

**ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KURŞUN ASETAT İLE OKSİDATİF STRESE MARUZ KALAN SIÇAN  
DOKULARINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE  
NARİNGENİN ETKİSİ**

**ÜZEYİR DAĞ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**ADYAMAN**

**2012**

## TEZ ONAYI

Üzeyir DAĞ tarafından hazırlanan ‘‘ KURŞUN ASETAT İLE OKSİDATİF STRESE MARUZ KALAN SIÇAN DOKULARINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE NARİNGENİN ETKİSİ ‘‘ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Adıyaman Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı’ nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA

Jüri Üyeleri :

Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA

Adıyaman Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ

Adıyaman Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Murat GENÇ

Adıyaman Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Mustafa ÖZDEN

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### KURŞUN ASETAT İLE OKSİDATİF STRESE MARUZ KALAN SIÇAN DOKULARINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE NARİNGENİN ETKİSİ

Üzeyir DAĞ

Adıyaman Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA

2012, Sayfa: 45

Bu araştırmada kurşun asetat ile oksidatif strese maruz bırakılan sıçanlar üzerine verilen naringenin' in koruyucu etkileri araştırıldı. Çalışmada MDA, enzimler (katalaz, glutatyon peroksidaz), GSH, total lipit, vitamin A, vitamin E, total kolesterol, total gliserit, AST ve ALT düzeyleri ölçüldü. Bu amaçla naringenin, kurşun asetat ve kombinasyonlu grupları kullanıldı.

Deneysel sonuçlara göre; kurşun asetat grubu MDA düzeyleri kontrol gruplarına göre arttı ( $p<0.001$ ). Naringenin etkisiyle kombinasyonlu gruplarda MDA düzeyleri kurşun gruplarına göre azaldı ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ,  $p<0.001$ ). Kas ve plazmada katalaz enzim aktiviteleri kontrol gruplarına göre kurşun gruplarında arttı ( $p<0.001$ ). Karaciğer ve kas dokularında GSH düzeyleri kurşun gruplarında kontrol grubu göre azaldı ( $p<0.001$ ,  $p<0.05$ ). Naringenin etkisiyle kombinasyonlu grupların GSH-Px enzim aktiviteleri kurşun grubuna göre artı ( $p<0.001$ ). Plazmada kurşun grubuna göre GSH-Px enzim aktivite düzeyleri karşılaştırıldığına en yüksek düzey kontrol grubunda gözlendi ( $p<0.001$ ). Ayrıca kurşun grubunun AST düzeyleri kontrol grubuna göre arttı ( $p<0.05$ ).

Sonuç olarak kurşun asetata maruz kalan plazma ve beyin, kas, karaciğer dokularının birçok biyokimyasal parametreleri üzerine naringenin koruyucu etkileri gözlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Naringenin, antioksidan, kurşun, MDA, katalaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz, oksidatif stres, serbest radikal, flavonoid

## ABSTRACT

Master Thesis

### THE EFFECT OF NARINGENIN ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN LEAD ACETATE INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RATS

Üzeyir DAĞ

Adıyaman University

Institute of Science

Department of Chemistry

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA

2012, Page: 45

In this research, we investigated the protective effects of naringenin against lead acetate induced oxidative stress on rats. MDA, enzymes (catalase, glutathione peroxidase), GSH, total lipid, vitamin A, vitamin E, total cholesterol, total glyceride, AST and ALT levels were measured. For this purpose Naringenin, lead acetate and their combined groups were used.

According to the results of the experiments, the MDA content in the groups of lead acetate increased when compared to the control group ( $p < 0.001$ ). By the effects of naringenin the MDA levels in the combination groups decreased when compared to the lead acetate group ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). The catalase enzyme activities of muscle and plasma of lead acetate groups decreased when compared to the control group ( $p < 0.001$ ). In the liver and muscle tissues the GSH levels of lead acetate group decreased when compared to the control group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ). By the effects of naringenin the GSH-Px enzyme activities of combination group of all tissues increased when compared to the lead acetate group ( $p < 0.001$ ). In the plasma the GSH-Px activities levels of control group observed highest value when compared to the lead acetate group ( $p < 0.001$ ). In addition, the AST levels of lead acetate groups increased when compared to the control groups ( $p < 0.05$ ).

In conclusion; it was observed that the protective effect of administrated naringenin on the some biochemical parameters of brain, muscle, liver tissues and plasma induced lead acetate.

**Key Words:** Naringenin, antioxidant, lead, MDA, catalase, glutathione, glutathione peroxidase, oxidative stress, free radical, flavonoid

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarıma katkılarından dolayı Kimya Bölüm Başkanımız Prof. Dr. Murat KOCA hocamıza, projenin hazırlanıőı ve tamamlanma süreci boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaőan danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA' ya ve projeyi ekonomik olarak destekleyen ADYÜBAP kurumu ve çalıőanlarına çok teşekkür ederim. Çalıőmalarım sırasında bana destek veren Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ, Doç. Dr. Fulya BENZER ve tüm Kimya Bölümü hocalarımıza ayrıca Emine DOĐAN, Kader UZUN, Melek TURAN' a teşekkür ederim.

Üzeyir DAĞ

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>SİMGELER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	vii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Oksidatif Stres.....	4
2.2. Serbest Radikaller .....	4
2.3. Kurşun .....	6
2.4. Antioksidanlar.....	9
2.5. Polifenoller .....	13
2.6. Flavonoidler .....	15
2.6.1. Flavonoller .....	17
2.6.2. Flavanonlar .....	17
2.6.3. Kateşinler.....	17
2.6.4. Flavonlar.....	18
2.6.5. Antosiyanidinler.....	18
2.6.6. İzoflavonoidler.....	19
2.7. Naringenin .....	19
2.8. GSH, GSH-Px ve Katalaz Enzimleri .....	21
2.9. MDA.....	23
2.10. Çalışmanın Amacı.....	23
<b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....	24
3.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler .....	24
3.2. İnceleme Materyali .....	24
3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar.....	24

3.4. Deneý Hayvanları .....	24
3.5. Lipidlerin Ekstraksiyonu .....	26
3.6. Total Lipit Analizi.....	26
3.7. Lipid Peroksidasyon Tayini.....	27
3.8. Doku ve Plazma Katalaz Enzim Aktivitesi Tayini .....	28
3.9. Doku ve Plazma GSH-Px Enzim Aktivitesi Tayini .....	28
3.10. Doku ve Plazma GSH Tayini.....	29
3.11 İstatistiksel Analiz .....	29
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>30</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>36</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>40</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>45</b>

## SİMGELER DİZİNİ

BAE	Bağ Ayrışma Enerjisi
CAT	Katalaz
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
GSSGR	Glutatyon Redüktaz
GST	Glutatyon S-transferaz
HO	Hem Oksijenaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
İP	İyonizasyon Potansiyeli
LPO	Lipit Peroksitler
MDA	Malondialdehit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit Anyon
OH <sup>•</sup>	Hidroksi Radikali
OH	Hidroksi
SOD	Süperoksit Dismutaz
RNT	Reaktif Azot Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
TET	Tek Elektron Transferi
UV	Ultraviyole



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Serbest radikallerin başlıca kaynakları ve serbest radikal hasarı.....	5
Şekil 2.2 Kurşunun GSH' taki –SH grubuna bağlanması.....	8
Şekil 2.3 Kurşun etkili oksidatif stres ve hücre ölümü.....	9
Şekil 2.4 Antioksidan aktivitesi mekanizmaları.....	15
Şekil 3.1 Total lipid kalibrasyon eğrisi.....	27

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1 Antioksidanların sınıflandırılması.....	12
Tablo 2.2 Flavonoidlerin heterohalkadaki / - C <sub>3</sub> - / yapısına göre sınıflandırılması .....	16
Tablo 4.1 Karaciğer dokusu biyokimyasal parametreler .....	30
Tablo 4.2 Beyin dokusu biyokimyasal parametreler .....	31
Tablo 4.3 Kas dokusu biyokimyasal parametreler .....	33
Tablo 4.4 Plazma biyokimyasal parametreler .....	34

## 1. GİRİŞ

Kurşun havada, birçok yiyecekte, içme suyunda ve topraktaki yaygın dağılımından dolayı insan vücudunda da bulunan ikincil derecedeki bir elementtir. İnsanların kurşuna maruz kaldığı birçok yol vardır. Bu maruziyet hava, içme suyu, yiyecek ve kirlenmiş toprak gibi etkilerden ileri gelir. Vücutta kurşun düzeylerinin artması, çeşitli fizyolojik prosesleri engeller ve kardiyovasküler, hematopoietik sistemin toksisitesiyle sonuçlanır. Özellikle düşük düzeyli kurşun maruziyetinin kan basıncının artmasına sebebiyet verdiği hem insanlarda hem de hayvanlarda gösterilmiştir. Kurşun toksisitesi, belirli dokularda birikmesi ve birçok fizyolojik proseste önemli role sahip biyoelementlerle etkileşmesiyle yakından ilgilidir. Nörolojik, davranışsal, immünolojik, renal, hepatik ve özellikle hematolojik fonksiyon bozukluğu gibi birçok istenmeyen etkiye sahiptir. Kurşun zehirlenmesi hemoglobin sentezini inhibe eder, hematopoietik sistemi ve ani kırmızı kan hücrelerinin yıkımı yoluyla anemiye etkiler. Kurşun toksisitesinin biyokimyasal ve moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Son zamanlarda kurşun toksisitesi ile ilgili ileri sürülen muhtemel mekanizma oksidatif strestir. Birçok araştırmacıya göre, hücrelerdeki prooksidan ve antioksidan dengesinin bozulmasından ileri gelme olasılığı vardır. Kurşun maruziyetinden sonra hidroksi (OH<sup>•</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), süperoksit anyon (O<sub>2</sub><sup>-•</sup>) ve lipid peroksitler (LPO) gibi reaktif oksijen türlerinin üretildiği bildirilmiştir (Annabi Berrahal 2007, Park 2010). Kurşun oksidatif stresin düzeyini arttırarak hücresele bileşenlere zarar verir (Jomova 2011).

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içerirler (Machlin 1980). Hem organik hem de anorganik moleküller halinde bulunurlar. Serbest radikaller, hücredeki doymamış yağ asitleri, DNA molekülleri ve protein moleküllerindeki sülfhidril bağlarıyla reaksiyona girerek hücre ve dokulara zarar verirler (Machlin 1987). Radikallerin aktif olma özelliği difüzyon mesafesi ile ilişkilidir. Hidroksi radikali son derece aktif özellikte olduğundan, meydana geldiği hücre bölümünden daha uzağa difüzyona gerek kalmadan derhal oluştuğu yerde reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise mitokondriyal membranlar, peroksisomal

membranlar ve plazma membranlarından kolayca difüze olarak toksik etkisini açığa çıkıldığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde gösterebilir (Yu 1994).

Vücudumuzu oluşturan her hücrede radikallere karşı, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSGR) vb. enzimlerden oluşan radikal süpürücü enzim sistemi dediğimiz bir savunma mekanizması ile A, E, C, lipoik asit gibi antioksidan vitaminlerden oluşan yardımcı savunma mekanizması mevcuttur (Dergel 1992).

Flavonoidler polifenolik bileşikler olup bitki orijinli yapılardır. Günümüze kadar 4000 farklı flavonoid tanımlanmıştır. Flavonoidler, flavonollar, flavonlar, katesinler, flavanonlar, antosiyanidinler ve isoflavonoidler olarak gruplandırılmıştır. Flavonoidler, hücre sistemi içerisinde çeşitli biyolojik etkilere sahiptir (Hollmann 1997). Flavonoidlerin antimikrobiyal, antiviral, antiülserojenik, sitotoksik, antineoplastik, antimutajenik, anti-inflamatuar, antioksidan, antiplatelet aktivitelerinin var olduğu belirtilmiştir (Formica 1995). Flavanonlar grubunda taxifolin, naringenin, hesperidin bulunmaktadır (Rousseff 1987). Flavonoidlerin antioksidan etkinlikleri, lipid peroksidasyonunu durdurmaları ile açıklanmaktadır. Flavonoidlerin *in vivo* antikanserojenliği ile ilgili kesin bir kanıt bulunmamasına rağmen, ames testlerinde mutajenliği kanıtlanmış çalışmalarda flavonoid bileşiklerin çeşitli denek hayvanlarında tümör gelişimini durdurduğu tespit edilmiştir (Robards 1997). Polifenol türevli maddeler serbest radikallerin ve fenoksi radikallerin oluşturduğu oksidatif strese karşı kritik önem taşımaktadır (Formica 1995). Bozunmamış hücre yapısı veya dokuların oksidatif strese karşı korunması MDA (Malondialdehit)'nin ölçülmesi ile anlaşılır ki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna işaret eder (Kagan 1998). En çok bilinen flavonoidlerden naringin, metal şelatı, antioksidan ve serbest radikal yok edici özelliğindedir (Jung 1983). Literatürde flavonoidlerin mutajenlere karşı ve lipid peroksidasyonuna karşı etkileri olduğu bildirilmiştir (Chen 1990, Bear 2000).

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi ile biyolojik sistemin reaktif ara ürünleri detoksifiye etmesi ve hasarın sonuçlarını temizlemesi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (Freinbichler 2011).

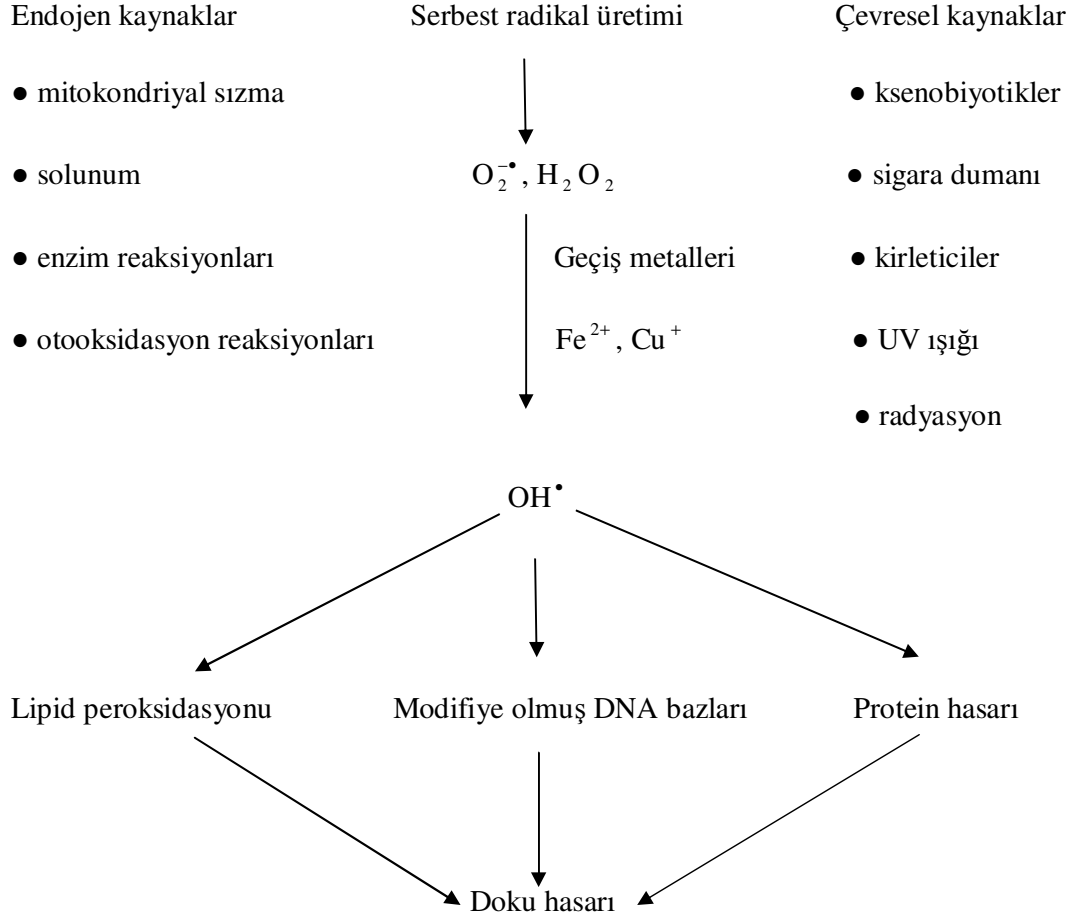
Hüresel oksidatif hasar başlıca serbest radikaller ve ROT tarafından meydana gelir (Huang 1999). Oksidatif stres, nörodejeneratif hastalıklar, iskemi, travmatik beyin yaralanmaları, kanser, diyabet, karaciğer hasarı, AIDS, down sendromu, amyotrofik lateral skleroz gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmektedir (Niki 2010, Freinbichler 2011). Oksidatif stresin serbest radikal üretimini arttırmak ve hedef hücrelerdeki veya dokulardaki antioksidan düzeyini düşürmek yoluyla kanser oluşumunda önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (Huang 1999). Ayrıca alzheimer ve parkinson hastalıklarının başlangıcı direk olarak beyindeki oksidatif stres artışı ile ilgilidir. MDA ölçümü sıklıkla dokudaki oksidatif stresin bir ölçüsü olarak kullanılır. Oksidatif stresle ilgili yapılan çalışmaların çoğu DNA, lipid ve protein hasarını belirlemeye yöneliktir (Freinbichler 2011). Okside olmuş DNA ürünleri ve GSH (Glutatyon) düzeyi oksidatif stresin belirteçlerdir (Jomova 2011). Oksidatif stresin altında yatan mekanizmayı aydınlatmak için substrat olarak kültür hücreleri sıklıkla kullanılır. Yükseltgenen/indirgenen yapıların oranı, düzeyleri ve antioksidanların yükseltgenmiş ürünleri oksidatif stresin belirteçleri olarak kullanılır. Oksidatif stresin artışıyla GSH ve Koenzim Q gibi antioksidanların yükseltgenmiş/indirgenmiş yapılarının oranında artış görülmüştür. Vitamin E'nin oksidasyon ürünü tocopherylquinone ve 5-nitro- $\gamma$ -tocopherol de belirteç olarak kullanılabilir (Niki 2010).

Metaller, ROT artışı yoluyla oksidatif strese neden olurlar (Koivula 2010). Metal kaynaklı oksidatif stres kısmen antioksidan mekanizmaların azalmalarından meydana

gelir. Bağırsakların maruz kaldığı demir etkili oksidatif stresin, gelişmiş ve yüksek oranda et tüketilen ülkelerde kalın bağırsak kanserinin anahtar faktörü olabileceği ileri sürülmüştür. İçme suyundaki kadmiyuma maruz kalan ratların kardiyak dokusunda oksidatif stresin belirteçleri olan lipoperoksidler ve MDA' da artış, SOD ve GSH-Px' te azalma gözlenirken CAT aktivitesinde değişme gözlenmemiştir. Çinko eksikliğinde lipid, protein ve DNA oksidasyonu ve oksidatif hasar düzeyi artmaktadır. Hayvan çalışmaları bir canlının uzun süreli veya kronik çinko yokluğunda oksidatif stres kaynaklı hasara daha çok uğradığını doğrulamıştır. Çinko alımının oksidatif stres belirteçleri üzerine faydalı etkileri olduğu belirtilmektedir. SOD hücreyi oksidatif hasara karşı korumaktadır. Bakır azalması hücrenin SOD üretimini azaltmakta ve böylece oksidatif hasara karşı dayanıksızlığını arttırmaktadır. Arsenik, kadmiyum ve civa gibi toksik metallerin yanısıra kurşun da oksidatif stresin düzeyini artırarak hücresel bileşenlere zarar verir (Jomova 2011).

## **2.2. Serbest Radikaller**

Bir serbest radikal dış yörüngesinde ortaklanmamış bir veya daha fazla elektron içeren molekül olarak tanımlanır (Clarkson 2000). Bir çok radikal oldukça reaktiftir ve diğer moleküllere bir elektron verebilir ya da onlardan elektron alabilir. Bu nedenle birer yükseltgen veya indirgen gibi davranırlar. Yüksek aktifliklerinin bir sonucu olarak biyolojik sistemlerde radikallerin çoğu kısa yarılanma ömürlerine sahiptirler ( $10^{-6}$  saniye veya daha az). Radikal oluşumu vücutta genel biçimde endojen ve ekzojen etkenler olmak üzere farklı mekanizmalar tarafından gerçekleşir (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1 Serbest radikallerin başlıca kaynakları ve serbest radikal hasarı**

Serbest radikal üretimi bütün hücrelerde normal hücrel fonksiyonun bir parçası olarak sürekli meydana gelmektedir. Ancak iç ve dış kaynaklı aşırı serbest radikal üretimi bir çok hastalıkta rol oynayabilir (I S Young 2001). Ayrıca serbest radikaller, normal hücrel bileşenlere bağlanma yeteneğine sahiptirler; membran lipidlerinin doymamış bağlarıyla tepkime verirler, proteinleri denatüre ederler ve nükleik asitlere saldırırlar (Huang 1999). Serbest radikaller, artrit, hemorajik şok, ateroskleroz, yaşlanma, iskemi, birçok organın reperfüzyon yaralanması, alzheimer, parkinson, gastrointestinal fonksiyon bozukluğu, tümör ilerlemesi, kanser oluşumu ve AIDS gibi bir çok hastalıkla ilişkilendirilmektedir (Bagchi 2000).

### 2.3. Kurşun

Son zamanlarda ağır metallerin sebep olduğu çevresel kirlilik nedeniyle insan sağlığına verdiği zararda bir artış olmuştur. Çevre kirleticileri olan ağır metallerin arasında kurşunun en zararlılarından biri olduğu uzun süreden beri bilinmektedir. Günümüzde kurşun, endüstrideki önemli rolünden dolayı her yerde bulunan çevresel bir atıktır. Hem mesleki hem de çevresel olarak kurşun maruziyeti, gelişmekte olan ve endüstrileşen ülkelerde birçok ciddi problem oluşturmaktadır. Kurşun havada, birçok yiyecekte, içme suyunda ve topraktaki yaygın dağılımından dolayı insan vücudunda da bulunan ikincil derecedeki elementtir. Vücutta kurşun düzeyinin artması, çeşitli fizyolojik prosesleri engeller ve kardiyovasküler, hematopoitik sistemin toksisitesiyle sonuçlanır. Özellikle düşük düzeyli kurşun maruziyetinin kan basıncının artmasına sebebiyet verdiği hem insanlarda hem de hayvanlarda gösterilmiştir. Kurşun toksisitesi, belirli dokularda birikmesi ve birçok fizyolojik proseste önemli role sahip biyoelementlerle etkileşmesiyle yakından ilgilidir. Nörolojik, davranışsal, immünolojik, renal, hepatik ve özellikle hematolojik fonksiyon bozukluğu gibi birçok istenmeyen etkiye sahiptir. Kurşun zehirlenmesi hemoglobin sentezini inhibe eder, hematopoitik sistemi ve ani kırmızı kan hücresinin yıkımı yoluyla anemiye etkiler. Kurşun toksisitesinin biyokimyasal ve moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Son zamanlarda kurşun toksisitesi ile ilgili ileri sürülen muhtemel mekanizma oksidatif strestir. Birçok araştırmacıya göre, kurşun hücrelerdeki prooksidan ve antioksidan dengesinin bozulmasına neden olur. Kurşun maruziyetinden sonra  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$  ve LPO gibi ROT' un üretildiği bildirilmiştir (Annabi Berrahal 2007, Park 2010).

Kronik olarak düşük düzeyli kurşuna maruz kalan hayvanlarda bilinç eksikliği görülmüştür. Epidemolojik analizler, düşük düzeylerde kurşun maruziyetine uğramış çocukların öğrenme ve hafıza bozukluklarına karşı yüksek risk altında olduklarına işaret etmektedir. Geniş çaptaki çalışmalarda, beslenmelerinde demir, kalsiyum, vitamin C veya çinko eksikliği bulunan çocukların çevresel kurşunun zararlarına daha elverişli olduğu bulunmuştur. Demir bakımından zengin içerikli beslenmeye sahip olan okul

öncesi şehirli çocukların ise kanlarında düşük düzeyde kurşun bulunmuştur. Bu nedenle diyet uygulamaları, kurşun etkili toksisitenin özellikle öğrenme ve hafızaya etkisini azaltma yönüne odaklanmıştır (Zhang 2010).

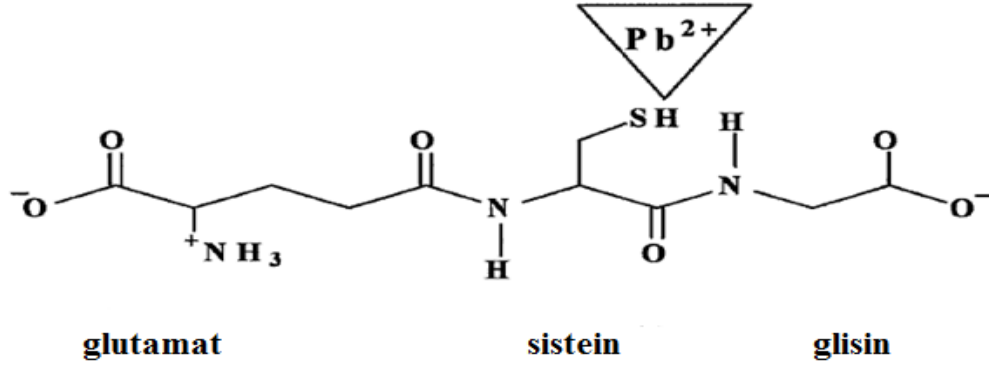
Kurşunun gastrointestinal sistemden emilimi diyetin içeriğinden, bireyin beslenme durumundan ve metalin kimyasal yapısından etkilenir. Yetişkinlerde diyetle alınan kurşunun yaklaşık % 10' u absorbe edilir. Bu oran uzun süreli açlıkta daha da yüksektir. Bebeklerde ve gençlerdeki emilim oranı ise % 50 düzeyindedir (WHO 1995). Çocuklarda vücuttaki kurşunun çoğu (>%70) kemiklerde bulunur. Çünkü kurşun nitelik bakımından kalsiyumun biyolojik analogudur. Alımı ve kemiklerden yayılması kısmen kemik gelişimi ve turnoverini etkileyen prosesler tarafından kontrol edilir. Yetişkinlerde, kemikteki kurşun (> %90) uzun süreli olarak kortikalde (yarı ömrü 5-10 yıl) ve trabekülerde (yarı ömrü 1 yıl) bulunur. Yumuşak dokularda küçük miktarlardaki kurşun, hızlı bir şekilde hücrelerarası sıvı ve plazma ile etkileşime geçer. Dışarıdan çeşitli kaynaklardan alınan kurşunun metabolizması için 3 kısmi görüş ileri sürülmüştür; toplam kan kurşunu, yumuşak dokularda (kollajen ve keratin) birikmiş kurşun ve kalsiyum-magnezyumla rekabet ettiği kemiklerdeki kurşun. Birikmenin derecesi, kanın dokuyu besleme miktarı ve dokunun afinitesine bağlıdır (kurşun belli bazı proteinler tarafından bağlanır). Sabit orandaki sürekli kurşun maruziyetinde, depolanan ve uzaklaştırılan kurşun miktarı arasında bir denge durumu vardır.

Kurşunu sistemden uzaklaştırmak için kullanılan şelat ajanları özellikle çocuklarda yan etkilere neden olmaktadır. Eliminasyon proseslerini arttıracak yeni bileşikler üzerinde çalışmak önem arz etmektedir. Özellikle çocuklarda kandaki kurşun konsantrasyonunun 10 µg/dL' nin altında olması önemlidir. Çünkü çalışmalar bu eşik değerinin altında da kurşunun nörotoksik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Baranowska-Bosiacka 2008).

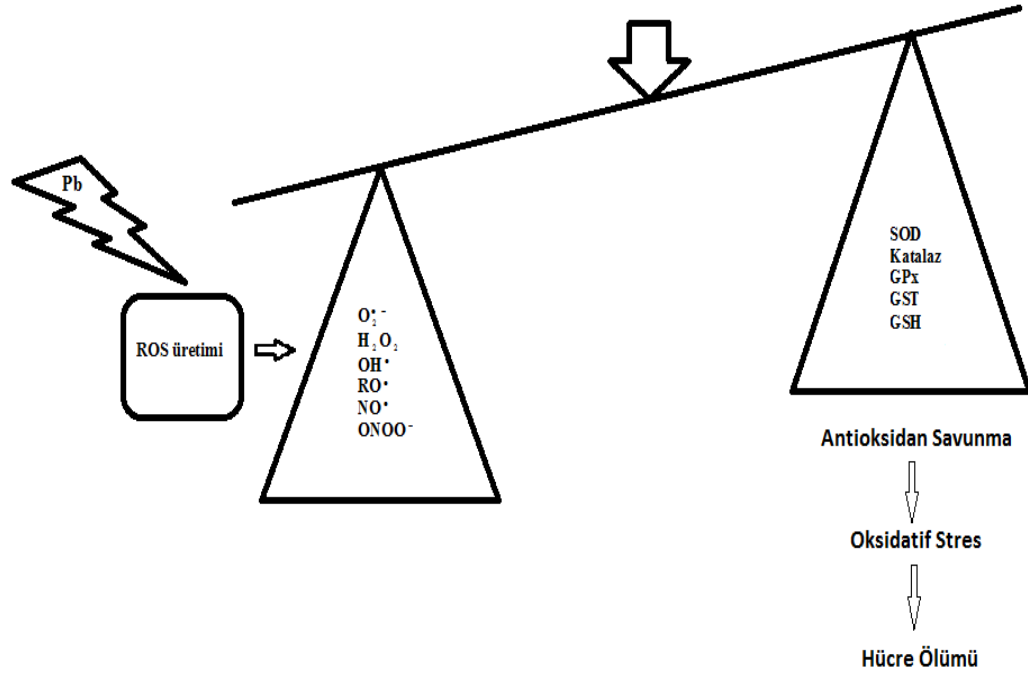
Perinatal olarak düşük dozlarda kurşun maruziyetinin davranışsal ve nörokimyasal değişimlerle ilişkileri hem yetişkin hem de emzirme dönemindeki ratlarda



ortaya çıkarılmıştır (Wang 2006). Kurşun oksidatif stresin düzeyini artırarak hücrel bileşenlere zarar verir. Kurşunun patojenik etkisi, enzimlerin aktivitesini direk durdurduğu, önemli eser elementlerin absorpsiyonunu yarışmalı olarak inhibe ettiği, antioksidan sülfhidril havuzlarını deaktive ettiği için çok faktörlüdür (Jomova 2011).



Şekil 2.2 Kurşunun GSH' taki -SH grubuna bağlanması



**Şekil 2.3 Kurşun etkili oksidatif stres ve hücre ölümü**

## 2.4. Antioksidanlar

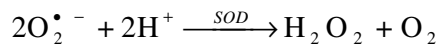
Bir antioksidan, maddenin oksidasyona uğramasını önemli oranda geciktiren veya önleyen bir madde olarak tanımlanabilir. Bu tanımın belirttiği gibi antioksidanların fizyolojik rolü, serbest radikallerin kimyasal reaksiyonlarının bir sonucu olan hücresel bileşenlerin hasarını engellemektir. Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu engelleme ve serbest radikalleri süpürme yoluyla sebep oldukları doku hasarını engellerler (Young 2011). Antioksidan, hedef moleküldeki oksidatif hasarı önleyen veya geciktiren herhangi bir substrattır. Antioksidanlar, SOD, CAT ve peroksiredoksinle veya daha basit olan ürik asit ve GSH gibi moleküllerle kompleks oluşturabilir (Gutteridge 2010).

Antioksidanlar, direk serbest radikallerle tepkimeye girme, dolaylı olarak aktivitelerini inhibe etme, serbest radikal üreten enzimleri etkileme veya hücre içi antioksidan enzimleri ve etkilerini arttırma gibi yöntemlerle oksidatif hasarı azaltabilir (Lü 2010).

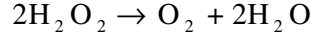
Vücut serbest radikallerin sebep olduğu hasardan korunmak için önemli antioksidan savunma sistemleri oluşturmuştur. Endojen antioksidanlar çoğunlukla düşük molekül ağırlıklıdır. Bunlar, oksidatif hasarın başlamasını engelleyen, yayılmasını sınırlandıran ve ROT ile RNT (Reaktif azot türleri)' yi dönüştüren ve detoksifiye eden enzimlerdir. Hücrel redoks (indirgenme-yükseltgenme) dengesi normal koşullarda sıkı kontrol altındadır. Fakat ROT ve RNT antioksidan savunma sistemi tarafından yok edilemeyecek düzeylerde üretildiğinde oksidatif stres denilen dengesizlik gerçekleşir. Bu durum lipidlerin, proteinlerin, karbonhidratların ve nükleik asitlerin hasarına yol açabilir. Karaciğer hücreleri yüksek konsantrasyonda hücre içi GSH, SOD, CAT ve yağda çözünür antioksidan taşıdığından ROT ve RNT tarafından oluşturulan hasara direnç gösterirler. Antioksidan savunmalarının bileşimi dokudan dokuya hücreden hücreye farklılık gösterir. Fakat yine de antioksidanlar dengeli ve koordineli çalışırlar ve her biri diğerinin etkilerine bağımlıdır.

Antioksidanlar heterojen bir molekül ailesidir. Birçok şekilde sınıflandırılması yapılmıştır; kaynağına göre (doğal veya sentetik), yapısına göre (enzimatik veya nonenzimatik), özelliklerine göre (hidrofilik veya lipofilik), mekanizmalarına göre (katalitik veya metal şelatlama, süpürme ile ROS uzaklaştırma), etki merkezine göre (hücre içi; zar ve hücre dışı). Hücre içi antioksidan savunma SOD, CAT, GSH-Px ve GSSGR enzimleri, tripeptit glutatyon, polipeptit tioredoksin, HO (hem oksijenaz) enzimi ve peroksiredoksin ailesinden peroksidazlardan oluşmaktadır.

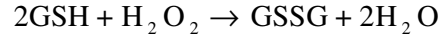
SOD, süperoksit' in  $H_2O_2$  ve  $O_2$ ' ye parçalanmasını sağlar:



CAT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O' ya parçalanmasını sağlar.



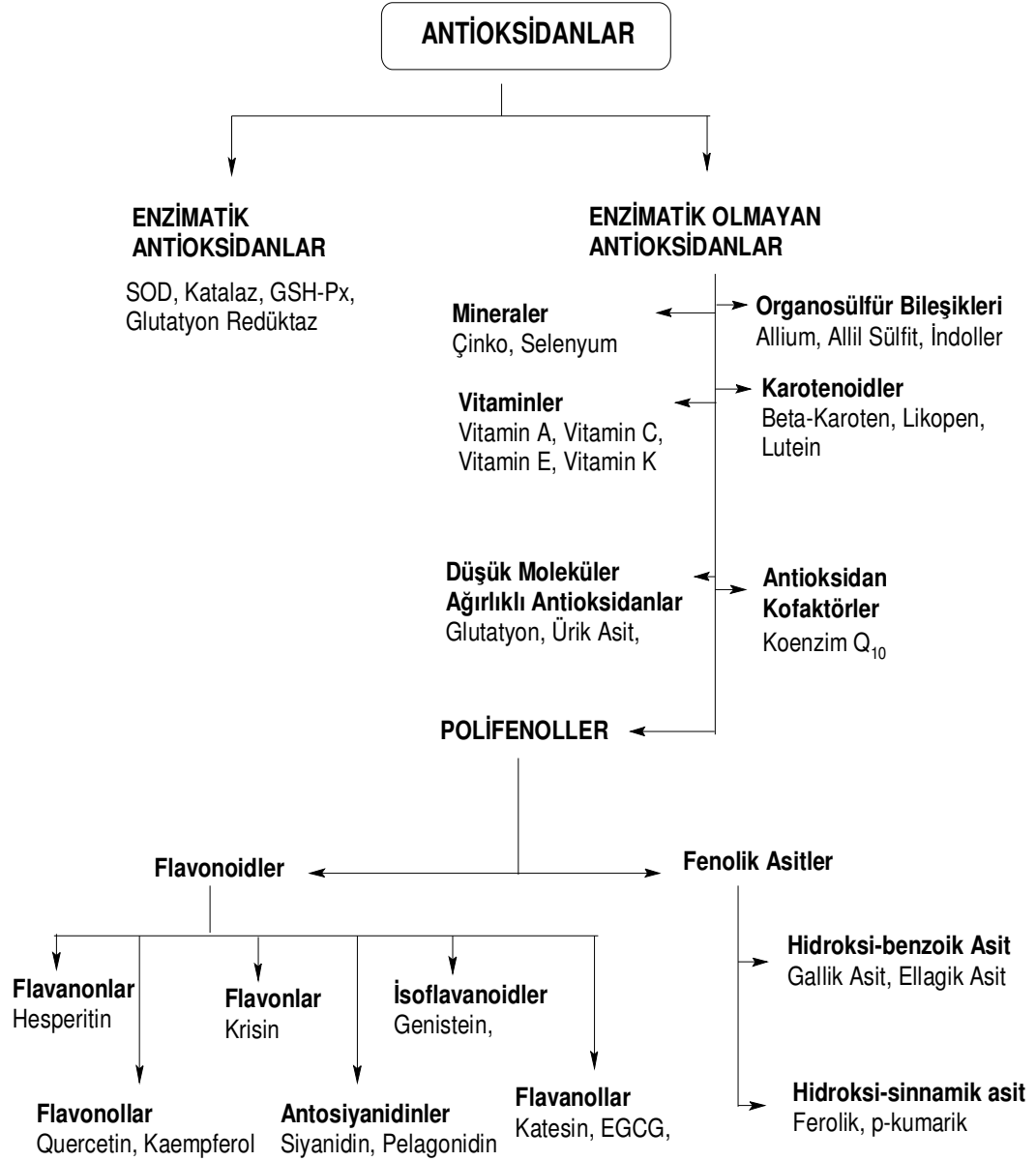
Glutasyon GSH' ın GSSG' ye oksidasyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' yi uzaklaştırır.



Başlıca hücre dışı antioksidan savunma, metal bağlayıcı proteinlerden oluşmaktadır. Serbest metaller olan demir ve bakır lipid peroksidasyonunu hızlandırarak ve hidroksil radikali oluşumunu katalizleyerek serbest radikal hasarını arttırabilir. Vücut, metal bağlayan proteinlerle bu metalleri nonreaktif durumda tutarak karşıt etkilerinden korunur.

*In vivo* olarak sentezlenen çeşitli düşük molekül ağırlıklı moleküller de antioksidan özelliklere sahiptirler. Bunlardan en önemlileri bilirubin, melatonin, lipoik asit, koenzim Q, ürik asit ve melaminlerdir.

Çok sayıda besin bileşeni *in vivo* olarak antioksidan etki gösterir. En önemlileri insan antioksidan sistemi için önemli olan hidrofilik askorbik asit (vitamin C) ve lipofilik alfa tokoferol' dur. Karotenoidler antioksidan etkilerini serbest radikal süpürücü olarak gösteren, bitkilerde bulunan renkli pigmentler grubudur. Başka bir antioksidan grup ise bitkisel fenollerdir. Bitkiler çok sayıda fenol içermektedir: Tokoferoller, tokotrienoller, flavonoidler, antosiyanidinler ve fenilpropanoidler gibi. Bunlar peroksil zincir kırıcı ve radikal süpürücü etkiyle peroksidasyonu inhibe ederler. Ayrıca OH<sup>-</sup>, ONOO<sup>-</sup> ve hipokloröz asit gibi ROT ve RNT' yi süpürüp metal şelatörleri gibi davranırlar (Glantzounis 2005).



**Tablo 2.1 Antioksidanların sınıflandırılması**

## 2.5. Polifenoller

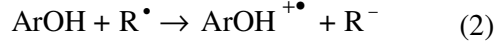
Polifenoller, diyetimizde en çok bulunan antioksidanlardır. Meyve, sebze, tahıl, zeytin, kuru baklagil, çikolata ve çay, kahve, şarap gibi içeceklerdeki yaygın bileşenlerdir. Polifenollerin başlıca grupları; flavonoidler, fenolik asitler, fenolik alkoller, stilbenler ve lignanlardır (D'Archivio 2007). Polifenolik bileşikler soya, meyve, sebze ve fındık gibi insan diyetinde bulunan fitokimyasalların farklı bir grubunu oluşturmaktadır. Bitkisel polifenoller çeşitli sınıflara ayrılırlar. Hidroksibenzoik asitler, hidroksisinamik asitler, antosiyaninler, proantosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanoller, flavanonlar, izoflavonlar, stilbenler ve lignanlar gibi (Liu 2007).

Polifenoller serbest radikalleri süpürürler ve inaktif hale getirmek için ROT ile tepkimeye girerler. Polifenollerin antioksidan özelliği üç ana mekanizmaya göre kabul edilmektedir. Serbest radikallerle direk reaksiyona girmesi, serbest metallere şelatlama yapması ve en son ürün olarak serbest radikal üretilen reaksiyonlarla ilgili olanıdır. Başlıca antioksidanlar olarak polifenoller, hidrojen atomu transferi (1) ve tek elektron transferi (TET) (2) mekanizmalarına göre serbest radikalleri inaktive ederler. 1. mekanizmada antioksidan ArOH, O-H bağının homolitik kopması yoluyla serbest radikale (R•) hidrojen atomu transfer eder ve onunla tepkime verir.



Reaksiyonun ürünleri zararlı RH türleri ve yükseltgenmiş ArO• radikalidir. Her ne kadar reaksiyon bir başka radikal oluşumuna yol açıyorsa bile R• radikale kıyasla daha az reaktiftir ve çeşitli faktörler tarafından stabilize edilmiştir.

TET mekanizmasında (2) R<sup>•</sup> radikaline bir elektron verilir.



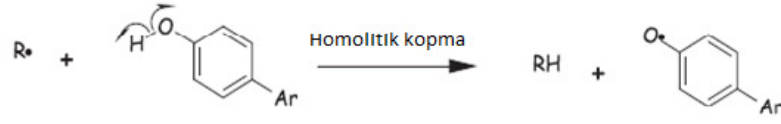
R<sup>-</sup> anyonu bir çift elektronu ile enerji olarak stabildir ve ArOH<sup>+•</sup> radikali de bu durumda daha az aktif radikal türüdür. Özellikle, serbest radikallerle tepkimeler sonucu oluşan ve molekülün tamamına yayılıp radikal stabilizasyonu ile sonuçlanan ArO<sup>-</sup> ve ArOH<sup>+•</sup> tek elektron ile aromatik yapıdadırlar.

Önceki mekanizmada fenolik O-H bağının ayrışma entalpisi (BAE) antioksidan etkiyi ölçmek için önemli bir parametredir. Daha düşük BAE değeri, fenolik O-H bağının daha kolay ayrışmasını ve serbest radikallerle daha kolay tepkimeye girmesini sağlar. TET mekanizmasında iyonizasyon potansiyeli (İP), süpürme etkisini ölçmek için en önemli parametredir. Daha düşük İP, elektronun daha kolay ayrılmasını sağlayıp serbest radikallerle daha kolay tepkimeye girmesini sağlar.

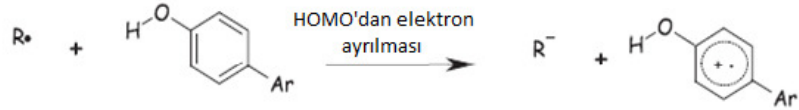
Başka bir antioksidan mekanizma ise tranzisyon metal şelatlamadır. Tranzisyon metal iyonları polifenoller tarafından şelatlanarak stabil kompleks bileşikler meydana getirilir. Metal iyonlarının serbest radikal üreten tepkimelere katılmasını engellemiş olurlar. Aslında düşük oksidasyon durumlarında bazı metaller (başlıca Fe<sup>2+</sup>), ROT' un çok tehlikeli bir çeşidi olan OH<sup>•</sup> radikalinin üretildiği fenton reaksiyonunda görev alabilirler (Leopoldini 2011).



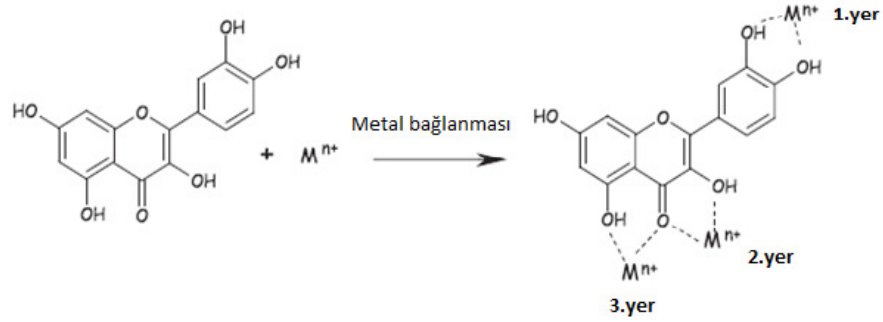
### 1. Hidrojen Atomu Transferi



### 2. Tek Elektron Transferi



### 3. Geçiş Metali Şelatlaması



Şekil 2.4 Antioksidan aktivitesi mekanizmaları

## 2.6. Flavonoidler

Flavonoidler, biyolojik membrandaki lipid oksidasyonunu inhibe edebilen doğal antioksidanların en yaygın ve en çok sayıda olan grubudur. Meyvelerde, sebzelerde, kuru yemişlerde, tohumlarda, tahıllarda, bitki kabuklarında, çiçeklerde ve çayda bulunurlar (Renugadevi 2009, Yi 2010). Flavonoidlerin biyolojik aktivitelerinin geniş bir aralıkta olduğu literatürde bildirilmektedir. Bunlar; antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antialerjik, sitotoksik, antitümör, nörodejeneratif hastalıklara karşı kullanımı, lipid peroksidasyon inhibisyonu gibi etkilerdir (Leopoldini 2011).



Flavonoid Sınıfları	/ - C <sub>3</sub> - / Yapısı	Örnekler	A ve B halka hidroksillerinin pozisyonları
Flavonlar		Apigenin Luteolin	5, 7, 4' 5, 7, 3', 4'
Flavonoller		Quercetin Myricetin	5, 7, 3' 5, 7, 3', 4'
Flavanonlar		Naringenin	5, 7, 4'
Flavanonoller		Fussin	7, 3', 4'
Antosiyanidinler		Cyanidin	5, 7, 3', 4', 5'

**Tablo 2.2 Flavonoidlerin heterohalkadaki / - C<sub>3</sub> - / yapısına göre sınıflandırılması**

### **2.6.1. Flavonoller**

Flavonoller, flavonoidlerin bitkilerde en çok rastlanan ve yapı çeşidi en fazla olan sınıfıdır. Flavonoller, kristalsi veya amorf özellikli olup, flavonlar gibi açık sarı veya sarı renklidirler. Bu bileşikler genellikle oksijenli ortamda, flavonlara göre daha dayanıksızdırlar. Flavonolun farklı pozisyonlarda hidroksil ve/veya metoksil grupları içeren türevleri bitki aleminde daha yaygındır (Bilaloğlu ve Harmandar 2000). Çeşitli sebze ve meyvelerde bulunurlar. Besinlerin içerisinde en yaygın bulunan flavonol quercetin' dir (Erlund 2004). Quercetin aglikon şeklinde bulunmaz, sadece konjuge yapıda bulunur. Yaklaşık olarak % 20-40 arasında quercetin 3'- pozisyonunda metillenerek isorhamnetin' e dönüşür (Liu 2007).

### **2.6.2. Flavanonlar**

Flavanonların çekirdek yapısını dayanıksız dihidro- $\gamma$ -piron halkası oluşturur. Bu nedenle flavanonlar baz veya asit etkisiyle kolayca parçalanarak uygun halkonlara dönüşürler. Flavanonların bitki aleminde en yaygın örnekleri, özellikle üç aglikonun; naringenin, eriodictyol ve hesperetin' in 7- mono- ve diglikozitleridir. Greylort kabuklarında naringenin' in 7- ramnoglukoziti (naringin), portakal ve mandalina kabuklarında ise hesperetin -7- ramnoglukozit (hesperidin) bulunur (Bilaloğlu ve Harmandar 2000).

### **2.6.3. Kateşinler**

Kateşinler çoğunlukla aglikon veya gallik asitle esterleşmiş halde bulunurlar. (+) – Kateşin ve (-) epikateşin elma, armut, üzüm ve şeftali gibi çeşitli meyve ve sebzelerde bulunurlar. En yüksek miktarda çayda bulunurlar (Erlund 2004).

#### **2.6.4. Flavonlar**

Flavonlar, flavonoidlerin bitki aleminde yaygın olarak rastlanan bir sınıfıdır. Bitkilerde hem serbest (aglikon), hem de glikozitleri halinde bulunurlar. Flavonların basit üyeleri, aromatik halkalarda hidroksil ve/veya metoksil grupları içeren türevleridir. Yapılarında yalnız oksijen fonksiyonu (hidroksi ve/veya metoksil grupları) içermelerinden dolayı bu grup bileşiklere oksijenli veya O-substitue flavonlar da denir (Bilaloğlu ve Harmandar 2000). Diyet’ te bulunan başlıca flavonlar apigenin ve luteolin’ dir. Diyet olarak alınımının oldukça düşük seviyede olmasının nedeni çok az yaygın olan bitkilerde bulunmasıdır. En önemli kaynakları kırmızı biber ve kerevizdir (Erlund 2004).

#### **2.6.5. Antosiyanidinler**

Antosiyanidinler doğada yaygın değildir. Buna rağmen, antosiyanidinlerin glikozitleri (antosiyeninler) bitki aleminde çok yaygındır. Antosiyeninler meyve, sebze, çiçek ve başka bitki dokularının çeşitli renklerinden (kırmızı, turuncu, lacivert vb.) sorumlu olan suda çözünen doğal pigmentlerdir. Bunlar, boyar madde olarak, besin endüstrisinde, eczacılıkta ve başka alanlarda geniş kullanıma sahiptirler (Bilaloğlu ve Harmandar 2000). Antosiyeninler siyah üzümde ve patlıcanda bulunur. Gönüllülere verilen 150 mg – 2 g doz antosiyenin, plazmada 10-50 nmol/L gibi çok düşük bir düzeyde bulunmuştur (Liu 2007). En yaygın antosiyanidinler pelargonidin, siyanidin, delphinidin ve malvinidin’ dir (Erlund 2004).

### 2.6.6. İzoflavonoidler

Başlıca baklagillerde bulunan genistein ve daidzein en sık rastlanan izoflavonoidlerdir. En yüksek konsantrasyonda fasulyede ve soya ürünlerinde bulunurlar (Erlund 2004).

### 2.7. Naringenin

Naringenin' in bir aglikonu ve doğal bir flavonoid olan naringenin (4',5,7-trihidroksi-flavanon-7-ramnoglucozid), turunçgil meyvelerde, domateste, çilekte, greyfurtta ve kakaoda yaygın olarak bulunmaktadır. Naringenin antitümör, antiinflamatuvar ve hepatoprotektif gibi farmakolojik özellikleri bakımından geniş olarak incelenmiştir. Naringenin' in silymarin ve quercetinle yapısal benzerliği naringenin' in arsenik toksisitesine karşı antioksidan ve şelat ajanı olarak kullanımını arttırmaktadır (Kannappan 2010, Jain 2011). Naringenin farmakolojik olarak potansiyel bir antioksidan kabul edilmiş, antikanserojen, antiaterojenik, hepatoprotektif, nefroprotektif ve antimutajenik aktiviteleri ölçülmüştür (Renugadevi 2009). Naringenin antioksidan, antiülser, antiproliferatif (hücre çoğalmasını önleyen) özelliklere sahiptir (Ekambaram 2008).

Naringenin, demir-bağımlı Fenton reaksiyonunu inhibe ederek demir iyonlarıyla şelat yapabilir ve böylece hidroksil radikali oluşumunu azaltabilir. Halkasındaki 4'-OH grubunun elektron verici ve radikal bağlayıcı özelliğinden dolayı naringenin' in etkili bir şekilde serbest radikal giderdiği kanıtlanmıştır. Bu özelliği, hücreyi serbest radikal saldırılarına karşı korur ve böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Naringenin' in lipofilik doğası, lipid bilayere (ikili lipid tabakası) bağlanmasını kolaylaştırarak serbest radikal oluşumunu indirgeyebilir ve böylece hücre zarını korur. Naringenin' in çeşitli ksenobiyotiklerin sebep olduğu böbrek hasarında, ortamdaki oksidanları azalttığı kanıtlanmıştır. Naringenin' in kadmiyuma maruz kalmış ratlarda SOD, CAT, GPx ve

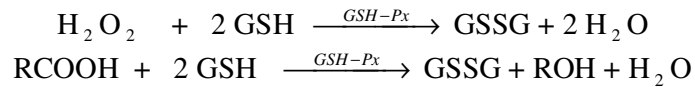
GST (Glutasyon S-transferaz) aktivitelerini arttırdığı ve antioksidan yapısı aracılığıyla ortamdaki ROT' a karşı hücre ölümünü engellediği bildirilmiştir (Renugadevi 2009). Deneysel hayvanlarına naringenin verilmesi hastalıklara karşı koruyucu özellik sağlamaktadır. Örneğin, naringenin' in inflamasyon, trombozis, tumorigenesis, aterosklerozis ve hiperkolesterolemia' ya karşı koruyucu özellik gösterdiği kaydedilmiştir. Son zamanlardaki çalışmalar, naringenin' in bağırsaktaki karbonhidrat absorpsiyonuna etki ederek antidiyabetik etki meydana getirdiğini göstermektedir. Dolayısıyla yemek sonrası kan glukoz düzeyi artışını da azaltmıştır. Ayrıca naringenin, yüksek yağ diyetiyle beslenmiş hayvanlarda hepatik steatozisi önler ve insülin hassasiyetini artırır. Naringenin hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve peroksinitrit ile tepkime verebilecek üç fenolik ve bir de keto grubuna sahip olduğundan dolayı, hem oksidatif hem de nitrozatif reaksiyonları inhibe edebilir. Potansiyel bir antioksidan olarak naringenin fruktozla beslenen ratlarda tiobarbiturik asit reaktif maddelerinin düzeylerini ve lipid hidroperoksitlerini azaltmış ve antioksidan aktivitelerini de arttırmıştır. Naringenin, yüksek kolesterolle beslenen ratlarda hem sirkülasyonu hem de hepatik olan tiobarbiturik asit reaktif maddelerini azaltmış, enzimatik antioksidanların aktivitelerini ise arttırmıştır. *İn vitro* olarak naringenin' in serbest radikal süpürme etkisini tanımlayan çok sayıda çalışma vardır. Bunlardan bazıları, Fe<sup>2+</sup> etkili linoleat peroksidasyonu, enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu, askorbik asit etkili MDA oluşumu ve nitrit etkili methemoglobin oluşumu gibi olaylarda naringenin inhibe edebilme özelliğini göstermektedir. Naringenin fosfolipidlerin polar kısmına bağlanması veya lipofilik özelliğinden dolayı lipid bilayere nüfuz etmesi, biyohücre zarlarına anti-lipidperoksidatif aktiflik verebilir (Kannappan 2010).

Turunçgillerin kabuğundan ekstrakte edilen naringenin' in ratlarda kan-beyin bariyerini geçtiği doğrulanmıştır. Böylece naringenin merkezi sinir sistemini etkilemek için kullanılabilir (Yi 2010). Naringenin karaciğer hücre sızmasını, lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu inhibe etmiş, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların düzeyini arttırmış, DNA hasarını inhibe etmiştir (Kannappan 2010).

## 2.8. GSH, GSH-Px ve Katalaz Enzimleri

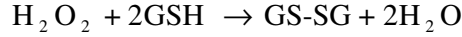
Aerobik reaksiyonlar hücreler açısından toksik olabilen reaktif oksijen türlerinin birikmesine yol açar. Biyotik ve abiyotik stresler hücre ortamında  $O_2^-$ ,  $OH^\cdot$  radikalleri ve  $H_2O_2$  gibi ROT' un artışına yol açabilir. Bu bağlamda aerobik organizmalar bu bileşikleri nötralize etmek için çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler geliştirmişlerdir. Enzimatik sistem SOD, CAT, askorbat peroksidaz ve GSH-Px gibi bir takımdan oluşmaktadır (Margis 2008).

GSH,  $\gamma$ -glutamin-sistein-glisin' den oluşan, endojen olarak çok miktarda bulunan ve protein olmayan tiyol şeklindeki bir tripeptittir. Serbest radikallerin ve peroksitlerin detoksifikasyonu, hücre büyümesinin ve protein fonksiyonunun düzenlenmesi, bağışıklık fonksiyonunun onarımı gibi işlevleri vardır. GSH, ksenobiyotikler ve ROT'un detoksifikasyonundaki tepkimeleri katalizleyen glutatyon transferaz ve peroksidaz enzimleri için bir substrattır. GSH, oksijen radikal patolojisine karşı savunma için anahtar öneme sahiptir (Parcell 2002). GSH serbest radikal ve peroksitlerle tepkimeye girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Kaslarda, beyinde, böbreklerde, eritrositlerde ve gözde bulunur. Ancak karaciğer ve göz dokusunda yüksek oranda bulunur (Çulhaoğlu 2009). Glutatyonun indirgenmiş glutatyon ve yükseltgenmiş glutatyon olmak üzere iki formu vardır. Aerobik koşullarda normal büyümenin ve metabolizmanın sonucunda oluşan toksik peroksitler uzaklaştırılırken eritrositlerdeki glutatyon (GSH) okside formuna (GSSG) çevrilir. Bu tepkimeyi selenyum atomu içeren GSH-Px katalizler.



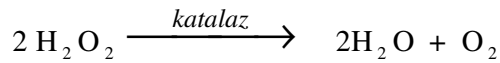
GSH serbest radikallere karşı organizmayı koruyan endojen bir antioksidandır. GSH, hücrelerdeki serbest radikaller ile tepkimeye girerek GSSG'ye dönüşür. Böylece hücreyi serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı korur. Hücrede çeşitli sebeplerle oluşan serbest radikaller arttığı zaman GSH konsantrasyonu azalırken GSSG konsantrasyonu artmaktadır. Bu nedenle hücrelerde GSH konsantrasyonu azalıp, GSSG konsantrasyonu artması çeşitli hastalıkların habercisi olabilmektedir (Çulhaoğlu 2009).

GSH-Px, GSH' ı elektron verici olarak kullanarak  $H_2O_2$  'yi, organik hidroperoksitleri veya uygun alkollerini suya indirgemeyi katalizleyen çeşitli izozim ailesinin genel adıdır (Margis 2008).



Selenyum minerali GSH-Px' in temel bir bileşenidir. GSH-Px ve diğer antioksidan enzimler (SOD, CAT ve glutatyon redüktaz gibi) lipid peroksidasyonunu düşürürler (Clarkson 2000). GSH-Px, hem sitozolde hem de mitokondride bulunur (Rodriguez 2004).

CAT, bitki, hayvan ve aerobik bakteri hücrelerinde bulunan bir enzimdir. Peroksizomlarda bulunmaktadır.  $H_2O_2$ ' nin  $H_2O$  ve moleküler oksijene dönüşümünde çok etkilidir. CAT, enzimler içerisinde en yüksek dönüşüm oranına (ürüne dönüşebilen substrat oranı) sahiptir. Bir molekül CAT dakikada 6 milyon molekül  $H_2O_2$ ' yi,  $H_2O$  ve  $O_2$ ' ye dönüştürebilir (Valko 2006).



## 2.9. MDA

Lipit peroksidasyonu, membrandaki doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller özellikleri nedeniyle, lipitler, proteinler ve nükleik asitler ile etkileşerek hücreye zarar verirler. Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde O<sub>2</sub> 'nin redüksiyonundan oluşan türlerin üretimiyle oksidatif stres meydana gelir. Bunun sonucunda hücre yapısındaki lipitlerde bozulmalar olur (Nordberg 2001).

MDA, biyolojik sistemde lipitlerin oksidasyonu sonucunda oluşmaktadır. Radikaller hücre membranına zarar vererek oksidatif stres oluştururlar. Radikallerin hücrede oluşturduğu lipit oksidasyonu sonucunda da hücrede MDA oluşmaktadır (Vattem 2005).

## 2.10. Çalışmanın Amacı

Sunulan çalışmada kurşun asetat verilen sıçanların plazma, beyin, karaciğer ve kas dokularında oluşturulan oksidatif strese bağlı hasarların giderilmesi ve yıkımın geciktirilmesinde polifenol türevi maddelerden naringenin' in etkisi araştırıldı. Bu zararlı etkileri gideren antioksidan etkiye sahip bazı enzimlerin aktivite değişimleri, dokulardaki vitamin E, MDA seviyelerindeki değişimler, total kolesterol ve plazma lipid bileşenlerinin düzeyleri incelenmiştir.

Sonuçlar ışığında, naringenin' in oksidatif strese karşı etkinliği incelenmiştir.



### **3.MATERYAL ve METOD**

#### **3.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler**

Asetonitril, metanol, n-hekzan, izopropanol, etil alkol, sodyum klorür, potasyum bikarbonat, sülfürik asit, hidroklorik asit, tiyobarbiturik asit, trikloroasetik asit (TCA), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fosfat tamponu, EDTA-Na<sub>2</sub>, redükte GSH, Tris-EDTA tamponu, 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit, naringenin, kurşun asetat, fizyolojik su.

#### **3.2. İnceleme Materyali**

Deneyisel uygulama, ağırlıkları birbirine yakın erkek wistar albino sıçanların karaciğer, kas, beyin dokuları ve plazmaları.

#### **3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar**

Santrifüj, homojenizatör, gaz kromatografi, UV spektrofotometre, vorteks, otomatik pipetler, derin dondurucu (-50 °C), vida kapaklı deney tüpleri ve santrifüj tüpleri.

#### **3.4. Deney Hayvanları**

Deneyisel çalışmada kullanılan erkek wistar albino cinsi sıçanlar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜTDAM)' nden temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulama gerçekleştirildi. Sıçanlar havalandırma sistemi bulunan bir

ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki sıçan yemleriyle beslendi. Sıçanların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Deneysel çalışmalara başlamadan önce çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının buldukları ortamın sıcaklığı 22 - 25 °C arasında sabit tutuldu. Hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saat te karanlıkta takip edildi. Deneysel çalışmalarda ortalama ağırlıkları 240 gr (240 ±40 gr) olan toplam 28 adet 4 aylık wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar dört gruba ayrıldı. Bu gruplar ve gruplara verilen madde konsantrasyonları aşağıda belirtilmiştir. Araştırmada 28 adet yetişkin, 200-250 gr ağırlığında erkek Wistar albino sıçan kullanıldı.

Çalışmada dört grup oluşturuldu:

1. Kontrol grubu (K)
2. Naringenin grubu (N)
3. Kurşun asetat grubu (P)
4. Kurşun asetat + Naringenin grubu (PN)

Naringenin 50 mg/kg dozda olacak şekilde sıvı yağda hazırlanarak orogastrik sonda ile uygulandı. Kurşun asetat ise günlük 500 ppm olacak şekilde içme suyuna karıştırıldı (Bennet 2007). Kurşun asetat distile suda çözüldü ve çökelmeyi önlemek için birkaç damla (0,5 ml) asetik asit eklendi. Kontrol grubundaki sıçanların içme suyuna aynı asetat miktarını sağlayacak dozda sodyum asetat ilave edildi. Dört hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek dokuları çıkarıldı.

### 3.5. Lipidlerin Ekstraksiyonu

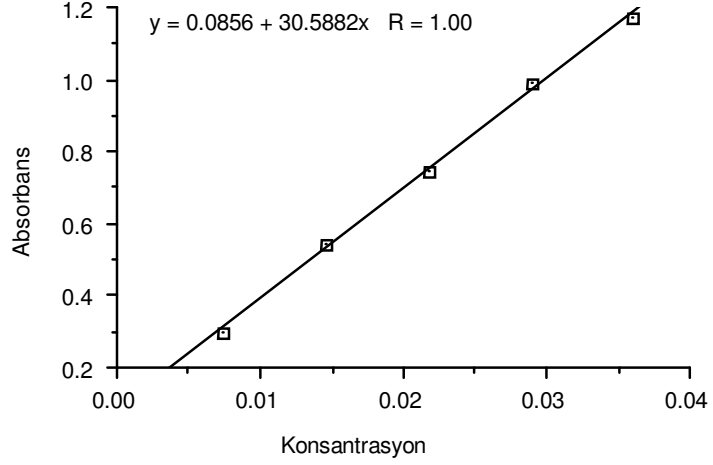
Doku örneklerinden lipidlerin ekstraksiyonu 3:2 (v/v) hekzan izopropanol karışımının kullanıldığı Hara ve Radin metoduyla yapıldı (Hara 1978). Bunun için; 0.5-1 gr doku örneği 3:2 (v/v) oranında 5 ml hekzan-izopropanol karışımı içinde 30 sn süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon kabı 2 ml parçalama çözeltisi ile yıkandı ve santrifüj tüplerine alındı. Daha sonra 4500 rpm' de 10 dk süreyle santrifüj edilen doku örneklerinden süpernatant kısım alınarak ağız kapaklı deney tüplerine konuldu.

### 3.6. Total Lipit Analizi

#### Gerekli Reaktifler:

1. Stok Standart: 200 mg zeytinyağı 100 ml kloroformda hazırlandı. 20°C'de saklandı.
2. Renk Ayıracı (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> - Vanilin) : 500 ml' lik mezürde 1 gr vanilin 160 ml saf suda çözülerek ve fosforik asitle 500 ml' ye tamamlandı. Bu karışım kahverenkli şişelerde 6 ay kadar saklanabilir.
3. Konsantre Sülfürik Asit: Dokulardan ekstrakte edilen lipid ekstratları içindeki total lipid miktarı Frings ve ark. tarafından belirtilen fosfo vanilin metoduna göre bulundu (Frings 1972). Bu metod, doku örneklerinden lipidlerin ekstraksiyonu 3:2 (v/v) hekzan izopropanol karışımının kullanıldığı Hara ve Radin metoduyla yapıldı (Hara 1978). Her bir lipid ekstraktı 10µl' lik deney tüplerine alınarak 0,5 ml (500 µl) konsantre sülfürik asit ile muamele edilmiş, vorteksle karışımları sağlanarak kaynar su banyosunda 10 dakika ısıtılmıştır. Soğutulduktan sonra 10 ml fosfo anilin reaktifi eklenmiş, vorteksle karışımları sağlanmış ve bu karışım 37 °C' deki su banyosunda 15 dakika inkübe edilmiştir. Soğutulduktan sonra 540 nm' de bütün örnekler okunmuştur. Standart olarak

saf zeytinyağı kullanılmıştır. Şekil 3.1 'deki kalibrasyon eğrisine göre hesaplamalar yapılmıştır.



**Şekil 3.1 Total lipid kalibrasyon eğrisi**

### 3.7. Lipit Peroksidasyon Tayini

Lipit Peroksidasyon miktarı, tiyobarbiturik asit reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre ölçüldü (Placer 1966). MDA miktarı, lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak belirtilmektedir. Örnek numuneden bir hacim ve stok çözültiden iki hacim (0,25 N HCl içerisinde % 0,375 tiobarbiturik asit ve % 15 trikloroasetik asit) santrifüj tüpünde karıştırıldı. Çözelti 15 dakika kaynar suda ısıtıldı ve daha sonra soğutuldu. Çökelti 2500 rpm' de 10 dakika santrifüjlenerek ayırım sağlandı. Sonra 532 nm' de test örnekleri okundu. Lipit peroksidasyon miktarı nmol/gr olarak belirtilmektedir. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

### 3.8. Doku ve Plazma Katalaz Enzim Aktivitesi Tayini

Katalaz enzim aktivitesi Aebi, H. (1974) tarafından önerilen Lartillot, S. ve arkadaşları (1988) tarafından geliştirilmiş metoda göre yapıldı (Aebi 1974). Enzimatik aktivite tayini,  $H_2O_2$ ' in 240 nm' deki absorbansının enzim ile etkileşmesinden sonra zamanla azalmasına bağlı olarak yapıldı.  $H_2O_2$  için molar ekstinksiyon katsayısı 0,0396  $cm^2/\mu mol$ ' dur. Yöntemde 50 mmol/L test edilecek enzim çözeltisi üzerine 2,5 ml substrat çözeltisi eklenir ve 37 °C' de 2 dakika bekletilir. Reaksiyonu durdurmak için ortama 0,5 ml 1M HCl çözeltisi ilave edilir. 240 nm' deki absorbansı ölçülür. Kör olarak 2,5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH=6,8) ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözelti kullanılır.  $H_2O_2$ ' nin başlangıçtaki absorbansını belirlemek için 2,5 ml substrat ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülür. Proteinin neden olacağı absorbansı belirlemek için 20  $\mu L$  enzim çözeltisi, 2,5 ml fosfat tamponu ve 0,5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülür. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

### 3.9. Doku ve Plazma GSH-Px Enzim Aktivitesi Tayini

GSH-Px enzim aktivitesi ölçümü Lawrence ve Burk metoduna göre yapıldı (Lawrence 1976). Reaksiyon karışımı 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH=7,6), 1 mM EDTA, 1 mM sodyum azide, 0,2 mM redükte NADPH, 1 EU/ml GSSG, 1 mM GSH, 0,2 mM  $H_2O_2$  içermektedir. Enzim kaynağından 0,1 ml alınarak 0,8 ml yukarıdaki karışımdan ilave edildi. Bu ilave karışıma 0,1 mL peroksit solüsyonu ilave edilerek reaksiyon başlatılmadan önce 25 °C' de inkübe edildi. 5 dakika içerisinde 340 nm' de absorbansları ölçülerek alındı. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi. Protein miktarı da Lowry metoduna göre ölçüldü (Lowry 1951). Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

### **3.10. Doku ve Plazma GSH Tayini**

Örnek GSH miktarı Sedlak ve Lindsay metodu kullanılarak 412 nm' de ölçümü yapıldı (Sedlak 1968). Örnekler % 50 TCA ile çöktürüldü ve 5 dakika 1000xg' de santrifüj edildi. Çöktürülen örneğin üst fazından 0,5 ml alınarak 2 ml Tris-EDTA tamponu (0,2 M, pH=8,9) ve 0,1 ml 0,01 M 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit ilave edildi. Bu karışım oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve spektrofotometre' de 412 nm' de absorbansları ölçülerek alındı. Deneysel çalışmada Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

### **3.11. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel değerlendirme SPSS 10,0 programı ile yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırma Varyans analizi (ANOVA) yapılarak ve gruplar arasındaki farklılıklar LSD testinin uygulanması ile bulundu. Standart sapma olarak standart error alındı.

#### 4. BULGULAR

**Tablo 4.1 Karaciğer dokusu biyokimyasal parametreler**

Gruplar	MDA nmol/gr	GSH μmol/gr	GSH-Px U/mg protein	KATALAZ IU/ml	Total Lipit mg/gr
K	78,15±4,43 <sup>a</sup>	638,50±40,19 <sup>a</sup>	1,77±0,21 <sup>a</sup>	712,66±31,98 <sup>a</sup>	47,60±2,41
N	75,33±1,17 <sup>at</sup>	664,50±38,89 <sup>at</sup>	2,52±0,24 <sup>bc</sup>	737,66±25,03 <sup>at</sup>	64,93±1,87 <sup>d</sup>
P	125,00±3,81 <sup>d</sup>	382,50±22,47 <sup>d</sup>	1,26±0,17 <sup>a</sup>	1049,16±54,57 <sup>d</sup>	63,23±0,65 <sup>d</sup>
PN	86,00±1,09 <sup>at</sup>	371,00±34,07 <sup>d</sup>	3,36±0,34 <sup>dt</sup>	789,33±35,99 <sup>at</sup>	56,31±2,59 <sup>cb</sup>

K grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001

P grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: p<0.05, z: p<0.01, t: p<0.001

Karaciğer dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde; K grubu MDA düzeyi ile N ve PN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı saptanırken (p>0.01), P grubunun MDA düzeyinin önemli derecede arttığı tespit edildi (p<0.001). P grubu MDA düzeyinin N ve PN gruplarından oldukça yüksek çıktığı saptandı (p<0.001). Karaciğer dokusu GSH düzeyi incelendiğinde; K grubu GSH düzeyi ile N arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı (p>0.05). Ancak K grubuna göre P ve PN gruplarında oldukça düşük çıktığı gözlemlendi (p<0.001). Karaciğer dokusu GSH-Px enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyi ile P arasında istatistiksel fark olmadığı gözlenmesine rağmen nisbi bir azalış görülmüştür (p>0.05). N ve PN gruplarının GSH-Px enzim aktivite düzeylerinin K grubuna göre yüksek çıktığı saptandı (p<0.05, p<0.001). Karaciğer dokusu katalaz enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu katalaz enzim aktivite seviyesi ile N ve PN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi. Ancak K grubuna göre P grubu katalaz enzim aktivite seviyesinin oldukça yüksek çıktığı saptandı (p<0.001). Karaciğer dokusu total lipit seviyeleri

incelendiğinde; K grubu total lipit seviyesinin diğer gruplardan düşük çıktığı saptandı (p<0.001, p<0.01).

**Tablo 4.2 Beyin dokusu biyokimyasal parametreler**

Parametreler	Gruplar			
	K	N	P	PN
MDA nmol/gr	99,50±5,24 <sup>a</sup>	102,33±3,54 <sup>az</sup>	126,83±4,43 <sup>d</sup>	110,50±4,25 <sup>ay</sup>
GSH µmol/gr	145,02±2,89 <sup>a</sup>	139,05±1,60 <sup>a</sup>	147,33±4,77 <sup>a</sup>	144,07±3,33 <sup>a</sup>
GSH-Px U/mg protein	27,66±0,88	23,16±1,01 <sup>bt</sup>	13,16±1,07 <sup>d</sup>	23,50±1,62 <sup>bt</sup>
Katalaz IU/ml	60,17±1,82 <sup>a</sup>	65,41±1,62 <sup>by</sup>	58,66±1,05 <sup>a</sup>	66,33±1,87 <sup>by</sup>
Total Lipit mg/gr	62,33±0,70 <sup>a</sup>	56,16±2,86 <sup>a</sup>	62,08±0,42 <sup>a</sup>	54,13±1,31 <sup>ay</sup>
Vitamin A µgr/gr	58,41±1,85 <sup>a</sup>	62,00±3,36 <sup>ay</sup>	47,00±2,09 <sup>c</sup>	58,20±2,20 <sup>ay</sup>
Vitamin E µgr/gr	47,89±1,68	63,40±6,31 <sup>by</sup>	38,28±4,47 <sup>a</sup>	44,66±1,68 <sup>a</sup>

K grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001

P grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: p<0.05, z: p<0.01, t: p<0.001

Beyin dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde; K grubu MDA düzeyi ile N ve PN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi (p>0.05). K grubu MDA



düzeyine göre P grubunun yüksek çıktığı tespit edildi ( $p<0.001$ ). P grubu MDA düzeyinin N ve PN gruplarına göre yüksek çıktığı gözlemlendi ( $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ). Beyin dokusu GSH düzeyleri incelendiğinde; tüm gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ( $p<0.05$ ). Beyin dokusu GSH-Px enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyine göre N, P ve PN gruplarının düşük çıktığı tespit edildi ( $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ). P grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyinin PN grubuna göre düşük çıktığı gözlemlendi ( $p<0.001$ ). Beyin dokusu katalaz enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu katalaz enzim aktivite düzeyi ile P grubu arasında istatistiksel fark olmadığı saptanırken ( $p>0.05$ ), K grubuna göre N ve PN grupları katalaz enzim aktivite düzeylerinin yüksek çıktığı tespit edildi ( $p<0.05$ ). P grubu katalaz enzim aktivite düzeyinin N ve PN gruplarına göre düşük çıktığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Beyin dokusu total lipit düzeyleri incelendiğinde; K grubu total lipit düzeyi ile N ve P grupları arasında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ( $p>0.05$ ). K grubu total lipit seviyesine göre PN grubu seviyesinin düşük çıktığı saptandı ( $p<0.05$ ). P grubu total lipit düzeyinin PN grubuna göre yüksek çıktığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Beyin dokusu Vit E düzeyi incelendiğinde K grubu Vit E düzeyinin N grubundan düşük çıktığı tespit edildi ( $p<0,05$ ). K grubu Vit E düzeyine göre P grubunda nispi bir azalış tespit edildi ( $p>0,05$ ). Kombinasyon grubun Vit E düzeyinde naringenin etkisiyle P grubuna göre nispi bir artış belirlendi ( $p>0,05$ ). Beyin dokusu Vit A düzeyi incelendiğinde K grubunun P grubuna göre yüksek çıktığı saptandı ( $p<0,01$ ). K grubu ile N ve kombinasyonlu grup arasında istatistiksel fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ). P grubu Vit A düzeyinin N grubuna göre düşük çıktığı saptandı ( $p<0,05$ ). Aynı şekilde naringenin etkisiyle kombinasyonlu grupta P grubuna göre kombinasyonlu grupta artış tespit edildi ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.3 Kas dokusu biyokimyasal parametreler**

Gruplar	MDA nmol/gr	GSH µmol/gr	GSH-Px U/mg protein	Katalaz IU/ml
K	95,56±2,87 <sup>a</sup>	97,66±1,37 <sup>a</sup>	9,59±0,21 <sup>a</sup>	181,51±12,82 <sup>a</sup>
N	82,78±2,46 <sup>ct</sup>	98,75±1,86 <sup>az</sup>	7,35±0,38 <sup>b</sup>	156,61±8,16 <sup>az</sup>
P	127,85±3,46 <sup>d</sup>	92,43±1,03 <sup>b</sup>	7,03±0,58 <sup>c</sup>	113,33±9,83 <sup>d</sup>
PN	93,96±2,88 <sup>az</sup>	98,65±2,10 <sup>az</sup>	10,16±0,88 <sup>az</sup>	143,41±5,16 <sup>cy</sup>

K grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001

P grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: p<0.05, z: p<0.01, t: p<0.001

Kas dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde; K grubu ve PN grubu MDA düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptanırken (p>0.05), K grubuna göre N grubu MDA düzeyinin azaldığı (p<0.01), P grubu MDA düzeyinin ise oldukça arttığı gözlemlendi (p<0.001). P grubu MDA düzeyinin PN ve N gruplarına göre yüksek çıktığı saptandı (p<0.01, p<0.001). Kas dokusu GSH seviyeleri incelendiğinde; K grubu GSH düzeyi ile N ve PN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı (p>0.05). K grubu GSH düzeyine göre P grubunun azaldığı gözlemlendi (p<0.05). P grubu GSH düzeyine göre N ve PN gruplarının daha yüksek çıktığı saptandı (p<0.01). Kas dokusu GSH-Px enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyi ile PN grubu arasında istatistiksel fark gözlenmezken (p>0.05), K grubuna göre N ve P gruplarında azalmalar gözlemlendi (p<0.05, p<0.01). Ayrıca PN grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyinin P grubundan yüksek çıktığı saptandı (p<0.01). Kas dokusu katalaz enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu katalaz enzim aktivite düzeyi ile N grubu arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı (p>0.05). Ancak K grubu katalaz enzim aktivite seviyesine göre P ve PN grubu düşük çıkmıştır (p<0.001, p<0.01).

**Tablo 4.4 Plazma biyokimyasal parametreler**

Parametreler	Gruplar			
	K	N	P	PN
MDA nmol/gr	9,70±0,15 <sup>a</sup>	6,60±0,82 <sup>dt</sup>	9,83±0,41 <sup>a</sup>	8,32±0,31 <sup>ay</sup>
GSH µmol/gr	131,33±5,66 <sup>a</sup>	139,16±4,81 <sup>ay</sup>	123,12±3,49 <sup>a</sup>	136,31±5,77 <sup>a</sup>
GSH-Px U/mg protein	1,63±0,11 <sup>a</sup>	1,46±0,07 <sup>a</sup>	1,76±0,05 <sup>a</sup>	3,45±0,22 <sup>dt</sup>
Katalaz IU/ml	195,51±11,76 <sup>a</sup>	193,83±23,08 <sup>at</sup>	86,50±6,43 <sup>d</sup>	98,59±2,71 <sup>d</sup>
AST IU/L	230,20±11,31	177,47±16,80 <sup>bt</sup>	274,40±10,64 <sup>b</sup>	187,22±13,48 <sup>bt</sup>
ALT IU/L	80,40±1,72 <sup>a</sup>	67,60±4,26 <sup>b</sup>	74,20±5,06 <sup>a</sup>	65,25±4,95 <sup>b</sup>
Total Kolesterol mg/dL	24,80±0,96	27,61±0,67 <sup>b</sup>	29,42±1,02 <sup>c</sup>	29,82±0,58 <sup>c</sup>
Total Gliserit mg/dL	43,80±3,82 <sup>a</sup>	60,61±5,60 <sup>b</sup>	52,55±1,92 <sup>a</sup>	51,61±6,14 <sup>a</sup>

K grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001

P grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: p<0.05, z: p<0.01, t: p<0.001

Plazma MDA düzeyi incelendiğinde; K grubuna göre N grubunun azaldığı (p<0.001), P ve PN gruplarının istatistiksel fark vermediği gözlemlendi (p>0.05). Ancak P grubu MDA düzeyinin N ve PN gruplarına göre yüksek çıktığı gözlemlendi (p<0.001, p<0.05). Plazma GSH düzeyi incelendiğinde; K grubu GSH düzeyi ile N, P ve PN grupları arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı (p>0.05). P grubu ile PN arasında

istatistiksel fark olmadığı gözlenirken ( $p>0.05$ ), N grubunun P grubundan yüksek çıktığı saptandı ( $p<0.05$ ). Plazma GSH-Px enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu GSH-Px enzim aktivite düzeyi ile N ve P arasında istatistiksel fark olmadığı gözlenirken ( $p>0.05$ ), PN grubunda K grubuna göre artış gözlenmiştir ( $p<0.001$ ). P grubu ile K ve N grupları arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ). Ancak PN grubunda P grubuna göre artış saptandı ( $p<0.001$ ). Plazma katalaz enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; K grubu katalaz enzim aktivite düzeyi ile N grubu arasında istatistiksel fark olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ). Ancak K grubu katalaz enzim aktivite düzeyine göre P ve PN grupları katalaz enzim aktivite düzeyi düşük çıkmıştır ( $p<0.001$ ). P grubuna göre PN grubu istatistiksel fark vermezken ( $p>0.05$ ), N grubu yüksek çıkmıştır ( $p<0.001$ ). Plazma AST düzeyleri incelendiğinde; K grubuna göre N ve PN gruplarının düşük çıktığı gözlenirken ( $p<0.05$ ), P grubunun ise yüksek çıktığı saptandı ( $p<0.05$ ). P grubuna göre N ve PN gruplarının düşük olduğu gözlendi ( $p<0.001$ ). Plazma ALT düzeyleri incelendiğinde; K grubu ile P arasında istatistiksel fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), N ve PN gruplarının K grubuna göre düşük çıktığı saptandı ( $p<0.05$ ). Plazma total kolesterol düzeyleri incelendiğinde; K grubuna göre N, P ve PN gruplarının artış gösterdiği saptandı ( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ ). Plazma total gliserit düzeyleri incelendiğinde; K grubuna göre N grubunun yüksek çıktığı saptandı ( $p<0.05$ ). P ve PN gruplarının K grubuna göre istatistiksel fark vermediği gözlendi ( $p>0.05$ ).

## 5.TARTIŞMA

Bu çalışmada kurşun asetat verilmiş sıçanlarda flavonoid türevi maddelerden naringenin' in kas, karaciğer, beyin ve plazma' da MDA, GSH, GSH-Px, katalaz, total lipit düzeylerine etkisi incelendi.

İncelenen tüm dokularda kontrol grubu MDA düzeylerine göre kurşun grubunda istatistiksel farklar tespit edildi. Özellikle kas, karaciğer ve beyin dokularında kurşun verilen ratlarda MDA düzeylerinde artışlar oldu. Plazmada ise anlamsal fark gözlenmemesine rağmen nispi bir artış gözlemlendi. Kontrol grubu MDA düzeylerine göre plazma ve kas dokusunda naringenin verilen ratların MDA düzeyinin düşük çıktığı saptanırken; karaciğer ve beyin dokularında kontrol grubu ile naringenin grubu MDA düzeyleri arasında fark gözlenmedi. Naringenin maddesinin etkisiyle tüm dokuların kombinasyonlu gruplarında MDA düzeylerinin kurşun grubuna göre azaldığı saptandı. Biyokimyasal parametrelerden MDA sonuçlarımızda, naringenin' in antioksidan etkisini kurşuna maruz kalan ratlar üzerinde açıkça görmekteyiz. Yapılan çalışmalarda 21 gün boyunca 1000 ppm, 2000 ppm kurşun verilen rat beyin dokularında nöral hasarların, 150 ppm verilen rat beyin dokularına göre daha fazla olduğu tespit edilmiş. Ayrıca 500 ppm kurşun verilen rat beyin dokularında önemli oranda lipit peroksidasyon ürünlerinin ve oksidatif stresin artışı gözlenmiştir (Bennet 2007).

*İn vitro* ve *in vivo* olarak yapılan birçok çalışmada kurşunun oksidatif stres ürünleri olan hidroperoksitler, singlet oksijen, hidrojen peroksit ve süperoksit radikallerinin artışına neden olduğu belirtilmiştir. MDA önemli bir oksidatif stres belirtecidir. Birçok çalışmada kurşunun hücre membran yapısındaki yağ asitlerinin bileşimlerini değiştirdiği belirtilmiştir. Ayrıca karaciğerdeki MDA düzeyini arttırdığı açıklanmıştır. Kurşun verilen rat karaciğer dokularında bir flavonoid türevi madde olan puerarin' in radikal üretimi ve MDA düzeylerini azalttığı açıklanmıştır (Liu 2011).

Yaptığımız çalışmada plazma GSH düzeyleri arasında fark olmadığı bulunurken, kontrol grubuna göre kurşun asetat grubunda nispi bir azalış gözlemlendi. Kas ve karaciğer dokusunda ise kurşun asetat grubu GSH düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalış gösterdi. Beyin dokusunda kontrol ve kurşun asetat grubu GSH düzeylerinin birbirine yakın değerlerde çıktığı tespit edildi. Özellikle kas dokusunda naringenin' in etkisiyle kombinasyonlu grubun GSH düzeyinin kontrol grubu seviyesine çıktığı saptandı. Ayrıca plazmada kurşun grubundaki nispi azalışın naringenin etkisiyle kombinasyonlu grupta arttığı tespit edildi.

Tüm dokularda kontrol grubu GSH düzeyi ile naringenin grubu arasında farkların olmadığı bulunmasına rağmen naringenin grubu GSH düzeyinin tüm dokularda nispi olarak attığı gözlemlendi. Kombinasyonlu gruplarda ise naringenin etkisiyle kurşun grubuna göre nispi artışların ve özellikle kas dokusunda anlamsal artışın olduğu saptandı. GSH yapısında bulunan -SH grubu ile oksidatif stres ürünleri arasında reaksiyon gerçekleşerek radikal kaynağının etkinliği azalmaktadır. Kurşun ile GSH yapısında bulunan -SH grubunun bağlanarak GSH'ın antioksidan aktivitesini azalttığı literatürlerde belirtilmiştir. Ayrıca ratlara verilen kurşun grubu karaciğer dokularında GSH düzeyinin önemli oranda düştüğü belirtilmiştir (Liu 2011). Aynı çalışmada kurşuna karşı verilen flavonoid türevi puerarin maddesinin GSH düzeyini önemli oranda arttırdığı belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise flavonoid türevi naringenin' in dokularda nispi ve anlamlı olarak GSH düzeylerini arttırdığını gözlemlemekteyiz. Bu sonuçlarımız yukarıda açıklanan literatürlerle uyumaktadır. Naringenin verilen rat dokularında antioksidan etki ile GSH düzeyinin kontrol seviyesinde, kombinasyonlu grupta ise artışların olduğu görülmektedir.

Yaptığımız çalışmada beyin ve kas dokularında GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuna göre kurşun grubunda azaldığı tespit edildi. Karaciğer dokusunda ise nispi bir azalış gözlemlendi. Naringenin verilen gruplarda, özellikle karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre naringenin grubunda artış gözlemlendi. Beyin ve kas dokusunda ise anlamsal

olarak GSH-Px enzim aktivite düzeyinde kontrol grubuna göre naringenin grubunda azalış saptandı. Aynı şekilde plazmada da nispi bir azalış belirlendi.

Özellikle kombinasyonlu grupta naringenin' in etkisiyle kurşun grubuna göre GSH-Px enzim aktivite düzeylerinde kas, beyin, karaciğer dokularında ve plazmada artışlar olduğu tespit edildi.

Katalaz enzim aktivite düzeyleri incelendiğinde; plazma ve kas dokusunda kontrol grubuna göre kurşun grubunda anlamsal olarak azalışlar saptanırken, beyin dokusunda ise nispi bir azalış gözlemlendi. Tam tersine karaciğer dokusunda ise kontrol grubuna göre kurşun grubunda enzim aktivitesi artışı belirlendi. Naringenin verilen grupta kontrol grubuna göre katalaz enzim aktivitesi beyin dokusunda artış gözlenirken karaciğer, kas ve plazmada istatistiksel farkların olmadığı belirlendi. Ancak kombinasyonlu grupta naringenin etkisiyle beyin ve kas dokularında katalaz enzim aktivitelerinin kurşun grubuna göre kombinasyonlu grupta arttığı gözlemlendi. Plazmada ise nispi bir artış saptandı. Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre kombinasyonlu grupta nispi bir artış tespit edildi. Bu sonuçlardan naringenin' in metabolizmadaki dokularda genel olarak GSH-Px ve katalaz enzim aktivitelerinde artışlar sağladığını kurşun etkisiyle de bu enzim aktivitelerinin azalma eğiliminde olduğunu düşünmekteyiz.

İki hafta boyunca kurşun asetat verilmiş keçilerde 7. günün sonunda eritrositlerin hemolizatlarındaki GSH-Px, SOD, katalaz düzeylerinde artma, 14. günün sonunda ise bütün parametrelerde önemli oranda azalma gözlenmiştir. Bu azalma, 14. güne kadar olan lipid peroksit düzeylerinin artışına bağlanmıştır (Mousa vd. 2002). Başka bir çalışmada 28 gün boyunca dişi sığırlara içme suyu ile kurşun asetat verilmiş ve kurşun verilen grupta SOD ve katalaz düzeylerinin azaldığı, lipid peroksit seviyelerinin ise arttığı gözlenmiştir. Kurşun maruziyeti sonucu eritrositlerin antioksidan savunmasının azaldığı gözlenmiştir (Patra ve Swarup 2000).

Literatürde kadmiyum ile oksidatif stres oluşturulmuş rat karaciğerinde ve serumunda naringenin' in etkisi araştırılmıştır. 4 hafta beslenen ratlarda, kadmiyumun etkisiyle serum AST, ALT ve MDA düzeylerinin arttığı naringenin etkisiyle bu düzeylerin kontrol seviyesine indiği belirtilmiştir. Kadmiyum verilen rat karaciğerinde MDA düzeyi yüksek çıkarken, GSH, SOD, katalaz, GSHP-x, GSH, Vitamin E ve Vitamin C düzeylerinin düşük çıktığı belirtilmiştir. Naringenin etkisiyle bu parametrelerin kontrol grubu seviyesine indiği açıklanmıştır (Renugadevi 2009). Naringenin karaciğer hücre sızmasını, lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu inhibe etmiş, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların düzeyini arttırmış, DNA hasarını inhibe etmiştir (Kannappan 2010).

Sonuç olarak kurşun asetat verilen ratlarda oksidatif stres parametresi olan MDA' nın artışını antioksidan etkileri olan naringenin' in azalttığı görülmüştür. Kurşunun sebep olduğu oksidatif stresin ana nedeni hücrelerin prooksidan/oksidan dengelerini bozmasıdır. GSH, GSH-Px ve katalaz düzeylerindeki olumsuzluklar üzerine naringenin' in düzeltici etkileri olduğunu düşünmekteyiz.

Sonraki çalışmalar için naringenin' in toksik maddelere karşı etkinliğinin incelenmesinde bu çalışmanın önemli bir yer tutacağını düşünmekteyiz.



## KAYNAKLAR

- Aebi, H. 1974. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU (ed.). Academic Press: New York, 673-677.
- Annabi Berrahal, A., Nehdi, A., Hajjaji, N., Gharbi, N., El-Fazâa, S. 2007. Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. *C R Biol.*, 330 (8), 581-588.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, SJ., Das, DK., Ray, SD., Kuszynski, CA., Joshi, SS., Pruess, HG. 2000. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148(2-3), 187-197.
- Baranowska-Bosiacka, I., Gutowska, I., Marchlewicz, M., Nocen, I., Czuprynska, K., Olszewska, M., Skotnicka, E., Jach, M., Wiszniewska, B., Chlubek, D. 2008. The effect of melatonin supplementation on lead, calcium and magnesium distribution in the tissues of lead-exposed rats. *Polish Journal of Environmental Studies*, 17(2), 181-188.
- Bear, WL., Teel, RW. 2000. Effects of citrus flavonoids on the mutagenicity of heterocyclic amines and on cytochrome P450 1A2 activity. *Anticancer Research*, 20(5B), 3609-3614.
- Bennet, C., Bettaiya, R., Rajanna, S., Baker, L., Yallapragada, PR., Brice, JJ., White, SL., Bokara, KK. 2007. Region specific increase in the antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in the brain of rats exposed to lead. *Free Radic Res.*, 41(3), 267-273.
- Bilaloğlu, GV., Harmandar, M. 2000. Flavonoidler: Molekül yapıları, kimyasal özellikleri, belirleme teknikleri, biyolojik aktiviteleri, Aktif Yayınevi, İstanbul.
- Chen, YT., Zheng, RL., Jia, ZJ., Ju, Y. 1990. Flavonoids as superoksit scavengers and antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(1), 19-21.
- Clarkson, PM., Thompson, HS. 2000. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2), 637s-646s.
- Çulhaoğlu, H. 2009. Alzheimer hastalarında kan MDA ve GSH seviyelerinin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kars.*
- Dergel, R. 1992. Lipid peroxidation a common pathogenetic mechanism?. *Exp. Toxicol Pathol.*, 44(4), 169-181.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita.* 43(4), 348-361.

- Ekambaram, G., Rajendran, P., Magesh, V., Sakthisekaran, D. 2008. Naringenin reduces tumor size and weight lost in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in rats. *Nutrition Research*, 28(2), 106-112.
- Erlund, I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, Hesperetin, and Naringenin Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, 24(10), 851-874.
- Formica, J V., Regelson, W. 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem. Toxicol.*, 33(12), 1061-1080.
- Freinbichler, W., Colivicchi, MA., Stefanini, C., Bianchi, L., Ballini, C., Misini, B., Weinberger, P., Linert, W., Varešlija, D., Tipton, KF., Della Corte, L. 2011. Highly reactive oxygen species: detection, formation, and possible functions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(12), 2067-2079.
- Frings, C.S., Frendley, T.W., Dunn, R.T., Queen, C.A. 1972. Improved Determination of Total Serum Lipids The Sulfo-Phosphovanilin Reaction, *Clin. Chem.*, 18(7), 673-674.
- Glantzounis, GK., Salacinski, HJ., Yang, W., Davidson, BR., Seifalian, AM. 2005 . The Contemporary Role of Antioxidant Therapy in Attenuating Liver Ischemia-Reperfusion Injury: A Review. *Liver Transplantation*, 11(9), 1031-1047.
- Gutteridge, JM., Halliwell, B. 2010. Antioxidants: Molecules, medicines and myths, *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 393(4), 561-564.
- Hara, A., Radin, NS. 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Analytical Biochemistry*. 90(1), 420-426.
- Hollmann, P.C., Katan, MB. 1997. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed. Pharmacother.*, 51(8), 305-310.
- Huang, YL., Sheu, JY., Lin, TH. 1999. Association Between Oxidative Stress and Changes of Trace Elements in Patients with Breast Cancer. *Clinical Biochemistry*, 32(2) , 131-136.
- I S Young, J V Woodside. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal Of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
- Jain, A., Yadav, A., Bozhkov, AI., Padalko, VI., Flora, SJ. 2011. Therapeutic efficacy of silymarin and naringenin in reducing arsenic-induced hepatic damage in young rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(4), 607-614.
- Jomova, K., Valko, M. 2011. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283(2-3), 65-87.

- Jung, G., Hennings, G., Pfeifer, M., Bessler, W.G. 1983. Interaction of metal complexing compounds with lymphocytes and lymphoid cell lines. *Molecular Pharmacology*, 23(3), 698–702.
- Kagan, VE., Tyurina, YY. 1998. Recycling and redox cycling of phenolic antioxidants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 854, 425–434.
- Kannappan, S., Palanisamy, N., Anuradha, CV. 2010. Suppression of hepatic oxidative events and regulation of eNOS expression in the liver by naringenin in fructose-administered rats. *European Journal of Pharmacology*, 645(1-3), 177-184.
- Koivula, MJ., Eeva, T. 2010. Metal-related oxidative stress in birds, *Environmental pollution*, 158(7), 2359-2370.
- Lawrence, R.A., Burk, RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Bioch Bioph Res Commun.* 71(4), 952-958.
- Leopoldini, M., Russo, N., Toscano, M. 2011. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants'', *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.
- Liu, CM., Ma, JQ., Sun, YZ. 2011. Protective role of puerarin on lead-induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats. *Food Chem Toxicol.*, 49 (12), 3119-3127.
- Liu, Z., Hu, M. 2007. Natural Polyphenol Disposition via Coupled Metabolic Pathways. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.*, 3(3), 389-406.
- Lowry, OH., Rosenbrough, NJ., Farr, AL., Randall, RJ. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem.*, 193(1), 265-275.
- Lü, J., Lin, P., Yao, Q., Chen, C. 2010. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 840-860.
- Machlin, LJ., Bendich, A., Maestri, R. F. 1980. An Approach to Free Radicals in Medicine and Biology. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 492, 153-168.
- Machlin, LJ., Bendich, A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal*, 1, 441-445.
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, FK., Margis-Pinheiro, M. 2008. Glutathione peroxidase family – an evolutionary overview. *The FEBS Journal*, 275(15), 3959-3970.
- Mousa, HM., Al-Qarawi, AA., Ali, BH., Abdel Rahman, HA., ElMougy, SA. (2002). Effect of lead exposure on the erythrocytic antioxidant levels in goats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.*, 49, 531-534.

- Niki, E. 2010. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, 49(4), 503-515.
- Nordberg, J., Arnér, ES. 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin. *Free Rad. Biol. And Med.*, 31(11), 1287-1312
- Parcell, S. 2002. Sulfur in Human Nutrition and Applications in Medicine. *Alternative Medicine Review*, 7(1), 22-44.
- Park, MS., Cho, EJ., Lee, SK., Lee, EJ., Lee, DS., Lee, KH., Jeon, BH. 2010. Korean Red Ginseng Protects Oxidative Injury Caused by Lead Poisoning. *J. Ginseng Res.*, 34(2), 132-137.
- Patra, RC., Swarup, D. (2000). Effect of lead on erythrocytic antioxidant defence, lipid peroxide level and thiol groups in calves. *Res Vet Sci.*, 68, 71-74.
- Placer, ZA., Cushman, LL., Johnson, BC. 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem.*, 16(2), 359-364.
- Renugadevi, J., Prabu SM. 2009. Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*, 256(1-2), 128-134.
- Robards, K., Antolovich, M. 1997. Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids Critical Review. *The Analyst*, 122 (11R-34R).
- Rodriguez, C., Mayo, JC., Sainz, RM., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., Reiter, RJ. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36(1), 1-9.
- Rousseff, RL., Martin, SF., Youtsey, CO. 1987. Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in citrus. *J. Agric. Food Chem.*, 35(6), 1027-1030.
- Sedlak, J., Lindsay, RH. 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 25(1), 192-205.
- Valko, M., Rhodes, CJ., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.
- Vattem, D.A., Randhir, R., Shetty, K. 2005. Cranberry phenolics-mediated antioxidant enzyme response in oxidatively stressed porcine muscle Process, *Biochemistry*, 40(6), 2225-2238.

Yi, LT., Li, CF., Zhan, X., Cui, CC., Xiao, F., Zhou, LP., Xie, Y. 2010. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the flavonoid naringenin in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 34(7), 1223-1228.

Yu, BP. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.*, 74(1), 139-162.

Zhang, R., Lu, H., Tian, S., Yin, J., Chen, Q., Ma, L., Cui, S., Niu, Y. 2010. Protective effects of pre-germinated brown rice diet on low levels of Pb-induced learning and memory deficits in developing rat. *Chem. Biol. Interact.*, 184(3), 484-491.

Wang, J., Wu, J., Zhang, Z. 2006. Oxidative stress in mouse brain exposed to lead. *Ann Occup Hyg*, 50(4), 405-409.

WHO. (1995). World Health Organisation. International Programme on Chemical Safety (IPCS). Environmental Health Criteria 165. Inorganic lead. Geneva.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Üzeyir DAĞ

Doğum Yeri : Hilvan

Doğum Tarihi : 1977

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu

Lise : Kahta Lisesi

Lisans : Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü