektronludurlar. Eksik elektronlu olan moleküller ortamda bulunabilecek herhangi bir elektron ile etkileşime girerek elektron alarak ya da bir elektron vererek fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında diğer moleküllerin yapısını bozarlar. Bu moleküller “oksidan moleküller” ya da “reaktif oksijen partikülleri” (ROS) olarak adlandırılmaktadırlar. Süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri serbest radikaller olarak bilinen moleküllerin en önemlilerinden kabul edilmektedir (Akkuş 1995, Delibaş ve Özcankaya 1995).

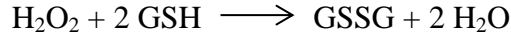
Metabolizmada reaktif, enerjetik ve metabolik üç önemli mekanizma ile oluşan serbest oksijen radikalleri normalden fazla reaktiviteleri sebebi ile hücrelerde oldukça fazla hasarlar meydana getirmektedirler. Organ ve dokularda oksidan ve antioksidan arasında bulunan mevcut dengenin fizyolojik sınırlar arasında tutulması hayati önem taşımaktadır (Pellegrini ve ark. 2009)

Oksidan moleküller bağımlılık yapan maddeler, çevresel faktörler, radyasyon, aktif fagositler tarafından enzim ve protein yapılarının değiştirilmesi, mitokondri elektron transport sistemi aktivitesi, plazma membranı taşıma sistemleri aktivasyonu sonucunda oluşabilmektedir. Metabolizmada mevcut önemli oksidan moleküllerin büyük çoğunluğu oksijen kaynaklıdır ve hücrelerin hasarlı olduğu durumlarda fazla oranda serbest oksijen radikalleri üretilmektedir (Mccord 1993). Serbest radikaller olarak da adlandırılan oksidan moleküller hücrelerde protein, karbonhidrat, lipid, enzim ve DNA gibi molekül grupları ile reaksiyon oluşturarak onların metabolizmalarını etkilemektedirler. Serbest radikaller lizozom ve mitokondriyi saran zar permeabilitesini artırıp parçalamakta, ekstrasellüler matrikste hyaluronik asit ve kollojen yapıda değişiklik meydana getirmekte, membran yapısındaki fosfolipidlerin poliansature yağ asitlerinin peroksidasyonu ile dokularda ve hücrelerde zarara yol açmaktadır (Akkuş 1995, Halliwell ve Gutteridge 1996).

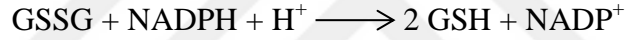
Vücut, oluşan reaktif oksijen türevleri ile bunların meydana getirdiği hasarları engellemek için antioksidanlar olarak adlandırılan birçok savunma mekanizması oluşturmuştur. Peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engellemek ya da reaktif oksijen türevlerini toparlayıp inhibe etmek üzere görev alan antioksidanlar doğal ve eksojen kaynaklı olabilmektedirler. Enzim yapıda olan antioksidanlar ve enzim yapıda olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilceği gibi, serbest radikallerin oluşumunu engellemek üzere görev alanlar ve mevcut radikalleri işlevsiz hale getirmek üzere görev alanlar olarak da sınıflandırılabilirler. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz enzim yapıda olan antioksidanlar olarak adlandırılırken; β karoten, askorbik asit, sistein, seruloplasmin, transferrin, urat, tokoferol ve albümin ise enzim yapıda olmayan antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır (Durak ve ark. 1996).

1.8.1. Antioksidan Sistemlerin İçinde GSH ve GSH-Px'in Yeri

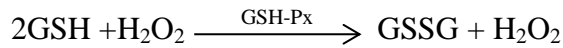
GSH-Px yapısında dört selenyum atomu bulundurmasından dolayı seleno-sistein sınıfına dahil olup, katalitik aktivasyonu olan bir bileşiktir. GSH-Px glutasyonu okside ederek H_2O_2 'yi H_2O 'ya indirgemekte ve ko-substrat olarak glutatyona ihtiyaç duymaktadır.



Okside olmuş olan glutasyonun yeniden GSH'a indirgenmesi glutasyon redüktaz (GR) ile sağlanmakta ve reaksiyonda SOD en üst düzeydeki aktivasyonu için bakır, çinko, manganze ihtiyaç duyarken GSH-Px selenyum, katalaz ve demir gibi geçiş metallerinin kofaktörlüğüne gereksinim duymaktadır (Garewal 1997).



Glutasyon (GSH) 1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilen, bütün aerobik hücrelerde milimolar ölçeklerde bulunan ve hücrelerdeki fonksiyonel proteinleri oksidan moleküllere karşı koruma yeteneğinde olan atipik bir tripeptitdir (Gözükara 1997). GSH, glutasyon peroksidaz aracılığıyla katalize olan reaksiyonlarda toksik ajan olan hidrojen peroksidin suya yıkımını sağlamaktadır. Bu esnada indirgenen GSH önce okside glutatyona (GSSG) daha sonra glutasyon redüktaz aracılığı ile GSH'a dönüştürülmektedir (Garewal 1997).



Enzimatik reaksiyonlar için kofaktör olan GSH, proteinlerin sülfidril gruplarını redükte eder ve protein disülfid redüktaz enzimi, glutayon ve proteinler arasındaki sülfidril disülfid değişimlerini katalizler. GSH hücre membranlarından aminoasit taşınımını sağlamakta ve GSH sülfidril grubu oksijen taşınımı esnasında meydana gelen peroksitlerin redüktasyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca GSH'ın etil alkol

metabolizması reaksiyonları ve solunum aracılığı ile meydana gelen peroksitlere karşı oldukça önemli bir savunma mekanizması olarak görev aldığı bildirilmiştir (Das ve Vasudevan 2007).

Birçok araştırma ve çalışmada antioksidanlar hakkında detaylı bilgiler verilerek GSH ve GSH-Px'in hem metabolik aktivitelere hem doku ve hücrelerde oluşan harabiyetlerde hem de karaciğer hastalıkları ve alkol temelli sorunların neticesinde çıkan problemlerde aldıkları görevlerden bahsedilerek özellikle oksidatif stresteki aktif rollerine değinilmiştir. Pari ve Suresh (2008), alkolik karaciğer hastalığı ilerleme esnasında oksidatif stresin çok önemli bir rol oynadığı ve antioksidanların oksidatif strese karşı mücadelesinden bahsetmişlerdir. Chen ve Sulik (1996), Collins ve ark. (1998), Heaton ve ark. (2000) yaptıkları alkol ve oksidatif stres üzerine yaptıkları farklı çalışmalarda, alkolün oksidatif stres ve serbest radikal oluşumunda oldukça fazla katkı sağladıklarını ve antioksidan moleküllerinse bu oluşumu engellemeye yönelik katkıları olduğuna değinmişlerdir. Delibaş ve Özcankaya (1995), yaptıkları çalışmalarında serbest radikallerin birçok probleme yol açtıkları lipid, protein ve nükleik asitler gibi hayati önemi oldukça yüksek moleküllerde tahribata yol açacak reaksiyonları başlattıkları ve bu hasarları önleme adına GSH, GSH-Px gibi antioksidan mekanizmaların faaliyetlerinin yüksek olduklarını bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, kanser durumlarında aktif olan antioksidanlardan bahsedilerek, bunların fagositoz yeteneği olan hücrelerde oldukça önemli aktivitelere rol aldıklarını ve öteki antioksidan moleküllerle birlikte hareket edebildikleri belirtilmiştir. Özellikle GSH ve GSH-Px'in, solunum patlaması neticesinde oksidan moleküllerin peroksidasyonu ile fagositik hücrelerde meydana gelen harabiyeti engelledikleri ve eritrositlerde oluşabilecek olan oksidatif stres durumlarına karşı etkili antioksidan oldukları bildirilmiştir (Kılınç 1986).

1.8.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar ve Bazı Tek Hücrelilerin Antioksidan Sistemlerdeki Yeri

Enzimatik olmayan antioksidanlardan vitamin E olarak da adlandırılan Alfa Tokoferol, hücrelerdeki yağda varlığı tespit edilmiş olan ana antioksidan olarak bilinmektedir. Plazma seviyesinde belirgin olan ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olarak bilinen α tokoferolün yanısıra yedi tip daha vitamin E bulunmaktadır. Bunlar; α , β , γ , ve δ -tokoferol ile α , β , γ , ve δ -tokotrienol olarak adlandırılmaktadırlar. Esansiyel bir antioksidan çeşidi olan vitamin E'nin harici olarak alınması zorunluluğu yağlar, çimlenen tohum, fındık ve tahıl türevi gıdalarla karşılanmaktadır. Yaklaşık olarak % 40'ının yağ ile birlikte bağırsak kısmında emilimi gerçekleşmekte ve emilimden sonra şilomikronlar aracılığı ile lenfte taşınıp kan dolaşımına katılmaktadır. Tokoferoller yağ dokuda depolanmakta iken özellikle alfa tokoferole afinitesi yüksek endoplazmik retikulum, mitokondri ve plazma membran fosfolipitlerinde yoğunlukları artmaktadır. Vitamin E'nin enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak aktivite göstermemesinden kaynaklı olarak bir vitaminden ziyade antioksidan olarak tanımı yapılmıştır (Baskin ve Salem 1997). Çözünme yeteneğinin var olmasından dolayı hücre membranlarının çift tabakalı yapıları içerisine girebilmekte olan tokoferollerin asıl görevleri hücrel membranlarda oluşan harabiyetin önlenmesi ve membran fosfolipidlerinde peroksidasyonu engellemesidir. Bir H atomu ile oksidant moleküle bir elektron transfer eden tokoferol-OH hücre membranı proteinleri ile aktivasyon göstermesini ya da lipit peroksidasyonunu engellemektedir. Oksidant molekül ile etkileştiği esnada tokoferol-O- radikali meydana getiren tokoferol-OH yeterli miktarda askorbik asit bulunuyorsa zayıf bir oksidant molekül olan semidehidroaskorbat ve tokoferol-O- meydana gelerek, kuvvetli bir oksidant işlevsiz hale gelirken daha zayıf bir oksidant molekül olan dehidroaskorbat oluşmakta ve tokoferol-OH tekrardan kazanılmaktadır (Baskin ve Salem 1997, Carr ve ark. 2000).

Bitkisel besinlere, sebzelere ve meyvelere renk veren maddeler olan karotenoidlerin vitamin A'nın öncülü olarak antioksidan etki gösterdikleri bilinmektedir. α -karoten, β -karoten, likopen, krosetin, kantaksantin ve fukosantin karotenoidler içerisinde en fazla bilinen ve etkileri hakkında bilgiler elde edilen

karotenoidlerdir. β -karoten olarak bilinen karotenoid iki molekül retinol (vitamin A) tarafından meydana gelmekte ve perhiz durumlarında ince bağırsak mukozasında emilerek retinole dönüştürülmektedir. Singlet oksijeni tutma, oksidant molekülleri temizleme ve hücre membranı lipitlerini oksidatif bozulmaya karşı korumak β -karotenin oksidatif stres durumunda meydana gelen antioksidan etkileri olarak görülmektedir. Singlet oksijeninin enerjisi karotenoide aktararak sabit olmayan bir molekül oluşturulmaktadır. Eritropoietik porfiri durumunda β -karoten singlet oksijenini temizleme görevini yapmakta ve fotosensitif bir bozukluk olan bu durumun düzeltilmesinde aktif rol oynamaktadır. Aşırı yoğunlukta pro-oksidan gibi davranan ve proteazları aktif hale getiren β -karotenin ROS'ları da etkisiz hale getirerek düşük oksijen basıncında peroksil radikali ile doğrudan tepkimeye girmesiyle yüksek oksijen basıncında vitamin E ile aynı etkiyi gösterip sinerji oluşturulmasına katkı sağlamaktadır (Baskin ve Salem 1997).

Vitamin C yada bir diğer adıyla Askorbik asit suda çözünebilir antioksidan olarak bilinmekte ve patates, domates, yeşil yapraklı sebzeler, turunçgillerde bulunmaktadır. İnsanlar ve hayvanlar vitamin C'yi dışardan gıdalar ile almak zorundadırlar. L-glukanolakton oksidaz enzimi insan ve hayvanlarda mevcut olmamalarından dolayı d-glikozdan l-askorbik asit sentezlenememekte ve harici takviye ile bu eksiklik giderilebilmektedir. Suda çözünme yeteneğinde olan ve zincir kıran özelliğinde olan vitamin C detoksifikasyon metabolizması esnasında oluşan oksidant molekülleri ve ROS'ların işlevini sonlandırıp redükte edici özelliğine bağlı olarak oksijen, nitrat, sitokrom a ve c'yi indirgeyebilmektedir. Bir elektron verilerek askorbat semidehidroaskorbat (DHA) radikale çevrilmekte ve yine askorbat, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile hızlı ve kolayca reaksiyona girmesiyle DHA oluşturarak vitamin C kaynağı olarak metabolik faaliyetlerde kullanılmaktadır (Baskin ve Salem 1997).



Askorbatın α -tokoferole nispeten LDL oksidasyonunu daha şiddetli bir şekilde önleme yeteneği olduğu yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Carr ve ark. 2000). Oksidatif stres durumlarında LDL ve askorbat birlikte inkübe edildiğinde, LDL

oksidasyonunun engellenerek LDL partiküllerinde mevcut endojen antioksidanların korunması sağlanmıştır. Yine vitamin E'nin rejenerasyonunu α -tokoferoksil radikali ile aktive olarak tokoferol meydana getiren ve kendisi de dehidroaskorbik aside dönüşen vitamin C sağlamaktadır (Proteggente ve ark. 2000).

Sistein, glisin ve glutamattan direk olarak vücutta sentezi gerçekleştirilen glutatyonun (GSH) redoks çemberinde hazır bir substrat olarak hidroksil radikalleri ile singlet oksijenini temizlemekte önemli bir görevi bulunmaktadır. Oksidant moleküllerini doğrudan yok etmesine ek olarak GSH-Px ile birlikte enzimatik reaksiyonlarda görev almaktadır. Glutatyon hücrelerde enzim olarak ve bundan başka hücrenel bileşenlerin indirgenmesinde rol alarak hayati bir öneme sahip olduğu bilinmektedir. Yaklaşık olarak % 40'ı safra yolu ile atılan glutatyon karaciğerde sentezlenmekte ve ksenobiyotiklere karşı savunma mekanizmasında görev alarak, lipid peroksidasyonunu önlediği ve bağırsak epitelini oksidant moleküllere karşı koruduğu düşünülmektedir (Maher ve ark. 2008).

1.9. Algler ve *Chlorella vulgaris*'in Genel Özellikleri

Algler, genelde suda yaşayan bazı türleri de karada yaşama uyum sağlamış makroalg ve mikroalg olarak iki sınıfa ayrılan, besinlerini absorblayarak alan mantar benzeri bir hücreli canlılar olarak tanımlanmaktadır (Campbell ve Reece 2008). Mikrometre boyutunda olan algler ya da ölçümleri mikrometre cinsinden hesaplanan algler mikro alg, inç ölçümünde olan ya da daha büyük ebatta olan algler de makro algler olarak adlandırılmaktadır (Pamir 1985). *Chlorophyta* grubundan *Chlorellaceae* ailesine mensup olan küreye benzer veya birden fazla köşeye sahip, tek hücreli veya koloni tarzındaki suyosunları içerisinde en önemlisi ve ticari ürün değeri olan cinsi *Chlorella*'dir. Bir hücreli, basit ve küçük olan *Chlorella* cinsi hareketsizdirler. Nemli yerlerde, ağaç yüzeylerinde ve tatlı sularda yaşamaktadırlar. *Chlorella* cinsine ait türlerin bazısı içerdikleri yağ ve proteinden dolayı gıda takviyesi olarak kullanılmak üzere kültürü yapılmaktadır. *Chlorella* cinsinin en önemli türleri *C. vulgaris* ve *C. pyrenoidosa* olmak üzere *C. tetraedron*, *C. bicuspidella*, *C. muriella*'dir (Çolakoğlu 1999).

Algler içerikleri bakımından yedi grupta sıralanırlar:

1. Mavi-Yeşil Algler (*Cyanophyta*)
2. Yeşil Algler (*Chlorophyta*)
3. Esmer Algler (*Phaeophyta*)
4. Ateş Rengi Algler (*Pyrophyta*)
5. Kırmızı Algler (*Rhodophyta*)
6. Altın Rengi Algler (*Chrysophyta*)
7. Kamçılı Algler (*Euglenophyta*)

Geniş bir yaşam alanına sahip olan algler kutup bölgelerinden yaklaşık 90°C'lik ısıya sahip sıcak su kaynaklarına bazı formları karasal ortamlarda olmak üzere genellikle sucul ortamlarda yaşamaktadırlar. Güneş ışığına olan ihtiyaçlarından dolayı alglerin derin sularda yaşaması sınırlanmakta, bazı tatlı su algleri metabolizmalarının adapte olma yeteneklerinden dolayı tuzlu sularda yaşamlarını sürdürebilmektedirler. *Chlorella* gibi kamçı ve hareket organına sahip olmayan algler sürekli hareketsizlik gösterirler ve yayılışları suların dalga, akıntı, yükselme ve alçalmaları sayesinde gerçekleşmektedir. *Chlamydomonas* gibi kamçı ve kirpiksi yapılara sahip türler hareketlidirler. Hareketli olan türler aynı zamanda tutunma organı gören hareket organları aracılığıyla sucul ortamlardaki kaya, taş ve diğer maddelere tutunarak yayılışlarını gerçekleştirmektedirler (Pamir 1985).

Algler eşeyli, eşeysiz ve vejetatif olarak çoğalabilme yeteneğindedirler. *Chlamydomonas* gibi olanlar hem eşeyli hem eşeysiz üreyebilmektedir. Eşeysiz üremede herhangi bir hücre ile birleşme gerçekleşmeden çoğalabilme yeteneğine sahip farklılaşmış ya da özelleşmiş sporlar yardımıyla yapılmaktadır. Eşeysiz üremede her bir hücre bölünmeler gerçekleştirerek yavru hücreler meydana getirmektedir. Eşeyli üremede ise aynı ya da farklı iki birey, eşey bakımından farklı olan iki üreme hücresi veya nükleusun birleşerek gelişmesiyle gerçekleşmektedir. Erkek ve dişi gametler bir araya gelerek dikenli ve duvarları kalın zigot meydana getirmektedirler. Daha sonra çimlenen zigot dört haploit vejetatif hücre meydana getirmektedir. Vejetatif üreme şekli

ise bütün alglerde görülmekte ve kopma veya hücre bölünmesi şeklinde, özelleşmiş bir hücre meydana getirmeden gerçekleşmektedir (Pamir 1985).

Alglerin özelleşmiş bir şekilde beslenme biçimleri yoktur ve oldukça basittir. Vitamin kaynaklarına ihtiyaç duymadan nitrat veya amonyağı azot (N) kaynağı olarak kullanılmaktadırlar. Mavi-yeşil alg türlerinde fotosentez yapılmasına ek olarak heterokist olarak adlandırılan özelleşmiş yapılar içerisinde oksijensiz koşullarda azot bağlanması gerçekleştirilmektedir (Pamir 1985).

1.9.1. Ekonomik Değerleri ve Kullanım Alanları

Algler ve alglerin kullanım alanları hakkında M.Ö. 2700'lü yıllara dayanan verilerle birlikte Çin Kralı Shen Nung'un algleri kullanan ilk kişi olarak bilinmektedir. Fakat milattan sonra hem tıp alanında hem de gıda takviyesi alanında kullanımı yaygınlaşan alglerin 1670 yılları civarında bazı çalışmalarda kullanıldığından bahsedilmektedir. İyod ve bromun yan ürün olarak kullanıldığı alg sanayisi olarak adlandırılan sahada gıda takviyesi ve tıp alanında kullanımından başka Agar-agar, Carragen, Alginat gibi önemli maddelerin yapımında da kullanılmaktadır. Kullanım alanları ise aşağıdaki gibi çok geniş alanlara yayılmıştır (Güner ve Aysel 1999):

- Boya Sanayisi
- Tekstil Sanayisi
- Kauçuk ve Kağıt Sanayisi
- Kozmetik ve İlaç sanayisi
- İnşaat ve Yiyecek Sanayisi
- Gübre, Ziraat ve Gıda sanayisi

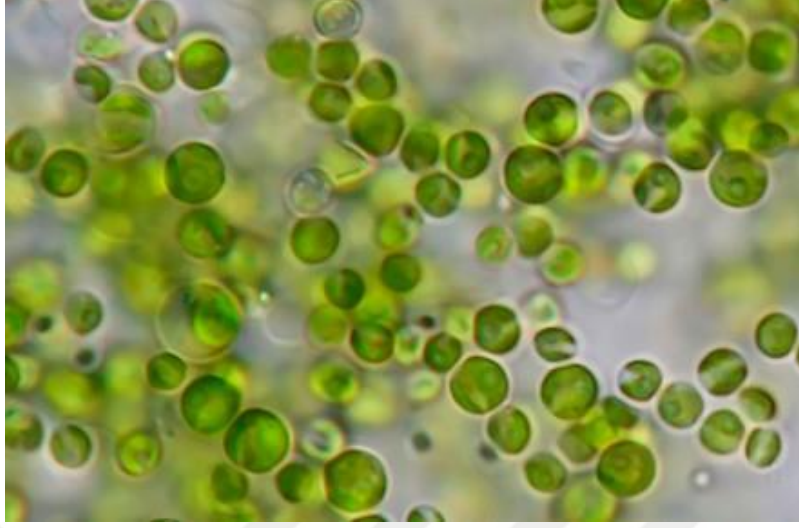
1.9.2. Mikroalgler

Prokaryotik ve ökaryotik olan mikroalgler değişik ortamlarda yaşamaya uyum sağlamış hızlı büyüyüp fotosentez yapabilme yeteneğinde olan, oldukça fazla protein, karbonhidrat ve yağ bulunduran, selüloz duvarı ile çevrili mikroorganizmalardır (Costa ve Morais 2014).

1.9.2.1. *Chlorella vulgaris*

Chlorella türlerinden *C.vulgaris*, *Hydra viridis* gibi ilkel hayvanların sitoplazmalarında yaşarken simbiyotik olarak likenlerde de mevcuttur. Yuvarlak hücrelere sahip ve çok rahat suda kültürü hazırlanabilmesinden dolayı deneylerde özellikle fotosentez deneylerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Oldukça basit çekirdeğe sahip etrafında “U” şeklinde kloroplast bulundurmakta ancak pirenoide sahip değildir. 2, 4, 8, 16 hücreye bölünmekle beraber gametleri hakkında henüz bilgi mevcut değildir. Klorelin adında benzol ve kloroformda eriyen bir madde de *C.vulgaris*’ten elde edilerek bazı bakterilere karşı antibiyotik tedavisinde kullanılır (Karamanoğlu 1977).

Chlorella’nın kloroplastları kase görünümündedir. Hücreleri 2-5µ büyüklükte, küresel, basit ve kamçıya sahip değildir (Şekil 6). *Chlorella* vitamin, protein, mineral, aminoasit, nükleik asitler, temel yağ asitleri, enzimler ve karetenoidler bakımından oldukça zengindir. Klorofil oranı açısından bilinen en yüksek kaynak olup % 50-60 oranında proteinden oluşmaktadır. Sığır karaciğerindeki B₁₂ vitamininden daha fazla miktarda B₁₂ vitamini içermekte ayrıca demir, iyot, çinko, magnezyum, fosfor ve kalsiyum da içermektedir (Jensen 1987, Singh 1998).



Şekil 6. *Chlorella vulgaris*'in mikroskop altındaki genel görünümü.

1.9.2.1.1. *Chlorella vulgaris*'in Sistematikteki Yeri

Chlorella vulgaris ve *C.pyrenoidosa* sahip olduğu yağ ve protein maddelerinin fazla bulunması nedeniyle kültürü yapılan ve klorofillin antibiyotiği veren familyanın türleri arasında en önemli iki cins olarak göze çarpmaktadır (Güner ve Aysel 1999).

Chlorella vulgaris oldukça farklı ortamlarda yaşama yeteneğinde olan sucul yaşam alanlarında plankton şeklinde ya da toprak ortamında yayılma gösteren yeşil bir alg türüdür. *Chlorella vulgaris* in sistematikteki yeri Tablo 1'de gösterilmiştir (Beijerinck 1890).

Sistemik Basamağı	İsim	Tür Sayısı
Üstalem	<i>Eukaryota</i>	24,617
Alem	<i>Plantae</i>	12,329
Şube	<i>Chlorophyta</i>	4,037
Sınıf	<i>Trebouxiophyceae</i>	175
Takım	<i>Chlorellales</i>	63
Aile	<i>Chlorellaceae</i>	63
Cins	<i>Chlorella</i>	33
Tür	<i>Chlorella vulgaris</i>	5

Tablo 1. *Chlorella vulgaris*'in sistematikteki yeri.

1.10. Etil Alkol Toksikasyonunda *Chlorella Vulgaris*in Etkileri

Chlorella vulgaris barındırdığı yüksek miktardaki antioksidan molekülerden dolayı serbest radikallerden kaynaklanan hasarları tedavi edici etkisi bulunan ve takviye besin olarak da tüketilen tek hücreli bir algdir. Karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler, esansiyel aminoasitler, yağ asitleri, vitaminler ile makro ve mikro besin maddelerini içeren *Chlorella vulgaris*; alfa-beta karoten, alfa tokoferol, likopen, lutein, zeaksantin gibi birçok antioksidan yapılı maddeyi barındırmakla birlikte magnezyum, çinko, bakır gibi iz elementlerini de içerecek oksidatif stres çalışmalarında rağbet gören bir alg çeşidi olagelmıştır. Yapılan çalışmalarla birlikte toksik durumlarda oldukça etkili olduğu ve antitümör etkisi ortaya konularak hipertansiyon kontrolünde, ülser, kronik yorgunluk ve uykusuzluk problemlerinde verimli sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Aizzat ve ark. 2010).

Chlorella vulgaris vücut fonksiyonlarını dengede ve kararlı bir yapıda tutulması için hücresel boyutta hem ihtiyaç duyulan besinleri en üst seviyede tutmakta hem de vücutta oluşan metabolik artıkları temizlemede yardımcı olmaktadır. En zengin klorofil

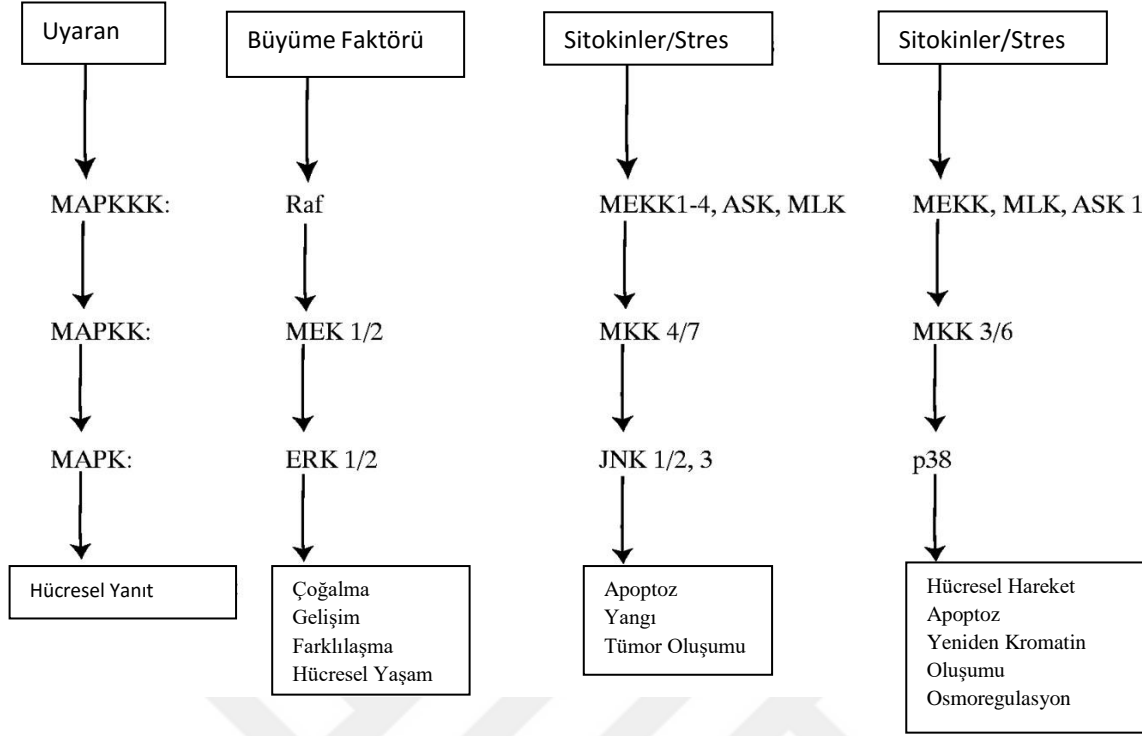
kaynağı olarak bilinen *Chlorella vulgaris* sahip olduğu bu klorofilden dolayı sindirim sisteminde özellikle kötü koku oluşturan bakterileri ortadan kaldırarak sindirim faaliyetlerine yardımcı olmaktadır. Yine klorofilin hemoglobine benzerliğinden dolayı kan yapımını artırdığı bildirilmiştir (Akbaba 2003).

Metabolizmada hücresel hasar, hücre ölümü ve doku ölümü gibi oksidant moleküllerden kaynaklı bir takım durumların *Chlorella vulgaris* tarafından antioksidan özelliği ve koruyucu yapısından dolayı önlenebildiği çeşitli araştırmaların sonuçları ile bildirilmiştir (Mallick 2004, Shim ve ark. 2008). Bir araştırmada *Chlorella vulgaris*'in ağır bir metal olan ve toksik etkisi oldukça yüksek olan kurşunun sebep olduğu beyin hücrelerindeki oksidatif hasarı azalttığı ve engelleyici etki gösterdiği bildirilerek kadmiyum (Cd) ile oluşturulan hepatoksisitede antioksidan etkisini göstererek nekrozu engellediği gösterilmiştir (Yun ve ark. 2011). Reaktif oksijen türlerinin ve oksidant moleküllerinin artması mutasyona sebebiyet, karsinojen, yaşlılık ve yağlanma gibi sonuçlar doğurarak sorunu hücre hasarı ve doku harabiyeti gibi endişe verici boyutlara taşıyabilmektedir. Eksojen ve andojen kaynaklı birçok yolla metabolizmada artan oksidant moleküller antioksidan sistemleri uyarmakta ve hücresel savunmayı başlatmaktadır. *Chlorella vulgaris* içerdiği bileşiklerle birlikte enzimatik olmayan antioksidanlardan GSH ve enzimatik oksidan sistemlerinden GSH-Px ve SOD'u aktive ederek toksik durumlara karşı hücresel savunmayı güçlendirip oksidatif durumun sonuçlarını ortadan kaldırmaya çalışmaktadır (Peng ve ark. 2009). *Chlorella vulgaris* içerdiği nükleik asitler sayesinde vücut enzimleri, protein ve enerji üretimini düzenleyerek özellikle proteinlerin aminoasitlere dönüşümüne yardımcı olmaktadır. İçerdiği bileşikler aracılığı ile toksik madde oluşumlarında detoksifikasyon oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu detoksifikasyon etkinin enzimler ve aminoasitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca yapılan araştırmalara göre *Chlorella vulgaris* 'te mevcut olan selüloz çeperinin özellikle sindirim sistemindeki ağır metallere ve hücresel hasar oluşturacak kimyasallara yapışarak organizmadan atılımını gerçekleştirmektedir (Akbaba 2003).

1.11. Mitojenlerin Aktive Ettiği Protein Kinaz (MAPK) Yolağı

Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz (MAPK), mayadan insana kadar tüm ökaryotik hücrelerde sinyal iletiminde hayati rolü olan, reseptörler aracılığı ile gerçekleşen uyarının iletiminden birinci derecede sorumlu ve MAPK süper ailesi (Şekil 7) olarak tanımlanan ailede yer alan bir dizi proteinin bilinen adıdır. Tüm ökaryotik hücrelerde yerleşmiş halde bulunan bu protein dizisi reseptörlerden hücreye gönderilen bilginin çekirdeğe taşınmasında önemli bir görev almaktadır. MAPK'lar ardı ardına birbirini takip eden yolaklarla aktif hale gelebilen ve hücrelerden gelen uyarılara yanıt olarak oluşturulan gen ifadeleri ve hücrenin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan sinyal iletiminden sorumlu proteinlerdir (Ichijo 1999, Hsu 2005, Cooper ve Hausman 2006). Üç ana gruba ayrılan MAP kinazlar apoptozis fonksiyonlarının düzenlenmesinde, yaşama, çoğalma, farklılaşma ve embriyogenezis gibi durumlarda aktif rol almaktadırlar (Platanias 2003). Bu üç grup aşağıdaki şekilde sınıflandırılır;

- p38 MAP kinase family
- Extracellular signal regulated kinase (ERK) family
- c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) family



Şekil 7. MAPK süper ailesinin döngüsü, sinyal yolağı, uyartılar, her bir modülün

(MAPK, MAPKK, ve MAPKKK) düzenleyici katmanları ve MAPK tarafından hücre çeşitliliğe yanıtların ortaya çıkarılması (Kyra ve Kenneth 2003). MAPK; Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz, MAPKK; Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz kinaz, Raf: MAPKKK, Erk; Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz, MEK; MAPK/ERK kinaz, JNK: c-Jun N-terminal kinases.

MAPK sinyal iletim yolağı hücrelerde proliferasyon için gerekli olan mitojen aktive edici kinaz/ERK kinaz (RAF), MEK (MAPK/ERK kinaz), ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) proteinlerinden oluşmaktadır. Hücrelerde büyüme faktörleri tarafından aktive edilen reseptör tirozin kinazlar (RTK) oluşturulmuş olan sinyalleri nükleusa ileterek gen ekspresyonunun aktivasyonuna yol açmaktadırlar (Schulz 2007). MAP kinaz yolağı reseptörler aracılığı ile gelen uyartıların hücre içerisine düzenli iletiminde görevli bir kinaz kaskadı olarak çalışmaktadır. Kaskad sistemi hem gelen uyartıların amplifikasyonu hem de sinyal süresi, sinyal boyutu ve sinyal kinetiği gibi düzenleyici etkileşimlerin düzeni açısından hayati önem taşımaktadır. Gelen uyartıların iletimi G-protein aktivasyonu (Ras aktivasyonu) ile başlamakta ve MAPKKK olarak adlandırılan MAP kinaz kinaz kinazın aktive edilmesi sonrasında önce MAPKK (MAP kinaz kinaz) sonra da MAPK (MAP kinaz) aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. MAPK hücre iskelet elemanları ve diğer protein kinazlar gibi sitoplazmik substratlarını ve

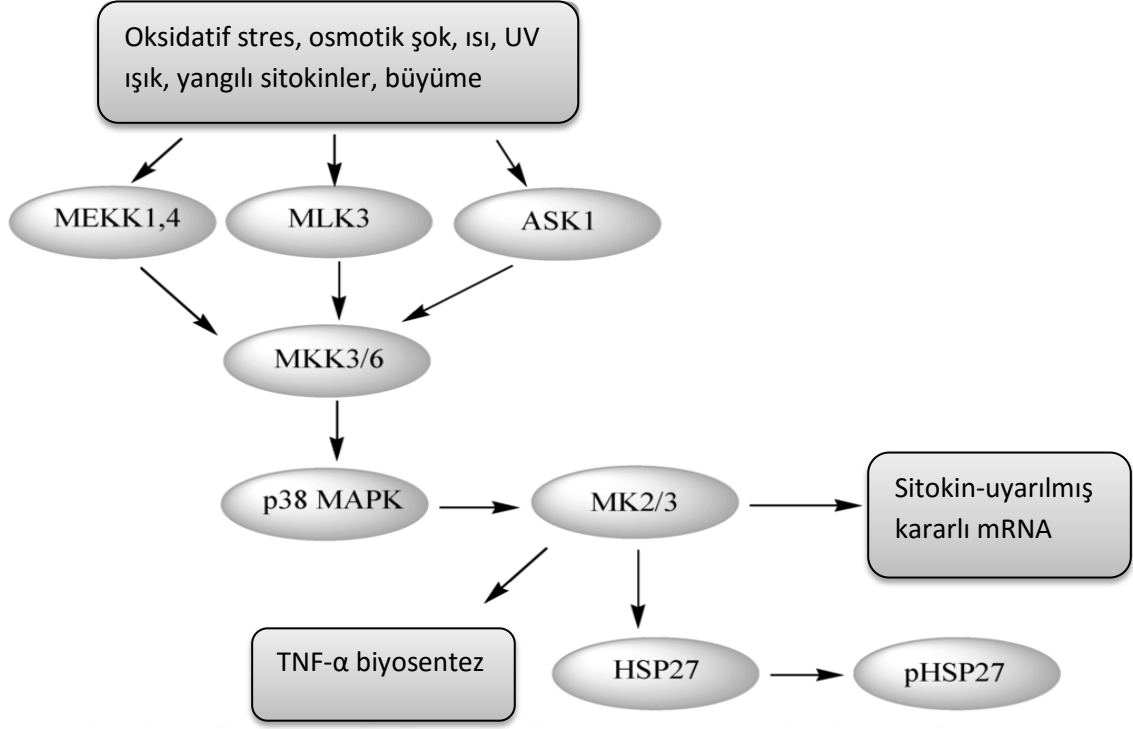
nükleusta mevcut transkripsiyon etkenlerini fosforilasyon yolu ile aktive ederek hücrede biyolojik cevap oluşturmaktadır (Kolch 2000).

Çeşitli biyolojik olayların ve değişik hücrel süreçlerin kontrol edildiği beş ayrı MAPK yolağı tomurcuklanan bir maya türü olan *Saccharomyces cerevisiae*'de tespit edilmiştir. Eşleşme, sporülasyon, hücre duvarı bütünlüğünün sağlanması, yaylımcı bölünme ve yüksek ozmolariteye cevap olarak bu biyolojik olaylar gerçekleştiği bildirilmiştir. High Osmolarity Glycerol-1 (HOG1) MAPK yolağı yüksek ozmolariteye cevap oluşturan bir yolak olarak adlandırılmakta ve ozmolaritenin yükseldiği esnada devreye girerek gliserolün üretilmesini sağlamaktadır. Bu yolağın aynı zamanda heat shock ya da sıcaklık şoku, oksidatif stres ve sitrik aside yönelik cevap oluşturduğu bildirilmiştir (Hunter ve Plowman 1997, Gustin ve ark. 1998). MAPK yolaklarını aktive etmekte içerisinde tirozin kinazlar, sitokin reseptörleri, Ser-Thr Kinaz reseptörleri de bulunan çok çeşitli reseptör aileleri yer almakta; hormonlar ve büyüme faktörleri de dahil olmak üzere farklı ve oldukça geniş uyarıcılar tarafından aktivasyonları sağlanmaktadır. Bu reseptörlerin uyarımları ise büyüme ve farklılaşma faktörleri, kanser yapıcı durumlar ve çevresel etmenler tarafından gerçekleştirilmektedir. MAPK'lar mayoz ve mitoz sonrasında, farklılaşmış hücrelerde meydana gelen mitoz sonrasında gerçekleşmekte olan fonksiyonlara katılarak metabolizma faaliyetleri, hareket ve programlı hücre ölümü gibi hücrel aktivitelerin düzenlenmesinde önemli rol almaktadırlar (Kyriakis ve Avruch 2001, Pearson ve ark. 2001, Johnson ve Lapadat 2002).

1.11.1. p38-MAPK Yolağı

Bira mayasında mevcut HOG1 proteininin memeli metabolizmasındaki eşdeğeri olarak kabul edilen ve genelde JNK ile birlikte aktifleşen fonksiyonel grup p38-MAPK olarak adlandırılmaktadır. p38-MAPK α , p38-MAPK β , p38-MAPK γ , p38-MAPK δ olmak üzere dört izoformu tespit edilen p38-MAPK ailesi çevresel etmenler ve sitokinler aracılığı ile aktif hale gelmekte, hücrel uyarılara yanıtlar oluşturmaktadır. p38-MAPK treonin ve tirozin alanlarında MKK3, MKK4 ve MKK6 kinazlar vasıtasıyla fosforilasyona uğrar ve aktif hale gelir. Yine MKK3 ve MKK6'nın proapoptotik

sinyaller ortaya çıkarması sonucunda apoptoze neden olması p38-MAPK'nın aktive olmasıyla gerçekleşebilmektedir (Şekil 8) (Xia ve ark. 1995, Wada ve Penninger 2004).

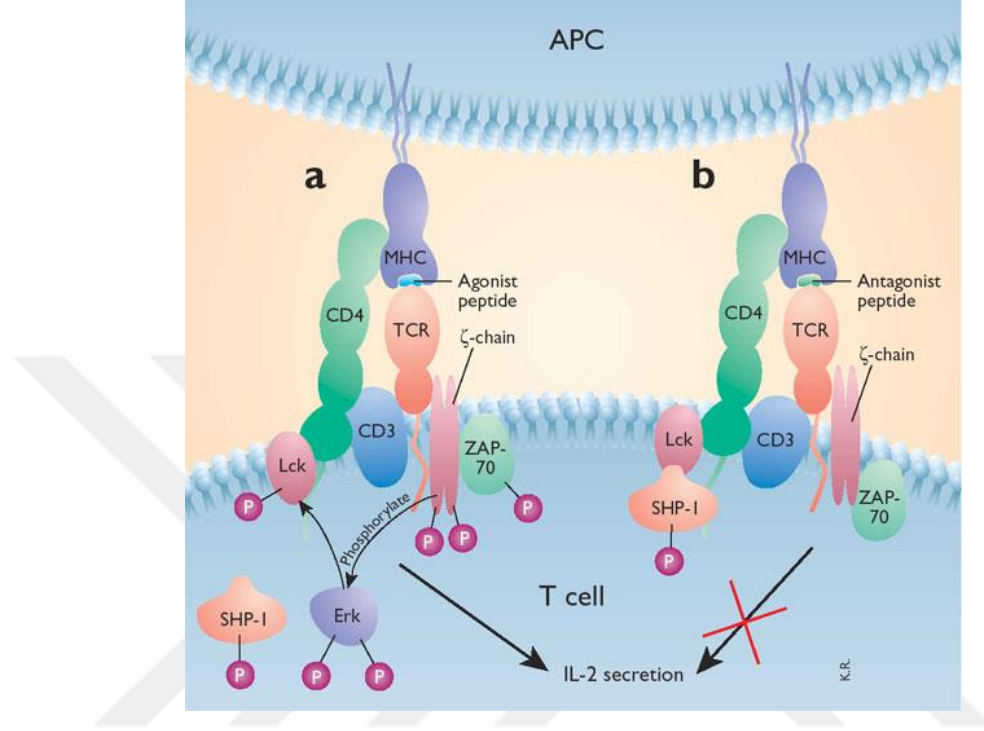


Şekil 8. P38-MAPK yolağının aktivitesi (Kyra ve Kenneth 2003).

1.11.2. ERK Yolağı

Mitojen aktive edici kinazlardan memeli hücrelerinde ilk olarak tespit edilip tanımlanan ERK yolağı ratlarda sarkomalara sebebiyet veren tümör virüslerinin onkolojik proteinleri olarak bilinen Ras protein çalışmaları ile ortaya konulmuştur. Büyüme faktörleri aracılığıyla aktivasyonu gerçekleştiren ERK yolağında protein-treonin kinazlar veya G proteinleri reseptör aracılı büyüme faktörleri tarafından uyarılmakta ve hücre çoğalmasında önemli rol oynamakta; hücrenin biyolojik fonksiyonlarının devamlılığı, farklılaşması, aktin iskeleti reorganizasyonu ve hücre göçünde oldukça fazla etkileri bulunmaktadır (Şekil 9.) (Wada ve Penninger 2004, Cooper ve Hausman 2006). ERK, ERK1 ve ERK2 ile aktive olmaktadır. ERK1 ve ERK2 hücre çoğalmasının sinyal iletiminde asıl üyelerdir ve p38-MAPK ile aralarında negatif düzenleyici bir etkiden bahsedilmektedir. Aktivasyonlarından sonra hücre nükleusuna geçerek bazı

transkripsiyon faktörlerini fosforilasyonla aktive ettikleri de bildirilmiştir (Köksoy 2002).



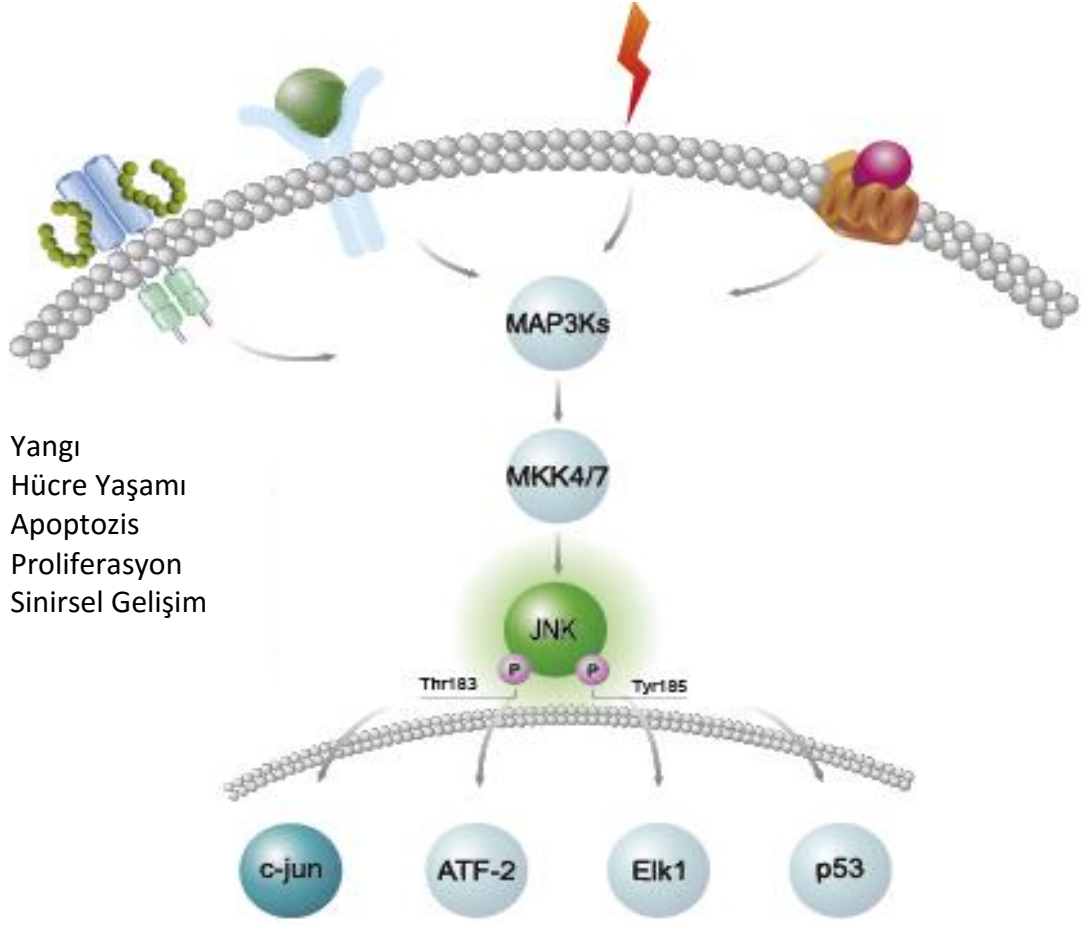
Şekil 9. Erk yolağı aktivasyonu (Kyra ve Kenneth 2003).

1.11.3. JNK Yolağı

Mitojen aktive edici protein kinaz süper ailesinden JNK yolağı veya bir diğer adlandırma ile stresin aktive ettiği protein kinazlar (SAPK) hücrede gelişimden, farklılaşmadan, hücre dönüşümünden ya da hücrede apoptozisi kapsayan oldukça etkili bir kontrol sürecinde rol almaktadır (Şekil 10.). Diğer yollarda olduğu gibi hücrenin yaşam ve ölümünün düzenlenmesinde rol almakla birlikte hücre göçünde de önemli rol oynayan bir sistemdir. JNK yolağının mitojen aktive edici kinaz kinaz (MKK4) ve MKK7 aracılığı ile aktivasyonu gerçekleşmekte oluşan uyarılara yanıt oluşturmaktadır (Xia ve ark. 1995, Wada ve Penninger 2004, Reno ve ark. 2009).

JNK yolağının tirozin ve treonin alanları MKK4 ve MKK7 aracılığıyla katalizlenen fosforilasyon reaksiyonu ile aktive edilmektedir. JNK'nın aktivasyonu

sonucunda çok çeşitli stres durumlarına karşı yanıtlar oluşturulur. Antikanser ilaçlar, protein sentez inhibitörleri, hiperosmolarite, toksinler, ısı şoku, seramid, T-hücre reseptör sitümilasyonu, peroksid ve daha birçok stres oluşturan durumlara karşı oluşan bu yanıtlar yolağın aktivasyonunu sağlayarak apoptozisin başlamasına öncüllük etmektedir (Xia ve ark. 1995, Wada ve Penninger 2004, Hsu 2005).



Şekil 10. JNK yolağı aktivasyonu (Kyra ve Kenneth 2003).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Hayvan Materyali

Çalışma Kafkas Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda KAÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK Karar No:2014-30) ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi. Bu çalışmada 10-12 aylık, 200-250 gr ağırlığında 24 adet erişkin erkek Sprague Dawley rat kullanıldı. Ratlar 25 C ısıda ve 12 saat gün ışığı/ 12 saat karanlık olacak şekilde standart ışık altında tutularak, ad libitum su ve yem ile beslendi.

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Aletler

- Spektrofotometre (PowerWave XS, BioTek, Instruments, USA)
- Etüv (Labart, DHG-9140A, South Korea)
- Homojenizatör
- Vorteks (IKA, Works Inc, USA)
- Soğutmalı santrifüj (Helius, Germany)
- Hassas terazi (Precisa, 205A SCS, Switzerland)
- Çalkalayıcı (Heidolph promax 2020, Germany)
- pH metre (Orion, 420 A, USA)
- Derin dondurucu(Arçelik, 2560, Turkey)
- Buzdolabı (Arçelik, Turkey)
- Ayarlanabilir otomatik pipetler (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl, Ependorf, Varipette, Germany)
- Işık mikroskobu (Olympus BX51, Japan)

2.1.3.Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler

- RAT MAPK14 ELİSA Kit (Elabscience Biotechnology Co., Ltd., P.R.C)
- Ethanol (Merck)
- Rat kafesi
- Rat yemi
- Vakumlu ve EDTA'lı kan alma tüpleri ve iğneleri (MN -2138M)
- 1.5 ml'lik ependorf mikro santrifüj tüpleri
- Otomatik pipet uçları
- 10 ml'lik cam ve polyetilen santrifüj tüpleri
- Etil alkol
- Chlorella vulgaris

2.2. Metot

2.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ratlar 3 gruba ayrılarak her grupta 8 hayvan bulunacak şekilde 2 deney ve 1 kontrol grubundan oluşturuldu. Kontrol grubuna 5 mg/kg izoklorik maltoz gavajla 12 saatte bir verildi. Alkol grubu (n=8)'nda bulunan ratlara 15g/kg/gün olacak şekilde ve %50 su ile dilüe edilerek Etil alkol, Chlorella grubu (n=8)'nda bulunan ratlara önce 300 mg/kg chlorella ve daha sonra %50 su ile dilüe edilerek 15g/kg Etil alkol verildi. Uygulamalar 20 gün süresince tekrar edildi.

Çalışmada kullanılan gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

Kontrol Grubu (n = 8, erkek)	:5 mg/kg izokalorik maltoz gavajla
Alkol grubu (n = 8, erkek)	:15 g/kg/gün Etil alkol + %50 su
<i>Chlorella</i> grubu (n = 8, erkek)	: Önce 300 mg/kg <i>Chlorella</i> , sonra 15 g/kg/gün Etil alkol + %50 su

Deney sonunda, eter anestezisi altında ratların batın ön duvarı insizyonla açıldı. Diyaframdan kalbe ulaşarak punksiyonla kanları alınan ratlar sakrifiye edildi. İntrakardiyal yolla EDTA'lı tüplere alınan kan numuneleri, +4° C, 3000 rpm'de, 5 dakika santrifüj edilerek plazmalar ve metotlara uygun olarak hazırlanan homojenatlar polietilen tüplere konularak laboratuvar işlemlerine kadar -20° C'de saklandı. Alınan kan numuneleri, MDA, MAPK, GSH ve GSH-Px değerlerine bakılmak üzere kullanıldı.

2.2.2. MAPK Düzeylerinin Belirlenmesi

MAPK düzeyleri RAT MAPK14 (Mitojen aktive edici protein kinaz 14) ELISA Kit (Elabscience Biotechnology Co., Ltd., P.R.C) kullanılarak belirlendi.

2.2.3. MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

Tiyobarbitürk asit (TBA) ile plazmanın 100° C'de inkübasyonu ile lipid peroksidasyonun (LPO) sekonder bir ürünü olan malondialdehit (MDA) oluşmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks yapar. Pembe rengin spektrofotometrede 532 nm'de ölçümü ile LPO nmol/g doku olarak belirlenir (Placer ve ark 1966). Standart eğri çizimi için 1,1,3,3 tetraetoksipropan kullanıldı.

2.2.4. GSH Düzeylerinin Belirlenmesi

GSH'nın sülfidril grubunun asitte çözünerek tiyol grubunun enzimatik veya kimyasal işlemler ile ölçülmesi bu bileşiğin miktar tayininin temelini oluşturur. 412

nm'de belirlenen absorbans değerleri nmol/g doku olarak ölçölür (Sedlak ve Lindsey 1968).

2.2.5. GSH-Px Düzeylerinin Belirlenmesi

Glutasyon peroksidaz aktivitesi kümen hidroperoksit ve indirgenmiş GSH'nın ko-substrat olarak kullanıldığı ve enzimatik reaksiyonlarda GSH azalması prensibine dayalı Ellman ayıracında 412 nm'de U/g protein olarak spektrofotometrik yöntemle ölçüldü (Lawrence ve Burk 1976).

2.2.6. İstatistiksel Analizler

İstatistik hesaplamalarda ONE-WAY ANOVA testi kullanılarak deneme gruplarının kontrol gruplarına göre değişimleri kıyaslandı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak belirlendi ve $p < 0.05$ istatistiksel farklılığı gösterdi. Tüm hesaplamalar SPSS (16.0-2010) paket programı kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının MAPK Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler

Grupların karaciğer, akciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularının MAPK düzeylerinde belirlenen değişiklikler Şekil 11’de gösterilmiştir.

Kontrol grubuna göre deneme gruplarının değerlerinin istatistiksel olarak belirgin düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$)

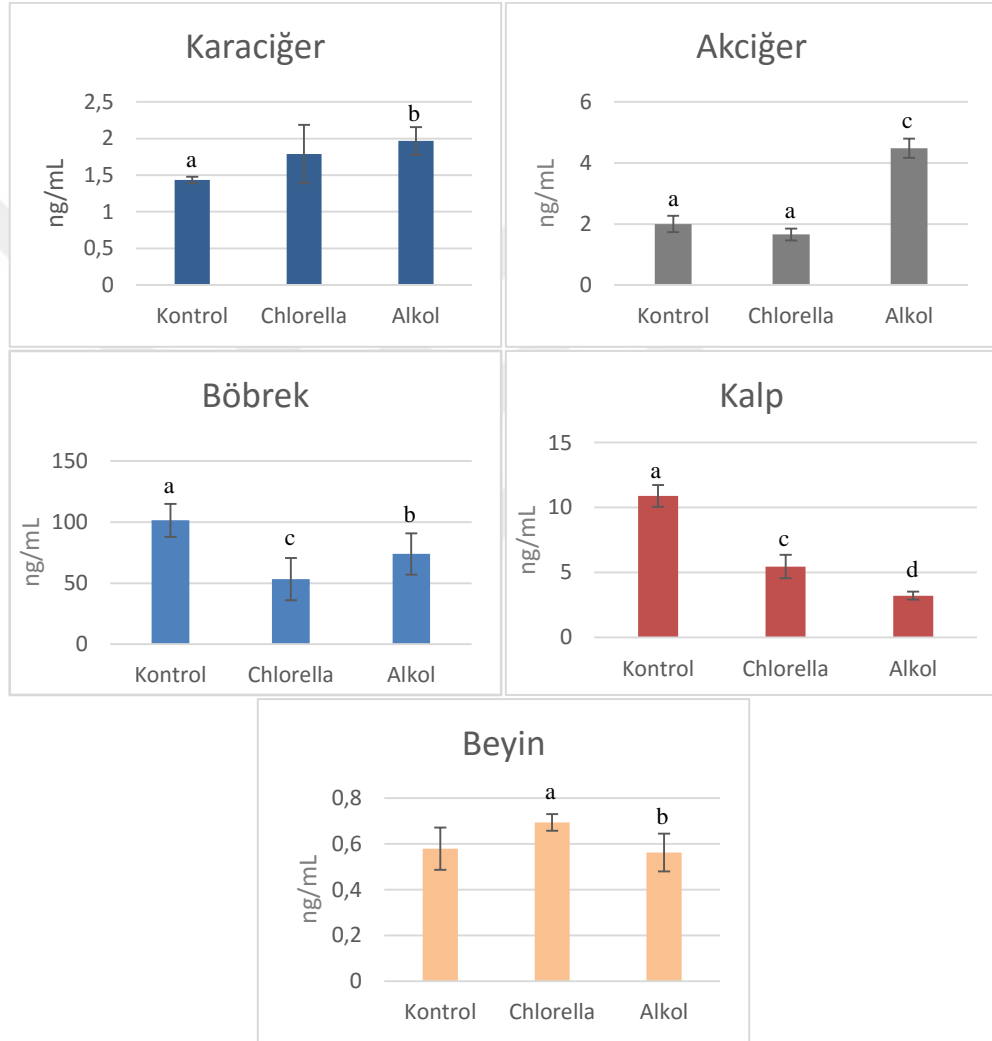
Karaciğer MAPK düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Kontrol grubu ile Alkol grubu arasında karşılaştırıldığında karaciğer MAPK düzeylerinin Alkol grubunda istatistiksel olarak belirgin şekilde yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$). Kontrol grubu ile *Chlorella* grubu arasında yapılan karşılaştırmada Karaciğer MAPK düzeylerinin istatistiksel olarak bir fark göstermediği belirlendi.

Akciğer MAPK düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Kontrol grubu ile Alkol ve *Chlorella* grubu arasında karşılaştırıldığında, Alkol grubunda MAPK düzeylerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak belirgin şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.001$). Kontrol grubu ile *Chlorella* grubu arasında yapılan karşılaştırmada Akciğer MAPK düzeylerinin istatistiksel olarak bir fark göstermediği belirlendi.

Kontrol grubu ile *Chlorella* ve Alkol grubu arasında yapılan karşılaştırmada böbrek MAPK düzeylerinin *Chlorella* ve Alkol grubunda istatistiksel olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$).

Kontrol grubu ile *Chlorella* ve Alkol grubu arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada *Chlorella* ve Alkol grubunun Kalp MAPK düzeylerinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0.001$). *Chlorella* ve Alkol grubu karşılaştırıldığında da *Chlorella* grubuna göre Alkol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$).

Beyin dokusu MAPK düzeylerinde meydana gelen değişikliklere bakıldığında yalnızca *Chlorella* grubu ile Alkol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Alkol grubu Beyin dokusu MAPK düzeylerinin *Chlorella* grubuna göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubu ile deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmemiştir.



Şekil 11. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin MAPK düzeylerinde belirlenen değişiklikler. ^{ab, cd}: $p<0.05$, ^{ac, ad}: $p<0.001$.

3.2. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının MDA Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler

Grupların karaciğer, akciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularının MDA düzeylerinde belirlenen değişiklikler Şekil 12’de gösterilmiştir.

Karaciğer MDA düzeylerinde, Kontrol ve Alkol grubu ile *Chlorella* grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir ($p<0.001$). *Chlorella* grubu MDA düzeylerinin Alkol grubuna göre istatistik olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.001$).

Akciğer MDA düzeylerinde, Kontrol grubu ile *Chlorella* grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir ($p<0.05$). Aynı zamanda *Chlorella* grubu akciğer MDA değerlerinin Alkol grubuna göre istatistiksel olarak düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.001$).

Kalp MDA düzeylerinde, Kontrol ve Alkol grubu ile *Chlorella* grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir ($p<0.05$). *Chlorella* grubu kalp MDA düzeylerinin, Alkol grubuna göre istatistiksel olarak düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Beyin ve Böbrek dokularının MDA düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlam ifade edecek bir fark bulunmamıştır.

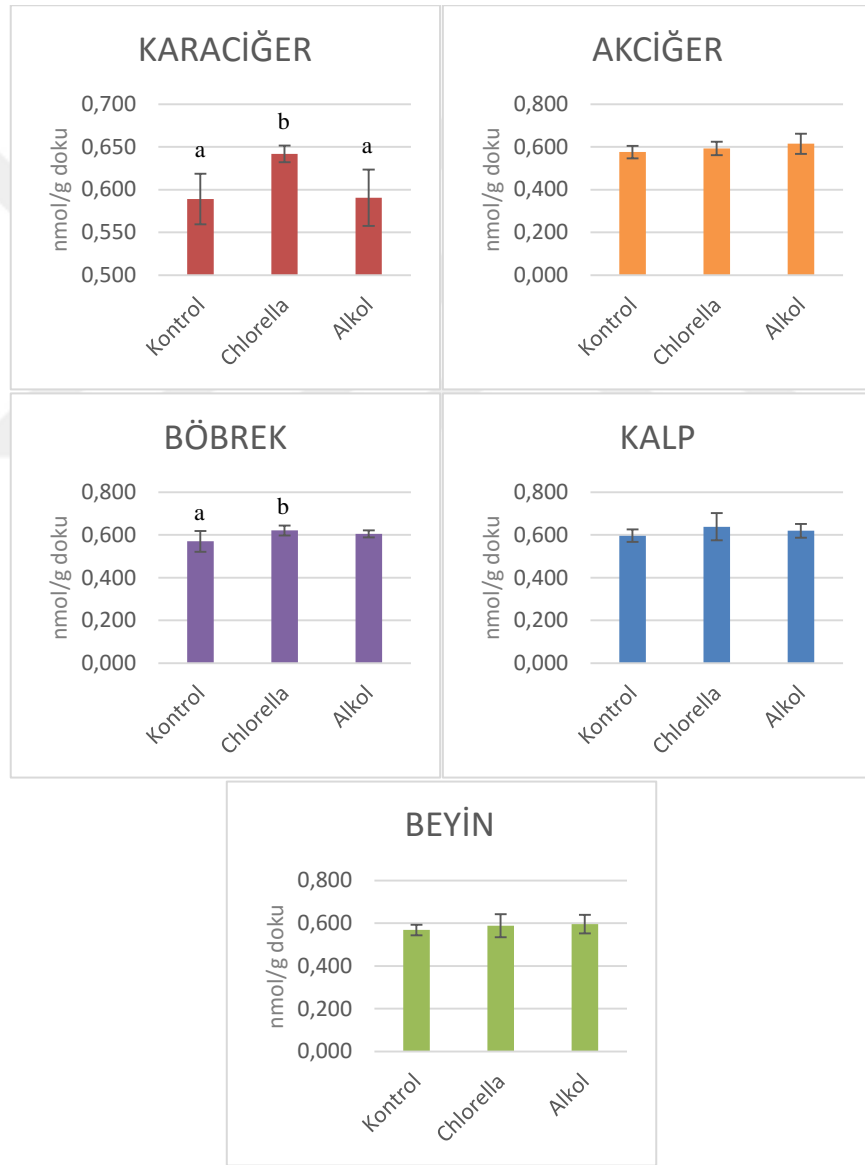


Şekil 12. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin MDA düzeylerinde belirlenen değişiklikler. ^{ab}: $p < 0.001$, ^{bc}: $p < 0.05$.

3.3. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının GSH Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler

Grupların karaciğer, akciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularının GSH düzeylerinde belirlenen değişiklikler Şekil 13’de gösterilmiştir.

Grupların Akciğer, Kalp ve Beyin dokularının GSH düzeylerinde meydana gelen değişiklikler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir. Böbrek dokusu GSH düzeyleri karşılaştırıldığında Kontrol grubuna göre *Chlorella* grubunda GSH enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,05$). Karaciğerde dokusunda ise GSH düzeyleri bakımından incelendiğinde *Chlorella* Grubunun Kontrol ve Alkol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).



Şekil 13. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin GSH düzeylerinde belirlenen değişiklikler. ^{ab}: $p<0,05$.

3.4. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin Dokularının GSH-Px Düzeylerinde Belirlenen Değişiklikler

Grupların karaciğer, akciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularının GSH-Px düzeylerinde belirlenen değişiklikler Şekil 14'te gösterilmiştir.

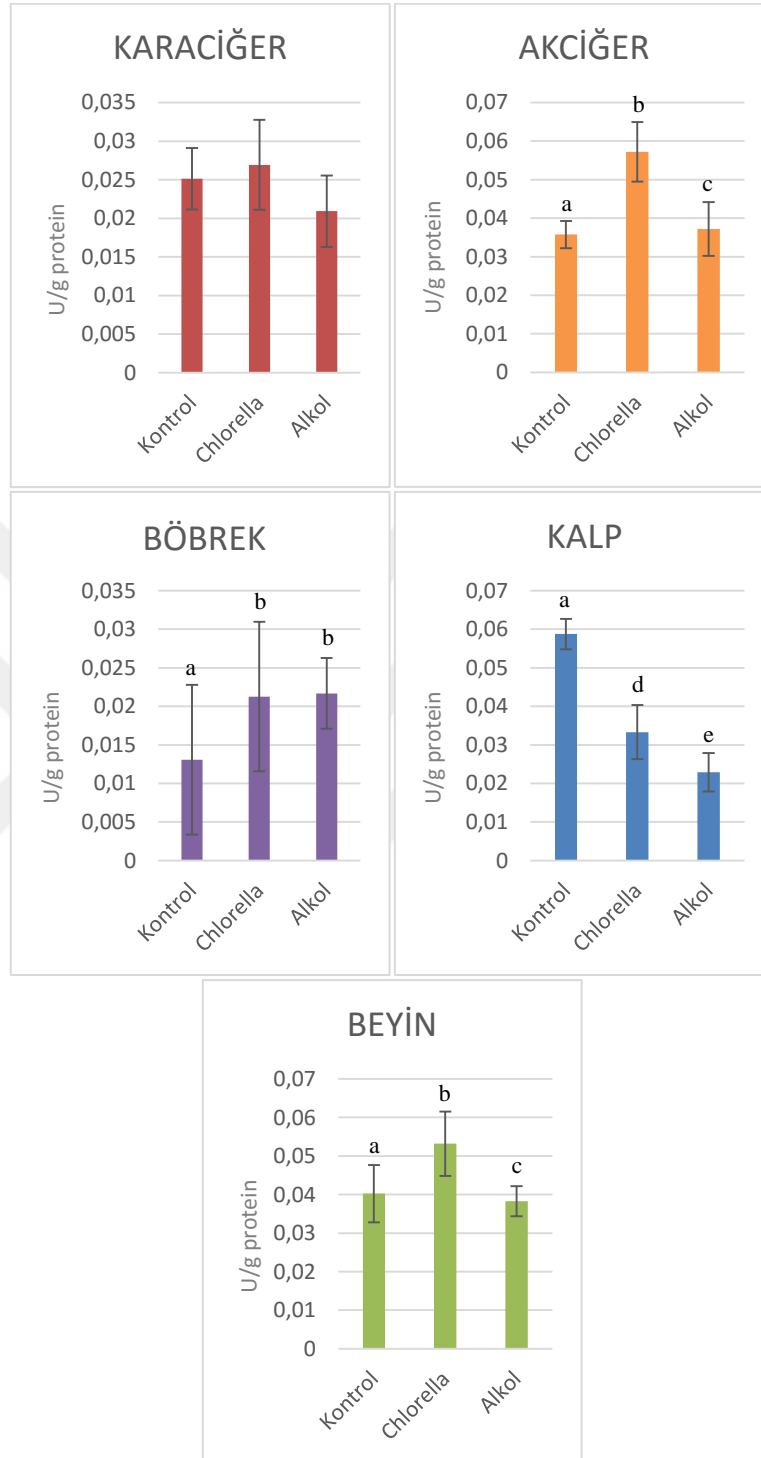
Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada karaciğer GSH-Px düzeylerinde meydana gelen değişikliklerin istatistiksel olarak önemli bir fark göstermediği tespit edildi.

Akciğer GSH-Px düzeylerinde meydana gelen değişiklikler karşılaştırıldığında, Kontrol ile *Chlorella* grubu ve *Chlorella* ile Alkol grubu GSH-Px düzeylerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiş ve *Chlorella* grubu GSH-Px değerlerinin diğer gruplara göre belirgin olarak yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

Böbrek GSH-Px düzeylerinde meydana gelen değişiklikler karşılaştırıldığında *Chlorella* ve Alkol grubu arasında istatistiksel açıdan anlam ifade edecek bir fark gözlemlenmemiştir. Kontrol grubu ile *Chlorella* ve Alkol grubu böbrek GSH-Px düzeyleri arasında yapılan karşılaştırmada *Chlorella* ve Alkol grubunun GSH-Px düzeylerinin istatistiksel olarak yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Kontrol grubu ile *Chlorella* ve Alkol grubu arasında yapılan karşılaştırmada kalp GSH-Px düzeylerinin, *Chlorella* ve Alkol grubunda istatistiksel olarak belirgin bir şekilde düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$). *Chlorella* grubu ile Alkol grubu arasında yapılan karşılaştırmada da kalp GSH-Px değerlerinin *Chlorella* grubunda Alkol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Beyin dokusu GSH-Px düzeylerinde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi için Kontrol grubu ile *Chlorella* ve Alkol grubu arasında yapılan karşılaştırmada, *Chlorella* grubunun beyin dokusu GSH-Px düzeylerinin diğer gruplardan belirgin olarak yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Kontrol ve Alkol grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.



Şekil 14. Grupların Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Kalp ve Beyin GSH-Px düzeylerinde belirlenen değişiklikler. ^{ab, bc, de}: $p < 0,05$, ^{ad, ae}: $p < 0,001$.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Alkol toksisitesi, etanolün biyotransformasyonu sırasında üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) başta olmak üzere etanolün diğer metabolik ürünleriyle olmaktadır. Güçlü bir oksidan olan alkol; mitokondriyal solunum zinciri, ksantin oksidaz ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz yollarını içeren hücre içi ROS üretim yollarını aktive eder. Bunun sonucunda, hücre içinde süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil ($\cdot OH$) radikallerinin üretiminde artış olur. Bunların dışında, yüksek etanol tüketimi, hücre içi antioksidan kapasitesini düşürür. Alkolden kaynaklanan doku ve hücre hasarlarında antioksidan sistemlerin radikallerin artışına karşı hepatositleri koruyucu ve hücre membranını destekleyici olarak aktive gösterdiği ve hücre içindeki dengesizliğin protein, lipid ve DNA'nın oksidasyonu ile sonuçlandığı pekçok araştırmada gösterilmiştir. Suresh ve ark. (2000) alkol uyguladıkları hayvanların MDA, hidroperoksit ve konjugedien seviyelerinde artma meydana geldiğini, bununla birlikte askorbik asit uygulanmasının serbest radikal seviyelerindeki artmayı önlediğini ve etil alkol uygulamaları sonucunda azalan GSH ve GSH-Px seviyelerinin askorbik asit verilmesi neticesinde tekrar yükseldiğini bildirmişlerdir (Suresh ve ark. 2000). Nieto ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, alkol metabolizmasında aktivitesi bulunan P-450 enzim sisteminin hepatositlerdeki ROS üretimine öncülük ederek hasara sebep olduğunu belirtmiştir (Nieto ve ark. 2002). Bautista ve Spitzer (1996) tarafından yapılan çalışmada da kan alkol seviyesindeki artışın sonucunda sitokrom C'nin azaldığı ve bu azalmanın karaciğerde süperoksit radikallerinin meydana gelmesine sebep olduğu belirtilmiştir. Tsukamoto ve ark. (1995) tarafından yapılan bir çalışmada ise etil alkolün toksik miktarlardaki dozajı karaciğer hücrelerinde süper oksitlerle birleşerek lipid peroksidasyonunu başlattığı ve oluşan ROS ürünlerinin hücresel bozulmayı tetiklediği göstermiştir. Navasumrit ve ark. (2000) akut alkol toksikasyonunda ratlarda karaciğerde meydana gelen serbest radikallerin elektron spin rezonans spektroskopisi yoluyla safrada belirlenebildiğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada serbest radikallerden kaynaklı DNA kırıklarında artma meydana geldiği bildirilmiştir. Zhou ve ark. (2000) da alkol tüketimi sonucunda karaciğerde hidroksil radikallerinden kaynaklanan DNA kırıklarının zengin bir protein kaynağı olan metallothionein uygulanarak önlenebileceğini yaptıkları çalışma ile göstermişlerdir.

Yapılan literatür taramalarında alkol toksikasyonunda akciğer ve böbrek ile doku ve hücre boyutunda meydana gelebilecek etkilerin olduğunu gösterir çalışmalara rastlanmazken, alkolün beyin üzerine etkileri hakkında yapılmış birçok araştırma mevcuttur (Pfefferbaum ve ark. 2006, Van Holst ve ark. 2012, Mechtcheriakov ve ark. 2007). Alkolizm teşhisi konulan bireylerin beyin dokularında birçok morfolojik değişiklik meydana gelirken en belirgin olanı frontal loblardaki atrofiden bahsedilmekte ve yaşa da bağlı olarak ventriküllerde ile serebral sulkuslarda genişleme, gri madde ve beyaz madde hacminde azalma olduğundan bahsedilmiştir (Pfefferbaum ve ark. 2006). Van Holst ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada alkol bağımlısı bireylerde sol üst frontal grusta, sağ insulada, sol presentral kortekste, sağ putamende, sol talamusta ve bilateral üst parietal kortekste gri madde hacminde azalma tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yine Mechtcheriakov ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarında alkol kullanan bireylerin beyin analizlerinde gri madde hacminde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Fattoretti ve ark. (2006), Shibley ve Pennington (1997) ile Sneyder ve ark. (1992)'nin yaptıkları çalışmalarda alkol kullanımının birçok nedene bağlı olarak beyne zarar verip kalıcı hasarlar oluşturduğunu, glukoz kullanımını ve transportunu değiştirdiğini, protein ve DNA sentezini baskıladığını bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada alkol uygulamanın karaciğer, akciğer ve kalp dokusunda lipid peroksidasyonu yükselttiği, *Chlorella* uygulanmasının bu yükselişi azalttığı tespit edilmiştir. Ancak beyin ve böbrek dokusunda MDA düzeyleri açısından bir farklılık tespit edilemedi. Karaciğer, akciğer ve kalp dokusunda elde ettiğimiz sonuçların özellikle *Chlorella*'nın içerdiği antioksidan membran bileşenlerinin etkisi ile oluşmuş olabileceğini düşünmekteyiz. Beyin ve böbrek dokusunda bir farklılık tespit edilmemesi ise alkolün etkisinin bu bölgelere daha uzun sürede ulaşması nedeniyle olabilir.

Reaktif oksijen türlerine bağlı organizmadaki hücresel hasarı önlemek için gelişmiş savunma mekanizmalarından, hücre içi antioksidanların non-enzimatik grubunun en önemlisini tiyol ve GSH oluşturur. Hücre içi enzimatik antioksidanlardan olan Glutasyon peroksidaz sistemi ise, glutasyon peroksidaz enzimlerini, glutasyon redüktazı (GR), kofaktör olarak redükte glutasyonu (GSH) ve redükte NADPH kullanılmasını kapsar. Glutasyon peroksidaz; hidrojen peroksiti ve diğer organik

peroksitleri GSH kullanarak indirgemektedir, GSH de glutasyon disülfid formlarına (GSSG) okside olmaktadır. Bunlar ya ROS'un oluşmasını engelleyerek ya da serbest radikalleri ve bunların öncüllerini temizleyerek aktivite gösterirler. Carrard ve ark. (2009), Huang ve ark. (2009), Wu ve Cederbaum (2009) gibi araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda alkol bağımlılığı olan bireylerde oksidan ve antioksidan dengesinde bozulmalar meydana geldiğini, bireylerde ROS'un arttığını bildirilmiştir.

Son yıllarda pek çok metabolik ve hücrel problemin nedeni sayılan serbest radikallere karşı mücadele etme amacıyla kullanılacak ve geleneksel metodlardan esinlenerek elde edilebilecek antioksidan bileşiklere ilgi oldukça artmıştır. Geleneksel olarak kullanılan *Chlorella* türlerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve kullanımının etkilerinin ortaya konulması bu maksatla yapılan araştırmalardandır. Matsukawa ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada kahverengi, yeşil ve kırmızı olmak üzere toplam 17 alg türü üzerinde antioksidan düzeyleri oldukça yüksek bulunmuştur. Roberto ve ark. (2001) tarafından Akdenizde yayılım gösteren bir alg türü olan *Cystoseira* üzerinde yapılan çalışmada antioksidan düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Mikro alglerden olan *Chlorella vulgaris* antioksidan vitaminler ve pigmentlerini bulundurmalarının yanı sıra doymamış yağ asitlerini bulundurmaları ile de zengin antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Gökpınar ve ark. 2006).

Chlorella türlerinin çeşitli toksikasyonlara karşı karaciğer ve akciğer koruyucu aktiviteleri çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir. Mallick (2004) tarafından ve Vijayavel ve ark. (2007) tarafından *Chlorella vulgaris*'in birden fazla türünde mevcut olan antioksidan mekanizmalar aracılığı ile toksik etki gösteren maddelerin detoksifikasyonunda aktif rol alarak içerdiği tokoferol, askorbik asit ve karotenlerden dolayı serbest radikalleri büyük ölçüde temizlediği bildirilmiştir. Azamai ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada *Chlorella vulgaris*'in antitümör etkisi de dahil olmak üzere antiaterojenik, antiinflamatuvar ve antikoletrolemik etkilerinin de bulunduğu gösterilmiştir.

Murthy ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada *Chlorella* türlerinin sahip olduğu antioksidan bileşiklerin ROS'lara bağlı dokularda meydana gelen hasarların ve

ROS'un hücre içi membran yapıları üzerindeki baskıyı azaltan etkisine dikkat çekilmiştir. Aynı çalışmada karotenler, lutein, likopen içeriğinin katalaz, peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi karaciğer enzimlerinin yeniden onarımını sağladığından bahsetmişlerdir.

Mallick (2004), Shim ve ark. (2008), ve Li ve ark. (2013) gibi araştırmacılar tarafından yapılan çeşitli çalışmalarda, *Chlorella vulgaris*'in içerdiği antioksidanlar sayesinde sahip olduğu koruyucu etkinin oksidatif stres sonucu oluşan maddelerin sebep olduğu hücre hasarı ve hücre ölümleri gibi durumlarda aktif olarak rol alıp önleyici görev üstlendiği bildirilmiştir. Yun ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada ise *Chlorella vulgaris*'in ağır metal olan ve toksik etkisi oldukça yüksek olan kurşunun beyin hücrelerinde meydana getirdiği oksidatif hasarı azalttığı ve yine ağır bir metal olup toksik etkisi olan kadmiyum ile oluşturulmuş hepatoksisitede antioksidan özelliğinden dolayı dokularda meydana gelen hasarı önleyici etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada *Chlorella vulgaris*'in etil alkol toksikasyonunda oluşan lipid peroksidasyona karşı dokularda antioksidan enzimleri destekleyerek doku hasarını azaltıcı etki gösterdiğini belirledik. Çalışmamızda etil alkolün akciğer, kalp ve beyin dokusunda GSH-Px düzeylerinde azalmaya neden olduğu ancak bu azalmanın *Chlorella vulgaris* uygulanması ile düzeldiğini belirledik. Karaciğer ve böbrek dokusunda ise *Chlorella vulgaris*'in GSH-Px düzeylerini değiştirmedini belirledik. Bu değişikliklerin *Chlorella vulgaris*'in hücre içi enzimatik sistemi destekleyici aktivitesi ve içerdiği yüksek antioksidan bileşikler nedeniyle olabileceğini düşünmekteyiz. Yaptığımız literatür taramalarında etil alkol toksikasyonunda *Chlorella vulgaris*'in etkisini gösteren bir çalışmaya rastlamadık çalışmamızda lipid peroksidasyon düzeylerinde azalma olduğunu ve antioksidan sistemi destekleyici etki gösterdiğini belirledik.

Alkol kullanımı karaciğer hastalıkları, nörotoksisite, hipertansiyon, kardiyomyopati, immün yanıt şekillenmeleri ve kanser riskinde artma ile ilişkilendirilir. Yapılan çalışmalarda alkolün bu tür patolojik durumlardaki etki süreçleri tam olarak anlaşılammıştır. Eldeki veriler MAPK ailesinin alkolün etki ettiği bu süreçlerde

merkezi bir rol oynadığına dikkat çekmektedir (Aroor 2004). MAPK ailesinin aktivasyonu hücre proliferasyonu, diferasyonu, gelişimi, apoptozis, stres ve inflamatuvar yanıtlar gibi birçok hücrenel süreçte temel bir rol üstlenmektedir. Fakat MAPK'nın bu aktivasyonu hücre tipine, kronik veya akut uygulama tipine göre farklılık gösterebilmektedir. Örneğin; akut alkol uygulaması hepatositler, astrositler ve vasküler düz kas hücrelerinde MAPK'nın aktivasyonunun artmasına sebep olur (Aroor 2004). Akut ve kronik lösemide MAPK ailesinden Raf/Merk/Erk'in aktivasyonu karakterizedir (Lee ve McCubrey 2002). Ayrıca bu MAPK yolu direk olarak hemapoetik hücrelerin büyümesinin teşviği ve apoptoza uğramalarının engellenmesi ile ilişkilidir (Tanaka ve ark. 1996). Ayrıca Erk ekspresyonun akut lösemide arttığı bildirilmiştir (Kim ve ark. 1999). Ratların primer hepatosit kültürlerinde etanolün MAPK ailesi üyelerinin aktivasyonunu devam ettirdiği bildirilmiştir (Lee ve ark. 2002). Yapmış olduğumuz çalışmada alkol uygulanan gruptaki hayvanlarda akciğer ve karaciğerde MAPK'nın artmış olduğunu fakat *Chlorella* uygulanan grupta alkolün sebep olduğu bu artışın baskılandığı belirlenmiştir. Ancak yapılan literatür taramalarında *Chlorella*'nın alkol toksikasyonunda MAPK üzerindeki etkileri hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yaptığımız çalışmada alkol uygulamasının yükselttiği karaciğer ve akciğer MAPK düzeylerinin *Chlorella* uygulaması ile azaldığı bu yönüyle, *Chlorella*'nın alkolün neden olduğu karaciğer harabiyetine karşı düzeltici aktivite gösterdiği düşünülebilir. Ayrıca böbrek, kalp ve beyin dokusunda MAPK aktivitelerindeki alkole bağlı olarak tespit edilen azalmanın nedenleri moleküler değerlendirmeye ihtiyaç göstermektedir.

Sonuç olarak alkol etkisi ile dokularda oluşan lipid peroksidasyona karşı *Chlorella vulgaris*'in antioksidan enzim düzeylerini özellikle karaciğer ve akciğer dokularında yükselttiği ve bu etkisi ile doku koruyucu aktiviteye sahip olduğu değerlendirilmektedir. Ayrıca alkol toksikasyonu sonucu karaciğer ve akciğer dokularında yükselen MAPK aktiviteleri *Chlorella* etkisi ile düzelmiş, bu durumun *Chlorella*'nın hücre içi enzim sistemleri üzerinde koruyucu etkinliği ile ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir. *Chlorella*'nın alkol toksikasyonunda doku koruyucu aktivitesini hangi moleküler yolla gösterdiğinin belirlenmesi için hala yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK: Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.* 3: 28. 2005.
2. Aggarwal NK, Nigam P, Singh D, Yadav BS: Process optimization for the production of sugar for the bioethanol industry from sorghum, a non-conventional source of starch. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 17: 411-415, 2001.
3. Aizzat O, Yap SW, Sopia H, Madiha MM, Hazreen M, Shailah A, Wan JW, Nur SA, Srijit D, Musalmah M, Yasmin AM: Modulation of oxidative stress by chlorella vulgaris in streptozotocin (STZ) induced diabetic sprague-dawley rats. *Adv. Med. Sci.* 55: 281-288. 2010.
4. Akbaba G: *Biyoteknolojide Mikroalgler*, *Bilim Teknik Dergisi.* 429: 28-35. 2003.
5. Akkuş İ: *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya. 1995.
6. Aktuna H: *Alkol.Bil.Tek.Derg.*; Cilt. 26. 307:438-444, 1993.
7. Armutcu F, Gürel A, Söğüt S, Aksu N, Ünalacak M: Alkol alışkanlığı olanlarda eritrosit oksidan ve antioksidan parametre düzeyleri. *Fırat Tıp Dergisi*, 9 (2) : 50-53, 2004.
8. Aroor AR, ve Shukla SD: MAP kinase signaling in diverse effects of ethanol. *Life sciences* 74.19: 2339-2364, 2004.
9. Azamaï ESM, Sulaiman S, Habib SHM, Looi ML, Das S, Hamid NAA, Ngah WW, Yusof YAM: *Chlorella vulgaris* triggers apoptosis in hepatocarcinogenesis-induced rats. *Journal of Zhejiang University Science B* 10(1): 14-21, 2009.
10. Balat M: Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: a review, *Energy Conversion and Management*, 52: 858-875, 2011.
11. Baskin SI, Salem H: *Oxidants, antioxidants, and free radicals*. Washington DC. Taylor and Francis. 26-35. 1997.
12. Bautista AP, Spitzer JJ: Cross-Tolerance Between Acute Alcohol Intoxication and Endotoxemia. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. Vol, 20. No,8. 1996.
13. Bayrakçı AG: Değişik biyokütle kaynaklarından biyoetanolün elde edilmesi üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, İzmir. 2009.
14. Beijerinck MW: *Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengoidien und Anderen Niederen Algen*. *Z. Bot.* 47: 757-768 1890.
15. Bilge Y: *Adli Tıp'ta Alkol*. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi; Syf :152-154, 2008.
16. Bondy SC: Ethanol toxicity and oxidative stress. *Toxicol. Lett*; 63: 231-241, 1992.
17. Bunout D: Nutritional And Metabolic Effects Of Alcoholism: Their Relationship With Alcoholic Liver Disease. *Nutrition* Vol. 15. Nos. 7-8. 1999.
18. Campbell AN, Reece JB: *Biyoloji*. Palme Yayıncılık. Ankara. Syf: 58, 2008.
19. Can M, Gürpınar SS, İşler H, Varol N, Gürpınarlı Z: Alkol Alan Kişilerin Kan Alkol Düzeyinin Solunum Havasındaki Alkol Düzeyi İle Karşılaştırılması Ve Karaciğer Enzimlerinin Etkisinin Araştırılması. *Van Tıp Dergisi*: 15 (3): 75-80. 2008.
20. Carr AC, Zhu BZ, Frei B: Potential Antiatherogenic Mechanisms of Ascorbate (vitamin C) and Alpha-tocopherol (vitamin E *Circ. Res.* 87: 349-354. 2000.
21. Carrard VC, Pires AS, Mendez M, Mattos F, Moreira JC, Filbo MS: Effects of acute alcohol consumption and vitamin E co-treatment on oxidative stress parameters in rats tongue. *Food Chem Toxicol.* Feb. 2. 2009.
22. Chen SY, Sulik KK: Free radicals and ethanol-induced cytotoxicity in neural crest cells. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 20(6): 1071-1076. 1996.

23. Collins MA, Zou JY, Neafsey EJ: Brain damage due to episodic alcohol exposure in vivo and in vitro: Furosemide neuroprotection implicates edemabased mechanism. *The FASEB Journal*, 12 (2): 221-230. 1998.
24. Cooper GM, Hausman RE: *Cell moleküler yaklaşım'da*. 3.baskı. İzmir Tıp Kitabevi. S.565. 2006.
25. Costa JAV, Morais MG: An Open Pond System for Microalgal Cultivation. *Biofuels from Algae*, 1-22 2014.
26. Çaylak E: Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ve antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*: 9(1):73-83. 2011.
27. Çekin AH, Boyacıoğlu AS: *Alkolik Karaciğer Hastalığı*. Gastroenteroloji. Fersa Matbaacılık Ltd. Şti. 2002.
28. Çolakoğlu G: İstanbul. *Tohumuz Bitkiler Sistematigi*. Fen-Edebiyat Fakültesi Yayın No: 37 syf: 102. 1999.
29. Das SK, Vasudevan DM: Alcohol-induced oxidative stress. *Life Sciences*, 81 :177-187, 2007.
30. Delibaş N ve Özçankaya R: Serbest Radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2(3):11-17. 1995.
31. Durak K, Bilgen ÖF, Kaleli T, Tuncel P, Özbek R ve Turan K: Antioxidant effect of alfa-tocopherol on fracture haematoma in rabbit. *J.Int.Med*. 24:419-424. 1996.
32. Dünya Sağlık Örgütü. *ICD-10 Ruhsal ve Davranışsal Bozuklukların Sınıflandırılması*, Cenevre. 1992.
33. Elgün A: *Alkollü içkiler ve gıdalarda alkol*. Ankara. 2011.
34. Fattoretti P, Bertoni FC, Casoli T, Di Stefano G, Giorgetti G, Solazzi M: Ethanol-induced decrease of the expression of glucose transport protein(Glut3) in the central nervous system as a predisposing condition to apoptosis: the effects of age, *Ann N. Y. Acad. Sci*. 1010:500-503. 2003.
35. Fryhle C, Solomons G: *Organik Kimya, Literatür Yayıncılık*, syf : 482-483, 2002.
36. Garewal HS: *Antioxidant and disease prevention*. Florida. CRC Press LLC. 3-19. 1997.
37. Gate L, Paul J, Nguyen BG, Tew KD, Tapiero H: Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed & Pharmacother*. 53: 169-180. 1999.
38. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Gökhan T, Durmaz Y: *Algal Antioksidanlar*. E.U. Su Ürünleri Dergisi. Volüme 23. (1/1): 85-89. 2006.
39. Gözükara EM: *Biyokimya*. Evin Matbaası. İstanbul. 1997.
40. Gözükara EM: *Biyokimya*. Nobel Tıp Kitabevi, Ankara. 1989.
41. Gözükara EM: *Biyokimya*. Nobel Tıp Kitabevi. Ankara. 1995.
42. Gustin MC, Albertyn J, Alexander M, Davenport K: MAP kinase Pathways in the *Saccharomyces cerevisiae*. *Micobiol. Mol. Biol*. 62(4). 1264-1300. 1998.
43. Guyton AC, Hall JE: *Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. 837-843. 2013.
44. Gülgün O: *İnsan Biyokimyasonda Alkol ve Metabolizması*. Palme Yayıncılık. Ankara. Sfy: 286-289. 2002.
45. Güner H ve Aysel V: *Tohumuz Bitkiler Sistematigi*. Cilt:1 syf : 45-54, 1999.
46. Güner H ve Aysel V: *Tohumuz Bitkiler Sistematigi*. Cilt:1 syf : 127-128, 1999.
47. Halliwell B, ve Gutteridge JMC: *Free radicals in Biology and Medicine*. Second Ed. Clarendon Press. Oxford. 237-245. 1996.

48. Heaton MB, Mitchell JJ, Paiva M: Amelioration of ethanol-induced neurotoxicity in the neonatal rat central nervous system by antioxidant therapy. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 24(4): 512-518, 2000.
49. Hsu S, Augusta G: Yeşil çay ve deri. Çev: Dr. Emek Özgür Kocatürk. *J Am Acad Dermatol.* 2(3): 210-218. 2005.
50. Huang MC, Chen CH, Peng FC, Tang SH, Chen CC: Alterations in oxidative stress status during early alcohol withdraw in alcoholic patiens. *J Formos Med Assoc.* Jul: 108(7): 560-569. 2009.
51. Hunter T ve Plowman GD: The protein kinases of budding yeast, six score an more. *Trends Biochem. Sci.* 22(1). 18-22. 1997.
52. Ichijo H: From receptors to stress-actived Map kinase. *Oncogene.*18(45):6087-6093. 1999.
53. İnce A, Doğruer Z, Türkçapar M: Erken ve geç başlangıçlı erkek alkol bağımlılarında sosyodemografik, klinik ve psikopatolojik özelliklerin karşılaştırılması. *Klinik psikiyatri.* Syf: 5. 2002.
54. Jensen B: *Chlorella: Gem of the Orient.* Bernard Jensen, California. P:221-227.1987.
55. Johnson GL, Lapadat R: Mitogen Activated Protein Kinase Pathways Mediated by ERK, JNK and p38 Protein Kinases. *Science.* 298. 2002.
56. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: *Temel Histoloji.* Barış Kitapçılık. İstanbul. 307-319. 1998.
57. Kaplan HI, Sadock BJ: *Substance Related Disorders.* Kaplan and Sadock's Comperensive Textbook Psychistry. Cancro R. 7 th Edition. Vol.2 pp. 1724-1725. 1997.
58. Kaplan M, Aydın S, Fidan MS: Geleceğin Alternatif Enerji Kaynağı Biyoetanolün Önemi ve Sorgum Bitkisi, *KSÜ Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12(1) : 24-33, 2009.
59. Karamanoğlu K: *Farmasötik Botanik Ders Kitabı.* Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınlar. Sayı:44. 75-76. 1977.
60. Kaya S, Piriñçi İ, Traş B, Ünsal A, Bilgili A, Akar F, Doğan A, Yarsan E: Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. *Medisan Yayınevi.* Ankara. Syf: 256-257, 2002.
61. Kılınç K: Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi.*, 11:59-76, 1986.
62. Kim SC, Hahn JS, Min YH, Yoo NC, Ko YW, Lee WJ: Constitutive activation of extracellular signal-regulated kinase in human acute leukemias: combined role of activation of MEK, hyperexpression of extracellular signal-regulated kinase, and downregulation of a phosphatase, PAC1. *Blood* 93.11: 3893-3899, 1999.
63. Knight JA: *Free radicals, antioksidants aging and disease.* AACC Press, Washington DC. pp.1-61. 1999.
64. Koca HB: *Koroner Arter Hastalarında Lipit ve Protein Oksidasyonu ile Selenyum İçeren Antioksidanların Düzeyi.* Kocatepe Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, 2007.
65. Kolacinski Z, Rusinski P: Biological and toxic effects of ethanol: diagnostics and treatment os acute poisonings., *Przegland Lekarski.* 60(4) : 204-209. 2003.
66. Kolch W: Meaningful relationship: The regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochem J.* 351:289-305. 2000.
67. Köknel Ö. *Bağımlılık: Alkol ve Madde Bağımlılığı,* Altın Kitaplar Yayınevi, Akdeniz Yayıncılık A.Ş., İstanbul, 1998.
68. Köksoy AA: Damar düz kası proliferasyonunda sinyal iletimi. *Ank. Üniv. Tıp Fak. Mecm.* 55(4):297-306. 2002.

69. Kurtz JB, Lee TW, Parsons AJ: The action of alcohols on rotavirus, astrovirus and enterovirus. *J.Hosp. Infect*, 23: 321-325, 1980.
70. Kültegin Ö, Defne T: Alkol ve Madde Kullanım Bozukluklarının Epidemiyolojisi. *3P Dergisi*. 11(2): 123-128. 2003.
71. Kyra JC ve Kenneth BS: MAPK: new signaling pathways functioning in cellular responses to enviromental stress. *The Journal of Experimental Biology*. 206: 1107-1115. 2003.
72. Kyriakis JM ve Avruch J: Mammalian Mitogen-Activated Protein Kinase Signal Transduction Pathways Activated by Stress and Inflammation. *Physiol. Rev*. 81(2). 807-869. 2001.
73. Lawrance R, Burk FR: Glutathione-peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Communt.*, 71, 952-955, 1976.
74. Lee JJT, ve McCubrey JA: The Raf/MEK/ERK signal transduction cascade as a target for chemotherapeutic intervention in leukemia. *Leukemia*16.4: 486-507, 2002.
75. Lee YJ, Aroor AR, Shukla SD: Temporal activation of p42/44 mitogen-activated protein kinase and c-Jun N-terminal kinase by acetaldehyde in rat hepatocytes and its loss after chronic ethanol exposure. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 301.3: 908-914, 2002.
76. Li L, Li W, Kim Y, Lee YW: *Chlorella vulgaris* extract ameliorates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65:73-80, 2013.
77. Maher P, Lewrenz J, Lozano C, Torres JL: A Novel Approach to Enhancing Cellular Glutathione Levels. *J. Neurochem*. 107: 690-700. 2008.
78. Mallick N: Copper-induced oxidative stress in the chlorophycean microalga *Chlorella vulgaris*: response of the antioxidant system. *J. Plant Physiol*. 161. 591-597, 2004.
79. Matsukawa R, Hotta M, Masuda Y, Chihara M, Karube I: Antioxidants from carbon dioxide fixing *Chlorella sorokiniana*. *J Appl. Phycol*. 12: 263-267, 2000.
80. Mccord JM: Human disease, Free Radicals and Oxidant/Antioxidant Balance. *Clin Biochem*. Vol:26. Syf:351-357, 1993.
81. McKim MW: *Drugs and Behavior. An Introduction to Behavioral Pharmacology*. Forth Edition, Pretice-Hall, Inc., New Jersey, 2000.
82. Mechtheriakov S, Brenneis C, Egger K, Koppelstaetter F, Schocke M, Marksteiner J: A widespread distinct pattern of cerebral atrophy in patiens with alcohol addiction revealed by voxel-based morphometry. *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry*. 78(6): 610-614, 2007.
83. Meda SA, Calhoun VD, Astur RS, Turner BM, Ruopp K, Pearlson GD: Alcohol effects on brain circuits during simulated driving: an fMRI study. *Hum Brain Mapp*.30: 1257-1270. 2009.
84. Meral R, Kanberoğlu G: Tahıllardan Etanol Üretimi, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Dergisi, 2(3): 61-68, 2012.
85. Muhtar N: Alkol Bağımlılarında Bağlanma, doktora tezi.İstanbul üniv. Sağlık bilimleri enstitüsü, psikiyatri anabilim dalı, İstanbul, 2003.
86. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rotwell VW: *Harper'ın Biyokimyası*. Barış Kitapevi. Syf 46-184. 1993.
87. Murthy KNC, Vanitha A, Rajesha J, Swamy MM, Sowmya PR, Ravishankar GA: In vivo Antioiidant activity of caotenoids from *Dunaliella salina*- a green microalga. *Life Sci*. 76: 1381-1390, 2005.
88. Navasumrit P, Ward TH, Dodd JF, O'Connor JO: Ethanol-induced free radicals and hepatic DNA strand breaks are prevented in vivo by antioxidants: effects of acute and chronic ethanol exposure. *Carcinogenesis*, 21:93-99. 2000.

89. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI: Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by Cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology*. 35:62-73. 2002.
90. Oksantest Ar-Ge lab, <http://www.oksante.com.tr/oksantest.pdf> Erişim Tarihi: 13.07.2016.
91. Oukarroum A, Bras S, Perreault F, Popovic R: Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78: 80-85, 2012.
92. Öztürk A, Baltacı AK, Mogulkoç R, Öztekin A, Sivrikaya A, Kurtoglu E, Kul A: Effects of zinc deficiency and supplementation on malondialdehyde and glutathione levels in blood and tissue of rats performing swimming exercise. *Biological Trace Element Research*. 94: 157-166. 2003.
93. Pamir H: Fermentasyon Mikrobiyolojisi Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara. Syf: 36-39. 1985.
94. Pari L, Suresh A: Effects of grape (*Vitis vinifera L.*) leaf extract on alcohol induced oxidative stress in rats. *Food and Chemical Toxicology*., 46: 1627-1634. 2008.
95. Pearson G, Robinson F, Beers GT, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH: Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase Pathways, Regulation and Physiological Functions. *Endocr Rev*. 22(2).153-183, 2001.
96. Pellegrini N, Miglio C, Rio DD, Salvatore S, Serafini M, Brighenti F: Effects Of Domestic Cooking Methods On The Total Antioxidant Capacity Of Vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60(S2):12-22. 2009.
97. Peng HY, Chun YC, Chen SJ, Chou ST: Hepatoprotection of *Chlorella* against carbon tetrachloride-induced oxidative damage in rats. *In vivo*. 23: 747-754. 2009.
98. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Mathalon DH, Lim KO: Frontal lobe volume loss observed with magnetic resonance imaging in older chronic alcoholics. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 21: 521-529, 1997.
99. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC: Estimation of product of lipid peroxidation (Malony dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem*. 16, 359-364, 1996.
100. Plataniias LC: MAP kinase signaling pathways and hematologic malignancies. *American Society of Hematology*, 2003.
101. Proteggente AR, Rehman A, Halliwell B, Rice ECA: Potential Problems of Ascorbate and Iron Supplementation: Pro-Oxidant Effect in Vivo? *Biochem Biophys Res Commun*. 277: 535-540. 2000.
102. Reno EM, Haughian JM, Jackson TA, Thorne AM, Bradford AP: c-Jun N-terminal kinase regulates apoptosis in endometrial cancer cells. *Apoptosis*. 4(6): 809-820. 2009.
103. Roberto G, Baratta MT, Biondi DM, Amico V: Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. *J Appl. Phycol*. 13: 403-407, 2001.
104. Schulz WA: *Molecular Biology of Human Cancers*. The Netherlands: Springer 2007.
105. Sedlak J, Lindsay RH: Estimation of total protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem*. 25, 192-205, 1968.
106. Sefarini M, Rio DD: Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool. *Redox Report* 9(3). 145-152. 2004.
107. Sencer E: Beslenme ve Diyet. *Tıp dizisi*: 68:1-404, 1988.
108. Shibley IAJ, Pennington SN: Metabolic and mitotic changes associated with the fetal alcohol syndrome, *Alcohol* 32:423-434. 1997.

109. Shim JY, Shin HS, Han JG, Park HS, Lim BL, Chung KW, Om AS: protective effects of *Chlorella vulgaris* on liver toxicity in cadmium-administered rats. *Journal of Medicinal Food*. 11(3), 479-485. 2008.
110. Singh A: Peritrenal Influence of *Chlorella vulgaris* (E-25) on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes and Lipid Peroxidation. *Anticancer Res*, 18 (3A), 509-514. 1998.
111. Sivapiriya V, Jayanthisakhisekaran, Venkatraman S: Effects of dimethoe(O,O-dimethyl S-methyl carbamyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology June*; 85(2): 115-121, 2006.
112. Snyder AK, Jiang F, Singh SP: Effects of ethanol on glucose by cultured mammalian embryos. *Alcohol Clin. Exp. Res*. 16: 466-470. 1992.
113. Sommer W ve Spanagel R: *Behavioral Neurobiology of Alcohol Addiction*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, syf: 434, 2013.
114. Sonde V, D'souza A, Tarapore R, Pereira L., Khare MP, Sinkar P, Krishnan S, Rao CV: Simultaneous administration of diethylphthalate and ethyl alcohol and its toxicity in male Sprague-Dawley rats. *Toxicology*, (147) : 23-31, 2000.
115. Sun Y, Cheng J: Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83: 1-11, 2002.
116. Suresh MV, Menon B, Indira M: Effects of exogenous vitamin C on ethanol toxicity in rats. *Indian J. Physiol. Pharmacol*, 44: 401-410, 2000.
117. Tanaka T, Kurokawa M, Ueki K, Tanaka K, Imai Y, Mitani K, Okazaki K, Sagata N, Yazaki Y, Shibata Y, Kadowaki T, Hirai H: The extracellular signal-regulated kinase pathway phosphorylates AML1, an acute myeloid leukemia gene product, and potentially regulates its transactivation ability. *Molecular and cellular biology* 16. s7: 3967-3979. 1996.
118. Tsukamoto H, Horne W, Kamimura S, Niemela O, Parkkila S, Yla HS, Brittenham GM: Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron. *J. Clin. Invest*, 96, 620-630. 1995.
119. Tunali İ: *Adli Tıp. Seçkin Yayıncılık*. Ankara. 130. 2001.
120. Uzbay İT: Mezopotamya uygarlığında eczacılık mesleğine dair bir inceleme. *Eczacılık Bülteni*, 23:57-60, 1981.
121. Uzbay İT: Madde bağımlılığının tarihçesi, tanımı, genel bilgiler ve bağımlılık yapan maddeler. *Mised*, 15;3, 2014.
122. Van Holst RJ, de Ruiter MB, van den Brink W, Veltman DJ, Goudriaan AE: A voxel- based morphometry study comparing problem gamblers, alcohol abusers and healthy controls. *Drug and alcohol dependence*. 124(1-2): 142-148, 2012.
123. Vijayavel K, Anbuselvam C, Balasubramanian MP: antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Mol Cell Biochem.*, 303:39-44. 2007.
124. Wada T, Penninger JM: Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation. *Oncogene*. 23(16):2838-2849. 2004.
125. Wallach J: *Interperatation of Diagnostic Tests*. Lippincott Williams Wilkins. 7th edition. 8:199-235. 2000.
126. Wu D, Cederbaum AI: Oxidative stress and alcoholic liver disease. *Semin. Liver. Dis*. May. 29(2): 141-154. 2009.
127. Xia Z., Dickens M, Raingeaud J, Davis RJ, Greenberg ME: Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science*. 270(5240):1326-1331. 1995.

128. Yarıktaş M, Döner F, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N: Baş-boyun malign systems. In, Shahidi F, ed. Natural Antioxidants, Chemistry, Health and Applications. Champaign, IL, AOCS Press. 258-270. 1996.
129. Yenigün M. Alkol Tüketimi ve Tıp (Alcohol Consumption and Medicine) Haseki Dergisi: 3-1, 2006.
130. You M, Crabb DW: Recent advances in alcohol liver disease II. Minireview: molecular mechanisms of alcohol fatty liver. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 287(1):G1-6. 2004.
131. Yun HJ, Kim I, Kwon SH, Kang JS Om AS: Protective effect of Chlorella vulgaris against lead-induced oxidative stress in rat brains. Journal Health Science. 57(3). 245-254. 2011.
132. Zhou Z, Sun X, Kang YJ: Metallothionen protection against alcohol liver injury through inhibition of oxidative stress. Exp. Biol. Med. 227: 214-222. 2002.



6. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Osmaniye ilinde doğdum. İlköğrenimimi Osmaniye İstiklal İlköğretim Okulu'nda ve liseyi Osmaniye Derviş Paşa Lisesi'nde tamamladım. 2009 yılında Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım ve 2013 yılında bu bölümden mezun oldum. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açtığı Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladım. Halen Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda çalışmalarına devam etmekteyim.

