

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA KARBON TETRAKLORÜR İLE
OLUŞTURULAN AKUT KARACİĞER HASARINDA ETİL
PİRÜVATIN OKSİDATİF STRES VE BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Hazırlayan
Miraç BAKDEMİR

Danışman
Prof. Dr. Nazmi ÇETİN

Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi
tarafından TSY-11-3606 kodlu proje ile desteklenmiştir

Şubat 2015
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Miraç BAKDEMİR

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut Karaciğer Hasarında Etil Pirüvatın Oksidatif Stres ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan
Miraç BAKDEMİR
İmza



Danışman
Prof. Dr. Nazmi ÇETİN
İmza



Veteriner Fizyoloji ABD Başkanı
Prof. Dr. Nazmi ÇETİN
İmza

Prof. Dr. Nazmi ÇETİN danışmanlığında **Miraç BAKDEMİR** tarafından hazırlanan “Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut Karaciğer Hasarında Etil Pirüvatın Oksidatif Stres ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

13.102/2015

JÜRİ:

Danışman: Prof. Dr. Nazmi ÇETİN (Veteriner Fizyoloji AD)



Üye : Doç. Dr. Ebru ÇETİN (Veteriner Fizyoloji AD)



Üye : Doç. Dr. Öznur ASLAN (Veteriner İç Hastalıkları AD)



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 19.02.2015 tarih ve 665 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

19 / 02 / 2015



Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü



TEŞEKKÜR

Biyoloji öğretmenliği lisans mezunu olarak geldiğim Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Anabilim Dalı'na adaptasyonumda, çalışmalarımın yönlendirilmesinde, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımları ile gerekli desteği sağlayan, akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeye katkı sunan başta danışman hocam sayın Prof. Dr. Nazmi ÇETİN'e, yüksek lisans dersleri konusunda yardımlarından dolayı Doç. Dr. Ebru ÇETİN'e, yüksek lisans öğrenimimin ders aşamasında derslerime devam edebilmem için gösterdikleri hoşgörü ve sağladıkları kolaylıklar için görev yaptığım okuldaki idarecilerime ve çalışmalarım süresince fedakârlıklar gösterip beni destekleyen aileme en samimi duygularla teşekkür ederim.

Miraç BAKDEMİR

Kayseri, Şubat 2015

**SIÇANLARDA KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN AKUT
KARACİĞER HASARINDA ETİL PİRÜVATIN OKSİDATİF STRES VE BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

Miraç BAKDEMİR

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Şubat 2015

Danışman: Prof. Dr. Nazmi ÇETİN

ÖZET

Bu çalışma, sıçanlarda karbon tetraklorür (CCl_4) ile oluşturulan akut karaciğer hasarında etil pirüvatın oksidatif stres ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisini incelemek amacıyla yapıldı. Çalışmada, 40 erkek Sprague Dawley ırkı sıçan eşit dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 1 ml ringer laktat solüsyonu 0., 1,5. ve 6. saatlerde periton içi uygulandı. Karbon tetraklorür grubuna 1.6 g/kg CCl_4 periton içi yolla tek doz verildikten sonra 1.5 ve 6 saat sonra 1 ml ringer laktat, etil pirüvat grubuna 40 mg/kg dozda etil pirüvat 0, 1.5 ve 6. saatlerde periton içi, etil pirüvat+ CCl_4 grubuna ise tek doz 1.6 g/kg CCl_4 uygulamasından 30 dak. önce ve 1 ve 6 saat sonra 40 mg/kg dozda etil pirüvat periton içi yolla verildi. Son enjeksiyonlardan 24 saat sonra hayvanlardan kan örnekleri alınarak oksidatif stres ve biyokimyasal parametreler değerlendirildi.

Kontrol grubuna göre, CCl_4 verilen grupta, plazma malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeylerinde ve serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve alkalen fosfataz (ALP) aktivitelerinde önemli bir artma ($p < 0.05$), eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinde ise önemli bir azalma ($p < 0.05$) gözlemlendi. Öte yandan, karbon tetraklorür grubu ile karşılaştırıldığında, CCl_4 uygulamasından önce ve sonra yapılan etil pirüvat uygulamasının plazma MDA ve NO düzeyleri ile serum AST, ALT ve ALP aktivitelerini azalttığı ($p < 0.05$), eritrosit SOD, CAT ve GPx aktivitelerini ise artırdığı ($p < 0.05$) tespit edildi.

Sonuçlar, etil pirüvatın antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisi aracılığı ile akut CCl_4 toksisitesine karşı koruyucu rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Karbon tetraklorür; Karaciğer Hasarı; Etil Pirüvat; Oksidatif Stres; Biyokimyasal Parametreler.

**EFFECT OF ETHYL PYRUVATE ON OXIDATIVE STRESS AND SOME
BIOCHEMICAL PARAMETERS IN RATS WITH ACUTE LIVER INJURY
INDUCED BY CARBON TETRACHLORIDE**

Miraç BAKDEMİR

Erciyes University, Institute Of Health Sciences

Veterinary Physiology Department

Master's Thesis, February 2015

Supervisor: Prof. Dr. Nazmi ÇETİN

ABSTRACT

The present study was conducted to investigate the effect of ethyl pyruvate (EP) on oxidative stress and biochemical parameters in rats with acute liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl₄). Forty adult male Sprague–Dawley rats were randomly divided into four equal groups. The control group was given intraperitoneally 1 ml of Ringer' lactate at 0 h, 1,5 h and 6 hours. The CCl₄ group was treated with a single dose of CCl₄ (1.6 g/kg, i.p) followed by the administration of Ringer' lactate (1 ml) at at 1,5 and 6 hours. The ethyl pyruvate group was injected intraperitoneally at a dose of 40 mg/kg at 0, 1,5 and 6 hours. Rats in EP+CCl₄ group were treated intraperitoneally with ethyl pyruvate at a dose of 40 mg/kg at 30 min before and at 1 and 6 h after a single dose of CCl₄(1.6 g/kg) injection. Twenty-four hours after the last injection, blood samples collected, and oxidative stress and some biochemical parameters were evaluated. Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) activities, and plasma malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels were significantly ($p<0.05$) higher in the CCl₄ group than in the control, while erythrocyte superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activities were significantly ($p<0.05$) lower. On the other hand, the administration of EP before or after CCl₄ injection reduced plasma and liver MDA content and plasma NO level, and increased erythrocyte SOD, CAT and GPx activities when compared with CCl₄-treated group. These results indicate that ethyl pyruvate may play a protective role against the CCl₄ toxicity in rats, most likely through its antioxidant and free radical scavenger effects.

Key Words: Carbon tetrachloride; Liver Injury; Ethyl pyruvate; Oxidative Stress; Biochemical Parameters.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ONAY	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2- GENEL BİLGİLER	3
2.1. KARACİĞER FİZYOLOJİSİ.....	3
2.1.1. Karbonhidrat Metabolizması.....	4
2.1.1.1. Glikozun Hücre İçine Taşınması	4
2.1.1.2. Glikoz Metabolizmasına Etki Eden Hormonlar	5
2.1.2. Yağ Metabolizması	5
2.1.3. Protein Metabolizması.....	7
2.1.4. Karaciğerin Depo İşlevleri	8
2.1.4.1. Karaciğerin Kan Depo İşlevi	8
2.1.4.2. Vitaminlerin Depo Edilmesi.....	8
2.1.4.3. Karaciğerin Demiri Ferritin Şeklinde Depolaması.....	8
2.1.5. Kan Pıhtılaşması.....	9
2.1.6. İlaç, Hormon ve Diğer Maddelerin Karaciğer Tarafından Uzaklaştırılması.....	9
2.2. KARACİĞER REJENERASYONU.....	9
2.3. KARBONTETRAKLORÜR'ÜN GENEL ÖZELLİKLERİ VE ETKİ MEKANİZ MASI.....	11
2.4. SERBEST RADİKALLER	12
2.4.1. Serbest Radikal Kaynakları	17

2.4.2. Doku Hasarında Serbest Radikallerin Rolü	178
2.4.2.1 Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	18
2.4.2.2. Serbest Radikallerin DNA' ya Etkileri.....	19
2.4.2.3 Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri (Lipit Peroksidasyonu) ...	19
2.5. OKSİDATİF STRES	22
2.6 ANTİOKSİDAN SİSTEM	23
2.6.1.Tanımı ve Etki Tipleri	23
2.6.2 Antioksidan Etki Mekanizması	23
2.6.3 Antioksidanların Sınıflandırılması	24
2.6.3.1.Endojen Antioksidanlar	25
2.6.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	25
2.6.3.1.1.1.Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi	25
2.6.3.1.1.2.Süperoksit Dismutaz	26
2.6.3.1.1.3.Katalaz	26
2.6.3.1.1.4.Glutatyon Peroksidaz	27
2.6.3.1.2.Enzimatik Olmayan (Non-Enzimatik)	
Antioksidanlar.....	27
2.6.3.2.Eksojen Antioksidanlar	29
2.7. ETİL PİRÜVAT	29
3-GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Gereçler	32
3.1.1. Kimyasal ve kitler	33
3.2. YÖNTEM.....	34
3.2.1. Hayvan Materyali	34
3.2.2. Gruplar.....	35
3.2.3. Kan Örneklerinin Toplanması, Plazma, Serum ve Eritrosit	
Hemolizatının Hazırlanması	35
3.2.4. Biyokimyasal Analizler	36
3.2.4.1. Eritrosit Hemoglobin Düzeyi Ölçümü.....	36
3.2.4.2. Plazma Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi	36
3.2.4.3. Plazma Nitrik Oksit Düzeyinin Belirlenmesi	36
3.2.4.4. Eritrosit Katalaz Aktivitesinin Ölçümü	36
3.2.4.5. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Ölçümü	37

3.2.4.6. Eritrosit Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü.....	38
3.2.4.7. Serum Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, Glikoz, Bilirubin Düzeyleri ve AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin belirlenmesi.....	38
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Etil Pirüvatın Plazma MDA ve NO Düzeyleri üzerine etkisi.....	39
4.2. Etil Pirüvatın Eritrosit SOD, CAT ve GPx Enzim Aktivitelerim Üzerine Etkisi.....	39
4.3. Kontrol ve Deney Gruplarında Serum Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, Glikoz, Total Bilirubin Miktarı ile AST, ALP ve ALT aktiviteleri	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
6. KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR LİSTESİ

ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Amino Transferaz
AST	: Aspartat Amino Transferaz
BH4	: Tetrahidrobiyopterin
CAT	: Katalaz
CCl_3^-	: Triklorometil
CCl_3O_2^-	: Triklorometil Perokside
CCl_4	: Karbon Tetraklorür
COOH	: Karboksil grubu
EP	: Etil Pirüvat
FMN	: Flavin mononükleotid
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Glutasyon disülfid
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH-Rd	: Glutasyon Redüktaz
HOCl	: Hipoklorid
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
L^-	: Lipit Serbest Radikalleri
LOO^-	: Lipit peroksit radikali
LOOH	: Lipit hidroperoksit
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
PUFA	: Poliansatüre yağ asitleri
RBP	: Retinol bağlayıcı proteine
ROT	: Reaktif oksijen türleri
REPS	: Ringerli Etil Pirüvat Solüsyonu
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyoarbitürik asit

TABLolar LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1. Radikal olan ve olmayan oksijen ve azot türleri	14
Tablo 2.2. Serbest radikal kaynakları	17
Tablo 2. 3. Serbest radikallerin etkilediği bileşikler ve sonuçları	18
Tablo 2.4. Endojen Antioksidanlar.....	25
Tablo 2.5. Eksojen antioksidanlar.....	29
Tablo 4. 1. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama Glikoz, Total Protein, Trigliserit, Kolesterol ve Total Bilirubin değerleri.....	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Lipit peroksidasyonun basamakları.....	21
Şekil 4.1. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama plazma MDA düzeyleri.....	40
Şekil 4.2. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama plazma NO düzeyleri.....	41
Şekil 4.3. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama Eritrosit SOD aktiviteleri.....	42
Şekil 4.4. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama Eritrosit CAT aktiviteleri.....	43
Şekil 4.5. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama Eritrosit GPx aktiviteleri.....	44
Şekil 4.6. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama serum ALP aktiviteleri.....	45
Şekil 4.7. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama serum ALT aktiviteleri	46
Şekil 4.8. Kontrol, CCl ₄ , Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl ₄ uygulanan gruplarda ortalama serum AST aktiviteleri.....	47

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer, toksin ve kimyasal ajanlara sürekli maruz kalan, bunları detoksifiye eden ve rejenerasyon yeteneği oldukça yüksek olan önemli bir organdır. Karaciğerde birçok faktörlere bağlı olarak değişik hasarlar meydana gelir. Karaciğer hasarının değişik şekilleri oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluşmaktadır (1, 2, 3).

Toksik oksidatif ve hidroksi radikallerin lipid peroksidasyonu veya diğer yollarla hepatositlerin hücre membranlarını hasara uğrattıkları ve serbest radikallerin hem in vivo hem de in vitro ortamlarda proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve DNA'yı hasara uğrattıkları gösterilmiştir (4, 5).

Karbon tetraklorür, deneysel karaciğer hasarı oluşturulmasında en sık kullanılan kimyasal maddelerden birisidir. Hasarın derecesine bağlı olarak, membranlarda lipid peroksidasyon süreci başlatılarak serbest radikallerin oluşumunu hızlandırmakta ve karaciğerin fonksiyonu bozulmaktadır (6, 7).

Etil pirüvat sabit, kararlı, dayanıklı, çözülebilir ve toksik olmayan bir bileşiktir. Amerikan Gıda ve İlaç idaresi tarafında güvenilir olarak sınıflandırılmıştır (8). Pirüvat, hücre içinde reaktif oksijen türlerini süpürücü etki gösterir (9, 10). Etil pirüvatın akut böbrek yetmezliğinde (11), miyokardiyal (12), intestinal (13) ve hepatik (14) iskemi-resperfüzyon hasarında koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca, hemorajik (15) ve septik şok (16), akut pankreatitis (17) ve radyasyon hasarında (18) etil pirüvat uygulamasının olumlu etkiler gösterdiği tespit edilmiş ancak, akut karaciğer hasarında koruyucu etki gösterip göstermediği ile ilgili literatürde herhangi bir veriye

ulaşılamamıştır. Çeşitli sebeplere bağlı olarak oluşan karaciğer hasarı önemli bir sağlık sorunudur. Dolayısıyla karaciğer hasarına bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltmak amacıyla hepatoprotektif ajanların kullanımı önem arz etmektedir. Günümüzde akut ya da kronik karaciğer hastalıklarını önlemek amacıyla çeşitli kimyasal ajanlar denenmektedir. Karaciğer hasarı çeşitli antioksidan maddeler, serbest radikal süpürücüler veya lipit peroksidasyonu önleyici maddelerle önlenabilmektedir. Bu çalışmada, sıçanlarda karbon tetraklorür (CCl₄) ile deneysel olarak oluşturulan akut karaciğer hasarında etil pirüvatın koruyucu bir etki gösterip göstermediği test edilecektir. Bu amaçla; plazma malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri, eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ile serum aspartat amino transferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP), alanin amino transferaz (ALT), total protein, kolesterol, trigliserit, glikoz, bilirubin düzeyleri belirlenecektir. Çalışmada elde edilen verilerden hareketle, oksidatif karaciğer hasarına karşı koruyucu ajanların tespitine yönelik yeni bilgiler elde edilecektir.

2- GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER FİZYOLOJİSİ

Karaciğer vücuttaki bütün organlarla ilişkili çok sayıda görevleri olan, genel dolaşım ile bağırsaklar arasında yer alan bir organdır. Sindirim sisteminden bağırsaklar yoluyla kazanılan birçok madde portal venden gelerek karaciğere ulaşır. Karaciğerdeki hücreler bu maddeleri metabolik faaliyetlerden geçirdikten sonra depolar veya gerekli yerlere ulaştırılmak ve kullanılmak üzere kana verir (19, 20).

Karaciğerin birçok fizyolojik fonksiyonu vardır. Bunlar arasında;

- 1- Karbonhidratların depolanması ve karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesi,
- 2- Safra sentezi ve sekresyonu,
- 3- Üre sentezi,
- 4- Keton bileşiklerinin üretimi,
- 5- Plazma proteinlerinin sentezlenmesi,
- 6- Çeşitli ilaç ve zehirlerin detoksifikasyonu,
- 7- Bazı hormonların inaktivasyonu,
- 8- Yağ metabolizması,
- 9- Protein metabolizması,
- 10- Bazı vitaminlerin ve demirin depolanması,
- 11- Kanın depolanması ve filtrasyonu ile ilgili vasküler fonksiyonlar,
- 12- Pıhtılaşma faktörlerinin yapımı gibi fonksiyonlar sayılabilir.

Karaciğerdeki fonksiyonlar genelde birbirleriyle ilişkilidir. Bu nedenle karaciğerdeki herhangi bir patolojik durum oluştuğunda, gerçekleşen birçok işlevde eş zamanlı bozulmalar meydana gelir (19, 21, 22, 23).

2.1.1. Karbonhidrat Metabolizması

Sindirim sisteminde karbonhidratlar monosakkaritelere kadar parçalanır ve bağırsaklardan emildikten sonra portal sistem yoluyla karaciğere gelirler. Bundan sonra; hücrelerde enerji sağlamak üzere okside olabilir veya glikojene çevrilerek karaciğerde depolanabilirler. Karaciğerde glikojen sentezinde rol alan enzimin adı glikojen sentatazdır. Karaciğer kanda glikozun normal yoğunluğunun devamının sağlanması açısından önemlidir.

Ayrıca karaciğer kana glikoz sağlar. Bu glikoz kanda dolaşır. Kaslar ve yağ doku bu glikozdan yararlanır. Kaslarda glikoz glikojene çevrilerek depolanabilirken, yağ dokuda yağa dönüştürülerek depolanabilir. Karaciğer kana glikoz verirken iki glikoz kaynağından yararlanır. Bunlar;

1- Depolanmış glikojeni glikoza çevirerek (glukogenoliz).

2- Açlık durumunda, glikojen deposu tükendiği zaman yağ ve proteinlerden glikoz elde ederek (glukoneogenez). Karaciğerde ihtiyaç halinde glikojenin glikoza çevrilmesini sağlayan enzim glikojen fosforilazdır. Bu enzim pankreastan salgılanan glukagon hormonunun etkisiyle aktifleştirilmektedir. Aynı zamanda glukagon hormonu, glikojen sentatazın aktivitesini baskılar. Böylece glikojen yapımı durur ve glikoz üretilir. İnsulin ise bu duruma antagonistik etki gösterir (19, 24).

2.1.1.1. Glikozun Hücre İçine Taşınması

Glikozun hücre içine alınabilmesi için taşıyıcıya gerek vardır. Hücre içindeki ve dışındaki glikoz yoğunluk farkına göre işleyen bu mekanizmada glikoz dört adımda içeri alınır.

1- Glikoz taşıyıcıya bağlanır

2- Bir konfigirasyon değişikliği ile glikoz taşıyıcının iç kısmına geçer

3- Taşıyıcı glikozu sitoplâzmaya salar

4- Taşıyıcı yine bir yapılandırma değişikliği ile dışarı döner.

Sitoplazmaya giren glikoz hemen fosforilasyona uğrar. Böylece hücre dışına sızması önlenir (24).

2.1.1.2. Glikoz Metabolizmasına Etki Eden Hormonlar

A- İnsülin; Glikozunkan plazmadan alınmasını sağlayan en önemli hormondur. Bu hormon karaciğerde, hepatosit hücrelerinin zarlarından glikoz taşınmasını dolaylı olarak etkiler. Glikojen sentezini hızlandırarak hepatositlerin sitoplâzmalarındaki glikoz yoğunluğunu azaltır. Böylece hücre içine daha çok glikoz girmesini sağlar. İnsülinin salgılanması kandaki glikoz düzeyi ile ilgilidir. Kanda glikozmiktari artış gösterirse endokrin bir bez olan pankreasın β hücrelerinden insülin sentezlenerek kana verilir.

B-Katekolaminler: Glikoz alınımını engeller. Epinefrin, glikojenin glikoza dönüşümünü destekler. Aynı zamanda insülin salgısını da inhibe eder.

C- Kortizol: Açlık durumunda, glikojen deposu tükendiği zaman yağ ve proteinlerden glikoz elde edilmesini (glükoneogenez) hızlandırır. Bunu glükoneogenetik enzimleri aktive ederek yapar. Ayrıca proteinlerin yıkımı ile karaciğere glikoz yapımında kullanılmak üzere amino asit sağlar.

D- Somatotropin hormon (Büyüme hormonu): Glikoz metabolizması etkileyen bir hormon olarak iki tür etkiye sahiptir. Bunlar;

- 1- Kısa süreli salgılandığında, insülin gibi etki göstererek kandan glikoz alınmasını sağlar.
- 2- Uzun süreli salgılandığında ise kas ve yağ (adipoz) dokunun glikoz almasını önler ve bir tür şeker hastalığına (diabetes mellitus) hastalığına neden olur (24).

2.1.2. Yağ Metabolizması

Yağ moleküllerinin metabolizması vücuttaki bütün hücrelerde devam etmesine karşın, yağ metabolizmasının başlıca bazı işlemleri karaciğer tarafından gerçekleştirilir. Bunlar arasında;

- 1- Yağların ve yağda çözünen vitaminlerin bağırsaktan emilimine yardımcı olan safra tuzlarını duodenuma salgılamak,
- 2- Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi yapmak,
- 3- Yağ asitlerini okside ederek, dokuların birçok vücut işlevini yaparken ihtiyaç duydukları enerjiyi sağlamak,

4- Büyük miktarda kolestrol, fosfolipit ve lipoprotein sentezlemek sayılabilir (19, 23, 24, 25).

Yağ asitlerinin oksidasyonu ile enerji elde ederken öncelikle nötral yağlar, gliserol ve yağ asitlerine çevrilir. Daha sonra yağ asitleri beta oksidasyona uğratılır ve iki karbonlu asetil köklerine parçalanırlar. Bu kökler daha sonra bir koenzim olan koenzim-A ile birleşerek asetilkoenzim-A (asetilCo-A)'ları oluştururlar. Bu üretilen asetilkoenzim-A'lar sitrik asit döngüsüne girer ve oksitlenerek büyük miktarda enerji sağlarlar. Beta oksidasyon vücuttaki bütün hücrelerde gerçekleşse de karaciğer hücreleri olan hepatositlerde daha hızlıdır. Karaciğer, oluşan asetil-CoA'nın hepsini kullanamaz; bunun yerine, 2 molekül asetilCo-A' nın birleşmesiyle oluşan aseto-asetik asit, çok kolay eriyen bir asittir ve karaciğer hücrelerinden hücre dışı sıvılara özellikle kana geçerek, bütün vücuda taşınır. Dokulara ulaşan bu madde dokular tarafından alınır. Dokular da asetoasetik asidi yeniden asetil-Co-A'ya çevirerek normal olarak okside edilir. Böylece karaciğer yağları metabolize ederek dokulara bir enerji kaynağı sunmuş olur. Bu şekilde yağ metabolizmasından büyük ölçüde karaciğer sorumludur (19).

Üç yağ asidi ile bir gliserol molekülünün esterleşmesinden oluşan trigliseridler yoğun enerji depolarıdır. Trigliseridler, suda erimediği için kan içerisinde emülsiyon halinde lipoprotein sistemi tarafından taşınırlar. Lipoprotein parçacıkları, dışta hidrofilik lipoprotein membran ve bunların içerisinde yer alan kolesterol ve trigliseridlerden meydana gelir (25).

Karaciğerden tarafından kana verilen trigliserid molekülleri, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) parçacıkları şeklinde kaslara veya yağ dokuya gönderilir. Kaslar gelen trigliseridleri enerjiye dönüştürürken, yağ dokuları trigliseridleri depolarlar. VLDL parçacıkları, trigliseridlerini dokulara verdikçe, hacimleri küçülür, dansiteleri biraz artarak düşük dansiteli lipoprotein (LDL) haline geçerler. Düşük dansiteli lipoprotein parçacıkları trigliseridleri azaldıkça yüksek oranda kolesterol içerikleri kalır. Bu oran % 9 trigliserid ve % 50 kolesterol şeklindedir. LDL kanda dolaştıkça dokuların kolesterol ihtiyacını karşılarlar. Kısaca LDL karaciğerden dokulara kolesterolün taşınma formudur denebilir (24, 25).

Kolesterol karaciğerde sentezlenir. Ancak kolestrolün yaklaşık % 80' i safra tuzlarına çevrilir, geri kalan kısım ise lipoproteinler içerisinde kan yoluyla vücudun tüm hücrelerine taşınırlar. Fosfolipitler aynen kolesterol gibi karaciğerde üretildikten sonra

lipoproteinler içinde kanla vücut hücrelerine taşınırlar. Bu iki madde kolesterol ve fosfolipitler başta hücre zarları olmak üzere, hücre içi yapılarının oluşturulmasında ve hücre işlevlerinin gerçekleştirilmesi içingereken önemli kimyasal maddelerin yapımında kullanılırlar. Vücutta karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi büyük oranda karaciğerde gerçekleşir. Karaciğer yağları sentezledikten sonra, bu yağ molekülleri, lipoproteinler içerisinde yağ dokularına ulaştırılır ve orada depolanır (19).

2.1.3. Protein Metabolizması

Karaciğer protein metabolizmasını gerçekleştirmez ise, vücut birkaç günden fazla canlı kalamaz. Karaciğerin protein metabolizmasındaki işlevi şöyle sıralanabilir;

- 1- Vücuttaki metabolik olaylar için önemli amino asitlerin ve öteki maddelerin birbirine dönüşümleri
- 2- Amino asitlerin deaminasyonu,
- 3- Amonyakın vücut sıvılarından uzaklaştırılması ve üre sentezi,
- 4- Plazma proteinlerinin sentezi (19, 23, 24).

Vücuda alınan amino asitler, karbonhidrat ve yağ asitlerine çevrilerek depo edilebilir ve ihtiyaç halinde enerji kaynağı olurlar (25). Ancak amino asitlerin, enerji üretiminde, karbonhidrat veya yağa çevrilerek kullanılabilmesi için öncelikle deaminasyona maruz kalmaları gerekir. Deaminasyon işleminde, amino asitler amin gruplarını kaybederler. Geriye karbon, hidrojen ve oksijen zincirinden ibaret bir yapı kalır ki bu yapı oksidasyon da kullanılabilir. Son ürün olarak ise enerjinin yanında karbondioksit (CO_2) ve su (H_2O) elde edilir. Amino asitten ayrılan amino grubu ise 2 molekül amonyak ve 1 molekül CO_2 ile birleştirilerek, üreye çevrilir. Karaciğerde üretilen bu üre ise kana verilir ve böbreklerden süzülerek vücuttan uzaklaştırılır. Deaminasyon işlevi karaciğer dışında böbreklerde ve diğer dokularda gerçekleşir. Ancak bu ekstra hepatik deaminasyon karaciğerdekine oranla çok önemsizdir. Karaciğerin üre yapımı ile ilgili işlevi kayb olduğunda plazma amonyak konsantrasyonu hızla yükselir ve hepatik koma oluşur (19, 24).

Savunma proteinleri olan antikorlar (gama globülinler) haricindeki bütün plazma proteinleri karaciğerdeki hepatositlerde sentezlenir. Bu yüzden eğer kanda plazma proteinlerinin seviyesi azalırsa bu durum hepatositlerde mitoz bölünmeyi hızlandırır. Bunun sonucunda karaciğerde büyüme meydana gelir. Azalan plazma proteinleri

yeniden normal düzeye gelinceye kadar bu proteinlerin yapımı ve hızla karaciğerden kana geçişi devam eder (19).

2.1.4. Karaciğerin Depo İşlevleri

2.1.4.1. Karaciğerin Kan Depo İşlevi

Karaciğerdeki damarlar büyük miktarda kan depolanabilir. Karaciğerdeki hepatik venler ve hepatik sinuslardaki kanda dâhil edilirse, karaciğerde yaklaşık 450 mililitre'lik bir kan hacmi vardır. Bu miktar yaklaşık olarak vücuttaki toplam kan hacminin %10' u kadardır. Karaciğer, vücutta genel kan hacmi azaldığında vücuda ek olarak kan sağlayabilir. Aynı şekilde vücutta kan hacmi aşırı artış gösterdiğinde ise önemli miktarda kanı dolaşımdan alıp içinde depolayabilen ve bir miktar genişleyebilen bir organdır (19).

2.1.4.2. Vitaminlerin Depo Edilmesi

Karaciğerin bazı vitaminleri depolama işlevi vardır. Karaciğer, A vitamininin (retinol) alınması, depolanması ve dolaşımdaki düzeyinin korunmasında görev yapar. Karaciğerin depoladığı A vitamini, on ay gibi uzun bir süre eksikliğini önlemeye yetecek miktardadır. Eğer kandaki A vitamini düzeyi düşerse bu durumda karaciğer hücrelerinde bulunan depo alanlarındaki A vitamini harekete geçirilir. Bu A vitaminleri, yine karaciğer tarafından üretilen bir protein olan retinol bağlayıcı proteine (RBP) bağlanarak dolaşıma salınır. Retinol bağlayıcı protein sentezi, plazma A vitamini düzeyine bağlıdır ve bu düzeyle düzenlenir. A vitaminin yanında karaciğer ayrıca D vitamini metabolizmasında ve depolanmasında önemli role sahiptir. Kalsiyum ve fosfat metabolizmasında önemli bir yere sahip olan D vitamini, diyetteki D₃ vitamininden oluşturulur. Karaciğerde depolanan D vitamini üç-dört ay, B₁₂ vitamini ise en az bir yıl eksikliği görülmeyecek miktarlarda depo edilebilir (19, 24, 25, 26).

2.1.4.3. Karaciğerin Demiri Ferritin Şeklinde Depolaması

Her ne kadar vücuttaki demirin bir bölümü kandaki hemoglobinde bulunsun da demirin en büyük bölümü karaciğerde bulunur ve ferritin şeklinde depo edilir. Karaciğer hücrelerinde demir, bir protein olan apoferritinle bağlı bir bileşik olarak bulunur. Apoferritin karaciğer hücrelerinde bol miktarda bulunur. Eğer vücut sıvılarında demir miktarı artarsa apoferritinle birleştirilerek ferritin oluşturur ve gerektiğinde kullanılmak üzere hepatositlerde depolanır. Dolaşımdaki vücut sıvılarında demir düzeyi düştüğünde

ise ferritin bileşiginden demir serbest kalır ve vücut sıvılarına karışır. Böylece karaciğerdeki apoferritin-ferritin, demiri depolayan ve bırakan bir sistem olarak iş görür (19, 26).

2.1.5. Kan Pıhtılaşması

Kanın pıhtılaşması için gerekli birçok madde karaciğer tarafından üretilerek kana verilir. Bunlar arasında; fibrinojen, protrombin, akseleratör globülin, faktör VII, IX, X gibi birçok önemli kan pıhtılaşma faktörleri yer alır (19, 24, 25).

2.1.6. İlaç, Hormon ve Diğer Maddelerin Karaciğer Tarafından Uzaklaştırılması

Karaciğer hücreleri vücuda giren ilaçları, toksinleri ve vücut için yabancı olan birçok proteini (ksenobiyotikler v.b.) indirger ve zararsız hale getirir. Dışarıdan vücuda alınan ilaçların ve toksinlerin çoğu hidrofilik değildir. Bu nedenle suda çözünürlükleri azdır ve böbrekler tarafından kandan etkin bir şekilde uzaklaştırılmaz. Karaciğer butür maddeleri suda daha çözülebilir hale dönüştürmek için metabolik bir yoldan geçirir. Bu yol hepatositler tarafından iki faz da gerçekleştirilir. Birinci fazda oksidasyon gerçekleştirilir. Hepatositlerin agranüler endoplazmik retikulumları ve mitokondriyonlarında yabancı bileşiklere OH grubu eklenir (hidroksilasyon) veya COOH grubu eklenir (karboksilasyon). İkinci fazda konjugasyon gerçekleştirilir. Glukoronik asitin, glisin ve taurinle konjugasyonu gerçekleşir. Bu yol, birinci aşama ürünlerini suda daha çok eriyebilir hale getirir. Böylece böbrekler tarafından atılmasına yardımcı olur (23, 26).

Karaciğer hücreleri birçok ilacı, hormonu ve fazla minerali vücuttan uzaklaştırır. Karaciğer hücrelerindeki aktif kimyasal ortam sulfonamid, penisilin, ampicilin ve eritromisin gibi çeşitli ilaçların zehir etkilerini ortadan kaldırır ve safra yolu ile vücuttan uzaklaştırılmasını sağlar. Aynı şekilde iç salgı bezlerinden üretilerek kana verilen östrojen, kortizol, aldosteron gibi tüm steroid hormonlar ve tiroit bezinden salgılanan tiroksin de karaciğer tarafından değiştirilir veya atılır. Ayrıca vücuttan atılması gereken kalsiyum da karaciğerden safraya salgılanarak uzaklaştırılır (19).

2.2. KARACİĞER REJENERASYONU

Karaciğer hücrelerinin yaşam süresi yaklaşık 150 gün kadardır. Normal de mitoz hücre bölünme çok seyrek görülür. Ancak hepatotoksik ajanlara maruz kalındığında veya

hepatektomi (ameliyatla karaciğerden bir bölümün çıkarılması) sonrasında hepatositlerde proliferasyon (hücrelerin kontrolsüz çoğalarak sayılarını artırması) artar (27).

Kısmi hepatektomiden sonra sadece hepatositlerde değil, safra kanalında yer alan epitelyum hücrelerinde ve endotel hücrelerinde de proliferasyon gözlenir. Hücre proliferasyonu periportal alandan başlar, lobülün merkezine doğru ilerler. Çoğalan hücreler öncelikle gruplar oluştururlar, daha sonra da hücre dizileri şeklinde yeniden düzenlenirler. Çoğalmakta olan hepatositler kısmen fetal fenotiplerinin özelliklerine geri dönerler ve alfa-fetoprotein taşırlar. Hücreler yenilenirken normal metabolik faaliyetlerini sürdürürler. Karaciğer rejenerasyonunda bir takım mitojenik faktörler ve büyüme faktörlerinin uyarıcı etkisi vardır. Bunlardan bazıları;

- 1- Hepatosit Growth Faktör, Epidermal Growth Faktör, Transforming Growth Factor- α , Transforming Growth Factor- β gibi bazı büyüme faktörleri,
- 2- TNF- α ,
- 3- İnterlökin-6,
- 4- Norepinefrin ve insülin gibi kimyasal maddelerdir (27, 28).

Yetişkin memelilerde şartlar normalken hepatositler hücre döngüsünün G_0 safhasında beklememektedirler. Ancak karaciğerde hepatektomi veya harabiyet gerçekleşirse hepatositler bu safhadan çıkarak mitozun ilerleyen safhalarına doğru ilerlerler ve sonuçta yeni hücreler üreterek proliferasyonu gerçekleştirirler. Farelerde kısmi hepatektomiden yaklaşık 20-24 saat sonunda DNA ve 48 saat sonra hepatositlerin çoğunun S safhasında bulunduğu gösterilmiştir (27).

Hepatositler toksik maddelerden ve iskemiden çabuk etkilenirler. Hepatositlere ulaşan toksik ajanlar özellikle membran sistemine saldırırlar. Bu hücrelerde endoplazmik retikulum ve mitokondriyon gibi zarlı organeller çok bulunduğu için çabuk zarar görürler. Bu zararlar içerisinde en yaygın olanları endoplazmik retikulumun dilatasyonu, mitokondriyonlarda ödem ve krista kaybı en sıklıkla rastlanan zararlardır. Bununla birlikte etkileyici ajan uzun süreli ve dozda etkili olursa hepatositler buna bağlı olarak apoptoz (programlanmış hücre ölümü) veya nekrozla (doku ölümü) ölürler (29).

2.3. KARBON TETRAKLORÜR'ÜN GENEL ÖZELLİKLERİ VE ETKİ MEKANİZMASI

Karbon tetraklorür yoğun ve hoş kokulu sıvı bir maddedir. Saydamdır, yanıcı değildir ve kolayca buharlaşabilir. Ancak kendi sınıfının en toksik maddesidir. Hem sıvı hem de buhar olarak gastrointestinal sistemden ve solunum sisteminden çok kolay emilir ve vücuda karışır. Kan yoluyla da başta karaciğer olmak üzere beyin, böbrek, kas ve yağ dokusuna yüksek oranlarda dağılır (30, 31, 32, 33).

CCl_4 vücuda gastrik lavaj, intraperitoneal ve subkutan uygulamalarla verildiğinde karaciğer fibrozu ve sirozu oluşabilmektedir. Genelde bunun uygulanma süresi değişken olmakla birlikte 6 ile 12 hafta arasında değişir. Eğer CCl_4 'e akut olarak maruz kalınırsa doza bağlı olarak şiddetli hepatik nekroz ve renal hasar gelişebilir. Yapılan bazı çalışmalarda kronik olarak yüksek oranda CCl_4 'e maruz kalınmasından sonra toksik hepatit, nekroz ve sirozun geliştiği bildirilmiştir. Bu yolla CCl_4 ile oluşturulan deneysel karaciğer sirozu ile insanlarda gözlenen karaciğer sirozu arasında büyük benzerlikler olduğu da bildirilmiştir (34, 35, 36).

CCl_4 'ün etki mekanizması CCl_4 'ün karaciğerde mitokondriyal monooksijenaz (P-450 2E1) sisteminde metabolize edilmesi sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin membran proteinleri ve lipidlerine saldırmasına dayanır. Bu saldırı iki yolla gerçekleşebilir. CCl_4 'ün metabolizması esnasında öncelikle sabit olmayan başlangıç metaboliti triklorometil ($\text{CCl}_3^\cdot$) serbest radikali oluşur. Daha sonra bu radikal lipidler ve proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak hızla triklorometil peroksite ($\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$) dönüşür. En sonunda sekonder olarak oluşan konjuge dien, lipitidroperoksit ve malondialdehid gibi yapılar ile kısa zincirli karbonhidratlar oluşur (37, 38).

CCl_4 'ün toksik etkisi sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, hücre zarlarında ciddi zarara sebep olurlar. Özellikle hücre membranlarındaki fosfolipitlerde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak karaciğer hücre nekrozuna yol açarlar (39, 40, 41).

Özellikle $\text{CCl}_3^\cdot$ radikalinin oksijenle reaksiyonu sonucu meydana gelen $\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$ radikali lipid peroksidasyonunu başlatan çok kuvvetli bir maddedir. Bu olayları takiben serbest radikal üretimi karaciğerdeki antioksidan savunma sistemini aştığı zaman hücre membranlarının oksidatif yıkımı hız kazanır (oksidatif stres durumu) ve ciddi doku hasarı meydana gelir (42, 43).

Lipit peroksidasyonu sonucun da karaciğerde fibrozis ve siroz oluşur ve bu durum ekstrasellüler matriks bileşenlerinin artması ile karakterizedir. Ekstrasellüler matriksin yapımı ve yıkımı arasındaki denge oluşan toksik oksijen radikallerine bağlı olarak sürekli matriks yapımı yönünde bozulmaktadır. Yapılmış olan birçok çalışmada karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hasarı ile fibrozis arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (44, 45, 46).

CCl_4 aynı zamanda DNA'yı da hasara uğratar. CCl_4 ilk önce metabolize edilir ve reaktif ara ürünler oluşur. Daha sonra bu ürünler DNA'ya kovalent olarak bağlanırlar. Reaktif oksijen türleri oluşur. Oluşan bu serbest oksijen radikallerinin ortamda birikmesi oksidatif strese sebep olur. Reaktif oksijen türleri DNA ile etkileşime girer ve doğrudan DNA zincirlerinin kırılmasına sebep olur. DNA'nın bu oksidatif hasarı, birçok hastalığın oluşumunda önemli bir faktör olarak kabul edilir (47, 48).

CCl_4 , kaspazların aktivasyonunu içeren yollarda, sinyal oluşturarak apoptoz veya nekroz ile sonuçlanan mitokondriyal strese neden olur. Bu hücrelerde mitokondri, oksidatif fosforilasyon ile ATP sağlarken, hücre içi Ca^{+2} dengesi, pH kontrolü, apoptotik ve sitotoksik hücre ölümü gibi diğer birçok hücrel mekanizmada devreye sokulmuş olur (49, 50).

CCl_4 verilen sıçanlarda alkalen fosfataz, alanin amino transferaz ve aspartat amino transferaz seviyesi yükselir. Karaciğer hücre zarı hasar gördüğünden dolayı, normalde sitoplazmada bulunan enzimler kana karışır (51, 52, 53). Bu enzimler karaciğer hücre hasarının türü ve boyutunun belirlenmesinde faydalı bir nicel belirteç olup, serum marker enzimleri olarak nitelendirilirler (54, 55, 56).

2.4. SERBEST RADİKALLER

Atom çekirdeğinin etrafında bulunan elektronlar orbital denilen yörüngelerde hareket eder. Kararlı durumlardaki atomların ilk orbitalinde iki, diğerlerinde sekiz elektron bulunur. Bir veya daha fazla orbitalinde eşlenmemiş elektron taşıyan atom veya moleküllere serbest radikal denir. Serbest radikaller kimyasal olarak kararsız yapıdadırlar (57, 58).

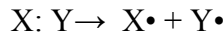
Serbest radikaller dış orbitaldeki eşleşmemiş elektronları eşleşmek ve daha kararlı hale gelmek için herhangi bir molekül veya atom ile etkileşirler. Bu etkileşim elektron alma

veya elektron verme şeklindedir. Bu eğilimlerinden dolayı, diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek şekilde aktif bir yapı gösterirler (59, 60).

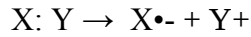
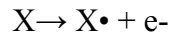
Serbest radikaller elektron vererek (redüksiyon) veya alarak (oksidasyon) radikal olmayan bir yapının da radikal şekle dönüşmesine sebep olurlar. Bu yüzden bu tür maddelere “serbest radikaller’ veya ‘oksidan moleküller’ denir (61, 62).

Serbest radikaller 3 yolla oluşabilir. Bu yollar;

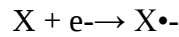
1. Normal bir molekülde bulunan bir kovalent bağın, molekülün her bir parçasında eşleşmiş elektronlardan bir tanesi kalacak şekilde homolitik parçalanması ile



2. Normal bir molekülden tek bir elektron kaybı ile veya bir molekülün kovalent bağındaki iki elektronun bir atomda kalacak şekilde heterolitik bölünmesi ile



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşabilir.



Biyolojik ortamlarda serbest radikal oluşumunda en sık karşılaşılan oluşum şekli moleküle bir elektron eklenmesidir (60, 63).

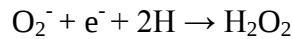
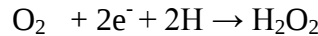
Biyolojik ortamlardaki en önemli serbest radikal çeşitleri oksijenin radikal türleridir ki bunlara ‘reaktif oksijen türleri’ (ROT) denir. ROT sadece serbest oksijen radikallerini içermez ayrıca oksijen radikali oluşumuna yol açan, radikal olmayan oksijen türlerini de içerir (58, 60, 64).

Radikal olan (ROT) ve olmayan oksijen türleri gibi, radikal olan ve olmayan oksijen türleri gibi azot türleride vardır (Tablo-2.1) (65, 66).

Tablo 2.1: Radikal olan ve olmayan oksijen ve azot türleri

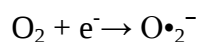
Radikaller		Radikal olmayanlar	
O ₂ ^{•-}	Süperoksit anyon radikali	¹ O ₂	Singlet oksijen
OH [•]	Hidroksil radikali	NO ₂	Azot dioksit
ROO [•]	Peroksil radikali	ONOO ⁻	Peroksinitrit
ROOOH	Hidroperoksit	H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
RO [•]	Alkoksil radikali	O ₃	Ozon
R [•]	Organik radikaller	LOOH	Lipit hidroperoksit
NO [•]	Nitrik oksit radikali	R-NX-X	N-Halojenli aminler
RCOO [•]	Organik peroksit radikali	HOCl	Hipokloröz asit

Hidrojen peroksit (H₂O₂): Oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya non-enzimatik dismutasyonu tepkimelerinde bir elektron ile indirgenmesi sonucu meydana gelir. Aslında yapısında paylaşılmamış elektronu yoktur ve bu yüzden radikal özellik göstermez ve reaktif bir tür değildir. Ancak ortamda demir, bakır gibi metal iyonları var ise onlarla girdiği tepkimelerden hidroksil radikali oluşabilir. Bu yüzden hidroksil öncülü olarak davranması hidrojen peroksiti oksitleyici bir tür yapar (60, 62, 64).



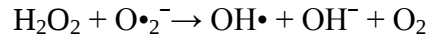
Singlet (O₂): Yapısında eşleşmemiş elektronu yoktur. Fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlatabilme özelliği vardır. Bu yüzden serbest radikal sınıfına dâhil edilir. Singlet O₂, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabilir ya da süperoksit radikalının dismutasyonu veya hidrojen peroksitin, hipoklorid (HOCl) ile reaksiyonu sonunda da oluşabilir (60, 67). Singlet oksijen, in vivo ve in vitro olarak bitkilerde ışığa maruz kalmış kloroplastlarda, memelilerde ise göz retinası ve lenslerinde oluşur (60).

Süperoksit (O₂^{•-}) radikalleri: Hücrelerde indirgenmiş elektron taşıyıcılarının oksidasyon sonucu oksijen molekülüne bir elektron vermesiyle bu radikal oluşur.



Süper oksit oluşumu, elektron taşıyıcısının durumuna ve ortamdaki oksijenin miktarına bağlıdır. Aslında kendisi zayıf bir oksidan olan süper oksit radikali tek başına önemli hücre hasarlarına yol açmaz. Fakat sebep olduğu bir dizi reaksiyonla oksidatif strese yol açabilir (60).

Bu reaksiyonların en önemlilerinden birisi Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda süper oksit ve H_2O_2 demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan hidroksil ($OH\bullet$) radikalini oluşturmaktadır.



Bu reaksiyon sonucu oluşan hidroksil radikali ($OH\bullet$) reaktif olup, hücrede önemli hasarlara sebep olurlar. Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde süperoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$) oluşur. Bu radikalın en önemli kaynağı nötrofiller, monositler ve makrofajlar gibi fagositik hücrelerdir. Bu hücrelerin gerek yabancı partiküller veya immün komplekslerle etkileştiklerinde veya solunum ile parçalandıklarında bu radikal oluşur. Süper oksitlerin çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve O_2 oluştururlar (60, 67).

Hidroksil radikali ($OH\bullet$): En aktif ve en toksik oksijen radikali olup, üretildiği her yerde birçok molekül ile reaksiyona girer. $OH\bullet$ radikali ortamdaki her molekülle reaksiyona girer. Bütün bu tepkimeler, $OH\bullet$ radikalının paylaşılmamış elektron içeren dış yörüngesindeki elektron alma ilgisinden doğar. Hidroksil radikalının bilinen en önemli hücre hasarı hücre zarın da oluşturduğu lipid peroksidasyonudur. $OH\bullet$ radikalının hücre zarındaki başlıca hedefi yağ asitleridir. Çünkü hücre zarı su içermez. Zarın ana maddesi olan lipidlerin peroksidasyona uğraması zarın geçirgenliğini artırarak doğal yapısını bozarak hücre ölümüne sebep olur (60, 67).

Nitrik Oksit ($NO\bullet$): Nitrik oksit renksiz ve son derece toksik bir gazdır. $NO\bullet$ serbest radikal yapısında olduğundan dolayı yarı ömrü çok kısadır. Ancak $NO\bullet$ lipofilik özellikte olduğundan, oksijensiz ortamda oldukça stabildir (68, 69).

Diğer taraftan $NO\bullet$ düşük yoğunluklarda iken toksik değildir. Birçok önemli fizyolojik işlevin gerçekleşmesinde rol alır. Havadaki $NO\bullet$ oksijenle oksitlenerek çok kısa sürede nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturur. Reseptörden bağımsız hücre membranından kolayca difüzyonla geçebilecek özelliktedir. Bu özellik $NO\bullet$ 'in açık formülünde görülen

çiftlenmemiş elektronu, azot ve oksijen atomları üzerinde yer değiştirerek ‘rezonans stabilite’ den kaynaklanır (70, 71).

NO vasküler kas işlevinin düzenlenmesi, renal sodyum salgılanması, arter kan basıncının ayarlanmasında görev alır (72). Bunun yanında trombositlerin agregasyon ve adezyonunu, monosit ve lökositlerin endotele adezyonunu, düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder. NO, süper oksit radikallerin vasküler üretimini azaltarak düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunun bir inhibitörü olarak da iş görür (73). Nitrojen oksit türevlerinden birisi olan NO radikali endojen bir madde olarak sentezlenmektedir. NO sentezi bazen bir stimülatörün bir reseptöre bağlanması sonucunda, bazense nöronlarda sinirsel uyarıya cevap aşamasında oluşturulur (74, 75)

NO düz kas, endotel hücresinde ve diğer birçok memeli hücresinde L-arjinin aminoasidin guanido azotunun, oksitlenmesi sonucu, nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan bir enzimi aracılığı ile sentez edilir. Sentez için nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), kalmodulin, oksijen ve dört kofaktöre ihtiyaç vardır. Bunlar hem, flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve tetrahidrobiyopterin (BH4) dir (76).

Nitrik oksit sentaz’ın (NOS) üç farklı izoenzimi bulunmaktadır.

1- Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS):

Esas olarak sinir sisteminde bulunmakla beraber başka dokularda da tespit edilmiştir. Merkezi sinir sisteminde sinir sisteminde nöromodülatör olarak görev yapar. Presinaptik uçtan salgılanan glutamat’ın etkisiyle (glutamat reseptörlerine bağlanır), postsinaptik uçtaki hücrenin NOS’u aktive edilir ve oluşan NO ile hedeflenen etki oluşur. Sinapsların şekillenmesine yardım eder. Koku alma, görme, ağrıyı algılama ve hafıza oluşması gibi fonksiyonlarda rol alır. Periferik sinir sisteminde Non-adrejenik, Non-kolinerjik sistemde nörotransmitter olarak görev alır (77, 78, 79, 80).

2- Endotelial Kaynaklı Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) :

İlk olarak vasküler endotel hücrelerinde tanımlanmıştır. Yapısal olarak kalsiyum iyonuna bağımlıdır. Düz kasların gevşemesini sağlayarak kan basıncını, kan akış hızını ve dolayısıyla kalp kasılmasını düzenleyen bir etki gösterir (80, 81, 82).

3- İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS):

Özellikle makrofaj (monosit, nötrofil, hepotosit ve diğerleri) ve damar endotel hücrelerinde sentezlenmektedir. Endotoksin ve sitokinler (1L-I, TNF, IF- γ) tarafından indüklendiğinde daha uzun sürede ve büyük miktarda NO üreten, Ca^{+2} 'den bağımsız bir sistemdir. Aktivasyonu DNA düzeyinde kontrol edilir (83).

Bakteri lipopolisakkaritleri ve IF- γ veya yüksek yoğunlukda lipopolisakkaritle uyarılan makrofajlar çok miktarda NO üreterek yabancı hücrelerde sitotoksik etki meydana getirirler (84).

2.4.1. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller hücrelerde normal metabolik faaliyetler sonunda açığa çıktığı gibi; organizmanın oksitleyici özellik taşıyan ajanlara, iyonize edici radyasyona ve serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiyotiklere maruz kalmasıyla da oluşurlar. Aerobik organizmalarda serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Canlılığın devamı için bu oksijen radikallerine de ihtiyaç vardır. Pek çok enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyon için oksijen radikallerine ihtiyaç vardır. Ancak radikallerin yapıları ve etkili oldukları yerlere göre hedef hücreler önemli bir risk altındadır. (61, 62).

Genel olarak serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen serbest radikal kaynakları olmak üzere iki ana başlık altında incelenir (Tablo-2.2.) (85, 86).

Tablo 2. 2: Serbest radikal kaynakları

Eksojen Serbest Radikal Kaynakları	Endojen Serbest Radikal Kaynakları
Aktive Olmuş Fagositler	Küçük Moleküllerin Oksidasyonu
Anti Neoplastik Ajanlar	Enzimler ve Proteinler
Radyasyon	Mitokondriyal Elektron Transportu
Alışkanlık Yapan Maddeler	Endoplazmik Retikulum Elektron Transportu
Çevresel Ajanlar	Nükleer Membran Elektron Transportu
Stres	Peroksizomlar
	Plazma Membranı

2.4.2. Doku Hasarında Serbest Radikallerin Rolü

Reaktif oksijen ve azot türleri direk ya da dolaylı olarak hücresel makromoleküller de geçici ya da kalıcı hasara yol açmaktadır. Böylece, oksidatif stres hasarları oluşur. Serbest radikallerin en önemli hedefleri organik moleküller özellikle lipitler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Nükleik asit, protein ve lipit gibi hücresel makro moleküller üzerinde oksidatif hasarı kanser dâhil birçok hastalığın oluşumunda sorumlu tutulmuştur. Ancak genelde serbest radikallerin karşılaştıkları ilk yapı hücre zarlarındaki lipit bileşenleridir. Bunun yanında Hidroksil ($\text{HO}\cdot$), süperoksit ($\text{O}_2\cdot^-$) gibi reaktif oksijen türleri ve hidrojen peroksit (H_2O_2), özellikle DNA üzerinde, baz değişikliği (modifikasyon), zincir kırılmaları veya DNA-protein çapraz bağ kırıklarına sebep olabilmektedir (58, 64, 88, 89). Serbest radikallerin birçok bileşik üzerinde etkisi vardır (Tablo-3) (87).

2.4.2.1. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler, çoklu doymamış yağ asitlerine nazaran serbest radikallerinden daha az etkilenirler. Serbest radikallerin miktarı çok fazla ve yoğun olmadığı sürece genelde proteinlere çok hasar vermezler. Aynı zamanda proteinlerin serbest radikallerin yıkıcı özelliklerinden etkilenme dereceleri içerdikleri amino asit bileşimlerine bağlıdır. Serbest radikallerden etkilenen amino asitler içerisinde de doymamış bağ veya kükürt içerenlerdir. Çünkü bu yapıların serbest radikallere ilgisi yüksektir. Bu yüzden içeriğinde triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerden kolay etkilenirler. Bu amino asitler serbest radikallerle etkileşip oksidasyona maruz kaldıklarında, içerisinde bulundukları proteinlerin parçalanmasına, çapraz bağ oluşumuna veya proteinlerin proteolitik parçalanmaya yatkın hale gelmesine sebep olurlar (58, 64).

Tablo 2.3: Serbest radikallerin etkilediği bileşikler ve sonuçları.

Etkilenen Bileşikler	Sonuçlar
Doymamış ve kükürt içeren aminoasitler	Protein denatürasyonu Çapraz bağlanma Enzim inhibisyonu Organ ve hücre geçirgenliğinde değişim
Nükleik asit bazları	Hücre gelişiminde değişimler

	Mutasyon
Karbonhidratlar	Hücre yüzey reseptörlerinde değişim
Doymamış lipitler	Kolesterol ve yağ asitlerinin oksidasyonu
Kofaktörler	Nikotinamit ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma Askorbat ve porfirin oksidasyonu
Antioksidanlar	α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidanların aktifliğinde azalma
Proteinler	Denatürasyon Peptit zincirlerinde kırılmalar
DNA	Baz modifikasyonu Zincir kırılmaları
Hyaluronik asit	Sinoviyal sıvının vizkositesinde değişim

2.4.2.2. Serbest Radikallerin DNA' ya Etkileri

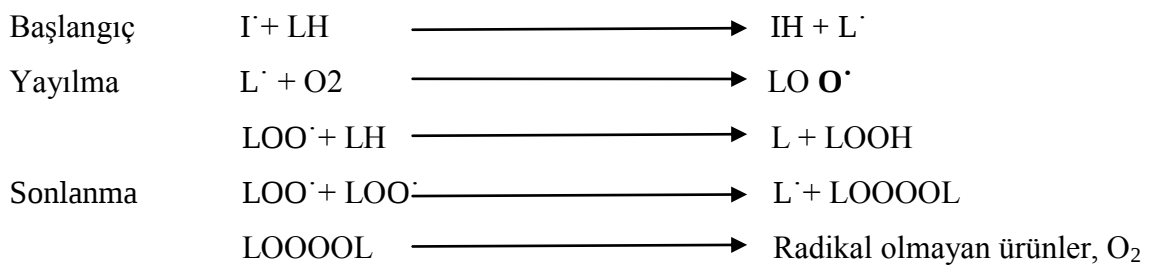
Sağlığa zararlı oksijen radikallerinin DNA üzerindeki hasarları doğrudan veya dolaylı olabilir. Doğrudan hasar, H_2O_2 ' den oluşan hidroksil radikalının ($OH^\cdot$) DNA' ya çok yakın bir yerde oluşması ve onu bir yerinden kırması şeklinde gerçekleşir. Dolaylı olarak ise hücre içi sıvıda serbest Ca^{+2} ' in artışı proteazları aktive edebilir. Nükleazların aktivasyonu sonucu DNA kırıkları oluşur. Serbest radikaller özellikle malondialdehit, hücre çekirdeğine ulaşarak başlıca DNA ile tepkimeye girmektedir. Bu tepkime sonucunda nükleik asitlerin bazıları değişmekte veya DNA zincirlerinde kopmalar oluşmaktadır. Bu bozukluklar ise en sonunda kromozomların yapısında değişikliklere dolayısıyla da sitotoksitesiye neden olmaktadır. Bugüne kadar oksidatif olarak değişmiş yaklaşık 20 tip DNA saptanmıştır. Sonuçta mutajenik ve kanserojenik etkiler gözlenmektedir (60, 63).

2.4.2.3 Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri (Lipit Peroksidasyonu)

Hücre zarları, normal fonksiyonlarını gerçekleştirebilmek için çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) açısından oldukça zengindir. Serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyolojik moleküller lipitlerdir. Özellikle hücre zarındaki kolesterol ve PUFA' nın doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. PUFA' nın oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Bu süreç zincirleme olarak kendiliğinden devam eden bir

reaksiyondur. Lipit peroksidasyonu esnasında reaksiyonların kendi kendini devam etmesi oldukça zararlıdır. ROT' nin hücre zarında oluşumuna sebep olduğu lipit serbest radikalleri ($L\cdot$) ve lipit peroksit radikallerinin ($LOO\cdot$) oluşması, hücre hasarının en önemli sebebidir (60, 90, 67).

Lipit peroksidasyonun sebep olduğu hasarlar arasında; zar lipit yapısındaki değişimler ve bunlara bağlı zar fonksiyonlarında bozulma, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine yıkıcı etkisi, oluşan son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi birçok farklı etkiler sıralanabilir (91, 92, 93). Lipit gibi bir biyolojik molekülden bir hidrojen atomu ayrıldığında geride kalan molekülde eşleşmemiş bir elektron kalır. Serbest radikaller bir hidrojen kopararak biyolojik molekülleri bu şekilde etkilerler. Bu radikallerden en tehlikelilerinden biriside hidroksi radikalidir ($OH\cdot$). Lipit peroksidasyonu da bu şekilde başlayan bir reaksiyondur. Başladıktan sonra reaksiyonlar kendi kendine otomatik olarak devam eder (64, 67, 91). Serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna "non-enzimatik lipit peroksidasyonu" denir. Plazma membranı ve subsellüler organel lipit peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Lokal olarak H_2O_2 fenton reaksiyonu sonucu ($OH\cdot$) oluşması zincir reaksiyonunu başlatabilir. Lipit peroksidasyonu başlama ile birlikte 3 basamak içerir ve kendi kendine devam eder (Şekil-1) (94).



Şekil 2.1:Lipit peroksidasyonun basamakları.

1. Başlama basamağı; Hidroksil radikali ($HO\cdot$), yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının (H) çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipit radikali ($L\cdot$) niteliği kazanmasıyla başlar.
2. İlerleme basamağı; Lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipit radikallerinin, O_2 ile etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikali ($LOO\cdot$) oluşur. Lipit Peroksit radikalleri ($LOO\cdot$), zar yapısındaki diğer PUFA'yı etkileyerek yeni lipit

radikallerinin oluşumuna yol açarken, bazıları ise açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak Lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşürler. Bu tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipit molekülünün yapısını etkiler ve parçalanmasına yol açar. Bu parçalanma ve dönüşüm esnasında yeni radikaller veya aldehit son ürünler ortaya çıkar. Malondialdehit (MDA) bunlardan biridir.

3. Sonlanma basamağı; Zincir reaksiyonu, antioksidanlar tarafından gerçekleştirilen radikallerin birbiri ile tepkime vermesiyle sonlandırılabilir (67). Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin, aldehit, diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile son bulur (99, 100).

Lipitlerin yıkılması sırasında oluşan aldehitler uzun ömürlü olduklarından hücre hasarına neden olurlar. En meşhurları malondialdehit (MDA) dir. MDA, linolenik asit ve araşidonik asit gibi üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda oluşur ve varlığı kan ve idrarda saptanabilir. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipit peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Bu yöntem, lipit peroksit seviyelerinin ölçümünde sıklıkla kullanılmaktadır (95, 96).

MDA konsantrasyonu, tiyobarbitürik asit (TBA) metodu kullanarak plazma ve doku homojenatında test edilerek belirlenebilir. Bu yöntemin temeli; TBA ile MDA ve diğer peroksitler lipit yıkım ürünleri reaksiyona girmesi ve oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm’ de absorbanasının ölçülmesi esasına dayanır (64, 101).

Non-enzimatik lipit peroksidasyonu çok zararlıdır. Doğrudan membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle dolaylı olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Sonuçta doku hasarı ve birçok hastalık oluşur. MDA, DNA’nın nitrojen bazları ile reaksiyona girmektedir. Bu etkiler, MDA’nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. MDA, uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyomoleküle etki ederek geri dönüşümsüz hasarlara yol açmaktadır. Bunun yanı sıra membranın akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktif olmasına ve de Ca^{+2} iyonları üzerine geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır (97, 98)

Serbest radikallerin hücre zar yapısını lipit peroksidasyona uğratması veya kükürt içeren proteinleri okside etmesi sonucu zar geçirgenliği artmakta, zar enzimlerinin aktivitesi

azalmakta ve hücreye dışarıdan Ca^{+2} girişi hızlanmakta ve artmaktadır. Bu artış birçok istenmeyen sonucu doğurmaktadır. Bunlar arasında;

- 1- Fosfolipaz aktivitesi vefosfolipit kaybının artmasına,
- 2- Zar potansiyel farkındaki azalma,
- 3- Proteaz aktivasyonu ile proteolitik etkilerin artması,
- 4- Katabolik enzimlerin aktivitesinde artış,
- 5- Endonükleaz aktivitesi ile DNA 'ınyıkılması sayılabilir (63, 64).

2.5. OKSİDATİF STRES

Serbest radikal molekülleri, onları ortamdan uzaklaştıracak ve etkisizleştirecek antioksidan savunma gücü ile dinamik bir denge içinde bulunduğu sürece organizma için faydalıdır. Bunlardan bazıları;

- 1- Fagositik hücreler mikroorganizmaları ürettikleri serbest radikaller ile öldürürler,
- 2- Apoptozun tetikleyicisi, habercisi ve efektörü olarak da iş görürler,
- 3- Aşırı hücre poliferasyonunu önleyerek homeostaziste görev alırlar,
- 4- İkinci haberci olup transkripsiyon faktörlerini aktive ederler,
- 5- Hücreler arası haberleşmede görev alırlar,
- 6- Hücrenin büyümesini sağlayan olayları düzenlerler,
- 7- Sitozolda ve mitokondride üretilen serbest oksijen radikali, protein sistein kalıntılarının redoksunu düzenleyerek proteinlerin yapı ve işlevinin düzenlenmesinde rol oynarlar (48, 64).

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini göstermeden etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemleri vardır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmez. Buna karşılık savunma azalır ya da bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulup serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren veya azaltan endojen antioksidan enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma zarar görmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ki bu özel duruma oksidatif stres denir (104, 57, 103, 102).

2.6 ANTİOKSİDAN SİSTEM

2.6.1.Tanımı ve Etki Tipleri

Organizmada sürekli serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşur. Ancak bu radikallerin organizmaya zarar vermesi güçlü bir savunma sistemini ile engellenir. Bu yüzden serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması çok önemlidir. Bu denge bozulduğu zaman, serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkar ve çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir (105, 106, 107).

ROT'in oluşumunu ve zararlarını önleyen savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da kısaca “antioksidanlar” denir. In vivo ve in vitro deneyler antioksidanların serbest radikallere karşı koyduğu gösterilmiştir (108, 109, 110).

Antioksidanlar serbest radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücresel bileşenlerdeki karbonhidrat, protein ve lipitlerin oksidasyonu ile sonuçlanacak zararın önlenmesini sağlarlar (111, 112).

Antioksidan etki tipleri dört başlık altında toplanabilir

1. Toplayıcı veya süpürücü etki (scavenging); ROT'ni etkileyerek, onları tutma, süpürme veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine denir.
2. Baskılayıcı etki (guencher); ROT'ne bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif hale dönüştürme işlemine denir.
3. Zincir kırıcı etki (chain breaking); ROT'ni kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kırma şeklindeki etkiye denir.
4. Onarıcı etki (repairing); oksidatif hasar görmüş molekülleri onarırlar (113, 114, 115).

2.6.2 Antioksidan Etki Mekanizması

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tespit edilebilen 6 değişik mekanizma ile gösterirler. Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler. Bu mekanizmalar;

1. Antioksidan maddeler, oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak dokudaki oksijen miktarını azaltabilir.

2. Peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler. Bunu hidroksil (OH•) radikali yapısında yer alan hidrojen atomu ve bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri ortadan temizleyerek yaparlar.
3. Singlet oksijeni baskılayarak veya temizleyerek hücre zar lipidlerini etkileyip peroksit oluşturmalarını önlerler.
4. Peroksitler ile reaksiyona girerek, radikal olmayan ürünlere dönüştürebilirler. Örneğin; Glutasyon Peroksidaz (GPx), peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
5. Metal iyonları ile reaksiyona girip, reaktif grupların lipid peroksitlerden peroksilve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler.
6. Zincir reaksiyon oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilir ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilir ve böylece zincir reaksiyonlarını kırabilirler (114, 116).

2.6.3 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar değişik kriterlere göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir(117).

1) Yapılarına göre

- a)Enzimler
- b)Enzim olmayan protein, küçük moleküller

2) Kaynaklarına göre

- a)Dışarıdan alınan (ekzojen antioksidanlar)
- b)Organizmaya ait olan (endojen antioksidanlar)

3) Çözünürlüklerine göre

- a) Yağda çözünenler
- b) Suda çözünenler

4) Yerleşimine göre

- a)Hücre içinde bulunanlar
- b)Plazma ve diğer ekstraselüler sıvılarda bulunanlar

Endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar vücudun primer savunma sistemleri, lipolitik enzimler, proteolitik enzimler ve DNA tamir yapan enzimler ise sekonder savunma sistemleri olarak isimlendirilir(106).

2.6.3.1.Endojen Antioksidanlar

Bu antioksidanlar hücrede oksijenin metabolize edildiği bölgelerde serbest oksijen radikallerini azaltmak için hızlı ve özel olarak çalışırlar (89, 93).

Endojen antioksidanlar, yapıları, yerleşimleri ve işlevleri çok çeşitlidir (Tablo-4) (118).

2.6.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Sitokrom oksidaz, süper oksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi redoks döngüsünde yer alan enzimler bu gruba dâhildir. Hücre içindeki birincil savunma sistemini oluşturlar (67, 119).

2.6.3.1.1.1.Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi

Oksidazlar, hidrojen alıcısı olarak oksijeni kullanırlar ve bir substrattan hidrojenin ayrılmasını sağlarlar. Sonuçta su veya hidrojen peroksit oluşumunu sağlarlar. Elektronları alan oksijen moleküler haldedir ve oksijen atomları okside ürün yapısında yer almaz. Sitokrom oksidaz, bakır atomu içerir. Mitokondrinin iç zarında yer alan elektron transport zincirinin (ETS) son üyesidir. Substrat moleküller dehidrogenazlarla okside olduklarında ortaya çıkan elektronları, son elektron alıcısı olan oksijene aktarırlar (120).

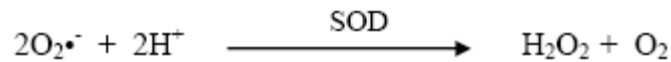
Tablo 2.4: Endojen antioksidanlar

Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	İşlevi
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksiti nötrölize eder
Süperoksit Dismutaz	CuZn, Mn SOD	Mitekondri, Serum	Süperoksit'i H ₂ O ₂ 'ye çeviri
Katalaz	Hemaprotein	Peroksizomlar	Hidrojen peroksiti nötrölize eder
Glutayon Peroksidaz	Selonoprotein	Sitozol, Mitekondri	Hidrojen peroksitleri indirger
α -tokoferol	Yağda çözünen vitamin	Membranlar, Ekstraselüler ortam	Peroksidasyonu azaltır
β -karoten	Vit-A prekürsörü	Hücre membranı	Peroksil temizleyicisi

Glutatyon	Tripeptit	İntraselüler ortam, alveoller	Redoks substratı
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, Vitamin C'yi korur
Sistein	Amino asit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikal giderici
Bilirubin	Hemaprotein ürün	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Serüloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksiti H ₂ O ₂ 'ye çevirir
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı
Askorbik asit	Suda çözünen vitamin	Hücre içi ve dışı sıvılar	Vitamin E'yi rejenere eder

2.6.3.1.1.2. Süperoksit Dismutaz

Bu enzim süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler.



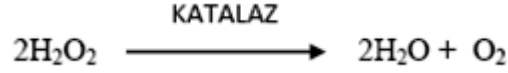
Süperoksit radikalinin ortamdan temizlendiği bu tepkimeye genel olarak dismutasyon tepkimesi denir. Bu tepkimeler ile SOD iki süperoksit radikalini kendi aralarında etkileştirerek H₂O₂ ve O₂ dönüştürür. Bu yolla da lipid peroksidasyonunu önler (67, 89).

Hücre içerisindeki birçok bölümlerde süperoksit düzeylerini sürekli kontrol eder. Normal de mitokondrilerde bulunan sitokrom sistemi, hücre içindeki birçok yapının oksidanların zararlı etkilerinden korunmasını sağlar. Fakat yetersiz kaldığı ve oksidatif stresin arttığı durumlarda, SOD ve diğer doğal enzimler devreye girer ve organizmada aktivitelerini artırarak koruyucu etkinliklerini sürdürürler (67).

2.6.3.1.1.3. Katalaz

Katalaz enzimi hidrojen peroksidi hızlı bir dönüşüm hızıyla su ve moleküler oksijene dönüştürür. Hücre dışında yer almaz. Peroksizomların içinde yer alır. Yoğun olarak

karaciğer hücrelerinde yer alsa da kan, kemik iliği ve böbrek hücrelerinde de bulunur. Katalaz enzimi, oksidazların etkisi ile oluşan toksik H_2O_2 'nin direk olarak suya çevrilmesini sağlar.

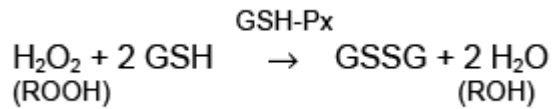


Lipit hidroperoksitlere etki etmez. Ancak hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki eder. Böylece ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlar. H_2O_2 'nin vücutta birikimini engelleyerek organik moleküllerin H_2O_2 'nin yıkıcı etkisinden korunmasını sağlar (67, 121).

Düşük H_2O_2 yoğunluklarda diğer peroksidaz enzimleri görev alır. Ancak kanser, diyabet, retinopati, arteroskleroz, iskemik reperfüzyon hasarı, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanma gibi birçok çok patolojik olayda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli enzimi katalazdır (55).

2.6.3.1.1.4. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz, tetramerik yapıda olup, dört selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Hidrojen peroksitleri indirger. Birbirine kenetli enzim sistemi GPx, GSH-Rd ve GSH harcayarak H_2O_2 'nin redüksiyonunu katalizler. Sonuçta glutasyon yükseltgenerek glutasyon disülfite (GSSG) dönüşür (55).



2.6.3.1.2. Enzimatik Olmayan (Non-Enzimatik) Antioksidanlar

Hücrelerde birçok enzimatik olmayan antioksidan da vardır. Bu sistem enzimatik antioksidan sistemlerinin işlevini tamamlayıcı etki gösterir. Özellikle ortamda reaktif oksijen türleri aşırı birikmiş ise onları temizlerler ve enzimlerin in vivo ortamda modülasyonunu sağlayarak oluşan oksidatif stresten hücreleri korurlar (122).

Bu antioksidanların iki grubu vardır. Bunlar; lipit fazda bulunanlar ve sıvı fazda bulunan antioksidanlardır. Lipit faz antioksidanlarından olan α -tokoferol, dokudaki E vitamininin en fazla miktarda bulunan formudur. Yaklaşık E vitamininin %80-%90'ını α -tokoferol oluşturur. Yağda çözünen ve zincir kırıcı bir antioksidandır (64, 107). α -

tokoferol, hücre zarına bağlı olan enönemli antioksidanlardan birisidir. En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı zar lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır (57). Bir diğer lipid faz antioksidanı olan “ β -karoten” dir. A vitamininin öncü maddesi olup, triplet molekülleri ve singlet oksijeni süpürerek, serbest radikalleri engeller ve hücreleri oksidatif strese karşı korur. Sıvı faz antioksidanların en güçlüsü suda çözünen askorbik asittir. Lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok eder ve lipidleri oksidasyona karşı korur (67, 121).

Melatonin de sıvı faz, lipofilik yapıya sahip çok güçlü bir antioksidandır. Hidroksil radikalini ortadan kaldırır. Yapısından dolayı kolayca kan beyin bariyerini geçerek antioksidan aktivitesini gösterebilir. Ancak melatonin yüksek dozları ve uzun süreli kullanımı toksik etki yapar. Pro-oksidan aktiviteye sahip değildir (64). Melatonin fibroblast hücrelerin de proliferasyonu ve kollajen sentezini azaltabilir. Bunun yanında dolaylı olarak GPx, SOD ve GSH gibi potansiyel antioksidan düzeylerini artırarak da etkisini gösterir (123).

Ürat, lipid radikalleri üzerine etkisi olmayan, sıvı faz antioksidandır. Plazmada normal yoğunlukta süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler. C vitamini oksidasyonunu engelleyici etkisi de bulunmaktadır. Sistein, süperoksit ve hidroksi radikali toplayan bir antioksidandır. Seruloplazmin, ferrooksidaz aktivitesine sahiptir. 2 değerlikli ferro demiri, 3 değerlikli ferri demire okside eder. Seruloplazminin, ferrooksidaz aktivitesi, demir iyonun sebep olduğu lipid peroksidasyonunu engeller. Transferrin, glikoprotein yapılı bir antioksidandır. Plazmada bulunur ve serbest demiri bağlayarak, demirin lipid peroksidasyonunu başlatmasını önler. Ferritin, dokudaki demiri bağlayarak transferrin gibi aktivite gösterir. Albümin, vücuttaki birçok görevinin yanında bir de bakır iyonunu bağlama yeteneği vardır. Böylece bakır iyonuna hidroksil radikali oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu engeller. Bilirübin, süperoksit ve hidroksil radikallerini toplar. Glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girer ve hücreleri oksidatif hasarlara karşı korur. Özellikle proteinlerdeki sülfidril (-SH) gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyonunu önler. Böylece yapısında sülfidril grubu taşıyan işlevsel proteinlerin ve enzimleri inaktivasyondan korur. Yabancı bileşiklerin deodoksifikasyonunu sağlar (67).

2.6.3.2.Eksojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar gibi eksojen kaynaklı antioksidanlar da primer savunma sisteminde yer alırlar (124). Genel olarak eksojen antioksidanlar, vitaminler ve ilaç olarak alınan antioksidanlardır (Tablo-5) (66).

Tablo 2. 5: Eksojen Antioksidanlar

1. Vitamin eksojen antioksidanlar
a-tokoferol (vitamin E),
β -karoten,
Askorbik asit (vitamin C),
Folik asit (folat).
2. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar
Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
Rekombinant süperoksit dismutaz
Trolox-C (vitamin E analogu),
Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Pxaktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
Nötrofil adezyon kuvvet inhibitörleri
Sitokinler (TNF ve IL-1)
Barbitüratlar
Demir şelatörleri.

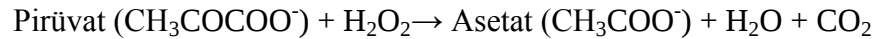
2.7. ETİL PİRÜVAT

Organizmalar yaşamları için gereken enerjiyi genel olarak yükseltgenme ve indirgenme (oksidasyon-redüksiyon) reaksiyonlarından elde ederler. Bu reaksiyonlarında genel olarak iki yolu vardır. Bunlar glikoliz ve trikarboksilik asit (TCA) döngüsüdür. Glikoliz reaksiyonları sonucunda 3 karbonlu piruvik asit (CH_3COCOOH) oluşur. Bu madde basit bir α -keto-mono karboksilik asittir. Fizyolojik ortamda piruvik asit, çoğunlukla anyon formu pirüvat olarak hücre içi ve hücreler arası sıvıda yerini alır. Pirüvat sadece glikolizin reaksiyonlarının son ürünü değil aynı zamanda TCA döngüsünün başlangıç substratı olduğu için önemli bir ara metabolittir. TCA döngüsüne katıldığında ise hücre yaşamı için gereken NADH ve ATP üretir (125, 126). Etil pirüvat, piruvik asitin etil

esteri olan bir maddedir. Renksiz ve suda çözünebilir bir maddedir. Genel özellikleri arasında, kimyasal formülü; $C_5H_8O_3$, moleküler ağırlığı; 116,12, dansitesi: 1.060 - 1.062, viskozitesi: 1.186 cp gibi özellikler sayılabilir (125, 127).

Pirüvat bilindiği gibi sadece doğal bir enerji sağlayıcısı değil aynı zamanda ROS'a karşı vücudu koruyan antioksidan bir maddedir. Pirüvat bu antioksidan etkiyi doğrudan veya dolaylı yollardan gerçekleştirir. Doğrudan antioksidan etkiyi hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipid peroksitlerini ($LOO^\cdot$) non-enzimatik bir reaksiyonla etkisizleştirerek gösterir. Dolaylı etkisini ise $NADH/NAD^+$ ve $GSH/GSSG$ oranlarını artırarak gösterir (125).

Pirüvatın sadece H_2O_2 'i değil aynı zamanda hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve peroksinitrit ($ONOO^\cdot$) radikallerini de temizlediğine dair de bulgular mevcuttur (128). Vücut içerisinde üretilen pirüvatı kullanarak H_2O_2 'nin temizlenmesi, özellikle hızlı çoğalan hücrelerde oksidatif strese karşı hücre savunmasında anahtar role sahiptir (9, 12).



Pirüvat solüsyonlarda durağan bir yapıya sahip değildir. Aköz çözücülerde çözündüğünde kendiliğinden kondansasyon ve siklizasyon reaksiyonlarına girer ve bir kısmı zehir etkili olabilen değişik ürünlere dönüşür (130). Bu toksik etkili ürünlerden birisi parapirüvattır (4- hydroxy-4-methyl-2-ketoglutaric acid). Bu madde metabolik bir zehir potansiyeline sahiptir. TCA döngüsünde çok önemli bir role sahip olan 2-ketoglutarik asit dehidrogenaz enzimini inhibe eder (131)

Varma ve ark. (132) pirüvatın, kalsiyum ve potasyum içeren dengeli bir solüsyonda (Ringerli Etil Pirüvat Solüsyonu) etkinliğini kaybetmeden ve bozulma göstermeden uygulanabilir olduğunu bildirmişlerdir.

Etil pirüvat ortamdaki hidrojen peroksiti non-enzimatik dekarboksilasyon reaksiyonu ile asetat, karbon dioksit ve su formuna dönüştürerek etkisizleştirir. Etil pirüvatın aynı zamanda hidroksil radikallerini de ortamdan temizlediği gösterilmiştir (133-135).

Etil pirüvat güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olarak, bunların sebep olduğu doku hasarını önleme potansiyeline de sahiptir (11, 13). Yapılan çalışmalarda ringerli etil pirüvat solüsyonunun mezenterik iskemi ve reperfüzyon hasarı ile gelişen intestinal mukozadaki yapısal ve fonksiyonel hasarı azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca hemorajik şokla ratlarda oluşturulan mukozal yaralanmayı da azaltarak sağ kalımı artırmaktadır. Etil pirüvatın karaciğer nekroz ve apoptozisini azaltarak iskemi ve reperfüzyon hasarını

iyileştirdiği gösterilmiştir Ayrıca pirüvat içeren solüsyonların galaktoz veya diyabetin indüklediği katarakt oluşumunda, inme ve hemorojik şokta serbest radikallerin aracılık ettiği doku hasarında da önleyici özeliği gösterilmiştir (15, 136, 137).

3-GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

1. Spectrophotometer (Shimatzu UV-1700 Pharmaspec)
2. Makro santrifüj (Heraus)
3. pH metre (İnolab WTE)
4. Vorteks (Velp scientifica)
5. Hassas terazi (Sortorius)
6. Distile su cihazı (millipore)
7. Su banyosu (Nüve)
8. Otomatik pipet (Scorex)
9. Quartz küvet
10. Cam tüp (5-10 ml)
11. Ependorf tüp (1.5 ml)
12. Vida kapaklı tüp (10 ml)
13. Mezür (100 ml)
14. Balon joje
15. Erlen mayer
16. Cam pipet

17. Sahli hemoglobinometresi

3.1.1. Kimyasal maddeler ve kitler

1. Etil Pirüvat (Sigma-Aldrich, Fluka, 15960)
2. Ringer laktat Solüsyonu (Polifarma, 500 cc)
3. Karbon tetraklorür (Merck 102222)
4. Bilirubin test kiti (Chema, Italy)
5. Total protein test kiti (Chema, Italy)
6. Glikoz test kiti (Chema, Italy)
7. Trigliserit test kiti (Chema, Italy)
8. Kolesterol test kiti (Chema, Italy)
9. Aspartat amino transaminaz (AST) test kiti (Chema, Italy)
10. Alkalen fosfataz (ALP) test kiti (Chema, Italy)
11. Alanin amino transferaz (ALT) test kiti (Chema, Italy)
12. Triklorasetik asit (TCAA) (Merck 100810)
13. Tiyobarbitürik asit (TBA) (Merck 108180)
14. n-butanol (Merck 100988)
15. Glutasyon reduktaz (Sigma G-63664)
16. Xsantin oksidaz (Sigma X-1875)
17. Nitroblue tetrazolium (Sigma N-6876)
18. t-bütil hidroperoksit (Fluka 19995)
19. Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (Merck 814696)
20. Sülfanilamid (Merck 11799)
21. N-naftiletildiamin dihidroklorür (Merck 106237)
22. Ortho fosforik asit (Merck 100563)
23. Disodyum hidrojen fosfat (Merck 106580)
24. Redükte glutasyon (Merck 104090)

25. Sodyum azid (Merck 106688)
26. Glutasyon redüktaz (Sigma G 3664)
27. Nikotinamid adenin di nukleotid fosfat tetra sodyum tuzu NADPH+H (Sigma N 6505)
28. t-butil hidroperoksit (Sigma Aldrich 458139)
29. Ksantin (Sigma X0626)
30. Sodyum hidroksit (Merck 106462)
31. Amonyum sülfat (Merck 101217)
32. Sodyum karbonat (Merck 106398)
33. Sığır albumini (Sigma A4503)
34. Bakır klorit dihidrat (Merck 102733)
35. Potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104873)
36. Sodyum klorür (Merck 116224)
37. Potasyum klorür (Merck 104935)
38. Hidrojen Peroksit (Merck 108600)
39. Potasyum siyanid (Merck 104965)
40. Potasyum ferrisiyanür (Carlo Erba 360257)

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hayvan Materyali

Tez çalışması için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığının onayı alındı (Karar No:11/48). Araştırmada, Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırmalar Merkezinden temin edilen 280-320 g ağırlığında 40 adet erkek Sprague Dawley ırkı sıçan kullanıldı. Hayvanlar 20-25 °C’de ve 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda tutuldu. Sıçanlar her grupta 10 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılarak polietilen kafeslere yerleştirildi. Yem ve su *ad libitum* olarak verildi.

3.2.2. Gruplar

Çalışmada, her bir grupta 10 hayvan olmak üzere 4 grup oluşturuldu.

Kontrol grubu: 1 ml ringer laktat solusyonu 3 kere (0., 1,5. ve 6. saatte) periton içi uygulandı.

CCl₄ grubu: 1.6 g/kg CCl₄ periton içi yolla tek doz verildikten sonra 1.5 ve 6. saatte 1 ml ringer laktat verildi.

Etil pirüvat grubu: 40 mg/kg dozda etil pirüvat ringer laktat ile 1 ml'ye tamamlanarak 3 kere (0., 1,5 ve 6. saatte) periton içi verildi.

Etil pirüvat + CCl₄ grubu: Tek doz 1.6 g/kg CCl₄ uygulamasından 30 dakika önce ve 1 ve 6 saat sonra 40 mg/kg dozda etil pirüvat ringer laktat ile 1 ml'ye tamamlanarak periton içi yolla verildi.

3.2.3. Kan Örneklerinin Toplanması, Plazma, Serum ve Eritrosit Hemolizatının Hazırlanması

Son enjeksiyonlardan 24 saat sonra bütün gruplardan ketamin (Ketalar flk, Eczacıbaşı)-ksilazin (Rompun flk, Bayer) (80-10 mg/kg) anestezisi altında kalpten antikoagulanlı ve antikoagulansız tüplere kan alındı.

Alınan antikoagülansız ve antikoagulanlı kanlar 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serum, plazma ve eritrositlerine ayrıldı. Plazması alınan tüplerdeki eritrositler üzerine eşit oranda tuzlu fosfat tampon çözeltisi ilave edilmişti. Tüpler hafifçe çalkalandıktan sonra, 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek üst kısmı atıldı ve bu işlem 3 kez tekrarlandı. En son aşamada yıkanmış eritrosit tabakasından 0,5 ml alınarak üzerine eşit hacimde tuzlu fosfat tampon çözeltisi ilave edilerek hafifçe karıştırıldı (140). Numuneler analiz edilinceye kadar -80 °C'de saklandı. Analize başlamadan önce, numuneler çözdürüldükten sonra üzerlerine 1/5 oranında soğuk deiyonize su ilave edilerek vorteks'te karıştırılarak hemolizat elde edildi. Elde edilen eritrosit hemolizatında hemoglobin düzeyi ile antioksidan enzimlerden SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri belirlendi.

Alınan plazma örneklerinde lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA ve NO düzeyleri ölçülürken serumda ise total protein, kolesterol, trigliserit, glikoz, bilirubin miktarları ile ALP, AST ve ALT enzim aktiviteleri test kitleri spektrofotometrik olarak belirlendi.

3.2.4. Biyokimyasal Analizler

3.2.4.1. Eritrosit Hemoglobin Düzeyi Ölçümü

Hemolizatta ferrosiyanomethemoglobin metoduyla ölçülmüştür (139). Drabkin ayıracından (0,2 g potasyum ferrisiyanür, 0.05 g potasyum siyanür ve 1 g sodyum hidrojen karbonat tartıldı ve hacmi deiyonize suyla 1 litreye tamamlanarak hazırlandı) 6 ml alındı üzerine 40 µl hemolizat ilave edildi ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra Drabkin ayıracına karşı spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okundu.

3.2.4.2. Plazma Malondialdehit Düzeyinin Belirlenmesi

MDA ölçümü tiyobarbitürik asit (TBA) ile MDA'in asit ortamda pembe renkli bir ürün oluşturması esasına dayanan Yoshioka ve arkadaşlarının yöntemine göre spektrofotometrik olarak yapıldı (140). Analizlerde 0.5ml numune vida kapaklı cam tüpe alındı ve üzerine 2.5 ml %20' lik triklorasetik asit (TCA) ve 0.5 ml % 0.67'lik TBA ilave edildi. Kör hazırlamak için kör tüpüne 3.0 ml TCA konarak aynı miktarda TBA ilave edildi. Kapakları sıkıca kapatılan tüpler 90 C'lik su banyosuna alındı ve 30 dakika tutuldu. Sürenin sonunda tüpler buzlu soğuk su içerisinde soğutuldu. Tüplerin kapakları açıldı ve 4ml n-butanol ilave edilip 30 sn vortekslendi, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjü takiben üstte kalan n-butanol tabakası küvetlere alınarak 535nm'de köre karşı absorbans ölçümleri yapıldı. Absorbans değerleri 1.1.3.3 tetraetoksipropanla hazırlanmış standart eğrisi yardımıyla nmol/ml cinsinden hesaplandı.

3.2.4.3. Plazma Nitrik Oksit Düzeyinin Belirlenmesi

Plazma NO düzeyi diazotizasyon (Griess reaksiyon) yöntemiyle endirekt olarak ölçüldü (141). Bu yöntemle göre; H_3PO_4 'ün %85'lik çözeltisinden %2.5'luk çözeltisi suda hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiye %1 sülfanilamid ve %0.1 N-(1-naftil) etilendiamin (NEDD) ilave edildi. Serum örneklerinden 1.5 ml alındı ve üzerine 0.75 ml sülfanilamid ve 0.75 ml NEDD çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda okundu.

3.2.4.4. Eritrosit Katalaz Aktivitesinin Ölçümü

Eritrosit katalaz aktivitesi Luck tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntemle göre yapıldı (142). Metodun prensibi uygun tampon içinde bulunan hidrojen peroksitin numunede bulunan katalaz enziminin etkisi ile yıkılması sonucu bu maddenin 240

nm’de yol açtığı absorbans azalmasının ölçülmesi esasına dayanır. Absorbansta gözlenen azalma hızı katalaz enzim aktivitesi ile orantılıdır.

Analizde fosfat tamponu ve fosfat tamponunda H₂O₂ çözeltisi kullanıldı.

Kör küvete 2.95 ml 50 mmol’lük fosfat tamponu (3, 522 g potasyum dihidrojen fosfat ve 5,796 g disodyum hidrojen fosfat distile suda çözüldü ve bir litreye tamamlandı daha sonra pH’sı 7’ye ayarlandı) konularak üzerine 50 µl hemolizat eklendi. Eş zamanlı olarak numune küvetine ise fosfat tamponunda hazırlanmış 10 mmol/L’lik hidrojen peroksit (100 ml fosfat tamponu üzerine 0.13 ml %35’lik hidrojen peroksit çözeltisi ilave edildi ve bu karışımın 240 nm’deki absorbansı hidrojen peroksitle 0,500’e ayarlandı)’ten 2,95 ml konuldu ve üzerine 50 µl hemolizat ilave edildi. Ölçümler 240 nm’de kör küvete karşı yapılarak sonuçlar k/mg Hb olarak hesaplandı.

3.2.4.5. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Ölçümü

Çalışmada Sun ve arkadaşları tarafından geliştirilen metot kullanıldı (143). Metot; numunede bulunan SOD enzimi tarafından, ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu sonucu oluşan süperoksit radikallerinin ortamda bulunan nitro blue tetrazoliumu indirgemesinin engellenmesi prensibine göre çalışır. Renksiz blue tetrazoliumu iyonu, süperoksit radikali ile indirgendiğinde maksimum absorbansı 560 nm’de veren mavi renkli formazona dönüşür. Bu reaksiyon sırasında, numunedeki SOD aktivitesi ile orantılı olarak bir absorbans düşmesi gözlenir. Analiz için öncelikle tüplere alınan 0,5 ml eritrosit hemolizatu üzerine aynı hacimde kloroform/etanol (3/5 v/v) karışımı ilave edilip karıştırıldı. Tüpler 3000 rpm’de soğutmalı santrifüjde (+4 °C’de) 10 dakika santrifüj edildi ve üstte kalan berrak kısım analiz için kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 500 µl numune ve 2.45 ml SOD reaktif karışımı [SOD reaktifi için 100 ml balon joje içerisine 20 ml ksantin çözeltisi (3 mmol/L), 10 ml EDTA (0,6 mmol/L) çözeltisi, 10 ml NBT (0.15 mmol/L) çözeltisi, 6 ml amonyum sülfat (2 mol/L) çözeltisi ve 3 ml sığır albumini (1 g/L)] katıldı, daha sonra 50 µl ksantin oksidaz çözeltisi (4,7 ml’sinde 50 U ksantin oksidaz bulunan çözeltiden 83 µl alındı ve 2 ml 2 M’lık amonyum sülfat çözeltisi içine katıldı) ilave edildi. Su banyosunda 25 °C’de 20 dakika bekletildikten sonra 1,0 ml CuCl₂ (0,8 mmol) ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve 560 nm’de ölçümler yapıldı.

3.2.4.6. Eritrosit Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü

Ölçümler Paglie ve Valentie'nin yöntemine göre yapıldı (144). Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi indirgenmiş nikotinamiddinükleotid fosfatın (NADPH + H⁺) glutasyon redüktaz aracılığı ile oksidasyonuna bağlıdır. Kör ve numune tüplerine sırasıyla 1 ml fosfat tampon (pH:7,0 ve 100 mmol/L), 0,1 ml EDTA (10 mmol/L), 0,1 NaNa₃ (20 mmol/L), 0,1 mmol NADPH + H⁺ (3 mmol/L), 0,1 redükte glutasyon (20 mmol/L) ve 0,2 ml aktivitesi ayarlanmış glutasyon redüktaz (2U/ numune) ilave edildi. Numune tüplerine 0,05 ml hemolizat, kör tüpüne 0,05 ml fosfat tampon eklendi. Tüpler 2-3 dakika 37 °C de inkübe edildi ve üzerine yoğunluğu ayarlanmış 0,2 ml t-BOOH çözeltisi ilave edilerek 366 nm'de 0. ve 60. sn'de absorbansları ölçüldü.

3.2.4.7. Serum Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, Glikoz, Bilirubin Düzeyleri ve AST, ALT ve ALP Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Elde edilen serumlarda ticari kitler (Chema, Italy) kullanılarak total protein, kolesterol, trigliserit, glikoz, bilirubin düzeyleri ve AST, ALP, ALT enzim aktiviteleri spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistikler, Windows uyumlu SPSS 20.0 istatistik paket programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu One-sample Kolmogorov-Smirnov testi kontrol edildikten sonra gruplar arasında farklılığı tespit etmek için One-Way ANOVA testi ve gruplar arası önemlilik düzeyini belirlemek için de Post Hoc testlerden Tukey's testi kullanıldı. Sonuçlar aritmetik ortalama ve standart hata şeklinde gösterildi. Önemlilik düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Etil Pirüvatın Plazma MDA ve NO Düzeyleri üzerine etkisi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, karbon tetraklorür verilen grubun plazma MDA (Şekil 4.1) ve NO (Şekil 4.2) düzeylerinde önemli bir artma ($p < 0.05$) belirlendi. Diğer taraftan, karbon tetraklorür grubu ile karşılaştırıldığında, CCl_4 uygulamasından önce ve sonra yapılan etil pirüvat uygulamasının plazma MDA (Şekil 4.1) ve NO (Şekil 4.2) düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p < 0.05$) oluşturduğu tespit edildi.

4.2. Etil Pirüvatın Eritrosit SOD, CAT ve GPx Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

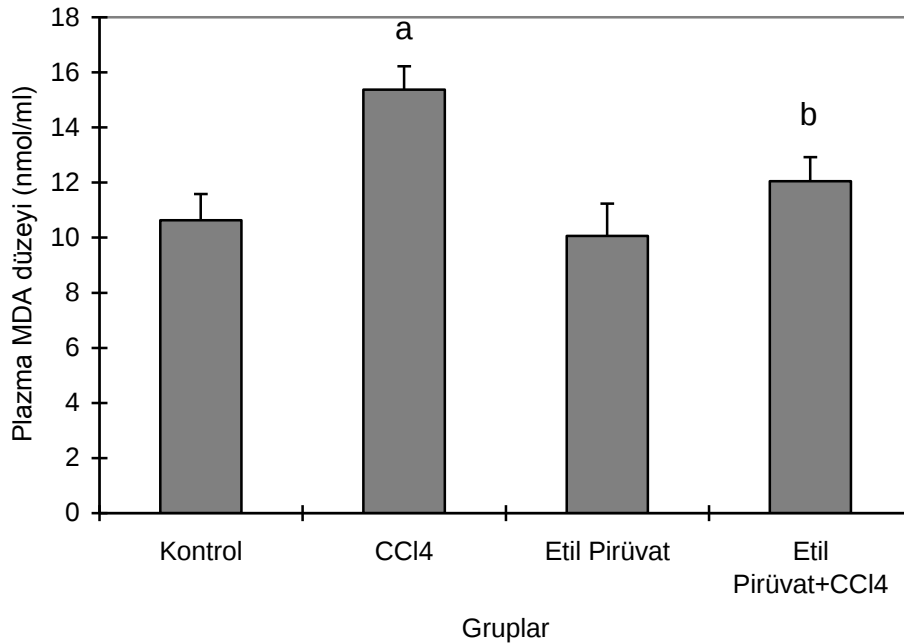
Kontrol grubuna göre, karbon tetraklorür verilen grupta eritrosit SOD (Şekil 4.3), CAT (Şekil 4.4) ve GPx (Şekil 4.5) aktivitelerinde önemli bir azalma ($p < 0.05$) gözlemlendi. Buna karşılık, karbon tetraklorür grubu ile karşılaştırıldığında, CCl_4 uygulamasından önce ve sonra yapılan etil pirüvat uygulamasının eritrosit SOD (Şekil 4.3), CAT (Şekil 4.4) ve GPx (Şekil 4.5) aktivitelerinde ise anlamlı bir artma ($p < 0.05$) oluşturduğu tespit edildi.

4.3. Kontrol ve Deney Gruplarında Serum Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, Glikoz, Total Bilirubin Miktarı ile AST, ALP ve ALT aktiviteleri

Karbon tetraklorür uygulanan grupta karaciğer fonksiyonunun göstergesi olan ALP (Şekil 4.6) ve ALT (Şekil 4.7) ve AST (Şekil 4.8) enzimlerinin serum düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artma ($p < 0.05$) tespit edilirken, CCl_4 uygulamasından önce ve sonra yapılan etil pirüvat uygulamasının serum ALP (Şekil 4.6), ALT (Şekil 4.7) ve AST (Şekil 4.8) enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p < 0.05$) oluşturduğu saptandı.

Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda ortalama glikoz, total protein, trigliserit, kolesterol ve total bilirubin değerleri Tablo 4.1’de gösterildi.

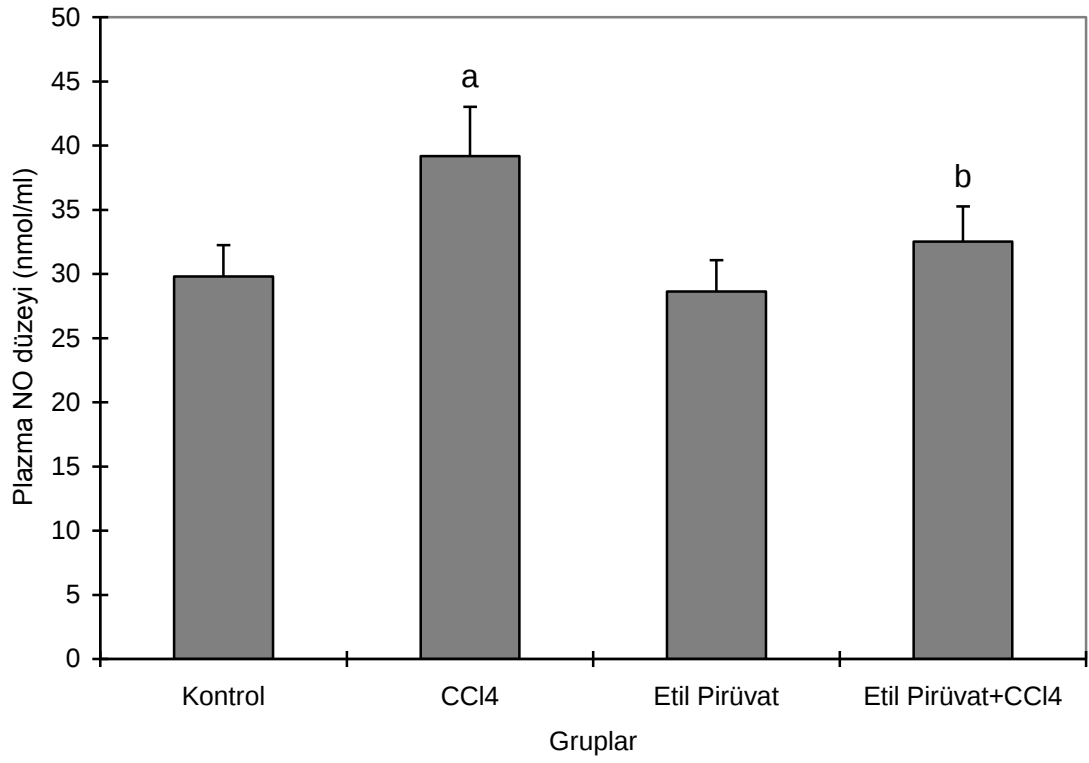
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karbon tetraklorür verilen ratlarda serum trigliserit, kolesterol, glikoz ve bilirubin miktarında artma, total protein düzeyinde ise azalma olduğu ancak bu farklılıkların istatistiksel anlamda olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). Benzer şekilde, etil pirüvat uygulamasının da total protein, trigliserit, kolesterol, glikoz ve bilirubin miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı gözlemlendi ($p>0.05$).



Şekil 4.1. Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda ortalamaplazma MDA düzeyleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir ($p<0.05$).

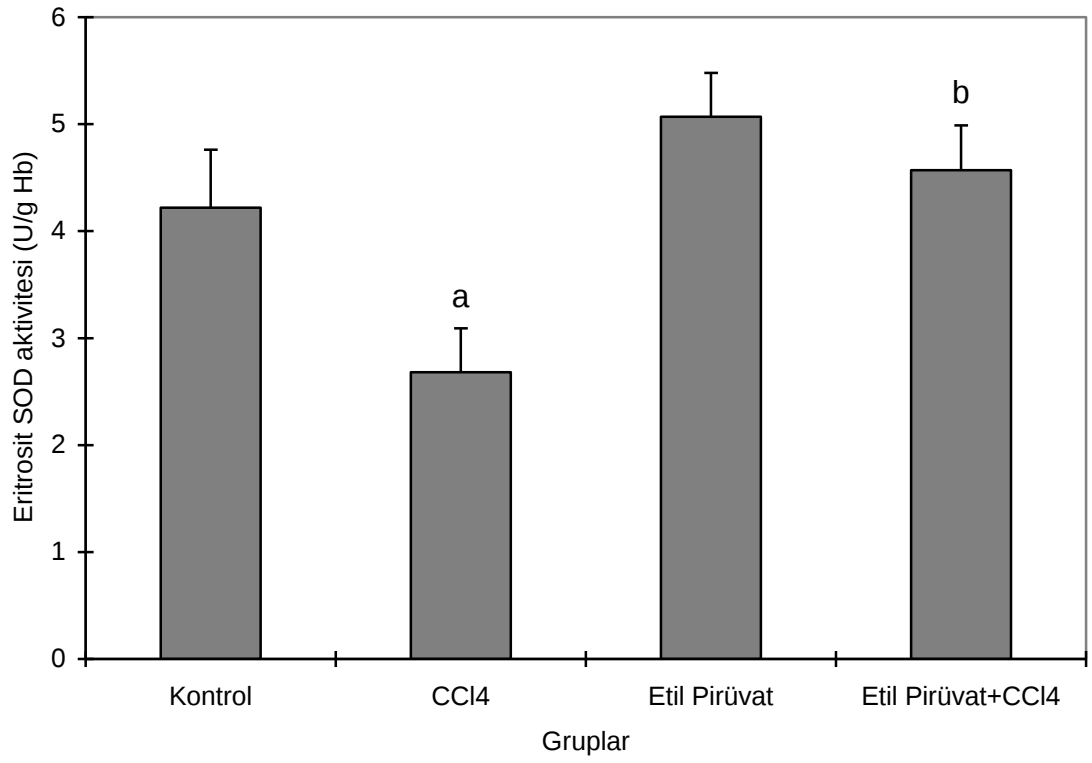
b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.2. Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda Ortalama plazma NO düzeyleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir ($p < 0.05$).

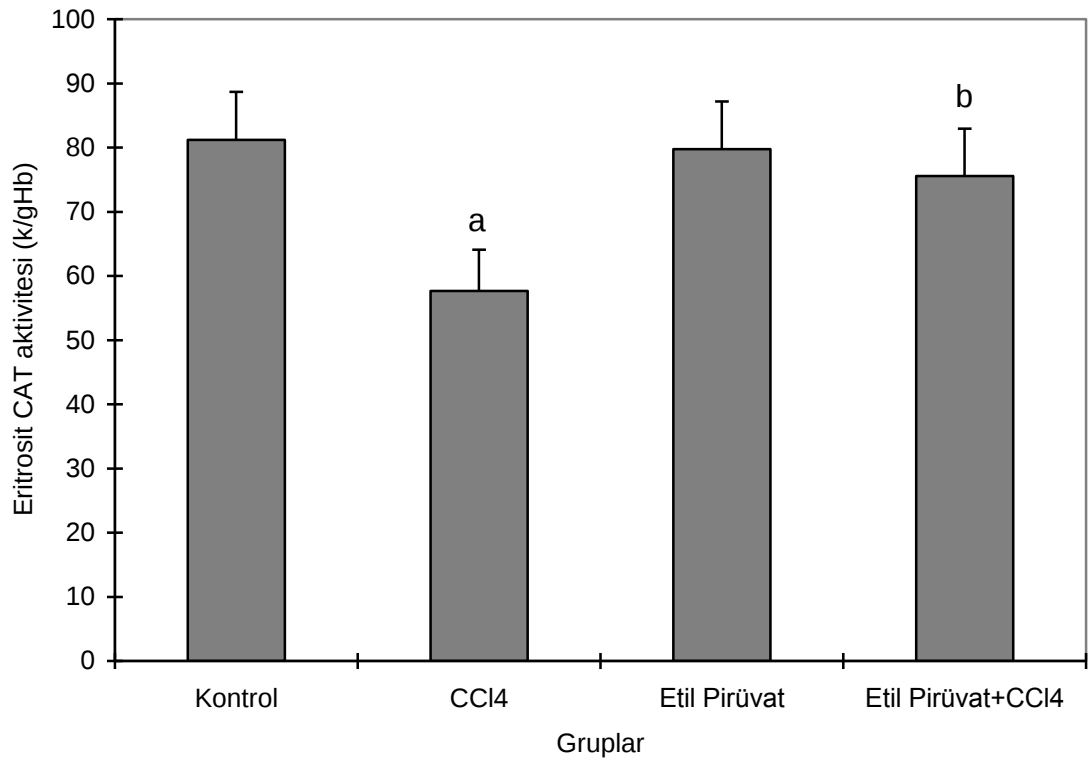
b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.3. Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda Ortalama Eritrosit SOD aktiviteleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir ($p < 0.05$).

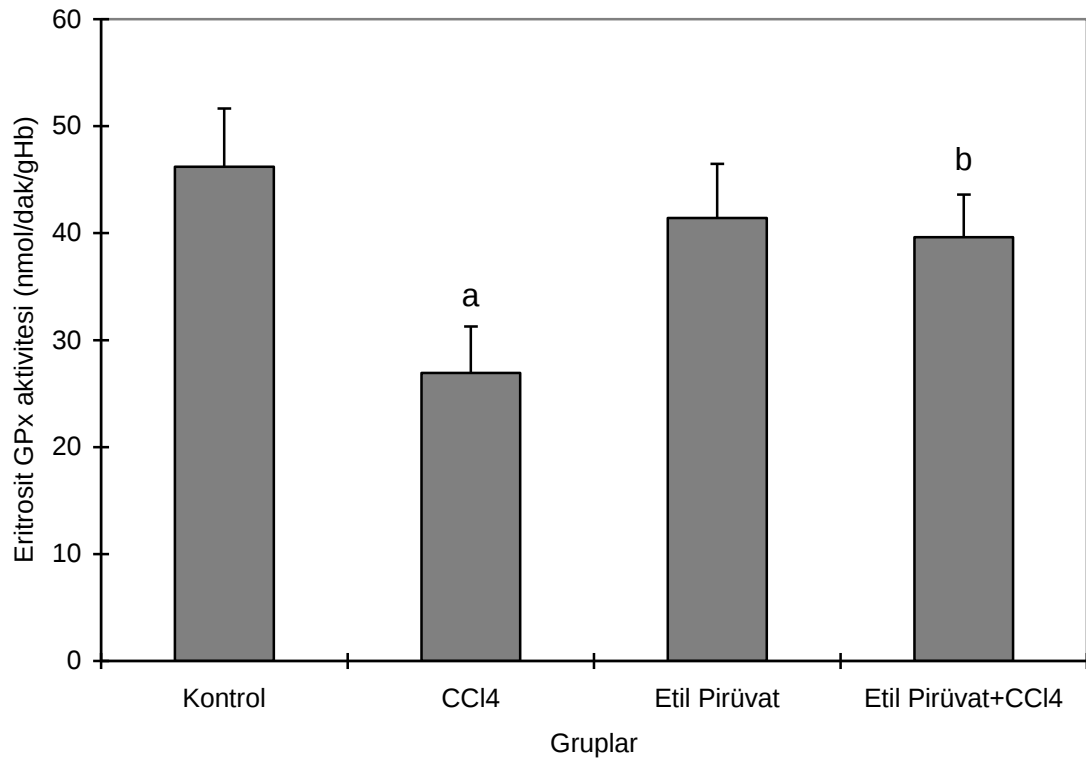
b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.4.Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda Ortalama Eritrosit CAT aktiviteleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir ($p < 0.05$).

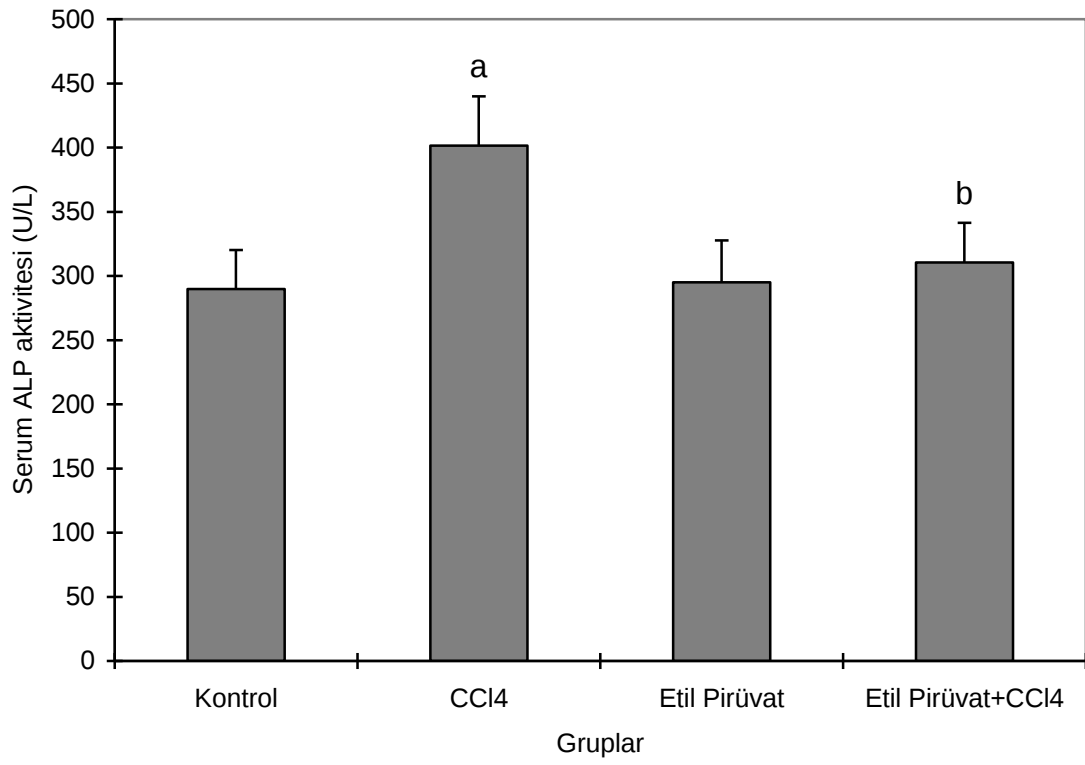
b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.5.Kontrol, CCl₄, Etıl Pirüvat ve Etıl Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda Ortalama Eritrosit GPx aktiviteleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir (p<0.05).

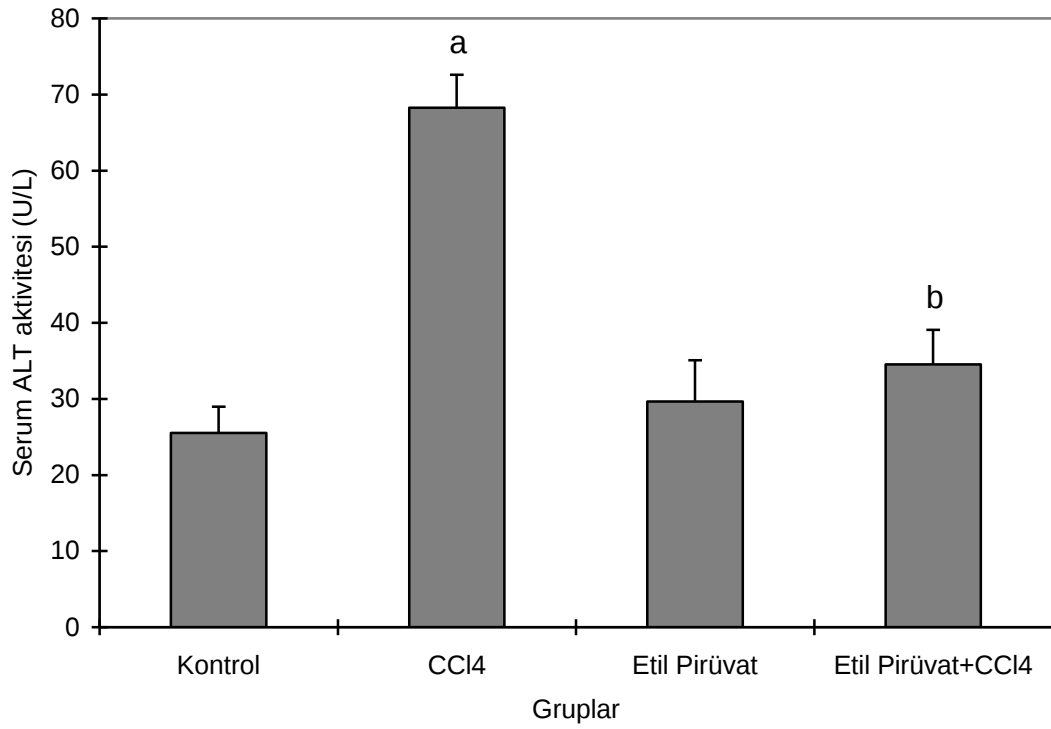
b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4.6. Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda Ortalama serum ALP aktiviteleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir ($p < 0.05$).

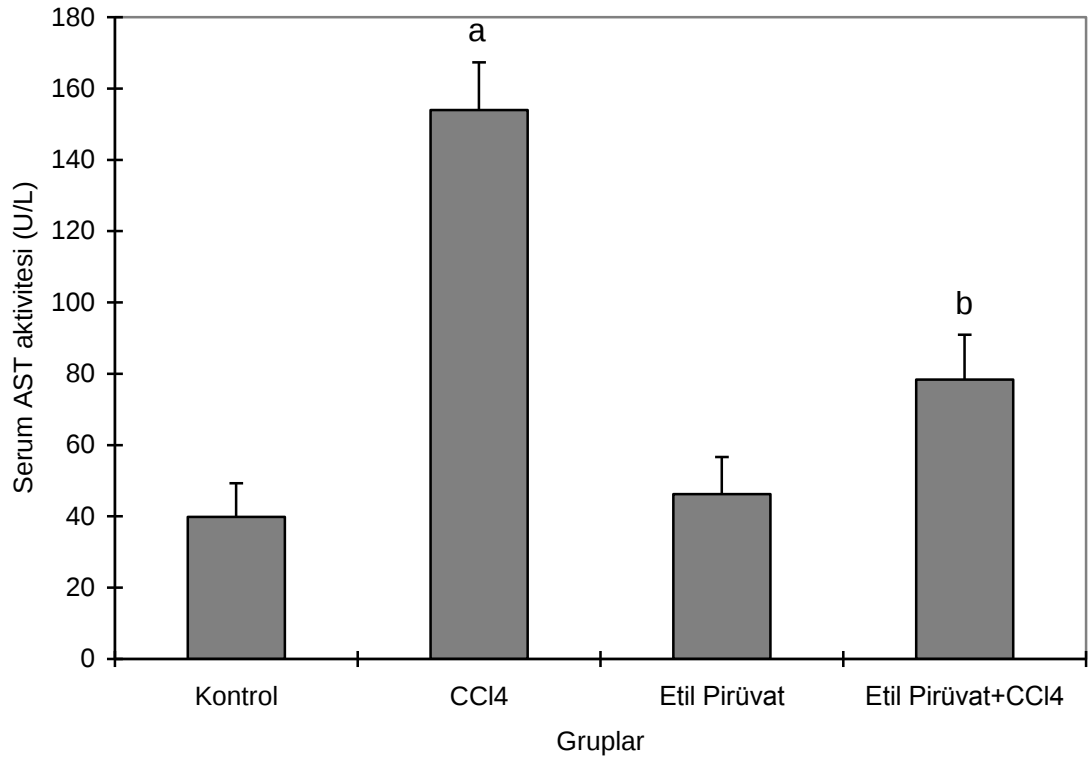
b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.7. Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda ortalama serum ALT aktiviteleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir ($p < 0.05$).

b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.8: Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda Ortalama serum AST aktiviteleri.

a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artmayı göstermektedir ($p < 0.05$).

b: CCl₄ grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmayı göstermektedir ($p < 0.05$).

Tablo 4. 1: Kontrol, CCl₄, Etil Pirüvat ve Etil Pirüvat + CCl₄ uygulanan gruplarda Ortalama Glikoz, Total Protein, Trigliserit, Kolesterol ve Total Bilirubin değerleri

Gruplar	Glikoz (mg/dl)	Total Protein (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	Kolesterol (mg/dl)	Total Bilirubin (mg/dl)
Kontrol	110,22 ± 4.91	8,12 ± 0,24	162,45 ± 11,61	73,55 ± 6,72	0.23 ± 0.02
CCl ₄	115,42 ± 2.63	6,92 ± 0,13	172,64 ± 12,42	83,43 ± 4,93	0.29 ± 0.03
Etil Pirüvat	119,42 ± 3,73	7,83 ± 0,34	161,63 ± 13,53	75,84 ± 5,33	0,24 ± 0,01
Etil Pirüvat + CCl ₄	113,52 ± 3,81	8,12 ± 0,26	165,8 2± 12,64	73,65 ± 5,14	0.21 ± 0,02

Veriler ortalama ± SH olarak verildi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karbon tetraklorür, deneysel karaciğer hasarı oluşturulmasında en sık kullanılan kimyasal maddelerden birisidir. Hasarın derecesine bağlı olarak, membranlarda lipit peroksidasyon süreci başlatılarak serbest radikallerin oluşumunu hızlandırılmakta ve karaciğerin fonksiyonu bozulmaktadır. CCl_4 'ün karaciğer üzerindeki toksik etkisi, serbest radikallerle oluşan biotransformasyon ve lipit peroksidasyonu ile açıklanmaktadır (145, 146). Serbest oksijen radikalleri oluştuğunda hücre membran lipitlerinin doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girip hücre membranını hasara uğratarak toksisite oluşturmaktadırlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyon olarak tanımlanır. Oksidatif stresin kan ve dokularda belirlenmesinde pek çok yöntem kullanılmakla birlikte lipit peroksidasyon ara ve son ürünlerinin ölçümü ve antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi de sık kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır. MDA ve NO lipit peroksidasyon sürecinde oluşan ara ürünler arasında yer alır ve her iki ürün de oksidatif hasarı yansıtır.

Çalışmamızda, Şekil 4,1'de görüldüğü gibi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yalnız CCl_4 verilen grupta, CCl_4 uygulanmasından 24 saat sonra plazma MDA düzeyinde önemli derecede artma gözlemlendi. Bu sonuç, CCl_4 'ün radikal üretimini artırması sonucu lipit peroksidasyonuna neden olduğunu göstermektedir. Karbon tetraklorür verilerek karaciğer hasarı oluşturulmuş rat modellerinde çeşitli ajanların hepatoprotektif etkilerini incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda bulgularımıza benzer şekilde CCl_4 'ün MDA düzeyini artırdığı bildirilmiştir (147,148).

Karbon tetraklorür mitokondriyal monooksijenaz (P4502E1) sisteminde metabolize edilerek önce stabil olmayan başlangıç metaboliti triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) serbest radikali daha sonra lipidler ve proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak hızla triklorometil peroksi radikaline dönüşür. Triklorometil ve türevi triklorometil peroksi radikali karaciğerde lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesine neden olmak suretiyle karaciğer hasarı oluşturmaktadır (145, 149).

Etil pirüvat, serbest radikali aracılı hücre hasarının önleyici, yangıyı giderici, hücre koruyucu, apoptozisi baskılayıcı ve kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyici gibi çeşitli farmakolojik etkileri sahip önemli bir ajandır (150). Çalışmamızda, CCl_4 verilmesinden önce ve sonra yapılan etil pirüvat uygulamasını takiben lipid peroksidasyon belirteci olan MDA düzeyindeki belirgin düşme etil pirüvatın lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermektedir. Bulgularımıza paralel olarak, Lee ve ark.(151), parakuat ile karaciğer ve akciğer hasarı oluşturulan ratlarda yaptıkları bir çalışmada etil pirüvat ön uygulamasının MDA düzeyini önemli derecede azalttığını kaydetmişlerdir. Öte yandan, etil pirüvatın koruyucu etkiye ilişkin yapılan iskemi-reperfüzyon hasarı (150), sepsis ve hemorajik şok (152) çalışmalarında etil pirüvat verilen ratların karaciğer dokusunda MDA düzeyinde önemli bir azalma tespit edilmesi bulgularımızı destekler niteliktedir.

Nitrik oksit birçok memeli hücre ve dokusunun fonksiyonlarını düzenlemede önemli rol oynamaktadır. Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile L-argininden sentez edilir. Nitrik oksit sentaz enzimleri, nöronal NOS (nNOS/NOS-1), indüklenebilir NOS (iNOS/NOS-2) ve endotelial NOS (eNOS/NOS-3) olmak üzere üç ana izoformu vardır ve karaciğerde bu izoformların hepsi bulunmakla birlikte en fazla bulunan izoformlar iNOS ve eNOS'dur. iNOS başlıca hepatosit ve kupfer hücrelerinde bulunur. Karaciğerde eNOS tarafından oluşturulan düşük düzeydeki NO hepatik perfüzyonu düzenler ve hücre içi haberleşmede rol alır (153). Buna karşılık, endotoksemi, sepsis ve hepatit gibi doku hasarı durumlarında aşırı iNOS sentezine bağlı NO üretimi artar. Aşırı NO miktarları zarar verici olabilir. iNOS aktivitesinin artışına bağlı olarak oluşan NO, süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek peroksinitrit radikalini ($\text{OONO}\cdot$) oluşturmaktadır. Peroksinitrit, oksidatif stres oluşumuna artırmak suretiyle karaciğerde hücre hasarı ve nekroza neden olabilir. Nitekim çeşitli araştırmalarda, aşırı NO üretiminin karaciğer hasarına neden olabileceği gösterilmiştir (154). Çalışmamızda,

CCl_4 verilen ratların serum NO düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde yüksek bulundu.

Bulgularımıza benzer şekilde, sıçanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda, CCl_4 uygulamasının serumda (155) ve karaciğer dokusunda (156) NO düzeyini artırdığı tespit edilmiştir. Tipoe ve ark. (157) farelerde CCl_4 ile oluşturdukları akut karaciğer hasarında, CCl_4 uygulamasının karaciğerde iNOS mRNA düzeyindeki artışa neden olduğu yönündeki bildirimleri de bulgularımızı desteklemektedir.

Araştırmada, etil pirüvat uygulamasının CCl_4 grubuna göre NO düzeyinde önemli bir azalmaya neden olduğu tespit edildi. Etil pirüvatın koruyucu etkisini incelemek amacıyla ratlarda yapılan bir çalışmada, etil pirüvat ön uygulamasının plazma NO düzeylerini düşürdüğü kaydedilmiştir (151). Etil pirüvatın septik (158) ve hemorajik şok (159) modelinde plazma NO konsantrasyonunu azalttığı yönündeki bildirimler bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Nükleer Faktör Kappa ($\text{NF-}\kappa\text{B}$), oksidatif stres ve karaciğer hasarıyla ilgili önemli bir faktördür. Karaciğer hücresi dâhil bir çok hücrede bir inhibitör protein $\text{I}\kappa\text{B}$ ye bağlı olarak sitoplâzmada inaktif halde bulunur. $\text{NF-}\kappa\text{B}$, oksidatif stres gibi çeşitli uyarıcı sinyallere karşı cevap olarak çekirdeğe geçer ve burada iNOS ve COX-2 gibi indükleyici enzimler, büyüme faktörleri, kemokinler, adezyon molekülleri ve proinflamatuvar sitokinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu düzenleyerek immün ve inflamatuvar cevapların oluşturulmasında önemli rol oynar (160). Tsung ve ark. (150) iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda etil pirüvat uygulandıktan sonra hepatik iNOS mRNA düzeyi ile birlikte serum NO düzeyinin de doğru orantılı olarak azaldığını gözlemişler ve etil pirüvatın MAP kinazların ekspirasyonunu azaltmak ve hepatik $\text{NF-}\kappa\text{B}$ aktivasyonunu baskılamak suretiyle koruyucu etki gösterebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Serbest radikallerin oluşum hızını azaltan ve bunları etkisiz hale getiren süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi bazı endojen antioksidan enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler (161).

Karacigerde CCl_4 'ün oluşturduğu toksik hasarla birlikte serbest oksijen radikalleri dokuda birikmeye başladığında, karaciğer hücreleri SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan

enzimleri kullanarak bir savunma mekanizması oluşturur. Savunma sisteminde görev alan SOD enzimi iki molekül süperoksit anyonunu hidrojen peroksit'e dönüştürmektedir. Süperoksit, zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücresel kompartmanlardaki O_2 düzeyleri kontrol altında tutulur. GPx glutatyon harcamayarak H_2O_2 'nin redüksiyonunu katalizler. Bu enzimlerin aktif olması hidroksil radikali gibi daha zararlı radikallerin oluşmasını önler. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit düzeylerinin yükselmesine ve hücre hasarına yol açmaktadır (162, 163). Katalaz, glutatyon peroksidaz gibi hidrojen peroksitin ortamdaki uzaklaştırılmasında rol oynar. Katalaz hidrojen peroksidi, oksijen ve suya parçalar. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. Antioksidan enzimlerin aktivitesindeki azalma, hücre membranının bütünlüğünü ve fonksiyonunu bozan serbest radikal miktarındaki artmayla ilişkilidir (164). Araştırmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CCl_4 grubunda eritrosit SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde önemli düzeyde bir azalma gözlemlendi. Bu enzim aktivitelerindeki azalma, CCl_4 'ün etkisiyle oluşan H_2O_2 ve peroksinitrit reaktiflerinin ortamdaki uzaklaştırılmaya çalışılması sonucu meydana gelmiş olabilir. Bulgularımız daha önce yapılan çeşitli araştırmaların sonuçlarıyla uyumludur (165, 166, 167).

Pirüvat bilindiği gibi sadece doğal bir enerji sağlayıcısı olmayıp aynı zamanda reaktif oksijen türlerine karşı vücudu koruyan endojen antioksidan bir maddedir. Pirüvat bu antioksidan etkisini gerek hidrojen peroksit, peroksinitrit ve hidroksil radikallerini etkisizleştirerek gerekse nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oluşumunu artırmak suretiyle göstermektedir. Pirüvatın solusyonlarda dayanıklılığı zayıf olduğu için terapötik amaçlı kullanımını artırmak amacıyla daha dayanıklı formu olan etil pirüvat geliştirilmiştir (168). Oksidatif stresle ilgili yapılan çalışmalarda etil pirüvatın koruyucu etkisinin pirüvatın kinden daha güçlü olduğu bildirilmiştir (150).

Etil pirüvatın CCl_4 ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda antioksidan enzimler üzerine etkisinin değerlendirildiği araştırmamızda etil pirüvat uygulamasının eritrosit SOD, CAT ve GPx aktivitelerini artırdığı tespit edildi. Benzer şekilde, Hu ve ark. (169) etil pirüvatın miyokardiyal iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarında koruyucu etkisini inceledikleri araştırmada, İ/R hasarı oluşturulan ratlarda SOD aktivitesinin belirgin bir şekilde azaldığını buna karşılık İ/R öncesi verilen 50 mg/kg dozda etil pirüvatın miyokardiyal SOD aktivitesinde anlamlı bir artışa yol açtığını ve İ/R hasarını azalttığını bildirmişlerdir. Bansode ve ark. (170) ratlarda, sol siyatik sinire ligasyon uygulayarak

oluşturdukları kronik ağırlı nöropatik modelinde, 100 mg/kg dozda etil pirüvat uygulamasının siyatik sinirde SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile glutasyon düzeyini artırdığını ifade etmişlerdir. Diğer taraftan, Payabvash ve ark. (171) tarafından deneysel testis distorsiyonu uygulanan ratlarda, distorsiyon sonrası testis dokusunda SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde anlamlı bir azalma kaydedilirken, distorsiyondan 30 dakika önce ve sonra 50 ve 100 mg/kg dozda verilen etil pirüvatın bu enzimlerin aktivitelerinde belirgin bir şekilde artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Ratlarda sisplatin ile oluşturulmuş deneysel böbrek hasarında etil pirüvatın total antioksidan ve oksidan aktivite üzerine etkisinin araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada ise sisplatin uygulamasını takiben 50 mg/kg dozda, 5 gün süreyle verilen etil pirüvatın, sadece sisplatin uygulanan gruba göre total antioksidan kapasiteyi artırırken total oksidan aktiviteyi azalttığı belirlenmiş ve etil pirüvatın oksidatif stresi önlediği vurgulanmıştır (172). Yukarıda sözü edilen çalışmaların bulgularıyla sonuçlarımız uyum içerisinde.

Çalışmamızda, CCl₄ verilen grupta, karaciğerdeki hasarın göstergesi olarak sıklıkla kullanılan AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma belirlendi. Bu artma, CCl₄'ün karaciğer hücrelerinde hasar oluşturmaya bağlı olarak membran geçirgenliğinin artması sonucu bu enzimlerin kan dolaşımına geçmesiyle ilişkili olabilir. Benzer şekilde, çeşitli çalışmalarda CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında, hasarın derecesine bağlı olarak AST, ALT ve ALP gibi enzimlerin serum ya da plazma aktivitelerinin yükseldiği gösterilmiştir (173, 174). Diğer taraftan, CCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında, CCl₄ enjeksiyonundan önce ve sonra uygulanan etil pirüvatın karaciğer enzim aktivitelerinde önemli düzeyde azalma oluşturmaya etil pirüvatın karaciğerde hasara karşı iyileştirici rol oynadığını göstermektedir. Bulgularımıza benzer şekilde, Sileri ve ark. (175) ve Tsung ve ark. (136) ratlarda oluşturdukları deneysel hepatik iskemi/reperfüzyon hasarında AST ve ALT enzim aktivitelerinin artış gösterdiğini buna karşılık etil pirüvat uygulamasının ise bu enzim aktivitelerini belirgin şekilde azalttığını tespit etmişlerdir.

Wang ve ark. (176) ratlarda insan serum albumini, D-galaktazomin ve lipopolisakkarit kombinasyonu uygulayarak oluşturdukları karaciğer yetmezliği modelinde, 40 mg/kg dozda etil pirüvat uygulanan ratlarda ALT düzeyinin yetmezlik oluşan hayvanlara göre daha düşük bulunduğunu ve etil pirüvatın karaciğerde gerek yangısal mediyatörlerin

salınımını engelleyerek gerekse endotoksin düzeyini azaltarak koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmada, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karbon tetraklorür verilen ratlarda serum trigliserit, kolesterol, glikoz ve bilirubin miktarlarında artma, total protein düzeyinde ise azalma gözlenmekle birlikte, bu farklılıkların istatistiksek olarak önemli düzeyde olmadığı tespit edildi. Öte yandan, yapılan çeşitli araştırmalarda; 3 mg /kg dozda verilen CCl_4 'ün serum total bilirubin düzeyini artırdığı (177), 0.5 ml/kg ve 7 gün süreyle uygulanan CCl_4 'ün serum total protein düzeyini azalttığı, 3 ml/kg dozda ve 4 hafta süreyle haftada iki kez uygulanan CCl_4 'ün trigliserit ve kolesterol düzeylerini artırdığı (178), 10 ml/kg tek doz uygulanan CCl_4 'ün ise kolesterol, trigliserit, glikoz düzeyini artırırken total protein düzeyini düşürdüğü (179) kaydedilmiştir. Bulgular arasındaki farklılık, uygulanan CCl_4 'ün dozuna veya uygulama süresine bağlı olarak karaciğerde oluşan hasarın derecesiyle ilişkili olabilir.

Çalışmada, etil pirüvat uygulamasının total protein, trigliserit, kolesterol, glikoz ve bilirubin miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı belirlendi. Yu ve ark. (180)'nın beyin iskemi hasarında etil pirüvatın kan glikoz düzeyi üzerine önemli bir etki yapmadığı yönündeki bildirmeleri bulgularımızla uyumludur. Benzer şekilde, diyabetik sıçanlarda uygulanan etil pirüvatın kan glikoz düzeyini değiştirmeden diyabetik nöropatiye karşı koruyucu rol oynadığı tespit edilmiştir (181). Etil pirüvatın, total protein, trigliserit, kolesterol ve bilirubin düzeylerine etkisiyle ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılamadı.

Sonuç olarak, sıçanlarda CCl_4 ile oluşturulan akut karaciğer hasarında MDA ve NO düzeyinde artma gözlenirken, antioksidan enzimlerden SOD, CAT ve GPx aktivitesinde ise önemli bir azalma gözlenmiştir. Akut karaciğer hasarı oluşturulmadan önce ve sonra 40 mg/kg dozda uygulanan etil pirüvatın MDA ve NO düzeylerini azaltarak SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde belirgin bir artışa neden olması, CCl_4 'ün oluşturduğu oksidatif hasarın etil pirüvat tarafından azaltılabileceğini göstermektedir. Aynı zamanda, bu sonuçlar, oksidatif stres kaynaklı çeşitli karaciğer hastalıklarına karşı etil pirüvatın terapötik bir ajan olarak tedavi seçenekleri arasında yer alabileceğine işaret etmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Brattin WJ, Glende EA, Recknagel RO. Pathological mechanism in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J Free Radic Biol. Med.* 1985;1: 27-28
2. Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest.* 1985; 53: 599-62.
3. Bacon BR, Tavill AS, Brittenham GM, Park CH, Recknagel RO. Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload. *J Clin Invest* 1983; 71: 429-439
4. Hooper C. Free radicals: research on biochemical bad boys comes of age. *J Natl. Ins. Health Re.* 1989; 1: 101-106
5. Halliwell B, Gutteridge J. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.* 1984; 219: 1-14
6. Simeonova PP, Gallucci RM, Hulderman T, et al. The role of tumor necrosis factor in liver toxicity, inflammation, and fibrosis induced by carbon tetrachloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 2001; 177: 112-20
7. Masaki N, Yamada S, Ogata I, Ohta Y, Fujiwara K. Enhancement of carbon tetrachloride-induced liver injury by glucagon and insulin treatment. *Res. Exp. Med.* 1988; 188: 27-33
8. Uchiyama T, Delude RL, Fink MP. Dose-dependent effects of ethyl pyruvate in mice subjected to mesenteric ischemia and reperfusion. *Intensive Care Med* 2003; 29: 2050-8

9. Brand K. Aerobic glycolysis by proliferating cells: protection against oxidative stress at the expense of energy yield. *J Bioenerg Biomembr* 1997; 29: 355– 364
10. O'Donnell-Tormey J, Nathan CF, Lanks K, et al. Secretion of pyruvate: an antioxidant defense of mammalian cells. *J Exp Med* 1987; 165: 500–514
11. Salahudeen AK, Clark EC, Nath KA. Hydrogen peroxide-induced renal injury: a protective role for pyruvate in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1991; 88: 1886–1893
12. Bunger R, Mallet RT, Hartman DA. Pyruvate-enhanced phosphorylation potential and inotropism in normoxic and postischemic isolated working heart: nearcomplete prevention of reperfusion contractile failure. *Eur J Biochem* 1989; 180: 221–233
13. Cicalese L, Lee K, Schraut W, et al. Pyruvate prevents ischemia-reperfusion mucosal injury of rat small intestine. *Am J Surg* 1999; 171: 97–100
14. Sileri P, Schena S, Morini S, et al. Pyruvate inhibits hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *Transplantation* 2001; 72: 27–30
15. Tawadrous ZS, Delude RL, Fink MP. Resuscitation from hemorrhagic shock with Ringer's ethyl pyruvate solution improves survival and ameliorates intestinal mucosal hyperpermeability in rats. *Shock* 2002; 17: 473–477
16. Ulloa L, Ochani M, Yang H, et al. Ethyl pyruvate prevents lethality in mice with established lethal sepsis and systemic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 12351–12356
17. Yang R, Uchiyama T, Alber SM, et al. Ethyl pyruvate ameliorates distant organ injury in a murine model of acute necrotizing pancreatitis. *Crit Care Med* 2004; 32: 1453–1459
18. Epperly M, Jin S, Nie S, et al. Ethyl pyruvate, a potentially effective mitigator of damage after total-body irradiation. *Radiat Res* 2007; 168: 552–559
19. Guyton AC, Hall J. *Tıbbi Fizyoloji*, 11. Basım, Çeviri editörleri: Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ. Yardımcıları: Aydın Z, Alican İ, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2007: 860-862
20. Paker Ş, *Histoloji*, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, 1993: 361- 372
21. Noyan A. *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji* (8. Baskı) Meteksan Anonim Şirketi, Ankara, 1993: 882- 883

22. William FG. Tıbbi Fizyoloji (20. Baskı), Çeviri Editörü Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Nobel Kitabevi, İstanbul, 2002: 483-485
23. Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. Berne and Levy. Principles of Physiology (5th ed), Elsevier Mosby, Philadelphia, 2006: 542-545
24. Çağlayan Ş, Yaşam Bilimi Fizyolojisi, Panel Matbaacılık, İstanbul, 1995: 160-165
25. Akın G, Pekgöz E, Gökhun Hİ. Karaciğer: Yapısı, Metabolik Fonksiyonları, Fizyopatolojisi, Patobiyokimyası, Tertip Matbaası, İstanbul, 1992: 4-30
26. Göksu YA. Sıçanlarda Gebeliklerinin İlk Yarisında Uygulanan Trimetobenzamid' in Postnatal Dönemde Yavru Sıçanların Karaciğeri Üzerine Etkisinin Işık Mikroskobunda İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, SDÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Isparta, 2004
27. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology (Third Ed), Saunders Aunders Elsevier Company, Philadlphia 2007: 422-432
28. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti. Malatya, 2009: 106-120
29. Ross MH, Pawlina W, Lippincott W & W. Histology A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology (Fifth Ed), Lippincott Williams & Wilkins Baltimore, 2006: 576-591
30. Carbontetrachloride toxicity. National Academies Press, Environmental Medicine 1995; case study 8: 249-266
31. Timbrell JA. Principles of Biochemical Toxicology, Taylor And Francis Ltd. London, 1982: 48-53, 126-133, 140-146, 174-175, 184-188
32. Southorn PA, Powis G. Freeradicals in medicine. Mayo Clin. Proc1988; 63: 381-408
33. Environmental Health Criteria 208, Carbontetrachloride. WHO, Finland, 1999
34. Tamayo R. Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl4 an adequate model of human cirrhosis? Hepatology 1983; 3: 112-120
35. Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. Gastroenterology 1982; 83: 1183-1190
36. Pope AM, Rall DP. Enviromental Medicine: Integrating a missing element into medical education, casestudy 8: Carbontetrachloride, US National Academy Pres 1995: 249-266

37. Nadkarni GD, Souza NB. Hepatic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rats, *Biochem Med and Met Biol*, 1988; 40: 42-5
38. Slater, T.F. Free radicals as reactive intermediates in injury, Snyder, I.R, Parke, D.V, Kocsis, J.J, Jollow, D.J, Gebson, G.G., Witmer, C.M. (Eds). 1982
39. Arii, S, Monden, K, Hai, S, Sasaoki, T, Adachi, Y, et al. Depressed function of Kupffer cells in rats with CCl₄ induced liver cirrhosis, *Res. Exp. Med.* 1990; 190: 173-182
40. Dashti HM, Al Sayer H, Behbehani A, Madda J, Christenson JT. Liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride and the effect of superoxide dismutase and xanthine oxidase inhibitor treatment. *J R Coll. Surg, Edinburgh* 1992; 37: 23-28
41. Poli G, Cottalasso D, Pronzato MA, Chiarpotto E, Marinari UM. Lipid peroxidation and covalent binding in early functional impairment of liver Golgi apparatus by carbon tetrachloride. *Cell. Biochem. Func* 1990; 8-10
42. Akkuş I. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya, 1995: 13-19
43. Poli G. Liver damage due to free radicals, 'Free Radicals in Medicine, Cheeseman KH, Slater TF (Eds), British Medical Bulletin, London. 1993
44. Liebert J, Matlawska I, Bylka W, Murias M. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* on APAP induced oxidative stress in rats. *J. Ethnopharm*, 2005; 97: 351-358
45. Shimizu I. Antifibrogenic therapies in Chronic HCV infection, *Current Drug Targets Infectious Disorders*, 2001; 1: (2): 227-240
46. Shimizu I. Impact of estrogens on the progression of liver disease. *Liver International* 2003; 23: (1): 63-69
47. Kujawska M, Ignatowicz E, Ewertowska M, Oszmianski J, Jodynys-Liebert J. Protective effect of choke berry on chemical-induced oxidative stress in rat. *Human and Experimental Toxicology* 2010; 30: (3): 199-208
48. Lavanya G, Sivajyothi R, Manjunath M, Parthasarathy PR. Fate of biomolecules during carbon tetrachloride induced oxidative stress and protective nature of *Ammoniac baccifera* Linn: A natural antioxidant. *International Journal of Green Pharmacy*. 2009; 3: 300-305

49. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stres. *MolecularAspects Of Medicine* 2000; 21: 49-98
50. Xu L, Gao J, Wang Y, et al. Myrica rubra extracts protect the liver from CCl₄-induced damage. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011; 1-9
51. Akarca US. Karaciğer Fonksiyon Testi Yüksekliğine Tanısal Yaklaşım, 9. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, 147- 149, 5-9 Eylül 2007, Antalya
52. Günşar F, Karaciğer enzim profilindeki değişikliklerde yaklaşımlar *Güncel Gastro enteroloji* 2003; 7: (3): 192-203
53. Lima CF, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C. Drinking of Salvia officinalis tea increases CCl₄-induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45: (3): 456-464
54. Sonsuz A, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 58, 1:69-78, Kasım 2007, İstanbul
55. Fahmy SR, Hamdi SAH, Abdel-Salam HA. Curative effect of dietary freshwater and marine crustacean extracts on carbontetrachloride-induced nephrotoxicity. *Australian Journalof Basic and Applied Sciences* 2009; 3: (3): 2118-2129
56. Devi MR, Sivasubramanian N, Gupta VRM, Sree GPB, Telrandhe UB. Hepatoprotectiveactivity of Ficusmollis (Vahl) leafextract on CCl₄ induced hepatic damagein Wistar albino rats, *Research Journal of Pharmaceutical, Biologicaland Chemical Sciences* 2010; 1: (4): 338-343
57. Kurt H, Başaran A, Aral E. Sıçanlarda karbon tetraklorit’ in oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical science* 2005; 25: 167-173
58. Rikans LF, Hornbrook KR, Cai Y. Carbon tetrachloride hepatotoxicity as a function of age in female fischer 344 rats. *Mechanisms Of Ageing And Development* 1994; 20: 89-99
59. Ganeshsunder DN, Nympha BD. Hepatic Antioxidant enzymes and lipit peroxidation in carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis rats. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology* 1988; 40: 42-45
60. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal* 1984; 219: 1-14

61. Maritim AC, Sanders RA, Watkins III JB. Diabetes, Oxidative stress and Antioxidants: A Review. *J Biochemmolecular Toxicology* 2003; 17: 24-38
62. Kavas (Özelçi) G, Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 1989; 9: (1): 1-8
63. Fausto N. Liver regeneration. *Journal Of Hepotology* 2000; 32: 19-31
64. Aruoma OI. Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists Society* 1998;75: (2): 199-212
65. Cheeseman KH, Slater TF, An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49:(3): 481-493
66. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya, 1995; 1-84
67. Gutteridge JMC. Lipit peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 1995; 41: (12): 1819-1828
68. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989; 38:(11): 1709-1715
69. Palmer RM, Moncada S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 158: (1): 348-52
70. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: (3): 227-237
71. Yallampalli C, Byam-Smith M, Nelson SO, Garfield RE. Steroid hormones modulate the production of nitric oxide and cGMP in the rat uterus. *Endocrinology* 1994; 134: (4): 1971 -1974
72. Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, Palmer RM, Moncada S. Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1990; 15: (5): 486-492
73. Boger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003; 59: (4): 824-833
74. Gensert JM, Ratan RR. The metabolic coupling of arginine metabolism to nitric oxide generation by astrocytes. *Antioxidan Redox Signal* 2006; 8(5-6): 919-928

75. Aladağ A, Türköz Y, Özerol B. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2000; 20: 107-111
76. Morris SM, Billiar TR. New Insights into the Regulation of Inducible Nitric-Oxide Synthesis. Am J Physiol 1994; 266: (6): 829-839
77. Hua W, Yu A. Nitric-Oxide Synthase in Motor-Neurons after Axotomy. J Histochem Cytochem 1994; 42: (4): 451 -457
78. Durate ID, Lorenzetti BB, Ferreira SH. Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. Eur J Pharmacol 1990; 186: (2-3): 289-293
79. Katayama Y. Nitric oxide: Mysterious messenger. Dojindo News Letter 1995; 1: 1-20
80. Olesen J, Thomsen LL, Iversen H. Nitric-Oxide Is a Key Molecule in Migraine and Other Vascular Headaches. Trends Pharmacol Sci 1994; 15: (5): 149-153.
81. Bassenge E. Coronary vasomotor respons role of endothelium and nitrovasodilators. Cardiovasc. Drugs Ther. 1994; 8:(4): 601-610
82. Drexler H, Zeiher AM, Meinzeck H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic human. J Clin Invest 1992; 90: 1248-1253
83. Thiernemann C. The role of the L-arginine: nitric oxide pathway in circulatory shock. Adv Pharmacol 1994; 28: 45-79
84. Cendan JC, Topping DL, Pruitt J, et al. Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer cell line. J Surg Res 1996; 60: (2): 284-288
85. Paunescu A, Ponopal CM, Draghici O, Marinescu AG, The CCl₄ action upon physiological indices in Lepus timidus and the protective role of some substances, Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie 2009; 16: (2): 104-107
86. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochemical Journal 1984; 219: 1-14
87. Akpoyraz M, Durak İ. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri, Ankara Tıp Mecmuası 1995, 48: 253-266
88. Ajiboye TO. In vivo antioxidant potentials of Piliostigma thonningii (Schum) leaves: Studies on hepatic marker enzyme, antioxidant system, drug detoxifying

- enzyme and lipid peroxidation, *Human and Experimental Toxicology*, 2011;30: (1): 55-62
89. Öztürk İÇ, Öztürk F, Gül M, Ateş B, Çetin A. Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats. *Cell Biochemistry And Function*, 2009; 27: 309-315
 90. Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milosa M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry* 2004; 85: (4): 633-640
 91. Nakano H, Yamaguchi M, Kaneshiro Y, et al. S-Adenosyl-L-Methionine attenuates ischemia–reperfusion injury of steatotic livers. *Transplantation Proceedings* 1998; 30: 3735-3736
 92. Adewole SO, Salako AA, Doherty OW, Naicker T. Effect of melatonin on carbon tetrachloride- induced kidney injury in wistar rats. *African Journal of Biomedical Research* 2007,10: 153-164
 93. Basu S, Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*, 2003; 189: 113-127
 94. Reiter JR. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur J Endocrinol* 1996; 134: 412-420
 95. Bulkley GB. Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: aberrant triggering of reticulo endothelial function. *Lancet* 1994; 344: 934-936
 96. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites leukocytes dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 1982; 107: 397-418
 97. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 1989; 6: 67-75
 98. Montgomery R, Dryer R, Conway T, Specter A. (Eds) *Biyokimya* (6), Çeviri Edt. Altan N 6. Baskı, Palme Yayınevi Ankara, 2000: 68-94
 99. Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. *Klinik Gelişim*, 1995; 8: (10): 3906-3911
 100. Tribble DL, Aw TY, Jones DP. The pathophysiological significance of lipid peroxidation in oxidative cell injury. *Hepatology* 1987; 7: (2): 377-387

101. Aktay G, Deliorman D, Ergun E, Ergun F, et al. Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury, *Journal of Ethnopharmacology*, 2000; 73: 121-129
102. Jimeanez-Escrig A, Dragsted LO, Daneshvar B, Pulido R, Saura-Calixto F. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003; 51: 5540-5545
103. Miccadei S, Venere DD, Cardinali A, et al. Antioxidative And Apoptotic Properties Of Polyphenolic Extracts From Edible Part Of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) on Cultured Rat Hepatocytes And On Human Hepatoma Cells. *Nutrition and Cancer*, 2008; 60: (2): 276-283
104. Pabo'n, A, Carmona J, Burgos LC, Blair S, Oxidative stress in patients with non-complicated malaria. *Journal of Clinical Biochemistry* 2003; 36: (5): 71-78
105. Nakbi A, Wafa T, Samia D, et al. Dietary olive oil effect on antioxidant status and fatty acid profile in the erythrocyte of 2,4-Dexposed rats. *Lipids in Health and Disease* 2010; 9: 89: 1-10
106. Yoshihara D, Fujiwara N, Suzuki K. Antioxidants: Benefits and risks for long-term health. *Maturitas* 2010; 67: 103–107
107. Recknagel RO. Carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Pharmacological Reviews*, 1967;19: (2): 145-208
108. Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*; 2003: (189): 113-127
109. Galati EM, Mondello MR, Lauriano ER, et al, *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. fruit juice protects liver from carbon tetrachloride-induced injury. *Phytotherapy Research* 2005; 19: 796-800
110. Lopez-Reyes AG, Arroyo-Curras N, Cano BG, et al. Black bean extract ameliorates liver fibrosis in rats with CCl₄- induced injury. *Annals of Hepatology* 2008; 7: (2): 130-135
111. Park SW, Lee CH, Kim YS, et al. Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice. *Journal of Pharmacological Science* 2008; 106: 136-143
112. Sinclair AJ, Barnet AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease, *British Journal of Hospital Medicine* 1990; 43: 334-44

113. Zerin M, Karakılçık AZ, Nazlıgül Y, ve ark. Protective role of *Nigella sativa* oil on experimental liver injury in rats. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science* 2004; 24: (6): 598-602
114. Mehmetçik G, Özdemirler G, Koçak-Toker N, Çevikbaş U, Uysal M. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride- induced liver injury and oxidative stres. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2008; 60: 475-480
115. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1995; 35: (182): 21-39
116. Speroni E, Cervellati R, Govoni P, et al. Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 86: 203-211
117. Senyelli B. İntraperitoneal Mitomisin C ile Geliştirilen Deneysel Kolitte Antioksidanların Etkisi, Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 1999: 76
118. Aslan R. Homeostatik Mekanizmanın Korunması Ve Sağaltımda Antioksidanlar, İlaç Ve Tedavi Dergisi, 1999; 12: (8): 475-480
119. Hsiao G, Lin YH, Lin CH, et al. The Protective Effects of PMC against Chronic Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Vivo, *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2001; 24: (11): 1271-1276
120. Wallace AD, Meyer SA. Hepatotoxicity, In: Hodson E (eds), *A text book of modern toxicology*. 4 th Ed, 2010:277-290
121. Ögetürk M, Çolakoğlu N, Kuş MA, Kuş İ, Sarsılmaz M. Karbon tetraklorür ile oluşturulan deneysel akciğer hasarında kafeik asit fenetil esterinin koruyucu etkinliği. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2009; 23: (2): 57- 61
122. Ajiboye TO. In vivo antioxidant potentials of *Piliostigma thonningii* (Schum) leaves: Studies on hepatic marker enzyme, antioxidant system, drug detoxifying enzyme and lipid peroxidation, *Human and Experimental Toxicology*, 2011; 30: (1): 55-62
123. Tahan V, Ozaras R, Canbakan B, ve ark. Melatonin reduces dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats, *Journal of Pineal Research* 2004; 37: 78-84

124. Gebhardt R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus L.*) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes, *Toxicology And Applied Pharmacology* 1997; 144: 279-286.
125. Fink MP. Ethyl Pyruvate: A Novel Treatment For Sepsis And Shock. *Minerva Anesthesiol* 2004; 70: 365-371
126. Wang XF, Cynader MS. Pyruvate released by astrocytes protects neurons from copper-catalyzed cysteine neurotoxicity. *J Neurosci* 2001; 21: 3322-3355
127. Mallet RT. Pyruvate: Metabolic protector of cardiac performance. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223:136-152
128. Brand KA, Hermfisse U. Aerobic glycolysis by proliferating cells: a protective strategy against reactive oxygen species. *FASEB J* 1997; 11: 388–395
129. Fink MP. Role of reactive oxygen and nitrogen species in acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care* 2002; 8: 6–11
130. Montgomery CM, Webb JL. Metabolic studies on heart mitochondria. II. The inhibitory action of parapyruvate on the tricarboxylic acidcycle. *J Biol Chem* 1956; 221:359–368
131. Montgomery CM, Fairhurst AS, Webb JL. Metabolic studies on heart mitochondria. III. The action of parapyruvate on a-ketoglutaric oxidase. *J Biol Chem* 1956; 221: 369–376
132. Varma SD, Devamanoharan PS, Ali AH. Prevention of intracellular oxidative stress to lens by pyruvate and its ester. *Free Rad Res* 1998; 28: 131-135
133. Bunton CA. Oxidation of α -diketones and α -keto-acids by hydrogen peroxide. *Nature* 1949; 163:144
134. Nath KA, Ngo EO, Hebbel RP, et al. A-ketoacidsscavenge H₂O₂ in vitro and in vivo and reduce menandione- induced DNA injury and cytotoxicity. *Am J Physiol Cell Physiol* 1995; 268: 227–236
135. Dobsak P, Courdertot-Masuyer C, Zeller M, et al. Antioxidative properties of pyruvate and protection of the ischemic rat heart during cardioplegia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34: 651–659
136. Tsung A, Kaizu T, Nakao A, et al. Etil pyruvate ameliorates liver ischemiareperfusion injury by decreasing hepatic necrosis and apoptosis. *Transplantation*, 2005; 79: 196-204

137. Varma SD, Hegde KR, Kovtun S. Oxidative damage to lens in culture: reversibility by pyruvate and ethyl pyruvate. *Ophthalmologica* 2006; 220: 52–7
138. Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide activity. *J Lab Clin Med* 1975; 85: 337–41
139. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of hematology. In: Tiez NW, editor. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders; 1987: 803–6
140. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979;135:372–6
141. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JK, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and ^{15}N in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982; 126: 131–136
142. Luck H. Catalase. In: Bergmeyer H (eds), *Methods of enzymatic analysis*. New York, Academic Press, 1965: p 855–84
143. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497–500
144. Paglia PE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158–69
145. Weber LWD, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*, 2003;33: 105-136
146. Recknagel RO, Glende EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther.* 1989; 43: 139-54
147. Chen AS, Taguchi T, Sakai K, et al. Effect of chitobiose and chitotriose on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. *Biol Pharm Bull.* 2005; 10: 1971-3
148. Wang C, Ma F, Liu J, et al. Protective Effect of Salvianic Acid A on Acute Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2007; 30: (1): 44-47
149. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1-15.

150. Kao KK, Fink MP. The biochemical basis for the anti-inflammatory and cytoprotective actions of ethyl pyruvate and related compounds. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 151-159
151. Lee J, Kwon W, Jo Y, Suh G, Youn Y. Protective effects of ethyl pyruvate treatment on paraquat-intoxicated rats. *Hum Exp Toxicol*. 2008; 27: (1): 49-54
152. Fink, MP. Ringer's ethyl pyruvate solution: a novel resuscitation fluid for the treatment of hemorrhagic shock and sepsis. *J Trauma*. 2003; 54: 141-143
153. Tanaka N, Tanaka K, Nagashima Y, Kondo M, Sekihara H. Nitric oxide increases hepatic arterial blood flow in rats with carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury. *Gastroenterology*, 1999; 117: 173-180
154. Lee TY, Mai LM, Wang GJ, et al. Protective mechanism of *Salvia miltiorrhiza* on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. *J Pharmacol Sci* 2003; 91: 202–210
155. Muriel P. Nitric oxide protection of rat liver from lipid peroxidation, collagen accumulation, and liver damage induced by carbon tetrachloride. *Biochem. Pharmacol*. 1998; 56: 773-779
156. Srinivasan M, Rukkumani A, Sudheer R, Menon VP. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride induced toxicity. *Fundament. Clin. Pharmacol*. 2005; 19: 491-496
157. Tipoe GL, Leung TM, Liong E, et al. Inhibitors of inducible nitric oxide (NO) synthase are more effective than an NO donor in reducing carbon-tetrachloride induced acute liver injury. *Histology and Histopathology* 2006; 21: 1157–1165
158. Venkataraman R, Kellum JA, Song M, Fink MP. Resuscitation with ringer's ethyl pyruvate solution prolongs survival and modulates plasma cytokine and nitrite/nitrate concentrations in a rat model of lipopolysaccharide-induced shock. *Shock* 2002; 18: 507-512
159. Yang R, Gallo DJ, Baust JJ, et al. Ethyl pyruvate modulates inflammatory gene expression in mice subjected to hemorrhagic shock. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002; 283: 212-22
160. Tripathi P, Aggarwal A. NF-kB transcription factor: a key player in the generation of immune response. *Current Sci*. 2006; 90: 519-531
161. Özdemir G. Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) (Oksidan Moleküller, Serbest Radikaller). Roche Bilimsel Eserler Serisi, İstanbul, 1993; 20-26

162. Dundar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stress ve antioksidanlar, Uyum Ajans, Ankara. 2000
163. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford. 1989
164. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab. Invest 1982; 47: 412-426
165. Lee CP, Shih PH, Hsu CL, Yen GC. Hepatoprotection of tea seed oil (*Camellia oleifera* Abel) against CCl₄-induced oxidative damage in rats. Food Chem Toxicol. 2007; 45: 888-895
166. Ohta Y, Kongo-Nishimura M, Matsura T, et al. Melatonin prevents disruption of hepatic reactive oxygen species metabolism in rats treated with carbon tetrachloride. J Pineal Res. 2004; 36: 10-17
167. Taniguchi M, Takeuchi T, Nakatsuka R, Watanabe T, Sato K. Molecular process in acute liver injury and regeneration induced by carbon tetrachloride. Life Sci. 2004; 75: 1539-49
168. Das UN. Pyruvate is an endogenous anti-inflammatory and anti-oxidant molecule. Med Sci Monit. 2006; 12: 79-84
169. Hu X, Cui B, Zhou X, et al. Ethyl pyruvate reduces myocardial ischemia and reperfusion injury by inhibiting high mobility group box 1 protein in rats. Molecular Biology Reports 2012; 39: 227-231
170. Bansode VJ, Vyawahare NS, Munjal NB, et al. Ameliorative effect of ethyl pyruvate in neuropathic pain induced by chronic constriction injury of sciatic nerve. Indian J Pain 2104; 28: 82-8
171. Payabvash S, Kiumehr S, Tavangar SM, Dehpour AR. Ethyl pyruvate reduces germ cell-specific apoptosis and oxidative stress in rat model of testicular torsion/detorsion. Journal of Pediatric Surgery 2008; 43: (4): 705-712
172. Kelle I, Akkoc H, Tunik S, et al. Protective effects of ethyl pyruvate in cisplatin-induced nephrotoxicity. Biotechnology & Biotechnological Equipment 2014; 28: 674-680
173. Niranjana Murthy HN, Dandin VS, Yoeup PK. Hepatoprotective activity of ginsenosides from *Panax ginseng* adventitious roots against carbon tetrachloride treated hepatic injury in rats. J Ethnopharmacol. 2014; 158: 442-446

174. Chandan BK, Saxena AK, Shukla S, et al. Hepatoprotective potential of aloe barbadensis mill against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. J Ethnopharmacol, 2007; 111: 560–6
175. Sileri P, Schena S, Morini C, et al. Pyruvate Inhibits Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Rats, Transplantation 2001; 72: (1): 27-30
176. Wang LW, Wang LK, Chen H, et al. Ethyl pyruvate protects against experimental acute-on-chronic liver failure in rats. World J Gastroenterol 2012; 18: 5709-5718
177. Sanmugapriya E, Venkataraman S. Studies on hepatoprotective and antioxidant actions of Strychnos potatorum Linn. seeds on CCl₄-induced acute hepatic injury in experimental rats. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 105:154-160
178. Khan RA, Khan MR, Sahreen S. CCl₄-induced hepatotoxicity: protective effect of rutin on p53, CYP2E1 and the antioxidative status in rat. Complementary and Alternative Medicine 2012; 12: 178
179. Karakus E, Karadeniz A, Şimsek N, ve ark. Protective effect of Panax ginseng against serum biochemical changes and apoptosis in liver of rats treated with carbon tetrachloride (CCl₄). Journal of Hazardous Materials 2011; 195: 208-213
180. Yu YM, Kim JB, Lee KW, et al. Inhibition of the cerebral ischemic injury by ethyl pyruvate with a wide therapeutic window. Stroke, 2005; 36: 2238–43
181. Ju KD, Shin EK, Cho EJ, et al. Ethyl pyruvate ameliorates albuminuria and glomerular injury in the animal model of diabetic nephropathy. Am J Physiol Renal Physiol. 2012; 302: (5): 606-613

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı:	Miraç BAKDEMİR
Uyruğu:	T.C.
Doğum tarihi ve yeri:	07/ 05 / 1975-Bünyan
Medeni durumu:	Evli
Tel:	0 505 395 28 05
Fax:	0 312 623 04 87
E-mail:	bakdemirmirac@hotmail.com
Yazışma adresi:	Fatih Mah. Zubeyde Hanım Cad. Marif Sok. Berat Apt.No:14/4 Polatlı/ANKARA

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	D.Ü.E.F.Biyoloji Öğretmenliği-DİYARBAKIR	1997
Lise	Çağlayan Lisesi-ANTALYA	1992

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Görev	Kurum
2010- Halen	Biyoloji Öğr.	Ö.Akasya Samanyolu Lisesi-POLATLI
2005-2010	Biyoloji Öğr.	Ö. Mustafa Yelkenoğlu Lisesi-KAYSERİ
2002-2005	Biyoloji Öğr.	Ö. Aziziye Lisesi-ERZURUM
2000-2002	Biyoloji Öğr.	Pak-Türk İnt. S.and C.İslamabad-PAKİSTAN.
1997-2000	Biyoloji Öğr.	Afganistan- Türkiye Dostluk L.Şibirgan, AFGANİSTAN.

YABANCI DİL

İngilizce, Farsça