

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL TIKANMA SARILIĞI MODELİNDE
OKSİDATİF HASAR DEĞERLENDİRMESİ**

Kimyager Neslihan KÜPÜCÜ

**F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Yar. Doç. Dr. Volkan SÖZER

İSTANBUL, 2010

İÇİNDEKİLER

KISALTMA LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK KISIM.....	3
2.1 Tıkanma Sarılığı.....	3
2.2 Hem Katabolizmasının Ürünü: Bilirubin.....	3
2.2.1 Bilirubin Antioksidan Özelliği.....	6
2.3 Oksidatif Stres ve Serbest Radikal Reaksiyonları.....	6
2.3.1 Serbest Radikaller	7
2.3.2 Serbest Radikal Çeşitleri.....	8
2.3.2.1 Süperoksit Radikali.....	8
2.3.2.2 Hidrojen Peroksit	9
2.3.2.3 Hidroksil Radikali.....	10
2.3.2.4 Singlet Oksijen.....	11
2.3.2.5 Nitrik Oksit ve Nitrojen Dioksit.....	11
2.3.2.6 Diğer Serbest Radikaller	11
2.4 Serbest Radikallerin Etkileri	12
2.4.1 Membran Lipitlerine Etkileri(Lipit Peroksidasyonu)	12
2.4.2 Proteinler Üzerine Etkileri	13
2.4.3 Nükleik Asitler Üzerine Etkileri	14

2.5	Serbest Radikal Hasarının Neden Olduğu Klinik Durumlar	14
2.6	Antioksidan Savunma Sistemleri	15
2.6.1	Endojen (Doğal) Antioksidanlar.....	15
2.6.1.1	Primer Antioksidanlar(Enzimler)	15
2.6.1.1.1	SOD Enzimi.....	15
2.6.1.1.2	CAT Enzimi.....	16
2.6.1.1.3	GPx Enzimi	17
2.6.1.2	Sekonder Antioksidanlar	18
2.6.1.2.1	Glutasyon (GSH).....	18
2.6.1.3	Diğer Sekonder Antioksidanlar	20
2.6.2	Ekzojen Antioksidanlar	20
2.6.3	Gıda Antioksidanları	21
2.7	Antioksidan Etki Tipleri	21
3.	DENEYSEL KISIM	22
3.1	Kullanılan Cihazlar,Eşyalar ve Kimyasal Maddeler	22
3.1.1	Kullanılan Cihazlar ve Eşyalar	22
3.1.2	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	23
3.2	Deney Öncesi Hayvanlara Yapılan İşlemler	24
3.2.1	Hayvanların Tıkanma Sarılığı Yapılması İşlemi	24
3.3	Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	25
3.4	Total Bilirubin Ölçümü	25
3.4.1	Metod Prensibi.....	25
3.4.2	Kullanılan Çözeltiler.....	25
3.4.3	Prosedür	25
3.4.4	Hesaplama	26
3.5	Katalaz Aktivitesi Ölçümü	26
3.5.1	Prensibi	26
3.5.2	Fosfat Tamponu Hazırlanması	27

3.5.3	Hesaplama.....	27
3.6	Malondialdehit Ölçüm Metodu.....	27
3.6.1	Prensibi.....	27
3.6.2	Reaktifler.....	27
3.6.3	Deney Prosedürü.....	28
3.6.4	Hesaplama.....	28
4	DENEYSEL SONUÇLAR	29
4.1	MDA Miktarları Sonuçları.....	29
4.2	Katalaz Aktivitesi Sonuçları	29
4.3	Total Bilirubin Ölçümü Sonuçları.....	30
4.4	Malondialdehit Sonuçlarının İncelenmesi	30
4.5	Katalaz Sonuçlarının İncelenmesi.....	31
4.6	Total Bilirubin Sonuçlarının İncelenmesi	32
5	SONUÇLAR ve TARTIŞMALAR.....	35
	KAYNAKLAR	36
	ÖZGEÇMİŞ	43

KISALTIMA LİSTESİ

ADP	Adenozin di fosfat
ATP	Adonozin tri fosfat
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribo nükleik asit
FAD	Flavin adenin dinükleotid
GR	Glutasyon redüktaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş glutasyon
HO ₂	Hidroperoksil
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LP	Lipit peroksidasyon
MDA	Malondialdehit
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat
NO	Nitrik oksit
NO ₂	Nitrojen dioksit
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali
PUFA	Çoklu doymamış yağ asiti
RES	Retiküloendotelyal Sistem
ROS	Reaktif oksijen Türleri
SOD	Süper oksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikloro asetik asit
UDP	Uridin 5' Difosfat
KsD	Ksantin dehidrogenaz

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	Bilirubin Oluşumu.....	5
Şekil 2	Glutasyonun Molekül Yapısı.....	18

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1.1	Bir gr dokuda bulunan MDA miktarları (mikromol/gram).....	29
Çizelge 1.2	Bir mikrolitre kandaki MDA miktarları (mikrolitre/litre).....	29
Çizelge 2.1	Bir gram dokudaki katalaz miktarları (unite/gram).....	29
Çizelge 2.2	Bir mikrolitre kandaki katalaz miktarları (unite/litre).....	29
Çizelge 3.1	Bir desilitre kandaki total bilirubin miktarları (mg/dl).....	30
Çizelge 1.3	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında dokuda MDA değerlerinin istatistiksel incelenmesi.....	30
Çizelge 1.4	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında dokuda MDA değerlerinin istatistiksel test sonuçları.....	30
Çizelge 1.5	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında kanda MDA değerlerinin istatistiksel incelenmesi.....	30
Çizelge 1.6	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında kanda MDA değerlerinin istatistiksel test sonuçları.....	31
Çizelge 2.3	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında dokuda katalaz değerlerinin istatistiksel incelenmesi.....	31
Çizelge 2.4	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında dokuda katalaz değerlerinin istatistiksel test sonuçları.....	31
Çizelge 2.5	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında kanda katalaz değerlerinin istatistiksel incelenmesi.....	32
Çizelge 2.6	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında kanda katalaz değerlerinin istatistiksel test sonuçları.....	32
Çizelge 3.2	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında bilirubin değerlerinin istatistiksel incelenmesi.....	32
Çizelge 3.3	Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında dokuda MDA değerlerinin istatistiksel test sonuçları.....	32
Çizelge 1.7	MDA kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması. (Dokuda).....	33
Çizelge 1.8	Malondialdehit kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması. (Kanda).....	33
Çizelge 2.7	Katalaz kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması. (Dokuda).....	33

Çizelge 2.8	Katalaz kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması. (Kanda).....	34
Çizelge 3.4	Total bilirubin kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması	34

ÖNSÖZ

Öncelikle tez çalışmalarına yön veren, benden bilgisini ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Volkan Sözer'e ve Prof. Dr. İnci Ataç'a,

Tezimin hazırlanmasında, her konuda bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisansını yapan Kimyager Orhan Çelik'e, Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde Genel Cerrah Dr. Erman Aytaç'a ve Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisansını yapan Biyolog Burçin Alev'e ,

Yüksek Lisans öğrenimimde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme ve babama ,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Uzun süreli safra yolu tıkanıklıklarında safra bağırsağa geçemeyince safra tuzları ve bilirubin birikir. Safra tuzları ve bilirubin toksik etkileri olup sistemik ve hepatik fonksiyonlarda birtakım değişiklikler oluştururlar. Safra yolu tıkanıklığında safra basıncı artar ve karaciğerde birtakım histopatolojik değişiklikler görülür. Tıkanma sarılığı oluşturulmuş deney hayvanlarında doku hasarının patogenezinde en önemli etkiyi oluşturan sebepler lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumudur. Malondialdehit, bütün bu reaksiyonların (serbest oksijen radikallerinin doymamış yağ asitlerini denatüre etmesi) bir son ürünüdür.

Oksidatif stres veya oksidatif hasar aerobik yaşamın bir sonucudur ve organizmadaki hemen her hücre, çoğunluğu kendi O₂ uptake hızına bağlı olmak üzere, oksidatif değişikliklere maruz kalır. Endojen oksidatif stresin ökaryotlarda en çok olduğu yer mitokondrilerdir. Oksijenin solunum zinciri içindeki reaksiyonu ekseriya tam değildir ve sonuçta toksik oksijen ara ürünleri meydana gelir. Organizma oksidatif strese enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile karşı koyar. Biz çalışmamızda deneysel olarak farelerde tıkanma sarılığı oluşturduk ve tıkanma sarılığının organizmanın antioksidan dengesini nasıl etkilediğini incelemeye çalıştık. Tıkanma sarılığı oluşturduğunu bilirubin değerlerinin artışı ile gördük. Tıkanma sarılığı oluşturulan farelerin karaciğer doku ve plazmalarında lipid peroksidasyon değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ve katalaz enzim aktivitesini de düşük bulduk. Bu sonuçlar bize tıkanma sarılığının organizmanın oksidatif stresini artırdığını ve antioksidan dengeleri bozduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Malondialdehit, oksidatif stres, tıkanma sarılığı, süperoksit dismutaz, glutatyon, katalaz, lipid peroksidasyon, bilirubin.

ABSTRACT

When the bile doesn't go through intestine, bile salts and bilirubin accumulate which results in long term bile duct blockage. Toxic effects of bile salts and bilirubin cause some changes in hepatic and systemic function. During the bile duct blockage, biliary pressure rises and some histopathologic changes are observed in the liver. In experimented animals with obstructive jaundice, the pathogenesis of tissue damage is related to the formation of oxygen free radical and lipid peroxidation. MDA is final product of all these reaction (denaturing of unsature fatty acid by oxygen free radical).

Oxidative damage or oxidative stress are consequenceses of aerobic life and almost every cell in the organism, the majority of the their formation speed depends on the uptake of O_2 . Oxygen consumption in the respiratory chain reaction is generally incomplete and as a result toxic oxygen intermediates occure, as a result organisms can be exposed to oxidative changes. In eukaryotes, mitochondria is the most effected organ from the formed endogenous oxidative stress. Organism can resist to oxidative stress by the aid of enzymatic and anti enzymatic antioxidants. In our study, we have created obstructive jaundice with rats and tried to observe how it affects the organism antioxidant balance. In our study serum bilirubin levels increased in the obstructive jaundice model. In rats with obstruction jaundice, liver tissue and plasma lipid peroxidation levels were found significantly higher and plasma and liver tissue catalase activity were found lower when compared to the control group. In conclusion, we can say that obstructive jaundice increased the organism's oxidative stress and impaired the antioxidant balance.

Key Words: Malondialdehyde, oxidative stress, obstructive jaundice, superoxide dismutase, glutathione, catalase, lipid peroxidation, bilirubin.

1-GİRİŞ

Tıkanma sarılığı (TS) operatif teknikler ve etkin antibiyotiklerdeki gelişmelere karşın, pek çok sisteme olumsuz yönde etkileri olması, sık görülmesi ve yüksek morbidite ve mortalite oranları olması nedeniyle Genel Cerrahi ve Gastroenteroloji'nin en önemli problemlerinden biridir. Kardiyovasküler disfonksiyon, periferik vazokonstriksiyon, gastrointestinal kanama, koagülopati, renal ve hepatik disfonksiyon ve sepsis bu morbidite ve mortaliteye etki eden major komplikasyonlardandır (1) .

Tıkanma sarılığı bulunan hastalarda uygulanan cerrahi girişimlerden sonra, yara iyileşmesinde gecikme gibi minör sorunların yanı sıra renal yetmezlik ve multiorgan yetmezliği gibi ağır komplikasyonlar da hastaların hayatını tehdit etmektedir. Bu komplikasyonların gelişiminde bakteriyel translokasyon ve endotokseminin önemli rolünün olduğu bilinmektedir (2). Tıkanma sarılığı oluşturulmuş deney hayvanlarında doku hasarının patogenezinde en önemli etkiyi oluşturan sebepler lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumudur (3). Ana safra kanalı bağlanmış deney hayvanlarında serbest oksijen radikallerini ortamdaki uzaklaştıran glutatyon, katalaz ve superoksit dismutaz gibi enzimlerin aktivitesi azalır, böylece serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı doku hasarına duyarlılık artar (4). Serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur. Serbest oksijen radikallerinin tespit edilen kaynakları hipoksantin/ ksantin oksidaz sistemi ve nötrofillerdir. Aktive olmuş poli morfonükleer lökositler; serbest oksijen radikalleri, araşidonik asit ürünleri ve elastaz gibi proteolitik enzimler salgırlar(5,6). Lipid peroksidasyonunun ilk ürünleri hidroperoksitlerdir. Malondialdehid(MDA), bütün bu reaksiyonların (serbest oksijen radikallerinin doymamış yağ asitlerini denature etmesi) bir son ürünüdür (7). Superoksit dismutaz, superoksit serbest radikalini, iki hidrojen iyonu ile reaksiyona sokarak hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür. Katalaz, hücre içinde, peroksizomlar içinde yer alan bir antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksidi, su ve oksijene dönüştüren reaksiyonu katalizler. Glutatyon(GSH), canlı sistemlerdeki en önemli protein olmayan tiyol bileşimidir.(S) taşır. Sistein içerir. GSH girdiği reaksiyonlarla hücreleri endojen ve eksojen bileşiklerden kaynaklanan oksidatif hasar ve diğer hasarlara karşı korur. GSH, LP' nu azaltmada işlev görür. Rahman ve MacNee 'ye göre aktive olmuş ve küçük hava yollarında birikmiş olan inflamatuvar hücreler reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını arttırırken bu radikallerin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlayan faktörleride azaltır. Böylece akciğer hasarını ve fibrozisini gerçekleştirir (8).

Serbest oksijen radikallerinin çoğu hastalıkların primer sebebi olmasalar da patogeneplerinde rol oynayabilir ve doku hasarını arttırlar. Bununla birlikte antioksidanlar klinik kullanıma girmiştir. Akaike ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada influenza virus enfeksiyonunda süperoksit dismutaz (SOD) enziminin nötrofiller ve ksantin oksidaz enzimi tarafından oluşturulan doku hasarını önleyerek mortaliteyi azatlığını göstermişlerdir (9). Bu bilgiler ışığında bu projede amacımız, deneysel tıkanma sarılığı oluşturulmuş sıçanlarda kontrollere göre oksidatif hasar değerlendirmesi yapmak ve antioksidan uygulanan deney grubundaki değişimleri izlemektir.

2-TEORİK KISIM

2.1- Tıkanma Sarılığı

Uzun süreli safra yolu tıkanıklıklarında safra bağırsağa geçemeyince safra tuzları ve bilirubin birikir. Safra tuzları ve bilirubin toksik etkileri olup sistemik ve hepatik fonksiyonlarda birtakım değişiklikler oluştururlar(1). Safra yolu tıkanıklığında safra basıncı artar ve karaciğerde birtakım histopatolojik değişiklikler görülür. Safra yolu tıkanıklığı uzun sürerse çocuk ve erişkinlerde siroz gelişimine öncülük eder. Komplikasyonların çoğu hastanın savunma mekanizmalarında meydana gelen bozukluğa bağlıdır (10).

Tıkanma sarılığında meydana gelen patolojik değişikliklerin nedenlerinden biri de serbest oksijen radikallerinin (SOR) ortaya çıkması sonucu hücresel defans mekanizmalarında olan değişikliklerdir(8-4). Safra yollarının tıkanması hepatik strüktür ve fonksiyonlarda birçok bozukluğa neden olur. Kollajen miktarı artar iken glikojen azalır. Düz endoplazmik retikulumda sayıca azalma gözlenir(11). Mitokondriyal antioksidanlar (glutatyon) azalır, lipit peroksidasyon ürünlerinde artmayla birlikte mitokondriyal elektron transport zincirinde fonksiyon bozukluğu ortaya çıkar(12-13).

Tıkanma sarılığında safranin bağırsağa akması bağırsak bütünlüğünün bozulması, ksantin oksidazın artması, oksidanların salgılanması endojen antioksidan enzim seviyelerinde azalma ve Kupffer hücresinde baskılanma sonucunda bakteriyel translokasyon görülmektedir(14). Tıkanma sarılığı oluşturulmuş deney hayvanlarında doku hasarının patogenezinde en önemli etkiyi oluşturan sebepler lipit peroksidasyonu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumudur. Ana safra kanalı bağlanmış deney hayvanlarında serbest oksijen radikallerini ortamdan uzaklaştıran glutatyon, katalaz ve süperoksit dizmutaz gibi enzimlerin aktivitesi azalır. Böylece serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı doku hasarına duyarlılık artar. Serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan lipit peroksidasyonu ve protein oksidasyonu yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına neden olur.

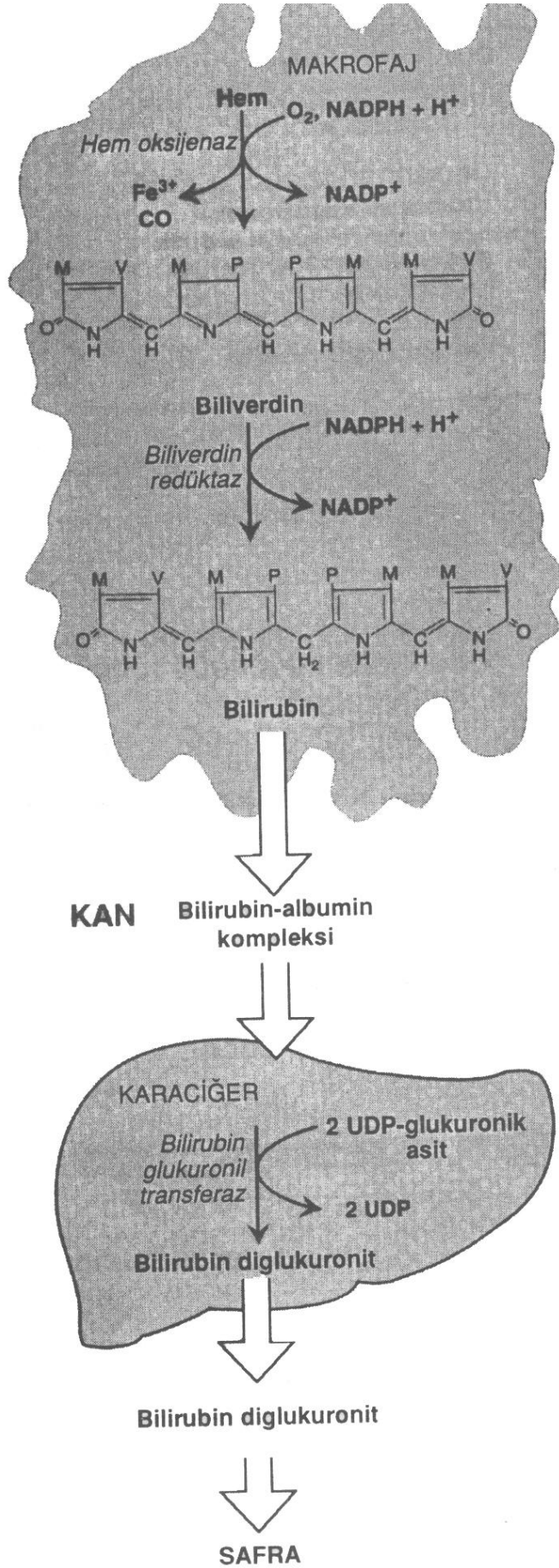
2.2- Hem Katabolizmasının Ürünü: Bilirubin

Alyuvarlar dolaşımında yaklaşık 120 gün kaldıktan sonra karaciğerde, dalakta ve kemik iliğinde bulunan RES hücreleri tarafından yıkılır. Fizyolojik koşullar altında her saat $1-2 \cdot 10^8$ alyuvar yıkıma uğratılır. Dolayısıyla 70 kg'lık bir insan bir günde yaklaşık 6 g hemoglobini dönüşüme uğratır. Hemoglobin yıkıldığında globin kısmı aminoasitlere kadar parçalanırken, heminin demir kısmı tekrar kullanılmak üzere demir havuzuna girer. Hem katabolizması, hem

oksigenaz denilen karma bir enzim sistemi tarafından RES hücreleri tarafından gerçekleştirilir. NADPH ve O₂ varlığında hem tetrapirrol halkasının yarılmaya eş molar miktarda biliverdin IX-alfa ortaya çıkar. Daha sonra biliverdin redüktaz ile pirol III ve pirol IV arasındaki metinil grubu, metilen grubuna indirgenerek sarı bir pigment olan bilirubin IX-a sentezlenir. Erişkin bir insanda günlük bilirubin üretimi yaklaşık 250-350 mg dir. Bu üretim temel olarak hemoglobinden, az miktarda ise diğer hem içeren organik bileşiklerin yıkımı ile gerçekleştirilir.

Periferik dokularda oluşturulan bilirubin plazma albuminine kovalent olmayan bağlarla bağlanarak karaciğere taşınır. Bilirubinin daha ileri katabolizması temel olarak karaciğerde gerçekleşir.

Bilirubin plazmada çok az çözünür ve bu nedenle taşınması sırasında albumine bağlıdır. Hpatositler tarafından alındıktan sonra çözünürlüğü iki molekül glukuronik asitle birleştirilerek artırılır. Bu konjugatın oluşumu, hücrenin endoplazmik retikulumunda UDP glukuronat glukuronoziltransferaz tarafından katalizlenir. Glukuronik asit, bilirubinin propiyonat yan zincirine ester bağları yolu ile bağlanır. Sonuçta ortaya çıkan bilirubin diglukuronid, aktif bir işlem ile safraya taşınır.



Şekil 1. Bilirubin oluşumu

2.2.1- Bilirubin Antioksidan Özelliği

Normal fizyolojik koşullarda, hücreler oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Bilirubin enzimatik olmayan antioksidanlar grubuna dahildir (1). “Hem” katabolizmasının sonucunda oluşan safra pigmenti bilirubinin lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği, hidroksil ve hidrojen peroksit radikallerinin temizleyicisi olduğu bilinmektedir. Ayrıca albuminin de antioksidan etkisi vardır. Oksidatif stres; ateroskleroz, karsinogenezis ve kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinin sorumlu tutulmaktadır. Oksidatif stresten, süper oksit, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikallerinin immün ve inflamatuvar hücrelerden aşırı salımı sorumludur. Serbest oksijen radikalleri hücre içi protein, nükleik asit, DNA ve membran lipitlerini oksitleyerek hücre hasarına neden olur. İnflamasyona bağlı oluşan serbest radikaller, ekstrasellüler doku komponentleri olan kollajen ve hiyalüronik asidi harap ederek organlarda yapısal değişikliklere neden olurlar. Organizmalar bu zararlı oksidanları detoksifiye etmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri geliştirirler. Bunlar, katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, ferritin, transferrin, askorbik asit, bilirubin gibi yapılardır. Bunlardan biri de HO'dur. Bu enzim NADPH ve moleküler oksijen kullanarak molekülün karbonuna bağlanarak biliverdin, serbest demir ve CO üretir. Biliverdin daha sonra bilirubine dönüşür. Bilirubin kendi başına antioksidandır. Hücre membran lipitlerinin peroksidasyonunu engeller. CO guanil siklazı aktive ederek nitrik oksit (NO) gibi vazomotor tonusu düzenler.

2.3- Oksidatif Stres ve Serbest Radikal Reaksiyonları

Oksidatif stres, organizmanın oksidanlara temasını artıran ve/veya organizmanın antioksidan kapasitesini tehlikeye sokan durumları tarif için kullanılan, bir terimdir. Endojen veya eksojen kaynaklı olabilir. Endojen oksidan oluşuma normal aerobik metabolizmanın bir parçasıdır. Ancak oksidanlar fazla miktarda oluştuğlarında doku hasarına sebep olurlar. Ayrıca doku hasarının kendisi de daha fazla oksidan oluşmasına sebep olarak hasarın ilerlemesini sağlar.

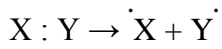
Endojen oksidatif stres veya oksidatif hasar aerobik yaşamın bir sonucudur ve organizmadaki hemen her hücre, çoğunluğu kendi O₂ uptake hızına bağlı olmak üzere, oksidatif değişikliklere maruz kalır. Endojen oksidatif stresin ökaryotlarda en çok olduğu

yer mitokondrilerdir. Oksijenin solunum zinciri içindeki reaksiyonu ekseriya tam değildir ve sonuçta toksik oksijen ara ürünleri meydana gelir. Mitokondrial O_2 tüketiminin %2'sinin H_2O_2 oluşturduğu hesaplanmıştır. Biyolojik sistemler mitokondrial elektron transportuna ilave olarak yaygın fagosit aktivasyonu veya otooksidasyon sonucu endojen olarak oluşan ve başta redoks döngüsü ilaçları olmak üzere çeşitli ksemobiyotiklere temastan kaynaklanan eksojen prooksidanlar ile de karşı karşıyadır. Organizma oksidatif strese enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile karşı koyar. Glutasyon redoks döngüsü, süberoksit dismutaz (SOD), katalaz, oksidatif strese karşı koyan ana hücrel savunma sistemleridir ve doğal antioksidanlar olarak da adlandırılırlar .

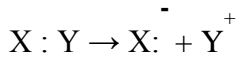
2.3.1- Serbest Radikaller:

Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Elektronlar atomlar içerisinde orbital olarak bilinen bölgelerde en fazla iki tane olacak şekilde ve birbirlerine zıt konumda bulunmaktadır. Demir, bakır, mangan gibi geçiş metalleri yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezken bazı atom kombinasyonları (nitrit dioksit, nitrik oksit) bir orbitalinde tek elektron bulunduran dağılımları nedeni ile radikal özellik gösterirler. Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller elektron dizilişlerinin yanında termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri ile değerlendirilmelidir. Serbest radikaller üç yolla meydana gelir (15).

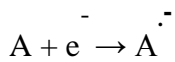
1. Hemolitik bağ ayrılması ve bir elektronun bir molekülden diğerine transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikallerdir. En yaygın görülen serbest radikal oluşumu hemolitik bağ ayrılmasıdır.



2. Bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atom veya atom gruplarının birinde kalır.



3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucu oluşan serbest radikaller.

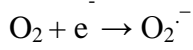


Biyolojik sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir. Çünkü oksijen atomu orbitallerinde iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlarken, radikal olmayan maddelerle ise daha

yavaş reaksiyona girmesini sağlamaktadır. Oksijen atomu orbitallerindeki elektronların farklı dizilimi ile de süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna da neden olur. Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleride yer almaktadır. Oksijenli (aerobik) solunum yapan canlılar dışardan aldıkları besin maddelerini oksijeni kullanarak enerjiye çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu yüzden aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar(15).

2.3.2- Serbest Radikal Çeşitleri:

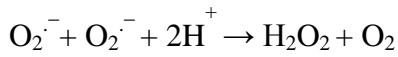
2.3.2.1- Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$): Oksijen molekülünün içerdiği iki serbest elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur.



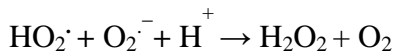
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Süperoksit radikalinin eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşumunu artırdığı bilinmektedir(15).

Süperoksit radikali nadir olarak oksidatif hasara neden olurlar. Çünkü SOD enzimi ile hızlı bir şekilde hidrojen peroksit (H_2O_2) çevrilir. Buna ilaveten asidik durumlarda H_2O_2 ve peroksil (HO_2^{\cdot}) radikallerini üreten spontan reaksiyona uğrar. Süperoksit radikallerinin asıl zararları hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmalarıdır(16).

İki süperoksit radikalinin bir araya gelmesi sonucu hidrojen peroksit oluşur.



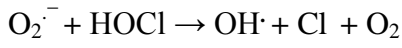
Süperoksit radikali ve peroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu da hidrojen peroksit ve oksijen oluşur.



Süperoksit radikalinin nitrik oksit radikali ile birer eşleşmemiş elektronlarını kovalent bağ ile bağlamaları sonucu peroksinitrit meydana gelir (17).

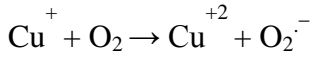
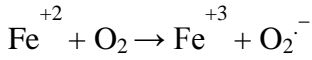


Hipoklorik asit (HOCl) oksijen metabolitleri ile reaksiyona girme özelliğine sahip olması nedeniyle ilgi uyandırmıştır. Hidroklorik asitin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda oldukça güçlü oksidan olan hidroksil (OH[·]) radikalinin oluştuğu görülmüştür(18).



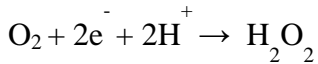
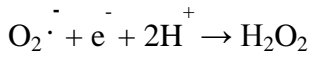
Süperoksit anyonu hem indirgeyici hem yükseltgeyici özelliğe sahiptir. Adrenalin, dopamin, askorbat ve hidroksilamini oksitler nitrobluetetrazolium ve sitokrom c'yi indirger. Redükten olarak görev yaptığında ferrisitokrom c'nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında ise epinefrinin oksidayonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksite indirgenir(19).

Diğer taraftan geçiş metallerin otooksidasyonu sonucunda da süperoksit radikali oluşabilmektedir.

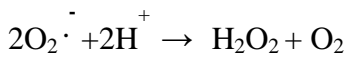


Bu reaksiyonlar geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olup serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasında çok büyük öneme sahiptir(20).

2.3.2.2- Hidrojen Peroksit (H₂O₂): Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdaki iki elektron alması veya süperoksit' in bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir.

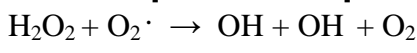


Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca ürat oksidaz, glukoz oksidaz, ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler iki elektronunu oksijene vererek H₂O₂ oluştururlar.

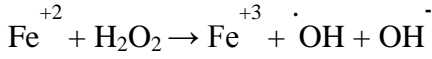
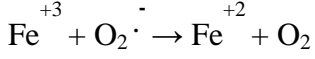


Hidrojen peroksit kendi başına çok zayıf oksidant özelliği gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. Hidrojen peroksit gerektiğinde hücreler tarafından selenyum içeren glutatyon peroksidaz, katalaz ve belirli peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılabilir. H₂O₂

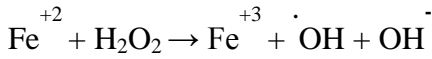
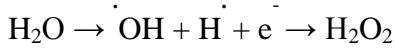
serbest bir radikal olmadığı halde, ROS içine girer ve serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Çünkü Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir(21).



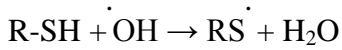
Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber- Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilir. Ancak katalizör olmadığı zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}) süperoksit tarafından ferro demir'e (Fe^{+2}) indirgenir. Daha sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten OH^{\cdot} ve $\text{OH}^{\cdot -}$ üretilir(22-23). Reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekildedir.



2.3.2.3- Hidroksil Radikali (OH^{\cdot}): Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında yani fenton reaksiyonu sonucu ve suyun yüksek enerji ile iyonlarına ayrılması ile oluşan son derece reaktif oksidan radikaldir. Hidroksil radikali özellikle biyolojik moleküller üzerine saldıran ve olduğu yerde büyük hasarlara neden olan oldukça hareketli bir oksidandır(24).



Hidroksil radikali birçok biyolojik molekülden hidrojen atomu koparır. Bunlardan birisi de tiollerdir.



Meydana gelen sülfür radikali oksijenle birleşerek tiyol peroksil (RSO_2^{\cdot}) ve sülfenil (RSO^{\cdot}) gibi oksisülfür radikallerini meydana getirir. Bu radikaller de biyolojik moleküllerde hasar yapıcı etkiye sahiptir.

Belki de OH^{\cdot} en iyi tanımlanmış biyolojik hasarı lipid peroksidasyonunu stimüle etmesidir. Bu durum hidroksil radikallerinin membrana yakın bir yerde üretilmesi ve membran fosfolipid zincirinin yağ asidi tabakasına atak tapması ile meydana gelir. Ayrıca hidroksil radikalının

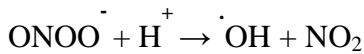
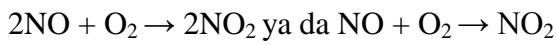
araşidronik asit gibi doymamış yağ asitlerine olan ilgisinin de fazla olduğu ileri sürülmektedir.

2.3.2.4- Singlet Oksijen (O₂): Singlet oksijen eşleşmemiş elektron yada elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur. Ancak orbitalinde içerdiği elektronların aynı yönlü olması singlet oksijenin diğer ROS ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijen özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için oldukça önemlidir (25-26).

2.3.2.5- Nitrik Oksit (NO) ve Nitrojen Dioksit (NO₂): Nitrik oksit ve nitrojen dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler. Nitrojen dioksit, nitrik oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. NO₂ oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır.

Oksijen redüksiyonu sırasında NO₂' ye maruz kalması durumunda araşidronik asit metabolizmasının NO₂ konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Düşük miktarda NO₂' nin araşidronik asit metabolizmasını büyük oranda artırdığı gözlenmiştir (21-27-28).

Nitrik oksit L-arjinin amino asitinden in vivo olarak üretilmektedir. NO kokusuz, renksiz ve az indirgenebilen oksidan bir gazdır. Son yıllarda radikal olan nitrik oksit üzerinde oldukça fazla durulmaya başlanmıştır. Nitrik oksit eşleşmemiş elektronları sayesinde süperoksit, tiyol grupları ve nitrojen dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturmaktadır. Diğer radikallerle birlikte diabetes mellitus, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (21-28-29).



2.3.2.6- Diğer Serbest Radikaller: Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R[•]), peroksil radikalleri (ROO[•]), alkoksil radikalleri (RO[•]), tiyol radikalleri (RS[•]) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir. Bunlardan özellikle polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO[•]) veya tiyol peroksil (RSO₂[•]) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler.

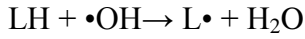
2.4- Serbest Radikallerin Etkileri

Oldukça reaktif moleküller olan serbest radikaller hücre bileşenleri ve hücre dışı makro moleküllerle etkileşerek organizmada yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olurlar (30). Oksijen radikallerinin etkilediği hücre komponentlerinin başlıcaları; hücre membranlarının ana bileşenleri olan yağ asitleri, proteinler, nörotransmitterler ve nükleik asitlerdir (31).

2.4.1- Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)

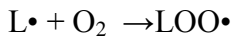
Lipidler serbest radikal etkilerine en duyarlı hücre bileşenleridir. Biyolojik sistemlerde poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) serbest radikallerle oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli bir oksidan radikalın zar yapısındaki PUFA zincirinin α -metilen gruplarından bir hidrojen atomunu uzaklaştırması ile başlar. Biyolojik sistemlerde bir çok radikalın lipid peroksidasyonuna neden olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte lipid peroksidasyonunu başlatan asıl ajan \bullet OH radikalidir (31-32).

Hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile karbon üzerinde eşleşmemiş bir elektron bulunduran bir lipid radikali meydana gelmiş olur.

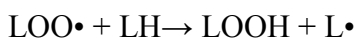


Yağ asidinde bir çift bağın varlığı çift bağın bitişiğindeki karbon atomundaki C-H bağı zayıflatır, böylece hidrojenin uzaklaşmasını kolaylaştırır. Bundan dolayı membran lipidlerinin PUFA yan zincirleri peroksidasyona daha duyarlıdır.

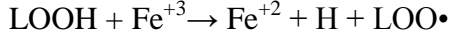
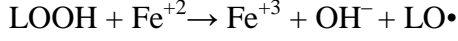
Eşleşmemiş elektron bulunduran karbon merkezli lipid radikali yapısındaki çift bağların yer değiştirmesi ve moleküler yeniden düzenlenme ile konjuge dienleri oluşturur. Daha sonra bu yapının oksijenle birleşmesiyle peroksil radikali oluşur.



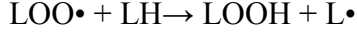
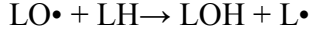
Bu radikal diğer yağ asitlerinden hidrojen atomlarını kopartabilir ve böylece bir zincir reaksiyonu başlatabilir. Peroksidasyon, eğer ortamda zincir reaksiyonunu sona erdirecek bir antioksidan (E vitamini gibi) bulunmazsa substratlar bitinceye kadar devam eder. Diğer yağ asitlerinden hidrojen alan peroksidler lipid hidroperoksidlerine dönüşür (31-32-33).



Lipid hidroperoksidleri fizyolojik sıcaklıklarda oldukça stabil moleküllerdir. Ancak geçiş metalleri ve metal kompleksleri varlığında lipid alkoksil ($LO\bullet$) ve peroksil ($LOO\bullet$) radikallerine dönüşürler (34).



Alkoksil ve peroksil radikalleri başka bir lipid substratından hidrojen çıkararak yeni zincir reaksiyonlarını uyarırlar (31-32).



Lipid hidroperoksidleri yıkıldığı zaman aldehidler oluşurlar. Bu bileşikler metabolize edilmezlerse diffüze olarak hücrenin diğer bölümlerinde de hasara neden olurlar. Aldehidler; sitotoksik, hepatotoksik, mutajenik ve genotoksik özelliklere sahiptir (30-31-33).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehid (MDA) meydana gelir. MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece iyon transportu, enzim aktivitesi gibi membran özelliklerini bozar. MDA ölçümü lipid peroksid seviyelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılır (35).

Biyolojik membranlardaki lipid peroksidasyonu iki şekilde meydana gelir. Araşidonik asit metabolizmasını sürdüren sikloksijenaz ve lipoksijenaz enzimlerinin etkisiyle oluşan tipine enzimatik lipid peroksidasyonu, diğer radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise non-enzimatik lipid peroksidasyonu adı verilir (35).

Lipid peroksidasyonu son derece zararlı bir zincir reaksiyonudur. Membran akışkanlığında kayıp, membran potansiyelinde azalma, hidrojen ve diğer iyonların permeabilitesinde artma ve sonuç olarak membranın rüptürü ile hücre ve organel içeriklerinin ortama boşalmasına neden olur. Bazı peroksid parçalanmalarının sitotoksik özellikleri de vardır (32).

Hücre membranı yanında mitokondri gibi organellerin membranları da fosfolipidlerinde fazla miktarda doymamış yağ asidi bulundurmaları nedeniyle lipid peroksidasyonuna karşı duyarlıdır. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınması ve intraselüler sindirimle sonuçlanır (30-36).

2.4.2- Proteinler Üzerine Etkileri

Lipidlerden daha az olmakla birlikte proteinler de serbest radikallerden zarar görürler. Proteinlerin serbest radikal hasarına karşı duyarlılığı, yapılarını oluşturan aminoasitlerin bileşimlerine, proteinin aktivasyonundan veya fonksiyonlarının düzenlenmesinden sorumlu olan amino asitlerin yerleşimine ve hasar gören proteinin onarılabilme kapasitesine bağlıdır.

Proteinler progresif olarak okside edildiklerinde çeşitli değişikliklere uğrarlar. Primer yapıyı oluşturan aminoasitlerdeki değişiklikler proteinlerin izoelektrik noktasını, katlanmalarını ve hidrofobik özelliklerini değiştirir (37).

Yapılarında doymamış bağ ve sülfür bulunduran moleküllerin serbest radikallere duyarlılığı daha yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitlerden zengin proteinler serbest radikal hasarından çok daha fazla etkilenirler. Prolin ve lizin aminoasitleri, $O_2^{\cdot-}$ radikali, H_2O_2 veya $\cdot OH$ radikali oluşturan reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler (35).

Serbest radikal etkisiyle özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Yapılarında çok sayıda disülfid bağı bulunduran albumin ve Ig G gibi proteinler serbest radikal hasarına çok duyarlıdır. Serbest radikal reaksiyonlarına bağlı olarak yapıları bozulur ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikal hasarına duyarlıdır. Oksihemoglobin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 'ye maruz kaldığında methemoglobin oluşur (35).

Enzimler protein yapısında olduklarından serbest radikallerden zarar görebilirler. Glutamin sentetaz, pirüvat kinaz, kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz gibi enzimlerin serbest radikal hasarına bağlı olarak fonksiyon kaybına uğrayabildikleri gösterilmiştir (33-38).

2.4.3- Nükleik Asitler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller hücre çekirdeği ve DNA ile etkileşerek genotoksik ve mutajenik değişikliklere yol açarlar. Oksidatif hasar, DNA değişimi yapan mutajen faktörlerin muhtemelen en önemlisidir. Oksidan ajanlar, DNA' da deoksiriboz ve bazların oksitlenmesinden zincir kırılmasına kadar geniş bir yelpazede etki gösterebilir. $\cdot OH$ radikali oluşumu pürin ve pirimidinlerin modifikasyonuna veya DNA ipliklerinin kırılmasına neden olur. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H_2O_2 , membranlardan kolayca geçebildiğinden dolayı DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta ölümüne neden olabilir(39). Serbest radikaller ayrıca DNA polimerazı da inhibe ederler (30-31).

2.5- Serbest Radikal Hasarının Neden Olduğu Klinik Durumlar

Oksidatif hasarın etkileri pek çok hastalık grubunda araştırılmıştır. İnflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, kistik fibrozis, metabolik hastalıklar, iskemik hastalıklar, AIDS, gastrik ülser, hipertansiyon, diabet, nörolojik hastalıklar, kanser gibi bir çok klinik durumda serbest radikal hasarı gösterilmiştir (40-41-42).

2.6- Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikal hasarını önlemek amacıyla vücutta antioksidanlar olarak isimlendirilen savunma sistemleri bulunmaktadır. Antioksidan; düşük konsantrasyonlarda substratının oksidasyonunu geciktiren veya önleyen tüm maddelerdir (32). Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek lipid peroksidasyonunu inhibe eden ve/veya reaktif oksijen radikallerini tutan maddeler olarak da tarif edilebilir (43).

Serbest oksijen radikalleri normal aerobik metabolizma esnasında sürekli olarak üretilir ve çeşitli biyolojik antioksidanlar tarafından ortamdaki uzaklaştırılırlar. Ancak antioksidan koruma hiçbir zaman %100 etkinlikte değildir, bu nedenle hayatta kalma için tamir mekanizmalarının varlığı önemlidir. Prooksidanlarda artma veya antioksidanların başarısızlığı oksidatif stres durumunu oluşturur ve moleküler hasar ve doku zedelenmesiyle sonuçlanır (32).

Hücre membranlarında meydana gelen serbest radikal hasarı antioksidanların etki mekanizmalarını anlamada örnek teşkil edebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonunda antioksidanların kullandıkları mekanizmalar şu başlıklar altında toplanabilir: (32-44)

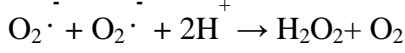
1. Oksijeni uzaklaştırmak veya lokal oksijen konsantrasyonunu düşürmek
2. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırmak
3. $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 gibi anahtar reaktif oksijen türlerini uzaklaştırmak
4. Hidroksil, alkoksil, ve peroksil türleri gibi serbest radikalleri toplamak
5. Zincir reaksiyonlarını kırmak
6. Singlet oksijeni toplamak

2.6.1- Endojen (Doğal) Antioksidanlar:

2.6.1.1- Primer Antioksidanlar (Enzimler):

2.6.1.1.1- SOD Enzimi: Bu enzimi süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD'nin aktivitesi yaş artışıyla beraber artar. SOD yaklaşık olarak bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tipi vardır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik Cu ve Zn ihtiva eden Cu-ZnSOD, extraselular etki gösteren ECSOD ve mitokondri de bulunan tetramerik Mn ihtiva eden Mn-SOD izomerlerdir. SOD'nin Fe ihtiva

eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. SOD'nin tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilirler (45-46).



Süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizleyen bu enzim ilk olarak inek eritrositlerinden saflaştırılmış ve daha sonraki çalışmalarda insan eritrositlerinde de tesbit edilmiştir. Birçok deney sisteminde çalışılan bu enzimin ksantin-ksantin oksidaz deney sistemine eklendiğinde sitokrom c'nin indirgenmesini inhibe ettiği görülmüştür. Hemen hemen bütün canlılarda bulunan ve süperoksit gibi oldukça saldırgan bir radikalın etkisini ortadan kaldıran SOD'nin canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (47).

Cu-Zn SOD; ilk kez 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır. Cu-Zn SOD, hayvansal hücrelerin sitozolünde yer alan enzimin molekül ağırlığı yaklaşık olarak 32000 Dalton'dur. Birbirinin aynı olan iki alt üniteden meydana gelir. Her alt ünite bir Cu atomu ve bir Zn atomu, bir zincir içi disülfür köprüsü, bir sülfidril grubu ve bir asetilenmiş terminal amino grubu bulunduğu tesbit edilmiştir (47-48).

Mn-SOD; prokaryotik hücreler molekül ağırlığı 40000 dalton olan, birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşan ve enzimin alt birimi başına birer atom Mn bağlı olan enzimdir. Mitokondri dismutazı da diğer prokaryotik hücrelerdeki dismutaza benzer, ancak 80000 molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotların dismutazlarının pek çok ortak özelliği primer yapıları da birbirine çok benzerdir. Ancak aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur (49).

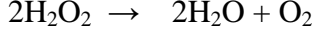
Bazı bakteriler birden fazla SOD içerirler. Bunlardan biri bütün prokaryotlarda bulunan Mn-SOD olup, hücre sitoplazmasında bulunur. Bazı bakteriler periplazmik bölgelerinde demir içeren bir SOD (FeSOD) bulundurur (50).

Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği ve hatta iki enzimin bir kompleks haline getirilip fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin giderilmesinde daha etkili olacağı düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksit oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir (51).

2.6.1.1.2- CAT Enzimi: Katalaz, tüm canlı hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, dört tane alt grup içeren ve her bir alt grubu 60,000 dalton ağırlığında olan enzimdir.

Bu enzimin en önemli görevi hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizlemektir (52-53).

CAT

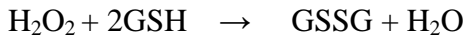


Katalaz enzimi daha çok peroksizomlarda lokalizedir. CAT'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (54-55-56).

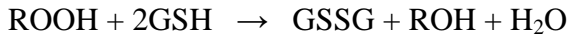
2.6.1.1.3- GPx Enzimi: Bu iminin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85000 Dalton'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir (54-57-58).

Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. GPx, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (50-60). GPx, aşağıdaki reaksiyonları katalizler (57-61).

GPx

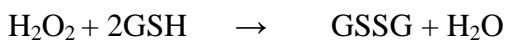


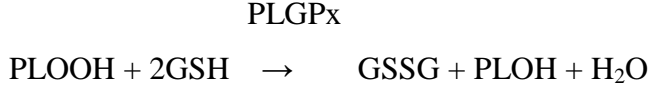
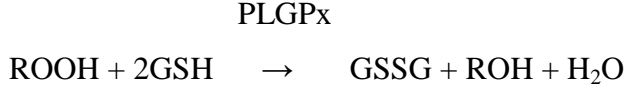
GPx



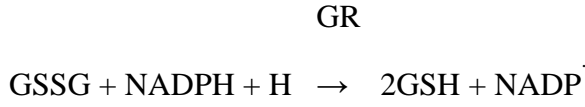
Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGPx) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGPx membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar (62-63).

PLGPx





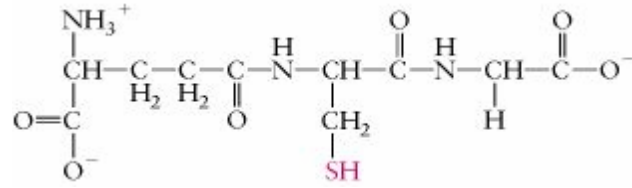
Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen okside glutatyon (GSSG), glutatyon redüktazı (GR) katalizlediği reaksiyon ile tekrar glutatyon (GSH)'a dönüşür.



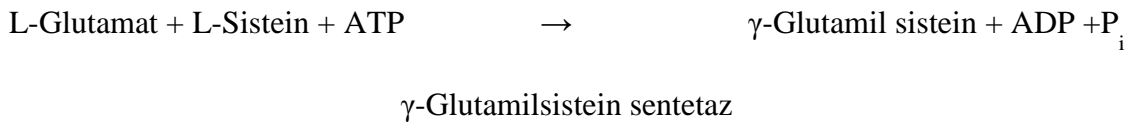
GPx'in, hücredeki dağılımı, GR'a bağımlıdır. Her iki enzim de sitozolde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur (63).

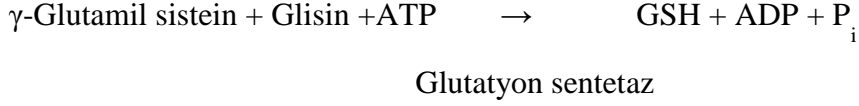
2.6.1.2- Sekonder Antioksidanlar:

2.6.1.2.1- Glutatyon (GSH): GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir. GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir. Oluşan her peptid bağı için bir molekül ATP harcanır (64).



Şekil 2. Glutatyon'un molekül yapısı





GSH, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak sülfhidril tamponu görevini görür. Eritrosit hücrelerinde GSH/GSSG oranı yaklaşık 500'dür. İndirgenmiş glutatyon yani GSH, aktif bölgesinde selenyum iz elementini içeren bir enzim olan GPx enzimi katalizörlüğünde H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki sergiler ve H₂O₂'yi alyuvarlardan uzaklaştırır. H₂O₂ birikmesi hemoglobinin methemoglobine oksidasyon hızını artırarak alyuvarların yaşama süresini azaltabildiğinden bu tepkime çok önemlidir. Ayrıca alyuvarlarda hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu ile süperoksit oluşurken diğer dokularda ise bu sitokrom P 450 redüktaz ve ksantin oksidaz gibi enzimlerle oluşur (65-66).

GSH, hidrojen peroksidi veya organik oksitleri kimyasal olarak detoksifiye edebilir. GSH peptid bağından dolayı düşük enerjili bileşikler arasında kabul edebiliriz. GSH, hücre proteinlerini indirgemiş şekilde tutan disülfid-sülfidril değişimi tepkimelerinde etki gösterir. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan hidrojen peroksidi uzaklaştıran enzim GPx'e substratlık yaparak proteinlerin sülfidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda hidrojen peroksit birikir. GSSG, GR tarafından sürekli GSH'ye indirgenerek GSH miktarı düzenlenir (67).

Moleküler oksijenden türeyen oksidatif radikaller iki mekanizmayla uzaklaştırılır. Birincisi, toksik radikallerin enzimatik inaktivasyonudur. Örneğin GPx ve CAT, reaktif oksijen ara ürünlerini suya indirger. İkinci mekanizma ise oksijen radikallerini kimyasal olarak inaktive eden askorbik asit, α-tokoferol ve B-karoten gibi diyetle alınan antioksidanlarla ilgilidir (68).

Birçok enzimin şayet sistein tiyol grubu (-SH) oksitlenecek olursa inaktive ya da inhibe olur. GSH, Gama-glutamilsisteinilglisin, duyarlı ve esansiyel -SH gruplarını içeren enzimlerin doğal aktivatörüdür. Glutatyon hücrede bir ko-enzimden ziyade var olan amino asit öncüllerinden kolayca sentezlenen doğal bir antioksidandır. Fenilalanin ve tirozinin oksidatif yıkımında görev alan maleilasetoasetat izomeraz da dahil olmak üzere glutatyon çok az sayıda enzim için spesifik bir koenzimdir. Glutatyonun hücre içi derişimi kontrol edilerek birçok enzimin aktivitesi düzenlenebilir (68).

2.6.1.3- Diğer Sekonder Antioksidanlar: Canlı vücudunda oldukça az miktarlarda bulunmasına rağmen vitaminlerin vücuttaki görevleri oldukça fazladır. Vitaminlerin bir bölümü, besinlerle aldığımız karbonhidrat, yağ ve proteinden enerji ve hücrelerin oluşması ile ilgili biyokimyasal olayların düzenlenmesine yardımcı olurlar. A, E ve C vitaminleri vücut hücrelerinin serbest radikallerin meydana getirebileceği hasarları önleyerek hücrelerin normal işlevlerini sürdürmeleri ve bazı zararlı maddelerin etkilerinin azaltılmasında (antioksidan etki) yardımcı olurlar. Antioksidanlar, hücremizi, serbest radikalleri nötrleştirerek korurlar. Bunlar uyum içerisinde çalışan bir takım gibi radikalik saldırılara karşı koyarlar. β -Karotenin, askorbik asitin ve tokoferolün antioksidan etkileri yıllardan beri bilinmektedir. β -Karoten organizmada A vitamininin parsiyel oksijen öncülü olmasının yanı sıra bir antioksidan olarak görev yapar. Bununla beraber, 15 torr'da 150 torr'dan daha iyi antioksidan olduğu, 760 torr'da ise prooksidan olarak davrandığı bildirilmiştir. Hücrelerin dışında β -Karoten nöbet tutarken; hücre duvarından, içeri girmek isteyen saldırganlara karşı savunmayı ise eser elementlerden selenyumun da yardımıyla E vitaminini üstlenmiştir (69).

Suda çözünen vitaminlerden birisi olan askorbik asit yapı itibariyle en basit vitaminlerden biridir. Bir şeker asidinin laktonundan ibarettir. Yüksek yapılı hayvanların pek çoğu ve bitkiler kolayca askorbik asidi glukozdan sentezleyebilmektedirler. Hücre içerisindeki C vitamini serbest radikallere son darbeyi vurmakta ve bu şekilde radikallerin tesirleri ortadan kaldırılmaya çalışmaktadır. E vitamini yağda çözünen bir vitamin olup temel görevi lipitleri oksidatif hasardan korumaktır. İnce barsaklardan kolayca emilir ve vücudun tüm dokularına taşınarak hücre membranları etrafında depolanır. Böylece hücre membranında koruyucu bir tabaka oluşturmuş olur (70-71).

2.6.2- Ekzojen Antioksidanlar:

1. Ksantin oksidaz inhibitörleri: Tungsten, allopürinol, oksipürnol, folik asit ve pterin aldehit
2. Soya fasulyesi inhibitörleri: Ksantin dehidrojenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.
3. NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, cetiedil ve difenilin iyodonyum
4. Recombinant süperoksit dismutaz
5. Troloks-c: E vitamini analogu
6. Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler: GPx aktivitesini artırır. Bunlar; Ebselen ve asetil sisteindir.
7. Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol ve albümin

8. Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin ve seruloplazmin

9. Nötrofil adezyon inhibitörleri

10. Sitokinler:

- Tümör Nekroz Faktör (TNF)

- Interlökin 1

11. Barbitüratlar

12. Demir şelatörleri

2.6.3- Gıda Antioksidanları:

- Butillenmiş hidroksitoluen (BHT)

- Etoksiguin

- Butillenmiş hidroksianisol (BHA)

- Propilgalat

- Sodyum benzoat

- Fe-superoksid dismutaz (72)

2.7- Antioksidan Etki Tipleri:

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler (69-72).

1. Toplayıcı etki (scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya reaktif olamayan yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir.

2. Bastırıcı etki (quencher etki): Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen atarak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren etkiye bastırıcı etki denir.

3. Onarıcı etki (repair etki): Genellikle DNA'daki hasarların tamir edilmesinde bu etki sürekli geçerlidir.

4. Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir.

Serbest radikaller ve bunları etkisizleştirmek için kullanılan veya üretilen antioksidanlar hakkında mevcut bilgiler arttıkça bunlara olan ilgi de bilim adamları tarafından her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda hemen her sahada yapılan çalışmaların antioksidan özellikler ile birlikte değerlendirme çalışmaları da ön plana çıkmaktadır.

3-DENEYSEL KISIM

3.1- Kullanılan Cihazlar,Eşyalar ve Kimyasal Maddeler

3.1.1- Kullanılan Cihazlar ve Eşyalar

- Shimadzu UV-2401 PC UV-Visible Recording Spektrofotometre
- Janetzki T5 marka Santrifüj Cihazı
- Sartorius PB-11 marka pH metre
- Shimadzu Corporation A*200 marka Hassas Terazı
- Heraeus marka Etüv
- Heidolph RZR 2021 marka Homojenize Cihazı
- Hettich Zentrifugen marka Santrifüj Cihazı
- GFL 2001/4 marka Monodistile Su Cihazı
- Çeşitli cam eşyalar

3.1.2-Kullanılan Kimyasal Maddeler

KH_2PO_4 (Potasyum Dihidrojen Fosfat)(Merck)

Na_2HPO_4 (Disodyum Hidrojen Fosfat)(Riedel-de Haen)

H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)(Sigma)

TBA(Tiyobarbitürik Asit)(Merck)

TCA(Trikloroasetik Asit)(Merck)

HCL(Hidroklorik Asit)(Carlo Erba)

NaOH(Sodyum Hidroksit)(Sigma)

DMSO(Dimetil Sülfoksit)(Sigma)

NaNO_2 (Sodyum Nitrit)(Merck)

3.2-Deney Öncesi Hayvanlara Yapılan İşlemler

3.2.1-Hayvanların Tıkanma Sarılığı Yapılması İşlemi

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Etik Kurulu'ndan etik kurulu onayı alındıktan sonra Wistar Albino cinsi 200-250 g ağırlıklı, erişkin 16 adet erkek sıçan İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden alındı. Deneysel uygulama Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Hayvanlar kafes başına 4 adet sıçan olacak şekilde, ad libitum olarak beslendi, 18-23 C derece oda sıcaklığında, %50-55 F nem değeri ile 12 saat gece / 12 saat gündüz takip edildi. Deney süresinde deneklerin oral beslenmesi kesilmedi. Genel anestezi ketamin (40mg/kg), xylazine (5mg/kg) ile sağlandı. Sham grubuna karın orta hattına yaklaşık 1-1.5 cm lik insizyon yapıldı, gastroduodenal ligament izole edildi ve koledak mobilize edildi. Sonrasında karın duvarı katları anatomik planlara uygun olarak 4-0 poliglaktin ve 4-0 ipek yardımıyla kapatıldı. Deney grubu olan ikinci grupta ise koledak mobilize edildikten sonra iki adet 4-0 ipek yardımıyla iki ayrı noktadan bağlandı ve iki bağlanmış noktanın ortasından kesildi. Denekler 10 gün takip edildikten sonra genel anestezi altında intrakardiyak ponksiyon ile kan örnekleri alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Gerekli doku örnekleme yapıldı. Deney sırasında ikinci gruptan 3 hayvan koledok ligasyonu 3 gün sonra, 3 hayvan ise 7 gün sonra öldü. Yapılan otopside 2 olguda karın içi apse saptanırken diğer olgularda patolojik bulgu saptanmadı. Patolojik bulgu saptanmayan olgulardan karaciğer dokusu örnekleme yapıldı.

3.3- Doku homojenatlarının hazırlanması:

Deney hayvanlarından alınan karaciğer dokularından her biri hassas terazi ile tartıldı. Hettich Zentrifugen modeli homojenatörle homojenize edildi. Daha sonra her biri 15dk santrifuj edildi. Ayrıca hayvanlardan alınan kan örnekleri heparinli tüplere alındı santrifuj edilip plazma kısmı alındı. Oluşan doku örnekleri ve yine her bir hayvandan alınan plazmalarla çalışmalar yapıldı.

3.4- Total Bilirubin Ölçümü

3.4.1- Metod Prensipleri

Bilirubin, di azo sulfanilik asit ile renkli azobilirubine çevrilir ve fotometrik olarak ölçülür. Serumda bilirubinin iki fraksiyonu mevcuttur; bilirubin glukoromid ve serbest bilirubin, bu albumine gevşekçe bağlıdır. Serbest bilirubin çözülme için dimetilsülfoksit (DMSO) duyarken, sadece birincil olan sıvı solüsyonla (direk bilirubin) reaksiyon verir. İndirek bilirubinin tespitinde, direk bilirubin tespit edilir. Sonuçlar total bilirubine tekabül eder. Oluşan rengin şiddeti bilirubin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3.4.2-Kullanılan Çözeltiler

İhtiyaç duyulan çözeltiler ve konsantrasyonları aşağıda verilmiştir:

<u>Çözeltiler</u>	<u>Konsantrasyon</u>
R1. Sülfanilik asit	5.8 mmol/l
HCL	0.2 mol/l
DMSO	7.0 mol/l
R2. Sodyum nitrit	0.07 mol/l

3.4.3- Prosedür

1. Test Analiz Koşulları:

Dalga boyu: 555 nm (530-580)

Küvet:1 cm ışık yolu

Sıcaklık 15-25°C

2. Tüpe pipetleyiniz.:

	Blank	B. Total
R 1 (mL)	1.5	1.5
R 2 (µL)	--	50
Serum fiz. (µL)	100	--
Numune (µL)	--	100
standart (µL)	--	100

3. Karıştır ve tam olarak 5 dk oda sıcaklığında inkübe et.

4. Absorbansı oku. (A).

3.4.4- Hesaplama

Hesaplama için öncelikle numune ve standart için elde edilen absorbans değerlerinden blank için elde edilen absorbans değeri çıkartılmıştır, böylece bilirubin harici absorbansı etkileyecek etkenler elemine edilmiştir. Elde edilen değerler ile aşağıdaki denklem kullanılarak numunelerin bilirubin miktarları mg/dL olarak verilmiştir.

$$(\text{Örnek abs-kör abs}) / (\text{standart abs-kör abs.}) \times \text{standart konsantrasyon (mg/dL)} = ? \text{ mg/dL}$$

3.5- Katalaz Aktivitesi Ölçümü

3.5.1- Prensibi: Katalaz aktivitesi ölçümü Aebi ve arkadaşlarının önerdiği metod ile yapılır. Reaksiyon ortamına plazma, fosfat tamponu ve katalazın substratı olan hidrojen peroksit konulur ve 240 nm dalga boyunda 5 dakika 30 sn de bir ölçüm yapılır ve hidrojen peroksidin ekstingsiyon katsayısı kullanılarak sonuçlar U/ml olarak verilir.

içerik	miktar (ml)
plazma	0.005
K-Fosfat tamponu (pH=7.4)(50 mM)	0.395
H ₂ O ₂	0.2

3.5.2- Fosfat Tamponu Hazırlanması:

1 Lt de 9.51 g Na₂HPO₄ hazırlandı.(B)

1 Lt de 9.073 g KH₂PO₄ hazırlandı.(A)

pH :7.4 de 19.7 ml A + 80.3 ml B den karıştırılarak hazırlandı.

Hidrojen peroksit: fosfat tamponunda 240 nm de 5 dakika 30 sn ye de bir okuma

3.5.3- Hesaplama

$$U/L = (\text{DELTA}_{\text{ABS}}/\text{dk}) \times (600/5) \times (1/0.04)$$

600/5= dilisyon

1/0.04= hidrojen peroksidin ekstingsiyon katsayısı

3.6- MDA (malondialdehit) Ölçüm Metodu

3.6.1- Prensibi: Lipit perokidasyon son ürünü olan MDA ölçümü asidik ortamda TBA ile MDA'nın 95°C de reaksiyona girmesi sonucu oluşan rengin 532-535 nm 'de okunması sonucu yapılır. Elde edilen değerler standart grafiği yardımıyla hesaplanır. Sonuçlar nmol/ml olarak verilir.

3.6.2- Reaktifler

A)TBA (Tiyobarbitürik Asit) → %0,75 lik (0,75 gr TBA alınır, saf su ile 100 ml' ye tamamlanır) (Sıcak su ile çözülür.)

B)TCA (Trikloroasetik Asit) → % 30' luk (%100' lük TCA çözeltisinden hazırlanır)

C)5 M HCl (% 37'lik 12M der.HCl çözeltilisinden hazırlanır)→ 41,666 ml der.HCl alınır, saf su 100 ml' ye tamamlanır.

3.6.3- Deney Prosedürü

250 Mikrolitre plazma + 1,5 ml TBA + 1 ml TCA + 0,2 ml HCl

içeren çözelti hazırlanır ve kaynar su banyosunda (95 °C) en az 15 dakika bekletilir. Kaynatmadan sonra çözeltiler soğutularak havası alınır, 10 dakika santrifüj edilir. Oluşan pembe renkli çözelti 535 nm' de okunur.

3.6.4- Hesaplama

$(ABS/1,56 \times 10^5) \times (\text{total hacim}/\text{örnek hacmi}) \times (10^6) = \text{mikromol/L}$

4-DENEYSEL SONUÇLAR

4.1- MDA Miktarları Sonuçları

Çizelge 1.1 Bir gr dokuda bulunan MDA miktarları (mikromol/gram)

(C:Kontrol grupları,D:Deney grupları)

D1:6.063	D1:17.66	D1:21.636	D1:35.7	D2:45.68	D2:62.5	D2:70.63	D2:112.82
C1:3.332	C2:4.389	C3:5.70	C4:6.73	C5:8.32	C6:9.83	C7:15.4	C8:17.6

Çizelge 1.2 Bir mikrolitre kandaki MDA miktarları (mikrolitre/litre)

(C:Kontrol grupları,D:Deney grupları)

D1:0.0399	D1:0.0577	D1:0.0620	D1:0.0717	D2:0.0871	D2:0.097	D2:0.1189	D2:0.1537
C1:0.0154	C2:0.01543	C3:0.0157	C4:0.0163	C5:0.1828	C6:0.02208	C7:0.02390	C8:0.05174

4.2- Katalaz Aktivitesi Sonuçları

1 dakikada 1 mikromol H₂O₂ yi ortamdaki uzaklaştıran katalaz miktarları

Çizelge 2.1 Bir gram dokudaki katalaz miktarları (unite/gram)

(C:Kontrol grupları,D:Deney grupları)

D1:15.63	D1:9.81	D1:6.03	D1:5.55	D2:5.01	D2:3.72	D2:3.27	D2:3
C1:21.06	C2:20.19	C3:15.18	C4:14.61	C5:10.23	C6:5.46	C7:4.68	C8:4.56

Çizelge 2.2 Bir mikrolitre kandaki katalaz miktarları(unite/litre)

D1:24.75	D1:18	D1:12.6	D1:10.5	D2:8.4	D2:6	D2:3.6	D2:2.7
C1:29.4	C2:21.9	C3:20.4	C4:15.9	C5:12.6	C6:10.5	C7:8.7	C8:3.9

4.3- Total Bilirubin Ölçümü Sonuçları

Çizelge 3.1 Bir desilitre kandaki total bilirubin miktarları (mg/dl)

(C:Kontrol grupları,D:Deney grupları)

D1:9.63	D1:8.83	D1:10.42	D1:10.57	D2:9.41	D2:7.52	D2:7.99	D2:9.92
C1:0.5	C2:0.7	C3:0.8	C4:1.2	C5:1.3	C6:0.7	C7:0.8	C8:0.9

4.4- Malondialdehit Sonuçlarının İncelenmesi

Çizelge 1.3 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında dokuda MDA değerlerinin istatistiksel incelenmesi

Group Statistics

FAKTOR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
MDASE 1,00	8	46,5829	34,7164	12,2741
2,00	8	8,9111	5,1489	1,8204

Çizelge 1.4 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında dokuda MDA değerlerinin istatistiksel test sonuçları

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
MDASE Equal variances assumed	9,947	,007	3,036	14	,009	37,6718	12,4084	11,0584	64,2851
Equal variances not assumed			3,036	7,308	,018	37,6718	12,4084	8,5793	66,7642

Çizelge 1.5 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarının kanda MDA değerlerinin istatistiksel incelenmesi

Group Statistics

FAKTOR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
MDAKAN 1,00	8	8,600E-02	3,683E-02	1,302E-02
2,00	8	2,235E-02	1,230E-02	4,350E-03

Çizelge 1.6 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında kanda MDA değerlerinin istatistiksel test sonuçları

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
MDAKAN	Equal variances assumed	6,282	,025	4,636	14	,000	6,365E-02	1,373E-02	3,420E-02	9,309E-02
	Equal variances not assumed			4,636	8,544	,001	6,365E-02	1,373E-02	3,234E-02	9,496E-02

4.5- Katalaz Sonuçlarının İncelenmesi

Çizelge 2.3 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarının dokuda katalaz değerlerinin istatistiksel incelenmesi

Group Statistics

FAKTOR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KATSE 1,00	8	7,1650	4,0624	1,4363
2,00	8	11,9963	6,7710	2,3939

Çizelge 2.4 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarının dokuda katalaz değerlerinin istatistiksel test sonuçları

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KATSE	Equal variances assumed	4,273	,058	-1,731	14	,105	-4,8312	2,7917	-10,8189	1,1564
	Equal variances not assumed			-1,731	11,461	,110	-4,8312	2,7917	-10,9457	1,2832

Çizelge 2.5 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında kanda katalaz değerlerinin istatistiksel incelenmesi

Group Statistics

	FAKTOR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KATKAN	1,00	8	10,8188	7,5216	2,6593
	2,00	8	15,4125	8,2157	2,9047

Çizelge 2.6 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında kanda katalaz değerlerinin istatistiksel test sonuçları

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KATKAN	Equal variances assumed	,121	,733	-1,166	14	,263	-4,5938	3,9382	-13,0403	3,8528
	Equal variances not assumed			-1,166	13,892	,263	-4,5938	3,9382	-13,0464	3,8589

4.6 Total Bilirubin Sonuçlarının İncelenmesi

Çizelge 3.2 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında bilirubin değerlerinin istatistiksel incelenmesi

Group Statistics

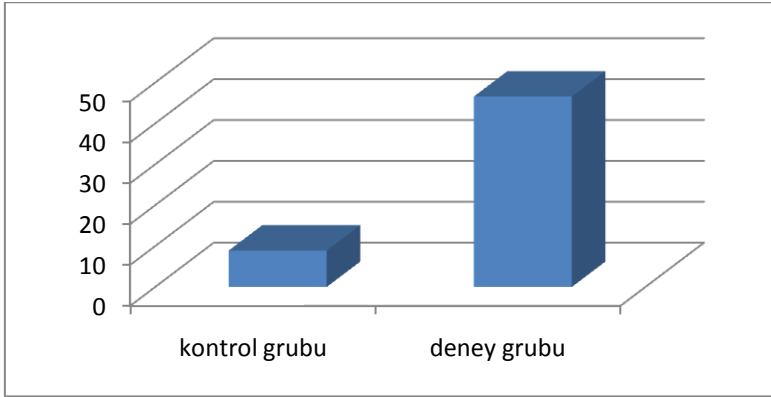
	FAKTOR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TOTALBIL	1,00	8	9,2862	1,1004	,3891
	2,00	8	,8625	,2669	9,437E-02

Çizelge 3.3 Tıkanma sarılığı ve kontrol gruplarında bilirubin değerlerinin istatistiksel test sonuçları

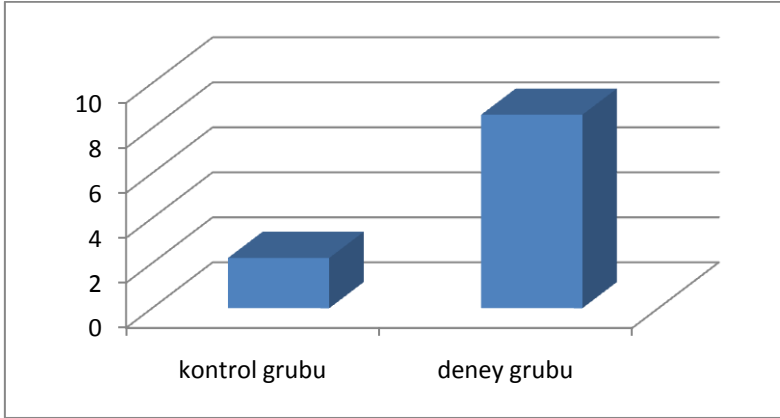
Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TOTALBIL	Equal variances assumed	10,444	,006	21,041	14	,000	8,4237	,4003	7,5651	9,2824
	Equal variances not assumed			21,041	7,821	,000	8,4237	,4003	7,4969	9,3506

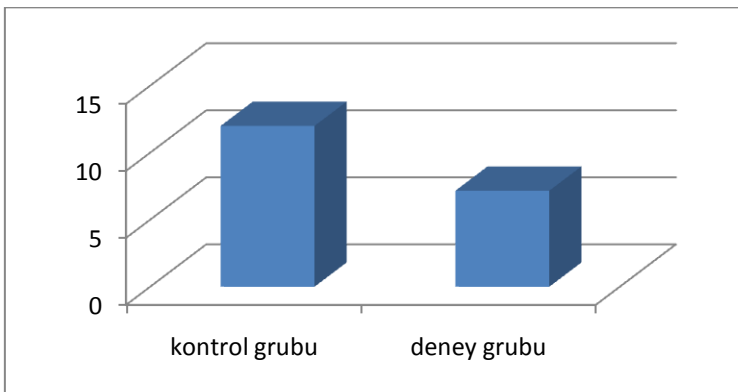
Çizelge 1.7 Malondialdehit kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması. (Dokuda)



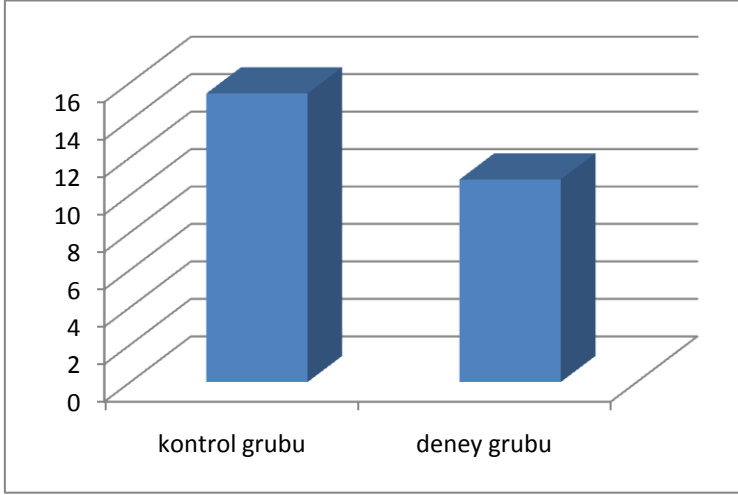
Çizelge 1.8 Malondialdehit kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması. (Kanda)



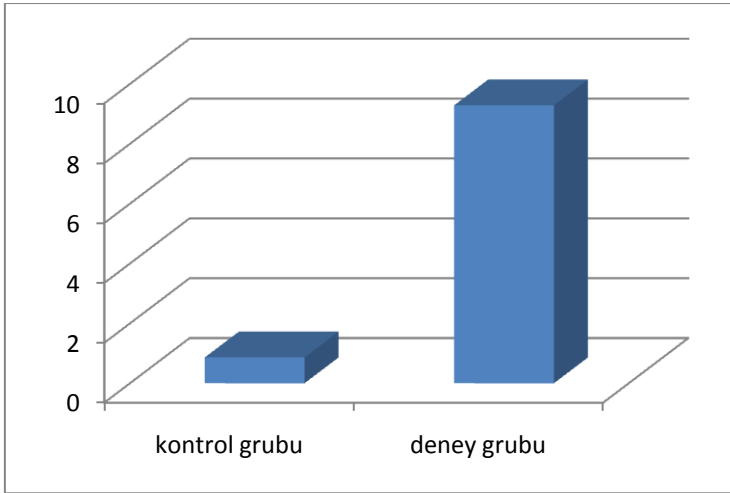
Çizelge 2.7 Katalaz kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması. (Dokuda)



Çizelge 2.8 Katalaz kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması.
(Kanda)



Çizelge 3.4 Total bilirubin kontrol grubu ve deney gruplarının ortalamalarının karşılaştırılması



5-SONUÇLAR VE TARTISIMALAR

Sıçanlarda tıkanma sarılığı uygulanması sonucunda, plazmada kontrol grubuna karşı değerlendirildiğinde deney gruplarında başarılı bir şekilde tıkanma sarılığı oluşturulduğu gözlenmiştir. Tıkanma sarılığı yapılan fare plazmalarında bilirubin düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı derece de yüksektir. Plazma bilirubin değerlerinin deneysel grupta ortalaması 9.2862, kontrol grubunda ise 0.8625'dir. T değeri 0,000 'dır. $p<0,05$ 'dir.

Sıçanların karaciğerinde TS yapılması, bu süreçte plazmada oksidan stres oluşumunun artışı muhtemeldir ve birçok çalışmada bu artış gösterilmiştir (76). Oksidatif stres, toksisitesinin olası bir mekanizması olarak son 15 yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir.

Tıkanma sarılığı grubunda doku MDA değerlerinin ortalaması 46,5829, kontrol grubunda ise 8,9111'dir. T değeri ise 0,0018' dir. $p<0,05$ olduğu için doku MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark vardır. Tıkanma sarılığı grubunda kan MDA değerlerinin ortalaması $8,600.10^{-2}$, kontrol grubunda ise $2,235.10^{-2}$ 'dir. T değeri ise 0,001'dir. $p<0.05$ olduğu için kan MDA değerlerinin arasında da anlamlı bir fark vardır. Tıkanma sarılığı grubunda kontrol grubuna kıyasla eritrosit malondialdehit düzeylerinin yüksek bulunması tıkanma sarılığında oksidatif stresin varlığını ortaya koymuştur.

Tıkanma sarılığında kontrol grubuna kıyasla eritrosit katalaz aktivitesinin düşük tespit edilmesi tıkanma sarılığında antioksidan savunma sisteminin zayıflığını göstermiştir. Doku katalaz değerlerinin deneysel grupta ortalaması 7,1650 iken kontrol grubunda 11,9963' dür. T değeri ise 0,110'dur. Plazma katalaz değerlerinin deneysel grupta ortalaması 10,8188 iken kontrol grubunda 15,4125'dir. T değeri ise 0,263'dür. Tıkanma sarılığı ve kontrol grubu arasında fark vardır.

Patogeneizde sorumlu tutulan serbest radikaller süperoksit, hidroksil radikalleri ve nitrik oksittir. Serbest radikallerin indüklediği malondialdehit(MDA), lipid peroksidasyon ürünlerinin olaya katkısının olduğu gösterilmiştir.

Oksidatif stresin varlığı antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliği pek çok hastalıkta öne sürüldüğü için tıkanma sarılığına spesifik tanı narkırlarının geliştirilebilmesi için daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Su CH, P'eng FK, Lui WY. Factors affecting morbidity and mortality in biliary tract surgery. *World J Surg.* 1992; 16(3):536-40.
- 2- Sikuler E, Buchs AE, Yaari A, Keynan A. Hemodynamic characterization of conscious and ketamine-anaesthetized bile duct-ligated rats. *Am J Physiol.*1991;260(1 Pt 1) :G161-6.
- 3- Kucuk C, Ok E, Yılmaz Z, Sozuer E, Muhtaroglu S, Arar M. The effects of dimethylsulfoxide in experimental obstructive jaundice. *Acta Chir belg.* 2003;103(4):392-5.38
- 4- Ogetman Z, Dirlik M, Caglikulekci M, Canbaz H, Karabacak T, Yaylak F, Tamer L, Kanik A, Aydin S. The effect of aminoguanidine on blood and tissue lipid peroxidation in jaundiced rats with endotoxemia induced with LPS. *J Invest Surg.* 2006;19(1):19-30.
- 5- Tsai LY, Lee KT, Lu FJ. Biochemical events associated with ligation of the common bile duct in Wistar rats. *J Formos Med Assoc.* 1997;96(1):17-22.
- 6- Cicalese L, Caraceni P; Nalesnik MA, Borle AB, Schraut WH. Oxygen free radical concent and neutrophil infiltration are important determinants in mucosal injury after rat small bowel transplantation. *Transplantation.*1996;62(2):161-6.
- 7- Yılmaz HR, Uz E, Yucel N, Altuntas I and Ozcelik N. Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Molecular Toxicology* 2004; 18:4 p:234-238.
- 8- Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J.*2000;16(3):534-54.
- 9- Akaike T, Ando M, Oda T et al. Dependence on O₂-generation by xanthine oxidase of pathogenesis of influenza virus infection in mice. *J Clin Invest* 1990; 85: 739-745.
- 10-Sakrak O, Akpınar M, Bedirli A, Akyurek N, Aritas Y. Short and long-term effects of bacterial translocation due to obstructive jaundice on liver damage *Hepatogastroenterology.* 2003;50(53):1542-6.

- 11- Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Puskareva GA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993; 329:21-24.
- 12- Hepsen IF, Er H, Cekic O. Topically applied water extract of propolis to suppress corneal neovascularization in rabbits. *Ophthalmic Res* 1999;31:426-431.
- 13- Koksel O, Ozdulger A, Tamer L, Cinel L, Ercil M, Değirmenci U, Unlu S, Kanık A. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2005; 1-6.
- 14- Padillo FJ, Muntane J, Montero JL, Briceno J, Mino G, Solarzano G, Sitges-Serra A, Pera Madzaro C. Effect of internal biliary drainage on plasma levels of endotoxin cytokines, and C-reactive protein in patients with obstructive jaundice. *World J Surg.* 2002;26(11):1328-32.
15. Halliwell B. and Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 1984; 219: 1-14.
16. Weis SJ, LoBuglio AF. Biology of disease: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab. Invest.* 1982; 47: 5-18.
17. Buonocore G, Groenendaal F. Anti-oxidant strategies. *Seminars in Fetal & Neonatal Med.* 2007; 1-9.
18. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoat K. and Xin W. Nutritional aspects of free radicals. *Pro. Nutr. Soc.* 1987; 46: 1-12.
19. Akkuş T. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza Yayınları. 1995; 1-80.
20. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *JFree Rad. Biol. Med.* 1985; 1: 3-25.
21. Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 1995; 41/12: 1819-1828.

22. Szabo S. Mechanisms of mucosal injury in the stomach and duodenum: time-sequence analysis of morphologic, functional, biochemical and histochemical studies. *Scand J Gastroenterol.* 1987; 127: 21-8.
23. Afanas'ev IB. Signaling functions of free radicals superoxide & nitric oxide under physiological & pathological conditions . *Mol. Biotechnol.* 2007; 37:2–4.
24. Auroma O. Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* 1999; 8: 53-63.
25. Halliwell B. Tell me about radicals, doctor: a review. *J. Royal Society of Med.* 1989; 82: 747-752.
26. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1993; 90: 7915-7922.
27. Robison TW, Murphy JK, Beyer LL, Richters A, Forman HJ. Depression of stimulated arachidonate metabolism and superoxide production in rat alveolar macrophages following in vivo exposure to 0.5 ppm NO₂. *J Toxicol Environ Health.* 1993; 38: 273-92.
28. Aslan R, Dündar Y. Bir fizyolojik eleman ve radikal olarak azot oksit. *Hay. Araş. Derg.* 1998; 8: 34-38.
29. Lohinai ZM, Szabo C. Role of nitric oxide in physiology and patophysiology of periodontal tissues. *Med. Sci. Monit.* 1998; 4: 1089-1095.
30. Freeman BA, Crapo JD: Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47:412-26, 1982.
31. Halliwell B: Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 91:14S-22S, 1991.
32. Gutteridge JM: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 41:1819-28, 1995.

33. Halliwell B, Chirico S: Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 57:715S-724S; discussion 724S-725S, 1993.
34. Kourie JJ: Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. *Am J Physiol* 275:C1-24, 1998.
35. Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri (ed 1). Konya, Mimoza Yayınları, 1995.
36. Shattock MJ, Matsuura H: Measurement of Na(+)-K+ pump current in isolated rabbit ventricular myocytes using the whole-cell voltage-clamp technique. Inhibition of the pump by oxidant stress. *Circ Res* 72:91-101, 1993.
37. Davies KJ, Goldberg AL: Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. *J Biol Chem* 262:8227-34, 1987.
38. Park JR, Tappel AL: Protein damage and lipid peroxidation: effects of diethyl maleate, bromotrichloromethane and vitamin E on ammonia, urea and enzymes involved in ammonia metabolism. *Toxicol Lett* 58:29-36, 1991.
39. Mense M, Stark G, Apell HJ: Effects of free radicals on partial reactions of the Na,K-ATPase. *J Membr Biol* 156:63-71, 1997.
40. McCord JM: The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 108:652-9, 2000.
41. Das D, Bandyopadhyay D, Bhattacharjee M, et al: Hydroxyl radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration. *Free Radic Biol Med* 23:8-18, 1997.
42. Nakazaki M, Kakei M, Koriyama N, et al: Involvement of ATP-sensitive K+ channels in free radical-mediated inhibition of insulin secretion in rat pancreatic beta-cells. *Diabetes* 44:878-83, 1995.
43. Halliwell B, Gutteridge JM: Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 1:1396-7, 1984.
44. Halliwell B, Gutteridge JM: The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 280:1-8, 1990.

45. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. *J. Biol. chem.* 1969; 244: 6049-6055.
46. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VGJ, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H_2O_2 in cells and thereby their biological state. *Free Rad. Biol. Med.* 2006; 41: 1338–1350.
47. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. *J. Biol. Chem.* 1970; 245: 1374-1377.
48. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 1982; 47: 412-426.
49. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extra cellular fluids. *Arch. Biochem. Biophys.* 1990; 280: 1-8.
50. Leclere V, Chotteau-Lelievre A, Gancel F, Imbert M, Blondeau R. Occurrence of two superoxide dismutases in *Aeromonas hydrophila*: molecular cloning and differential expression of the *sodA* and *sodB* genes. *Microbiol.* 2001; 147: 3105–3111.
51. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 416-420.
52. Amorim AM, Gasques MDG, Andreus J, Scharf M. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *An. Acad. Bras. Cienc.* 2002; 74: 433-436.
53. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: A tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1984; 81: 4343-4347.
54. Akkuş T. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya, Mimoza Yayınları. 1995; 1-80.
55. Kirkman HN, Rolfo M, Ferraris AM, Gaetani GF. Mechanisms of protection of catalase by NADPH. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 13908–13914.

56. Ścibior D, Czczot H. Catalase: structure, properties, functions. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* (online). 2006; 60: 170-180.
57. Palia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 1967; 70: 158-69.
58. Pamukçu T, Sel T, Gül Y. Blood Serum concentrations of selenium and glutathione peroxidase activity in Akkaraman Sheep. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 2001; 25: 731-734.
59. Pioruńska-Stolzmann M, Batko J, Majewski W. Lipid profile, lipase and glutathione peroxidase activities in the serum of patients with atherosclerosis. *Med. Sci. Monit.* 1999; 5: 900-903.
60. Tsai AC. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol-fed Rats. *J. Nutr.* 1975; 105: 946-951.
61. Van Haaften RIM, Haenen GRMM, Evelo CTA, Bast A. Effect of vitamin E on glutathione-dependent enzymes. *Drug Metabolism Rev.* 2003; 35: 215–253.
62. Thomas JP, Maiorino M, Ursini F, Girotti AW. Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging Lipid Peroxidation. *J. Biol. Chem.* 1990; 65: 454-461.
63. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Rad. Biol. Med.* 1999; 27: 951–965.
64. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ. *Biyokimya, Erzurum, Aktif yayınevi* 2000; 348-470.
65. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry, Dikmen N, Özgünen T, Harper'ın Biyokimyası, İstanbul Barış kitabevi, 1998; 127-799.
66. Siems WG, Sommerburg O, Grune T. Erythrocyte free radical and energy metabolism, *Clin Nephrol*, 2000; 53: 9-17.

67. Montgomery R, Conway TW, Specter AA. Biochemistry, Türkçe: Atlan N., Biyokimya olgu sunumlu yaklaşım, Ankara, Palme Yayıncılık, 2000; 84-450.
68. Champe PC, Harvey RA. Lippincott's Illustrated Review, Türkçe: Tokulligil A, Dirican M, Ulukaya E. Lippincott's Illustrated Reviews serisinden Biyokimya, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1997, 300-350.
69. Odabaşoğlu F. Antioksidan vitaminler, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde verilen konferans kitapçığı, Erzurum, 8 Mart 1999.
70. Tariq M. Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of vitamin E in rats. Res. Common Chem. Pathol. Pharmacol. 1988; 60: 87-96. 105.
71. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and carotenoids. J. Am. Diet. Assoc. 1996; 96: 693-702.
72. Bulucu D. Mide ülserlerinde melatonin antioksidan etkileri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 1998.
73. Aebi, H.: Methods of Enzymatic analysis. Hans Ulrich Bergmeyer Academic Pres. Inc. New York and London, 1974.
74. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979;95:351-358.
75. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. J. Lab Med 1963;61:882-90.
76. Godin, DV., Wohaieb, S.A., Garnet, M.E. ve Gourmaniouk.A.D., (1988), "Antioxidant Enzyme Alterations in Experimental and Clinical Diabetes.", Mol and Biochem., 84:223-231.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	27.09.1984	
Doğum yeri	İstanbul	
Lise	1998-2002	Göztepe İhsan Kurşunoğlu Lisesi(Süper Lise)
Lisans	2002-2006	Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fak. Kimya Bölümü
Yüksek Lisans	2007-2010	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurumlar

2006-2008	Garanti Bankası Çağrı Merkezi
2008-Devam ediyor	TNT Ekspres Uluslararası Taşımacılık Müşteri Hizmetleri