



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KARNOZİN UYGULAMASININ SIÇANLARDA ALKOLE
BAĞLI KARACİĞER HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

BASRİ CÜNEYT ARTUN

**DANILMAN
PROF.DR.MÜJDAT UYSAL**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yülsek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

29/07/2008

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Biyokimya
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı : Biyokimya
Tez Sahibi : 4419 Basri CÜNEYT ARTUN
Tez Başlığı : Karnozin Uygulamasının Sıçanlarda Alkole Bağlı Karaciğer Hasarı
Üzerine Etkisinin İncelenmesi
Sınav Yeri : İstanbul Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 16 / 07 / 2008

Tez Sınav Jürisi

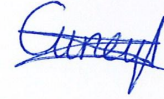
Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

- 1.Prof.Dr. Müjdat UYSAL (Danışman) (İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı)
- 2.Prof.Dr. Necla TOKER (İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı)
- 3.Prof.Dr. Gül ÖZDEMİRLER ERATA (İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı)
4. Doç.Dr. Mine GÜLLÜOĞLU (İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı)
- 5.Doç.Dr. Gülnur ANDİCAN (Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Basri Cüneyt Artun



TEŞEKKÜR

Yükseklisans programına başladığım günden beri her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan Anabilim Dalı Başkanı'mız ve danışmanım Prof. Dr. Müjdat Uysal'a, tez çalışmamdaki patolojik incelemeleri titizlikle yapan İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Uğur Çevikbaş ile aynı Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç Dr. Mine Güllüoğlu'na, tezimde büyük emeği geçen Dr. Zeynep Küskü Kiraz'a, tezimin yazımında ve düzenlenmesinde büyük katkıları olan Öğretmen Yılmaz Aydın' a, her zaman desteklerini hissettiğim saygıdeğer hocalarıma, birlikte güzel günler geçirdiğim asistan arkadaşlarıma ve Anabilim dalımızın diğer çalışanlarına ve beni bu günlere getiren, destek ve güvenlerini her zaman hissettiğim canım aileme çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: T- 1728

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ
BEYAN	İİİ
TEŞEKKÜR	İV
İÇİNDEKİLER.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Vİİİ
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA.....	33
KAYNAKLAR.....	37
ETİK KURUL KARARI.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	46

TABLOLAR LİSTESİ

1. **Tablo 2-1.**Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler
2. **Tablo 2-2.**Serbest radikallerin hücre bileşenlerinde oluşturduğu zararlı etkiler
3. **Tablo 2-3.**Organizmada antioksidan sistem elemanları
4. **Tablo 2-4.**Serbest radikallerle ilişkili bazı patolojik durumlar
5. **Tablo 4-1.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda serum alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)
6. **Tablo 4-2.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda karaciğer trigliserit , malondialdehit (MDA) ve dien konjugatı (DK) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)
7. **Tablo 4-3.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda karaciğer glutatyon (GSH), vitamin E ve vitamin C düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)
8. **Tablo 4-4.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda karaciğer superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon transferaz (GST) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

İLEKİLLER LİSTESİ

1. **İlekil 2-1.**Lipit peroksidasyonu ve etkileri
2. **İlekil 2-2.**Etanol ve asetaldehit metabolizması ve serbest radikal oluşumu
3. **İlekil 4-1.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda serum alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)
4. **İlekil 4-2.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda karaciğer trigliserit, malondialdehit (MDA) ve dien konjugatı (DK) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)
5. **İlekil 4-3.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda karaciğer glutatyon (GSH) , vitamin E ve vitamin C düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)
6. **İlekil 4-4.**Karnozinin etanol uygulanan sıçanlarda karaciğer superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon transferaz (GST) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)
7. **Resim 4.2-1.**Normal (N) ve karnozin (K) grubundaki sıçanlarda karaciğerin histopatolojik görünümü
8. **Resim 4.2-2.**Etanol (E/6,E/18) ve karnozin+etanol (K+E/6, K+E/18) gruplarındaki sıçanlarda, son etanol dozundan 6 ve 18 saat sonra karaciğerlerin histopatolojik görünümü

SEMİBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ADH	Alkol dehidrojenaz
ALDH	Aldehit dehidrojenaz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
CDNB	1-kloro-2,4-dinitro-benzen
DK	Dien konjugatı
DNA	Deoksiribonükleik asit
e ⁻	Elektron
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
GSH	Glutasyon (indirgenmiş form)
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSH-R	Glutasyon redüktaz
GSSG	Glutasyon (yükseltgenmiş form)
GST	Glutasyon transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HNE	4-hidroksi-2-nonenal
HO ₂ ⁻	Hidroperoksil radikali
HOCl	Hipoklorik asit
IU	Internasyonal ünite
L [•]	Lipit radikali
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LH	Yağ asidi
LOO ⁻	Lipit peroksit radikali
LOOH	Lipit hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
MEOS	Mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi

	karnozin
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid (yükseltgenmiş form)
NADP ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (yükseltgenmiş form)
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiş form)
NO ·	Nitrik oksit
NO ₂ ·	Azot dioksit
*O ₂	Singlet oksijen
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
O ₃	Ozon
OH ·	Hidroksil radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit
RNA	Ribonükleik asit
RNS	Reaktif azot türleri
RO ·	Alkoksil
ROO ·	Peroksil
ROS	Reaktif oksijen türleri
SD	Standard derivasyon
-SH	Tiyol grubu
SOD	Süperoksit dismütaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TEP	1,1,3,3-tetraetoksipropan
U	Ünite
W	Watt

ÖZET

Artun, B.C. Karnozin uygulamasının sıçanlarda alkole bağlı karaciğer hasarı üzerine etkisinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2008

Alkolik karaciğer hasarı önemli bir sağlık problemidir. Bu nedenle, alkole bağlı karaciğer hasarının patojenezini anlayabilmek, bu hasarı önleyebilmek veya azaltabilmek önem kazanmaktadır. Deneysel ve klinik çalışmalar alkole bağlı karaciğer hasarının patojenezinde serbest radikallerin önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Karnozin (β -alanil-L-histidin), güçlü antioksidan etkilere sahip bir dipeptittir. Karnozinin antioksidan etkinliğini gösteren çalışmalar genellikle in vitro deneylere dayanmakta, in vivo etkinliği ise pek bilinmemektedir. Çalışmamızda sıçanlara “binge model” etanol uygulayarak karaciğerde alkole bağlı değişimleri saptamak ve karnozin ön uygulamasının bunları önleme/azaltma potansiyeli olup olmadığını belirlemek istedik. Bu amaçla, 4 hafta süre ile karnozin (2 g/L; içme suyunda) ön uygulaması yapılan sıçanlara etanol (12 saat ara ile 3 kez 5 g/kg, gavajla) verildikten 6 ve 18 saat sonra serumda transaminaz aktiviteleri, karaciğerde trigliserit düzeyleri ile prooksidan-antioksidan dengedeki değişimler incelendi. Ayrıca karaciğerde histopatolojik incelemeler yapıldı.

Sonuçlarımıza göre, 3 doz etanol uygulamasından sonra serumda transaminaz aktiviteleri, karaciğerde trigliserit ve lipit peroksit düzeyleri arttı ve, glutatyon, vitamin E ve vitamin C düzeyleri azaldı. Antioksidan enzim aktivitelerinde de bir baskılanma saptandı. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde makromikroveziküler steatozis görüldü, hepatositlerde dejenerasyona ve inflamatuvar bulgulara rastlanmadı. Karnozin ön uygulaması, etanol verilen sıçanlarda serum transaminaz aktivitelerinde azalma ve karaciğerde prooksidan-antioksidan dengede kısmi bir düzelme oluşturmaya rağmen, karaciğer yağlanması ve histopatolojisi üzerinde bir değişiklik oluşturmadı.

Anahtar Kelimeler : Karnozin, etanol, karaciğer, lipit peroksidasyonu, antioksidan

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-1728

ABSTRACT

Artun BC. Investigation of the effects of carnosine on the alcohol related liver injury in rats. İstanbul University, Institute of Health Science, İstanbul Faculty of Medicine, Biochemistry Department. MSc. Thesis. İstanbul. 2008.

Alcoholic liver injury is an important health problem. Due to this reason, to understand the pathogenesis of the alcohol-related liver injury and to prevent or decrease this injury are getting more important. Experimental and clinical studies showed that, free radicals play an important role in the pathogenesis of the alcohol-induced liver injury.

Carnosine (β -alanyl-L-histidine) is a dipeptide having strong antioxidant effects. The studies showing the antioxidant efficiency of carnosine generally depend on in vitro experiments and in vivo efficiency of carnosine is not well known. In our study, treating the rats with ethanol by “binge model”, we wished to investigate the alcohol-related changes in the liver and see if carnosine pre-treatment prevents/decreases them.

With this aim, 6 and 18 hours after the ethanol treatment (3 times every 12 hours, 5 g/kg; by gavage), on the rats which were pre-treated with carnosine for 4 weeks (2 g/L; by drinking water), we examined serum transaminase activities, hepatic triglyceride levels and changes in the prooxidant-antioxidant balance. Also, histopathological examinations in the liver were done. According to our findings, after 3 doses of ethanol treatment, serum transaminase activities, hepatic triglyceride and lipid peroxide levels increased and, glutathione, vitamin E and vitamin C levels decreased. Antioxidant enzyme activities were depressed. In the histopathological examination of the liver, macromicrovesicular steatosis was seen, but hepatocyte degeneration or inflammatory findings were not encountered. Although, carnosine pre-treatment resulted in decreases in the serum transaminase activities and a partial healing of the prooxidant-antioxidant balance in the liver of the ethanol treated rats, this treatment couldnot make any change on the steatosis and histopathology of the liver.

Key Words: Carnosine, ethanol, liver, lipid peroxidation, antioxidant

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University.

Project No. T-1728

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alkol birçok toplumda çok önemli bir sağlık sorunudur. Fazla miktarda ve sürekli alkol alınmasıyla birçok toksik etki ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında özellikle karaciğer hastalığı önemlidir. Alkolün etkisiyle karaciğerde üç farklı tablo gelişmektedir. Bunlar karaciğer yağlanması, alkolik hepatit ve alkolik siroz olup genellikle birbirini izleyen dönemler şeklinde seyretmektedir (21,24,46,47,74).

Alkolün karaciğer üzerindeki toksik etkilerinin patojenezinde hangi faktörlerinin rol oynadığı uzun yıllardır araştırılmaktadır. Genel olarak, bu toksik etkilerden alkolün karaciğerdeki oksidasyonu ile oluşan ürünlerin sorumlu olduğu kabul edilmektedir (6,17,24,35,52,58,71). Akut ve kronik alkol uygulamalarından sonra karaciğerde meydana gelen alkolik karaciğer hasarının patojenezinde NADH oluşumunda artış, asetaldehit birikimi ve oksidatif stres etkili olmaktadır (20,21,46,47,52).

Oksidatif stres, radikal oluşumundaki artış ve/veya antioksidan sistemdeki yetersizlik olarak tanımlanmaktadır (31,38,62,75). Birçok araştırmacı alkolün gerek karaciğer (4,8,9,36,42,43,76,80) ve gerekse karaciğer dışı (28,37,76,79) dokularda neden olduğu toksik etkilerde oksidatif stresin rolünü araştırmış ve alkolün prooksidan-antioksidan dengesi etkilediğini bildirmiştir. Gerek klinik (2,10,49,54,78,85) ve gerekse deneysel (3,4,8,9,36,42,43,68,76,80) çalışmalar alkolün karaciğerdeki oksidasyonu sırasında oluşan serbest radikallerin prooksidan bir etkiyle oksidatif bir baskı oluşturduğunu göstermiştir.

Alkol ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi çözmek için bir diğer yaklaşım ise çeşitli antioksidan bileşiklerin alkole bağlı toksik etkileri önleme/azaltma potansiyelini araştırmaktır. Bu çerçevede çeşitli antioksidan bileşiklerin etkinliği araştırılmıştır. Bunlar arasında S-adenozil metyoni (46,47,50,68), β -karoten (63), N-asetil sistein (3), betain (9,11,19,39) ve taurin (8,66) gibi çeşitli antioksidanlar sayılabilir. Bu çalışmalardan bazıları antioksidanlarla ilgili olarak olumlu sonuçlar verirken bazıları ise olumsuz sonuçlar vermiştir (46,47,50).

Karnozin (β -alanil-L-histidin), güçlü antioksidan etkilere sahip bir dipeptittir (1,14). Karnozinin serbest radikaller ve aldehitler için toplayıcı (scavenger) olduğu, proteinlerdeki oksidatif değişimleri baskıladığı, iki değerlikli metal iyonlarıyla kompleks oluşturduğu bildirilmiştir (1,14,29,33,56). Karnozinin antioksidan etkinliğini gösteren çalışmalar genellikle in vitro çalışmalara dayanmakta (1,15,29,56), in vivo etkinliği ise pek

an etkinliği nedeniyle karnozinin oksidatif stresle ilişkili olan yaşlanma (33), Alzheimer hastalığı (32), ateroskleroz (64), diabetes mellitusun komplikasyonları (45) ve karaciğer hasarı (26,48,51) gibi bazı patolojik durumların önlenmesinde etkili bir ajan olabileceği ileri sürölmektedir.

Alkol alınması ile ilk oluşan lezyon karaciğer yağlanması olup alkolün kesilmesiyle geriye dönebilen ılımlı bir tablodur. Deney hayvanlarında alkol verilmekle oluşturulabilen yegane tablo karaciğer yağlanmasıdır (46,47). “Binge model” olarak adlandırılan modelde 10-12 saat ara ile gavajla veya periton içine 3-5 g/kg dozunda alkol uygulaması, karaciğerde oksidatif strese ve patolojik bozukluklara yol açmaktadır (9,18,39,86). Çalışmamızda sıçanlara “binge model” etanol uygulayarak karaciğerde alkole bağlı değişimleri saptamak ve karnozin ön uygulamasının bunları önleme/azaltma potansiyeli olup olmadığını belirlemek istedik. Bu amaçla 4 hafta süreli karnozin (2 g/L; içme suyunda) ön uygulaması yapılan sıçanlara etanol (12 saat ara ile 3 kez, 5 g/kg, gavajla) uygulamasından 6 ve 18 saat sonra serumda transaminaz aktiviteleri, karaciğerde trigliserit düzeyleri ve prooksidan–antioksidan dengedeki değişimler incelendi. Ayrıca karaciğerde histopatolojik incelemeler yapıldı. Prooksidan-antioksidan dengeyi incelemek için karaciğerde malondialdehit (MDA) ve dien konjugatı (DK) düzeyleri ile, glutatyon (GSH), vitamin E ve vitamin C düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon transferaz (GST) aktiviteleri ölçöldü.

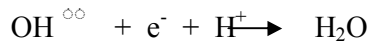
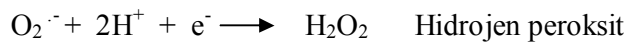
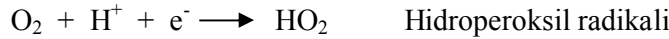
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Organizmada Prooksidan-Antioksidan Denge

Organizmada prooksidan-antioksidan denge sağlıklı bir yaşam için çok önemlidir. Serbest radikal oluşumundaki artış ve/veya antioksidan sistemdeki yetersizlik organizmada oksidatif strese neden olmaktadır (31,75). Serbest radikaller biyolojik sistemlerde çok önemli olup dış orbitallerinde paylaşılmamış bir elektron taşırlar. Ömürleri çok kısa olan ve kararsız bir yapı gösteren bu bileşikler etrafındaki moleküllerle etkileşime girerek elektron almaya çalışırlar ve en kısa zamanda kararlı bir hale varmak isterler (38,62,69).

Serbest radikaller organizmada hem metabolizma sırasında sürekli ortaya çıkar, hem de radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasallar gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi sonucunda oluşabilirler. Organizmada oluşan radikallerin çoğu oksijen kaynaklıdır. Oksijen dışında karbon ve kükürt merkezli radikallerin de az da olsa oluştuğu bilinmektedir (31,38,62).

Aerobik organizmalarda yaşamın devamı için oksijene mutlak ihtiyaç duyulur. Oksijen hücrede bir dizi reaksiyondan geçerek suya dönüşür ve bu süreçte hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlar. Fakat bu süreçte oksijenin % 2-3 kadarı suya dönüşemez ve oksijen kaynaklı radikaller oluşur. Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), iki elektron alarak indirgenmesi ile de hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana gelir. Üçüncü elektron ilavesi ile yüksek derecede reaktif hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) meydana gelir. Dördüncü elektron eklenmesi ile de su oluşur (31,38,62).



Serbest radikaller organizmada mitokondrinin yanı sıra hücrenin tüm kısımlarında zara bağlı veya serbest halde bulunan pek çok enzimin katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşmaktadır. Bunlar arasında mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi (MEOS),

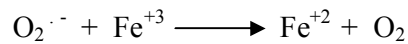
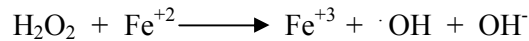
enzimlerin katalize ettiği reaksiyonlar sayılabilir (38,57).

Aerobik organizmalarda serbest radikallerin çoğu oksijen ve azot kaynaklıdır. Bunlardan bir bölümü radikal nitelikli iken bir bölümü ise bazı reaksiyonlara katılarak radikallere dönüşmektedir (57,69,75) (Tablo 2-1).

Tablo 2-1: Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	HO [•]	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Alkoksil	RO [•]	Singlet oksijen	*O ₂
Peroksil	ROO [•]	Ozon	O ₃
Süperoksit	O ₂ ^{•-}	Hipoklorid asit	HOCl
Nitrik oksit	NO [•]	Lipit hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO ₂ [•]	Peroksinitrit	ONOO [•]

Süperoksit radikali kuvvetli bir indirgeyicidir. Bu radikal süperoksit dismutaz etkisiyle hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit ise radikal niteliğinde olmayan zayıf etkili indirgeyici bir bileşiktir. Ortamda geçiş metalleri bulunmadığında çok zararlı olmayan bu bileşik, Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak tanımlanan reaksiyonlar ile son derece etkili hidroksil radikallerine dönüşmektedir. Dolayısıyla, H₂O₂'in hemen ortamdan uzaklaştırılması önem kazanmaktadır. Süperoksit radikalının de bu reaksiyonlar ile hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu oluşumlarda bir geçiş metali olarak demir çok önemli bir rol oynamaktadır (31,38,69,75).



Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenleriyle etkileşme ve onlara zarar verme özelliğindedir (31,38,57,69) (Tablo 2-2).

Tablo 2.1 Serbest Radikallerin Hücre Bileşenlerinde Olul Turduğu Zararlı etkiler

◆ Lipitlerin peroksidasyonu ◆ Protein ve lipitlerle kovalent bağlar ◆ Zar proteinlerinde hasar ◆ Zar yapı ve işlevlerinde değişiklikler ◆ Proteinlerin parçalanması ◆ Protein “turnover”ının artması ◆ Hücre tiyol/disülfid oranının değişmesi	◆ Tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması ◆ Enzim aktivitelerinde değişiklikler ◆ Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı ◆ DNA’nın tahrip olması ◆ M�kopolisakkaritlerin yıkımı ◆ Yaş pigmenti ve seroid birikimi
--	---

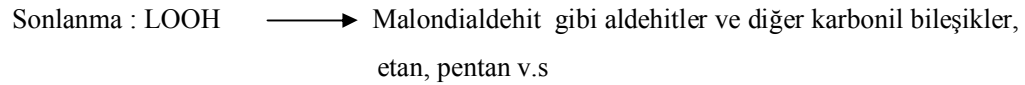
a) Serbest radikallerin proteinler üzerine olan etkileri: Serbest radikaller proteinler üzerinde doğrudan veya dolaylı etki gösterebilirler. Peptit bağları, prolin ve lizin gibi aminoasitler serbest radikallerden oldukça kolay etkilenir. Protein oksidasyonu, özellikle histidin, tirozin, fenilalanin gibi amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklinde olur. Lipit peroksidasyonun aldehit yapıdaki ürünleri sisteinin sülfhidril grupları ile veya lizin ve histidinler ile kovalent bağlar oluşturarak proteinlerde fragmentasyon ve çapraz bağlanmalara neden olur. Bu olaylar proteinlerin fonksiyonlarında bozulmalara yol açar (31,38,57).

b) Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA  zerine olan etkileri: Serbest radikallerin etkisi ile DNA yapısında yapısal değişimler olur. Bu yapısal değişimler pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma, zincir kırılmaları, DNA denatürasyonu gibi çeşitli olayları kapsamaktadır (31,38,57).

c) Serbest radikallerin lipitler üzerine etkileri: Serbest radikallerin lipitler üzerindeki en önemli etkileri lipit peroksidasyonunu uyarmasıdır. Lipit peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve hücre zarlarında bulunan çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan kimyasal bir olaydır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikali lipit peroksidasyonunu başlatan başlıca radikallerdir (31,38,57).

Lipit peroksidasyonu çok doymamış yağ asidi (LH) zincirindeki α - metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlar ve böylece yağ asidi zinciri bir radikal niteliği kazanır. Bu lipit radikali (L $\cdot$) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. İlk önce, molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatı oluşmaktadır. Daha sonra yağ asidi radikaline hızlı bir şekilde oksijen eklenerek peroksil radikali (LOO $\cdot$) oluşur. Bu lipit peroksil radikalleri zar yapısındaki diğer çok doymamış

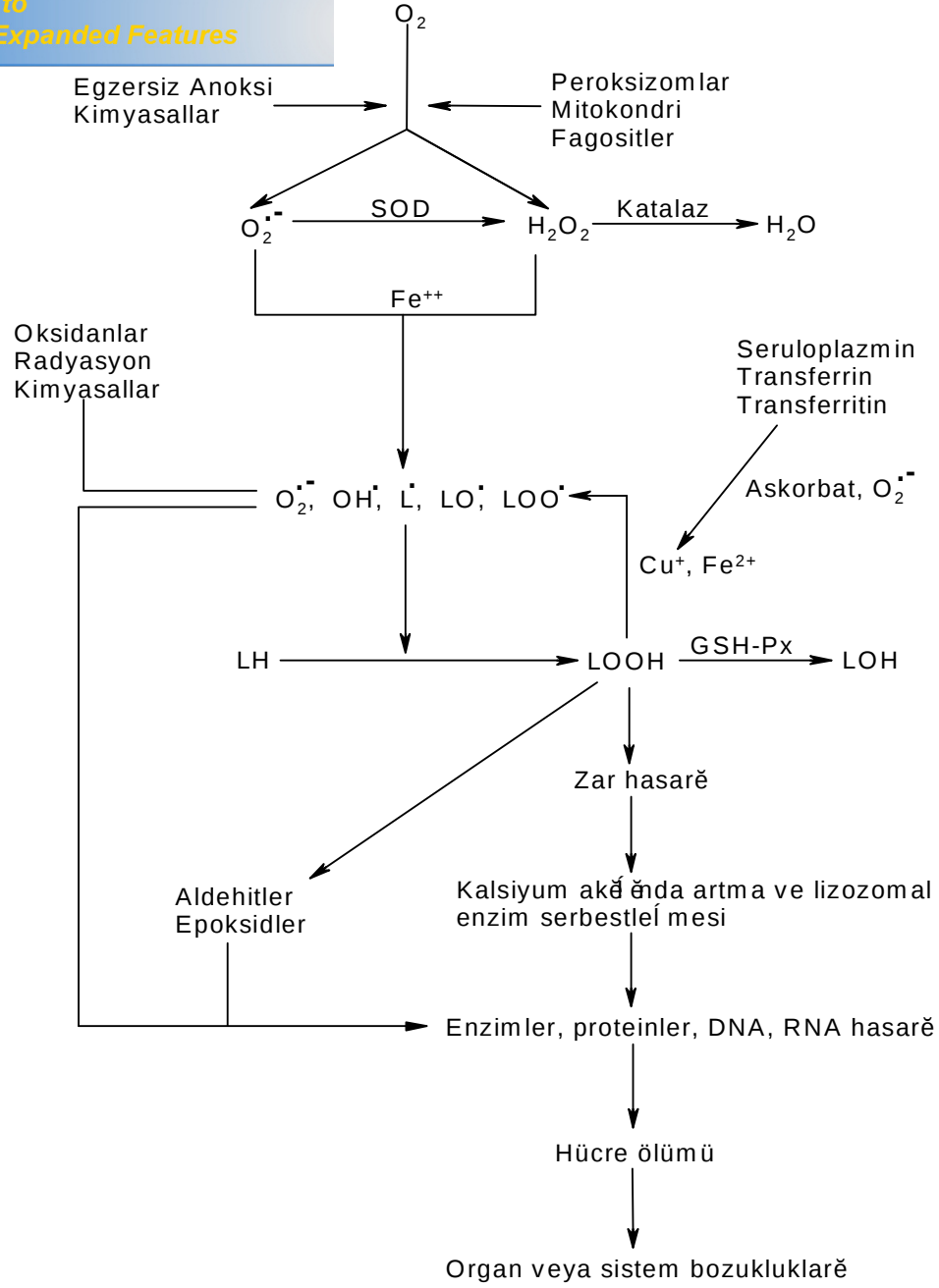
en atomlarını çıkartarak yeni reaksiyonları başlatırlar, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşürler (LOOH). Lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile lipit peroksidasyon reaksiyonları sona ermektedir (31,57,69,75) (Şekil 2-1).



Hücre zarlarında lipit peroksidasyonu sonucu zar transport sistemi etkilenmekte, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozulmaktadır. Bunun sonucunda hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artmakta ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olmaktadır. Bu olaylar hücre hasarında etkin bir rol oynamaktadır. Öte yandan lipit peroksidasyonun son ürünü olan aldehitler de sitotoksik etkilere sahiptir (31,38,57,69,75) (Şekil 2-1).

Organizmada sürekli biçimde serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin organizmaya zarar vermesi güçlü bir savunma sisteminin varlığı sayesinde engellenmektedir. Bu nedenle serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması son derece önemlidir. Bu denge bozulduğu zaman, serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmakta ve çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir. Bu nedenle antioksidan sistemlerin bilinmesi, oksidan stresin yol açtığı zararların engellenmesi açısından büyük önem taşımaktadır (31,57,69,82,84) (Tablo 2-3).

Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini göstermektedirler. Antioksidan sistem; enzimleri, suda ve yağda çözünen radikal tutucularını ve metal iyonlarını bağlayan proteinleri kapsamaktadır (31,57,82) (Tablo 2-3).



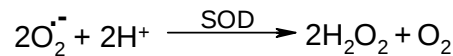
Ėekil 2-1: Lipit peroksidasyonu ve etkileri

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

in sistem elemanlarē

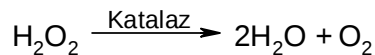
Enzimler	Suda çözünen Radikal tutucularė	Yağda çözünen radikal tutucularė	Metal iyonlarėnė bağlayan proteinler
◆ Süperoksit dismutaz	◆ Glutasyon	◆ Vitamin E	◆ Ferritin
◆ Katalaz	◆ Vitamin C	◆ β-Karoten	◆ Transferrin
◆ Glutasyon peroksidaz	◆ Ürik asit	◆ Bilirubin	◆ Haptoglobin
◆ Glutasyon redüktaz	◆ Glikoz	◆ Ubikinol	◆ Seruloplazmin
◆ Glutasyon transferaz	◆ Sistein	◆ Flavonoidler	◆ Albümin

Süperoksit dismutaz (SOD) : SOD enzimi süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak onun H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim SOD'dır.

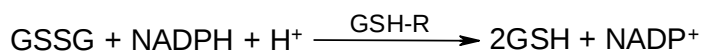
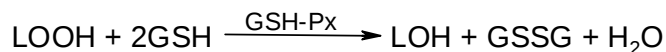


İnsanlarda SOD'un Cu-Zn ve Mn kapsayan iki izoenzimi bulunmaktadır. Cu ve Zn içeren tipi sitozolde, Mn içeren tipi ise mitokondride yerleşim gösterir (31,57,82).

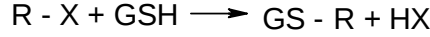
Katalaz: Tetramerik bir hemoprotein olan katalaz enzimi yüksek konsantrasyonda oluşan H_2O_2 'i oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler. Enzim, peroksizomlarda yerleşmiştir (31,57,82).



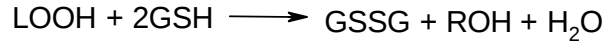
Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px): GSH-Px gerek H_2O_2 ve gerekse LOOH'leri metabolize etmektedir. GSH-Px'in selenyum bağımlı olan ve olmayan iki farklı tipi vardır. Selenyum bağımlı formu hem H_2O_2 'in hem de LOOH'lerin metabolizmasında yer alırken, selenyuma bağımlı olmayan tipi sadece LOOH'leri metabolize etmektedir. Bu reaksiyonlarda glutatyon (GSH) hidrojen verici olarak görev yapmakta, H_2O_2 ve LOOH'ler indirgenirken, GSH oksitlenmiş şekline (GSSG) dönüşmektedir. Oksitlenmiş glutatyon ise NADPH'a bağımlı glutatyon redüktaz (GSH-R) tarafından tekrar GSH'a indirgenmektedir (31,57,82).



) : Yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli rol oynayan GST'ler çeşitli endojen ve ekzojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu kataliz ederler.



GST'lerin bazı izoenzimleri GSH-Px aktivitesi göstererek LOOH'lerin metabolizmasını da sağlarlar (31,57,82).



Glutatyon (GSH) : Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptiddir. Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeyde bulunur. GSH hücre için en önemli antioksidan molekülüdür ve serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. Zehirsizleştirme reaksiyonlarına doğrudan katıldığı gibi, bazı enzimlerin süstratı veya kofaktörü olarak da görev yapmaktadır. GSH-Px, GSH-R ve GST gibi enzimlerin fonksiyonu için gereklidir. Ayrıca hücrenin protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. GSH aminoasitlerin membrandan transportunda da rol alır (31,57,82).

Vitamin E (α -tokoferol) : E vitamini yağda çözünen en kuvvetli antioksidan vitamindir ve yapısal olarak birbiri ile bağlantılı bir grup bileşiği içerir (tokoferoller ve tokotrienoller). Bunların tümü izoprenoid takısı içeren bileşiklerdir. Antioksidan aktivitesi en yüksek olan α -tokoferoldür. Yapısında bulunan fenol halkasındaki hidroksil grubu aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır.

E vitamini bitkisel yağlar ve tohumlarda bol miktarda bulunmaktadır. E vitamininin radikal reaksiyonları esnasında zincirleme giden reaksiyonları bozucu etkisi (zincir kırıcı antioksidan) bulunmaktadır. Çok güçlü bir antioksidan olarak serbest radikalleri ve lipid peroksitlerini indirgeyerek çok doymamış yağ asitlerini koruyan ilk savunma hattını oluşturmaktadır Bu sırada kendisi de radikal şekline dönüşmektedir. E vitaminin tekrar yenilenmesinde glutatyon, askorbik asit ve koenzim Q10 (ubikinon) görev almaktadır (31,57,82).

Vitamin C (Askorbik Asit): Askorbik asit suda çözünen en güçlü antioksidan moleküldür. İnsanlarda sentez edilemediği için diyet yoluyla alınması gerekir. Vitamin C yapıca heksozlara benzemekte ve organizmada kolayca dehidroaskorbik aside

radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirmektedir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve zarları da oksidan hasara karşı korumaktadır. Tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesini sağlayarak E vitamininin rejenere edilmesinde görev alır. Böylece E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korur (31,57,82).

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada güçlü bir savunma sistemi olmasına rağmen, bazı durumlarda savunma sistemi yetersiz kalmakta ve makromoleküller hasarlanmaktadır. Hasarın yerine bağlı olarak çeşitli organ ve sistemler etkilenmektedir. Günümüzde serbest radikallerin birçok hastalığın ve patolojik durumun ortaya çıkışında önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Oksijen radikalleri ile ilgili bu patolojik durumlar çok geniş bir spektrum göstermektedir (31,38,57,62,70,81) (Tablo 2-4). Serbest radikallerin yaşlanma, ateroskleroz, kanser oluşumu, iskemi-reperfüzyon hasarı ve karaciğer hasarı gibi birçok hastalığın oluşumunda etkin bir rol oynadığı bulunmuştur (31,38,57,62,70,81).

Tablo 2-4: Serbest radikallerle ilişkili bazı patolojik durumlar

❖ Yaşlanma ❖ Ateroskleroz ❖ Kanser ❖ İskemi-reperfüzyon hasarı ❖ Romatoid artrit ❖ Otoimmün hastalıklar ❖ Akciğer hastalıkları ❖ Kas hastalıkları ❖ Karaciğer bozuklukları ❖ Kan hastalıkları	❖ Radyasyon hasarı ❖ İnflamasyon ❖ Diabetes Mellitus ❖ Beyin ve merkezi sinir sistemi hastalıkları ❖ Böbrek bozuklukları ❖ Göz bozuklukları ❖ Cilt bozuklukları ❖ Gastrointestinal bozukluklar ❖ Beslenme yetersizlikleri
---	---

Karaciğer Hasarē

Karaciğer organizmada karbonhidrat, protein ve lipit metabolizmasında temel rol oynar. Ayrıca, ksenobiyotik olarak tanımlanan yabancı bileşiklerin biyotransformasyonunda da etkin bir rol oynadığı bilinmektedir. Biyotransformasyonu gerçekleştiren enzimler başlıca karaciğerde yer alır. Karaciğerin ksenobiyotiklerin biyotransformasyonundaki bu önemli rolü ve bazen biyotransformasyonla ana bileşikten daha toksik etkili metabolitlerin oluşabilmesi, karaciğerde hasar oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Ksenobiyotiklerin bir kısmı doğrudan hasara neden olduğu halde, çoğu biyotransformasyon sonucu oluşan ürünler aracılığı ile etkili olmaktadır. Biyotransformasyon sırasında oluşan zararlı ürünlerin başlıcaları serbest radikaller, aldehit yapıli bileşikler ve çeşitli elektrofıl bileşikler olarak tanımlanmaktadır (31,40).

Serbest radikaller ve karaciğer hasarı arasındaki ilişkiler uzun zamandır araştırılmaktadır. Alkol (17,20,21), tiyoasetamit (7,23), karbon tetraklorür (73,83), galaktozamin (65,72) ve asetaminofen (41,61) gibi bileşiklerin akut ve kronik uygulamaları ile oluşturulan karaciğer hasarında serbest radikallerin etkin bir rol oynadığı belirlenmiştir. Bu bileşikler karaciğerde prooksidan-antioksidan dengede belirgin bozukluklara neden olmakta ve sonuçta karaciğer hasarına yol açmaktadır.

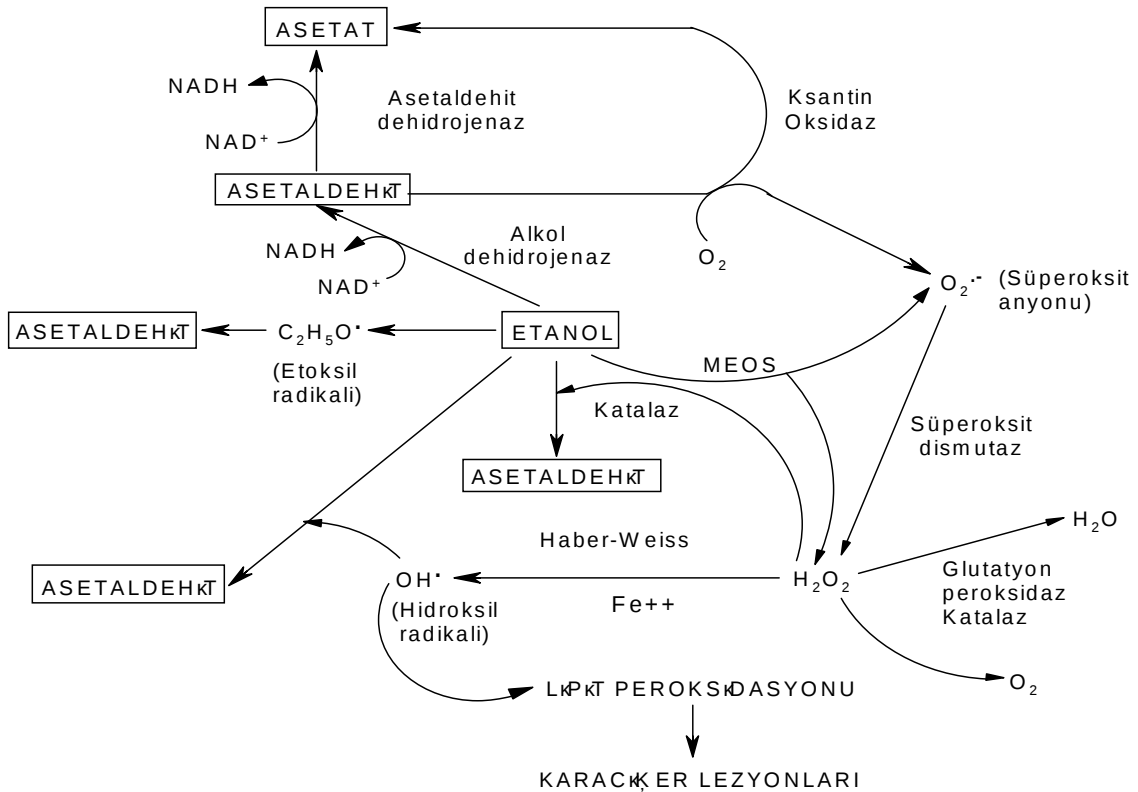
Alkol birçok toplumda çok önemli bir sağlık sorunudur. Fazla miktarda ve sürekli alkol alınmasıyla birçok toksik etki ortaya çıkmaktadır (40,46,47). Bunlar arasında özellikle karaciğer hastalığı önemlidir. Alkolün etkisiyle karaciğerde üç farklı tablo gelişmektedir. Bunlar karaciğer yağlanması, alkolik hepatit ve alkolik sirozdur (21,24,40,46,47,74) ve genellikle birbirini izleyen dönemler şeklinde seyretmektedir. Alkol alınması ile ilk oluşan lezyon karaciğer yağlanmasıdır. Alkolün kesilmesiyle geriye dönebilen ılımlı bir tablodur. Alkolik hepatit genellikle siroz öncesi bir tablo olarak kabul edilmekte olup, karaciğerde histopatolojik olarak sentrilobüler bir hasar, lökosit infiltrasyonu, inflamasyon ve sitoplazmik hiyalen cisimciklerinin (Mallory cisimcikleri) varlığı ile karakterizedir. Alkolik siroz ise genellikle mikronodüler tipte olup, geriye dönüşümü olmayan ciddi bir tablodur (21,24,40,46,47,74).

Alkolün karaciğer üzerindeki toksik etkilerinin patojenezinde hangi faktörlerinin rol oynadığı uzun yıllardır araştırılmaktadır. Genel olarak, bu toksik etkilerden alkolün kendisinden çok karaciğerdeki oksidasyon ürünlerinin sorumlu olduğu kabul edilmektedir (6,17,20,21,35,52,53,58,71). Mide ve bağırsaktan süratle emilen alkol, vena porta ile

ve oksitlenerek asetaldehite dönüşmektedir. Bu oksidasyon 5 farklı enzim sistemi tarafından yapılmaktadır (Şekil 2-2).

- Alkol dehidrojenaz (ADH),
- Mikrozomal etanol oksitleyici sistem (MEOS),
- Katalaz.

Alkolik olmayan insanlarda temel oksidasyon yolu ADH olup, bu oksidasyon NADH oluşumu ile birliktedir. MEOS yüksek alkol konsantrasyonlarında önem kazanmaktadır. MEOS kronik olarak alkol alanlarda induksiyona uğramaktadır. Bu sistem NADPH ve O_2 kullanmaktadır. Her üç reaksiyon sonunda meydana gelen asetaldehitin % 90 gibi büyük bir kısmı karaciğerde asetik asite oksitlenmektedir. Bu dönüşümü sitozolde ve mitokondride bulunan ve NAD^+ kullanan iki ayrı aldehit dehidrojenaz (ALDH) katalizlemektedir. Diğer yandan, aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz da bu dönüşüme katkıda bulunmaktadır (20,40,46,58).



Şekil 2-2: Etanol ve asetaldehit metabolizması ve serbest radikal oluşumu

alamalarından sonra karaciğerde meydana gelen alkolik karaciğer hastalığının patojenezinde,

- 1) Aşırı NADH oluşumunun,
- 2) Toksik bir bileşik olan asetaldehit ve bazı makromoleküllerle kovalan bağlar oluşturan asetaldehitin birikmesinin,
- 3) Serbest radikal nitelikli bileşiklerin oluşmasının rol oynadığı düşünülmektedir (20,21,46,47,52).

Alkolün karaciğer (4,8,9,36,42,43,76,80) ve karaciğer dışı (28,37,76,79) dokularda lipid peroksidasyonunu uyarması, serbest radikal oluşumunu arttırmasına bağlanmaktadır. Deneysel (3,4,8,9,28,36,37,42,43,68,76,79,80) ve klinik çalışmalar (2,10,49,54,78,85) alkolün karaciğerdeki oksidasyonu esnasında oluşan serbest radikallerin organizmada prooksidan etki yaptığını ve oksidatif bir baskı oluşturduğunu göstermiştir. Etanol etkisiyle karaciğerde radikal oluşumuna katkıda bulunan reaksiyonlar şunlardır (Şekil 2-2) (20,21,46,47,52):

- 1) Mikrozomal NADPH-sitokrom P₄₅₀ redüktaz ve sitokrom P₄₅₀: Bunlar MEOS'un bileşenleri olup, O₂⁻ ve H₂O₂ oluşturmaktadır.
- 2) Aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz: Asetaldehitin asetata dönüşmesinde etkili olan ve O₂⁻ radikali oluşturan bir sistemdir.
- 3) Mikrozomal NADPH-oksidaz: Gerek akut ve gerekse kronik etanol alınmasından sonra indüklenen O₂⁻ ve H₂O₂ oluşturan bir enzimdir.
- 4) Etanolden özellikle mikrozomal fraksiyonda oluşan etoksi (CH₃CH₂-O[•]) ve hidroksietil (CH₃CH₂-OH[•]) radikalleri.

Alkolün karaciğer üzerine olan zararlı etkilerinin önlenmesinde serbest radikal tutucuların, sülfhidril bileşiklerin ve bazı antioksidanların etkisi araştırılmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda S-Adenozil metyonin (46,47,50,68), beta-karoten (63), N-asetil sistein (3), taurin (8,66) ve betainle (9,11,19,39) bazı olumlu sonuçlara ulaşılmıştır.

2.3. Karnozin, Yapış ve Fonksiyonlar

Karnozin, β-alanil-L-histidin yapısında iskelet kası, beyin ve sinir gibi uzun ömürlü, bölünme yeteneği olmayan hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan biyolojik olarak aktif bir dipeptiddir (1,14,15). Karnozin sentaz enzimiyle

dazlarla sindirilememekte, ancak serum ve böbrekte bulunan spesifik bir enzim olan karnozinazla parçalanabilmektedir (14).

İskelet kası gibi dokularda fizyolojik bir tampon olarak görev yapmaktadır (1,14). Ayrıca serbest radikaller ve aldehitler için toplayıcı (scavenger) olduğu, proteinlerdeki oksidatif değişimleri ve ileri glikasyon ürünleri oluşumunu önlediği saptanmıştır (1,14,29,33,56). Bir antioksidan olarak davranıp bakır, çinko, kobalt ve demir iyonları gibi iki değerlikli metal iyonlarıyla kompleks oluşturarak ROS ve RNS oluşumuna engel olmaktadır (1,14,29,33,56). Bu bulgular genellikle in vitro deneylere dayanmaktadır. Bu nedenle bir antioksidan ve glikasyon ürünlerini önleyici bir bileşik olarak oksidatif stresle bağlantılı yaşlanma (33), Alzheimer hastalığı (32), ateroskleroz (64), katarakt (5) ve diabetes mellitusun komplikasyonlarının (45) önlenmesinde/azaltılmasında tedavi edici bir ajan olabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda karnozinin oksidatif stresi uyarak karaciğer hasarına yol açan iskemi-reperfüzyon hasarı (26) ile tiyoasetamit (51) ve kronik etanol (48) uygulamasına bağlı karaciğer hasarı üzerinde de bazı olumlu etkileri olabileceği ileri sürülmüştür.

3.1. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda ağırlıkları 200-220 gram olan Sprague-Dawley türü dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlandı. Deney hayvanları 4 gruba ayrıldı:

- 1) Normal kontrol grubu (n=16) : Sıçanlar 4 hafta normal yem ile beslendiler.
- 2) Karnozin grubu (n=16) : Sıçanlara 4 hafta süreyle % 0.2 (w/v) oranında karnozin (Sigma C-9625) içeren içme suyu verildi. Karnozinli içme suyu günlük hazırlandı.
- 3) Etanol grubu (n=16) : 4 hafta süreyle normal yemle beslenen sıçanlara 5 g/kg dozunda etanol 12 saat arayla 3 kez gavajla uygulandı. Bu amaçla gavaj için % 33'lük (v/v) etanol hazırlandı.

3) Karnozin+etanol grubu (n=16) : Sıçanlara 4 hafta süreyle % 0.2 (w/v) oranında karnozin (Sigma C-9625) içeren içme suyu verildi. Daha sonra bu sıçanlara 5 g/kg dozunda etanol 12 saat arayla 3 kez gavajla uygulandı.

Bu uygulamalardan sonra sıçanlar iki gruba ayrılarak bir bölümü son etanol uygulamasından 6 saat, diğer bölümü ise 18 saat sonra eter anestezisi altında kalplerinden kan alınarak öldürüldüler ve karaciğerleri hızla çıkarıldı.

Kanlar 1500xg'de santrifüj edildi ve serumlar ayrıldı. Karaciğer dokuları soğuk % 0.9'luk NaCl ile yıkandıktan sonra bir kısmı histopatolojik incelemeler için tamponlanmış formole alınırken, diğer kısmı yapılacak işlemler için ayrıldı, temizlendi ve buza alındı.

3.1.Serumda Yapılan İncelemeler

Serumda alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) aktiviteleri ROCHE otoanalizöründe enzimatik yöntemle ölçüldü (12).

3.2.Karaciğerde Yapılan İncelemeler

Sıçanların karaciğerlerinde lipit peroksit (MDA ve dien konjugatı), GSH, vitamin E ve vitamin C düzeyleri ile SOD, GSH-Px ve GST aktiviteleri ölçüldü. MDA, GSH, vitamin E ve vitamin C düzeyleri karaciğer dokusundan 0.15 M KCl'de hazırlanan %10'luk (w/v) karaciğer homojenatlarında belirlendi. Karaciğerde trigliserit ve dien konjugatı düzeylerinin tayini için % 10'luk karaciğer homojenatlarından hazırlanan lipit ekstratları

aktiviteleri ise karaciğer homojenatlarından elde edilen postmitokondri fraksiyonunda tayin edildi.

3.2.1. Karaciğer Homojenatının Hazırlanması ve Postmitokondri Fraksiyonunun Eldesi

Yöntem: 1 g karaciğer dokusu tartıldı ve Potter-Elvehjem doku homojenizatöründe 10 ml soğuk 0.15 M KCl çözeltisi ile homojenize edildi ve %10'luk karaciğer homojenatı (w/v) hazırlandı.

Postmitokondri fraksiyonu eldesi için, karaciğer homojenatları öncelikle 4°C'ye ayarlanmış soğuk santrifüjde 600 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant alındı ve Eppendorf santrifüjünde 10000 x g'de 20 dakika santrifüj edilerek postmitokondri fraksiyonu elde edildi ve deneyler yapılincaya kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı.

3.2.2. Karaciğer Lipit Ekstresinin Hazırlanması (25)

Yöntem: %10'luk karaciğer homojenatlarından 0.25 ml alındı ve üzerine 3.75 ml kloroform:metanol (2:1) karışımı eklendi. İyiye karıştırıldı, 1 saat süreyle ara sıra karıştırılarak beklendi. Daha sonra bu karışım süzülerek son hacimler 4 ml'ye tamamlandı ve kapaklı tüplerde deneyler yapılincaya kadar -20°C'de saklandı.

3.2.3. Karaciğerde Trigliserit Düzeylerinin Tayini

Yöntem: Karaciğer lipit ekstresinden 0.5 ml alındı ve azot altında uçuruldu. Daha sonra kuru lipit kalıntıları 0.25 ml alkol:eter (3:1) karışımı ile ekstre edildi ve BioLabo (France) firmasının enzimatik kiti (REF 80219) ile serum için önerilen yöntem kullanılarak karaciğerde trigliserit tayini yapıldı.

3.2.4. Karaciğer Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçülmesi (59)

Lipit peroksidasyonu son ürünlerinden olan MDA'nın TBA ile oluşturduğu kompleks spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Yöntem: % 10'luk karaciğer homojenatından 0.2 ml alındı. Üzerine 0.2 ml %8.1'lik sodyum dodesil sülfat, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik tiyobarbitürik asit ve 0.6 ml distile su eklendi. Bu karışım kaynar su banyosunda 1 saat tutuldu. Soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml bütanol/piridin (15:1) karışımı eklendi, karıştırıldı ve

ayrıldı. Homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı absorbanları 552 nm'de spektrofotometrede okundu.

Ayırıcılar:

- ❖ % 8.1'lik sodyum dodesil sülfat
- ❖ % 20'lik asetik asit (10 N NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)
- ❖ % 0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)
- ❖ Bütanol/piridin (15:1)
- ❖ Stok 1,1,3,3-tetraetoksipropen (TEP) standardı (10 mM): 22 mg TEP 10 ml'de distile suda çözülde ve 1000 kez sulandırıldı (10 nmol/ml'lik çalışma standardı)

Hesap: Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropen kullanıldı. Sonuçlar nmol/g doku olarak tanımlandı.

3.2.5.Karaciğer Dien Konjugat (DK) Düzeylerinin Ölçümü (16)

İşlem: Karaciğer lipit ekstresinden 1ml alınarak azot gazı altında uçuruldu. Kuru kalıntı 2 ml sikloheksana alındı. Spektrofotometrede 233 nm dalgaboyunda sikloheksan körüne karşı absorbanlar okundu.

Hesap: Dien konjugatı düzeyleri 233 nm'de ekstinksiyon katsayısı olan 2.52×10^4 M⁻¹ sayısından yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar µmol/g doku olarak tanımlandı.

3.2.6.Karaciğerde Glutasyon (GSH) Düzeylerinin Ölçülmesi (13)

Karaciğer homojenatında GSH düzeyleri, Ellman ayırıcı (5,5'-ditiyobis(2 nitrobenzoik asit)) kullanılarak tayin edildi. Bu ayırıcın karaciğer homojenatındaki serbest sülfhidril (-SH) grupları tarafından indirgenmesi sonucunda, 1 mol -SH grubu başına 1 mol 2-nitro-5-tiyobenzoik asit (TNB) oluşmaktadır. Sarı renkli bu ürün spektrofotometrik olarak 412 nm'de absorbanlar vermektedir.

İşlem: Karaciğer dokusunun 0.15 M KCl'deki %10'luk homojenatından 0.5 ml alındı. Üzerine 1.5 ml 0.15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi ve bu karışım 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra, 0.5 ml süpernatant üzerine 2 ml 0.3 M Na₂HPO₄ ve 0.5 ml Ellman ayırıcı ilave edildi. Oluşan renk 412 nm'de ayıraç körüne karşı okundu.

- ❖ Proteinsizleştirme çözeltisi: 1.67 g glasiyal metafosforik asit, 200 mg Na-EDTA ve 30 g NaCl 100 ml distile suda çözöldü.
- ❖ 0.3 M Na₂HPO₄: 42.6 g Na₂HPO₄ 1000 ml distile suda çözöldü.
- ❖ Ellman Renk Ayıracı: 4 mg 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) 10 ml % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözöldü.
- ❖ GSH standardı: (0.1 mg/ml)

Hesap: GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı 13600 M⁻¹x cm⁻¹ ve standart kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar µmol GSH/g doku olarak tanımlandı.

3.2.7.Karaciğerde E Vitamini (Ü-tokoferol) Düzeylerinin Ölçölmesi (22)

Karaciğer homojenatlarından ekstre edilen vitamin E, Fe⁺³ (ferrik iyon)'u Fe⁺² (ferro iyon)'a çevirir. Bu da bathofenantrolin ile pembe renkli bir kompleks oluşturur.

Ölçölme: %10'luk karaciğer homojenatından 3.0 ml alındı. Üzerine 2.0 ml absolü etanol ve 1.0 ml % 25'lik askorbik asit eklendi. Bu karışım 70°C'de 5 dakika tutuldu. Sonra üzerine 2.0 ml 10 N KOH eklendi, karışırıldı ve bu karışım 70°C'de 30 dakika bekletildi. Soğutulduktan sonra, üzerine 4 ml hekzan eklendi, karışırıldı ve organik faz santrifüj edilerek ayrıldı. Organik fazdan 3 ml alınarak azot altında uçuruldu. Kuru kalıntı 1 ml absolü etanole alındı (Deney). Kör için 1 ml absolü alkol, standartlar için ise 1 ml 5 ve 10 µg/ml α-tokoferol içeren standartlar alındı. Tüm tüplere, hızla 0.2 ml % 0.2'lik bathofenantrolin, 0.4 ml 0.05 mM'lik FeCl₃ eklendi ve tam 1 dakika sonra 0.4 ml 0.05 mM'lik ortofosforik asit konuldu ve ayrıca körüne karşı absorbanslar 536 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Ayırma:

- ❖ % 0.2'lik 4,7-difenil-1,10-fenantrolin (bathofenantrolin): 20 mg bathofenantrolin 10 ml absolü alkolde çözöldü.
- ❖ 0.05 mM FeCl₃ (absolü alkolde): 2.7 mg FeCl₃.6H₂O 20 ml absolü alkolde çözöldü.
- ❖ 0.05 mM ortofosforik asit (absolü alkolde): 0.02 ml ortofosforik asit alındı ve 29.4 ml'ye absolü alkol ile tamamlandı. Bundan 1 ml alınıp 20 ml'ye tekrar absolü alkolle tamamlandı.
- ❖ %25'lik askorbik asit (distile suda)

suda)

❖ ABSOLÜ ALKOL

❖ Hekzan

❖ Vitamin E standardı: 1 mg/ml olacak şekilde α -tokoferol tartılarak absölü alkolde çözüldü, daha sonra bu stok standart 100 ve 200 kez sulandırılarak 10 ve 5 μ g/ml E vitamini içeren çalışma standartları hazırlandı.

Hesap: Standart olarak DL- α -tokoferol kullanıldı. Sonuçlar, nmol/g karaciğer dokusu olarak tanımlandı.

3.2.8.Karaciğerde Total Askorbik Asit (C vitamini) Düzeylerinin Ölçülmesi (60)

Homojenattaki askorbik asit, bakırın (Cu^{+2}) etkisi ile dehidroaskorbik asit ve diketoglukonik asite oksitlenir. Bu oksidasyon ürünleri 2,4-dinitrofenilhidrazinle bis(2,4-dinitrofenilhidrazon) oluşturur. Daha sonra bu bileşik de sülfürik asitle 520 nm’de okunan ürün verir.

İşlem: 2 ml %10’luk homojenata 2 ml %10’luk trikloroasetik asit (TCA) ilave edildi. 3500 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Total askorbik asit tayini için üst fazdan 1 ml tüpe alındı ve üzerine 0.1 ml 2,4-dinitrofenilhidrazin/tiyoüre/bakır ayıracı konuldu. Kör deney için 1 ml %5 TCA, standard için ise %5’lik TCA’da hazırlanmış standartlardan (20 μ g/ml askorbik asit ve 10 μ g/ml askorbik asit) 0.5 ml alındı. Bütün tüpler 3 saat 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde tüpler soğutuldu ve hızla 0.75 ml %65’lik H_2SO_4 ilave edilerek reaksiyon durduruldu. 30 dakika oda ısısında bekledikten sonra 520 nm’de absorbanslar okundu.

Ayırıcılar:

❖ %10’luk trikloroasetik asit (TCA)

❖ 2,4-dinitrofenil hidrazin/tiyoüre/bakır ayıracı: 400 mg tiyoüre, 50 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 3 g 2,4-dinitrofenilhidrazin 9 N H_2SO_4 ’de çözülerek aynı çözücü ile 100 ml’ye tamamlandı.

❖ %65’lik H_2SO_4

❖ Askorbik asit standardı: 2 mg/ml olacak şekilde % 5’lik trikloroasetik asitte hazırlandı ve 20 μ g/ml ve 10 μ g/ml olacak şekilde %5’lik trikloroasetik asit ile sulandırılarak çalışma standartları hazırlandı.

Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçülmesi (55)

SOD aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidinin fotooksidasyon hızını artırma yeteneği olarak ölçülür. Riboflavinin floresan ışığı etkisiyle oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD'un etkisiyle hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit ise o-dianisidin ile reaksiyona girerek renkli ürün oluşturur. SOD aktivitesi ne kadar çok ise renkli ürün oluşumu o kadar fazla olur. Oluşan renkli ürün 460 nm'de spektrofotometrik olarak saptanır.

Yöntem: Kör, standart ve deney tüplerine sırası ile 2.6 ml 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 0.1 ml o-dianisidin ilave edilir. Kör tüpüne 0.1 ml distile su; standart tüpüne 0.1 ml standart; deney tüpüne 0.05-0.1 ml karaciğer postmitokondri fraksiyonu eklendikten sonra her tüpe 30 saniye ara ile 0.2 ml riboflavin kondu, karıştırıldı ve 460 nm'deki absorbans değerleri okundu. Tüpler 20W floresan lamba içeren 37°C'ye ayarlanmış özel bir kutuya yerleştirildi ve tam 8 dakika süre ile floresan ışığa maruz bırakıldı. Sürenin bitiminde tüplerin absorbansı tekrar 460 nm'de okundu ve iki absorbans arasındaki fark alındı. Ayrıca deney körü ve standart için de aynı işlemler yapıldı.

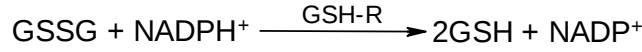
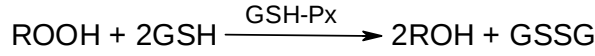
Ayırıcılar:

- ❖ 0.1 mM EDTA içeren 50 mM Potasyum fosfat tamponu (pH 7.8)
- ❖ 0.2 mM riboflavin: 7.3 mg riboflavin 100 ml 10 mM potasyum fosfat tamponunda (pH 7.5) çözüldü.
- ❖ 6 mM o-dianisidin: 19 mg o-dianisidin 10 ml distile suda çözüldü.
- ❖ SOD (100 IU/ml) standardı: Sigma firmasından sağlanan SOD standardı 100 IU/ml olacak şekilde soğuk distile su ile sulandırıldı. Daha sonra bu ana standarttan 0.1 ve 0.05 ml alınarak deney ortamında 10 ve 5 IU SOD standardının bulunması sağlandı.

3.2.10. Karaciğerde Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Ölçülmesi (44)

GSH-Px aktivite tayini iki reaksiyon ile gerçekleşmektedir. Birinci reaksiyon ile H_2O_2 veya organik hidroperoksitler GSH-Px etkisi ile indirgenirken, ortamdaki indirgenmiş GSH oksitlenmiş GSH'a (GSSG) dönüşmektedir. İkinci reaksiyonda ise GSSG, GSH-redüktaz (GSH-R) etkisi ile tekrar GSH'a dönüşmektedir. Bu sırada NADPH ise $NADP^{+}$ ye oksitlenmektedir. Bu dönüşüm 340 nm'de absorbansta azalma olarak

ve bir absorbans verdiği halde, NADPH⁺ bu dalga boyunda absorbans vermemektedir.



İlem: GSH-Px aktivitesi, 1 ml'lik hacimde son konsantrasyonlar 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 1 mM EDTA, 1 mM sodyum azit, 0.2 mM NADPH, 1 mM GSH, 0.5 IU/ml glutatyon redüktaz, 1.2 mM kümen hidroperoksit, 100-200 kez sulandırılmış post mitokondri fraksiyonu içerecek şekilde hazırlanmış ortamda tayin edildi. Küvetler 37°C'ye ayarlanmış termostatl spektofotometreye yerleştirildi ve 1'er dakika arayla spektofotometrede 340nm'de absorbans değişimi izlendi. Ayrıca post mitokondri fraksiyonu içermeyen ortamda da reaksiyon izlenerek enzimatik olmayan değişim kayıt edildi.

Hesap: Sonuçlar NADPH'nin ekstinksiyon katsayısı olan $6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ 'den yararlanılarak hesaplandı ve nmol NADPH/dakika/mg protein olarak belirtildi.

3.2.11.Karaciğerde Glutatyon Transferaz (GST) Aktivitesinin Ölçülmesi (30)

GST aktivitesinin tayini, GSH ve 1-kloro-2,4-dinitro-benzenin (CDNB) konjugasyonu sonucu oluşan ürünün, 340 nm'de spektofotometrik olarak saptanması esasına dayanır.

İlem: GST aktivitesi 3 ml'lik hacimde son konsantrasyonlar 1 mM CDNB, 1mM GSH ve 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6.5) içerecek şekilde ayarlanmış ortamda tayin edildi. Bunun için, 400-500 kez sulandırılmış karaciğer postmitokondri fraksiyonundan 0.5 ml alındı, üzerine 1.5 ml 0.2 M sodyum fosfat tamponu (pH 6.5), 0.05 ml 60 mM glutatyon çözeltisi, 0.05 ml 60 mM CDNB çözeltisi eklendi ve toplam hacim distile su ile 3 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 3 dakika süre ile 25°C'de 340 nm'de karışımın absorbansı izlendi ve dakikadaki absorbans artışı saptandı. Aynı işlemler enzimatik olmayan konjugasyon için enzim içermeyen inkübasyon karışımında da tekrarlandı.

- ❖ 0.2 M potasyum fosfat tamponu (pH 6.5)
- ❖ 60 mM glutatyon (GSH)
- ❖ 60 mM 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB): Absolü etanolde hazırlandı.

Hesap: Glutatyon ve CDNB'nin konjugasyonu sonucu oluşan ürün için saptanmış olan ekstinksiyon katsayısı, $9.6 \text{ mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$, kullanıldı. Enzimatik konjugasyon sonucundan, enzimatik olmayan konjugasyon değerleri çıkarıldı ve sonuçlar nmol ürün/dakika/mg protein olarak belirtildi.

3.2.12.Karaciğerde Protein Tayini (67)

Karaciğer homojenatlarında ve postmitokondri fraksiyonlarında protein miktarı Bicinchoninic asit metodu ile belirlendi.

Yöntem: 200 µl protein renklendirici ayırıcı üzerine 10 µl 25 kez sulandırılmış postmitokondri fraksiyonu ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra 37°C 'de 30 dakika bekletildi. Oda ısısında soğutuldu ve oluşan rengin absorbansı 562 nm'de ELISA'da okundu.

Ayırıcılar:

- ❖ Bicinchoninic asit çözeltisi (Sigma B 9643)
- ❖ %4 CuSO_4
- ❖ Protein renklendirme ayırıcı: 10 ml bicinchoninic asit çözeltisi üzerine 0.2 ml %4 CuSO_4 eklenerek hazırlandı.

3.2.13.Histopatolojik İncelemeler

Karaciğer dokusundan alınan örnekler tamponlanmış formole alındı ve İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik incelemeler yapıldı.

3.3.İstatistik İncelemeler

Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar arası istatistik değerlendirmeler için Kruskal Wallis (post hoc Mann Whitney U-test) testleri kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 12 saat süre ile 3 kez 5 g/kg etanol uygulanan (BINGE MODEL) sıçanlarda karaciğerdeki olası değişiklikleri, 4 hafta süreli karnozin (% 0.2, w/v, içme suyunda) ön uygulamasının etkileyip etkilemediği araştırıldı. İncelemeler son etanol uygulamasından 6 ve 18 saat sonra yapıldı.

Etanol uygulanan gruptaki 16 sıçandan biri ve karnozin+etanol grubundaki 16 sıçandan ikisi son etanol uygulamasından 8-10 saat sonra öldü.

4.1. Biyokimyasal İnceleme Sonuçları

Çalışmamızda elde edilen bulgular Tablo 4-1, 4-2, 4-3 ve 4-4 ile Şekil 4-1, 4-2, 4-3 ve 4-4'te gösterildi. Buna göre;

A) Etanol uygulanan sıçanlarda son uygulamadan 6 saat sonra yapılan incelemelerde elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

a) Serum ALT aktivitesi % 33.0 ve AST aktivitesi ise % 61.8 oranlarında anlamlı artışlar gösterdi (Tablo 4-1, Şekil 4-1).

b) Karaciğer trigliserit düzeylerinin anlamlı bir artışla 4.2 katına çıktığı görüldü (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

c) Karaciğer MDA düzeyleri % 41.5, DK düzeyleri ise % 28.7 oranında artışlar gösterdi (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

d) Karaciğer GSH, vitamin E ve vitamin C düzeylerinde sırasıyla % 51.7, % 16.4 ve % 11.9 oranında azalmalar bulundu (Tablo 4-3, Şekil 4-3).

e) Karaciğer SOD aktivitesi değişmediği halde, GSH-Px ve GST aktivitelerinde sırasıyla % 20.2 ve 18.3 oranında anlamlı azalmalar bulundu (Tablo 4-4, Şekil 4-4).

B) Karnozin ön uygulaması yapılan sıçanlarda etanol uygulamasından 6 saat sonra yapılan incelemelerde elde edilen sonuçlar tek başına etanol uygulanan gruba karşılaştırıldığında;

a) Serum ALT ve AST aktivitelerinde bir farklılık bulunmadı (Tablo 4-1, Şekil 4-1).

b) Karaciğer trigliserit düzeyleri değişmedi (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

c) Karaciğerde etanol etkisiyle artan MDA düzeylerinin % 24.6 ve DK düzeylerinin ise % 17.4 oranında anlamlı azalma gösterdiği saptandı (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

Uygulamasıyla azalmış olan GSH düzeylerinin % 19.5 oranında arttığı, vitamin E ve vitamin C düzeylerinin ise değişmediği görüldü (Tablo 4-3, Şekil 4-3).

e) Karaciğerde SOD ve, etanol etkisiyle azalmış olan GSH-Px ve GST aktivitelerinin değişmediği bulundu (Tablo 4-4, Şekil 4-4).

C) Etanol uygulanan seçanlarda son uygulamadan 18 saat sonra yapılan incelemelerde elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

a) Serum ALT aktivitesi % 69.0 ve AST aktivitesi ise % 75.9 oranında anlamlı artışlar gösterdi (Tablo 4-1, Şekil 4-1).

b) Karaciğer trigliserit düzeylerinin anlamlı bir artışla 3.83 katına çıktığı bulundu. (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

c) Karaciğer MDA düzeyleri % 46.4 ve DK düzeyleri ise % 34.5 oranında artışlar gösterdi (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

d) Karaciğer GSH, vitamin E ve vitamin C düzeylerinde sırasıyla % 24.8, %11.4 ve % 12.1 oranında anlamlı azalmalar bulundu (Tablo 4-3, Şekil 4-3).

e) Karaciğer SOD ve GSH-Px aktiviteleri değişmediği halde, GST aktivitesinde % 18.9 oranında bir azalma bulundu (Tablo 4-4, Şekil 4-4).

D) Karnozin ön uygulaması yapılan seçanlarda etanol uygulamasından 18 saat sonra yapılan incelemelerde elde edilen sonuçlar tek başına etanol uygulanan grupla karşılaştırıldığında;

a) Serum ALT aktivitesinde % 36.2 ve AST aktivitesinde ise % 28.5 oranında anlamlı azalmalar bulundu (Tablo 4-1, Şekil 4-1).

b) Karaciğer trigliserit düzeyleri değişmedi (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

c) Karaciğerde etanol etkisiyle artan MDA düzeylerinin % 15.7 ve DK düzeylerinin ise % 16.8 oranında anlamlı azalma gösterdiği saptandı (Tablo 4-2, Şekil 4-2).

d) Karaciğerde etanol uygulamasıyla azalmış olan GSH, vitamin E ve vitamin C düzeylerinde bir değişiklik bulunmadı (Tablo 4-3, Şekil 4-3).

e) Karaciğerde SOD ve GSH-Px aktiviteleri değişmedi. GST aktivitesinde ise % 18.2 oranında anlamlı bir artış bulundu (Tablo 4-4, Şekil 4-4).

E) 4 hafta süre ile karnozin uygulanan seçanlarda elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında;

Karnozinin tek başına uygulamasının karaciğerde sadece DK düzeylerinde anlamlı azalmalar oluşturduğu ve diğer göstergeleri etkilemediği bulundu.

Uygulanan seçanlarda serum alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

	N	ALT (U/L)	AST (U/L)
Normal	8	47.6 $\pm$ 8.42 a	93.9 $\pm$ 13.7 a
Karnozin	8	53.5 $\pm$ 8.21 ab	96.1 $\pm$ 16.5 a
Etanol (6. saat)	8	63.3 $\pm$ 14.2 b	151.9 $\pm$ 34.4 b
Karnozin+Etanol (6. saat)	8	52.6 $\pm$ 9.18 ab	122.9 $\pm$ 25.5 b
Normal	8	44.8 $\pm$ 8.40 a	91.7 $\pm$ 15.6 a
Karnozin	8	51.2 $\pm$ 8.63 a	87.0 $\pm$ 16.8 a
Etanol (18. saat)	7	75.7 $\pm$ 20.3 b	161.3 $\pm$ 46.5 b
Karnozin+Etanol (18. saat)	6	48.3 $\pm$ 10.4 a	115.3 $\pm$ 9.48 c

Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

Tablo 4-2: Karnozinin etanol uygulanan seçanlarda karaciğer trigliserit, malondialdehit (MDA) ve dien konjugatë (DK) düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

	n	Karaciğer Trigliserit (mg/g)	MDA (nmol/g)	DK (μ mol/g)
Normal	8	5.80 $\pm$ 1.47 a	276.2 $\pm$ 39.4 a	1.43 $\pm$ 0.07 a
Karnozin	8	7.16 $\pm$ 1.76 a	278.1 $\pm$ 32.5 a	1.32 $\pm$ 0.08 b
Etanol (6.saat)	8	24.1 $\pm$ 3.05 b	390.9 $\pm$ 65.0 b	1.84 $\pm$ 0.17 c
Karnozin+Etanol (6. saat)	8	22.0 $\pm$ 3.49 b	294.9 $\pm$ 32.5 a	1.52 $\pm$ 0.07 d
Normal	8	5.62 $\pm$ 1.50 a	278.1 $\pm$ 41.6 a	1.42 $\pm$ 0.06 a
Karnozin	8	7.10 $\pm$ 1.66 a	277.6 $\pm$ 32.5 a	1.34 $\pm$ 0.08 b
Etanol (18. saat)	7	21.5 $\pm$ 3.22 b	407.1 $\pm$ 68.2 b	1.91 $\pm$ 0.25 c
Karnozin+Etanol (18. saat)	6	19.8 $\pm$ 1.57 b	343.1 $\pm$ 26.3 c	1.59 $\pm$ 0.25 a

Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

Tablo 4-3: Etanol uygulanan seçanlarda karaciğer glutatyon (GSH), vitamin E ve Vitamin C düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

	n	GSH ($\mu\text{mol/g}$)	Vitamin E (nmol/g)	Vitamin C ($\mu\text{mol/g}$)
Normal	8	7.53 $\pm$ 0.90 a	108.7 $\pm$ 12.5 a	2.44 $\pm$ 0.12 a
Karnozin	8	7.43 $\pm$ 1.00 a	95.2 $\pm$ 12.2 ab	2.29 $\pm$ 0.19 ab
Etanol (6. saat)	8	3.64 $\pm$ 0.58 b	90.9 $\pm$ 10.7 b	2.15 $\pm$ 0.17 b
Karnozin+Etanol (6. saat)	8	4.35 $\pm$ 0.60 c	77.1 $\pm$ 9.34 b	2.14 $\pm$ 0.16 b
Normal	8	7.74 $\pm$ 0.83 a	106.5 $\pm$ 8.55 a	2.47 $\pm$ 0.21 a
Karnozin	8	8.02 $\pm$ 0.69 a	98.1 $\pm$ 8.99 ab	2.34 $\pm$ 0.15 a
Etanol (18. saat)	7	5.82 $\pm$ 0.97 b	87.7 $\pm$ 11.2 b	2.17 $\pm$ 0.18 b
Karnozin+etanol (18. saat)	6	5.57 $\pm$ 0.79 b	91.2 $\pm$ 2.93 b	2.08 $\pm$ 0.25 b

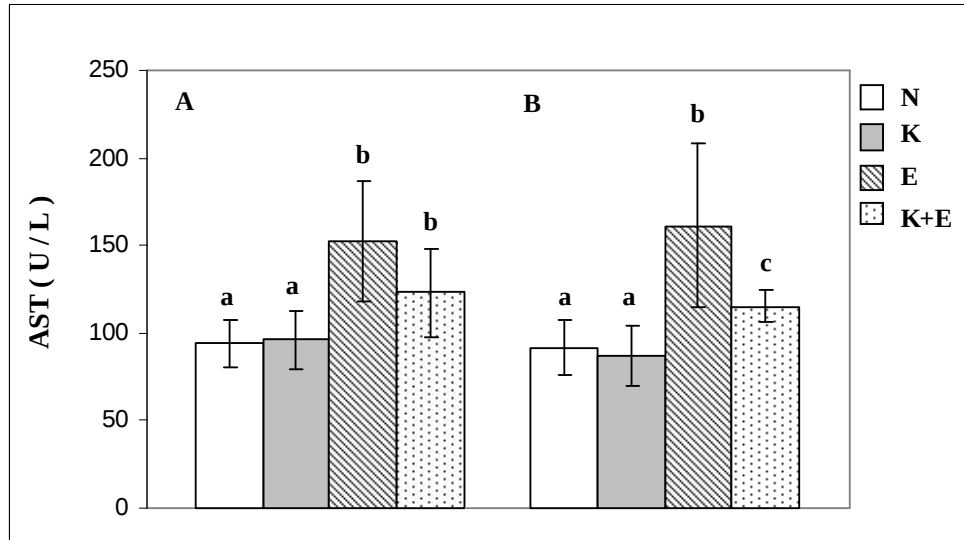
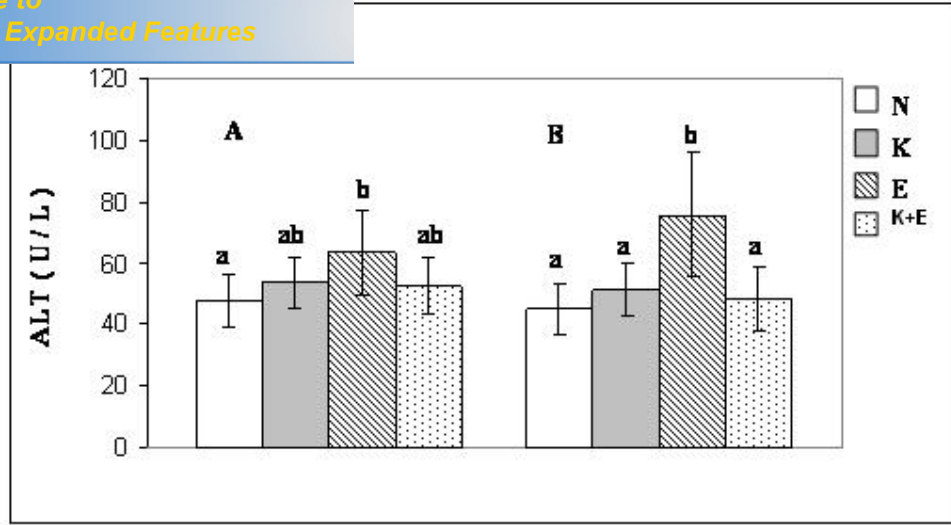
Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

Tablo 4-4: Karnozinin etanol uygulanan seçanlarda karaciğer süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon transferaz (GST) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

	n	SOD (U/mg protein)	GSH-Px ($\text{nmol/dak/mgprotein}$)	GST ($\text{nmol/dak/mgprotein}$)
Normal	8	29.8 $\pm$ 6.80 a	952.6 $\pm$ 131.0 a	611.1 $\pm$ 64.5 a
Karnozin	8	29.4 $\pm$ 3.67 a	892.3 $\pm$ 134.9 ac	553.9 $\pm$ 54.1 ac
Etanol (6. saat)	8	32.1 $\pm$ 3.81 a	760.0 $\pm$ 106.2 bc	499.5 $\pm$ 76.0 bc
Karnozin+Etanol (6. saat)	8	27.7 $\pm$ 3.17 a	746.6 $\pm$ 58.6 b	481.8 $\pm$ 26.7 b
Normal	8	29.0 $\pm$ 6.16 a	943.3 $\pm$ 124.2 a	629.2 $\pm$ 47.2 a
Karnozin	8	28.9 $\pm$ 3.43 a	856.6 $\pm$ 144.5 a	579.8 $\pm$ 60.4 a
Etanol (18. saat)	7	28.9 $\pm$ 4.68 a	1045.6 $\pm$ 152.9 a	510.4 $\pm$ 50.0 b
Karnozin+etanol (18. saat)	6	27.2 $\pm$ 1.05 a	998.2 $\pm$ 244.0 a	603.5 $\pm$ 43.0 a

Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



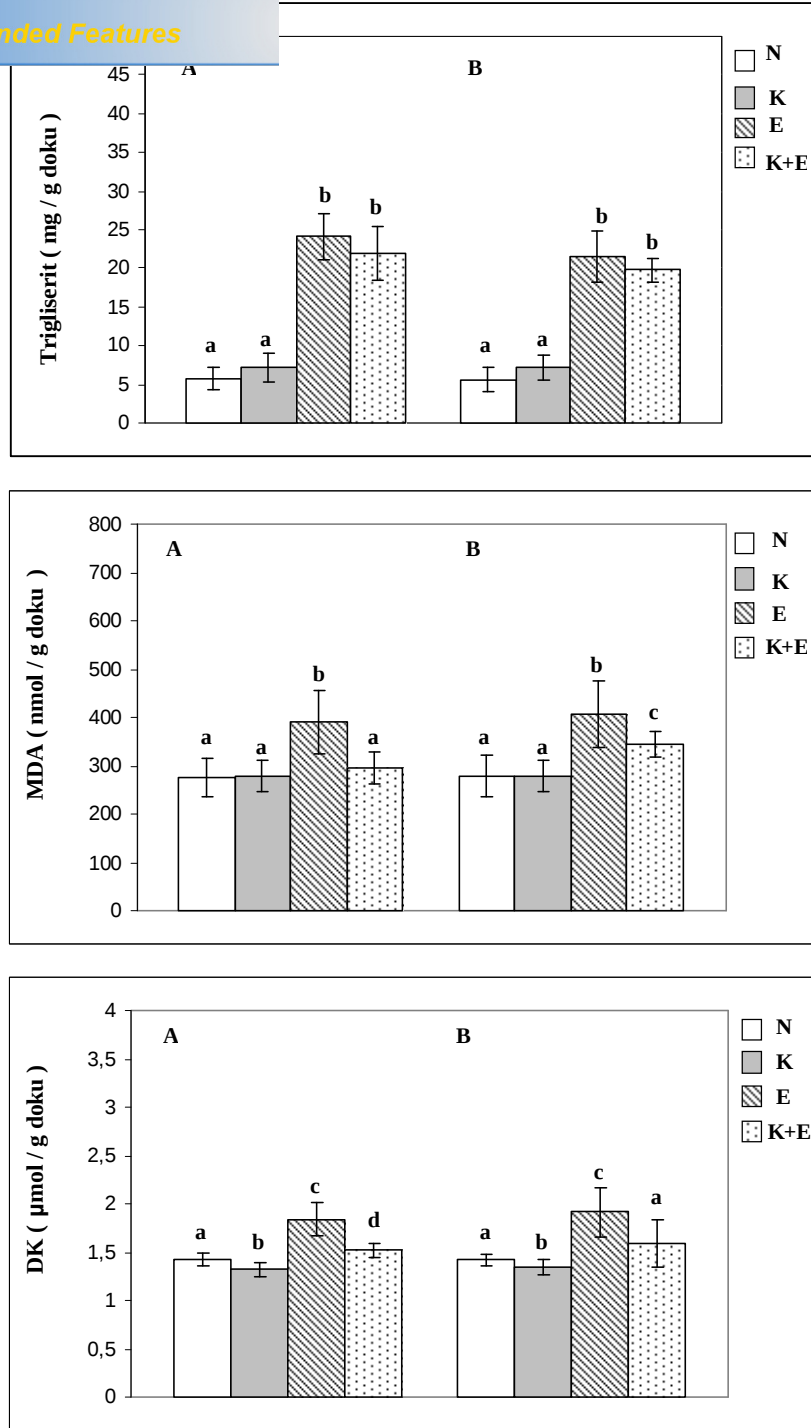
Şekil 4-1: Karnozinin etanol uygulanan seçarlarda serum alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) aktivitelei üzerine etkisi (Ortalama ± SD)

A: Son etanol dozundan 6 saat sonra; B: Son etanol dozundan 18 saat sonra

N: Normal; K: Karnozin; E: Etanol; K+E: Karnozin+etanol

Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



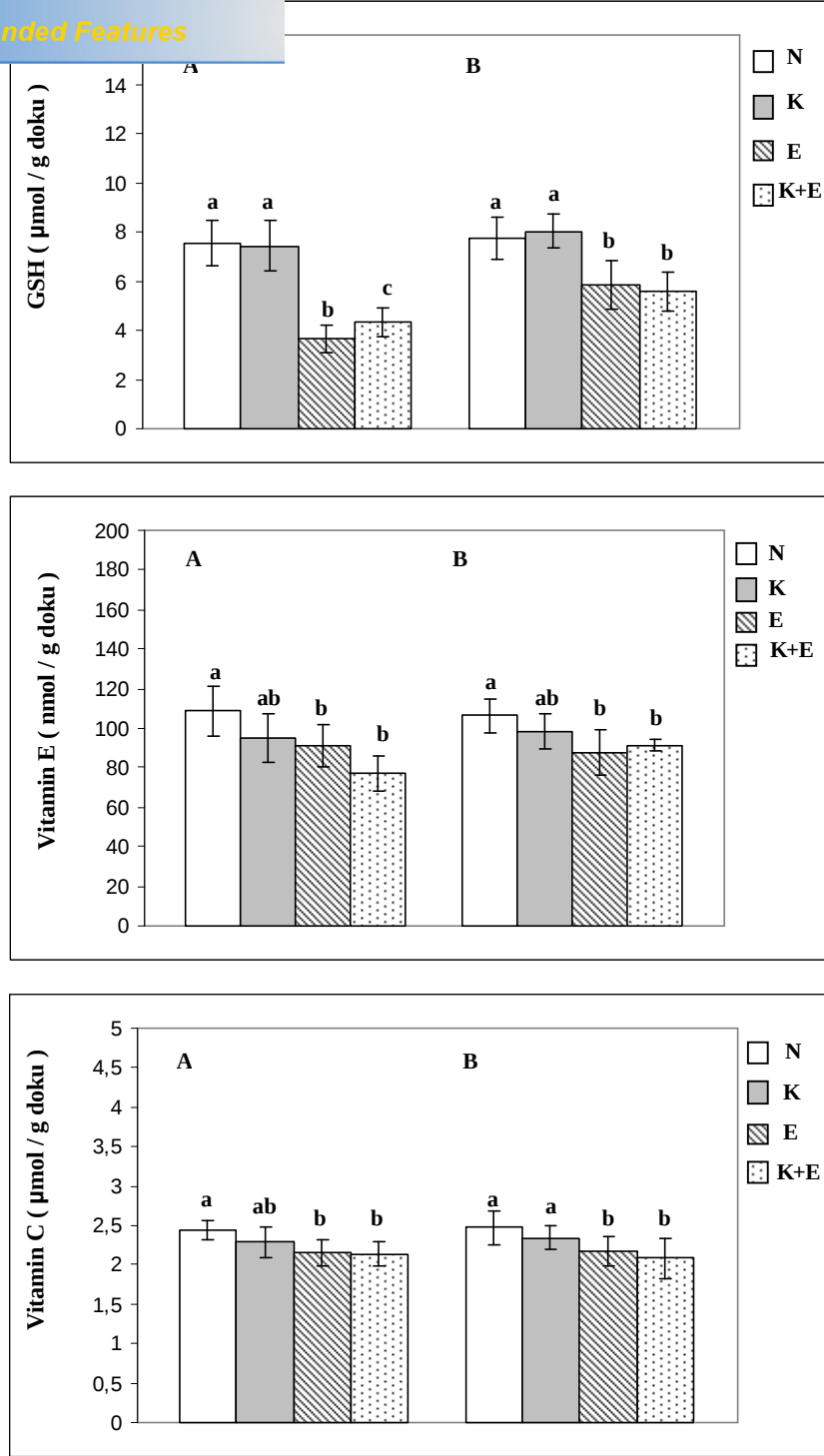
Ėkil 4-2: Karnozinin etanol uygulanan ŗanlarda karaciğer trigliserit, malondialdehit (MDA) ve dien konjugağ(DK) dőzeyleri őzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

A: Son etanol dozundan 6 saat sonra; B: Son etanol dozundan 18 saat sonra

N: Normal; K: Karnozin; E: Etanol; K+E: Karnozin+etanol

Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features



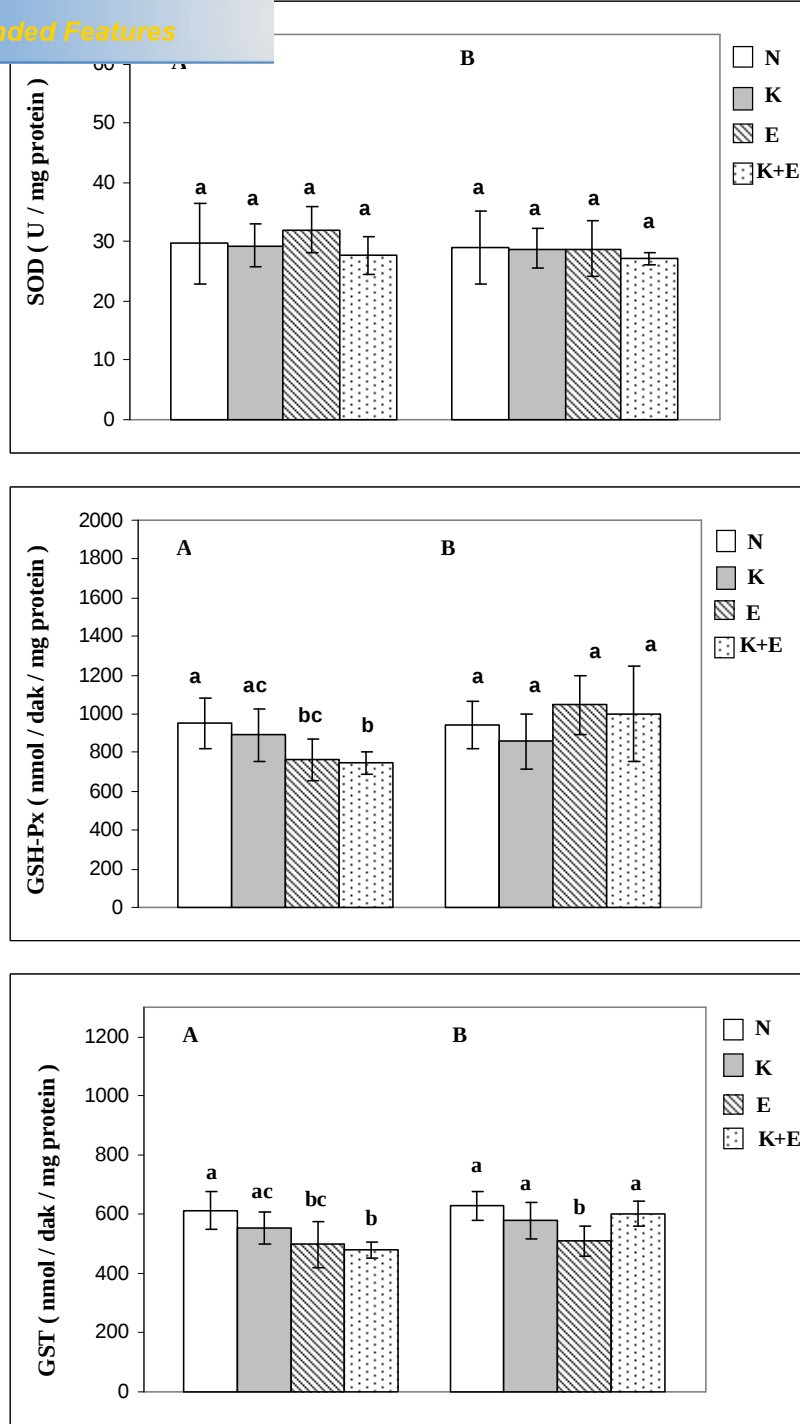
İşkil 4-3: Karnozinin etanol uygulanan seçarlarda karaciğer glutatyon (GSH), vitamin E ve vitamin C düzeyleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

A: Son etanol dozundan 6 saat sonra; B: Son etanol dozundan 18 saat sonra.

N: Normal; K: Karnozinin; E: Etanol; K+E: Karnozinin+etanol

Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features



Şekil 4-4: Karnozinin etanol uygulanan şçanlarda karaciğer süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon transferaz (GST) aktiviteleri üzerine etkisi (Ortalama $\pm$ SD)

A: Son etanol dozundan 6 saat sonra; B: Son etanol dozundan 18 saat sonra.

N: Normal; K: Karnozin; E: Etanol; K+E: Karnozin+etanol

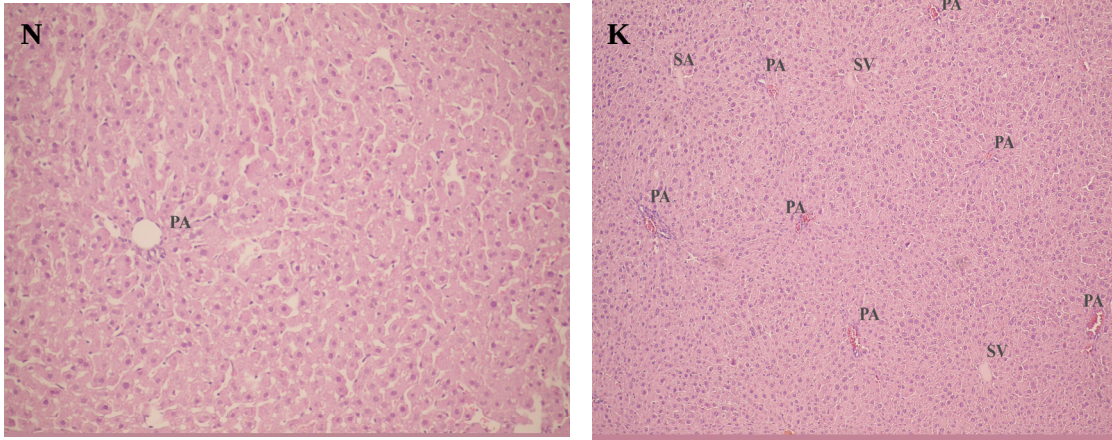
Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (Kruskal-Wallis, post hoc Mann Whitney U-test; $p < 0.05$)

ne Sonuçlarē

a) Normal grupta ve tek başına karnozin uygulanan gruptaki sıçanlarda normal karaciğer yapısı görüldü (Resim 4.2-1)

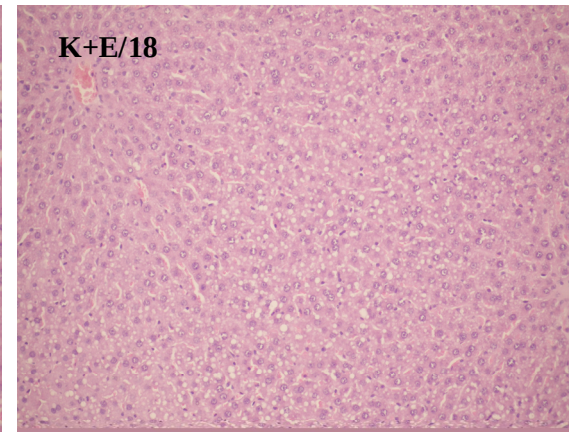
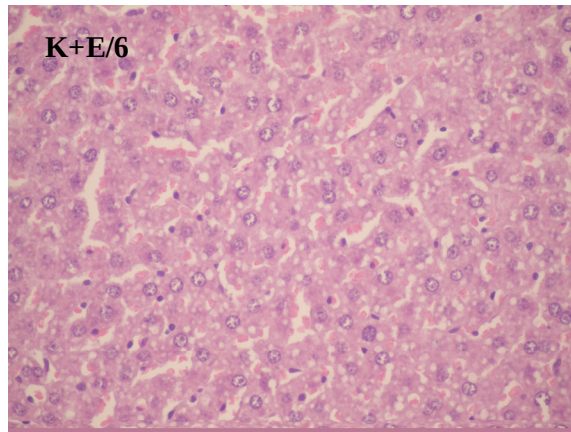
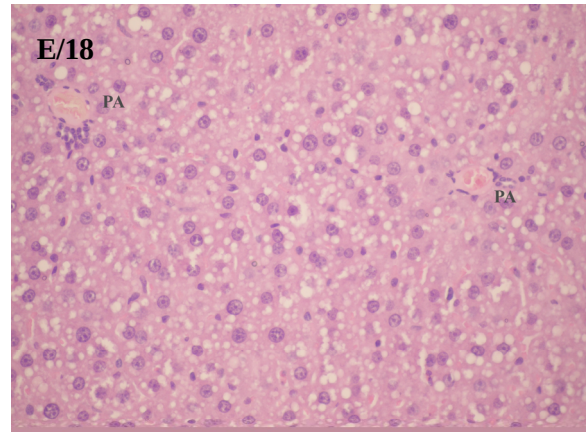
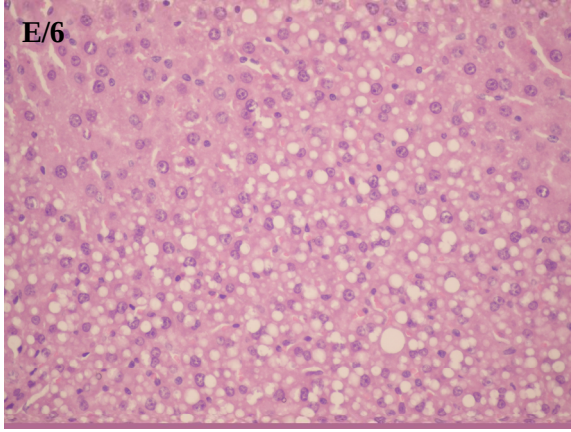
b) Etanol grubunda, son etanol dozundan 6 ve 18 saat sonra öldürülen sıçanların karaciğerleri ışık mikroskobu ile incelendiğinde, hepatositlerde dejenerasyon, portal ve lobüler inflamasyon görülmedi. Makromikroveziküler steatozis saptandı. Steatozis periportal bölgede (zone 1) ve santral ile portal alanlar arasındaki bölgede (zone 2) belirgindi. 6. saatte steatozis daha çok makroveziküler (Resim 4.2-2), 18. saatte ise daha çok mikroveziküler nitelikteydi (Resim 4.2-2).

c) Karnozin+etanol grubunda, son etanol dozundan 6 ve 18 saat sonra öldürülen sıçanlarda, etanol grubunda olduğu gibi hepatositlerde dejenerasyon, portal ve lobüler inflamasyon görülmedi. Makromikroveziküler steatozis saptandı. Steatozis periportal (zone 1) ve santral bölge ile portal bölge arasındaki bölgede (zone 2) belirgindi. Gerek 6. saatte (Resim 4.2-2) ve gerekse 18. saatte (Resim 4.2-2) daha çok mikroveziküler nitelikteydi.



Resim 4.2-1: Normal (N) ve karnozin (K) grubundaki sıçanlarda karaciğerin histopatolojik görünümü

PA: Portal alan; SV: Santral ven; SA: Santral alan



Resim 4.2-2: Etanol (E/6,E/18) ve karnozin+ etanol (K+E/6, K+E/18) gruplarındaki seçanlarda, son etanol dozundan 6 ve 18 saat sonra karaciğerlerin histopatolojik görünümü

PA: Portal alan

5. TARTILMA

Alkolün karaciğerde yol açtığı bozukluklar özellikle gelişmiş toplumlarda çok önemli bir problemdir. Bu nedenle, gerek alkole bağlı karaciğer hasarının patojenezini anlayabilmek ve gerekse bu hasarı önleyebilmek veya azaltabilmek için birçok araştırmacı çalışmaktadır. Bu çerçevede alkole bağlı karaciğer hasarının oluşumunda serbest radikallerin yol açtığı oksidatif stresin rolü uzun yıllardan beri araştırılmaktadır. Alkolün etkisiyle karaciğerde steatozis, hepatit ve siroz olmak üzere üç farklı tablo oluşmaktadır (46,47). Ancak deney hayvanlarında bu tabloları oluşturabilmek son derece güçtür. Alkol verilerek sıçan, fare ve kobay gibi deney hayvanlarında sadece karaciğer yağlanması oluşturulabilmektedir. Kronik etanol çalışmalarında Lieber-De Carli sıvı diyeti gibi alkolün yanı sıra yağ içeriğinin de arttırıldığı özel diyetler kullanılarak insanlardaki alkolik karaciğer hasarına benzer tablolar oluşturulmaya çalışılmaktadır (46,47). Ancak bu model insanlardaki doğal alkol alımına benzemediği için sorgulanmaktadır (36,58).

“Binge model” olarak tanımlanan ve 3-5 kez 10-12 saat ara ile yüksek dozda (3-5 g/kg) etanol uygulanması ile oluşan karaciğer hasarı, gerek alkolik karaciğer hasarının patojenezinin incelenmesi ve gerekse çeşitli koruyucuların denenmesi açısından uygun bir model olarak tanımlanmaktadır (9,18,39,86). Bu modelde karaciğerde bir yağlanma oluşmakta ve prooksidan-antioksidan denge bozulmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda “binge model” kullanılarak karnozinin alkolik karaciğer hasarı üzerine etkisi dişi sıçanlarda araştırıldı. Çalışmamızda dişi sıçanların kullanılmasının nedeni, dişilerin alkole duyarlılıklarının erkeklerden daha fazla olmasıdır. Gerçekten, gerek insanlarda ve gerekse deney hayvanlarında yapılan çalışmalar dişi ve erkeklerin alkole duyarlılıklarının farklı olduğunu göstermiştir (27,34). Dişilerde hormonal etkilerin yanı sıra, etanol metabolizmasının daha hızlı olması, karaciğerde daha yoğun hipermetabolik durum oluşması, karaciğerde fagositoz kapasitesinin daha düşük olması gibi çeşitli faktörlerin etkili olabileceği ileri sürülmektedir (27,34).

Oksidatif stresin varlığını göstermek için değişik metodlar kullanılmaktadır. Bu amaçla prooksidan ve/veya antioksidan sistemdeki değişimler incelenmektedir. Prooksidasyonu belirlemek için en sık kullanılan yöntemler serbest radikallerin lipid, protein ve DNA gibi moleküllerde oluşturduğu değişiklikleri saptamaktır. Lipitlerdeki değişimler genellikle MDA, DK, lipid hidroperoksitleri ve izoprostan, proteinlerdeki hasar

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.
YÜKSEK LİSANS TEZİ

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sert yazı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



YÜKSEK LİSANS TEZİ

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2008

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

ar ise comet testi ve 2-dezoksiguanozin ölçümü ile saptanmaktadır (31). Antioksidan sistemdeki değişimler ise GSH, vitamin E ve vitamin C düzeyleri ile SOD, katalaz, GSH-Px, GST ve glutatyon redüktaz gibi enzim aktivitelerindeki değişimler ölçülerek değerlendirilmektedir (31). Gerçekten, birçok araştırmacı alkolik karaciğer hasarında bu göstergelerdeki değişimleri inceleyerek alkolün oksidatif stres üzerindeki etkilerini belirlemek istemiştir (2-4, 8-10, 36, 42, 43, 49, 54, 68, 76, 78, 80, 85).

Çalışmamızda lipit peroksidasyonunu göstermek için iki farklı yöntem kullanıldı. Bunlardan DK, lipit peroksidasyonunun ilk dönemine ait bir gösterge olup, zar lipitlerinin kimyasal durumu hakkında fikir vermektedir. DK, biyolojik zarlardan ekstre edilen lipitlerde 230-235 nm'de karakteristik absorbands vermektedir (16,31). Buna karşılık MDA, lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olup, tiyobarbitürik asitle (TBA) asit ortamda ve yüksek ısıda (85-100°C) renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu kompleksin absorbandsı 530-535 nm'de okunmaktadır (16,59). TBA-testi lipit peroksidasyonunu ölçmek için en yaygın kullanılan test olmakla birlikte, spesifik olmayışı, pH, ısı, ısıtma zamanı, metal iyonlarının ve atmosferik oksijenin varlığı gibi birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Ek olarak malondialdehitin organizmada birçok doku bileşenleri ile etkileşebilmesi, hızla metabolize olması gibi bazı faktörler de testin olumsuz yönleridir (16,31,59). Bu nedenlerle, lipit peroksidasyon çalışmalarında hiç değilse iki farklı yöntemin birlikte kullanılması daha uygun gözükmemektedir. Buna dayanarak, çalışmamızda lipit peroksit düzeyleri MDA ve DK düzeyleri ölçülerek belirlenmiştir.

Çalışmamızda dişi sıçanlara üç kez 12 saat arayla 5 g/kg etanol uygulandıktan 6 ve 18 saat sonra serumda transaminaz aktiviteleri; karaciğerde trigliserit, MDA ve DK düzeyleri tayin edildi. Antioksidan sistemle ilgili olarak GSH, vitamin E ve C düzeyleri ile SOD, GSH-Px ve GST enzim aktiviteleri saptandı. Ayrıca karaciğerde histopatolojik incelemeler yapıldı. Son etanol uygulamasından sonra 6 ve 18 saat gibi iki farklı zaman diliminin seçilmesinin nedeni alkolün karaciğerde oluşturduğu oksidatif değişimlerin zamana bağlı değişimler gösterebilmesidir. Daha önce akut etanol verilen sıçanlarda karaciğerde prooksidan-antioksidan dengedeki değişimlerin zamanla geri dönüşüm gösterdiği saptanmıştır (43). Ancak çalışmamızda amacımız bu değişimlerin zamanla bağlantısını araştırmak değildir.

Sonuçlarımıza göre 3 doz etanol uygulamasından 6 ve 18 saat sonra serumda ALT ve AST aktivitelerinin ve karaciğerde trigliserit düzeylerinin arttığı bulundu.

incelemelerinde makromikroveziküler steatozis bulundu, ancak hepatositlerde dejenerasyona ve inflamatuvar bulgulara rastlanmadı. Etanol uygulamasından gerek 6 ve gerekse 18 saat sonra yapılan incelemelerde karaciğerde MDA ve DK düzeylerinin arttığı, GSH, vitamin E ve vitamin C düzeylerinin azaldığı saptandı. Karaciğer GSH düzeylerindeki azalmada değişik faktörler rol oynayabilir. Bunlar arasında GSH sentezinde azalma, GSH'un oksidasyonu, asetaldehit ile konjugasyon ve GSH'un kendisini oluşturan aminoasitlere yıkımında artışlar gibi birçok faktör birlikte rol oynayabilir (20,58,77). Vitamin E ve vitamin C düzeylerindeki azalmalar ise karaciğerde oluşan radikal hasarını önlemek için bu vitaminlerin kullanımıyla ilgili olabilir. Öte yandan GSH-Px ve GST aktivitelerindeki azalmalar da GSH düzeylerindeki azalmanın yanı sıra serbest radikallerdeki birikimin enzimler üzerinde yarattığı inhibisyonla ilgili olabilir. Etanol uygulamasından 6 saat sonra SOD aktivitesi değişmediği halde GSH-Px ve GST aktivitelerinde de anlamlı azalmalar bulundu. Buna karşılık etanol uygulamasından 18 saat sonra yapılan incelemelerde SOD ve GSH-Px aktivitesi değişmediği halde, GST aktivitesinde bir azalma saptandı. Bu bulgular etanol uygulamasının karaciğerde prooksidan bir etki oluşturarak prooksidan-antioksidan dengesini etkilediğini açıkça göstermekte ve "binge" modelle yapılan diğer çalışmalarla uyumaktadır (9, 18, 39, 86).

Çalışmamızda karnozin, sıçanlara içme suyunda 2 g/L olacak şekilde 4 hafta süreyle uygulandı. Sıçanlar günde 12-15 ml su içtiklerinden sıçan başına günlük karnozin alımı yaklaşık 24-30 mg, kg başına alım ise yaklaşık 120-150 mg'dır. Bu, karnozinle yapılan sınırlı bazı in vivo çalışmalarda kullanılan miktardır. Gerçekten de, Lee ve ark. (45) karnozini (1 g/L, içme suyunda) 4 hafta süreyle farelere uyguladıklarında karaciğerde karnozin düzeylerinin 2.50 kat arttığını buldular. Akut çalışmalarda ise deney hayvanlarına karnozin genellikle 150-250 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde periton içi yolla uygulanmıştır. Çalışmamızda karnozin düzeyleri tayin edilmemesine rağmen, bu verilerin ışığında karnozin uyguladığımız sıçanların dokularında karnozin düzeylerinde belirgin bir artış olduğu söylenebilir.

Giriş bölümünde de belirtildiği gibi, karnozinle yapılan in vivo çalışmalar çok sınırlıdır (26,45,48,51). Lee ve ark. (45) yaptıkları çalışmada karnozin uygulamasının diyabetik farelerde bozulmuş olan prooksidan-antioksidan dengesini, hiperglisemi, hiperlipidemi ve inflamasyonu düzelttiğini bulmuşlardır. Literatürde bilebildiğimiz kadarıyla karnozinin in vivo uygulamasının karaciğer hasarı üzerine etkisini araştıran çok az çalışma bulunmaktadır (26,48,51). Fouad ve ark. (26) iskemi-reperfüzyon karaciğer

ci etkilere sahip olduğunu ve bir profilaktik ajan olarak yararını olabileceğini bildirmişlerdir. Mehmetçik ve ark. (51) da tiyoasetamitle oluşturdukları akut karaciğer hasarında karnozin uygulamasının güçlü bir koruyucu etki oluşturduğunu saptamışlardır. 2008 yılında yayınlanan bir çalışmada Liu ve ark. (48) ise, 4 hafta süreyle ortalama günde 3 g/kg dozuyla etanol uygulayarak farelerde alkolik karaciğer hasarı oluşturmuşlar ve daha sonra 3 hafta süreyle karnozin (0.5 ve 1g/L; içme suyunda) uygulandığında ALT ve AST aktivitelerinin azaldığını, karaciğerde prooksidan-antioksidan dengenin ve inflamasyonun düzeldiğini bildirilmişlerdir. Bu çalışmada karaciğerde histopatolojik inceleme yapılmamış, trigliserit düzeyleri tayin edilmemiştir. Çalışmamızda karnozin ön uygulamasının “binge model” etanol uyguladığımız sıçanlarda 6 ve 18 saat sonra yapılan incelemelerde farklı bazı sonuçlar bulunmakla birlikte genel olarak karaciğerde lipit peroksit düzeylerini azalttığı, GSH düzeylerini arttırdığı, serum transaminaz aktivitelerini azalttığı bulunmuştur. Karnozin ön uygulaması, etanol etkisiyle diğer antioksidan parametrelerde gözlenen değişiklikler üzerinde herhangi bir etki oluşturmamıştır. Aynı şekilde, karnozin etanol etkisiyle karaciğerde artmış olan trigliserit düzeylerinde de anlamlı bir azalma oluşturmamıştır. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde karnozin+etanol grubu ile etanol grubundaki sıçanlar arasında bir fark da bulunamamıştır.

Sonuç olarak, “binge model” ile alkolik karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda karnozin ön uygulaması serum transaminaz aktivitelerinde bir azalma ve karaciğerde prooksidan-antioksidan dengede kısmi bir düzelme oluşturmasına rağmen, karaciğerde alkolik steatozis ve histopatolojik bulgularda bir değişiklik oluşturmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Aldini G, Facino RF, Beretta G, Carini M. Carnosine and related dipeptides as quenchers of reactive carbonyl species: From structural studies to therapeutic perspectives. *Biofactors* 2005; 24: 77-87.
2. Aleynik SI, Leo Ma, Aleynik MK, Lieber CS. Increased circulating products of lipid peroxidation in patients with alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 192-196.
3. Aydın S, Ozaras R, Uzun H, Belce A, Uslu E, Tahan V, Altug T, Dumen E, Senturk H. N-acetylcysteine reduced the effect of ethanol on antioxidant system in rat plasma and brain tissue. *Tohoku J Exp Med* 2002; 198: 71-77.
4. Aykaç G, Uysal M, Yalçın S, Koçak-Toker N, Sivas A, Öz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 1985; 36: 71-76.
5. Babizhayev MA, Yermakova VN, Semiletov YA, Deyev AI. The natural histidine-containing dipeptide alpha-acetylcarnosine as an antioxidant for ophthalmic use. *Biochemistry (Mosc)* 2000; 65: 588-598.
6. Bailey SM. A review of the role of reactive oxygen and nitrogen species in alcohol-induced mitochondrial dysfunction. *Free Radic Res* 2003; 37: 585-596.
7. Balkan J, Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı Ö, Çevikbaş U, Aykaç-Toker G, Uysal M. Taurine has protective effect against thioacetamide-induced liver cirrhosis by decreasing oxidative stress. *Human Exp Toxicol* 2001; 20: 251-254.
8. Balkan J, Kanbağlı Ö, Aykaç-Toker G, Uysal M. Taurine treatment reduces hepatic lipids and oxidative stress in chronically ethanol treated rats. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1231-1233.
9. Balkan J, Öztezcan S, Küçük M, Çevikbaş U, Koçak-Toker N, Uysal M. The effect of betaine treatment on triglyceride levels and oxidative stress in the liver of ethanol-treated guinea pigs. *Exp Toxicol Pathol* 2004; 55: 505-509.
10. Balkan J, Vural P, Öztezcan S, Mirsal H, Beyazyürek M, Aykaç-Toker G, Uysal M. Increased LDL+VLDL oxidizability and plasma homocysteine levels in chronic alcoholic patients. *J Nutr Sci Vitaminol* 2005; 51: 99-103.
11. Barak AJ, Beckenhauer HC, Tuma DJ. Betaine, ethanol, and the liver: A review. *Alcohol* 1996; 13: 395-398.

12. Beutler E, Toro G. Clinical Laboratory Methods. CV Mosby Company, Saint Louis, 1974; 136-138.
13. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med 1979; 61: 882-888.
14. Boldyrev AA. Problems and perspectives in studying the biological role of carnosine. Biochemistry (Mosc) 2000; 65: 751-756.
15. Boldyrev AA. Protection of proteins from oxidative stress. Ann NY Acad Sci 2005; 1057: 1-13.
16. Buege JA, Aust JD. Microsomal lipid peroxidation. Method Enzymol 1978; 52: 302-310.
17. Cahill A, Cunningham CC, Adachi M, Ishii H, Bailey SM, Fromenty B, Davies A. Effects of alcohol and oxidative stress on liver pathology: the role of the mitochondrion. Alcohol Clin Exp Res 2002; 26: 907-915.
18. Carmiel-Haggai M, Cederbaum AI, Nieto N. Binge ethanol exposure increases liver injury in obese rats. Gastroenterology 2003; 125: 1818-1833.
19. Cheng JI, Kaplowitz N. Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress and liver injury in alcohol-fed mice. Gastroenterology 2003; 124: 1488-1499.
20. Das SK, Vasudevan DM. Alcohol-induced oxidative stress. Life Sci 2007; 81: 177-187.
21. De la Rosa LC, Moshage H, Nieto N. Hepatocyte oxidant stress and alcoholic liver disease. Rev Esp Enferm Dig 2008; 100: 156-163.
22. Desai DI. Vitamin E analysis methods for animal tissues. Method Enzymol 1984; 105: 138-147.
23. Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı Ö, Balkan J, Çevikbaş U, Aykaç-Toker G, Uysal M. The protective effect of taurine against thioacetamide hepatotoxicity of rats. Hum Exp Toxicol 2001; 20: 23-27.
24. Donohue TM Jr. Alcohol-induced steatosis in liver cells. World J Gastroenterol 2007; 13: 4974-4978.
25. Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957; 226: 497-509.

- AA, Maghraby HK. The hepatoprotective effect of carnosine against ischemia/reperfusion liver injury in rats. *Eur J Pharmacol* 2007; 572: 61-68.
27. Gemma S, Vichi S, Testai E. Individual susceptibility and alcohol affects: biochemical and genetic aspects. *Ann Ist Super Sanita* 2006; 42: 8-16.
28. Götz ME, Janetzky B, Pohli S, Gottschalk A, Gsell W, Tatscher T, Ransmayr G, Lehuber F, Gerlach M, Reichmann H, Riederer P, Böning J. Chronic alcohol consumption and cerebral indices of oxidative stress: Is there a link? *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 717-725.
29. Guiotto A, Calderan A, Ruzza P, Borin G. Carnosine and carnosine-related antioxidants: a review. *Curr Med Chem* 2005; 12: 2293-2315.
30. Habig WH, Jacoby WB. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Method Enzymol* 1981; 77: 398-405.
31. Halliwell B and Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Sci Publ, Oxford, 1999.
32. Hipkiss AR. Could carnosine or related structures suppress Alzheimer's Disease? *J Alzheimers Dis* 2007; 11: 229-240.
33. Hipkiss AR. Would carnosine or a carnivorous diet help suppress aging and associated pathologies? *Ann NY Acad Sci* 2006; 1067: 369-374.
34. Iimuro Y, Frankenberg MV, Arteel GE, Bradford BU, Wall CA, Thurman RG. Female rats exhibit greater susceptibility to early alcohol-induced liver injury than males. *Am J Physiol* 1997; 272: G1186-G1194.
35. Ishii H, Kurose I, Kato S. Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: S272-S282.
36. Kanbağlı Ö, Balkan J, Aykaç-Toker G, Uysal M. Hepatic mitochondrial prooxidant and antioxidant status in ethanol-induced liver injury in rats. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1482-1484.
37. Kannan M, Wang L, Kang YJ. Myocardial oxidative stress and toxicity induced by acute ethanol exposure in mice. *Exp Biol Med* 2004; 229: 553-559.
38. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology: Sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases. In: Frei B (ed). *Natural Antioxidants in Human Health and Disease*. Academic Press, San Diego 1994: 25-62.

39. Y, Kim YC. Alleviation of acute ethanol-induced liver injury and impaired metabolomics of S-containing substances by betaine supplementation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 368: 893-898.
40. Klaassen CD. Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons. 6th Edition. McGraw –Hill Med Publ Div, New York, 2001.
41. Knight TR, Kurtz A, Bajt ML, Hinson JA, Jaeschke H. Vascular and hepatocellular peroxynitrite formation during acetaminophen toxicity: role of mitochondrial oxidant stress. *Toxicol Sci* 2001; 62: 212-220.
42. Koçak-Toker N, Uysal M, Aykaç G, Sivas A, Yalçın S, Öz H. Influence of acute ethanol administration on hepatic glutathione peroxidase and glutathione transferase activities in the rat. *Pharmacol Res Commun* 1985; 17: 233-239.
43. Koçak-Toker N, Uysal M, Aykaç G, Yalçın S, Sivas A and Öz H. Effect of acute ethanol intoxication on the liver lipid peroxide and glutathione levels in the rat. *IRCS Med Sci* 1983; 11: 915-916.
44. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium–deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952-958.
45. Lee Y, Hsu C, Lin M, Yin M. Histidine and carnosine delay diabetic deterioration in mice and protect human low density lipoprotein against oxidation and glycation. *Eur J Pharmacol* 2005; 513: 145-150.
46. Lieber CS. Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments. *J Hepatol* 2000; 32: 113-128.
47. Lieber CS. Alcoholic liver injury: pathogenesis and therapy in 2001. *Pathol Biol* 2001; 49: 738-752.
48. Liu W, Liu T, Yin M. Beneficial effects of histidine and carnosine on ethanol-induced chronic liver injury. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 1503-1509.
49. Masalkar PD, Abhang SA. Oxidative stress and antioxidant status in patients with alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta* 2005; 355: 61-65.
50. McDonough KH. Antioxidant nutrients and alcohol. *Toxicology* 2003; 189: 89-97.
51. Mehmetçik G, Özdemirler G, Koçak-Toker N, Çevikbaş U, Uysal M. Role of carnosine in preventing thioacetamide-induced liver injury in the rat. *Peptides* 2008; 29: 425-429.

- on S, Guidot DM, Lang CH, Wands JR, Crawford JM. Mechanisms of alcohol-induced tissue injury. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27: 563-575.
53. Molina PE, McClain C, Valla D, Guidot D, Diehl AM, Lang CH, Neuman M. Molecular pathology and clinical aspects of alcohol-induced tissue injury. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 120-128.
54. Mutlu-Türkoğlu Ü, Doğru-Abbasoğlu S, Aykaç-Toker G, Mirsal H, Beyazyürek M, Uysal M. Increased lipid and protein oxidation and DNA damage in patients with chronic alcoholism. *J Lab Clin Med* 2000; 136: 287-291.
55. Mylorie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 82: 512-520.
56. Nagasawa T, Yonekura T, Nishizawa N, Kitts DD. In vitro and in vivo inhibition of muscle lipid and protein oxidation by carnosine. *Mol Cell Biochem* 2001; 225: 29-34.
57. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 15-32.
58. Nordmann R, Ribiere C, Rouach H. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radical Biol Med* 1992; 12: 219-240.
59. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
60. Omaye ST, Turnbull JD, Sauberlich HE. Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids. *Method Enzymol* 1979; 62: 3-8.
61. Özdemirler G, Aykaç G, Uysal M, Öz H. Liver lipid peroxidation and glutathione-related defence enzyme systems in mice treated with paracetamol. *J Appl Toxicol* 1994; 14: 297-299.
62. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: what for? Part I. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10: 1-27.
63. Portari GV, Jordão Júnior AA, Meirelles MS, Marchini JS, Vannucchi H. Effect of beta-carotene supplementation on rats submitted to chronic ethanol ingestion. *Drug Chem Toxicol* 2003; 26: 191-198.

- avies MJ. Carnosine and its constituents inhibit glycation of low-density lipoproteins that promotes foam cell formation in vitro. *FEBS Lett* 2007; 581: 1067-1070.
65. Seçkin Ş, Koçak-Toker N, Uysal M, Öz B. The role of lipid peroxidation and calcium in galactosamine induced toxicity in the rat liver. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1993; 80: 117-120.
66. Shim KS, Kim SB, Na CS, Park GH. Supplementation of taurine and β -cyclodextrin to mice administered ethanol stores lipid metabolism and damaged liver. *Nutr Res* 2007; 27: 241-244.
67. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 1985; 150: 76-85.
68. Song Z, Zhou Z, Chen T, Hill D, Kang J, Barve S, McClain C. S-Adenosylmethionine (SAME) protects against acute alcohol induced hepatotoxicity in mice. *J Nutr Biochem* 2003; 14: 591-597.
69. Southorn PA. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 381-389.
70. Southorn PA. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 390-408.
71. Sun AY, Ingelman-Sundberg M, Neve E, Matsumoto H, Nishitani Y, Minowa Y, Fukui Y, Bailey SM, Patel VB, Cunningham CC, Zima T, Fialova L, Mikulikova L, Popov P, Malbohan I, Janebova M, Nespor K, Sun GY. Ethanol and oxidative stress. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 237S-243S.
72. Sun F, Hamagawa E, Tsutsui C, Sakaguchi N, Kakuta Y, Tokumaru S, Kojo S. Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by D-galactosamine in rat liver. *Biochem Pharmacol* 2003; 65: 101-107.
73. Sundari PN, Wilfred G, Ramakrishna B. Does oxidative protein damage play a role in the pathogenesis of carbon tetrachloride-induced liver injury in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1362: 169-176.
74. Tsukamoto H, Lu SC. Current concepts in the pathogenesis of alcoholic liver injury. *FASEB J* 2001; 15: 1335-1349.
75. Uysal M. Serbest radikaller, lipit peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 336-341.

76. Koçak-Toker N, Sivas A, Yalçın S and Öz H. Lipid peroxidation in liver, plasma and erythrocytes of rats chronically treated with ethanol. *Biochem Med* 1985; 34: 370-372.
77. Uysal M, Aykaç G, Koçak-Toker N, Yalçın S, Sivas A and Öz H. The in vitro conjugation of acetaldehyde with glutathione, cysteine and mercaptopyrionylglycine. *IRCS Med Sci* 1983; 11: 879.
78. Uysal M, Bulur H, Erdine-Demirelli S and Demiroğlu C. Erythrocyte and plasma lipid peroxides in chronic alcoholic patients. *Drug Alcohol Depend* 1986; 18: 385-388.
79. Uysal M, Kutalp G, Özdemirler G and Aykaç G . Ethanol-induced changes in lipid peroxidation and glutathione content in rat brain. *Drug Alcohol Depend* 1989; 23: 227-230.
80. Uysal M, Özdemirler G, Kutalp G and Öz H. Mitochondrial and microsomal lipid peroxidation in rat liver after acute acetaldehyde and ethanol intoxication. *J Appl Toxicol* 1989; 9: 155-158.
81. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
82. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 342-346.
83. Yalçın AS, Koçak-Toker N, Uysal M, Aykaç G, Sivas A, Öz H. Stimulation of lipid peroxidation and impairment of glutathione-dependent defence system in the liver of rats repeatedly treated with carbon tetrachloride. *J Appl Toxicol* 1986; 6: 303-306.
84. Yu BP. Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994; 74: 139-162.
85. Zima T, Fialová L, Mestek O, Janebová M, Crkovská J, Malbohan I, Stípek S, Mikulíková L, Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. *J Biomed Sci* 2001; 8: 59-70.
86. Zhou Z, Sun X, Kang YJ. Metallotionein protection against alcoholic liver injury through inhibition of oxidative stress. *Exp Biol Med* 2002; 227: 214-222.

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 38

07.11.2007

İlgili Makama

İ. Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Müjdat Uysal'ın yürüttüğü, B. Cüneyt Artun'a ait "Karnozin uygulamasının sıçanlarda siroz oluşumu üzerine etkisinin incelenmesi" isimli proje Etik Kurulun 07.11.2007 tarihli toplantısında 25/2007 Karar No.su ile kabul edilmiştir.

Gereği için bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mehmet KAYA

İ. Ü. Hayvan Deneyler Yerel Etik

Kurul Başkanı



TC
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdürüğü



Sayı : B.30.2.İST.O.A.1.00.00/2313
Konu: Tez başlığı değişikliği hk.

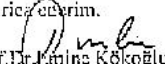
16.05.2008

Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı'na,
İstanbul Tıp Fakültesi

İlgi: 08.05.2008 tarihli 163 sayılı yazınız ve ekleri.

Anabilim Dalımızda 2006-2007 öğretim yılı güz yarısında başladığı Yüksek Lisans eğitimine Prof.Dr.Müjdat Uysal'ın danışmanlığı altında devam eden 4419 no'lu Cüneyt Basri Arton hakkındaki ilgi yazınız ve dosyası Yönetim Kurulumuzun 13.05.2008 tarihli 19 sayılı toplantısında incelenmiş, aklı geçen öğrencinin Yönetim Kurulumuzun 13.11.2007 tarihli 45 sayılı toplantısında kabul edilen "Karnozin Uygulamasının Sıçanlarda Siroz Oluşunu Üzerine Etkisinin İncelenmesi" başlıklı tez konusunun "Karnozin Uygulamasının Sıçanlarda Alkolle Bağlı Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi" olarak değiştirilmesine karar verilmiştir.

Danışman öğretim üyesine ve öğrenciye duyurulmasını saygılarımla rica ederim.


Prof.Dr. Emin Kökoğlu
Müdür

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Basri Cüneyt	Soyadı	Artun
Doğ.Yeri	Şişli	Doğ.Tar.	3.8.1982
Uyruğu	Türk	TC Kim No	54523415582
Email	cuneyt.artun@boun.edu.tr	Tel	05435051256

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Lisans	Boğaziçi Üniversitesi	2006
Lise	Mef Okulları	2000

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma *	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi
Fransızca	Orta	Orta	Orta

	Sayısal	Elit Akademi	Sözel
ALES Puanı	95.113	91.788	87.588

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok iyi
C/C++	Orta

Yayınları, Tebliği, Sertifikaları, Ödülleri

Boğaziçi Üniversitesi	Başarı Bursu
Mef Okulları	Öğrenim Bursu
Ar-El Koleji	Öğrenim Bursu

Özel ilgi Alanları (Hobileri):

Tenis, masa tenisi, basketbol, seyahat etmek, tiyatro, akıl oyunları