

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KRONİK ALKOL KULLANIMINDA PROTEİN KARBONİL
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE DİĞER
BİYOGÖSTERGELERLE BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Serap YALÇIN

**Disiplinlerarası Adli Tıp Anabilim Dalı
Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yıldırım DOĞAN**

2006-ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KRONİK ALKOL KULLANIMINDA PROTEİN KARBONİL
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE DİĞER
BİYOGÖSTERGELERLE BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Serap YALÇIN

**Disiplinlerarası Adli Tıp Anabilim Dalı
Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Yıldırım DOĞAN**

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından 2004–118
numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.**

2006-ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Adli Tıp Enstitüsü, Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan, "Kronik Alkol Kullanımında Protein Karbonil Düzeylerinin Belirlenmesi ve Diğer Biyogöstergelerle Birlikte Değerlendirilmesi" konulu tezi, aşağıdaki jüri tarafından kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27.06.2006

Prof. Dr. Yıldırım B.DOĞAN
Jüri Başkanı



Üye
Prof. Dr. Tülin SÖYLEMEZOĞLU
A.Ü. Adli Tıp Enstitüsü



Üye
Prof. Dr. Gülin GÜVENDİK
A. Ü.Eczacılık Fakültesi



Üye
Prof. Dr. İzzet DUYAR
A.Ü.Adli Tıp Enstitüsü



Üye
Yrd.Doç. Dr. Birol DEMİREL
G.Ü. Tıp Fakültesi



ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimin her aşamasında yanımda olan ve beni yönlendiren çok değerli danışman hocam, Prof. Dr. Yıldırım Doğan' a, yüksek lisans öğrenimim, tez çalışmam ve diğer çalışmalarım süresince bana her türlü imkanı sağlayan, bilgilendiren, desteğini, güvenini ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli hocam Prof. Dr. Tülin Söylemezoğlu' na, tez çalışmam için biyolojik numune ihtiyacını sağlayan Uzm. Dr. İnci İlhan'a, deney ve yazım aşamalarında beni bilgilendirip, bilgilerinden ve yardımlarından faydalandığım Adli Toksikolog Dr. Banu Çiçek Yücesan'a, laboratuvar çalışmalarında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Uzman Kimyager Şebnem Ş. Çeçen ve Uzman Biyolog Ayşe Karakuş' a ve bana sonuna kadar güvenip, her zaman yanında olan aileme sonsuz saygı ve şükranlarımı sunar, teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	iii
Önsöz	iv
İçindekiler	v
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller ve Tablolar	xi

1.GİRİŞ

- 1.1. Alkolün tarihçesi
- 1.2. Alkol
 - 1.2.1. Metil Alkolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri
 - 1.2.1.1. Metabolizma
 - 1.2.1.2. Metil Alkol Tedavisi
 - 1.2.2. Etanolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri
 - 1.2.2.1. Etanolün Vücutta Dağılımı
 - 1.2.2.2. Etanol Metabolizması
 - 1.2.2.3.Kan Alkol Seviyeleri
 - 1.2.3. Alkollü İçkiler
- 1.3.Aldehit Dehidrojenaz ve Alkol Dehidrojenaz
- 1.4. Alkole Bağlı Temel Hastalıklar
 - 1.4.1. Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığı
 - 1.4.2. Fötal Alkol Sendromu
- 1.5. Alkolizm Tedavisi

- 1.5.1. Disülfiram
- 1.6. Serbest Radikaller
 - 1.6.1. Serbest Radikal Kaynakları
 - 1.6.1.1. Hidroksil Radikali ($\cdot\text{OH}$)
 - 1.6.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
 - 1.6.1.3. Süperoksit Anyon Radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$)
 - 1.6.2. Haber- Weiss ve Fenton Reaksiyonları İle Radikal Üretimi
 - 1.6.3. Serbest Radikal Hasarına Bağlı Hastalıklar
- 1.7. Lipid Peroksidasyon (LPO)
- 1.8. Lipid Peroksidasyonun Ölçümü
- 1.9. Lipid Peroksidasyon Ürünleri
 - 1.9.1. Aldehit Ürünleri
 - 1.9.1.1. Malondialdehit (MDA)
- 1.10. Antioksidan Savunma Sistemleri
 - 1.10.1. Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri
 - 1.10.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)
 - 1.10.1.2. Glutasyon Peroksidaz
 - 1.10.1.3. Katalaz
 - 1.10.2. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemleri
 - 1.10.2.1. E Vitamini (Tokoferol)
 - 1.10.2.2. C Vitamini (Askorbik Asit)
 - 1.10.2.3. Selenyum
 - 1.10.2.4. Diğer Antioksidanlar
- 1.11. Alkol ve Lipid Peroksidasyonu
- 1.12. Alkol ve Protein Oksidasyonu
- 1.13. Alkol Kullanımının Biyokimyasal Belirleyicileri
- 1.14. Protein Oksidasyonu
- 1.15. Protein Oksidasyonun Temel Mekanizmaları

- 1.15.1. Metal Katalizli Protein Oksidasyonu
 - 1.15.1.1. Protein Fragmentasyonu ve Karbonil Türevlerinin Oluşumu
- 1.15.2. Tiyol Gruplarının Oksidasyonu
- 1.16. Lipid ve Protein Oksidasyonu

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereçler

- 2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler
- 2.1.2. Kullanılan Araç Ve Gereçler

2.2. Yöntemler

- 2.2.1. Plazmada Lipid Peroksidasyon Ürünlerinin (LPO) Tayini
- 2.2.2. Plazmada Protein Karbonil Tayini
- 2.2.3. Plazmada Total Sülfidril (TSH) Tayini

2.3. İstatistiksel Analiz

3. BULGULAR

3.1. Kalibrasyonlar

- 3.1.1. Plazma MDA Düzeyleri
- 3.1.2. Plazma Total Sülfidril Düzeyleri

3.2. MDA, TSH ve PCO Düzeyleri

- 3.2.1. Plazma MDA
- 3.2.2. Plazma TSH
- 3.2.3. Plazma PCO
- 3.2.4. MDA, TSH ve PCO Arasındaki İstatistiksel Korelatif Anlamlılıklar

3.2.5. MDA, TSH ve PCO Düzeylerinin Yaş ve Kullanım Yılı ile İlişkisi

3.2.6. Alkol Kullanan Hastalar ve Karaciğer Fonksiyon Testleri

3.2.7. AST, ALT ve GGT Arasındaki İstatistiksel Korelatif

Anlamlılıklar

3.2.8. Alkol Kullanım Yılı ve AST, ALT ve GGT İlişkisi

4. TARTIŞMA

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

ÖZET

SUMMARY

KAYNAKLAR

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	ALANİN AMİNO TRANSFERAZ
AST	ASPARTAT AMİNO TRANSFERAZ
CYP-450	SİTOKROM P-450 ENZİMİ
ESR	ELEKTRON SPİN REZONANS
GGT	GAMA GLUTAMİL TRANSFERAZ
GSSG	GLUTATYON DİSÜLFİT
H ₂ O ₂	HİDROJEN PEROKSİT
·OH	HİDROKSİL RADİKALİ
4-HNE	4-HİDROKSİNONENAL
L·	LİPİD RADİKALİ
LH	YAĞ ASİTLERİ
LO·	ALKOKSİL
LOO·	PEROKSİL RADİKALİ
LOOH	LİPİD HİDROPEROKSİT
LPO	LİPİD PEROKSİDASYON
MAOS	MİKROZOMAL ALKOL OKSİTLEYİCİ SİSTEM
MDA	MALONDİALDEHİT
NAD	NİKOTİN AMİD DİNÜKLEOTİT
O ₂ ⁻	SÜPEROKSİT ANYON RADİKALİ
PCO	PROTEİN KARBONİL
PUFA	ÇOKLU DOYMAMIŞ YAĞ ASİTLERİ
SOD	SÜPEROKSİT DİSMUTAZ
VLDL	ÇOK DÜŞÜK DENSİTELİ PROTEİN
TBA	TİYOBARBITÜRİK ASİD

TSH
TSH-PX

İNDİRGENMİŞ GLUTATYON
GLUTATYON PEROKSİDAZ

ŞEKİLLER ve TABLOLAR

Şekil 1.1. Etanolün moleküler yapısı

Şekil 1.2. Etanol absorpsiyonunun ve oksidasyonunun gerçekleştiği organlar

Şekil 1.3. Etanol ve asetaldehit metabolizmasının temel metabolik yolakları

Şekil 1.4. Asetil-CoA oluşumu ve sitrik asit döngüsüne katılımı

Şekil 1.5. PUFA'ların genel yapıları

Şekil 1.6. Lipid Peroksidasyon Reaksiyonları

Şekil 1.7. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan kararlı karbonil bileşikleri

Şekil 1.8. MDA ile Tiyobarbitürik asitin reaksiyonu

Şekil 1.9. Serbest radikallerle antioksidanların reaksiyonları

Şekil 1.10. Mitokondrideki Glutatyon Redoks Sistemi

Şekil 1.11. Tokoferolün yapısı

Şekil 1.12. Protein oksidasyonu

Şekil 1.13. Şekerlerin proteinlerdeki lizin amino grupları (P-SH) ile reaksiyonu

Şekil 1.14. Proteinlerdeki amino grupları ile lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit'in reaksiyonu

Şekil 1.15. Michael tipi katılma reaksiyonu ile 4-hidroksi-2 nonenal'in proteinlerdeki lizin (P-SH), histidin (P-HİS), ve ya sistein (P-SH) kalıntularına bağlanması

Şekil 3.1. Buege ve Aust'un spektrofotometrik yöntemi ile plazmada MDA tayini için hazırlanan kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi.

Şekil 3.2 Sedlak ve Lindsay'in spektrofotometrik yöntemi ile plazmada total sülfidril tayini için hazırlanan kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi.

Şekil 3.3. Kontrol grubu ve alkol kullanan hastalarda alkol tüketim miktarına göre plazma MDA düzeyleri

Şekil 3.4. Kontrol grubu ve alkol kullanan hastalarda alkol tüketim miktarına göre plazma total sülfidril düzeyleri

Şekil 3.5. Kontrol grubu ve alkol kullanan hastalarda alkol tüketim miktarına göre plazma protein karbonil düzeyleri.

Şekil 3.6. MDA ve TSH düzeyleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 3.7. PCO ve MDA düzeyleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 3.8. PCO ve TSH düzeyleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 3.9. AST ve ALT düzeyleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 3.10. AST ve GGT düzeyleri arasındaki korelasyon grafiği

Şekil 3.11. ALT ve GGT düzeyleri arasındaki korelasyon grafiği

Tablo1.1. Biyolojik dokularda bulunan oksidatif protein değişim formları

Tablo1.2. Oksidasyona yakın olan aminoasitler ve oksidasyon ürünleri

Tablo 3.1. MDA, TSH ve PCO sayısal değerleri ve gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar.

Tablo 3.2. MDA, TSH, PCO korelasyon değerleri

Tablo 3.3. MDA, TSH ve PCO düzeylerinin yaş ve kullanım yılına göre korelasyon tablosu

Tablo 3.4. . Karaciğer AST, ALT, GGT ve AST/ALT düzeyleri

Tablo 3.5. Karaciğer AST, ALT ve GGT düzeylerinin birbirleriyle olan ilişkisi

Tablo 3.6. Alkol kullanım yılı ve AST, ALT, GGT arasındaki korelasyon tablosu

1.GİRİŞ

1.1. Alkolün tarihçesi

Paleolitik çağda baldan yapılan içeceğin alkol taşıyan en eski içki olduğu düşünülmektedir. Neolitik çağ insanı ise bozayı (**booze**) bulmuştur. Bira ve meyve şaraplarına ait bulgular M.Ö. 6400 yıllarına kadar giderken üzüm şaraplarının M.Ö. 300–400 yıllarında kullanıldığı bilinmektedir. Mayalar, su varlığında şekere etki ederek fermentasyonla alkolik içkilerin oluşmasını sağlar. Fermentasyonla şekerin (glukoz) karbon, hidrojen ve oksijeni alkol ve karbondioksit'e dönüşür. Meyvelerin çoğu, özellikle üzümler şeker taşıdıklarından parçalanmış meyveye, su ve maya eklendiğinde fermentasyon olayı başlayacaktır. Ortamdaki alkol oranı %15'i geçtiğinde ise maya öleceğinden fermentasyon duracaktır. Tahıl tohumları da alkol üretimi amacıyla kullanılırlar ancak şekerden çok nişasta taşıdıklarından fermentasyonun başlayabilmesi için şekerin nişastaya dönüştürülmesi gerekir. Bu işlem malting olarak adlandırılır. Birada temel ham madde arpadır, işleme arpanın su içinde çimlendirilmesi ile başlanır. Çimlenmiş tohumlar önce kurutulur, sonra çimlerin öleceği ancak çimlenme sırasında oluşan enzimlerin korunabileceği şekilde kurutulur. Bu şekilde kurutulmuş ve çimlendirilmiş arpa malt olarak adlandırılır, enzimler nişastayı şekere çevirecektir, daha sonra ise fermentasyon başlatılır. Daha yüksek alkol konsantrasyonu elde etmek içinse distilasyon işlemi yapılır. Birçok yazar tarafından distilasyon işleminin MS 800 yıllarında Arabistan'da uygulanmaya başlandığı ileri sürülmektedir, ayrıca alkol sözcüğü de Arapça kökenlidir. Avrupa'da ise 10. yüzyıla değin sadece fermentasyon ürünü içkiler kullanılmış, ilk kez İtalyanlar şarabı distile ettiklerinde, bu

yeni ürün birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. 13. yy şaraba Fransız Montpellier Üniversitesinde **aqua vitae** adı verilmiştir. Viski adı ise aynı anlamda ve 1500 yıllarında ortaya çıkan, İrlanda-Gal kökenli bir sözcüktür (Ray ve Ksir, 1996).

1.2. Alkol

1.2.1. Metil Alkolün Fiziksel Ve Kimyasal Özellikleri

Metil alkol (CH_3OH), oda sıcaklığında buharlaşabilen uçucu ve renksiz bir sıvıdır. 15–21, 2°C' de buhar basıncı 100 mm/Hg, özgül ağırlığı 0,81 gr/lt, kaynama noktası 64,7 °C'dir (Vicellio, 1998). En sık oral yolla alınmakla birlikte, endüstride buharına maruz kalmakla ve bol miktarda bulaştığı giysilerden cilt yoluyla alımı ile de zehirlenme olabilmektedir (Winchester, 1990).

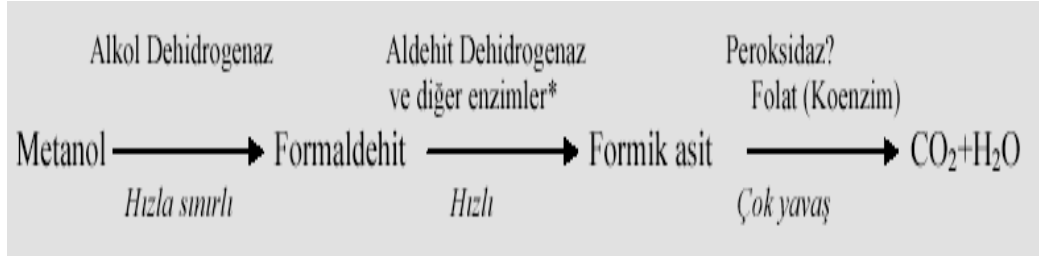
1.2.1.1. Metabolizma

Ağızdan alındığında, etil alkol gibi gastrointestinal sistemden hızla emilir (Vicellio, 1998). Metanol gıda varlığı ya da yokluğuna göre farklılık göstermek üzere, ortalama 30–60 dk sonra kanda en üst düzeye ulaşır. Gıda varlığı bu süreyi yavaşlatır. Vücutta dokulara oldukça homojen bir şekilde dağılır, dağılım hacmi 0,6 L/kg'dır (Winchester, 1990).

Metanol'ün, vücut su kütlesine dağıldığı ve pratikte yağda çözünmediği kabul edilir (Vicellio, 1998). Yıkımı nitelik bakımından etil alkole benzer ancak nispeten çok yavaştır (Curtis, 1996).

Metil alkol karaciğerde alkoldehidrojenaz enzimi etkisiyle NAD/NADH katalizörlüğünde formaldehide okside olur (Goldfrank ve ark., 1986).

Metanolün metaboliti olan formaldehit metanole göre 33 kat daha toksiktir (Vicellio, 1998). Yarılanma ömrü 1–2 dk gibi çok kısa olan formaldehitin bu nedenle varlığı gösterilemez. Formaldehit kısa sürede metanolden 6 kat daha toksik olan formik asite dönüşür. Formik asit ise folata bağlı enzimlerin yardımıyla karbondioksit ve suya dönüştürülerek vücuttan uzaklaştırılır (Goldfrank ve ark., 1986; Palmisano ve ark.,1987) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Metanol Metabolizması Yolağı

(*: ksantin oksidaz, gliseraldehit-3-fosfat, katalazlar, peroksidaz, aldehitoksidaz ve glutatyona bağımlı formaldehit dehidrojenaz enzim sistemleri) (Goldfrank ve ark., 1986; Winchester, 1990).

Başlıca karaciğerdeki yıkım dışında metanolün %3-5'i akciğerlerden solunum yoluyla, %12'si böbreklerden idrar ile atılır (Palmisano ve ark., 1987).

Metanol toksisitesinde hedef organ retinadır. Metanol yüksek dozlarda geri dönüşümlü ya da kalıcı körlüğe yol açabilir (Curtis, 1996).

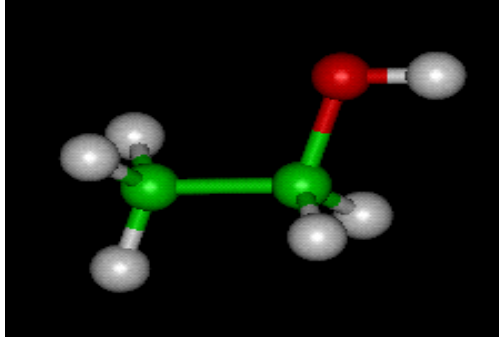
Oküler toksisiteden sorumlu olan formik asit, optik sinirde sitokrom oksidazı inhibe ederek aksoplazma akımını bozar (Becker, 1983).

1.2.1.2. Metil Alkol Tedavisi

Etil alkol, metil alkol tedavisinde metanolün toksik metabolitlerine dönüşümüyle yarış etmektedir. Etanolün alkol dehidrojenaza affinitesinin daha yüksek olması nedeniyle metanol zehirlenme tedavisinde etanol kullanılır. Böylece yeterli idrar çıkıtısı sağlanabilirse metanol, toksik metabolitlerine dönüşmeden idrar yoluyla atılabilir. Etanol yükleme dozu (kan-etanol düzeyi) 100-150 mg/100 ml hızla verilir (Goldfrank ve ark., 1986).

1.2.2. Etanolün Fiziksel Ve Kimyasal Özellikleri

Etanol, kolay tutuşan, renksiz, akıcı ve uçucu bir maddedir. Kimyasal formülü C_2H_5OH 'dır (Şekil 1.2.). Dansititesi 789 gr/L, kaynama noktası 78.5°C, donma noktası -117.3 °C, alevlenme noktası 12 °C' dir. Havada % 3.3-19 oranında olduğu zaman patlar. Alkol yakacak olarak, bazı ilaçların hazırlanmasında, dezenfektan olarak, düşük donma noktasından dolayı antifiriz olarak endüstride çözücü özelliğinden dolayı boya, parfüm ve tentür yapımında kullanılır (Jones, 1997).



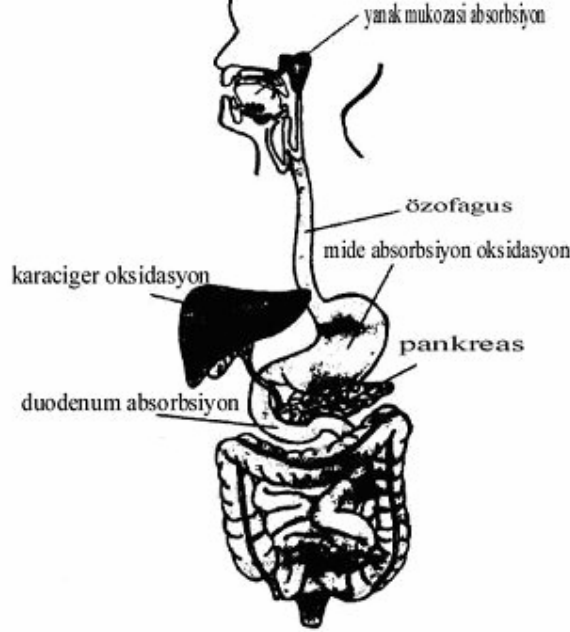
Şekil 1.2.Etanolün moleküler yapısı (<http://www.erowid.org/chemicals/alcohol/alcohol.shtml>)

1.2.2.1. Etanolün Vücutta Dağılımı

Etanol, boyutu küçük olduğundan gastrointestinal sistemden basit difüzyonla emilir, suda iyi, lipidlerde düşük seviyede çözünürlüğe sahiptir (Wallgren ve Barry III, 1970). Etanol için transport yolağı yoktur (Crabb ve ark., 1987). Absorplanan etanolün, %70-80'i proksimal ince bağırsak, duodenum ve üst jejunum tarafından emilir. Emilimden sonra etanol karaciğere portal damardan geçerek ulaşır (Riveros-Rosas ve ark., 1997).

Etanol kana ulaştığında hızla vücut sıvılarına dağıtılır. Organlarda, yoğun büzülme sebebiyle beyin, akciğer ve karaciğer gibi organlara zengin kan sağlandığından kandaki alkol hızla dengelenir. Aksine iskelet kaslarında alkolün dağılımı yavaştır çünkü az sayıda fonksiyonel kılcıl damar vardır (Agarwal ve Goedde, 1990, Dundee ve ark., 1971). Kadın ve erkekler özdeş alkol aldıklarında, kadınlar, erkeklerden daha az su düzeyine sahip olduklarından daha yüksek kan etanol değerlerine ulaşır. Alkol dağılımı genellikle çeşitli organ ve dokuların (Şekil 1.3.) su içerikleriyle ilgilidir böylelikle, örneğin terminal ileum'daki etanol konsantrasyonu yaklaşık olarak kandakine eşit olur. Tükürük ve ürede su

oranı yüksek olduğundan etanol konsantrasyonu kana göre nispeten daha yüksektir (Riveros-Rosas ve ark., 1997).

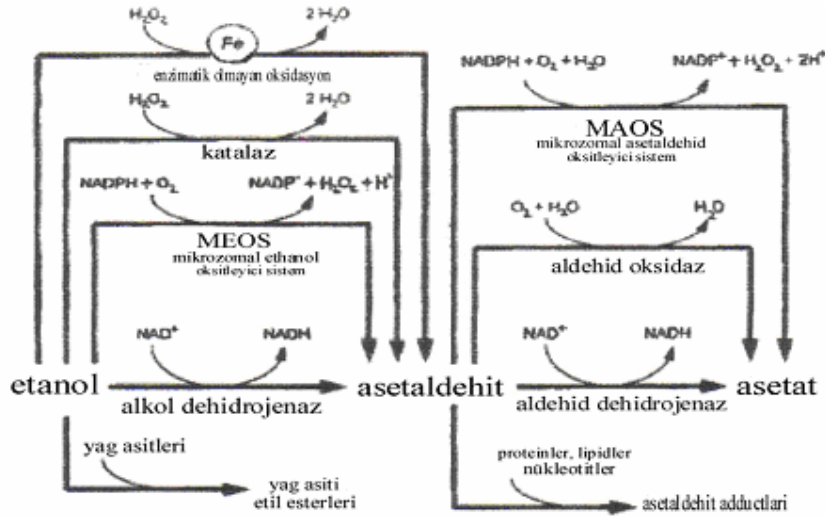
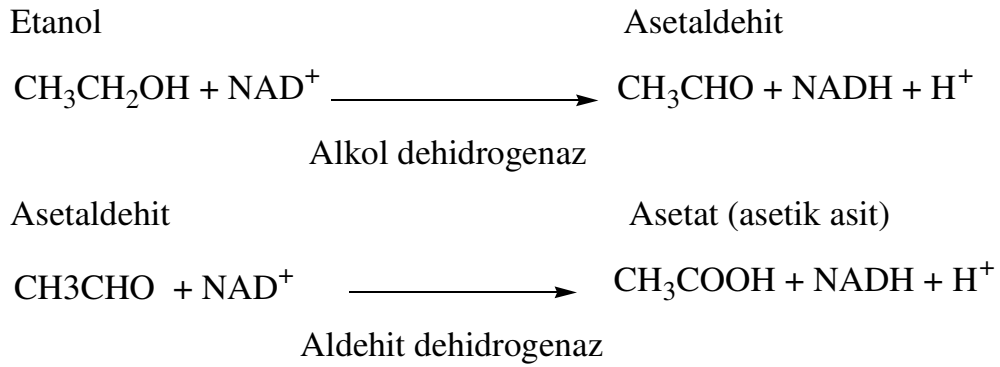


Şekil 1.3. Etanol absorpsiyonunun ve oksidasyonunun gerçekleştiği organlar (Riveros-Rosas ve ark., 1997).

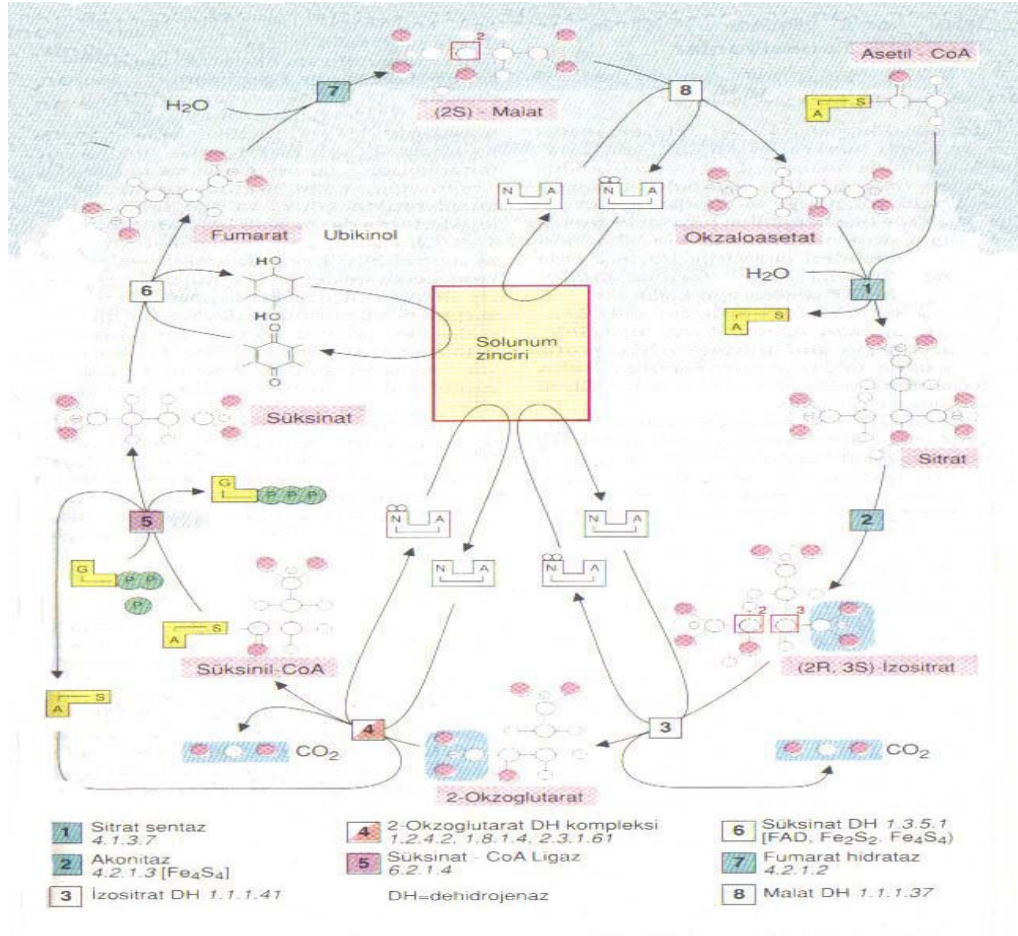
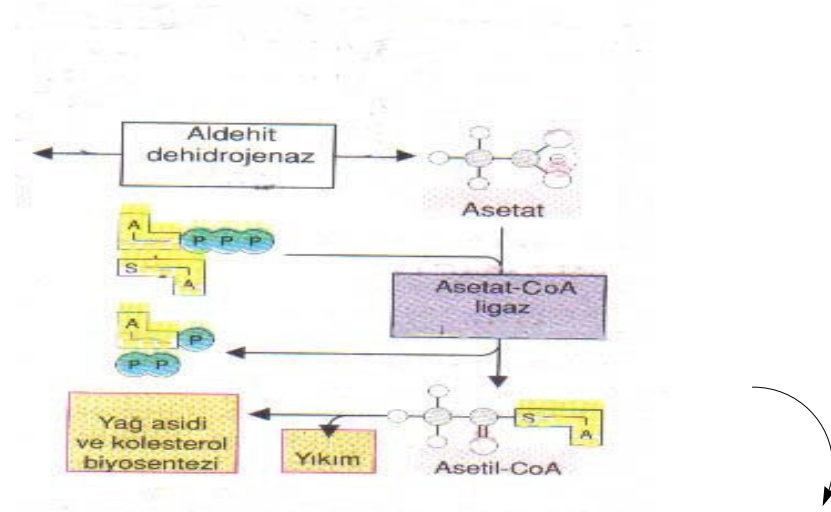
1.2.2.2. Etanol Metabolizması

Etanol yıkımının ana bölgesi, karaciğerdir. Karaciğerde etanol, alkol dehidrojenaz tarafından asetaldehide oksitlenir, asetaldehid ise aldehit dehidrojenaz tarafından asetata oksitlenir (Şekil 1.4.). Asetat daha sonra asetat-CoA ligaz tarafından bir ATP bağımlı reaksiyon ile asetil CoA'ya (Şekil 1.5.) dönüştürülür. Asetil CoA üretimi, etanol yıkımı ile ara metabolizma arasındaki bağlantıyı oluşturur. Sitoplazmik alkol dehidrojenaz yanında mikrozomal etanol oksitleyici sistem (MEOS), katalaz gibi sitokrom P-450 enzimleri de etanol yıkımında rol oynar. Karaciğer tarafından etanol yıkımının hız sınırlayıcı basamağı, alkol

dehidrojenaz reaksiyonudur. Bu nedenle, NAD^+ varlığı sınırlayıcı bir faktördür. Düşük etanol konsantrasyonları, etanol yıkımının maksimum hızına ulaşması için yeterlidir. Bu nedenle, alkol alımından sonra, vücuttaki etanol miktarında yavaş ve sabit bir düşüş vardır. Etanolün kalori içeriği $29,4 \text{ kJ.g}^{-1}$ 'dir. Alkollü içecekler bu sebeple özellikle alkolikler için enerji alımının temel kısmını oluşturur (Koolman ve Röhm, 1996).



Şekil 1.4. Etanol ve asetaldehit metabolizmasının temel metabolik yolları (Riveros-Rosas ve ark., 1997).



Şekil 1.5. Asetil-CoA oluşumu ve sitrik asit döngüsüne katılımı (Koolman ve Röhmm, 1996).

1.2.2.3.Kan Alkol Düzeyleri

Mayalanmış meyvelerde eser oranlarda etanol bulunurken, alkollü içkilerde daha çok yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Alkollü içkilerin alkol içeriği, çoğunlukla hacim içinde yüzde olarak ifade edilir (100 standart derece = %57,1 v/v). Alkollü içkilerin tüketimini takiben kan alkol seviyelerini hesaplarken, bu miktarı gram etanole dönüştürmek uygun olur (Yoğunluk=0,79 kg.l⁻¹). Bu durumda bir şişe bira (0,51 %4 v/v alkollü), 20ml = 16gram etanol içerirken, bir şişe şarap (0,71,%12v/v alkollü), 84ml = 66gram etanol içerir. Etanol sindirim kanalından difüzyon yoluyla hızla emilir. Alkollü bir içeceğin içilmesi halinde 60 -90 dakika içerisinde maksimum kan alkol seviyesine ulaşır. Bunun yanında, emilim hızı üzerinde birçok farklı faktör etkilidir. İlk bir içecek ya da şeker, boş mide, karbonik asitin varlığı (şampanya), alkolün emilimini hızlandırırken, dolu mide ters etki yaratır. Alkol, dokularda çok hızlı bir şekilde yayılır. Vücuda alınan ve emilen alkolün çoğunluğu kaslar ve beyin tarafından alınır, fakat az bir kısmı yağ dokusu ve kemikler tarafından alınır (Koolman ve Röhm, 1996).

1.2.3. Alkollü İçkiler

Alkollü içkiler meyve suları yaş ve kurutulmuş meyveler veya tahıl tanelerinin içinde bulunan şekerlerle polisakkaritlerin maya mantarları tarafından fermantasyonuyla elde edilirler. Ortamdaki alkol konsantrasyonu % 17'ye ulaştığında fermantasyon durur. Yüksek konsantrasyonda alkol taşıyan içkiler şaraba saf alkol katılmasıyla veya fermantasyona uğramış içkilerin distilasyonu ile hazırlanır. Fermentasyon sırasında etil alkolün dışında 3-8 karbonlu alifatik

alkoller, aldehit türevleri, organik asitler, esterler, ketonlar ve metil alkol oluşur. Alkollü içkilerin etkileri etanolden dolayı olmakla birlikte, bu maddelerin de katkıları bulunur. Yüksek alkoller etil alkole göre daha yavaş metabolize edildiklerinden içkinin oluşturduğu depresyonun uzamasına neden olurlar, etil alkolle aynı enzimler tarafından biyotransformasyona uğratılmaları nedeniyle etil alkolün yıkımını da azaltırlar. Bu nedenle bir iki yüksek alkolleri ne denli az taşırsa o kadar kalitelidir (Söylemezoğlu, 2004).

1.3. Aldehit Dehidrojenaz ve Alkol Dehidrojenaz

Alkol dehidrojenazın sitoplazmik aktivitesi, etanol detoksifikasyonunda en önemli yolaktır. Etanol, alkol dehidrojenaz enzimi katalitik etkisiyle asetaldehide dönüşür. Oluşan asetaldehid mitokondriyal matriks enzimi olan aldehid dehidrojenaz–2 enzimi (ALDH₂) ile asetata dönüştürülmektedir. Bu yolakla oluşan asetat; dokularda metabolize edilmektedir. Aldehid dehidrojenaz enzimi fonksiyonlarında meydana gelebilecek aksama sonucu ortamda asetaldehid birikir. Asetaldehidin proteinlere kovalan bağlarla bağlanması ve lipidlerin peroksidasyonunu yol açmasından dolayı, toksik bir maddedir. Proteinlerin uncl yapıları nonspesifik olduklarından asetaldehid eklenmesinden enzimler ve yapısal proteinler geniş ölçüde etkilenirler. Karaciğer hücrelerinden protein sentezi asetaldehid etkisine bağlı olarak yavaşlar. Yine asetaldehid GSH hücrelerini tketererek lipid peroksidasyona yol açar. Aldehit dehidrojenaz (ALDH) birçok izoenzimden oluşur ve ekzojen toksik aldehitlere ve lipid peroksidasyon sonucu oluşan endojen aldehitlere karşı hücre içi savunma mekanizmasını sağlar (Canuto, 2001).

1.4. Alkole Bağlı Temel Hastalıklar

1.4.1. Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığı

Alkolün metabolizma yeri olan karaciğerde alkolün asetaldehite çevrilmesi sırasında oluşan enzimatik reaksiyon sırasında H^+ NAD'e transfer edilerek, artmış NADH havuzu oluşur, alfa gliserofosfat artışı meydana gelir. Bunların sonucu olarak periferik dokulardan yağ asidi serbestleşmesi, karaciğerde yağ asiti sentezi artar. Mitokondrial disfonksiyon oluşarak, beta oksidasyon azalır. VLDL sentezi aksar ve karaciğerde yağ asidlerinin trigliserit olarak depolanması artar. Bu şekilde karaciğer yağlanması oluşmuş olur. Bu olay ilk aşamadır. Alkolün metaboliti olan asetaldehit toksik bir maddedir. Glutatyon kaybına yol açar, aldehit oksidaz tarafından metabolize edildiğinde, demir varlığında serbest radikal oluşumuna yol açar. Serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri, malondialdehit (MDA) ve hidroksinonenal (4-HNE) ile kompleksler oluşturarak CYP2E1 sistemine bağlanır. Hücre yüzeyinde antijenik yapılar oluşturarak immunolojik hasara yol açar. Diğer yandan alkol hepatositte hipermetabolizma oluşturarak relatif hipoksi oluşturur ve ROS oluşumunda artışa neden olur. Az veya aralıklı alkol alımında rol oynayan Mikrozomal Etanol Oksidasyon Sistemi (MEOS, CYP2E1), devreye girdiğinde ise NADPH ve süperoksit anyonu artar ve sonuncu süperoksit dismutaz ile hidrojen peroksit'e (fenton reaksiyonu) çevrilir. Hidrojen peroksit, glutatyonla nötralize edilmediğinde lipid peroksidasyona neden olur. Bu olaylar ilk aşamada yağlanmış olan karaciğerde ikinci aşamayı oluşturur. İnflamasyon ve fibroz başlar ve olay siroz ile sonuçlanır (Seki ve ark, 2003; Loguercio ve Federico, 2003; Şentürk, 2004).

1.4.2. Fötal Alkol Sendromu

Gebelik esnasında sık alkol alınması, doz pek fazla olmasa bile, fütusta morfolojik bozukluklara neden olabilir. Alkolik gebe kadınlardan doğan bebeklerde bu bozukluk oldukça sık görülür. Bu duruma **fötal alkol sendromu** denir. Alkol fütusta somatik ve mental fonksiyonların gelişmesini kapsayan intrauterin büyüme geçikmesi (retardasyon) yapar. Yeni doğanda görülen belirtiler; vücut ağırlığının düşüklüğü, mikrosefali, palpebra aralığının darlığı, burun basıklığı, üst dudak ve kalp-damar anomalileri, bilişsel bozukluklar ve bazı nörolojik bozukluklardır. Bu bebeklerin ilk yıl zarfındaki büyümeleri de yeterli olmaz ve zekâ indeksleri düşük kalır. Günde 30–60 ml alkol alan gebelerden doğan bebeklerde fötal alkol sendromu belirtilerinin oluşma şansı %10 olarak hesaplanmıştır. Miktarın artması ile olasılık daha da artar. Fötus üzerindeki toksik etkinin esası asetaldehide bağlıdır. Asetaldehid fötal dolaşıma hem alkol alan gebenin dolaşımından ve hem de plasentanın alkolden oluşturduğu asetaldehid şeklinde girer (Kayaalp, 1994).

1.5. Alkolizm Tedavisi

1.5.1. Disülfiram

Aldehid dehidrojenaz enziminin inhibitörüdür. Disülfiram alan kimse alkol içtiğinde vücutta asetaldehit birikmesi sonucu **asetaldehid sendromu** denilen toksik tablo oluşur. Bu durum, kişiyi alkol almaktan uzak tutar. Disülfiram tedavisi altındaki kimse alkol aldığı anda oluşan asetaldehid sendromunun belirtileri, alkolün içilmesinden sonra 5–10 dakika içinde ortaya çıkar. Sendromun başlıca belirtileri şunlardır: Çarpıntı, taşikardi, hipotansiyon, bulantı, kusma, aşırı terleme, zonklayıcı baş ağrısı, yüzde kızarma (flushing), baş dönmesi, uyuşukluk hali ve karın ağrısıdır (Kayaalp, 1994).

1.6. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler; parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara, solventler gibi çevresel faktörler, nitofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler iken endojen kaynaklar ise; fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil) ve endotelial hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler mitokondrial elektron transport zinciri, otooksidasyon reaksiyonları gibi

hücrel olaylardır (Janssen ve ark., 1993; Sinclair ve ark., 1990; Yagi, 1994).

Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olup (Abdollahi ve ark., 2004) bu yapısal özellikleri nedeni ile eşlenmemiş elektronlarını diğer bir moleküle verebilen veya kendi elektronlarını eşlemek üzere başka bir molekülden elektron alan reaktif bileşiklerdir (Freeman ve Crapo, 1982; Halliwell ve ark., 1988; Halliwell, 1991).

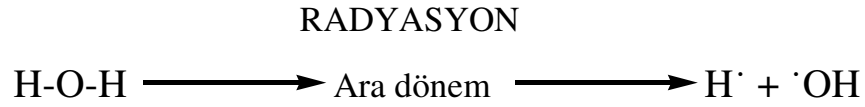
Normalde serbest radikal molekülleri, belirli düzeyde kaldıkları sürece organizmanın yabancı maddelere ve infeksiyöz ajanlara karşı savunmasında önemli moleküllerdir. Ancak belirli bir düzeyin üzerine çıktıklarında ve antioksidanların düzeyi yetersiz kalınca hücrenin yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimlere hasar vererek zararlı etkilere neden olurlar. Serbest radikaller kanser, romatoid artrit, katarakt, Parkinson ve yaşlanma gibi oksidan moleküllerin neden olduğu birçok hastalığın etmenidir (Halliwell, 1994; Hogg, 1998; Cheeseman ve Slater, 1993).

1.6.1. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller, oksijenden kaynaklanan radikallerdir (Cochranc, 1991).

1.6.1.1. Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$)

Biyolojik sistemlerde en potent serbest radikaldir. Yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalan hücrede, suyun oksijen- hidrojen kovalan bağlarından birinin ayrılması ile $\cdot\text{OH}$ oluşur (Brent ve Rumack, 1993).



$\cdot\text{OH}$ çok reaktif olduğu için öncelikle lipidler (Kaplowitz ve ark., 1986, Cross ve ark., 1987), proteinler (Brent ve Rumack, 1993), sitokromlar (Simic ve ark., 1975) ve nükleik asitler (Burger ve ark., 1980) olmak üzere bütün hücresel moleküllerle etkileşime girerler.

Proteinlerle, aminoasit kalıntılarını schiff bazı oluşturmak üzere okside ederler. DNA molekülünde ise pürin ve pirimidin bazlarında kimyasal değişiklik ve kırılmalara neden olarak etkilerini gösterirler.

Hücre membranına etki eden $\cdot\text{OH}$, yağ asitlerinden (LH) bir metilen hidrojeni alarak lipid radikallerini ($\text{L}\cdot$) oluşturur (Brent ve Rumack, 1993).

Lipid radikali komşu lipid molekülleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatır (Burger ve ark., 1980).



Ayrıca tiyoller dahil birçok molekülden H atomu çekerek proteinlerin yapısını bozarlar (Monig ve ark., 1987).

1.6.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit radikali süperoksit dismutasyon ya da oksijenin doğrudan redüksiyonu sonucu oluşur. Oluşumundan sonra ya doğrudan oksidatif hasara neden olur ya da süperoksit radikalinde olduğu gibi, aşırı reaktif serbest radikallerin oluşum reaksiyonlarına katılır. En önemli özelliği Haber-Weiss reaksiyonuna katılarak güçlü hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasıdır (Brent ve Rumack, 1993).

Hidrojen peroksitin etkisi, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimleri ile azaltılır (Chance ve ark., 1979).



katalaz

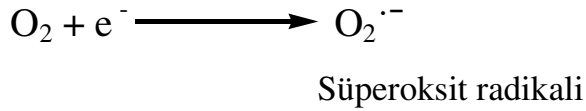


Hidrojen peroksit çok güçlü bir oksitleyicidir. Bununla birlikte yavaş reaksiyon verir ve bundan dolayıda biyolojik moleküllere verdiği hasar artar. Doğrudan DNA yapısı bozabilir ya da proteinlerin tiyol grupları okside edilebilir (Brent ve Rumack,1993).

1.6.1.3. Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Süperoksit anyonu canlı organizmada ekzojen ya da endojen kaynaklı olarak meydana gelir. Özellikle mitokondrilerde ve endoplazmik retikulumlardaki elektron transport zincirinden elektron sızması ve ardından oksijenle reaksiyona girmesi ile meydana gelir (Basaga, 1990). Süperoksitler ömrü milisaniyelerle sınırlı olan zayıf bir oksidan, güçlü bir redüktandır (Kappus ve Sies, 1981).

Doğal oksijen, süperoksit grubuna ($O_2^{\cdot-}$) bazı demir- kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene çevrilir.

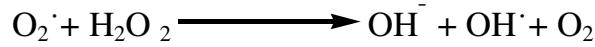


Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan H_2O_2 , dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır. Dietilditiyokarbamat gibi süperoksit dismutazın etkinliğini engelleyen

maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonunu hızlandırır. Ayrıca katalazın etkinliğini engelleyen maddeler (aminotriazol gibi herbisitler) de etkin oksijen gruplarına veya bu grupları oluşturan maddelere duyarlılığı artırır (Mates, 2000).

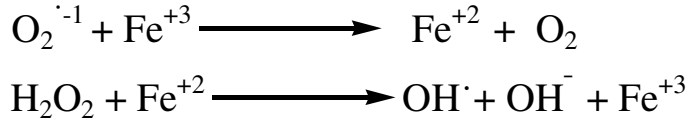
1.6.2. Haber-Weiss ve Fenton Reaksiyonları ile Radikal Üretimi

Doğal enzimler ve GSH yetersiz düzeyde olduğu zaman, $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe^{+3} veya Cu^{+2} katalizörlüğünde birbirleri ile reaksiyona girerek en güçlü radikal olan OH^{\cdot} molekülü oluşur. Bu reaksiyona **Haber-Weiss Reaksiyonu** denir.



HABER- WEISS REAKSİYONU

Bunun yanında $O_2^{\cdot-}$ doğrudan Fe^{+3} ile reaksiyona girer ve oluşan Fe^{+2} ile H_2O_2 etkileşerek OH^{\cdot} molekülü oluşur. Bu reaksiyona da **Fenton Reaksiyonu** adı verilir .



Fenton Reaksiyonu

Bazende H_2O_2 ile Fe^{+2} nin etkileşimi OH^{\cdot} ın oluşumu ile sonuçlanmayıp FeO^{+2} (ferro demir) molekülüne dönüşüm ile sonuçlanabilmektedir. Buna **Alternatif Reaksiyon** adı verilir



H_2O_2 molekülünün diğerk bir etkisizleştirme yolu, ortamda Cl, metiyonin veya oksipurinol gibi maddelerin bulunmasına bağılıdır (Bishop ve Janet, 1996; Ernst ve ark., 1984).



$\text{HOCl} + \text{METİYONİN/OKSİPURANOL} \longrightarrow \text{Radikal}$
inaktivasyonu

1.6.3. Serbest Radikal Hasarına Bağlı Hastalıklar

Normalde serbest radikal molekülleri, belirli düzeyde kaldıkları sürece organizmanın yabancı maddelere ve infeksiyöz ajanlara karşı savunmasında önemli moleküllerdir. Ancak serbest radikaller belirli bir düzeyin üzerine çıktıkları zaman ve antioksidanlar yetersiz kalınca söz konusu serbest radikaller hücrenin yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere neden olurlar. Bu serbest radikaller birçok hastalığın etmenidir (Halliwell, 1994; Hogg, 1998; Cheeseman ve Slater, 1993).

Serbest oksijen radikallerinin, ilaç ve toksinle oluşan reaksiyonlar, kurşun zehirlenmesi, aminoglikozit nefrotoksitesisi, karbon tetraklorüre bağı karaciğerk hasarı, glomerulonefritis, hepatitis B, iskemi ve reperfüzyon, Vitamin E eksikliği, kanser, amfizem, hiperoksi, bronkopulmoner displazi, Alzheimer, arteroskleroz, pankreatitis,

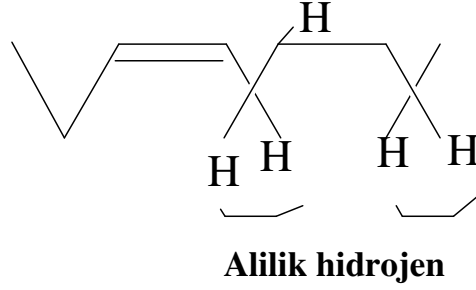
Parkinson ve romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogenezisinde etkilidir (Cross ve ark., 1987).

1.7. Lipid Peroksidasyon (LPO)

Lipid peroksidasyon serbest radikaller tarafından indüklenen en önemli oksidasyon reaksiyonudur. LPO, membran lipidlerinin oksidatif hasarla bozulması olayıdır. LPO, serbest radikaller tarafından başlatılır ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyonuna neden olur (Horton ve Fairhurst, 1987).

Hücre fonksiyonları açısından, hücre membranlarının bütünlüğü ve akışkanlığı çok önemlidir. Ökaryotlarda bu akışkanlık membran lipidleri içine sokulan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) sayesinde (Şekil 1.6) olmaktadır. Lipid peroksidasyonunun (LPO) başlaması için, PUFA'ların yan zincirindeki bir metilen karbonundan bir hidrojen atomu çekmeye yetecek reaktivitesi olan herhangi bir kimyasal yeterlidir (Halliwell ve Gutteridge, 1985).

Bütün PUFA'lar temel bir yapıya sahiptir. Komşu çifte bağlar, karbon-alilik hidrojen bağlarını zayıflatır. İki çifte bağ arasındaki karbon atomlarına bağlı alilik hidrojenler, serbest radikaller tarafından çıkarılmaya karşı kısmen aktif halde bulunurlar. Bu şekilde oluşan lipid radikalleri, reaksiyon zincirinin başında moleküler oksijen ile reaksiyona girerler ve böylece PUFA'ların yapısı bozulmuş olur. Oluşan bu reaksiyon dizisi, lipid peroksidasyonudur (Horton ve Fairhurst, 1987).



Şekil1.6. PUFA'ların genel yapıları (Horton ve Fairhust, 1987)

Lipid peroksidasyonu (LPO) üç basamakta oluşur (Şekil1.7.).

1)**Başlama Evresi:** Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması sonucu zincir, radikal, (L^{\cdot}) özelliği kazanır.

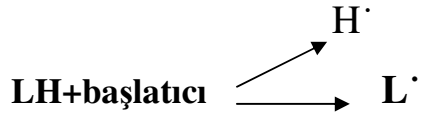
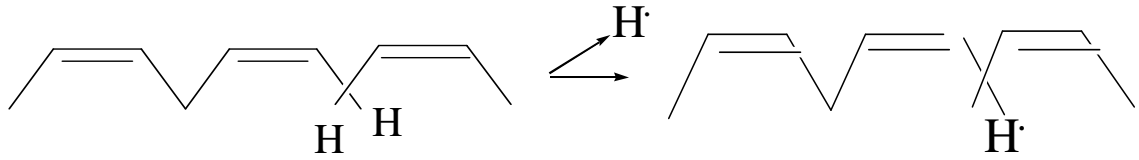
2)**Türeme Evresi:** Bu radikal, aerobik hücrelerde moleküler düzenlenmeye uğrar ve moleküller oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikalini (LOO^{\cdot}) oluşturur.

3)**Sonlanma Evresi:** Radikal olmayan ürünün oluşma basamağıdır. Çifte bağların yeniden düzenlenmesinden sonra moleküler oksijen eklenerek lipid hidroperoksit ya da endoperoksit oluşur.

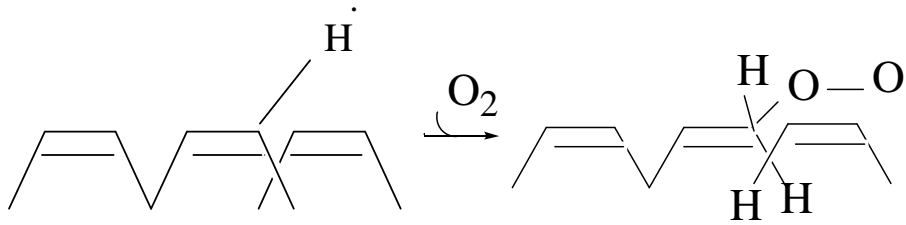
Orjinal yağ asidinde en az üç çift bağ varsa son ürün olarak malondialdehit (MDA) oluşur. Böylece tek bir başlatıcı etkisiyle yüzlerce yağ asidi zincirinin lipid hidroperoksitlere ($LOOH$) dönüşümü söz konusudur (Fuji, 1991).

Başlama Evresi

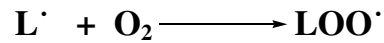
Alilik hidrojen



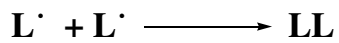
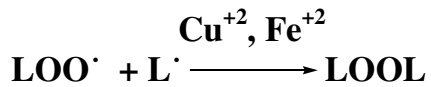
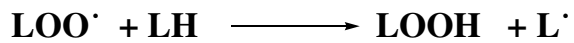
Yayılma Evresi



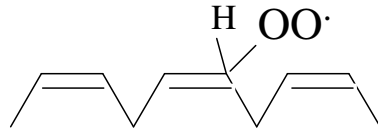
PEROKSİ LİPİD



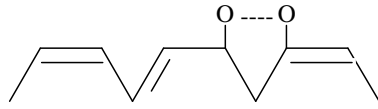
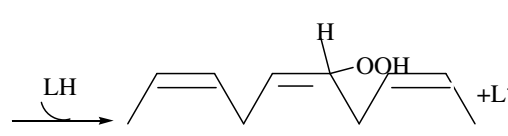
Sonlanma Evresi



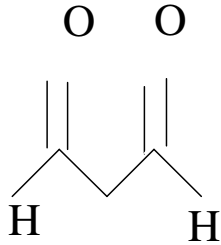
PEROKSİ LİPİD



HİDROPEROKSİT



ENDOPEROKSİT



MALONDİALDEHİT

Şekil 1.7. Lipid Peroksidasyon Reaksiyonları (Horton ve Fairhurst, 1987).

LPO'yu başlatan reaktif bileşikler genellikle mitokondriler, mikrozomlar, plazma membranları gibi membran elektron transport sistemlerinde oksijen redüksiyonu ile oluşan $O_2^{\cdot -}$ ' den türeyen OH^{\cdot} veya LPO'da iki şekilde rol alan geçiş metal iyonlarıdır. Bu reaksiyonlar

fenton reaksiyonları aracılığı ile OH[·] oluşumuna katkıda bulunur. Ayrıca lipid peroksidlerinin dekompozisyonuna neden olarak peroksid radikallerinin (LOO[·]), alkoksil (LO[·]) ve çok sayıda karbonil ürünün oluşumuna neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Basaga, 1990).

Lipid peroksidasyon (LPO) reaksiyonlarında lipid membranlardaki doymamış yağ asitlerinin kaybının yanı sıra lipid hidroperoksitler, etan, pentan gibi kısa zincirli alkanlar, yağ aldehitleri (hekzanal)ve ketonlar, malondialdehit gibi birçok peroksidatif lipid bozulma ürünleri oluşur. Konjuge lipid dienlerin sayısındaki artış da lipid peoksidasyonunun bir göstergesidir (Koppus ve Sies, 1981).

Lipid peroksidasyon ürünleri sitotoksiktir. Perokside karaciğer mikrozomlarından elde edilen 4-hidroksinonenal bir sitotoksik yağ bileşenidir. Malondialdehit, proteinleri ve nükleik asitleri bağlayan, mutajenik ve karsinojen olduğu öne sürülen bir lipid peroksidasyon reaksiyonu ürünüdür (Koppus ve Sies, 1981).

LPO, akciğer, kalp hasarı, kansere, iskemi-reperfüzyon, inflamasyon arteroskleroz, alkolik karaciğer hastalıkları gibi dejeneratif hastalıklarda hücrel hasarın temel belirtisi olarak kabul edilir (Horton ve Fairhurst , 1987 ; Odeleye ve ark., 1991).

Fiziksel ekzersizde iskelet kaslarında serbest radikal oluşumuna bağlı olarak, LPO artmaktadır (Dutie, 1990). Travma vakalarında da LPO artışı söz konusudur (Girotti ve ark., 1991). Tümörlerde ise reaktif oksijen radikallerinde artış ile beraber oksidatif tutucu enzimlerin

yetersizliğine bağı olarak oksijen metabolizması anormaldir (Horton ve Fairhurst, 1987).

1.8. Lipid peroksidasyonun ölçümü

Oksidatif stresle oluşan LPO'nun tayini farklı evrelerde yapılabilir.

- 1) Doymamış yağ asitlerinin kaybı
- 2) Primer peroksidasyon ürünlerinin ölçümü
- 3) Sekonder karbonillerin ve hidrokarbon gazlarının ölçümü

Bu evrelerde "SPİN TRAP " tekniklerinin yanında elektron spin Rezonans (ESR) teknikleri kullanılarak karbon ve oksijen merkezli radikallerin tespiti mümkündür. Serbest radikallerin ve onların meydana getirdiği peroksidasyon yan ürünlerin reaktif ve kısa ömürlü olması, çalışmalarda zorluklara sebep olur. Bu sebeple genellikle ölçülen son bozulma ürünleridir (Smith ve ark., 1982; Kramer ve ark., 1987).

Bu yöntemler içinde MDA tayinini esas alan Tiyobarbitürik asid (TBA-Rs) yöntemi en çok kullanılanıdır. Peroksidasyon ürünü MDA'nın TBA ile verdiği pembe renkli kromoforun 532 nm'de spektrofotometrik ölçümü yöntemin esasını oluşturur (Smith ve ark., 1982).

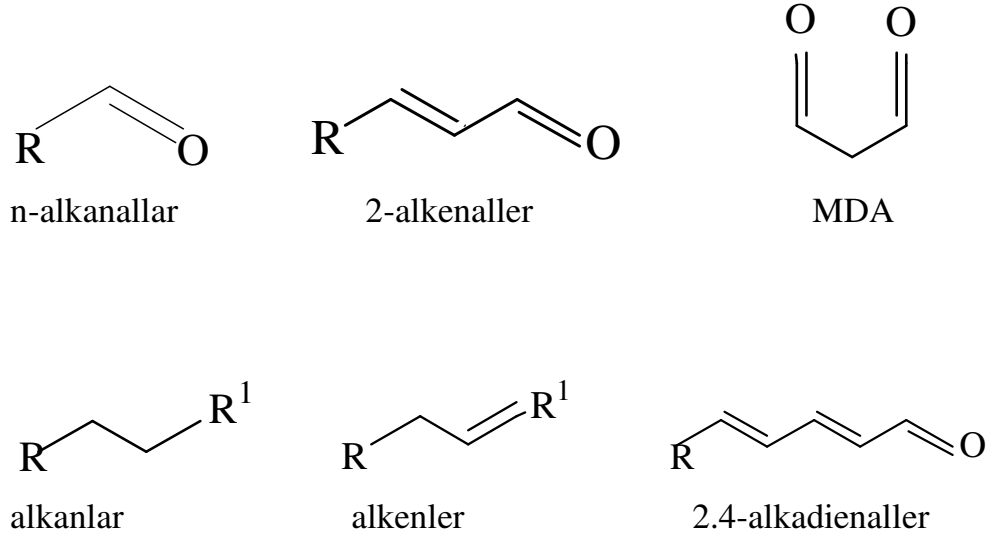
1.9. Lipid Peroksidasyon Ürünleri

1.9.1. Aldehit Ürünleri

Lipid peroksidasyonu (LPO) ile oluşan, bozunarak çoğalma reaksiyonları sonucu karbonil bileşiklerini de içeren birçok ürün oluşur.

(Benedetti ve ark., 1979).

PUFA'ların peroksidasyonu sonucu oluşan kararsız yağ asidi hidroperoksitleri daha kararlı karbonilere dönüşür. Bunlar; MDA, 2,4-alkadienaller, n-alkanlar, 2-alkanlar, 4-hidroksialkenaller, ketonlar, alkanlar, alkenler, α -dikarboniller, α -hidroksialkenallerdir (Şekil 1.8) (Esterbauer ve ark., 1982). Aldehitler ve metabolitleri stabil olduğundan lipid peroksidasyonu ölçümünde kabul görür (Esterbauer ve ark., 1982).



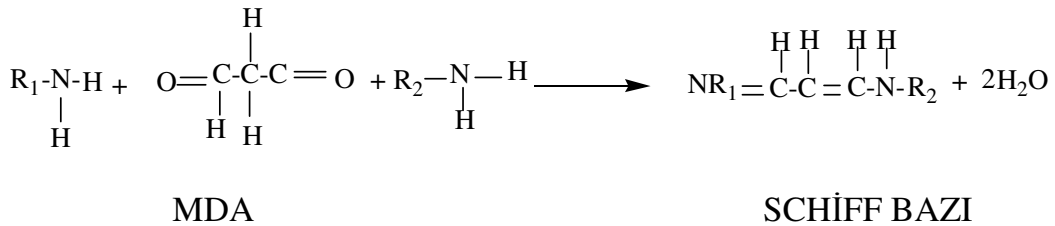
Şekil1.8. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan kararlı karbonil bileşikleri

1.9.1.1. Malondialdehit (MDA)

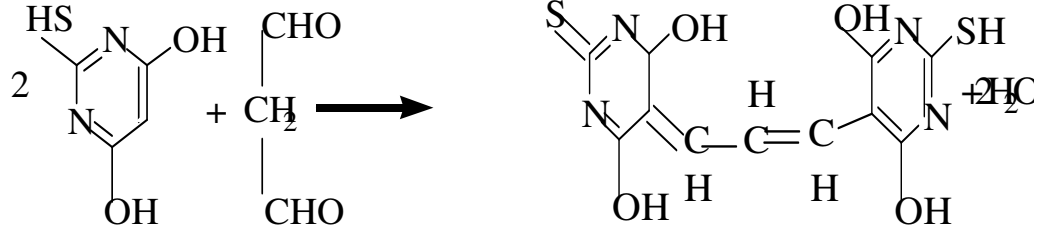
Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği sebebiyle, DNA' nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Niki , 1987; Placer ve ark., 1990; Porter , 1984).

MDA, tiobarbitürik asid (TBA) ile belirlenebilen bir lipid peroksidasyon ürünüdür. Billirubin gibi diğer başka maddeler de TBA ile reaksiyon verdiği için, lipid peroksidasyon düzeyi TBA- Rs olarak ifade edilir (Knight ve ark., 1988).

MDA, kısa zincirli bifonksiyonel bir aldehittir. İki amino grubu ile bir SCHİFF bazı vermek üzere reaksiyona girer. MDA' nın biyolojik moleküllerle çapraz bağ yapmasıyla oluşan schiff bazının floresansı, lipid peroksidasyonu tayini için kullanılmaktadır (Horton ve Fairhurst, 1987).



MDA iki molekül TBA ile reaksiyona girerek UV spektrofotometrede 532 nm’de pembe renkli bir kompleks oluşturur (şekil1.9).

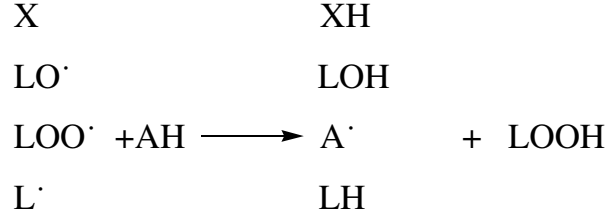


Şekil1.9 . MDA ile Tiyobarbitürik asitin reaksiyonu (Slater, 1984).

1.10. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Bunlar Vitamin C, E, A, beta-karoten, metalotionin, poliaminler, melatonin, NADPH, adenzin, koenzim Q-10, ürat, ubikuinol, polifenoller, flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homosistein, taurin, metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidler, GSH, glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrikoksid sentaz, hem oksijenaz-L, ve eozinofil’dir (Mates, 2000).

Antioksidanlar, serbest radikallerin hidrojen atomunu PUFA’ların yerine antioksidanlardan almasına izin verir (Şekil 1.10). Böylece serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak reaktif olmayan antioksidan radikalinin oluşmasını sağlarlar (Horton ve Fairhurst, 1987).



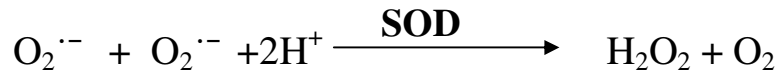
Şekil1.10. Serbest radikallerle antioksidanların reaksiyonları

1.10.1. Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

1.10.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

SOD, tüm aerobik dokularda bulunan serbest radikal reaksiyonlarına karşı hücreyi koruyan önemli bir intrasellüler proteindir (Horton ve Fairhurst, 1987).

SOD, biri Cu-Zn merkezli ve sitozolik, diğeri Mn merkezli ve mitokondrial olmak üzere iki enzimden oluşur. Bakırlı bir enzim olan SOD, son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubunu H₂O₂ (hidrojen peroksit) ve oksijene çevirir (Mates, 2000).

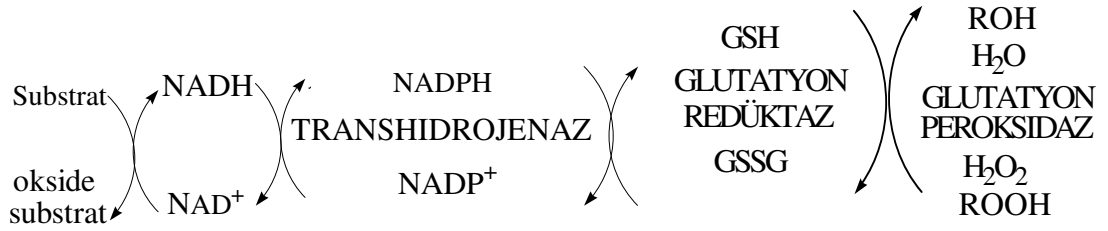


SOD aktivitesi, karaciğer gibi oksijen kullanımı fazla olan organlarda yüksektir (Buechter, 1988).

1.10.1.2. Glutasyon Peroksidaz

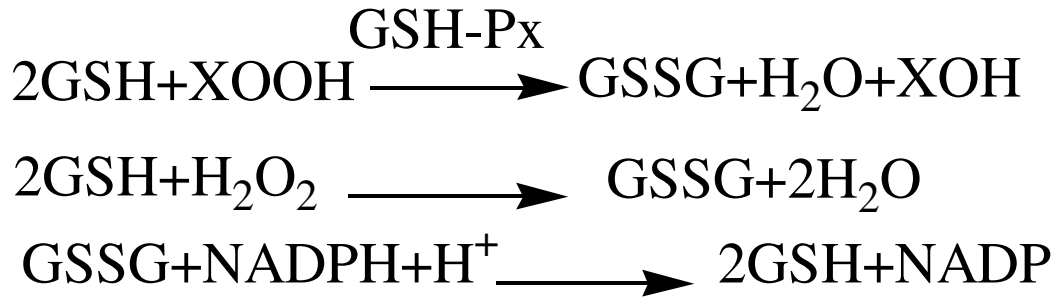
Memeli hücreleri, toksik kimyasallar ve selüler metabolizmanın yarattığı oksidatif ürünlerinden, en önemli endojen sistem olan glutasyon redoks döngüsü ile korunur (Reed, 1986). Glutasyon yüksek konsantrasyonda GSH, düşük konsantrasyonda GSSG (GSH'ın disülfidleri ve diğer tiyol grupları içeren) ve az miktarda tiyoeter içerir (Moldeus ve Quangan, 1987). GSH *invivo* olarak karaciğerde g-glutamilsistein ve glisinlerden, GSH sentetaz enzimi ile üretilir. Total glutatyondaki GSH tüketimi %20–30 seviyesine inerse hücrenin savunma mekanizması darbe alır ve hücre hasara uğrar (Reed ve Fariss, 1984). GSH peroksidaz ekzojen ve endojen oksitleyici ajanlardan hücreleri koruyarak H_2O_2 ' ye karşı bir savunma sistemi oluşturur (Horton ve Fairhurst, 1987).

Endojen oksidatif stres ökaryotlarda ve özellikle mitokondride aerobik metabolizma sonucu oluşur. Solunum zincirinde oksijenin indirgenmesi sırasında toksik oksijen ara ürünleri oluşur. Mitokondrial oksijen tüketiminin yaklaşık %2-5'i hidrojen peroksit üretimi ile sonuçlanır (Şekil 1.11.). Üretilen bu hidrojen peroksit ise glutasyon redoks döngüsü ile GSH tarafından indirgenir (Sies ve Moss, 1978). H_2O_2 indirgenmezse çok reaktif hidroksil radikallerinin ve dolayısı ile proteinler, DNA, RNA, membranın yapısına zarar verir ve yapıyı bozup lipid hidroperoksitlerin oluşmasına neden olur (Reed, 1990).



Şekil1.11. Mitokondrideki Glutasyon Redoks Sistemi

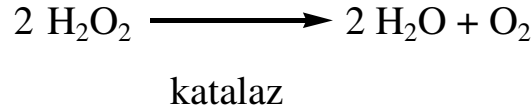
GSH-Px selenyuma bağlı ve selenyumdan bağımsız iki formda bulunur ve hidroksiperoksitlerin reaktif olmayan bileşiklere dönüşmesini sağlar (Brent ve Rumack, 1993).



Bu reaksiyondaki XOOH lipid hidroperoksit veya hidrojen peroksit olabilir. Selenyum bağlı formlar hidroperoksitleri inaktif hale getirmede daha etkilidir. Reaksiyonlar sonucu oluşan glutasyon disülfid (GSSG) , NADPH ile indirgenir. Hücre içi GSSG konsantrasyonunun artması hücrel hasarın bir göstergesidir (Brent ve Rumack, 1993).

1.10.1.3. Katalaz

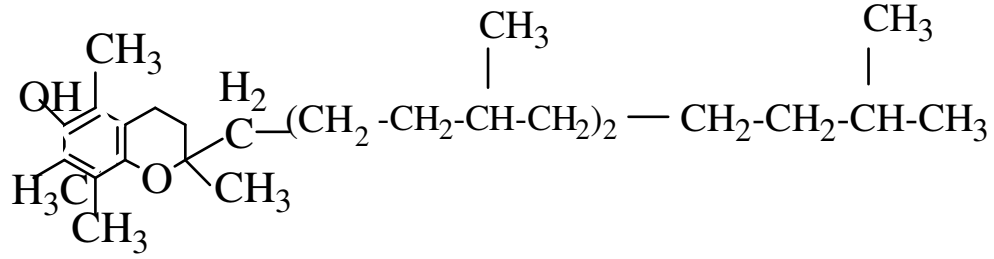
Katalaz, aerobik hücrelerin çoğunda, sitozolde, mitokondrilerde ve peroksizomlar gibi diğer subselüler organellerde bulunan bir enzimdir. Bu enzim GSH-Px gibi hücre içi H₂O₂ konsantrasyonunu azaltır (Levine 1986).



1.10.2. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemleri

1.10.2.1. E Vitamini (Tokoferol)

Zincir kırıcı bir antioksidan işlevi gören E vitamini hücre membranlarının fosfolipid tabakasında ve plazmada bulunan lipoproteinlerde yer alır (Şekil 1.12). Alfa tokoferolün hidrofobik yapısına bağlı bir hidroksil grubu vardır. Ve bu hidroksil grubunun hidrojen atomu çok kolay uzaklaştırılabilir. Bu nedenle LPO sırasında oluşan LOO[•] ve LO[•] radikalleri komşu bir yağ asidi ile birleşmek yerine tokoferolle birleşir. Bu olay zincir reaksiyonunu sonlandırır (Chow, 1991).



Şekil 1.12. Tokoferolün yapısı

E vitamini, hücre membranlarının LPO' ya karşı korunmasında, membran akışkanlığının stabilizasyonunun sağlanmasında ve membran enzimlerinin modülasyonunda rol alır, mikrozomal enzim aktivitesini değiştirerek ksenobiyotik metabolizmasını hafifletir, prostaglandinleri, LPO ürünleri oluşumunu modüle ederek immun cevabı ve hücrel immüniteyi düzenler (Shan ve ark., 1989; Meydani ve ark., 1990)

1.10.2.2. C Vitamini (Askorbik Asit)

Sitozolik C vitamini, demirin indirgenmesinde rol oynadığından fenton reaksiyonunda yer alarak hidroksil radikalının oluşmasına sebep olur (Drapper ve Bettger, 1994). Ancak belli koşullarda antioksidan olarak davranır (Horton ve Fairhurst, 1987). Askorbik asit suda çözünebildiği için antioksidan görevini hidroperoksil radikalleri ile reaksiyona girerek yapar ve askorbil radikali oluşur (Meister, 1992).

1.10.2.3. Selenyum

Selenyum, E vitamini ve GSH-Px'in kofaktörüdür. Se eksikliği, GSH-Px ve E vitamininin antioksidan aktivitelerinin azalmasına, oksidatif stresin artmasına ve sonuçta membran hasarına yol açar (Skaare ve Nafstad, 1978).

1.10.2.4. Diğer Antioksidanlar

Vitamin A, Flavonoidler, ürik asit, beta karoten, bilirubin, koenzim Q-10, melatonin, poliaminler, metallothionein, NADPH, ubikuinol, polifenoller, fitoöstrojenler, sistin, homosistein, taurin, metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidlerdir (Mates, 2000).

1.11. Alkol ve Lipid Peroksidasyon

Alkol tüketimi, karaciğer ve karaciğer dışı dokularda oksidatif stresi indükleyerek lipid peroksidasyonuna (LPO) yol açmaktadır (Ishii ve ark., 1997; Nordman ve ark., 1992).

Karaciğerde meydana gelen etanol metabolizmasının erken fazında tam oksidasyon ile ortaya çıkan oksijen radikalleri ve asetaldehit artışı hücre içi redoks durumunu belirgin olarak değiştirmektedir (Zıma ve ark., 2001). Ayrıca etanol ve başlıca metaboliti asetaldehit, metabolize olamadığı diğer dokularda, serbest radikal türlerinin oluşumuna yol açar ve bu dokularda prooksidan etki sonucu alkolle ilişkili toksisite ve hasardan sorumludur (Nordman ve ark., 1990; Nordman, 1994).

Kronik alkol kullanımı basit bir intoksikasyondan hayatı tehdit eden şiddetli metabolik bozukluklara kadar birçok patolojik durumla ilişkilidir (Potter, 1991).

1.12. Alkol ve Protein Oksidasyonu

Kronik alkol alımı sonucu oluşan serbest radikaller oksidatif hasarla proteinleri hasara uğratırlar (Amici ve ark., 1989).

Prolin, lizin, arginin, histidin ve sistein aminoasitleri oksidatif hasardan çabuk etkilenirler. Hasar gören protein fonksiyonel olarak inaktif hale gelir ve enzim alkalen proteaz ile parçalanır (Rivet, 1989). Oksidatif hasara uğrayan proteinlerde karbonil kalıntılarının sayısı artar ve DNPH ile kalıcı hidrozonlar oluşur (Amici ve ark., 1989), ve bu okside olan proteinlerin ölçümünde kullanılır (Levine ve ark., 1990).

Proteinler hücrel metabolizmanın düzenlenmesi için gereklidir ve bu nedenle hasara uğramaları sonucu hücrel metabolizma ve hücre fonksiyonları değişir, sonuçta hücre ölümü gerçekleşir (Stadtman ve Oliver, 1991).

1.13. Alkol Kullanımının Biyokimyasal Belirleyicileri

1) Gama Glutamil Transferaz (GGT)

GGT alkol kullanımını belirlemede sıklıkla kullanılan belirleyicidir. Bu enzim karaciğer, böbrek, pankreas ve prostatta yoğun olarak bulunmaktadır. GGT hücre zarından aminoasitlerin geçişi ve glutatyonun metabolizması gibi bazı fizyolojik koşulların yerine getirilmesine katkıda bulunur (Javors ve ark., 1997).

GGT, alkol tarafından indüklenen bir biliar kanalikuli enzimidir. Alkol kullanımına bağlı olarak serum GGT seviyesi artar (Wu ve ark., 1976). Artışın sebebi, GGT yapımının artması bağlıdır (Rosman ve Lieber, 1990).

2) Aspartat Amino Transferaz (AST) ve Alanin Amino Transferaz (ALT)

ALT ve AST kronik içme belirtisi olarak ve karaciğer hasarını belirlemede kullanılır. Karaciğerde bulunan bu iki enzim hücre nekrozu ve hasarıyla kolayca hücrelerden sızar (Rosman ve Lieber, 1990).

AST'deki artış, ALT'deki artıştan daha yüksektir (Kew, 2000).

Serum AST /ALT oranı da ağır içicilerde biyolojik marker olarak kullanılır (Sharpe ve ark., 1996). AST /ALT oranının 2'den büyük olması, alkolizm yönünde bir belirleyicidir (Kew, 2000).

1.14. Protein Oksidasyonu

Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen turevleri veya oksidatif stres urunleri ile kovalan modifikasyonu sonucu meydana gelir (Shacter, 2000). Protein oksidasyonun biyokimyasal sonuclari enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının kaybi, protein agregasyonu, reseptor araciligi ile endositozun bozulmasi, immunojen aktivitedeki artis, gen transkripsiyonundaki degisimler olarak siralanir (Shacter, 2000; Davies, ve ark., 1999). Reaktif turevler tarafından proteinlerin oksidatif modifikasyonu, birçok bozukluk ve hastaliklari ciddi bir sekilde ilerlemesine yol açar. Bu hastaliklar katarakt olusumu, kronik böbrek yetmezligi, iskemi ve reperfüzyon hasari, Parkinson, Alzheimer, romatoid artrit, sepsis, amiyotrofik lateral skleroz gibi hastaliklardir (Dalle-Donne ve ark., 2003).

Tablo1: Biyolojik dokularda bulunan oksidatif protein değişim formları (Shacter, 2000)

DEĞİŞİM	HASTALIK
Karboniller	
Glutamin sentaz	Yaşlanma, Alzeimer, İskemi-reperfüzyon
Ig G	Romatoid artrit
Akciğer proteinleri	Hiperoksia
Beyin proteinleri	İskemi-reperfüzyon
Göz lens proteinleri	Katarakt
Kas proteinleri	Kas bozukluğu
Tanımlanmamış proteinler	Yaşlanma
Tanımlanmamış proteinler	Parkinson hastalığı
Metionin sülfoksit	
α -1-proteinaz inhibitörü	Bronşit akciğer sıvıları, sinoviyal sıvılar
Lipid peroksidasyon kalıntıları	
LDL	Atherosklorosis
Glutatyon (SH oksidasyonu)	
Karbonik anhidraz III	Yaşlanma
Kas proteinleri	Kas bozukluğu
Tanımlanmamış proteinler	Aktive monositler

1.15. Protein Oksidasyonun Temel Mekanizmaları

Proteinlerde yapısal değişikliğe yol açan başlıca moleküler mekanizmalar;

1. Protein karbonil oluşumu ile karakterize edilen metal katalizli protein oksidasyonu (Shacter, 2000; Dalle-Donne ve ark., 2003; Dalle-Donne ve ark., 2003; Stadtman ve Levine, 2000).

2. Protein tiyol gruplarının (P-SH) kaybı (Shacter, 2000; Bindoli ve Rigobello, 2002; Netto ve ark., 2002).
3. Nitrotirozin (NT) (Shacter, 2000; Stadtman ve Levine, 2000) Dean ve ark., 1997).
4. İleri oksidasyon protein ürünlerinin (AOPP) oluşumu (Alderman ve ark., 2002) olarak sıralanır.

1.15.1. Metal Katalizli Protein Oksidasyonu

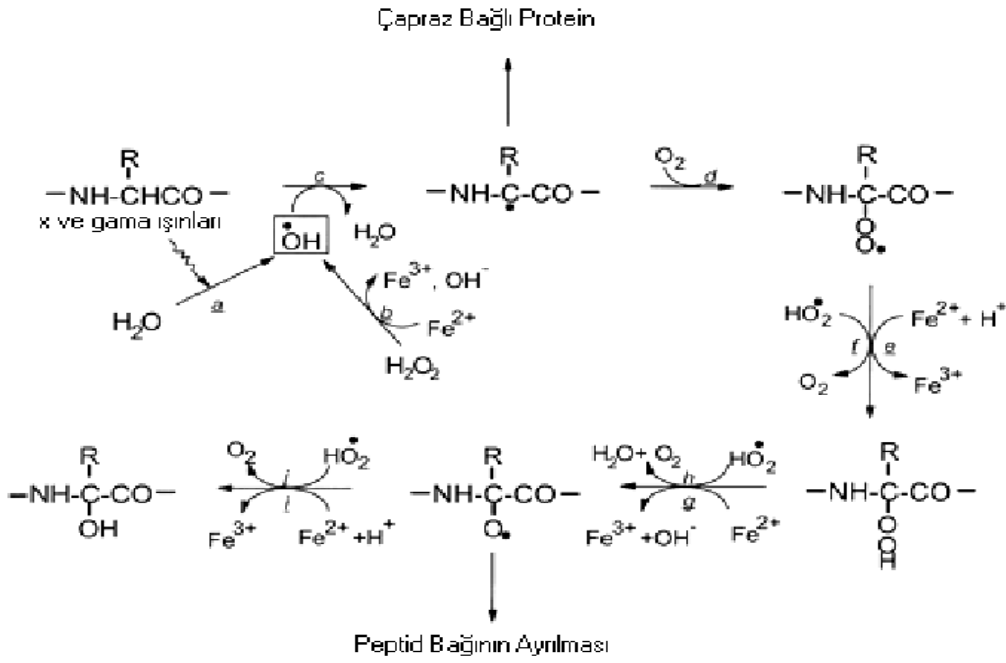
Reaktif türevlerin doğrudan proteinler (primer modifikasyon reaksiyonları), şekerler ve lipidlerle reaksiyona girmesi sonucunda oluşan ürünler, tekrar proteinler ile reaksiyona girerek sekonder modifikasyon reaksiyonlarına neden olurlar. Reaktif türevler ya peptit bağları veya aminoasit yan zincirleri ile reaksiyona girer. Bu reaksiyonlar, redoks reaksiyonlarına giren demir ve bakır gibi metal katyonlardan etkilenir. Oksidatif modifikasyona uğramış proteinler ya düşük molekül ağırlıklı ürünlere ayrılır veya çapraz bağlı yüksek molekül ağırlıklı ürünleri oluşturur (Stadtman ve Levine, 2003).

1.15.1.1. Protein Fragmentasyonu ve Karbonil Türevlerinin Oluşumu

Protein oksidasyonu temel olarak hidroksil radikali (OH \cdot) ile başlar. Oksidasyon sürecinde O $_2$ ile birlikte, süperoksit anyon radikali (O $_2^-$), ve süperoksit radikalinin protonlanmış formu olan hidroperoksil (HO $_2\cdot$)' in varlığında gereklidir. Bu reaktif oksijen türevleri aminoasitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile protein fragmentasyonuna neden olur (Stadtman ve Levine, 2003; Berlett ve Stadtman, 1997).

Protein karbonil türevlerin oluşumuna yol açan primer modifikasyon reaksiyonları aminoasitlerin α -karbon atomlarının veya R yan zincirlerinin oksidatif modifikasyonlarından ve bu modifikasyonları takiben meydana gelen reaktif oksijen aracılı peptit ayrılması reaksiyonundan oluşmaktadır (Stadtman ve Levine, 2003; Berlett ve Stadtman, 1997).

Reaktif oksijen türevlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda, histidin, prolin, arjinin, lizin, sistein ve glisin gibi çok sayıda aminoasit bakiyesinde ve proteinlerin peptit omurgasında oluşan oksidatif hasara bağlı olarak protein karbonil ürünleri meydana gelir (Levine, 2002; Requena ve ark.,2003).



Şekil1.13. Protein oksidasyonu.

Polipeptit omurgasındaki α -karbon atomundan OH^\cdot radikali ile α -Hidrojen atomunun çıkarılması sonucunda aminoasit bakiyesi karbon merkezli radikal haline dönüşür (Şekil 1.13. Reaksiyon c). Bu reaksiyona yol açan OH^\cdot radikali suyun radyolizinden (x ve γ ışınları ile oluşan) veya H_2O_2 ' in metal katalizli yıkımından açığa çıkar (Reaksiyon a ve b). Oluşan karbon merkezli radikal moleküler oksijen ile hızlı bir şekilde reaksiyonlaşarak (Reaksiyon d) daha sonra alkilperoksidi verecek olan alkilperoksil radikal ara ürününü oluşturur. Alkilperoksit, alkoksil radikali (Reaksiyon h) üzerinden hidroksi protein türevini verir (Reaksiyon j). Reaksiyon basamaklarının çoğunda Fe^{++} ve Cu^+ varlığında HO_2^\cdot ile etkileşim önem taşır (Reaksiyon e,g,i). Bu metabolik yolda oluşan alkil, alkilperoksil ve alkoksil radikal ara ürünleri aynı veya farklı protein molekülündeki R yan zincirleri ile yan reaksiyonlar ile

etkileşerek yeni karbon merkezli radikallerin oluşumuna neden olur. Oluşan bu yeni karbon merkezli radikaller ile yukarıdaki reaksiyonlar tekrarlanır. Oksijen yokluğunda (**Reaksiyon d**) gerçekleşmez. Oluşan karbon merkezli radikal diğer bir karbon merkezli radikal ile etkileşerek protein- protein çapraz bağlarının oluşumuna yol açar.

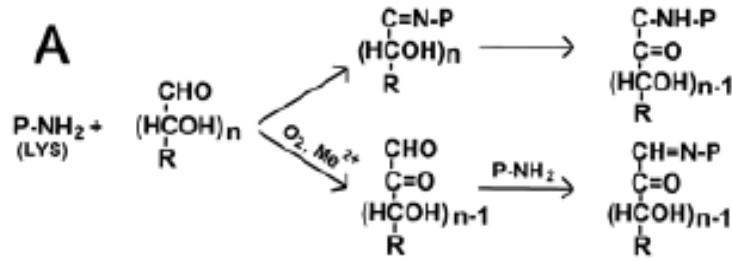
Alkoksil radikalinin oluşumu (**Reaksiyon h ve g**) peptit bağlarının diamid veya α -amidasyon metabolik yolları ile ayrılmasına sebep olur. Diamid metabolik yolu ile ayrılma sonucunda, diamid ve izosiyanat yapısı, α -amidasyon metabolik yolunda ise amid ve N- α Ketoaçil yapısına sahip peptit fragmentleri oluşur. Diamid ve α -amidasyon metabolik yolları dışında polipeptit zincirinin serbest radikal aracılığı ile ayrılması; prolin, glutamil ve aspartil bakiyelerinin oksidasyonu yolu ile de gerçekleşebilmektedir (Stadtman ve Levine, 2003; Berlett ve Stadtman, 1997).

Tablo 2. Oksidasyona yakın olan aminoasitler ve oksidasyon ürünleri (Shacter, 2000)

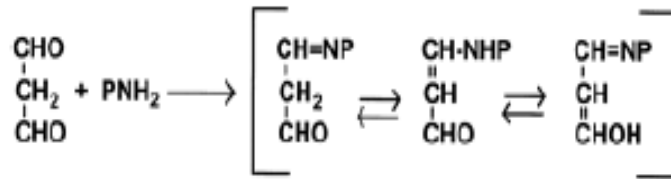
AMİNOASİT	OKSİDASYON ÜRÜNLERİ
Sistein	Disülfidler, sisteik asit
Metionin	Metionin sülfoksit, metionin sülfon
Triptofan	2, 4, 5, 6 ve 7- hidroksitriptofan, nitrotriptofan, kinürenin, formil ve hidroksi kinürenin
Fenilalanin	2,3-dihidroksifenilalanin, 2,-3,-, ve 4-hidroksifenilalanin
Tirozin	3,4- didihidroksifenilalanin, tirozin-tirozin çapraz bağları, try-o-tyr çapraz bağlı nitrotirozin
Histidin	2-oksohistidin, asparagin, aspartik asit
Arginin	Glutamik semialdehit, 5-hidroksi-2-aminovalerik asit
Lizin	Lizin hidroperoksitleri ve α -aminoadipik semialdehit
Glisin	Aminovalerik asit
Prolin	2-pirrolidon, 4- ve 5-hidroksiprolin, piroglutamik asit, glutamik semialdehit
Valin	Valin hidroperoksitleri ve hidroksitleri
Lösin	Lösin hidroperoksitleri ve hidroksitleri, α -ketoizokaproik asit, izovalerik asit ve aldehit
İzolösin	İzolösin hidroperoksitleri
Treonin	2-amino-3-ketobütirik asit
Glutamik asit	Okzalik asit, pirüvik asit

Protein karbonil oluşumuna yol açan sekonder modifikasyon reaksiyonları; proteinlerin karbonhidrat ve lipid oksidasyon ürünleri ile reaksiyonlarını içermektedir (şekil 1.15). Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan aldehitler (4-hidroksi-2 nonenal, malondialdehit), indirgen şekerler ya da bu şekerlerin oksidasyon ürünlerinin proteinlerdeki lizin

bakiyeleri ile reaksiyonu (glikasyon ve glikoksidasyon reaksiyonları) sonucu oluşan reaktif karbonil türevleri (ketoaminler, ketoaldehitler, deoksiozonlar) protein yapısına karbonil gruplarının katılmasına yol açar (Berlett ve Stadtman, 1997) (şekil1.14.). Lipidlerden oluşan aldehitler ya da otooksidasyona uğramış şekerler Schiff bazı oluşumu yolu ile proteinlerdeki amino gruplarına bağlanır. Schiff bazı oluşumu geri dönüşümlü bir reaksiyon olmasına karşın, sıklıkla geri dönüşümsüz bir reaksiyon olan AMODORİ düzenlemesine uğrar (Dean ve ark., 1997, Kayalı ve Çakatay, 2004).



Şekil 1.14. Şekerlerin proteinlerdeki lizin amino grupları (P-SH) ile reaksiyonu (Berlett ve Stadtman, 1997).



Şekil1.15. Proteinlerdeki amino grupları ile lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehitin reaksiyonu (Berlett ve Stadtman, 1997).

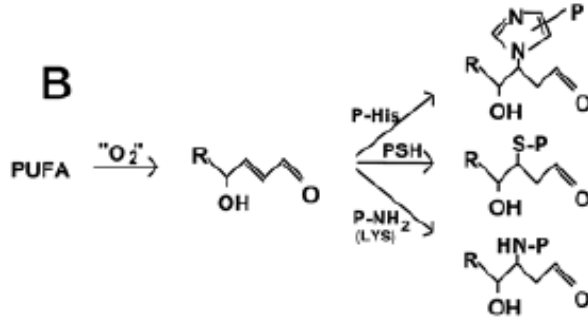
1.15.2. Tiyol Gruplarının Oksidasyonu

Serbest radikaller proteinlerdeki tiyol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol açmaktadır (Bindoli ve Rigobello, 2002; Netto ve ark., 2002).

Sisteinin, -SH grubu oksidatif atağa oldukça yatkındır ve -SH gruplarından değişik mekanizmalarla oluşan tiil radikali (-S) proteinlerdeki disülfid bağlarının oluşumuna öncülük eder (Shacter, 2000).

-SH gruplarının disülfidlere ve oksiasitler gibi diğer oksitlenmiş türevlere dönüşümü, radikal araçlı protein oksidasyonun en erken gözlenebilen belirtisidir (Dean ve ark., 1997).

Tiyol gruplarının diğer oksidasyon şekli; 4-hidroksinonenal'in, proteinlerdeki -SH gruplarına Michael reaksiyonu sonucunda tiyoeter bağları ile bağlanmasıdır. Michael reaksiyonu feedback bir reaksiyondur (Dean ve ark., 1997, Kayalı ve Çakatay, 2004) (Şekil 1.16).



Şekil1.16. Michael tipi katılma reaksiyonu ile 4-hidroksi-2 nonenal'in proteinlerdeki lizin (P-SH), histidin (P-HİS), ve ya sistein(P-SH) kalıntılarına bağlanması (Berlett ve Stadtman, 1997).

1.16. Lipid ve Protein Oksidasyonu

Protein karbonil (PCO) gruplarının oksidatif stres tanımlamak amacıyla kullanıldığında lipid peroksidasyon ürünleri ile karşılaştırıldığında bir takım avantajları vardır (Dalle-Donne ve ark., 2003).

Hücreler oksidasyona uğramış proteinleri saatler ve günler içinde yaktığı halde , lipid peroksidasyon ürünlerini dakikalar, saniyeler içinde yıkmaktadır (Grune ve ark., 1996). Hastalarda erken dönemde oluşan PCO grupları, yine oksidatif stresi belirlemede kullanılan GSSG (glutasyon disülfid) ve malondialdehit ile karşılaştırıldığında uzun zaman kan dolaşımında kalır (Pantke ve ark., 1999). PCO' ların kimyasal olarak dayanıklılığı laboratuvar ölçümleri, için çok uygundur. PCO, -80⁰C' de 3 ay süreyle dayanıklılığını korur (Griffiths, 2000).

AMAÇ

Bu çalışmada amacımız, kronik alkol kullanımı sonucu oksidatif stresin artması ile canlı organizmalarda bulunan lipid ve proteinlerde oluşan hasarı belirlemektir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

- Hidroklorik asit (HCL):MERCK
- Trikloro asetik asit (TCA).....:MERCK
- Tiyobarbitürik asit (TBA).....:SİGMA
- Bütil hidroksi tolüen (BHT).....:MERCK
- Etanol.....:DELTA
- 1,1,3,3-tetra etoksi propan (TEP).....:SİGMA
- Trikloroasetik asit (TCA):MERCK
- Hidroklorik asit (HCL).....:MERCK
- Etil asetat.....:MERCK
- Etanol.....:DELTA
- 2,4- dinitrofenilhidrazin (DNPH).....:SİGMA
- Guanidine /hidroklorid.....:SİGMA
- Metanol.....:MERCK
- 5,5- ditiyobis -2- nitro benzoik asit (DTNB).....:SİGMA
- Tris(hidroksimetil)-aminometan hidroklorid (TRİS)...:MERCK
- Etilendinitrilotetraasetikasit disodyum tuzu (Na₂ EDTA) :MERCK

2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Spektrofotometre.....:SCHİMADZU UV-1208
- Elektrikli hassas terazi.....:SCHİMADZU LİBROR
- Manyetik karıştırıcı ve ısıtıcı.....:MIRAK THERMOLYNE
- Otomatik pipet ve uçları.....:GİLSON VE RAININ
- Santrifüj aleti.....:HERAEUS SEPATECH
LABOFUGE 200
- Vorteks karıştırıcı.....:NÜVE, NM 110

2.1.3. Deney Protokolü

Alkol kullanan (n=40) (yaş ortalaması: 46,42± 1.80; alkol kullanım yılı: 24.57± 1.82) ve kullanmayan (n=20) (yaş ortalaması: 30.32 ± 1.60) sağlıklı gönüllülerden alınan kanda;

- a) Lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit,
- b) Organizmanın en önemli antioksidan savunma sistemlerinden biri olan glutatyon (total sülfidril düzeyleri)
- c) Protein karbonil miktar tayini
- d) Karaciğer fonksiyon testleri (ALT, AST, GGT) yapılmıştır.

Toplanan kanlar santifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma örnekleri gerekli analizler yapılincaya kadar PVC tüplerde – 20°C’de saklandı.

2.2. Yöntemler

2.2.1. Plazmada Lipid Peroksidasyon Ürünlerinin (LPO) Tayini

Plazmada LPO tayini için tiobarbitürik asitle reaksiyon veren maddelerin ölçümü yapılacaktır. Bu amaçla Buege ve Aust’un (1978) yöntemi çalışılacaktır. Yöntem plazmada peroksidize lipidlerin yıkım ürünleri olan MDA’ nın TBA ile verdiği renkli üründe miktar tayini prensibine dayanmaktadır.

- EDTA’lı tüplerdeki kan örnekleri 3500 rpm’de 5 dk. santrifüj edilerek plazma ve serum kısmı birbirinden ayrılır.
- Üst kısımdaki plazma, kullanılmak üzere ayrılır.

- Ağız kapaklı cam tüplere 1 ml plazma konur.
- Üzerine %15 lik TCA, %0.375 TBA ve 0.25N HCL'den hazırlanan 2 ml TBARS ilave edilir. Ve % 0.02 N BHT eklenir.
- Cam tüplerin vidalı kapakları sıkıca kapatılır.
- Tüpler 100°C'ye ısıtılmış suyun içinde 15 dakika bekletilir.
- Suyun içinden çıkarılan tüpler soğuk suya tutulur.
- Numuneler vidalı cam tüplerden santrifüj tüplerine alınır. 3000 g de 15 dakika santrifüj edilir.
- Ve spektrofotometrede köre karşı 532 nm de okunur (Kör olarak distile su kullanılır).
- Sonuçlar nmol/ml cinsinden hesaplanır.
- Standart madde olarak TEP kullanılır.

2.2.2. Plazmada Protein Karbonil (PCO) Tayini

Plazmada protein karbonil tayini için Reznick ve Packer'in (1994) yöntemi çalışıldı. Yöntem, plazmadaki proteinlerin 2,4-dihidrofönilhidrazin (DNPH) ile oluşturdukları rengin ölçümüne dayanır.

- EDTA'lı tüplerdeki kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek plazma ve serum kısmı birbirinden ayrılır.
- Üst kısımdaki plazma, kullanılmak üzere ayrılır.
- Kör ve numune için 2 adet santrifüj tüpü alınır.
- Her birine 100µl plazma eklenir.
- Proteinlerin çökmesi için üzerine 1 ml, %10' luk soğuk TCA eklenir.
- Tüpler vortekslenir.

- Numune tüpüne 1ml, 2N HCL içinde hazırlanmış 10 mM
- DNPH eklenir. Kör tüpüne ise 1ml, 2N HCL eklenir.
- Tüpler 1 saat, oda sıcaklığında 10 -15 dk da bir karıştırılmak üzere inkübasyona bırakılır.
- İnkübasyondan sonra kör ve numun tüplerine 1ml, %50' lik TCA eklenir ve 5 dk beklenip 4000 rpm de 5 dk santrifüj edilir.
- Santrifüjden sonra süpernatant kısmı atılır ve kör ve numune tüplerindeki pelletler 3 defa ethanol / etil asetat karışımı ile yıkanır.
- En son olarak 37°C' ye ısıtılmış ve 2N HCL içinde hazırlanmış 1 ml Guanidin / hidroklorid eklenerek 15 dakika 50–60°C' de tüpler bekletilir.
- Tüpler 4000 rpm' de 5 dk santrifüj edilir.
- Absorbanslar spektrofotometrede 360 nm' de hazırlanan köre karşı okunur.
- Örneklerdeki DNPH konsantrasyonları aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$A = \epsilon \times b \times c$$

$$\epsilon = 22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

2.2.3. Plazmada Total Sülfidril (TSH) Tayini

Plazmada TSH tayini için Sedlak ve Lindsay'in (1968) metodu kullanıldı. Yöntem ELLMAN reaktifinin (DTNB) sülfidril grupları ile

redükte olarak Nitro merkaptobenzoik asit anyonu açık sarı renktedir ve plazmadaki sülfidril gruplarının spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır. Standart olarak indirgenmiş glutatyon kullanılır.

- EDTA'lı tüplerdeki kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek plazma ve serum kısmı birbirinden ayrılır.
- Üst kısımdaki plazma, kullanılmak üzere ayrılır.
- Santrifüj tüplerine 0,5 ml plazma konulur.
- Üzerine 1,5 ml 0,2 M Tris tamponu (PH:8,2) ilave edilir.
- 0,1 ml 0,01 M DTNB ve 7,9 ml metanol eklenir. 15 dakika beklenir. 15 dakika 2000g de santrifüj edilir. 412 nm'de köre karşı okunur.
- Köre plazma yerine disodyum EDTA, DTNB yerine distile su ilave edilir.

2.3. İstatistiksel Analiz

Tüm değerler ortalama±standard hata (standard error mean, SEM) olarak verilecektir. Grupların birbirinden farklılığı istatistiksel açıdan ANOVA, gruplarda n<30 olduğu durumlarda Mann Whitney U testi ve aralarındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla korelasyon analizi kullanılarak incelenecektir. Tüm hesaplamalarda ve istatistiksel analizlerde SPSS 11.5 versiyonu kullanılacaktır.

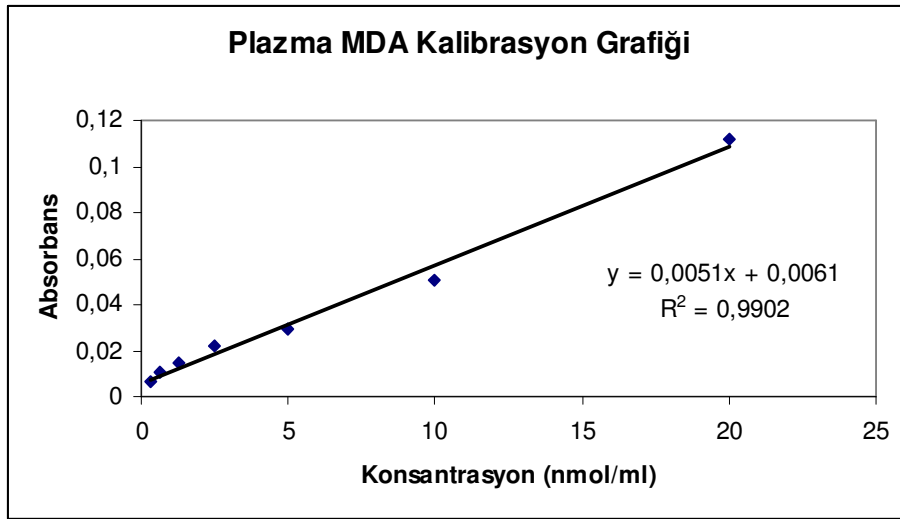
3. BULGULAR

3.1. Kalibrasyonlar

Absorbans değerleri ordinata (y eksenini), konsantrasyon değerleri apsiste (x eksenini) olmak üzere çizilen kalibrasyon eğrileri ve regresyon denklemleri Şekil 3.1. ve 3.2.'de gösterilmiştir.

3.1.3. Plazma MDA

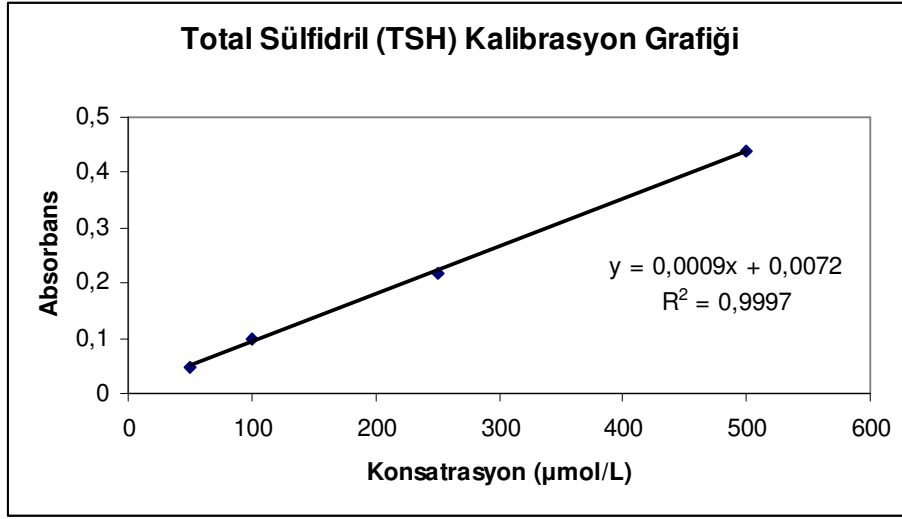
Kalibrasyon eğrisini çizmek için standart madde olarak kullanılan tetraetoksi propan (TEP)'in suda 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 ve 0.312 nmol/ml'lik çözeltileri hazırlandı. Kalibrasyon eğrisi konsantrasyona karşı absorbans değerleri yerine konularak çizildi.



Şekil 3.1. Buege ve Aust'un spektrofotometrik yöntemi ile plazmada MDA tayini için hazırlanan kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemleri.

3.1.4. Plazma Total Sülfidril Düzeyleri

Kalibrasyon eğrisini çizmek için TSH'nın 20, 10, 5, 2.5, 1.25×10^{-4} M'lik çözeltileri hazırlandı. Dilüsyonlar 0.02M Na₂EDTA ile yapıldı. Kalibrasyon eğrisi konsantrasyona karşı absorbans değerleri yerine konularak çizildi.



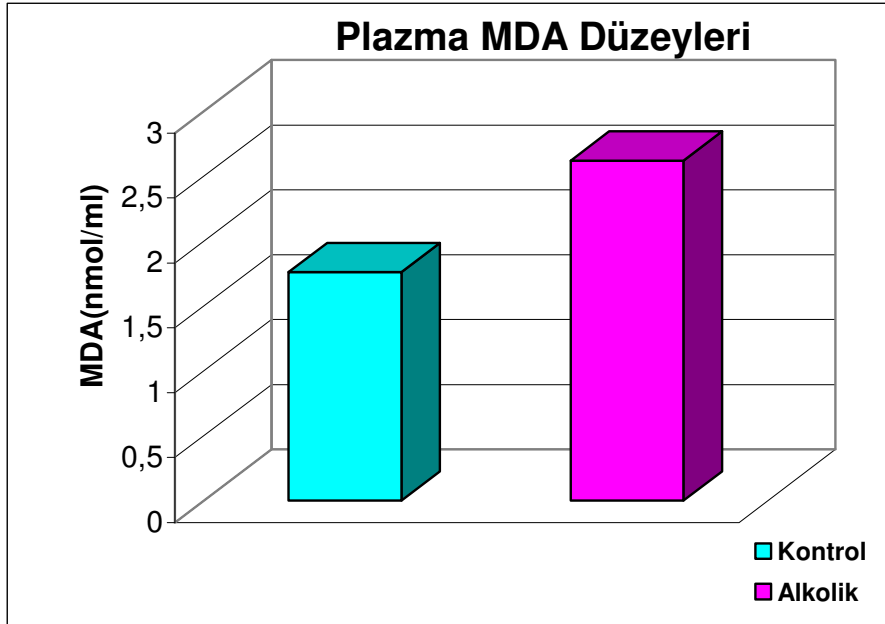
Şekil 3.2. Sedlak ve Lindsay'in spektrofotometrik yöntemi ile plazmada total sülfidril tayini için hazırlanan kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemini.

3.2.MDA, TSH ve PCO Düzeyleri

3.2.1. Plazma MDA

Kronik alkol kullanımı sonucu, alkolik hastalarda kontrol grubuna göre plazma MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p= 0.005$) görüldü.

Kontrol grupları ve alkolik hastalarda MDA düzeyleri Şekil 3.3.' de gösterilmiştir.

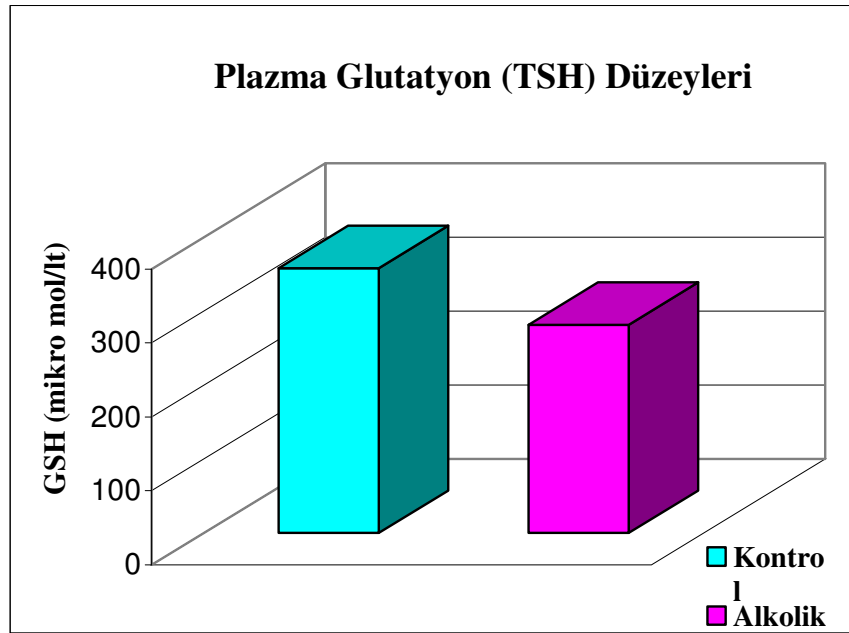


Şekil 3.3. Kontrol grubu ve alkolik hastalarda plazma MDA düzeyleri

3.2.2. Plazma TSH

Kronik alkol kullanımı sonucu, alkol hastalarında kontrol gruplarına göre plazma TSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ($p=0.004$) görüldü.

Kontrol grupları ve alkol hastalarındaki TSH düzeyleri Şekil 3.4' de gösterilmiştir.

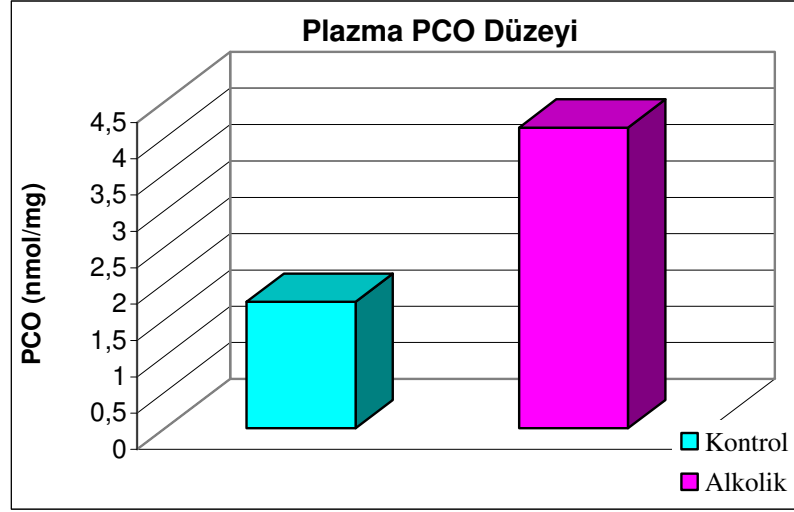


Şekil 3.4. Kontrol grubu ve alkol kullanan hastalarda alkol tüketim miktarına göre plazma total sülfidril düzeyleri

3.2.3. Plazma PCO

Kronik alkol kullanımı sonucu, alkol hastalarında kontrol gruplarına göre plazma PCO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p=0.000$) görülmüştür.

Kontrol grupları ve alkol hastalarındaki PCO düzeyleri Şekil 3.5’de gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Kontrol grubu ve alkol kullanan hastalarda alkol tüketim miktarına göre plazma protein karbonil düzeyleri.

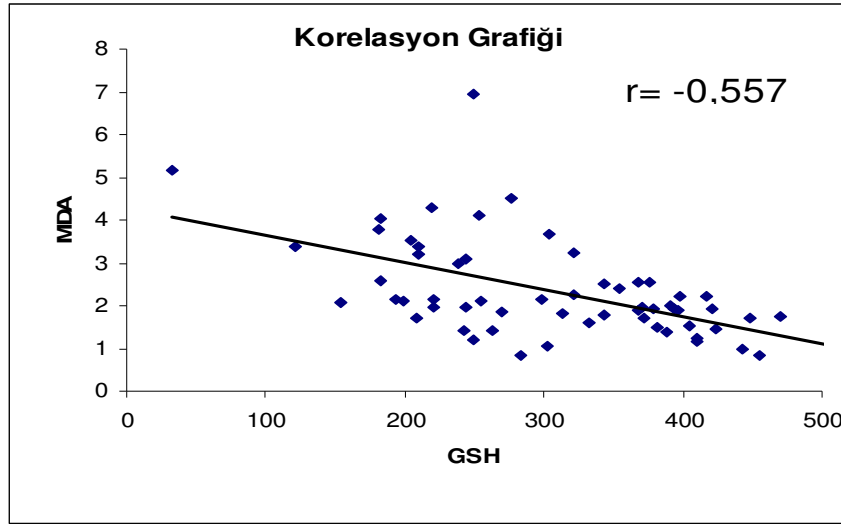
Kontrol grubuna ve alkolik hastalara ait MDA, TSH ve PCO sayısal değerleri ve bu değerleri göz önünde bulundurarak yapılan istatistiksel analizler sonucu iki grup arasında hesaplanan istatistiksel farklılık aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 3.1).

	GROUP A (Kontrol Grubu, n=20)	GROUP B (Alkolik Hastalar, n=40)	F	P
MDA	1,76 ± 0,44	2,62 ± 1,27	8,59	0,005*
TSH	358,2 ± 59,58	281,70±104,58	9,16	0,004*
PCO	1,74 ± 0,44	4,14±1,70	38,169	0,000*

Tablo 3.1. MDA, TSH ve PCO sayısal değerleri ve gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar.

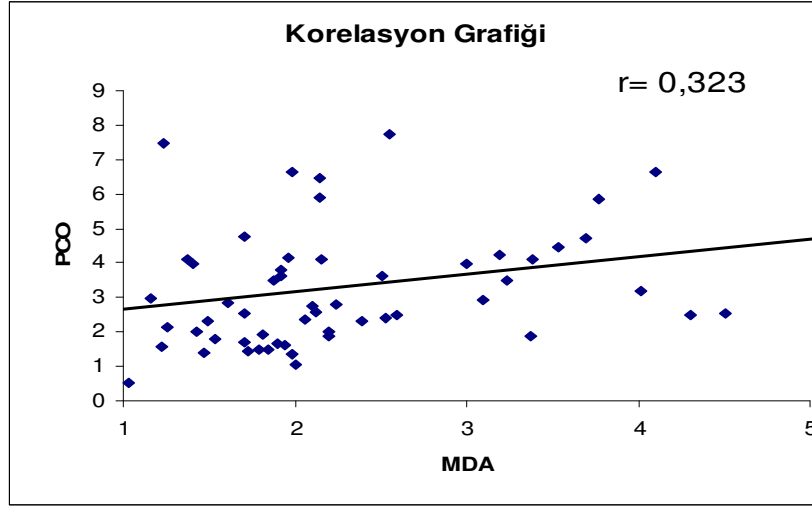
3.2.4. MDA, TSH ve PCO Arasındaki İstatistiksel Korelatif Anlamlılıklar

MDA ve TSH arasında görülen negatif korelasyonun ($r= -0.557$, $p=0.000$) grafiksel görüntüsü Şekil 3.6' daki gibidir.



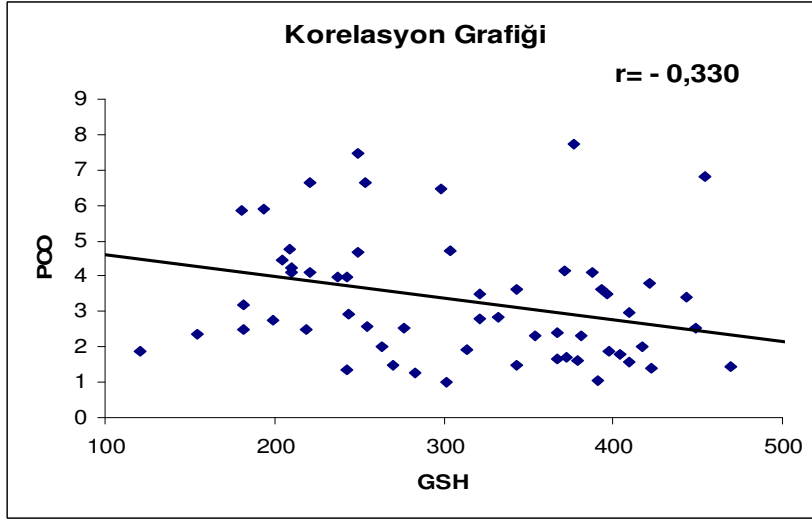
Şekil 3.6. TSH ve MDA korelasyon grafiği

PCO ve MDA düzeyleri arasında pozitif yönde hesaplanan anlamlı korelasyonun ($r=0.323$, $p=0.012$) grafiği aşağıdaki gibidir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. MDA ve PCO korelasyon grafiği

PCO ve TSH düzeyleri arasında negatif yönde ($r = -0.330$) anlamlı bir ilişki ($p = 0.010$) bulunmuştur.



Şekil 3.8. PCO ve TSH Korelasyon Grafiği

MDA ve PCO düzeylerinde pozitif bir korelasyon görülürken (MDA/PCO $r= 0.323$, $p=0.012$), MDA ve TSH değerleri arasında negatif bir korelasyon (MDA/TSH $r= -0.557$, $p=0.000$) bulunmuştur. Aynı şekilde PCO ve TSH arasında gözlenen korelasyon da negatif olarak hesaplanmıştır (PCO/TSH $r= -0.330$, $p=0.010$). Bu değerler Tablo 3.2’de topluca gösterilmiştir.

Tablo 3.2. MDA, TSH, PCO korelasyon değerleri

	MDA	TSH	PCO
MDA	-----	$r= -0.557$ $p=0.000$	$r= 0.323$ $p= 0.012$
TSH	$r= -0.557$ $p=0.000$	-----	$r= -0.330$ $p= 0.010$
PCO	$r=0.323$ $p=0.012$	$r= -0.330$ $p=0.010$	-----

3.2.5. MDA, TSH ve PCO Düzeylerinin Yaş ve Kullanım Yılı ile İlişkisi

Protein karbonil seviyeleri yaş ve kullanım yılı arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (PCO/yaş, $r=0.381$, $p=0.003$; PCO/Kullanım yılı, $r=0.493$, $p= 0.000$). MDA ve TSH düzeyleri ve yaş/ kullanım yılı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Yaşa ve kullanım yılına göre MDA ve PCO düzeylerinde pozitif bir korelasyon görülürken (MDA/yaş $r=0.132$; MDA/kullanım yılı $r=0.253$;

PCO/yaş $r=0.381$; PCO/kullanım yılı $r=0.493$), TSH ile aralarında negatif bir korelasyon (TSH/yaş $r= -0.202$; TSH/kullanım yılı $r= -0.247$) bulunmuştur. Bu değerler Tablo 3.3’de topluca gösterilmiştir.

Tablo 3.3. MDA, TSH ve PCO düzeylerinin yaş ve kullanım yılına göre korelasyon tablosu

	MDA	TSH	PCO
YAŞ	$r = 0,132$ $p = 0,326$	$r = - 0,202$ $p = 0,131$	$r =0,381$ $p = 0,003^*$
KULLANIM YILI*	$r =0,253$ $p = 0,058$	$r = - 0,247$ $p = 0,064$	$r = 0,493$ $p = 0,000^*$

***Kullanım yılı: Alkol kullanım süresi**

3.2.6. Alkol Kullanan Hastalar ve Karaciğer Fonksiyon Testleri

Alkolik hastalar ve kontrol grubunda AST ($p=0.008$) ve GGT ($p=0.000$) değerlerinde istatistiksel farklılıklar gözlenirken ALT ($p=0.105$) düzeylerinde farklı bir anlamlılık bulunamamıştır (Tablo 3.4.).

Tablo 3.4. Karaciğer AST, ALT, GGT ve AST/ALT düzeyleri

	KONTROL n=20	ALKOLİK HASTALAR n=40	Z	P
AST	20.22±1.39	49.00±8.65	-2.66	0.008
ALT	22.78 ±4.94	37.24 ±5.47	-1.62	0.105
GGT	17.67 ±3.32	183.35±55.02	-4.09	0.000

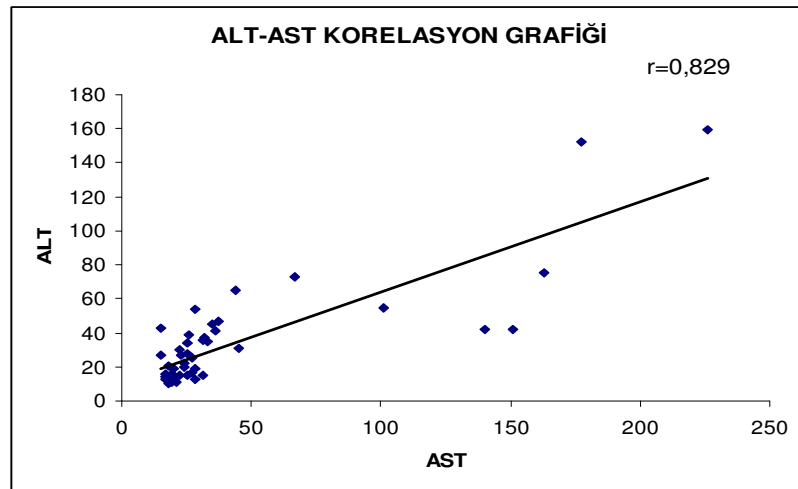
3.2.7. AST, ALT ve GGT Arasındaki İstatistiksel Korelatif Anlamlılıklar

Ölçülen biyokimyasal değişkenler (AST, ALT, GGT) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ($p= 0.000$). Bulunan tüm istatistiksel sonuçlar Tablo 3.5’de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. Karaciğer AST, ALT ve GGT düzeylerinin birbirleriyle olan ilişkisi

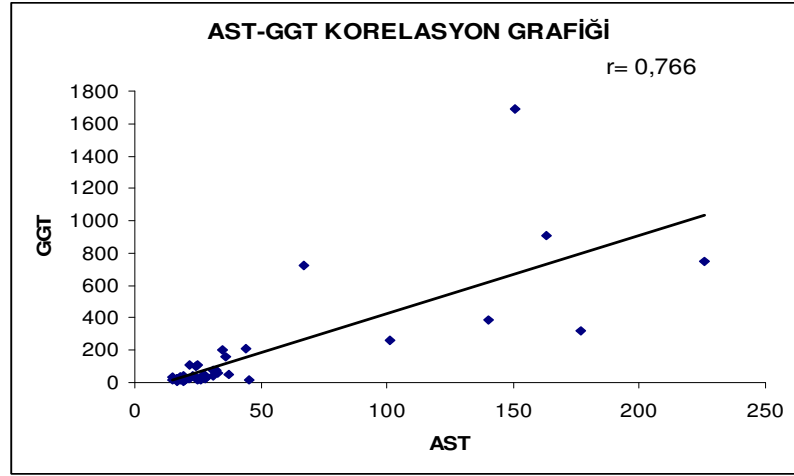
	AST	ALT	GGT
AST	-----	$r = 0,829$ $p = 0,000^*$	$r = 0,766$ $p = 0,000^*$
ALT	$r = 0,829$ $p = 0,000^*$	-----	$r = 0,506$ $p = 0,000^*$
GGT	$r = 0,766$ $p = 0,000^*$	$r = 0,506$ $p = 0,000^*$	-----

AST ve ALT düzeyleri arasında pozitif yönde, anlamlı bulunan korelasyon grafiği Şekil 3.9’daki gibidir.



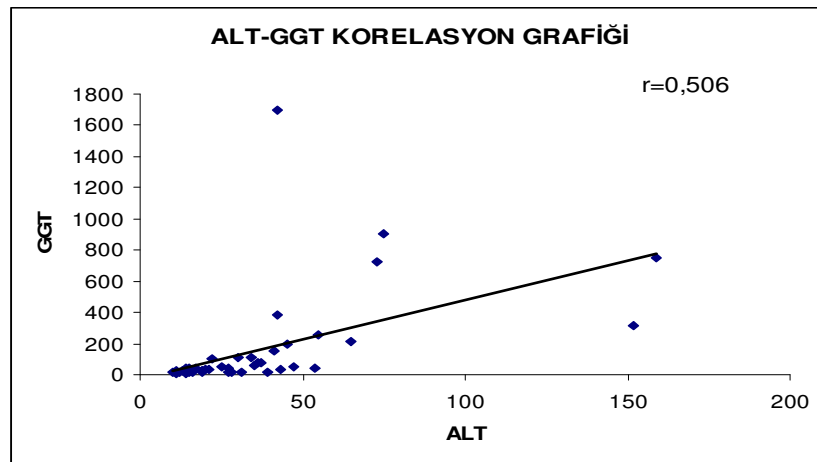
Şekil 3.9. AST ve ALT Korelasyon Grafiği

AST ve GGT düzeyleri arasında pozitif yönde, anlamlı bulunan korelasyon grafiği Şekil 3.10'daki gibi bulunmuştur.



Şekil 3.10. AST ve GGT Korelasyon Grafiği

ALT ve GGT düzeyleri arasında pozitif yönde, anlamlı bulunan korelasyon grafiği Şekil 3.11.'deki gibidir.



Şekil 3.11. ALT-GGT Korelasyon Grafiği

3.2.8. Alkol Kullanım Yılı ve AST, ALT ve GGT İlişkisi

Alkolik hastaların AST, ALT, GGT düzeyleri ve alkol kullanım süreleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı korelasyon tespit edilememiştir. Ancak bu parametreler arasında pozitif korelasyon görülmektedir.

Tablo 3.6. Alkol kullanım yılı ve AST, ALT, GGT arasındaki korelasyon tablosu

	AST	ALT	GGT
KULANIM YILI	r = 0,220 p = 0,146	r = 0,032 p = 0,832	r = 0,222 p = 0,143

4.TARTIŞMA

Vücuda alınan alkolün büyük bir kısmı, karaciğerde oksidatif metabolizma adı verilen bir seri reaksiyon sonucu vücuttan atılır. Alkolün en önemli enzimatik yıkımı, oldukça reaktif ve toksik bir molekül olan ve alkole bağlı gelişen karaciğer hasarında önemli rol oynayan asetaldehite dönüşümü sağlayan alkol dehidrojenaz enzimi yolu ile dir. Alkol metabolizmasının ilk adımını oluşturan bir başka enzim ise sitokrom P450 2E1'dir. Bu enzimin eşlik ettiği kimyasal reaksiyon sonucu yine asetaldehit ve hidroksietil radikali gibi oksijen radikalleri denilen oldukça reaktif oksijen içeren moleküller oluşur. Aşırı oksijen radikali oluşumu ve aynı zamanda bu radikallerin eliminasyonunda kullanılan moleküllerin (antioksidanlar) yetersizliği sonucu ortaya çıkan ve hücre ölümüne neden olan duruma oksidatif stres denir. Oksijen radikalleri hücre membranlarındaki yağlarla etkileşime girerek lipid peroksidasyonuna neden olurlar (Tuma ve Casey, 2003).

Fosfat gruplarına sahip olan lipidler (fosfolipidler) hücreleri çevreleyen membranların ana bileşenlerini oluştururlar. Bu nedenle fosfolipidlerin gördüğü en ufak zarar hücrelerin yaşamsal fonksiyonlarını etkiler. Lipidlerin tamamen yıkılması oksidatif hasarın göstergesidir. Membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), hidroksil radikali ve diğer oksidanların saldırısına maruz kalırlar. Sadece tek bir hidroksil radikali dahi zincir reaksiyonlar nedeni ile birçok PUFA molekülünün peroksidasyonuna neden olur (Wu ve Cederbaum, 2003).

Lipid peroksidasyon, malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi asetaldehite benzer reaktif moleküllerin oluşumuna neden olur. Asetaldehit ve lipid peroksit türevli aldehitler (MDA ve HNE) kimyasal olarak çok reaktif oldukları için, proteinler ve diğer kompleks moleküllerle birleşerek ‘adduct’ denilen modifiye moleküller oluştururlar. MDA asetaldehit ve proteinlerle de birleşerek karışık MDA-asetaldehit protein adductlarının (MAA) oluşumuna neden olur. Aldehit-protein adductlarının oluşumu alkol tarafından indüklenen karaciğer hasarının nedeni olarak düşünülmektedir (Tuma ve Casey, 2003).

Normal koşullarda hepatik aerobik metabolizmada reaktif oksijen (ROT) ve nitrojen (RNT) türevleri gibi pro-oksidanların oluşumu, bu bileşiklerin antioksidanlar tarafından aynı hızla tüketilmesi sonucu bir denge içinde bulunur. Pro-oksidan/ antioksidan dengesinde prooksidan tarafına doğru herhangi bir kaymada, karaciğerde birçok patofizyolojik reaksiyonları indükleyen ‘oksidatif stres’ olgusu ortaya çıkar. Oksidatif hasarın neden olduğu hepatotoksisite; ROT ve RNT’nin ana biyomoleküllere saldırması sonucu bu moleküllerin biyolojik fonksiyonlarını kaybetmesi ve hücre ölümüne neden olması esasına dayanır (Videla ve ark., 2004).

Alkol kullanımı sonucu hücre fonksiyonlarında farklılıklar ortaya çıkarken oksidan-antioksidan sistemde de bir çok değişiklik meydana gelir (Das ve ark., 2003; Dupont ve ark., 2000). Etanol tüketimi sonucu özellikle karaciğerde ve ekstrahepatik dokularda pro-oksidan ve antioksidan sistemlerindeki dengenin pro-oksidan lehine bozulması sonucu oksidatif hasar gelişir (Dupont ve ark., 2000). Alkoliklerde ciddi karaciğer hasarı oluşmasa bile oksidatif hasar gözlenebilir. Hepatik

sitokrom P-450 monooksijenaz aktivitesinde stimülasyona eşlik eden lipid peroksidasyon (LPO) indeksi olan mikrozomal malondialdehit (MDA) oluşumunda artış görülür (Das ve ark., 2003; Dupont ve ark., 2000). Bizim çalışmamızda da, alkolik hastalarda kontrol grubuna göre plazma MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p= 0.005$) görülmüştür.

Bu artışta rol oynayan etmen, alkolün ROT oluşumunu hızlandırması ve vücuttaki normal savunma mekanizmaları ile oluşan bu bileşiklere karşı özellikle karaciğerde çeşitli reaksiyonlara girerek etkileşim göstermesidir. Alkolün karaciğerde yıkıma girmesi sonucu oluşan moleküller şunlara sebep olur;

1. Alkolün karaciğerdeki yıkımı daha sonra metabolize olarak ROT'lara dönüşen moleküllerin oluşumuna neden olur.

*Alkol hücrede NAD^+ /NADH oranını değiştirir.

*Alkol metabolizması sonucu ortaya çıkan asetaldehit proteinler ve lipidler ile etkileşerek radikal oluşumuna ve hücre hasarına neden olur.

2. ROT oluşumuna katkıda bulunan sitokrom P450 aktivitesini stimüle eder.

3. Vücuttaki belirli metal düzeylerini değiştirerek ROT oluşumuna katkıda bulunur.

GSH düzeyleri ile Total sülfidril gruplarının düzeyleri arasında çok anlamlı bir korelasyon bulunmaktadır. Yani, alkol tüketimi sonucu, total sülfidril grupları (TSH) konsantrasyonlarındaki düşüşler, GSH

konsantrasyonundaki düşüşler ile orantılıdır. Alınan bu sonuç göstermektedir ki; serbest radikallerin detoksifikasyonunda yalnızca GSH değil protein tiyollerde (non-GSH), kritik düzeylerdeki protein sülfidrillerin redükte halde tutulabilmesi için kullanılmaktadır (Gupta ve ark., 2005).

Glutasyon (GSH) üç aminoasitten oluşur ve GSH transferaz enziminin kofaktörüdür. Bu enzim birçok ilaç, kimyasal ve reaktif molekülün hücreden uzaklaştırılmasında rol alır (Wu ve Cederbaum, 2003). Glutasyon, redükte formunda hücrelerin oksidatif hasara karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır. Alkolik karaciğer hastalığı olan kişilerde, alkolün toksik yıkım ürünü olan asetaldehitin GSH düzeylerinde görülen düşüşlerin nedeni olarak gösterilmektedir (Van De Castele ve ark., 2002). GSH bazı ROT'lar (hidroksil radikali) ile doğrudan reaksiyona girerek detoksifikasyonu da sağlar (Wu ve Cederbaum, 2003). GSH karaciğerin yanında, eritrositlerde de bulunur (Van De Castele ve ark., 2002).

Etanol ve asetaldehitin metabolizması sonucu ortaya çıkan toksik metabolitlerin konjugasyonu ve reaktif oksijen türevlerinin nötralizasyonu, GSH gibi antioksidanların intra ve ekstra hücresel içeriğini düşürür (Grattagliano ve ark., 1996).

Yapılan çalışmalarda kronik alkoliklerde plazma ve eritrosit GSH konsantrasyonlarının düştüğü gözlenmiştir. Karaciğerde GSH sentezinin ve salımının zayıflaması bu düşüşün nedeni olarak düşünülmektedir (Grattagliano ve ark., 1996).

Plazma GSH düzeylerindeki kronik yetersizlik, sirkülasyondaki lipidleri, proteinleri ve kan hücre membranlarını oksidatif modifikasyonlara maruz bırakarak biyolojik fonksiyonlarını yitirmelerine neden olur. GSH yetersizliği hücreleri oksidatif hasara ve morfolojik değişikliklere daha duyarlı hale getirir (Grattagliano ve ark., 1996).

Sonuçlarımıza göre hücre içi non-enzimatik antioksidan ve tiol havuzunun ana bileşeni olan redükte glutatyon'un (GSH) alkoliklerde anlamlı derecede ($p=0.004$) düştüğü görülmüştür. Bunun başlıca nedenleri;

- ✓ GSH'ın serbest radikalleri süpürme görevi dolayısıyla tükenmesi
- ✓ Non-GSH kritik protein sülfidrillerin redükte formunda kalmasında oynadığı rol
- ✓ Alkol gibi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda GSH'ın ko-faktörü olarak rol oynaması
- ✓ Hidrojen peroksit ve/veya lipid peroksitlerin detoksifikasyonu esnasında glutatyon peroksitler tarafından GSH'ın oksidasyona uğraması
- ✓ Etanolün GSH sentezini baskılaması olarak düşünülmektedir (Gupta ve ark., 2005).

Proteinler oksidatif atak için önemli hedeflerdir, çünkü ROS aminoasit kalıntılarını okside edebilir, peptid bağlarını ayırabilir, protein fragmentasyonu (kümelenmesini) artırabilir ve proteolizis oranlarını değiştirebilir (Berlett ve Stadtman, 1997).

Proteinler hücredeki oksidatif hareketin en önemli hedefi olarak görülebilir, çünkü oksidatif hareketsizlik proteinlerin katalitik fonksiyonları sebebiyle çok hızlı sonuçlar doğurabilir. Bundan dolayı, protein oksidasyonu birçok etanol bağımlı modifikasyonlardan biri olarak kabul edilmektedir ki bu modifikasyonlar, etanolün ROS' u artırmasıyla hepatositlerde ve özellikle mitokondrilerde protein fonksiyonlarını değiştirir. Alkol alımı sonucu, aminoasit bölge zincirlerindeki direk oksidatif atakla veya lipid peroksidasyonu ya da şeker azalması sonucu ortaya çıkan protein modifikasyonu, karbonil gruplarının oluşumunu (aldehit ve keton ürünleri) sağlar. Kronik alkol tüketimi belirgin olarak protein karbonil içeriğini %25- %60 oranında artırmaktadır. Bundan dolayı, kronik alkol tüketimi hücresel mekanizma proteinlerinin önemli bir bölümünde oksidatif hasara sebep olmaktadır (Sun ve ark., 2001).

Oksidatif stresin erken aşamasında oluşan ve diğer stres parametrelerine göre, dolaşımda daha uzun süre kalabilen PCO , güvenilir bir marker olarak kullanılmaktadır (Dalle-Donne, ve ark., 2003; Massy ve ark., 2002). PCO, bu özelliklerinden dolayı çalışmamızda kullanılmış ve alkol hastaları ve kontrol grupları ile karşılaştırılmış ve PCO düzeyinde anlamlı bir artış ($p=0.000$) görülmüştür.

Serbest radikaller proteinlerdeki tiol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olur (Berlett ve Stadtman, 1997 ; Dean ve ark., 1997, Esterbauer ve Zoliner, 1989; Takenaka ve ark., 1991). Proteinlerdeki tiol grupları antioksidan fonksiyonunu, peroksidasyonunu başlatan oksidanları tutarak gösterir.

Böylelikle lipidler serbest radikallerin oksidatif atağından korunur (Takenaka ve ark., 1991). Radikallere bağlı protein hasarının en erken gözlenebilen belirtisi tiol gruplarının disüflidlere ve oksidatif asitlere dönüşümüdür. Glutasyon ve sistein gibi biyolojik tioller oksidanlarla indüklenen protein inaktivasyonunu, ya direk olarak radikallerle reaksiyona girerek ya da indirek olarak proteinlerdeki serbest tiol grupları ile geri dönüşümlü bağlar oluşturarak önlerler (Dean ve ark., 1997). Bu bilgilere bağlı olarak PCO ve TSH düzeyleri arasındaki bu ilişkiyi anlamlandırabilmek amacıyla yaptığımız çalışmada PCO-TSH arasında istatistiksel olarak negatif yönde ($r = -0.330$) korelasyon ve anlamlı bir ilişki ($p = 0.010$) bulunmuştur.

Türkoğlu ve arkadaşları (Türkoğlu ve ark., 2000), kronik alkolizm hastaları ile yaptıkları çalışmada, bizim çalışmamızla uyumlu plazma MDA ve protein karbonil kontentlerinde anlamlı artış gözlemişlerdir.

Çalışmamızda görülmüştür ki, PCO - MDA arasında istatistiksel olarak pozitif yönde ($r = 0.323$) korelasyon ve anlamlı bir ilişki ($p = 0.012$) bulunmuştur. Bu şekil 3.7’de gösterilmiştir.

Etanolün oksijen radikalleri oluşturduğu, GSH sentezini tutup dokulardaki GSH değerlerini tükettiği, MDA değerlerini artırdığı ve insanlarda ve deney hayvanlarında anti oksidatif savunma sistemine genellikle zarar verdiği bilinmektedir (Speisky ve ark., 1985; Gence ve ark., 1998; Guerri ve Grisolia, 1980; Lieber, 1994). Bu bilgiler ışığında yaptığımız çalışmada MDA- TSH arasında istatistiksel olarak negatif yönde ($r = -0.557$) korelasyon ve anlamlı bir ilişki ($p = 0.000$) bulunmuştur.

Yaşlanmayla ilgili olarak öne sürülen teorilerden biri olan serbest radikal teorisinde; canlının yaşamı boyunca etkilendiği reaktif oksijen türlerinin (ROS) oksidatif hasara neden olabileceği öne sürülmektedir. Kümülatif ve potansiyel olarak artan miktardaki hasar, yaşlanmadaki fonksiyonel ve patolojik bozukluklara yol açar (Butterfield ve ark., 1998). Daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, serbest radikallerin proteinler (Butterfield ve ark., 1998; Cini ve Moretti, 1995) ve lipidlerde (Liu ve ark., 1996; Cini ve Moretti, 1995; Cai ve ark., 1996) hasara yol açtığı bildirilmiştir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan reaktif oksidanlar olan lipid epoksidleri, lipid hidroperoksitleri, lipid alkoksil, peroksil radikalleri ile enallerin yaşlanmayı hızlandırdığı bilinmektedir (Ames ve ark., 1993). Çalışmamızda tüm deneklerin yaşlarında lipid ve proteinlerde yaş ile oluşacak oksidatif hasarı gözlemek amacıyla sorgulanmıştır. Bu amaçla yaptığımız çalışmada PCO içeriği ve yaş arasında istatistiksel olarak pozitif yönde korelasyon bulunmuştur (PCO/yaş, $r=0.381$, $p=0.003$). Yaş artışına bağlı olarak MDA ve PCO düzeylerinde pozitif bir korelasyon görülürken (MDA/yaş $r=0.132$; PCO/yaş $r=0.381$), GSH ile aralarında negatif bir korelasyon (GSH/yaş $r= -0.202$) bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar doğrultusunda PCO ve MDA düzeylerinde belirgin artışın yaşlanmayı artırdığı ve GSH düzeylerinde belirgin düşüslere bağlı olarak oksidatif hasarı artırdığını söyleyebiliriz.

Diğer taraftan oksidatif strese bağlı olarak oluşan protein hasarının, lipidlerdeki hasardan daha önemli olduğu öne sürülmektedir (Reznick ve Packer, 1994). Proteinlerde in vivo olarak meydana gelen oksidatif değişiklikler, proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücrel fonksiyonları etkiler. Reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının,

yapısal proteinlerin, transport sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücrel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir (Reznick ve Packer, 1994; Evans ve ark., 1999) .

Alkolün kullanım süreside MDA, GSH ve PCO üzerinde etkilidir. Kullanım süresi arttıkça MDA, PCO' da artış görülürken GSH azalma görülmektedir. Buna göre protein karbonil seviyeleri ve kullanım yılı arasında pozitif korelasyon görülmüştür.(PCO/Kullanım yılı, $r=0.493$, $p=0.000$). Ayrıca kullanım yılına göre MDA ve PCO düzeylerinde arasında pozitif bir korelasyon görülürken (MDA/kullanım yılı $r=0.253$; PCO/kullanım yılı $r=0.493$), TSH ile aralarında negatif bir korelasyon (TSH/kullanım yılı $r= -0.247$) bulunmuştur.

Alkol kullanan kişinin alkol kullanması engellenirse, γ -Gt değerli yavaş yavaş düşecektir. Değerler 2 hafta içerisinde yarıya düşecek ve genellikle 6–8 hafta içerisinde referans aralığa geri dönecektir. Bu bilgiler düzeylerin yükselmesinin nedeninin alkol olduğunu desteklemektedir. Ancak alkolizme bağlı gelişen hepatit ve siroz veya diğer hastalıklarda düzeylerde düşmeler çok az veya hiç gözlemlenmeyebilir. Serumda AST'nin ALT'ye oranı bazı karaciğer hastalıklarının teşhisinde kullanılabilir. Akut karaciğer hasarı olan hastaların birçoğunda bu oran 1 veya daha azdır. Alkole bağlı hepatiti olan hastalarda ise bu oran 2'dir. Her iki aminotransferaz için de koenzim olan piridoksal-5-fosfat eksikliği alkole bağlı karaciğer hastalığı olanlarda yaygındır. Bu eksiklik hepatic ALT düzeylerinde düşmelere neden olur. Serum konsantrasyonlarında da benzer değişiklik gözlenir (Das ve ark., 2003).

Hepatik hastalıkları olan veya olmayan alkol bağımlısı bireylerde oksidatif yıkımın önemli belirtileri olduğunu destekleyen veri sayısı artmaktadır (Preedy ve ark., 2002; Zima ve ark., 2001; Van De Casteele ve ark., 2002). Alkol bağımlılığı ROS oluşumunu destekler ve antioksidan savunma sistemi bu oksijen türevlerini süpürmede kullanılır. Bu sebepten dolayı hepatik yıkımın olup olmadığını anlamak için GGT, AST, ALT ölçülür. Bu süreç özellikle alkol bağımlısı hastalarda uygulanır. Das ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sağlıklı kontrollerle alkol bağımlısı bireyler karşılaştırılmış ve GGT değerlerinde belirgin bir şekilde yükselme görülmüştür ($p=0.000$). Alkolik hastalarda, AST değerlerinde ise kontrol grupları ile karşılaştırıldığında yine artış görülür ($p=0.035$). GGT sıklıkla alkol alımının belirleyicisi olarak kullanılır ve GGT' nin artışını yalnızca kronik alkol alımı belirler (Das ve ark., 2003). Bu bilgilerin bir sonucu olarak kronik alkol belirleyicisi olan AST, ALT ve GGT karşılaştırılmış ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon ($p=0.000$) bulunmuştur ve AST ($p= 0.008$) ve GGT ($p= 0.000$) düzeylerinde istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Alkol bağımlısı hastalarda oksidatif stresin belirlemede bir gösterge olan LPO ve bu reaksiyon zincirinin ürünü olan MDA'nın plazmadaki düzeyi ve plazmadaki GSH düzeyi önemli parametrelerdir.
2. Plazmada Buege ve Aust'un (1978) MDA tayini için TBA-Rs yöntemi, Sedlak ve Lindsay'in (1968) TSH tayini için plazma TSH yöntemleri laboratuvar koşullarında uygulanabilir hale getirilerek plazma MDA ve total GSH düzeyleri araştırılmıştır. Yöntemler U.V. spektrofotometre cihazı ile rutin laboratuvarında kolaylıkla uygulanabilir hale getirilmiştir.
3. Alkol bağımlısı hastalarda oksidatif stresin diğer bir göstergesi olan protein oksidasyonu ve bunun ürünü olan PCO'nun plazmadaki düzeyi önemli parametrelerdir.
4. Plazma PCO tayini için Reznick ve Packer'in (1994) yöntemi U.V. spektrofotometre cihazı ile rutin laboratuvarında kolaylıkla uygulanabilir hale getirilmiştir.
5. Çalışmamızda kronik alkol kullanımı sonucunda yapılan deneylerde alkolik hastalar kontrol grupları ile karşılaştırıldığında Plazma MDA ve PCO düzeylerinde anlamlı bir artış, hücresel GSH düzeylerinde anlamlı bir düşüş saptanmıştır.

6. Sonuçlarımıza göre kronik alkol kullanımının arttığı oksidatif stresin lipid ve proteinlerde hasara sebep olduğu görülmüştür.
7. Kronik alkol alımının biyokimyasal parametreleri olan AST ve GGT düzeylerinde anlamlılık görülmüştür.
8. Çalışma bulgularını yorumlamak için yaş, kullanım yılı değişkenleri göz önüne alınmıştır.

ÖZET

Kronik Alkol Kullanımında, Protein Karbonil Düzeylerinin Belirlenmesi ve Diğer Biyogöstergelerle Birlikte Değerlendirilmesi

Çalışmamızın ilk bölümünde kronik alkol kullanımının göstergesi olan oksidatif stresin, lipidler ve proteinler üzerindeki etkisi araştırıldı. Bu amaçla lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerini ölçmek için plazmada Buege ve August'un (1978) TBA-Rs yöntemi çalışıldı.

Kronik alkol kullanan hastalarda plazma MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı şekilde bir artış görüldü ($p=0.005$).

Çalışmamızın ikinci bölümünde, kontrol ve kronik alkol kullanan hastalarda hücrel GSH miktarı Sedlak ve Lindsay'in (1968) geliştirdikleri spektrofotometrik yöntem kullanılarak ölçüldü ve plazma GSH düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($p=0.004$).

Çalışmamızın üçüncü aşamasında alkol kullanımına bağlı artan oksidatif stresin proteinler üzerine yaptığı hasar Reznick ve Packer'in (1994) yöntemi ile belirlendi. Protein oksidasyonunun ürünü olan plazma PCO düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($p=0.000$).

Kronik alkol kullanımı sebebiyle oluşan karaciğer hastalıklarının biyokimyasal parametreleri olan AST ($p=0.035$) ve GGT'nin ($p=0.000$) anlamlılıkları belirlenmiştir. Ancak ALT düzeyinde bir anlamlılık bulunamadı ($p=0.105$).

Anahtar Kelimeler: Alkol, Oksidatif Stres, PCO, MDA, GSH, AST, ALT, GGT.

SUMMARY

Determination of Protein Carbonyl Levels and Co-evaluation with Other Biomarkers in Chronic Alcohol Users

In the first part of this study, the effect of oxidative stress, the indicator of chronic alcohol consumption, on lipids and proteins is searched. In this target, in order to determine MDA, a lipid peroxidation product, level in plasma, Buege and August's (1978) TBA-Rs method is used.

For chronic alcohol dependent individuals, in plasma MDA levels, significant increase is observed with respect to control group ($p= 0.005$).

In the second part of the study, cellular GSH amount is measured by spectrophotometric method of Sedlak and Lindsay (1968) for both control group and chronic alcohol dependent patients; and with respect to control group, significant decrease of GSH level is observed ($p= 0.004$).

In the third part of the study, the damage of oxidative stress, which increases with alcohol consumption, on proteins is observed by using Reznick and Packer's (1994) method. On plasma PCO, a protein oxidation product, level; statistically, significant increase is observed as a result of comparison with control group ($p=0.000$).

The significance of AST ($p=0.035$) and GGT ($p=0.000$), which are parameters of diseases in liver due to chronic alcoholism is observed. However on ALT level, a significance could not be detected ($p= 0.105$).

Key Words: Alcohol, Oxidative stress, PCO, MDA, GSH, AST, ALT, GGT.

KAYNAKLAR

- ABDOLLAHI, M., RANJBAR, A., SHADNIA, S., NIKFAR., S., REZAIIE, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* **10**:141-147.
- AGARWAL, D.P., GOEDDE, H.W. (1990). Pharmacokinetics of alcohol dehydrogenase (ADH). *Pharmacol Ther.* **45**:69-83.
- ALDERMAN, C.J.J., SHAH, S., FOREMAN, J.C., CHAIN, B.M., KATZ, D.R. (2002). The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. *Free Radic. Biol. Med.* **32**:377-385.
- AMES, B.N., SHIGENAGA, M.K., HAGEN, T.M. (1993). Oxidants, and degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90**:7915-7922.
- AMICI, A., LEVINE, R.L. AND TSAI, L. (1989). Conversion of aminoacid residues in proteins and aminoacid homopolymers to carbonyl derivatives by metal catalysed oxidation reactions. *J. Biol. Chem.* **264**:3341-3346.
- BASAGA, H.S. (1990). Biochemical aspects of free radicals. *Biochem. Cell Biol.* **68**:989-998.
- BECKER, C. (1983) Methanol poisoning. *J. Emerg. Med.* **1**:51.
- BENEDETTI, A., CASINI, A.F., FERRALI, M., COMPORTI, M. (1979). Effects of diffusible products of peroxidation of rat liver mikrosomal lipids. *Biochem. J.* **180**:303-312.
- BERLETT, B.S., STADTMAN, E.R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stres. *J. Biol. Chem.* **272**:20313- 20316.

- BINDOLI, A., RIGOBELLO, M.P. (2002). Mitochondrial thioredoxin reductase and thiol status. *Meth. Enzymol.* **347**:307-316.
- BISHOP, M.L., JANET, L.P. (1996). Free Radicals in Clinical Chemistry: Principles, Procedure, Correlations. Third edition. Philadelphia, New York, pp.765-777.
- BRENT, J.A., RUMACK, B.H. (1993b). Role of free radicals in toxic hepatic injury II: Are free radicals the cause of toxin induced liver injury? *Clin. Toxicol.* **31(1)**:173-196.
- BRENT, J.A., RUMACK, B.H.(1993a). Role of free radicals in toxic hepatic injury I: Free radical Biochemistry. *Clin. Toxicol.* **31(1)**:139-171.
- BUECHER, D.D. (1988). Free radicals and oxygen toxicity. *Pharm. Res.* **5**:253-260.
- BUEGE, J.A., AUST, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* **52**:303-310.
- BURGER, R.M., BERKOWITZ, A.R., PEISACH, J., HOWITZ, S.B. (1980). Origin of malondialdehyde from DNA degraded by Fe (II) bleomycin. *J. Biol. Chem.* **225**:11832-11838.
- BUTTERFIELD, D.A., KOPPAL, T., HOWARD, B., SUBRAMANIAM, R., HALL, N., HENSLEY, K., YATIN, S., ALLEN, K., AKSENOV, M., AKSENOVA, M., CARNEY, J. (1998). Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha phenyl nitron and vitamin E. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **854**: 448-462.
- CAI, Q., TIAN, L., WEI, H. (1996). Age dependent increase of indigenous DNA adducts in rat brain is associated with lipid peroxidation product. *Exp. Gerontol.* **31**: 373-385.

- CANUTO, R.A., FERRO, M., SALVO, R.A., BASSI, A.M., TROMBETTA, A., MAGGIORA, M., MARTINASSO, G., LINDAHL, R., MUZIO, G. (2001). Increase in class 2 aldehyde dehydrogenase expression by arachidonic acid in rat hepatoma cells. *Biochem. J.* **357**:811-818.
- CANUTO, R.A., MUZIO, G., SALVO, R.A., MAGGIORA, M., TROMBETTA, A., CHANTEPIE, J., FOURNET, G., REICHERT, U., QUASH, G. (2001). The effect of a novel irreversible inhibitor of aldehyde dehydrogenases 1 and 3 on tumour cell growth and death. *Chem. Biol. Interact. Jan.* **30: 130-132(1-3)**: 209-218.
- CHANCE, B., SIES, H., BOVERIS, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* **59**:527-605.
- CHEESEMAN, K.H., SLATER, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* **49(3)**:481-493.
- CHOW, C.K. (1991). Vitamin E and oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* **11**:215-232.
- CINI, M., MORETTI, A. (1995). Studies on lipid peroxidation and protein oxidation in the aging brain. *Neurobiol. Aging.* **16**: 53-57.
- COCHRAN, C.G. (1991). Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.* **92**:235-305.
- CRABB, D.W., BOSRON, W.F., LI, T-K. (1987). Ethanol metabolism. *Pharmacol. Ther.* **34**:59-73.
- CROSS, C.E., HALLIWELL, B., BORISH, E.T., PRYOR, W.A., AMES, B.N., SAUL, R.L., MCCORD, J.M., HARMAN, D. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Ann. Intern. Med.* **107**:526-545.
- CURTIS, D.K. (1996). Toxic effects of solvents and vapors. In Caserett & Doull S. Toxicology. 5th ed. pp. 755-757.

- DALLE-DONNE, I., GIUSTARINI D., COLOMBO, R., ROSSI, R., MILZANI, A. (2003). Protein Carbonylation in human diseases. *Trend. Mol. Med.* **9**:169-176.
- DALLE-DONNE, I., ROSSI, R., GIUSTARINI D., MILZANI, A., COLOMBO, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress . *Clin. Chim. Acta.* **329**:23-38.
- DAS K.S., NAYAK, P., VASUDEVAN, D.M. (2003). Biochemical markers for alcohol consumption. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* **18 (2)**: 111-118.
- DAVIES, M.J., FU, S., WANG, H., DEAN R.T. (1999). Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic. Biol . Med.* **27**:1151-1163.
- DEAN R.T., FU, S., STOCKER, R., DAVIES, M.J. (1997). Biochemistry and pathology of radical –mediated protein oxidation. *Biochem. J.* **324**:1-18.
- DRAPER, H.H., BETTGER, W.J.(1994). Role of nutrients in the cause and prevention of oxygen radical pathology. *Adv. Exp. Med. Biol.* **366**:269-89.
- DUNDEE, J.W., ISAAC, M., TAGGART, J. (1971). Blood ethanol levels following rapid intravenous infusion. *Quart. J. Stud. Alcohol.* **32**:741-747.
- DUPONT, I., BODENEZ, P., BERTHOU, F., SIMON B., BARDOU, L.G., LUCAS, D. (2000). Cytochrome P-450 2E1 activity and oxidative stress in alcoholic patients. *Alcoholic&Alcoholism.* **35 (1)**: 98-103.

- DUTIE, G.G. (1990). Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch. Biochem. Biophys.* **282(1)**:78-83.
- ERNST, G., JOHN, R.M., ROBERT, G.B., JOHN, W.E. (1984). Iron-catalysed hydroxyl radical. *The J. Biochem.* **259(6)**:3620-3624.
- ESTERBAUER, H., CHEESEMAN, K.H., DIANZANI, M.U., POLI, G., SLATER, T.F. (1982). Separation and characterization of the aldehydic products of ADP/Fe⁺² stimulated lipid peroxidation in the rat liver microsomes. *Biochem. J.* **208**:129-140.
- ESTERBAUER, H., ZOLLNER, H. (1989). Methods for determination of aldehydic lipid peroxidation products. *Free Radic. Biol. Med.* **7**:197.
- ESTERBAUER, H., SCHAUR K.G., ZOLLNER, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Rad. Biol. Med.* **11**:81-128.
- EVANS, P., LYRAS, L., HALLIWEL, B. (1999). Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. *Meth. Enzymol.* **300**: 145-156.
- FREEMAN, B.A., CRAPO, J.D. (1982). Biology of disease Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* **47(5)**: 412-423.
- FUJI, T. (1991). Site specific mechanisms of initiation by chelated iron and inhibition by alpha-tocopherol of lipid peroxide dependent lipid peroxidation in charged micelles. *Arch. Biochem. Biophys.* **28(1)**:120-126.
- GENÇE, S., GÜRDÖL, F., ÖNER-İYİDOAN, Y., ONARAN, I. (1998). The effect of melatonin administration on ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Pharmacological Research.* **37**: 37-40.

- GIROTTI, M.J., KHAN, N., MCLELLAN, B. (1991). Early measurement of systemic lipid peroxidation products in the plasma of major blunt trauma patients. *J. Trauma*. **31(1)**: 32-35.
- GOLDFRANK, L.R., FLOMENBAUM, N.E., LEVIN, N.A., HOWLAND, M.A. (1986). Methanol and ethylene glycol in Goldfrank's toxicologic emergencies. 3rd ed. Norwalk Ct. Appleton & Lange. pp. 453-465.
- GRATTAGLIANO, I., VENDEMIALE, G., SABBA, C., BUONAMICO, P., ALTOMARE, E. (1996). Oxidation of circulating proteins in alcoholics role acetaldehyde and xanthine oxidase. *Journal of Hepatology*. **25**: 28-36.
- GRIFFITHS, H.R. (2000). Antioxidant and protein oxidation. *Free Radic. Res.* **33**:47-58.
- GRUNE, T., REINHECKEL, T., DAVIES, K.J.A. (1996). Degradation of oxidized proteins in K562 human hematopoietic cells by proteasome. *J. Biol. Med.* **271**:15504-15509.
- GUERRI, C., GRISOLIA, S. (1980). Changes in glutathione in acute and chronic alcohol intoxication. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. **13**: 53-61.
- GUPTA, S., PANDEY, R., KATYAL, R., AGGARWAL, H.K., AGGARWAL, R.P., AGGARWAL, S.K. (2005). Lipid peroxide levels and antioxidant status in alcoholic liver disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. **20 (1)**: 67-71.
- HALLIWELL, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am. J. Med.* **91**:14-22.
- HALLIWELL, B. (1994). Free radicals and antioxidant: a personal view. *Nutr. Rev.* **52**:253-265.

- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C.(1985). The importance of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Mol. Aspects. Med.* **8**:89-193.
- HALLIWELL, B., HOULT, J.R., BLAKE, D.R. (1988). Oxidants inflammation and anti inflammatory drugs. *Faseb J.* **2**:2867-2873.
- HOGG, N. (1998). Free radicals in disease. *Semen Repaired Endocrine.* **16(4)**:241-248.
- HORTON, A.A., FAIRHURST, S. (1987). Lipid peroxidation and mechanism of toxicity. *CRC Cirit. Rev. Tox.* **18**:27-69.
- ISHII, H., KUROSE, I., KATO, S. (1997). Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stres. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **12**:272-282.
- JANSSEN, Y.M.W. HOUTEN, B.V., BORM, P.J.A., MOSSMAN, B.T. (1993). Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.* **69**:261-274.
- JAVORS, M.A., PICHOT, J.T., KING, T.S., ANTON, R.F. (1997). Search for biological markers. Drug Addiction ant its Treatment. Johnson B.A., Roache, J.D.(Editor), Philadelphia: Lippincott-Raven. pp.205-231.
- JONES, A.W., JOHNSON, K.A., KECHAGIAS, S. (1997). Effect of high fat, high protein, and high carbohydrate meals on the pharmacokinetics of a small dose of ethanol. *Br. J. Clin. Pharmaco.* **44**:521-526.
- KAPLOWITZ, N., SIMON, F.R., STOLZ A. (1986). Drug-induced hepatotoxicity. *Ann. Int. Med.* **104**:826-39.

- KAPPUS, H., SIES, H. (1981). Toxic drug effects associated with oxygen metabolism: Redox cycling and lipid peroxidation. *Experientia*. **37**:1233-1358.
- KAYAALP, O. (1994). Tıbbi Farmakoloji. Güneş kitapevi. 1.cilt Yedinci baskı. pp.106-398.
- KAYALI, R.,ÇAKATAY, U. (2004). Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa J. Med.* 35:83-89.
- KEW, M.C. (2000). Serum aminotransferase concentration as evidence of hepatocellular damage. *Lancet*. **355(9204)**: 591-592.
- KNIGHT, J.A., PIEPER, R.K., MC CLELLAN, L. (1988). Specificity of thiobarbituric acid reaction: its use in studies of lipid peroxidation. *Clin. Chem.* **34**:2433-2438.
- KOOLMAN, J., ROHM K-H. (1996). Color Atlas of Biochemistry. Thieme Medical Publishers, Stuttgart, New York, p. 294.
- KRAMER, J.H., ANOY, C.M., DICKENS, B.F., WEGLIICKI, W.B. (1987). Spin-trapping evidence that graded myocardial ischemia alters postischemic superoxide production. *Free Radic. Biol. Med.* **3**:153-159.
- LEVINE, R., GARLAND, D. AND OLIVER, C. (1990). Determination of carbonyl content of oxidatively modified proteins. *Meth. Enzymol.* **186**, pp. 464–478.
- LEVINE, R.L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic. Biol. Med.* **32**:790-796.
- LEVINE, M.(1986). New concepts in biology and biochemistry ascorbic acid. *N. Engl. J. Med.* **314**:892-895.
- LIEBER, C.S. (1994). Mechanisms of ethanol-drug-nutrition interactions. *Clin. Toxicol.* **32**: 631-681.

- LIU, J., WANG, X., SHIGENAGA, M.K., YEO, H.C., MORI, A. (1996). Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of the rats. *FASEB J.* **10**: 1532-1538.
- LOGUERCIO, C., FEDERICO, A. (2003). Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radic. Biol. Med.* **34**:1-10.
- MASSY, Z.A. , NGUYEN-KHAO, T., BEAUVAIS, C.H. (2002). Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management. *J. Nephrol.* **15**:336-341.
- MATÉS, J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* **153**:83-104.
- MEISTER, A.(1992). On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *Biochem. Pharmacol.* **44**:1905-1915.
- MEYDANI, S.N., BARKLUND, M.P., LIU, S., MEYDANI, M., MILLE, R., CANNON, J.G., MORROW, F.D., ROCKLIN, R., BLUMBERG, J.B. (1990). Vitamin E supplementation enhances cell mediated immunity in healthy elderly subjects. *A.J. Clin. Nutr.* **52**:557-563.
- MOLDEUS, P., QUANGUAN, J. (1987). Importance of the glutathione cycle in drug metabolism. *Pharmacol. Ther.* **33**:37-40.
- MONIG, J., ASMUS, K.D., FORN, L.G., WILSON, R.L. (1987). On the reaction of molecular oxygen with thiyl radicals: A reexamination. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* **52**: 589-622.
- NETTO, L.E.S., KOWALTOWSKI, A.J., CASTILHO, R.F., VERCESI, A.E. (2002). Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Meth. Enzymol.* **348**:260-270.
- NIKI, E. (1987). Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phy. Lipids.* **44**:227-253.

- NORDMAN, R.(1994). Alcohol and antioxidant systems. *Alcohol &Alcohol*. **29**:513-22.
- NORDMAN, R., RIBIERE C., ROUACH, H.(1990). Ethanol–induced lipid peroxidation and oxidative stress in ekstrahepatic tissues. *Alcohol&Alcohol*. **25**:231-237.
- NORDMANN, R., RIBIERE, C., ROUACH, H. (1992). Implication of free radical mechanisms in ethanolinduced cellular injury. *Free Rad. Biol. Med.* **12**:219-240.
- ODELEYE, O.E., ESKELSON, C.D., WATSON, R.R., MUFTI, S.I., CHYAPIL, M. (1991). Vitamin E reduction of lipid peroxidation products in ruts fed cod liver oil and ethanol. *Alcohol*. **8**:273-277.
- PALMISANO, J., GRUVER, C., ADAMS, N.D.(1987). Absence of anion gap metabolic asidosisin severe methanol poisoning: A Case report and review of the literature. *Am. J. Kidney Dis.* **9**:441.
- PANTKE, U., VOLK, T., SCHMUTZLER, M., KOX, W.J., SITTE, N., GRUNE, T. (1999). Oxidized proteins as a marker of oxidative stres during coronary heart surgery. *Free Radic. Biol. Med.* **27**:1080-1086.
- PLACER, C.A., CUSHMAN, L.L., JOHNSON, B.C. (1990). Estimation of product of lipid peroxidation (Malondyaldehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.* **16**:259-264.
- PORTER, N.A. (1984). Chemistry of lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* **105**: 273-283.
- POTTER, B.J. (1991). Alcohol and hepatic iron homeostasis. In :Watson R.R. Editor: Drug and alcohol abuse reviews:vol.2.Liver Pathology and Alcohol , Human Pres, Totowa: NJ, pp. 1-60.
- PREEDY, V.R., ADACHI, J., KOLL, M., MANTLE, D., NIEMALA, O., PARKKILA, S., PAICE, A.G., PETERS, T., RAJENDRAM,

- R., SEITZ, H., UENO, Y., WORRALL, S. (2002). Free radicals in alcoholic myopathy: indices of damage and preventive studies. *Free radic. Biol. Med.* **32(8)**: 683-687.
- RAY, O., KSIR, C. (1996). *Drugs, Society and Human Behaviour*. 7th Ed., Mosby-Year Book / Missouri.
- REED, D.J. (1986). Regulation of reductive processes by glutathione. *Biochem. Pharmacol.* **35**:7-13.
- REED, D.J. (1990). Glutathione: Toxicological implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **30**: 603-631.
- REED, D.J., FARISS, M.W. (1984). Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol. Rev.* **36**:25-33.
- REQUENA, B.S., LEVINE, R.L., STADTMAN, E.R. (2003). Recent advances in the analysis of oxidized proteins. *Amino Acids.* **25**: 221-226.
- REZNICK, A.Z., PACKER, L. (1994). Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Meth. Enzymol.* **233**: 357-363.
- RIVET, A.J. (1989). The multicatalytic proteinase. *J. Biol. Chem.* **264**, pp. 12215–12219.
- RIVEROS-ROSAS, H., JULIAN-SANCHEZ, A., PINA, E. (1997). Enzymology of ethanol and acetaldehyde metabolism in mammals. *Archives of Medical Research.* **28**-4: 453-471.
- ROSMAN, A.S., LIEBER, C.S. (1990). Biochemical markers of alcohol consumption. *Alcohol Health Res. World.* **14**:208-218.
- SEDLAK, J., LINDSAY, R.H. (1968). Estimation of total protein-bound and nonprotein sulfydryl groups in tissue with Elman's reagent. *Anal. Biochem.* **25**:192-205.

- SEKI, S., KITADA, T., SAKAGUCHI, H., NAKATANI, K., WASAKA, K. (2003). Pathologic significance of oxidative cellular damage in human alcoholic liver disease. *Histopathology*. **42**:365-371.
- SHACTER, E. (2000). Protein oxidative damage. *Meth. Enzymol.* **319**:428-436.
- SHACTER, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab. Rev.* **32**:307-326.
- SHAN, X., AW, T.Y., SHAPIRA, R., JONES, D.P. (1989). Oxygen dependence glutathione synthesis in hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmac.* **100**:267-270.
- SHARPE, P.C., McBRIDE, R., ARCHBOLD, G.P.R. (1996). Biochemical markers of alcohol abuse. *QJM.* **89**: 137-144.
- SIES, H., MOSS, K.M. (1978). A role of mitochondrial glutathione peroxidases in modulating mitochondrial oxidations in liver. *Eur. J. Biochem.* **84**: 377-83.
- SIMIC, M.C., TAUBE, I.A., TOCCI, J., HURWITZ, P.A. (1975). Free radical reduction of ferricytochrome-C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **62**(2):161-167.
- SINCLAIR, A.J., BARNETT, A.H., JUNEE, J. (1990). Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *British J. Hosp. Med.* **43**:334-344.
- SKAARE, J.U., NAFSTAD, I. (1978). Interaction of vitamin E and selenium with the hepatotoxic agent dimethylnitrosamine. *Acta. Pharm. Toxicol.* **43**:119-128.
- SLATER, T.F. (1984). Free radical mechanism in tissue injury. *Biochem. J.* **222**:1-15.

- SLATER, T.F. (1984). Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* **105**:283-293.
- SMITH, M.T., THOR, H., HARTZELL, P., ORRENIUS, S. (1982). The measurement of lipid peroxidation in isolated hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* **31**:19-26.
- SÖYLEMEZOĞLU, T. (2004). Madde Bağımlılığı Ders Notları, Ankara.
- SPEISKY, H., MACDONALD, A., GILES, G., ORREGO, H., ISRAEL, Y. (1985). Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after ethanol administration. *Turnover Studies. Biochemical Journal.* **225**: 565-572.
- STADTMAN, E.R. AND OLIVER, C.N. (1991). Metal-catalysed oxidation of proteins. *J. Biol. Chem.* **266**, pp. 20005–20008.
- STADTMAN, E.R., LEVINE, R.L. (2000). Protein Oxidation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **899**:191-208.
- STADTMAN, E.R., LEVINE, R.L. (2003). Free radical- mediated oxidation of free amino acids and residues in proteins. *Amino Acids.* **25**:207-218.
- SUN, A.Y., INGELMAN-SUNDBERG, M., NEVE, E., MATSUMOTO, H., NISHITANI, Y., MINOWA, Y., FUKUI, Y., BAILEY, S.M., PATEL, V.B., CUNNINGHAM, C.C., ZIMA, T., FIALOVA, L., MIKULIKOVA, L., POPOV, P., MALBOHAN, I., JANEBOVA, M., NESPOR, K., SUN, G.Y. (2001). Ethanol and oxidative stress. *Alcohol Clin. Exp. Res.* Vol: **25** No:**2**, pp. 237-243.
- ŞENTÜRK, H. (2004). Serbest radikal hasarının hepato-biliyer sistem hastalıklarındaki rolü. *Kocatepe tıp dergisi.* 5:1-8.
- TAKENADA, Y., MİKİ, M., YASUDA, H., MİNO, M. (1991). The effect of alfa-tocopherol as an antioxidant on the oxidation of

membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites. *Arch. Biochem. Biophys.* **285**: 344.

TUMA, D.J., CASEY, C.A. (2003). Dangerous byproducts of alcohol breakdown focus on adducts. *Alcohol Research & Health.* **27 (4)**: 285-290.

TÜRKOĞLU, Ü.M., ABBASOĞLU, S.D., TOKER, G.A., MIRSAL, H., BEYAZYÜREK, M., UYSAL, M. (2000). Increased lipid and protein oxidation and DNA damage in patients with chronic alcoholism. *J. Lab. Clin. Med.* **136**:287-91.

VAN DE CASTEELE, M., ZAMAN, Z., ZEEGERS, M., SEVAES, R., FEVERY, J., NEVENS, F. (2002). Blood antioxidant levels in patients with alcoholic liver disease correlate with the degree of liver impairment and are not specific to alcoholic liver injury itself. *Aliment Pharmacol Ther.* **16**: 985-992.

VICELLIO, P. (1998) . *Emergency Toxicology*. 2nd ed. pp. 277-285.

VIDELA, L.A., RODRIGO, R., ORELLANA, M., FERNANDEZ, V., TAPIA, G., QUINONES, L., VARELA, N., CONRERAS, J., LAZERTA, R., CSENDES, A., ROJAS, J., MALUENDA, F., BURDILES, P., DIAZ, C.J., SMOKS, G., THIELEMANN, L., PONIACHIK, J. (2004). Oksidatif stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clinical Science.* **106**: 261-268.

WALLGREN, H., BARRY, III H. (1970). Some basic data on the chemistry and pharmacology of ethyl alcohol, an *Actions of alcohol, Volume 1, Biochemical, Physiological and Psychological Aspects* (Walgren H and Barry III H eds), Elsevier Publishing Company, Amsterdam. pp. 17-73.

- WINCHESTER, F.M.D. (1990). Methanol, isopropyl alcohol, higher alcohols ethylene glycol, cellosolves, acetone nad oxalate James. In Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose.2 nd ed. Haddad Winchester. Chapter **37**:687-702.
- WU, A., SLAVIN, G., LEVI, A.J. (1976). Elevated serum gamma-glutamyl-transferase (transpeptidase) and histological liver damage in alcoholism. *Am. J. Gastroenterol.* **65**:318-323.
- WU, D., CEDERBAUM A.I. (2003). Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Alcohol Res. & Healt.* **27(4)**: 277-283.
- YAGI, K. (1994). Lipid peroksidase and related radicalsin clinical medicine (in) Free Radicals in Diagnostic Medicine. D Armstrong (editor), Plenum Press, New York, pp. 17-27.
- ZIMA, T., FIALOVA, L., MESTEK, O., JANEBOVA, M., CRKOVSKA, J., MALBOHAN, I., STIPEK, S., MIKULIKOVA, L., POPOV, P. (2001). Oxidative stres, methabolism of ethanol and alcohol related diseases. *J. Biomed. Sci.* **8**:59-70.

<http://www.erowid.org/chemicals/alcohol/alcohol.shtml>. Erişim Tarihi: 22.05.2006.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, ANKARA UNIVERSITY
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	
	PROTOKOL ADI	Toplumumuzda alkol dehidrogenaz ve aldehid dehidrogenaz polimorfizminin toksik etki mekanizmaları ve alkolizm yönünden araştırılması ile alkoliklerin oksidatif stress yönünden değerlendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof.Dr.Tülin Söylemezoğlu
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Müdürlüğü Fen Bilimleri Anabilim Dalı
	DESTEKLEYİCİ FİRMA	

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BİLGİLER	Belge Adı	Değişiklik No. / Tarihi	Dili
	PROTOKOL		
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ		
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU		
	OLGU RAPOR FORMU		

ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALARI KLAVUZU
----------------------	---------------------------------

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:53-1299	Tarih: 07 Haziran 2004
	Araştırma protokolüne tamamen uyulmak, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve Yönergenin 11/h maddesi gereği sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere laboratuvar çalışmasının yapılmasında etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan öğretim üyelerinin oybirliği ile karar verildi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ayhan Başkan	Farmakoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Efşer Kerimoğlu Başkan Yardımcısı	Çocuk Psikiyatrisi	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Özden Palaoglu Sekreter	Farmakoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Levent Karaca Üye	Farmakoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	

Syf.1.



21 Haziran 2004

Prof. Dr. Işık Sayıl Üye	Psikiyatri	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Sevim D. Cengiz Üye	Kadın Doğum	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nermin Mutluer Üye	Nöroloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Sumru Beder Üye	Göğüs Hastalıkları	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nurten Girgin Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Ragıp Çam Üye	Genel Cerrahi	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Ali Rıza Uysal Üye	Endokrinoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Birsal Erdem Üye	Mikrobiyoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	Raporlu
Prof. Dr. Berna Arda Üye	Deontoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Ahmet Demirkazık Üye	Tıbbi Onkoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Günhan Gürman Üye	Hematoloji	Ankara Tıp Fakültesi	E	
Prof. Dr. Ajlan Tükün Üye	Tıbbi Genetik	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Işın Kuzu Üye	Patoloji	Ankara Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Özer Kendi Üye	Adli Tıp	Ankara Tıp Fakültesi	E	Rahatsız
Prof. Dr. Erdal Onar Üye	Hukuk	Ankara Üniv. Hukuk Fakültesi	E	
Ecz. Tülay Ünal Üye	Eczacılık	Ankara Tıp Fakültesi	K	

Erdal SUTAY
A.Ü. Tıp Fakültesi
Per. Şb. Müdürü

21 MAR 2014



ÖZGEÇMİŞ

I-Bireysel Bilgiler

Adı: Serap

Soyadı: Yalçın

Doğum Tarihi ve Yeri: 1982- ANKARA

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Bekâr

İletişim Adresi ve Telefonu:

17629 ada b blok, no:14 4.etap Eryaman/ Ankara

05555180129

II- Eğitimi

Üniversite (1999–2003): Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümü

Lise (1996–1999): Eryaman Lisesi

Ortaokul (1993–1996): Danişment Çiçekli İlköğretim Okulu

İlkokul (1988–1993): Danişment Çiçekli İlköğretim Okulu

Yabancı Dil: İngilizce

III- Bilimsel İlgi Alanları

Poster

1) Şebnem Ş. Çeçen, Ayşe Karakuş, İnci İlhan, **Serap Yalçın**, Emrah Dural, Yıldırım Doğan, Tülin Söylemezoğlu; Determination Of Oxidative Stress, Some Clinical Biomarkers And Blood Alcohol Level in Choronic Alcoholic Patients Admitted To A Psychiatry Clinic. EUROTOX 2005, POLONYA.

2) Vugar Aliyev, Banuçiçek Yücesan, Şebnem Ş. Çeçen, Ayşe Karakuş, **Serap Yalçın**, Tülin Söylemezoğlu; Influence Of Smoking And Amount Of Cigarette Consumption On Oxidative Stress, Protein Carbonyl Content And Biochemical Parameters. EUROTOX 2006, HIRVATISTAN.

IV- Bilimsel Etkinlikleri

Proje

TÜBİTAK Bilim Adamı Yetiştirme Grubu (BAYG) tarafından desteklenen yurt içi araştırma projeleri kapsamında A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde “Tekstil Endüstrisi Atık Sularından İzole Edilen Ekzopolisakkarit Üreten Mikroorganizmaların Boya Gideriminde Kullanım Kapasitelerinin Araştırılması” konulu projede çalıştım.

Seminer

UDP Glukuronozil Transferaz (UGT) Enzimi Polimorfizmi. A.Ü. Adli Tıp Ana Bilim Dalı 2005.

V- Diğer Bilgiler

A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji alanını bölüm 3.sü olarak bitirdim (Not ortalaması: 92.31).

Dinleyici olarak katıldığım kurslar:

III. Ulusal Toprak Verimliliği ve Bitki Besleme Araştırmalarında Kullanılan İzotop ve Radyasyon Teknikleri Kursu 02–06 Eylül 2002.

III. Ulusal Mutasyon Islahı ve Doku Kültürü Teknikleri Kursu 16–20 Eylül 2002.