

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

GÜVERCİNLERDE MDA ve GSH DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Biyoloji Öğretmeni Murat YUSUFOĞLU
Biyokimya Anabilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Doç. Dr. Ayla ÖZCAN**

2008 – KARS

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Biyoloji Öğrt. Murat YUSUFOĞLU tarafından hazırlanmış olan Güvercinlerde MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy.....ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:...../...../.....

Adı Soyadı

İmza

Başkan :.....

.....

Üye :.....

.....

Üye :.....

.....

Üye :.....

.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../.....
gün vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Hakan KOCAMIŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Gün geçtikçe sanayileşme yolunda ilerleyen birçok ülke, doğal dengenin bozulmasına ve bu bozulan dengenin canlılar üzerindeki etkisinin artmasına sebep olmaktadır.

Yapılan bu tez çalışmasının amacı, Kars ilinde ilk olmak üzere, güvercinlerde Haziran ayına ve Ocak ayına ait normal MDA ve GSH düzeylerinin belirlenmesidir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışmalarımın yönlendirilmesinde ve devam etmesinde her türlü desteğini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ayla ÖZCAN'a en içten saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Yüksek lisans eğitimime başlamamda emeği geçen Sayın Prof. Dr Şaban MARAŞLI'ya ve çalışmalarım sırasında her türlü yardımlarından dolayı Dr. Onur ATAKİŞİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Emine ATAKİŞİ'ye, Dr. Metin Ögün ve Oğuz Merhan'a, şekil ve resimlerin düzenlenmesinde yardımcı olan Aytaç GÖREN'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen eşim Fadime YUSUFOĞLU'na, oğlum Arda Kağan YUSUFOĞLU'na, annem Salihe YUSUFOĞLU'na ve babam Muhiddin YUSUFOĞLU'na teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

ROT : Reaktif Oksijen Türleri

SOD : Süperoksit Dismutaz

GSH : İndirgenmiş Glutatyon

GSSG : Yükseltgenmiş Glutatyon

MDA: Malondialdehit

Gly : Glisin

Cys : Sistein

Glu : Glutamat

ROOH : Lipid Hidroperoksit

GSH-Px : Glutatyon Peroksidaz

GSH-Rd: Glutatyon Redüktaz

Grafikler Dizini

Grafik-1 GSH Standart Eğri Grafiği

Grafik-2 MDA Standart Eğri Grafiği

Tablolar Dizini

Tablo-1 Canlılarda Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

Tablo-2 GSH Tayininde Uygulanan İşlemler

Tablo-3 MDA Tayininde Uygulanan İşlemler

Tablo-4 Güvercinlerde MDA ve GSH Düzeyleri

Şekiller Dizini

Şekil-1 Ortaklanmamış Elektron

Şekil-2 Bağların Homolitik Kırılması

Şekil-3 Bağların Heterolitik Kırılması

Şekil-4 Oksitlenmiş Glutatyonun Oluşumu

Şekil-5 Serbest Radikallerin Oluşumunda Oksijenin Rolü ve Bazı Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Şekil-6 Hidrojen Peroksit Radikali ve Antioksidan Aktivite

Şekil-7 Su Moleküllerinin Homolitik Kırılması

Şekil-8 Haber-Weiss Reaksiyonu ile Hidroksil Radikalinin Oluşması

Şekil-9 Lipit Peroksidasyonunun Zincir Mekanizması

Şekil-10 Lipit Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu

Şekil-11 GSH'ın Kimyasal Yapısı

Şekil-12 γ -glutamil Döngüsü

Şekil-13 TBA ve MDA Kompleksi

İÇİNDEKİLER

Simgeler ve Kısaltmalar.....	I
Grafikler Dizini.....	II
Tablolar Dizini.....	III
Şekiller Dizini.....	IV
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER.....	1
1.1 Oksidatif Stres ve Serbest Radikallerin Tanımı.....	1
1.2 Serbest Radikal Kaynakları.....	2
1.3 Serbest Radikallerin Oluşumu.....	3
1.3.1 Kovalent bağların homolitik kırılması.....	3
1.3.2 Normal bir molekülün elektron kaybetmesi.....	4
1.3.3 Normal bir moleküle elektron transferi.....	5
1.4 Serbest Oksijen Radikalleri.....	5
1.4.1 Süperoksit (O ₂ [•]) Radikali.....	7
1.4.2 Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	7
1.4.3 Hidroksil (OH [•]) Radikali.....	8
1.4.4 Singlet Oksijen (¹ O ₂).....	9
1.5 Lipit Peroksidasyonu.....	10
1.6 Antioksidanlar ve Etkileri.....	12
1.6.1 Antioksidanların Sınıflandırılması.....	13
1.6.1.1 Enzimatik Antioksidanlar.....	13
1.6.1.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	14
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
2.1 Materyal.....	17
2.2 Metot.....	17
2.3 Tüm Kanda GSH Tayini.....	18
2.4 Plazmada MDA Tayini.....	20
3. BULGULAR.....	24
4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	26

5. ÖZET.....	28
6. SUMMARY.....	29
7. KAYNAKLAR.....	30
8. ÖZGEÇMİŞ.....	33

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

Oldukça hassas ve karmaşık bir dengeden oluşan ekosistemde aerobik canlıların en çok ihtiyaç duydukları oksijenin, olumsuz etkileri de olabilmektedir.

Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan serbest radikaller, canlılarda yaşlanma, kanser ve hücre ölümü gibi birçok olumsuz etkilere sebep olur ve organizmanın dengesini bozarlar. Bozulan dengeyi düzeltmek ve oluşan serbest radikallerin etkisini ortadan kaldırmak için savunma mekanizması ve antioksidan sistemler devreye girer (1,8,14).

Yapılan bu çalışma ile Kars ilinde halk elinde yetiştirilen güvercinlerde, serum MDA ve tam kan GSH düzeylerinin normal aralıklarının saptanması amaçlanmıştır.

1.1 Oksidatif Stres ve Serbest Radikallerin Tanımı

Oksidatif stres, canlıların sahip olduğu antioksidan savunma sistemi ile lipit peroksidasyonu sonucu oluşan serbest radikaller arasındaki dengenin bozulmasıdır (14,20).

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip, kimyasal aktifliği oldukça yüksek maddelerdir. Molekül ağırlıkları düşük ve aktif moleküller olduklarından kısa ömürlü olan serbest radikaller basit bir atom ya da kompleks bir organik molekül olabilir (14).

Elementlerin birçoğu atomik yapılarında ortaklanmamış elektron içerdiklerinden, doğada atom şeklinde değil de moleküler şekilde bulunurlar (14,20).



Şekil-1 Ortaklanmamış Elektron (14)

Serbest radikaller aşağıdaki şekilde sınıflandırılır (2)

a) Reaktif oksijen türleri (ROT)

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) Ozon (O_3)
Hidrojen peroksit (H_2O_2) Hidroksil radikali (OH^{\cdot})
Hipoklorik asit ($HOCl$) Alkoksil radikali (RO^{\cdot})
Peroksil radikali (ROO^{\cdot}) Hidroperoksil radikali ($ROOH^{\cdot}$)
Singlet oksijen (1O_2)

b) Reaktif nitrojen türleri (RNT)

Nitrik oksit (NO^{\cdot}) Nitrik dioksit (NO_2^{\cdot})
Peroksinitrik ($ONOO^{\cdot-}$)

c) Reaktif sülfür türleri (RST)

Tiyil radikali (RS^{\cdot})

1.2 Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller, canlılarda normal biyolojik fonksiyonların yanı sıra oksidatif stres yapıcı durumlar ve yaşlanmaya bağılı olarak ta meydana gelebilmektedir (8).

Tablo-1 Canlılarda Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları (8)

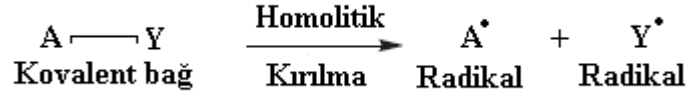
I-Normal biyolojik işlemler	1 - Oksijenli solunum	
	2 - Katabolik ve anabolik işlemler	
II-Oksidatif stres yapıcı durumlar	1 - İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite - intoksikasyon	
	2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi	a. İnhale edilenler
		b. Alışkanlık yapan maddeler
		c. İlaçlar
	3 - Oksidan enzimler	a. Ksantin oksidaz
		b. İndolamin dioksidgenaz
		c. Triptofan dioksidgenaz
		d. Galaktoz oksidaz
		e. Siklooksigenaz
	4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu	f. Lipooksigenaz
g. Monoamino oksidaz		
5- Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelial hücreler)		
6 - Uzun süreli metabolik hastalıklar		
7 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara		
III-Yaşlanma süreci		

1.3 Serbest Radikallerin Oluşumu

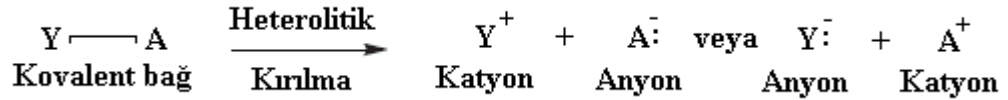
Canlı metabolizmasında birçok fiziksel ve kimyasal nedenlere bağlı olarak hücresel seviyede serbest radikaller oluşmaktadır. Serbest radikal oluşumu üç kimyasal mekanizma ile açıklanmaktadır (20).

1.3.1 Kovalent Bağların Homolitik Kırılması

Yüksek sıcaklık (500-600°C) ve yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısında bulunan her iki elektron ayrı atomlar üzerinde kalırsa bu kırılmaya homolitik kırılma denilmekte ve sonuç olarak her iki atom üzerinde ortaklanmamış elektron kalmaktadır. Organik moleküllerde bağların heterolitik kırılması sonucunda zıt yüklü iyon çiftleri olan reaktifler oluşmaktadır (7,14,20).



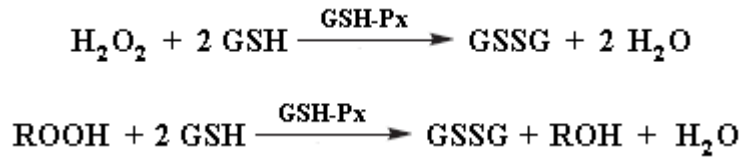
Şekil-2 Bağların Homolitik Kırılması (15)



Şekil-3 Bağların Heterolitik Kırılması (7)

1.3.2 Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi

Serbest radikal özelliği taşımayan bir molekülün elektron kaybetmesi sonucunda dış orbitalinde ortaklanmamış elektron kalmakta ve serbest radikal oluşmaktadır (22). Örneğin hüresel antioksidanlar olan askorbik asit, glutatyon (GSH) ve tokoferoller (E vitamini) serbest radikallere tek elektronlarını vererek indirgerler. Bu kimyasal reaksiyon sonucunda hüresel antioksidanların radikal formları oluşmaktadır. GSH serbest radikalleri indirgedikten sonra tiyil (GS) radikal formu, iki tiyil radikal formunun kimyasal tepkimesi sonucunda glutatyonun oksitlenmiş formu (GSSG) oluşur (1,7,20).



Şekil-4 Oksitlenmiş Glutatyonun Oluşumu (7,3)

1.3.3 Normal Bir Moleküle Elektron Transferi

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşturuluyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna sebep olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, süperoksit radikalının (O_2^{\cdot}) oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalının oluşumundaki artış, oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerin oluşumu için tetik fonksiyonu görür (7,20).

1.4 Serbest Oksijen Radikalleri

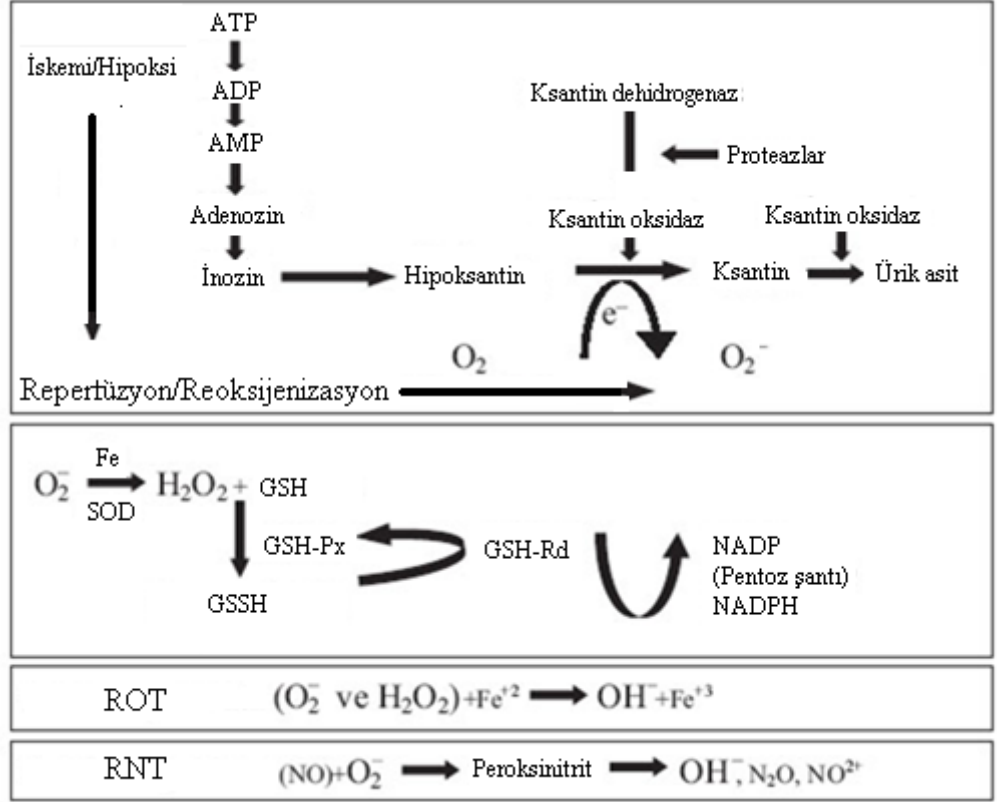
Ekosistemde bulunan oksijen, canlılarda yapısal ve fonksiyonel olarak önem arz eder. Hidrojen, kükürt, nitrojen ve karbon ile birlikte oksijen, organik moleküllerin temel yapısal taşlarını oluştururlar. Oksijenin aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü hayati bir öneme sahiptir. Hücre ve dokuların yapısında bulunan oksijeni, insanlar ve hayvanlar enzimatik olarak kullanabilmektedirler (20).

Canlı organizmada hayati öneme sahip olan oksijenin toksik etkisi de vardır. Bu etki başlıca iki mekanizma ile gerçekleşmektedir.

a- Moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe etmesi

Oksijen, nitrojenaz enzimleri ve ribuloz bifosfat karboksilazı kompetitif olarak inhibe eder. Oksijenin kendisinden kaynaklanan bu inhibitör etki sınırlı sayıda enzimde görülmüştür ve reaksiyon hızı da zayıftır.

b- Moleküler oksijenin metabolizmada kullanılması sırasında meydana gelen oksijen radikallerinden kaynaklanmaktadır (20).



Şekil-5 Serbest Radikallerin Oluşumunda Oksijenin Rolü ve Bazı Antioksidan Savunma Mekanizmaları (36)

Reaktif oksijen türleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar (8).

a- Radikaller

- Süperoksit radikali (O_2^{\cdot})
- Hidroksil radikali ($\cdot OH$)
- Alkoksil radikali (LO^{\cdot})
- Peroksil radikali (LOO^{\cdot})

b- Radikal olmayanlar

- Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- Lipit hidroperoksit ($LOOH$)
- Hipoklorik asit ($HOCL$)

c- Singlet oksijen (1O_2)

1.4.1 Süperoksit (O_2^{\cdot}) Radikali

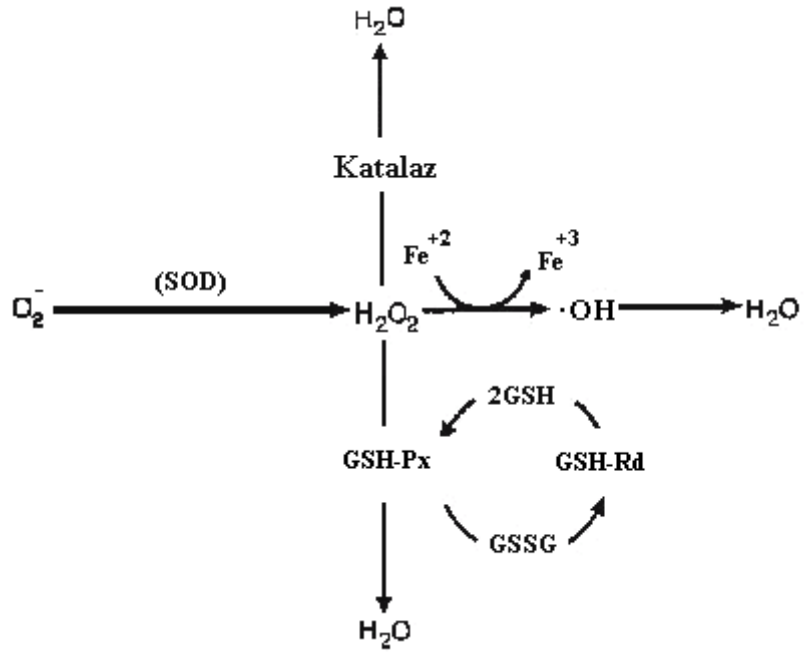
Süperoksit radikali oluşumu dört mekanizma ile açıklanmaktadır.

- a- İndirgeyici özellikteki biyolojik moleküllerden oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu,
- b- Başta çeşitli dehidrojenazlar ve oksidazlar olmak üzere yüzlerce enzimin katalitik etkisi sonucunda bir ürün olarak,
- c- Fagositik lökositlerin antibakteriyel etkisi için gerekli olan radikal yapımı sırasında,
- d- Mitokondride gerçekleşen enerji metabolizması sonucunda oluşur (7,14,20).

Hücrel koşullarda üretilen süperoksit radikali indirgeyici ve oksitleyici reaksiyonlara sebep olabilir. Aldığı elektronu geri verirse tekrar oksijene oksitlenir. Fakat bir elektron daha alması durumunda peroksi anyonuna indirgenir. Hücrel düzeyde zararlı reaksiyonlara sebep olduğu için, süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hidrojen peroksit (H_2O_2)'e çevrilir. Bu reaksiyona “**dismutasyon tepkimesi**” denir. SOD olmadan da süperoksit radikali hafif asidik koşullarda dismutasyona uğrar fakat bu olay çok yavaş gerçekleşmektedir. Hücrel savunma için SOD gereklidir (7,15,20).

1.4.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Süper oksidin dismutasyonu ve oksijenin indirgenmesi sonucunda oluşan H_2O_2 , yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden serbest radikal özelliği taşımaz. Hidrojen peroksitin serbest radikal olarak bilinmesinin sebebi; bakır (Cu) ve demir (Fe) gibi geçiş metalleri iyonlarının varlığında hidroksil radikalının öncüsü olarak davranmasıdır. Bu oksitleyici özelliğinden dolayı H_2O_2 antioksidan özelliğe sahip olan katalaz ve peroksidaz enzimleri ile etkisiz hale getirilir (7,13,14,26).

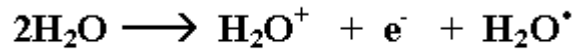


Şekil-6 Hidrojen Peroksit ve Antioksidan Aktivite (36)

1.4.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)

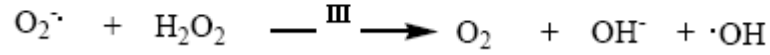
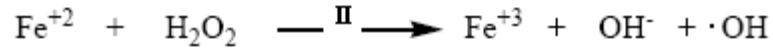
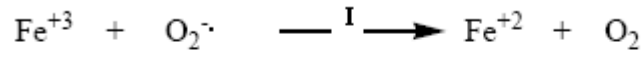
Hidroksil radikali büyük hasarlara sebep olan kuvvetli bir radikal olup, biyolojik sistemlerde iki tür mekanizma ile meydana gelmektedir.

- a- İyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile su moleküllerinin homolitik kırılması sonucunda ortaya çıkmaktadır (14,20).



Şekil-7 Su Moleküllerinin Homolitik Kırılması (14)

- b- Hidrojen peroksidin metallerle reaksiyonu sonucunda indirgenmesi ile oluşmaktadır (14,15,20).



Şekil-8 Haber-Weiss Reaksiyonu ile Hidroksil Radikalinin Oluşması (15)

Hidroksil radikali en reaktif tür olmasından dolayı, su dahil olmak üzere tüm biyomoleküller ile elektron transfer tepkimesi, hidrojen çıkarma (dehidrojenasyon) tepkimesi ve katılma tepkimesi vermektedir (2,17). Bütün bu tepkimeler, hidroksil radikalının paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır. Katılma tepkimeleri, özellikle elektronca zengin moleküllerle (pürin ve primidin bazları, aromatik amino asitler gibi) gerçekleşir. Hidroksil radikalının organik moleküllerden hidrojen atomu alarak suya indirgendiği tepkime, hidrojen çıkarma tepkimesi olarak bilinir (14,15,20).

1.4.4 Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Kimyasal yapısında ortaklanmamış elektron içermediği için serbest radikal değildir. Singlet oksijen, moleküler oksijenin yüksek enerji ile uyarılmış hali olup, oksijenin olduğu ortamlarda biyolojik pigmentlerin (klorofiller, flavinler veya porfirinler) ışığı absorblaması neticesinde oluşur (7,14,15,20).

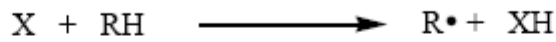
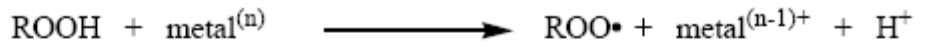
1.5 Lipit Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri organizmada en çok lipit yapılarda oluşur. Fakat oluşan serbest radikaller, proteinleri, karbonhidratları ve DNA'yı da oksidatif hasara uğratar (8).

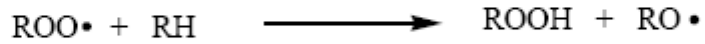
Oksijenin, zarlarda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara bağlanması lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan kimyasal reaksiyona neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonunun zar yapı bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine etkisi ve son ürünlerin sitotoksik etkiler oluşturması gibi farklı yollarla hücre hasarına sebep olduğu düşünülmektedir (2,11,16).

Lipit peroksidasyonunun ürünü olan malondialdehit (MDA), doymamış yağ asitlerinin alil gurubundan bir hidrojen çıkararak lipit radikalini, bu da oksijen ile reaksiyona girerek lipit peroksi radikalini oluşturur. Lipit peroksi radikali ise tetik görevi görür ve diğer lipitlerle zincirleme bir reaksiyon başlatarak lipit hidroperoksitleri oluşturur (8,15,22).

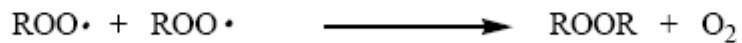
Başlatılma:



İlerleme:



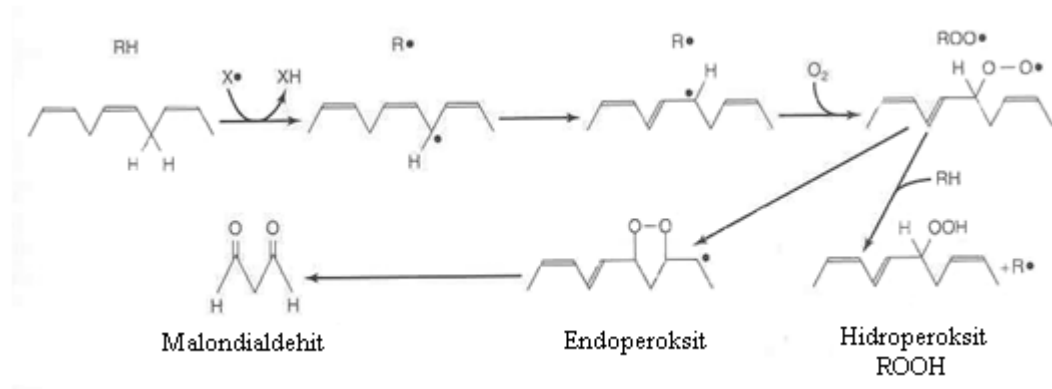
Sonlanma:



Şekil-9 Lipit Peroksidasyonunun Zincir Mekanizması (6,22,24)

Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları katalizör görevi yaparak reaksiyonu hızlandırır.

Lipit peroksidasyonu sırasında en önemli ürün olan MDA, üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında meydana gelir. Üç karbonlu bir ketoaldehit olan MDA, normal metabolik şartlarda, önce asetat veya malonata kadar okside olur, daha sonra krebs siklusu ile CO_2 'e indirgenerek atılır. Fakat aşırı lipit peroksidasyonunda MDA konsantrasyonu artar ve dokulara hasar verir. MDA hücre zarında, iyon geçirgenliğine ve enzim aktivitesinin değişimine sebep olur (1,7,11,20,22).



Şekil-10 Lipit Peroksidasyonunun Kimyasal Yolu (14,24)

Proteinler serbest radikallere karşı lipitlerden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal hasarlarından etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozular, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin ROT üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobinin gibi protein yapıları biyomoleküller de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (2).

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisi sonucunda çeşitli ürünler meydana gelmektedir. Bunlar, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psöriyazis, romatroid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak bu hastalıklarda serbest radikal artışının sebep mi yoksa sonuç mu olduğu tam olarak bilinmemektedir (2,8).

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. OH^{*} deoksiriboz ve bazlar ile kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂, membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre fonksiyonlarında aksaklıklara ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Süperoksidge (O₂⁻) maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta ve romatroid artritte dolaşımda anti-DNA antikörler bulunur (2,3,13,35).

1.6 Antioksidanlar ve Etkileri

Hücreler metabolik süreçlerin bir parçası olarak, sürekli serbest radikaller ve ROT meydana getirirler. Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir (1,2,5).

Antioksidanlar bu amaçla reaktif maddeleri ve reaksiyonlarını dengede tutabilmek üzere sürekli aktivite gösterirler. Antioksidanlar, lipit, protein, nükleik asit ve karbonhidrat gibi birçok serbest radikallerin hedefi olan molekülleri bu etkilerden korurlar.

Başlıca antioksidan etki şekilleri şunlardır;

- a. Serbest radikal ve ROT'nin oluşumunu engellerler.
- b. Oluşan serbest radikal ve ROT'ni yakalarlar.
- c. Daha az reaktif olan radikallerin, daha tehlikeli formlara dönüşümünü engellerler.
- d. Radikallerin sebep olduğu hasarın onarılmasını sağlarlar.
- e. Diğer antioksidanların görevlerini yerine getirmeleri için uygun ortam sağlarlar (2).

1.6.1 Antioksidanların Sınıflandırılması

1.6.1.1 Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Oksidatif strese karşı ilk savunma mekanizmasıdır. Süperoksit radikalının, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Bu dönüşüm neticesinde hücre içinde süperoksit radikalının miktarını azaltır (9,13,16,25,35).

Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi, glutatyon peroksidaz ile birlikte hücre içinde hidrojen peroksidin yok edilmesinde veya hücreden atılmasında rol oynar. Katalaz enzimi hidrojen peroksiti, oksijen ve suya dönüştürerek ortadan kaldırır (18,20).

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksidin ve organik hidroperoksidlerin indirgenmesini sağlar. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (1,2,23).

1.6.1.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Askorbik Asit (Vitamin C)

Askorbik asit, süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile reaksiyona girerek bunları etkisiz hale getirir. Ayrıca E vitamininin rejenerasyonunda da görev alır (2,5,10,19,21,28,31).

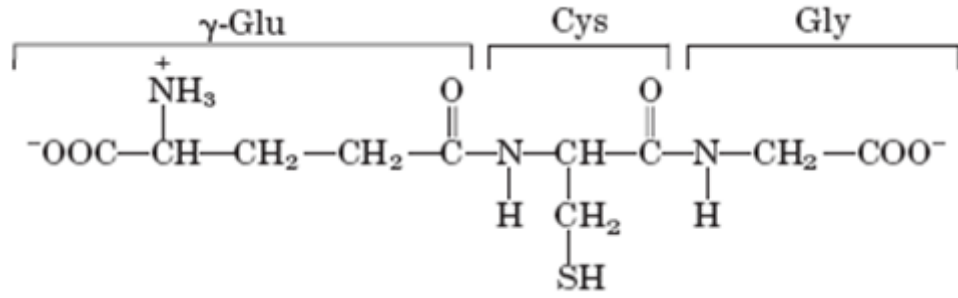
Alfa-Tokoferol (Vitamin E)

Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre zarında bulunan uzun zincirli doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin etkisinden korur. Zincir kırıcı bir etkiye sahiptir (5,6,10,16,18,21,31).

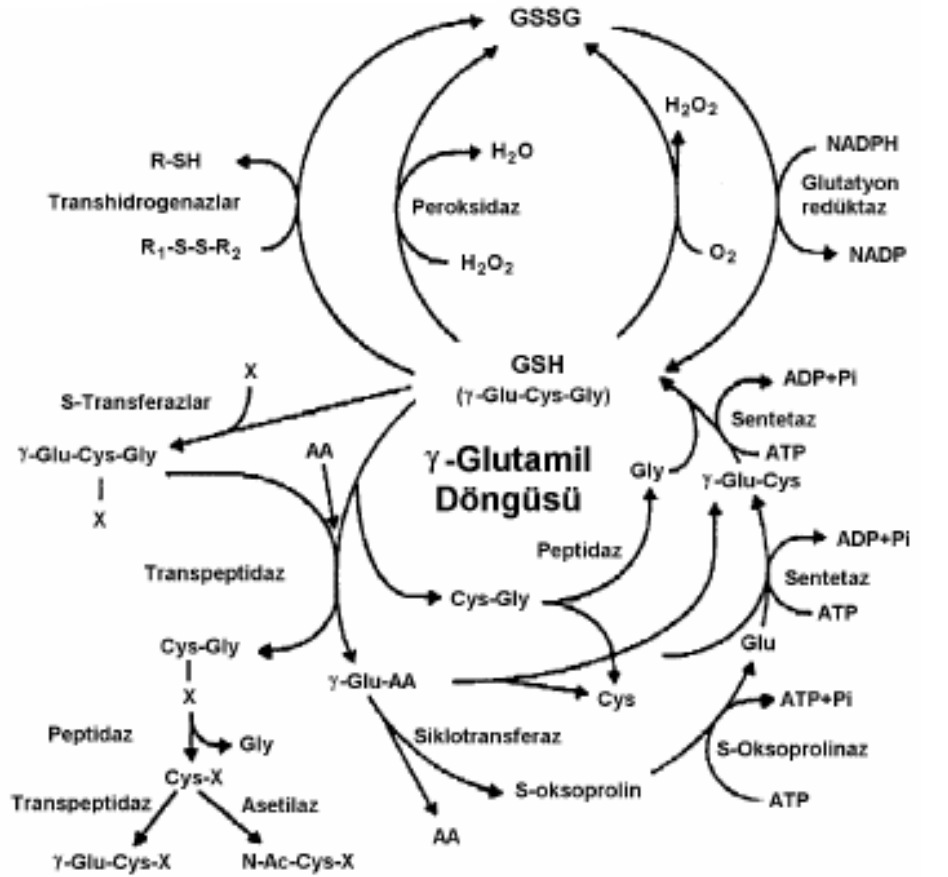
Glutasyon (GSH) Metabolizması ve Antioksidan Rolü

Sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptit olan GSH, iki önemli yapı olan tiyol gurubunu ve γ -glutamin bağınyı yapısında bulundurur. Hayvan hücrelerinde yüksek konsantrasyonda bulunan (0.1-10 mM) ve önemli bir antioksidan olan GSH'ın %99'dan fazlası indirgenmiş formda bulunur ve bu formda tutulabilmesi pentoz fosfat metabolik yoluna bağlıdır (1,2,12,29,30,33,34).

GSH, hücreyi oksidatif hasara karşı korumasının yanında DNA'nın sentezinde ve onarılmasında kullanılır, toksik bileşiklere ve radyasyona karşı hücreyi korur. Bazı ilaçların inaktivasyonunda, östrojen, prostaglandin ve lökotrienler gibi endojen bileşiklerin metabolik olaylarında da yer alır (1,2,12).



Şekil-11 GSH'nin Kimyasal Yapısı (24)



Şekil-12 γ-Glutamil Döngüsü (1)

GSH'nin dengesi hücresel düzeyde, biyosentez ve oksidasyon arasındaki denge ile sağlanır. Bunun yanında doku düzeyindeki GSH dengesi, GSH metabolizmasına ve dokular arasındaki GSH akışına bağlı olarak düzenlenir. GSH sentezinde γ-

glutamil döngüsü oldukça önemlidir. GSH sisteinin taşınmasında etkili bir araçtır (1,2,29,33,35).

GSH sentezinde iki önemli enzim olan, γ -glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz enzimleri görev alır. GSH sentezi, sentezde kullanılan substratların miktarına ve görev alan enzimlerin konsantrasyonuna bağlıdır (1,2).

Karaciğer hücreleri GSH'ı öncülerinden veya GSSG'den geri dönüştürme yolu ile sentezlerler. Bu hücreler bir yandan GSH'ı sentezlerken bir yandan da potansiyel toksiklere karşı GSH'ı kullanır. GSH en yüksek derişime hepatositlerde ulaşır (1,17,30).

2. MATERYAL ve METOT

2.1 Materyal

Materyal olarak Kars merkezde halk elinde bulunan taklacı güvercinlerden 38 adet sağlıklı güvercin seçildi. Güvercinlerin ortalama yaşları 3-4, ortalama ağırlığı ise 215-260 gramdı. 11 Haziran 2007 ve 15 Ocak 2008 tarihlerinde güvercinlerin kanat venasından (V. Subcutanea ulnaris)sitratlı tüplere kan alındı. GSH analizi için tam kan ayrıldıktan sonra kalanı MDA analizi için 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazması ayrıldı. Numuneler -45°C’de derin dondurucuda ölçüm gününe kadar saklandı.

2.2 Metot

2.2.1 Analizlerde kullanılan cihazlar

- a. Spektrofotometre (UV-1201, Shimadzu)
- b. Santrifüj (Heraeus christ)
- c. Etüv (Nüve)
- d. Su banyosu (SB100, Nüve)
- e. Otomatik pipet (Eppendorf)
- f. Terazi (Sartorius)
- g. Vorteks (Labinco)

2.2.2 Analizlerde kullanılan kimyasallar

- a. 5,5'-2-ditiobis nitronzoik asit (Sigma)
- b. GSH standardı (Sigma)
- c. Tiyobarbütirik asit (Merck)
- d. n-bütanol (Merck)
- e. Metafosforik asit (Merck)
- f. Triklorasetik asit (Merck)

- g. 1,1,3,3-tetraetoksipropan (Merck)
- h. NaCl (Sigma)
- i. EDTA (Sigma)

2.3 Tüm Kanda GSH Tayini

Tüm kanda GSH tayini Beutler metoduna göre (4) yapıldı.

Deneyin Prensibi

Sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptit olan GSH nerdeyse tamamı kandaki eritrositler içinde bulunur. EDTA'lı kanın distile su ile hazırlanan hemolizinde, sülfhidril(-SH) grupları taşımayan tüm proteinler çöktürülür. GSH, elde edilen berrak sıvıda -SH gruplarının DTNB (5,5'-2-ditiobis nitrobenzoik asit) ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülür.

Deneyde Kullanılan Çözeltiler

a- Çöktürücü çözelti

1.67g metafosforik asit, 0,2g etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) ve 30g NaCl alınarak hacmi 100ml'ye tamamlandı. Bu çözelti +4°C'de yaklaşık olarak 3 hafta boyunca sabit kalır.

b- Fosfat çözeltisi(0.3M Na₂HPO₄)

53.4g Na₂HPO₄·2H₂O bir miktar distile suda çözülerek hacmi litreye tamamlandı. Bu çözelti +4°C'de uzun zaman muhafaza edilebilir niteliktedir.

c- DTNB çözeltisi (Ellman's çözeltisi)

40mg DTNB alındı ve %1'lik sodyum sitrat ile hacim 100ml'ye tamamlandı.

d- Standart GSH çözeltisi

40mg GSH alındı ve distile su ile hacim 100ml'ye tamamlandı. Bu çözeltiden 40-20-10-5 mg/dl dilüsyonlar hazırlanarak aşağıdaki gibi çalışıldı, 412 nm'de optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.

Deneyin Yapılışı

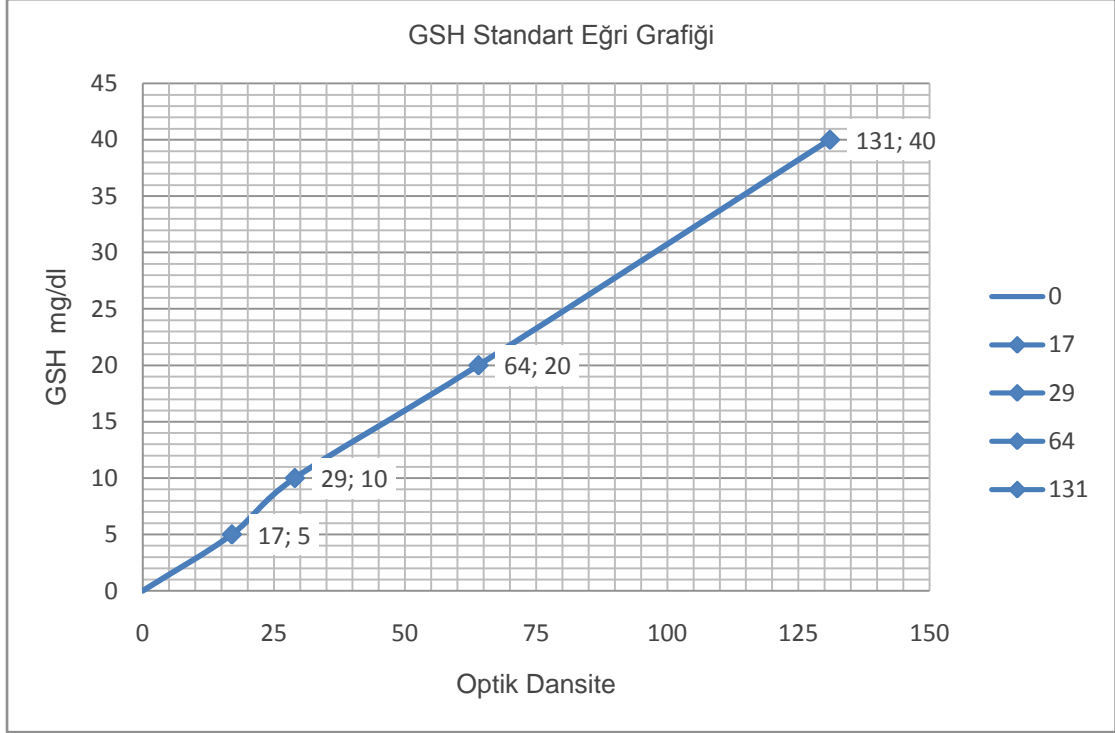
Kör, standart ve test olarak işaretlenen tüplerden test tüpüne, 200µl EDTA'lı kan, standart tüpüne 200µl standart çözeltisi alındı. Üzerine 1800µl distile su (kanın hemoliz olması için) ve 3ml çöktürücü çözelti eklendi. Kör olarak işaretlenen tüpe 800µl distile su, 1200µl çöktürücü çözelti pipetlendi. Tüpler karıştırıldı ve buzlu suda 5 dk bekletildi, 3000 devirde 10 dk santrifüj edildi. Kör tüpü aynen alındı, standart ve test olarak işaretlenen yeni tüplere 2'şer ml süpernatant alındı. Bütün tüplere 8'er ml fosfat çözeltisi ilave edilip karıştırıldı. 1ml DTNB eklenip, 412 nm dalga boyunda köre karşı standart ve testin optik dansitesi okundu.

Tablo-2 GSH Tayininde Uygulanan İşlemler

	Kör	Standart	Test
EDTA'lı Kan	-	-	200µl
Distile Su	800µl	1800µl	1800µl
Çök. Çözelti	1200µl	3000µl	3000µl
Buzlu suda 5dk bekletildi, 3000 devirde 10dk santrifüj edildi ve başka tüplere süpernatantan 2ml aktarıldı.			
Fosfat çözeltisi	8ml	8ml	8ml
Vorteksde karıştırıldı.			
DTNB	1ml	1ml	1ml
412nm' de köre karşı tüpler okundu.			

2.3.4 Sonuçların Hesaplanması

GSH düzeyleri mg/dl olarak, hazırlanan kalibrasyon eğrisinde optik dansitelerine bakıldı.



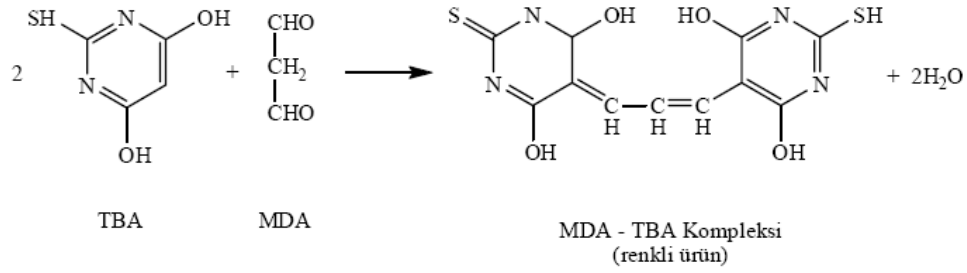
Grafik-1 GSH Standart Eğri Grafiği

2.4 Plazmada MDA Tayini

Plazmada MDA analizi Yoshioka ve ark.nın (32) bildirdiği metoda göre yapıldı.

Deneyin Prensibi

MDA ve TBA'nın asidik ve sıcak ortamda pembemsi tonda bir kompleks oluşturmaları esasına dayanır. Bu renkli kompleksin 532 nm'de verdiği absorbans ile MDA konsantrasyonu doğru orantılıdır.



Şekil-13 TBA ve MDA Kompleksi (2)

Deneyde Kullanılan Çözeltiler

a- Triklorasetik asit (% 20)

20 g triklorasetik asit (TCA) alındı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim 100ml' ye tamamlandı.

b- Tiyobarbütirik asit (% 0,67)

1,675 g tiyobarbütirik asit alındı, bir miktar distile suda çözüldü ve hacim 250ml'ye tamamlandı.

c- Standart MDA çözeltisi

0,494ml 1,1,3,3-tetraetoksiopropan 100ml alkolde çözülerek, 20mmol/L'lik stok standart çözelti hazırlandı. Bundan 0.1ml alınarak hacmi 100ml'ye tamamlandı ve 20µmol/L'lik standart çözelti elde edildi. Bu çözeltiden 2.5-5-10 µmol/L'lik dilüsyonlar hazırlanarak aşağıdaki gibi çalışıldı, 535 nm'de optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.

Deneyin Yapılışı

Test ve kör olarak işaretlenen cam deney tüpleri alındı ve test tüpüne 0.5 ml plazma pipetlendi. Kör tüpüne 3 ml ve test tüpüne 2,5 ml, %20'lik TCA ilave edildi. Daha sonra her iki tüpe 1 ml TBA alındı ve tüpler 90°C' lik su banyosunda 30 dk inkübasyona bırakıldı, soğutuldu ve üzerine 4 ml n-butanol konularak 3000 devirde

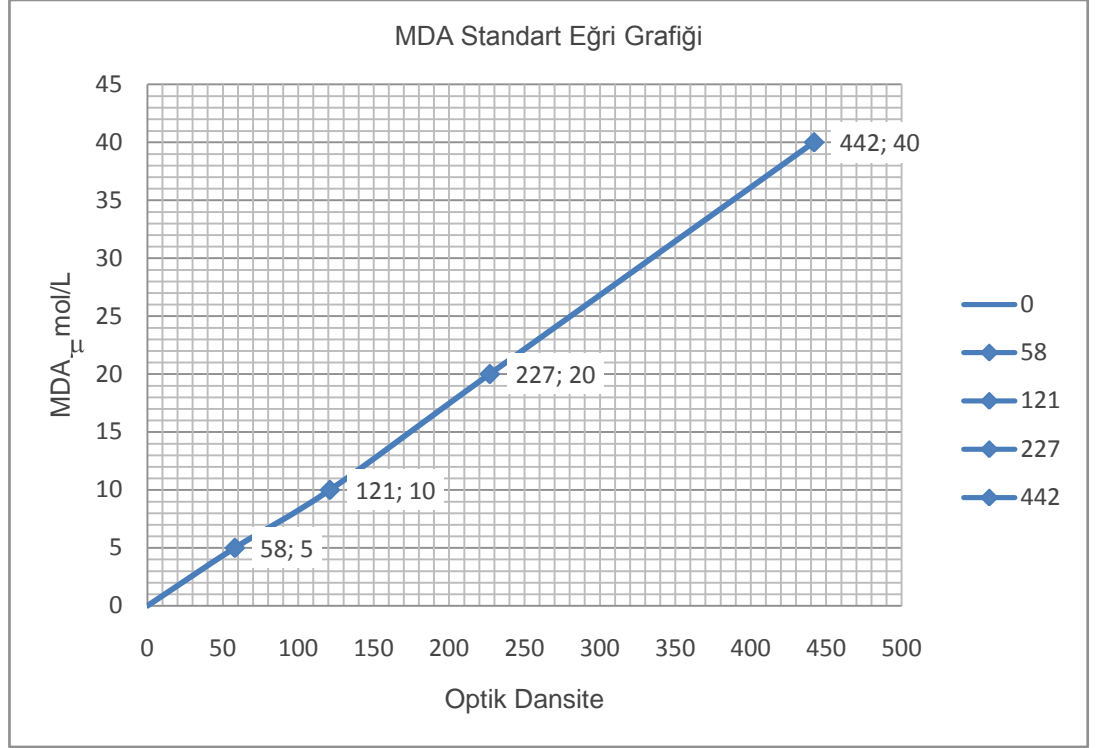
10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra n-butanol tabakası başka bir tüpe aktarılarak 535 nm'de köre karşı testin absorbansı spektrofotometrede okundu.

Tablo-3 MDA Tayininde Uygulanan İşlemler

	Kör	Test
Plazma	-	500
TCA	3ml	2.5ml
TBA	1ml	1ml
90°C' de 30 dakika su banyosunda inkübe edildi sonra tüpler su altında soğutuldu.		
n-Bütanol	4ml	4ml
3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi.		
Oluşan tabaka ayrılarak 535 nm' de köre karşı absorbansları okundu.		

Sonuçların Hesaplanması

MDA düzeyleri $\mu\text{mol/l}$ olarak, hazırlanan kalibrasyon eğrisine bakılarak hesaplandı.



Grafik-2 MDA Standart Eğri Grafiği

3. BULGULAR

Halk elinde yetiştirilen güvercinlerin MDA ve GSH düzeylerin araştırılması amacıyla yapılan çalışmada, Haziran ve Ocak ayında alınan kan örneklerinde MDA ve GSH değerlerinin ortalama, standart hata ve iki grup arasındaki farklılığın önemi sırasıyla Tablo-3’de gösterilmiştir.

Çalışmada Haziran ayında alınan numunelerde elde edilen GSH düzeyleri 109.30 ± 5.46 , Ocak ayında alınan numunelerde 85.12 ± 3.88 mg/dl olarak kayıt edildi.

Benzer şekilde Ocak ayında alınan numunelerde MDA düzeyleri 10.25 ± 0.33 , Ocak ayında alınan numunelerde 7.44 ± 0.52 $\mu\text{mol/l}$ olarak saptandı.

Haziran ve Ocak aylarında alınan kan numunelerinde ölçülen GSH ve MDA düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli ($p < 0,001$) farklar bulundu.

Tablo-4 Güvercinlerde MDA ve GSH Düzeyleri

Güvercinlerde MDA ve GSH düzeyleri (n:38)	$\bar{X} \pm S_x$	p
Haziran ayına ait MDA	10.25 ± 0.33	0.001
Ocak ayına ait MDA	7.44 ± 0.52	
Haziran ayına ait GSH	109.30 ± 5.46	0.001
Ocak ayına ait GSH	85.12 ± 3.88	

Haziran ayına ait GSH ve MDA değerleri			Ocak ayına ait GSH ve MDA değerleri		
Sıra No	MDA(μ mol/l)	GSH (mg/dl)	Sıra No	MDA(μ mol/l)	GSH (mg/dl)
1	10.86	108.77	1	4.25	90.18
2	10.59	108.07	2	6.97	65.26
3	10.95	143.86	3	2.81	42.46
4	8.14	75.44	4	11.58	115.09
5	8.24	110.18	5	3.44	111.93
6	7.51	114.74	6	8.42	109.82
7	9.59	75.44	7	10.41	108.77
8	8.87	147.37	8	3.53	112.28
9	11.67	180.7	9	3.71	100.7
10	11.86	150.88	10	7.78	99.3
11	9.23	109.47	11	2.53	105.26
12	10.59	203.51	12	9.86	60.7
13	8.14	150.88	13	3.98	94.74
14	11.31	71.93	14	6.61	118.6
15	10.86	118.6	15	5.88	58.6
16	12.86	73.68	16	7.06	89.82
17	13.21	138.6	17	8.96	102.46
18	13.94	74.04	18	4.98	107.37
19	6.06	113.68	19	8.69	33.68
20	12.94	135.44	20	4.80	77.19
21	8.24	97.54	21	10.77	77.89
22	13.21	122.11	22	10.95	44.91
23	8.87	141.05	23	10.95	63.16
24	12.94	81.75	24	2.81	86.67
25	11.95	148.77	25	6.52	46.32
26	8.24	111.58	26	9.23	42.11
27	10.23	90.53	27	8.69	100
28	8.42	90.18	28	15.2	72.98
29	10.05	98.25	29	3.35	82.81
30	13.30	73.68	30	5.43	107.02
31	7.96	40.35	31	12.67	77.89
32	7.69	84.21	32	11.76	113.74
33	11.67	96.49	33	11.22	102.46
34	11.86	108.77	34	6.79	70.18
35	10.95	119.30	35	4.16	69.82
36	8.69	75.44	36	8.33	77.19
37	9.23	94.74	37	8.87	88.07
38	8.51	73.68	38	9.05	107.37

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapısında γ -glutamin, sistein ve glisin amino asitlerini bulduran GSH'ın organizmadaki en önemli fonksiyonlarından biri antioksidan özellik göstermesidir (1).

Çalışmada Haziran ayında alınan numunelerde elde edilen GSH düzeyleri 109.30 ± 5.46 mg/dl, Ocak ayında alınan numunelerde 85.12 ± 3.88 mg/dl olarak saptandı.

Galvani ve ark. bıldırcınlarda GSH değerini $150 \mu\text{g/ml}$ olarak bildirmişlerdir (12). Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar yukarıdaki araştırmadan farklı olarak yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi olarak hem türün farklı oluşu hem de güvercinlerin antioksidan savunma sistemlerinin daha güçlü olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Karaca ve ark. yaptıkları çalışmada, pekin ördeklerinde GSH düzeyini 78.7 ± 6.6 , Moskova ördeklerinde 66.89 ± 5.8 , Mallard ördeklerinde 77.4 ± 6.8 mg/dl olarak kaydetmişlerdir (19). Çalışmadan elde edilen tam kan GSH düzeyleri Pekin, Moskova ve Mallard ördeklerinden elde edilen GSH düzeyleri ile kıyaslandığında birbirine yakın sonuçlar olduğu tespit edildi. Bu durum ördeklerin antioksidan savunma sistemleri ile güvercinlerin antioksidan savunma sistemlerinin birbirlerine yakın olabileceği kanısına varıldı.

Üç karbonlu bir ketoaldehit olan MDA, üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında meydana gelir. Normal metabolik şartlarda, önce asetat veya malonata kadar okside olur daha sonra krebs siklusu ile CO_2 'e indirgenerek atılır. Aşırı lipit peroksidasyonunda MDA konsantrasyonunun arttığı ve organizmaya zarar verebileceği kaydedilmiştir (9,11,20).

MDA düzeyleri Haziran ayında alınan örneklerde 10.25 ± 0.33 , Ocak ayında alınan örneklerde $7.44 \pm 0.52 \mu\text{mol/l}$ olarak saptandı.

Karaca ve ark. yaptıkları çalışmada, Pekin ördeklerinde MDA düzeyini 1.3 ± 0.3 , Moskova ördeklerinde 1.07 ± 0.2 , Mallard ördeklerinde 0.8 ± 0.2 nmol/ml olarak kayıt etmişlerdir (19). Yapılan çalışmada güvercinlerden elde edilen MDA düzeyleri çeşitli ördek türlerinde saptanan MDA düzeyleri ile kıyaslandığında çok büyük farkların olduğu bulundu. Bu durum lipit peroksidasyonunun güvercinlerde daha fazla olabileceğini göstermektedir.

Ramnath ve ark. tarafından sıcak stresinin temel oksidatif stres parametreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada çeşitli antioksidan/oksidan moleküllerin düzeylerinde değişimler saptamışlardır. Serum ve karaciğer lipit peroksidasyon düzeylerini sıcak stresine maruz kalan grupta yüksek olduğunu kaydetmişlerdir (27).

Koinarski ve ark. Broiler tavuklarında MDA düzeyini 2.55 ± 0.07 $\mu\text{mol/l}$ olduğunu belirlemişlerdir (21). Yapılan çalışmada güvercinlerde bulunan MDA seviyesi Broiler tavuklarından daha yüksek bulunmuştur bu farklılığın türe özgü bir durum olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmayla güvercinlerde MDA ve GSH düzeyleri belirlenmiş olup, daha sonraki çalışmalara kaynak olabileceği düşünülmektedir.

5. ÖZET

Bu çalışmada güvercinlerde lipit peroksidasyonu ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) ve antioksidan özelliğe sahip bir tripeptit olan redükte glutatyon (GSH) düzeylerinin araştırılması amaçlandı. Araştırmada materyal olarak, halk elinde yetiştirilen canlı ağırlıkları 215-260 gr olan, 38 adet sağlıklı güvercin kullanıldı. Kan numuneleri 11 Haziran 2007 ve 15 Ocak 2008 tarihlerinde alındı ve numunelerde GSH ve MDA düzeyleri kolorimetrik olarak saptandı.

GSH düzeyleri Haziran ayında alınan numunelerde 109.30 ± 5.46 Ocak ayında alınan numunelerde 85.12 ± 3.88 mg/dl olarak tespit edildi.

MDA düzeyleri Haziran ayında numunelerde 10.25 ± 0.33 , Ocak ayında alınan numunelerde 7.44 ± 0.52 $\mu\text{mol/l}$ olarak tespit edildi.

MDA ve GSH düzeylerinde Haziran ve Ocak aylarında ait numunelerde istatistiksel olarak $p < 0.001$ fark bulundu.

Sonuç olarak, bu çalışmayla güvercinlerde MDA ve GSH düzeyleri belirlenmiş olup, daha sonraki çalışmalara kaynak olabileceği düşünülmektedir.

6. SUMMARY

Investigation on MDA and GSH Levels in Pigeons

Aim of this study was to investigate levels of malondialdehyde (MDA), a product of lipid peroxidation, and reduced glutathione (GSH), an antioxidant tripeptide, in pigeons. Pigeons weighing 215 to 260 g (n=38) were obtained from local breeders.

Blood samples were taken between 11 June 2007 and 15 January 2008. GSH and MDA levels were determined colorimetrically.

GSH levels were 109.30 ± 5.46 mg/dl for June samples and they were 85.12 ± 3.88 mg/dl for January samples.

MDA levels were 10.25 ± 0.33 $\mu\text{mol/l}$ for June samples and they were 7.44 ± 0.52 $\mu\text{mol/l}$ for January samples.

MDA and GSH levels were significantly different between June and January samples ($P < 0,001$).

Key Words: Pigeon, Reduced Glutathion, Malondialdehyde.

7. KAYNAKLAR

- 1- Aksoy Y.: Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. Tr Klin. Tıp Bil. Derg. 22: 442-448, 2002.
- 2- Akkuş İ.: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yay., Kuzucular ofset, Konya. 1995.
- 3- Babior, B.M.: Oxidants from phagocytes: Agents of defense and destruction. Blood, 64(5): 959-966, 1984.
- 4- Beutler E., Duran O., Kelly B.M.: Improved method for the determination of blood glutathione. Aldrich Chem. Company. 61(5): 882-888, 1963.
- 5- Bendich A.: Antioxidant vitamins and their functions in immune responses. Adu. Exp. Med. Biol. 262: 35-55, 1990.
- 6- Burton G.W., Ingold K.U.: Vitamin E: Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. Acc. Chem. Res. 19: 194-201, 1986.
- 7- Cheeseman H.K., Slater.: An introduction to free radical biachemistry. Br. Med. Bull. 49(3): 481-493, 1993.
- 8- Çavdar C., Sifil A., Çamaşırı T.: Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Tr Nefr Diy. Transplant. Derg. 3-4: 92-95, 1997.
- 9- Çördük M.: Kanatlı semeninin dölleme yeteneği ve yağ asidi kompozisyonu üzerine yem yağlarının ve antioksidanların etkisi. Tarım Bil. Derg. 13(4): 331-336, 2007.
- 10- Eseceli H., Kahraman R.: Ayçiçeği ve balık yağı katılan yumurta tavuğu rasyonlarına E ve C vitamini ilavesinin yumurta sarısı yağ asitleri kompozisyonu ile malondialdehit düzeyine etkisi. Gıda ve Yem Bil. Tek. Derg. 4(2): 13-22.
- 11- Esterbauer H., Wag G., Puhl H.: Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. Br Med Bull. 49(3): 566-576, 1993.
- 12- Galvani P., Cassani A., Fumagalli P., Santagostino A.: Effect of paraquat on glutathione activity in Japanese Quail. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 64: 74-80, 2000.
- 13- Halliwell B.: Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. The Lancet, 721-724, 1994.

- 14-** Halliwell B.: Tell me about free radicals, doctor: A review. *Royal Society Med.* 82: 747-752, 1989.
- 15-** Halliwell B., Gutteridge C.M.: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219: 1-14, 1984.
- 16-** Halliwell B.: Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *The Lancet*, 1396-1398, 1984.
- 17-** Hull J.S., Scott M.L.: Studies on the changes in reduced glutathione of chick tissues during onset and regression of nutritional muscular dystrophy. *J. Nutr.* 106: 180-190, 1976.
- 18-** Jialal I., Fuller C.J.: Oxidized LDL and antioxidants. *Clin. Cardiol.* 16: 1-9, 1993.
- 19-** Karaca T., Cemek M., Kanter M.: Lipid peroxidation and antioxidant levels, and alpha naphthyl acetate esterase activity of peripheral blood lymphocytes in Mallard, Muscovy and Pekin ducks. *Acta Vet. Brn.* 75: 33-38, 2006.
- 20-** Kılınç K., Kılınç A.: Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Derg.* 33(2): 110-118, 2002.
- 21-** Koinarski V., Georgieva N., Gadjeva V., Petkov P.: Antioxidant status of broiler chickens, infected with *Eimeria acervulina*. *Rev Med. Vet.* 156(10): 498-502, 2005.
- 22-** Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, R.A., Rodwell, V.W.: *Harper's Biochemistry.* McGraw-Hill Medical, U.S.A., 1996.
- 23-** Mutanen M.L., Mykkanen M.H.: Effect of dietary fat on plasma glutathione peroxidase levels and intestinal absorption of ⁷⁵Se-labeled sodium selenite in chicks. *J.Nutr.* 114: 829-834, 1984.
- 24-** Nelson D.L., Cox M.M.: *Principles of Biochemistry.* W H Freeman & Co, Gordonsville, Virginia, U.S.A., 2004.
- 25-** Niwa Y., Kanoh T., Sakane T., Soh H., Kawai S., Miyachi Y.: The ratio of lipid peroxides to superoxide dismutase activity in the skin lesions of patients with severe skin diseases: An accurate prognostic indicator. *Life Sci.* 40: 921-927, 1986.
- 26-** Poli G.: Liver damage due to free radicals. *Br. Med. Bull.* 49(3): 604-620, 1993.

- 27-** Ramnath V., Rekha P.S., Sujatha S.K.: Amelioration of heat stress induced disturbances of antioxidant defense system in chicken by brahma rasayana. *eCAM*. 1-8, 2007.
- 28-** Sasaki K., Kitaguchi Y., Koga K., Narita R., Fukuda T., Aoyagi Y.: Dehydroascorbic acid reduction in several tissues and cultured hepatocytes of the chicken. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65(10): 2288-2290, 2001.
- 29-** Song Z., Bottje W.G., Cawthon D., Beers K.: Biliary glutathione secretion in male single comb white leghorn chickens after inhibition of glutamyl transpeptidase. *Poult Sci.* 79: 1829-1832, 2000.
- 30-** Song Z., Cawthon D., Beers K., Bottje W.G.: Hepatic and extra-hepatic stimulation of glutathione release into plasma by norepinephrine in vivo. *Poult Sci* 79: 1632-1639, 2000.
- 31-** Şahin K., Smith O.M., Önderci M., Şahin N., Gürsu M.F., Küçük O.: Supplementation of zinc from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. *Poult Sci.* 84: 882-887, 2005.
- 32-** Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., Mori M.: Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 135: 372-381, 1979.
- 33-** Wang S.Y., Bottje W., Maynard P., Dibner J., Shermer W.: Effect of santonin and oxidized fat on liver and intestinal glutathione in broilers. *Poult. Sci.* 76: 961-967, 1997.
- 34-** Wang S., Cawthon D., Bottje W.G.: Age-related changes of plasma glutathione and cysteine in broilers: Effect of dithiothreitol reduction in vitro on free and bound pools. *Poult Sci.* 77: 1234-1240, 1998.
- 35-** Wiersma P., Selman C., Speakman J.R., Verhulst S.: Birds sacrifice oxidative protection for reproduction. *The Royal Society*, 271: 360-363, 2004.
- 36-** http://www.enzymeindia.com/enzymesimages2/catalase_image.jpg

8. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Ardahan'ın Göle ilçesinde doğdu. İlköğretimini Göle ve Çıldır ilçesinde 1992 yılında tamamladı. Orta öğretimini Kars'ın Susuz ilçesinde Anadolu Öğretmen Lisesinde 1996 tamamladı. Lisans öğretimini Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Fen ve Matematik Anabilim Dalı Biyoloji Öğretmenliği bölümünde 2001 yılını tamamladı.