

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ETANOLA MARUZ KALAN RAT DOKULARINA SİYAH HAVUÇ
EKSTRAKTININ ETKİSİ**

ERTUĞRUL ÇETİN

KİMYA ANABİLİM DALI

ADYAMAN, 2019

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETANOLA MARUZ KALAN RAT DOKULARINA SİYAH HAVUÇ
EKSTRAKTININ ETKİSİ**

Ertuğrul ÇETİN

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Bu tez 25/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA
Danışman

Prof. Dr. Erol ASİLTÜRK
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hasan KARADAĞ
Üye

Prof. Dr. Murat KOCA
Enstitü Müdür V.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ETANOLA MARUZ KALAN RAT DOKULARINA SİYAH HAVUÇ EKSTRAKTININ ETKİSİ

Ertuğrul ÇETİN

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA
Yıl: 2019, Sayfa sayısı: IX+25

Jüri : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA
Prof. Dr. Erol ASILTÜRK
Dr. Öğr. Üyesi Hasan KARADAĞ

Siyah havuç suyunda birçok polifenol bileşik vardır. Bu bileşiklerin antioksidan ve antikansorejen etkileri bilinmektedir. Bu çalışmada sıçanlarda etil alkol ile oluşturulan oksidatif strese karşı siyah havuç suyunun koruyucu etkisini araştırmak amaçlandı. Çalışma için, kontrol grubu (K), etil alkol (E) grubu, siyah havuç suyu (S) grubu ve etil alkol + siyah havuç suyu (ES) grubu olmak üzere dört farklı grup oluşturuldu. Sıçanların karaciğer, beyin ve testis dokularında MDA, redükte GSH, GSH-Px, katalaz, Fe, Ca ve Zn düzeyleri belirlendi. Tüm dokularda, E grubu MDA düzeyleri diğer gruplara göre arttı. Siyah havuç'un etkisiyle kombinasyonlu grupların MDA düzeyleri, Etil alkol gruplarına göre azaldı. Karaciğer ve testis örneklerinde, E grubu GSH düzeyi K grubuna göre azaldı. Karaciğer ve testis örneklerinde, E grubu GSH-Px aktiviteleri Kontrol grubuna göre azaldı. Siyah havuç'un etkisiyle ES grupların karaciğer ve testis dokuları GSH-Px enzim aktiviteleri E grubuna göre arttı. Testis dokusunda Ca ve Fe düzeyleri E grubunda yüksek çıkarken Zn düzeyinin azaldığı tespit edildi. Etil alkol karaciğer dokusunda Fe düzeyini arttırırken Ca düzeyini azalttı. Sonuçlarımıza göre etil alkolün oluşturduğu oksidatif stresi siyah havuç suyu azaltmıştır.

Anahtar Kelimeler: Siyah havuç; MDA; Mineral; Enzim aktivitesi

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECT OF BLACK CARROT EXTRACT TO RAT TISSUES INDUCED ETHANOL

Ertuğrul ÇETİN

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Year: 2019, Number of pages: IX+25

Jury : Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Prof. Dr. Erol ASILTÜRK
Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ

There are many polyphenol compounds in black carrot juice. The antioxidant and anticancer effects of these compounds are known. In this study, it was aimed to investigate the protective effect of black carrot juices against oxidative stress produced by ethyl alcohol in rats. For the study, four different groups as control group (C), ethyl alcohol (E) group, black carrot juices (S) group and ethyl alcohol + black carrot juices (ES) group were formed. MDA, reduced GSH, GSH-Px, catalase, Fe, Ca and Zn levels were determined in the liver, brain and testis of rats. In all tissues, the MDA levels of E group increased when compared to the other group. By the effects of black carrot, the MDA levels in the combination groups decreased when compared to Ethyl alcohol groups. In the liver and testis tissues samples, GSH levels of E group was decreased than K group. In the liver and testis samples, GSH-Px activities of E group decreased when compared to the K group. By the effects of black carrot in the liver and testis tissues, GSH-Px enzyme activities of ES groups increased when compared to the E group. Testicular tissues Ca and Fe levels were high in group E, but decreased in Zn levels. Ethyl alcohol decreased the Ca level while increasing the Fe level in liver tissue. According to our results; black carrot juice reduced the oxidative stress caused by ethyl alcohol.

Key Words: Black carrot; MDA; Mineral; Enzyme activity

DESTEKLER

Bu tez çalışması Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından Proje No: FEFYL/2015-0004 numaralı proje ile desteklenmiştir.



BEYAN

“Etanola Maruz Kalan Rat Dokularına Siyah Havuç Ekstraktının Etkisi” başlıklı tezimde çalışmaların tamamen akademik kurallara ve etik değerlere sadık kalınarak yürütüldüğünü ve yazımda yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ayrıca alıntılardan bilimsel etiğe uygun atıf yaparak yararlanmış olduğumu beyan ederim.

Ertuğrul ÇETİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim esnasında engin bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen ve çalışmalarım boyunca desteğinden ve gösterdiği yakın ilgiden dolayı Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca benden yardımlarını esirgemeyen tüm Kimya Bölümü hocalarına da teşekkür ederim. Yüksek lisans çalışmalarım esnasında bana maddi manevi desteğini esirgemeyen hayat arkadaşım Hatice ÇETİN'e ve kızım Gökçe Şeyma' ya sonsuz şükranlarımı sunarım. Tez çalışmamın finansmanını sağlayan Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Ertuğrul ÇETİN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
DESTEKLER.....	III
BEYAN.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Alkol.....	2
2.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	3
2.3. Siyah Havucun Biyokimyasal Özellikleri	3
2.4. GSH.....	4
2.5. Glutasyon Peroksidaz	5
2.6. Katalaz.....	5
2.7. MDA	6
2.8. Minerallerin Genel Özellikleri	6
2.8.1. Kalsiyum	6
2.8.2. Demir	7
2.8.3. Çinko	7
2.9. Çalışmanın Amacı.....	8
3. MATERYAL ve METOD.....	9
3.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler	9
3.2. İnceleme Materyali.....	9
3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar	9
3.4. Deney Hayvanları.....	9
3.5. Lipit Peroksidasyon Tayini	10
3.6. Dokularda Katalaz Enzim Aktivitesi Tayini	11
3.7. Dokularda GSH-Px Enzim Aktivitesi Tayini.....	11
3.8. Dokularda GSH Tayini	11
3.9. Element Analizi.....	12
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	13
5. BULGULAR	14
6. TARTIŞMA	17
KAYNAKLAR	20
KİŞİSEL BİLGİLER	25

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 5.1 Karaciğer dokusu MDA, GSH ve enzim aktivite düzeyleri	14
Çizelge 5.2 Karaciğer dokusu mineral düzeyleri	14
Çizelge 5.3 Testis dokusu MDA, GSH ve enzim aktivite düzeyleri.....	15
Çizelge 5.4 Testis dokusu mineral düzeyleri	15
Çizelge 5.5 Beyin dokusu MDA, GSH ve enzim aktivite düzeyleri.....	16
Çizelge 5.6 Beyin dokusu mineral düzeyleri	16



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Glutatyonun genel formülü.....	5
--	---



SİMGELER VE KISALTMALAR

CAT	: Katalaz
Cu	: Bakır
Ca	: Kalsiyum
Co	: Kobalt
Fe	: Demir
GSH	: Glutasyon
GSH-P _x	: Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutasyon
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCL	: Hidroklorik Asit
K	: Potasyum
MDA	: Malondialdehit
Na	: Sodyum
P	: Fosfor
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Trikloro Asetik Asit
TCA	: Thiobarbiturik Asit

1. GİRİŞ

Etil alkol dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Dünyada 2 milyar civarında alkol tüketimi yapan insan mevcuttur ve 80 milyon civarı insan alkol kullanımı sonucunda hastalığa yakalandığı rapor edilmiştir [1]. Etil alkol kullanımı sonucunda metabolizmada ciddi hasarlar oluşturmaktadır. Özellikle karaciğer dokusunda ve eritrositlerde dejenerasyona yol açar [2]. Alkol kullanımı sonucunda solunum ve sindirim sistemi kanserleri oluşturur [3]. Kronik alkol kullanımı metabolizmanın birçok dokusunda serbest radikal üretimini artırır. Bu radikaller hücrenin yapısını oluşturan lipid, protein ve DNA ile etkileşerek yapılarının bozulmasına neden olur [4]. Alkolün en önemli etkilerinden biri de karaciğerde siroz oluşumuna neden olmasıdır [5]. Siyah havuç içerisinde birçok flavonoid türevli madde vardır. Özellikle karotenoidler, antosiyaninler gibi moleküller mevcuttur. Bu tür bileşiklerin metabolizmada antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser gibi birçok etkileri mevcuttur [6].

Bu tez çalışmasında kronik düzeyde etil alkol verilen rat dokularında siyah havuç suyunun biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alkol

Alkol (Etil alkol) kullanımı insanlarda bağımlılık yapmaktadır. Dünya sağlık örgütüne göre, dünyada 2,3 milyar insan alkol tüketmekte ve yaklaşık 75 milyon kişi alkole bağlı karaciğer hastalığına yakalanmıştır [7]. Alkolik karaciğer hastalığı, içmeye bağımlı insanlar arasında dünya çapında yaygın bir hastalıktır [8]. Etil alkol alımından sonra mide, kan ve karaciğer hücrelerini birinci derecede etkilemektedir. En önemli etki karaciğerde meydana gelir. Bu dokuda oluşan asetaldehit kanda yaygınlaşır ve kan eritrositlerini olumsuz etkiler [2]. Karaciğerde etil alkol alkoldehidrogenaz enzimleri tarafından asetaldehite çevrilir [9]. Kronik etil alkol kullanımının en önemli etkilerinden biri de hücrelerde reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretilmesine neden olmaktadır [10]. Oluşan ROT protein, lipit ve DNA ile reaksiyona girerek yapıların bozulmasına yol açar. Ayrıca hücre içerisinde savunmada rol oynayan hücre antioksidan seviyelerinde azalmasına yol açmaktadır [4]. Yapılan çalışmalarda etil alkolün zihinsel performansı bozduğu bildirilmiştir. Beyin bariyer sistemini çok kolay geçen etil alkol bu dokuda toksit etki oluşturur [11]. Etil alkolün hücrede oluşturduğu stres sonucunda lipit peroksidasyon düzeyinin arttığı ve glutatyon (GSH) düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir [12]. Yapılan başka bir çalışmada etil alkolün ROT türevlerinden olan nitrik asit düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir [13]. Etil alkolün hücrede mitokondriyal fonksiyonu bozduğu, mitokondriyal membran potansiyelini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca etil alkolün mitokondriyal süperaktif seviyelerinin artmasına neden olduğu belirtilmiştir [14]. Bu alanda yapılan başka bir çalışmada, mitokondriyal süperoksit seviyelerindeki artışın etil alkolden ziyade etil alkole bağlı olarak üretilen asetaldehit kaynaklı olduğu da rapor edilmiştir [15].

2.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Oksidatif stres, hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşturduğu zararlar olarak da nitelendirilebilir. ROT hücrede dengede bulunan prooksidan ve antioksidan sistemini bozarak hücreye zarar verir. Birçok hastalığın ana nedeni bu sistemin bozulmasından kaynaklanmaktadır. ROT hücrenin DNA, lipid, karbonhidrat ve proteinlerin zarar görmesine neden olur. ROT hücre savunma sistemindeki antioksidan enzimleri olumsuz yönde etkilemektedir. Etil alkol oksidatif stresi artırarak serbest radikal sentezine neden olur [16-19]. Serbest radikaller, atom ya da moleküllerin en dış orbitallerinde ortaklaşmamış elektron taşırlar [20]. Serbest radikaller çok aktif yapıya sahiptirler. Hücre içerisinde üretildiği gibi çevresel faktör kaynaklı birçok etmen serbest radikal üretimine sebep olur. Özellikle kimyasallar, radyasyon, sigara, alkol, uyuşturucu ve hava kirliliği dış etkenler arasındadır [21]. Serbest radikaller, hücrenin ana bileşenlerinden olan lipid, protein ve karbonhidrat gibi biyomoleküllere saldırarak reaksiyona girerler [16]. Serbest radikallere karşı metabolizmamızın antioksidan savunma sistemi yanında dışarıdan aldığımız antioksidan içerikli gıdalarla da sağlayabiliriz [22].

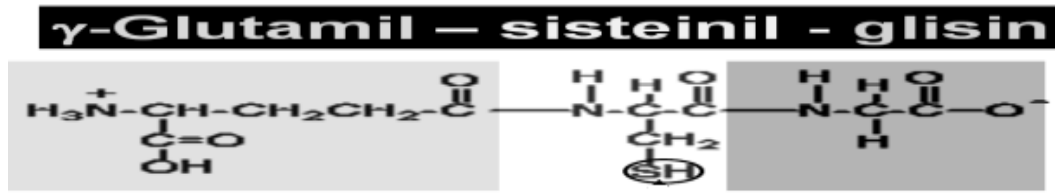
2.3. Siyah Havucun Biyokimyasal Özellikleri

Havuç bitkisinin birçok renkli çeşidi mevcuttur. Turuncu, kırmızı ve mor çeşitleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel olarak havuç bitkisinin içeriğinde vitamin, mineral, fenolik asitler ve antosiyaninler vardır [23-25]. Siyah havuç rengini, yapısında bulunan antosiyaninlerden almaktadır. Kırmızı havuç likopenden alırken turuncu havuç ise yapısındaki α ve β karotenden almaktadır [24-26]. Siyah havuç içeriğinde demir (Fe), potasyum (K), fosfor (P), kalsiyum (Ca) ve sodyum (Na) mineralleri mevcuttur [27-28]. Ayrıca siyah havuç içeriğinde antisiyaninler, sinnamik asitler, flavonollar ve kafeik asit bulunmaktadır [29]. Siyah havucun metabolizmada birçok pozitif etkisi vardır. Bu etkiler damar tıkanıklığı, antikanserojen, nörodejeneratif, antioksidan, antienflamatuar ve diabet bozukluklarına pozitif etkiler göstermektedir [30-31]. Siyah havuç içeriğinde bulunan antosiyaninlerin

metabolizmaya etkileri içerisinde, antitoksit, antikanserojen, radikal süpürme ve antioksidan etkiler mevcuttur [32-33]. Siyah havuç gelişimi için toprak yapısının yumuşak ve kumlu olması gerekmektedir. Ayrıca 15-21 °C da, rutubetli ve az ışık gerektiren bir ortamda yetişmesi verimi artırmaktadır [34-35]. Siyah havuçun ülkemizin birçok yerinde üretimi yapılmaktadır. Çiğ kullanılmasının yanında salata, turşu ve şalgam olarak da kullanılmaktadır. Siyah havuç içeriğinde karbonhidrat kaynağı olarak glikoz, früktoz ve sukroz vardır [36-37]. Siyah havuç içeriğindeki en önemli etken madde antosiyaninlerdir. Bitkilerde kırmızı, mor ve mavi renkler halinde bulunan antosiyaninlerin farmasötik etkileri vardır [38]. Antosiyanidin moleküllerine glikozit bağlanmasıyla antosiyanin yapıya dönüşür. Flavonoidlerin altyapısında bulunan antosiyanidinlerin alt grupları da mevcuttur. Bunlar; delfinidin, pelargonodin, petunidin, malvidin, peonidin ve siyanidin olarak bilinmektedir ve birçok antosiyanin bileşiği izole edilmiştir [39]. Bu tür maddelerin kararlı halde kalabilmeleri için karanlık ve serin ortamlarda korunması gereklidir [40].

2.4. GSH

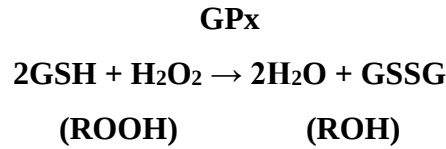
Glutatyon (GSH), hücrede radikallerin oluşturduğu hasarı engelleyen önemli bir antioksidan moleküldür. En önemli görevi hücrede radikallerin saldırdığı protein tiyollerini korumaktır [41]. GSH' ın yapısında glisin, glutamin ve sistein yapısı mevcuttur. GSH' ın hücrede birçok görevi vardır. Bunlardan birincisi, hücreleri radikallerin oluşturduğu tahribata karşı korumak ve vitamin E ve vitamin C' nin yenilenmesini sağlamaktır. İkinci görevi lenfoproliferasyon için beyaz kan hücreleri tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Böylelikle viral ve bakteri reaksiyonlara karşı hücrenin direncini artırır. Üçüncü görevi ise depresyona karşı önemli bir moleküldür [42]. GSH hücresel fonksiyonları içerisinde peroksidaz enzimleri tarafından kullanılmasıdır. Serbest radikaller biyokimyasal moleküllere saldırdığı zaman oluşan peroksitleri ortadan kaldıran peroksidaz enzimlerin aktivite olabilmesi için GSH molekülü gerekmektedir [43-44].



Şekil 2.1 Glutatyonun genel formülü [45].

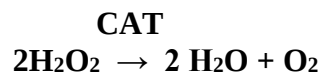
2.5. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi metabolizmada yoğun olarak karaciğer, kalp, beyin ve akciğer dokularında aktiftir. GSH-Px enzimi hücrede hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya dönüşümünü yaparken, GSH molekülünü okside glutatyona (GSSG) katalizler [46]. Ayrıca GSH-Px enzimi lipid hidroperoksitleri yok etmede en önemli enzimdir [47]. GSH-Px enziminin aktivitesinde en önemli etkenlerden biride yapısında selenyumun olmasıdır. Metabolizmada selenyum (Se) eksikliği bu enzimin aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır. Ayrıca selenyum eksikliğinde hücrede lipid peroksidasyonu seviyesinde de artışlar tespit edilmiştir [48-49].



2.6. Katalaz

Katalaz (CAT) "hem" grubu içeren hemoprotein yapısında bulunan önemli bir enzimdir. Bu enzimin hücrede en önemli görevi zararlı hidrojen peroksidi su ve oksijene çevirmektir [48-50]. Ayrıca bu enzim alifatik alkollerin peroksidasyon olayında rol almaktadır [51].



Karbonhidrat metabolizmasında da önemli rol oynayan CAT enziminin aktivitesindeki düşüş, diabet riskini artırmaktadır [52].

2.7. MDA

Serbest radikaller hücrede oluşturduğu oksidatif stres sonucunda lipitleri oksidasyona uğratırlar. Lipit peroksidasyon sonucunda hücrede alkol, aldehit ve pentan gibi yapılar oluşur. Serbest radikallerin oluşturduğu lipit peroksidasyon sonucu hücrede molandialdehit (MDA) da oluşmaktadır [53].

2.8. Minerallerin Genel Özellikleri

Mineral, organik bileşiklerin okside olduktan sonra geriye kalan kül kısmıdır. Mineraller canlıların metabolizmasında önemli rol oynarlar. Mineraller bazı maddeler ile birleşerek canlıların yapısında aktivatör, düzenleyici ve transmitter olarak görev yaparlar. Ayrıca mineraller vücuttaki ozmotik basınç, kas sistemi, sinir sistemi ve asit-baz dengesinde önemli etkiye sahiptir. Vücut için fazla ihtiyaç olan kalsiyum, fosfor, kükürt, sodyum, potasyum, magnezyum ve klor gibi elementlere asal mineraller denir. Kalsiyum, fosfor ve magnezyum gibi asal mineraller vücutta kemiklerin yapısında önemli etkiye sahiptirler. Fe, Cu, Zn, I, Co, Se ve Mn gibi vücudun çok gereksinimi olmasa da olması gereken elementlere de eser elementler denir [54].

2.8.1. Kalsiyum

Vücudumuzun dengede durmasını sağlayan iskelet ve dişlerimizin büyük bölümü Ca'dan oluşmuştur. Ca canlıda iyon, proteine bağlı ya da bileşik halde bulunur. Ca bitkisel ve hayvansal besinler ile vücuda alınırlar. D ve C vitaminleri, orta ve kısa zincirli yağ asitleri, Ca - P ilişkisi, büyüme dönemi, hamilelik ve bebek emzirme dönemlerinde kalsiyum Emilimi artar. Bazik ortam, D vitamini eksikliği, böbrek yetmezliği ve yaşlılık dönemlerinde Ca ihtiyaç olmadığından Ca Emilimi olumsuz etkilenir. Ca vücuttan ter, idrar, emziren bayandan süt ile bebeğe geçerek

atılımı sağlanmış olur. Endokrin sistem tarafından salgılanan paratroid ve kalsitonin hormonları Ca dengesini sağlar. Ca düzeyi azaldığında paratroid hormonu salgılanır ve mineral düzeyi dengelenir. Ca mineral düzeyi intestinal mukoza uyarılarak Ca Emilimi artırılır, kemiklerden Ca geçişi artar ve böbreklerden P atılımı artırılarak Ca düzeyi dengelenmiş olur [54].

2.8.2. Demir

Eser elementlerden biri olan Fe canlının büyüme, gelişme ve canlılığı sürdürebilmesi bakımından etkili bir elementtir. Bu tür elementler birbirleri ile etkileşebilirler. Bazı durumlarda birbirlerinin etkilerini artırır bazı durumlarda da azaltır. Fe eksikliğinin en belirgin özelliği anemidir. Fe canlıların yapısında 4 şekilde bulunur; birincisi transport demir β -globüline bağlı olarak (transterin), ikinci hemoglobin şeklinde eritrositlerin “hem” yapısında, üçüncü olarak depo Fe dediğimiz ferritin olarak, son olarak da doku hücrelerin de bulunur. Vücudumuza “hem” ve “nonhem” yapısında alınır. Vücuda alınan Fe asidik ortamda, anemi, büyüme ve hamilelikte ihtiyaç artacağından Emilimi artar. Protein yetersizliğinde, mide küçültülmesi, Ca, Cu, Zn, kurşun gibi metallerin fazlalığında Fe Emilimi olumsuz yönde etkilenir. Fe vücuttan kadınlarda adet, doğum, ameliyat, hamilelikte bebeğe geçmesi ile emziren kadınlarda süt ile atılır. Erkeklerde kanamalı ameliyatlar ile atılımı sağlanır. Fe kolaylıkla değerlik değiştirdiği için redoks tepkimeleri gerçekleşir. Redoks tepkimeleri engellenmediği takdirde metabolizmaya ciddi anlamda zarar verir. Bu tür tepkimelerin oluşmasını ise antioksidanlar engeller. Fe kan hücrelerinin yapısında bulunur. Demir fazlalığı kalp rahatsızlığı ve genetik bozukluğa neden olur [54].

2.8.3. Çinko

Vücutta bulunan diğer eser elementlerden biride Zn dir. Genellikle karaciğer, böbrek, kas, kemik, göz ve endokrin bez gibi organlarda bulunur. Zn aktif metal olduğu için reaksiyona girme eğilimi fazladır. Hücre içerisinde tiolat ve imidazol

ligantı şeklinde bulunur. Zn Emilimi ince bağırsakta gerçekleşir. Alınan Zn vücuda dağılması için karaciğere, albuminler tarafından taşınırlar. Bakır da albuminler ile taşındığı için Zn taşınmasını engelleyerek eksikliğine sebep olabilir. Bazı rahatsızlıklar Zn Emilimine olumsuz etki yaparlar bunlar; alkolik siroz, çölyak hastalığı ve kistik fibroz Zn Emilimini olumsuz yönde etkiler. Zn vücutta depo edilme ihtiyacı bulunmadığı için ter, deri ve idrar ile atılımı sağlanır. Zn enzimlerinde görevlerinde etkin bir role sahiptir. Proteinlerin yıkımında, karbonhidratlardan enerji üretiminde, üreme sisteminde ve karaciğerde protein sentezinde önemli etkiye sahiptirler. Zn gen tanımlanmasında da etkin rol alır. Dokuların iyileşmesinde etkili olduğu için de ameliyatlardan sonra yaraların iyileşmesi için Zn içerikli ilaçlar ile tedavi yapılır. Zn yetersizliğinde kısa boyluluk, koku alamama, tat alamama, iştahsızlık, saç dökülmesi, deri dökülmesi ve romatizma hastalıkları gözlenir. Zn en fazla et, balık ve yumurta gibi besinlerden temin edilerek alımı sağlanır [54].

2.9. Çalışmanın Amacı

Yapılan çalışmada etil alkol verilen rat dokuları üzerine siyah havuç suyunun biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırıldı. Etil alkol metabolizmada oksidatif stres oluşturarak serbest radikal üretimini artırmaktadır. Siyah havuç suyu içeriğinde yüksek düzeyde polifenol türevli maddeler mevcuttur. Çalışmada etil alkol ile oluşturulan oksidatif strese karşı siyah havuç suyunun koruyucu etkileri araştırıldı. Çalışmada rat dokularında oksidatif stres parametrelerinden MDA, GSH, Fe, Ca ve Zn düzeyleri ile CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri çalışıldı.

3. MATERYAL ve METOD**3.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler**

Metanol, n-hekzan, izopropanol, etil alkol, sülfürik asit, hidroklorik asit (HCl), thiobarbiturik asit (TBA), trikloroasetik asit (TCA), H₂O₂, fosfat tamponu, EDTA-Na₂, redükte GSH, Tris-EDTA tamponu, 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit, mineral standartları, fizyolojik su.

3.2. İnceleme Materyali

Deneyisel uygulamada ağırlıkları birbirine yakın erkek *Wistar albino* sıçanların karaciğer, beyin ve testis dokuları incelendi.

3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar

Santrifüj, homojenizatör, UV spektrofotometre (Perkin Elmer precisely Lambda 25 UV/VIS), vorteks (VEIP SCIENTIFICA), otomatik pipetler, derin dondurucu (-50 °C), vida kapaklı deney tüpleri ve santrifüj tüpleri.

3.4. Deney Hayvanları

Deneyisel çalışmada, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneyisel Araştırma Merkeziden (FÜTDAM) temin edilen erkek *Wistar albino* cinsi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen yemlerle beslendi. Sıçanlar özel havalandırma sistemi ortamında, her gün temizliği yapılan özel kafeslerde barındırıldı. Sıçan yemleri çelik kaplarda ve su ise özel biberonlarda verildi. Çalışmanın etik kurulu Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığından alındı. Sıçanlar 22 - 25 °C arasında, 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlık ortamda bulunmaktadır. Deneyisel süreçte (250 ± 10 g) ağırlığında ve her grupta 7 sıçan olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Deneyisel süreçte sıçanlara verilen etil alkol ve siyah havuç suyu

uygulamaları ve deneysel uygulama aşağıda verilmiştir. Siyah havuç suyu, Pari ve arkadaşlarının belirttiği yöntem [55] modifiye edilerek elde edildi. Siyah havuçlar yıkanıp temizleme işleminden sonra katı meyve sıkacağından geçirildi. Elde edilen havuç suyu 12 ml/kg dozda gün aşırı orogastrik gavage yöntemiyle sıçanlara verildi. Her uygulama öncesi siyah havuç suyu taze olarak hazırlandı. Sağlıklı ve normal beslenen sıçanlara 2 g/kg/gün veya daha aşağı dozlarda etanol verilirse sabit ve sınırlı bir hızda okside edilmektedir. Fakat 3 g/kg/gün ve daha yukarı dozda verilen etanol ile kronik etil alkol etkisi oluşturulabilmektedir [56]. Bu nedenle, 42 gün süre ile oral yolla 5g/kg/gün dozda %50'lik etanol gün aşırı ve kontrol grubuna ise 1 ml % 0,9'luk NaCl uygulandı. Deneysel süreçte dört grup oluşturuldu.

1. Kontrol grubu (K), 42 gün orogastrik sonda ile 1 ml %0.9 NaCl uygulandı.
2. Etanol grubu (E), 21 gün süre ile orogastrik sonda ile 5g/kg/gün doza %50'lik etanol uygulandı. 21 günlük periyodun sonunda sıçanlar kesildi.
3. Siyah havuç suyu grubu (S), 12ml/kg dozda orogastrik sonda ile 21 gün uygulandı ve periyodun sonunda sıçanlar kesildi.
4. Etanol + Siyah Havuç suyu grubu (ES), 21 gün süre ile orogastrik sonda ile 5g/kg/gün dozda %50'lik etanol, sonraki 21 günlük uygulama periyodunda ise etanol uygulaması bırakılarak yerine 21 gün boyunca siyah havuç suyu 12ml/kg dozda orogastrik sonda ile sıçanlara uygulaması yapıldı. Deneysel süreçten sonra sıçanların dokuları çıkarılarak -50 °C'de muhafaza edildi.

3.5. Lipit Peroksidasyon Tayini

Lipit Peroksidasyon miktarı, Placer'in tanımladığı metot esasına göre yapıldı. Bu metot thiobarbiturik asit reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre ölçümleri yapıldı [57]. MDA miktarı için örnek numuneden bir hacim ve stok çözeltiden iki hacim (0,25 N HCl içerisinde %0,375 TBA ve %15 TCA) santrifüj tüpünde karıştırıldı. Karışım 15 dakika kaynar suda ısıtıldıktan sonra soğutuldu. Oluşan çökelti 2500 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek üst faz alındı. Sonra 532 nm' de test örnekleri okundu. Lipit peroksidasyon miktarı nmol/gr olarak değerlendirildi. MDA miktarı Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanılarak analiz edildi.

3.6. Dokularda Katalaz Enzim Aktivitesi Tayini

CAT enzim aktivitesi Lartillot'un belirttiği yöntemle göre yapıldı [58]. CAT enzim aktivitesi tayini, katalazın H_2O_2 ile reaksiyonunda zamanla azalma esasına göre ölçümü yapılarak analiz edildi. Ölçüm 240 nm'de okundu. H_2O_2 için molar ekstinksiyon katsayısı $0,0396 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$ ' dur. Metotta 50 mmol/L enzim çözeltisi üzerine 2,5 ml substrat çözeltisi ilave edilerek 37 °C' de 2 dakika bekletildi. Reaksiyonu sonlandırmak için ortama 0,5 ml 1M HCl çözeltisi ilave edildi ve 240 nm' deki absorbansı ölçüldü. Kör olarak 2,5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH=6,8) ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözelti kullanıldı. H_2O_2 'nin başlangıçtaki absorbansını belirlemek için 2,5 ml substrat ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçüldü. Proteinin neden olacağı absorbansı belirlemek için 20 µL enzim çözeltisi, 2,5 ml fosfat tamponu ve 0,5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçüldü. CAT enzim aktivitesi tayini Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanılarak yapıldı.

3.7. Dokularda GSH-Px Enzim Aktivitesi Tayini

GSH-Px enzim aktivitesi tayini Lawrence ve Burk'un belirttiği metoda göre yapıldı [59]. Reaksiyon karışımında 0,2 mM H_2O_2 , 1 mM sodyum azide, 1 mM EDTA, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH=7,6), 0,2 mM redükte NADPH, 1 EU/ml GSSG, 1 mM GSH, içermektedir. Örnekten 0,1 ml alınarak 0,8 ml yukarıdaki karışımdan ilave edildi. Sonra karışıma 0,1 mL peroksit solüsyonu ilave edilerek reaksiyon başlatılmadan önce 25 °C' de inkübe edildi. Örnekler 340 nm' de absorbansları ölçülerek hesaplaması yapıldı. Sonuçlar U/mg protein olarak belirtildi. Protein miktarı da Lowry metoduna göre ölçüldü [60]. Dokularda GSH-Px enzim aktivitesi tayininde Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanıldı.

3.8. Dokularda GSH Tayini

GSH miktarı Sedlak ve Lindsay'ın belirttiği metoda göre yapıldı. Ölçümler 412 nm'de gerçekleştirildi [61]. Numuneler %50 TCA ile çöktürüldükten sonra 5 dakika

1000xg' de santrifüj yapıldı. Çöktürülen numunelerin üst fazından 0,5 ml alınarak 2 ml Tris-EDTA tamponu (0,2 M, pH=8,9) ve 0,1 ml 0,01 M 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit ilavesi yapıldı. Karışım 25 °C'de 5 dakika bekletildi. UV-spektrofotometre' de 412 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Dokuların GSH tayininde Perkin Elmer Precisely, Lambda 25, UV/VIS Spectrometer cihazı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol/gr}$ protein olarak belirtildi.

3.9. Element Analizi

Doku örneklerinde 250 mg tartılarak mikrodalga çözme sistemine aktarıldı ve 5 ml nitrik asit (% 65) ilave edildi. Çözme işlemi mikrodalga sisteminde tamamlandı. Hazırlanan kör numuneler ve standart çözeltiler ICP-MS cihazında ölçümleri yapıldıktan sonra mikrodalgada çözünmüş karaciğer dokularında Fe, Ca ve Zn konsantrasyon düzeyleri NexION 350 inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, Perkin Elmer, MA, USA) cihazında analizleri yapıldı [62].

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20,0 programı kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmada Varyans analizi ANOVA’da yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testi uygulandı ve standart sapma olarak standart error alındı.



5. BULGULAR

Çizelge 5.1 Karaciğer dokusu MDA, GSH ve enzim aktivite düzeyleri

Gruplar	MDA (nmol/gr)	GSH (μmol/gr)	GSH-Px (U/mg protein)	CAT (IU/ml)
K	33±3.66	387±15	4.63±0.64	613±74
E	55±8.59 ^c	338±16 ^c	2.64±0.25 ^c	773±90
S	38±3.14	370±14 ^x	3.94±0.35 ^x	608±78
ES	42±4.77 ^y	416±24 ^z	3.40±0.10 ^x	615±87

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

E grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Çalışmada etil alkol uygulanan E grubu rat karaciğer dokularında yüksek MDA düzeyi (p<0.001) tespit edilirken, GSH düzeyi ve GSH-Px enzim aktivitelerinde azalma gözlemlendi (p<0.001). Siyah havuç suyunun etkisiyle ES grubunda artan MDA düzeyinin azaldığı (p<0.01), azalan GSH düzeyi ve GSH-Px enzim aktivitelerinin arttığı gözlemlendi (p<0.05, p<0.001). K grubuna CAT enzim aktivitesine göre E grubunda nispi artış gözlenirken, gruplar arası istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi (p>0.05).

Çizelge 5.2 Karaciğer dokusu mineral düzeyleri

Gruplar	Ca (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)
K	90±8.35	109±8.01	19.96±2.19
E	74±6.77 ^b	145±14.45 ^c	18.60±1.13
S	81±6.50	122±6.97	19.77±2.26
ES	77±5.65 ^a	124±5.38	18.49±0.98

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

E grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Çalışmada K grubu Ca düzeyine göre E ve ES grubunda azalma tespit edildi (P<0.05, p<0.01). E grubu Fe düzeyi K grubuna göre istatistiksel olarak yükseldiği gözlemlendi (p<0.001). Tüm grupların Zn düzeyleri arasında istatistiksel fark gözlemlenmedi (p>0.05).

Çizelge 5.3 Testis dokusu MDA, GSH ve enzim aktivite düzeyleri

Gruplar	MDA (nmol/gr)	GSH (μmol/gr)	GSH-P _x (U/mg protein)	CAT (IU/ml)
K	36±4.49	360±20	15.33±1.36	281±42
E	48±4.01 ^a	256±25 ^c	11.50±1.87 ^a	275±22
S	36±3.02 ^x	428±36 ^{az}	19.01±2.68 ^{az}	285±22
ES	31±4.81 ^z	398±30 ^z	18.83±2.92 ^z	270±54

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

E grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Çalışmada K grubu MDA düzeyine göre E grubunda artış tespit edildi (p<0.05). E grubuna göre S ve ES grupları MDA düzeylerinde azalmalar tespit edildi (p<0.05, p<0.001). K grubu GSH düzeyi E grubundan yüksek çıktığı gözlenirken (p<0.001), K grubu GSH düzeyi S grubuna göre düşük çıktığı tespit edildi (p<0.001). E grubu GSH-P_x enzim aktive düzeyi K grubuna göre azaldığı gözlenirken (p<0.05), E grubuna göre S ve ES gruplarında artış tespit edildi (p<0.001). Tüm grupların katalaz enzim aktivitelerinde istatistiksel fark gözlenmemiştir (p>0.05).

Çizelge 5.4 Testis dokusu mineral düzeyleri

Gruplar	Ca (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)
K	51±9.60	19±0.89	19.33±1.96
E	104±11.14 ^c	28.16±3.81 ^c	13.80±1.84 ^c
S	62±3.65 ^z	21.83±2.43 ^x	17.55±0.87 ^x
ES	94±14.95 ^c	23±3.65	18.88±1.01 ^x

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

E grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Çalışmada K grubu Ca düzeyine göre E ve ES gruplarında artış gözlemlendi (p<0.001). K ve S grupları Ca düzeyleri arasında istatistiksel fark gözlenmedi (p>0.05). E grubu Fe düzeyi K grubuna göre yüksek çıktığı tespit edildi (p<0.01). E grubu Zn düzeyi diğer gruplara göre düşük çıktığı gözlemlendi (p<0.05, p<0.001).

Çizelge 5.5 Beyin dokusu MDA, GSH ve enzim aktivite düzeyleri

Gruplar	MDA (nmol/gr)	GSH (μmol/gr)	GSH-P _x (U/mg protein)	CAT (IU/ml)
K	238±12	208±11	12±3.03	278±33
E	330±24 ^c	195±13	11.33±0.81	244±86
S	251±17 ^z	233±10 ^z	13.83±2.73	288±64
ES	223±13 ^z	224±14 ^y	14.66±2.52	269±81

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

E grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Çalışmada K grubu MDA düzeyine göre E grubunda artış tespit edildi (p<0.001). E grubuna göre S ve ES grupları MDA düzeylerinde azalmalar tespit edildi (p<0.001). E grubu GSH düzeyi K grubuna göre nispi olarak azalırken (p>0.05), ES ve S grupları GSH düzeyleri E grubuna göre arttığı tespit edildi (p<0.01). E grubu GSH-P_x ve katalaz enzim aktivite düzeyi diğer gruplara göre nispi oranda azaldığı gözlemlendi (p>0.05).

Çizelge 5.6 Beyin dokusu mineral düzeyleri

Gruplar	Ca (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)
K	62±3.61	21±1.54	8.25±0.56
E	135±18 ^c	25±2.16	8.21±0.75
S	73±10 ^z	20±2.71	7.94±0.53
ES	67±15 ^z	22±2.92	8.27±0.65

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

E grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

E grubu Ca düzeyi K grubuna göre arttığı tespit edilirken (p<0.001), E ve ES grupları Ca düzeyleri E grubuna göre azaldığı gözlemlendi (p<0.001). Tüm grupların Fe ve Zn düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi (p>0.05).

6. TARTIŞMA

Çalışmada etil alkole maruz bırakılmış sıçan karaciğer, testis ve beyin dokularında MDA, GSH ve bazı element düzeyleri ile GSH-P_x ve katalaz enzim aktiviteleri düzeylerine siyah havuç suyunun biyokimyasal etkileri araştırıldı.

Çalışmada karaciğer, testis ve beyin dokuları MDA düzeyleri K grubuna göre E grubunda yüksek çıktığı gözlemlendi. Her üç dokuda siyah havuç suyunun etkisiyle ES grubu MDA düzeyleri E grubuna göre azaldığı tespit edildi. Karaciğer ve testis dokuları GSH düzeyleri ve GSH-P_x enzim aktivite düzeyleri K grubuna göre E grubunda istatistiksel olarak azalma gözlenirken, beyin dokusu E grubu GSH-P_x düzeyinde nispi olarak azalma tespit edildi. Karaciğer dokusu ES grubu GSH düzeyi ve GSH-P_x enzim aktivite düzeyi E grubuna göre önemli düzeyde arttığı belirlendi. Özellikle testis dokusu ES grubu GSH düzeyi ve GSH-P_x enzim aktivite düzeyi E grubuna göre istatistiksel olarak arttığı gözlemlendi. Bu durum beyin dokuda GSH düzeyinde de gözlenmiştir. Tüm dokuların CAT enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir. Ancak, testis ve beyin dokuları CAT enzim aktiviteleri E grubunda K grubuna göre nispi azalma tespit edildi.

Yapılan literatür araştırmalarında etil alkol uygulanan rat dokularında siyah frenk üzümü etkileri araştırılmıştır. Etil alkol uygulanan rat karaciğer ve beyin dokularında kontrol gruba göre GSH düzeyi ile GSH-P_x ve CAT enzim aktiviteleri etil alkol grubunda azaldığı rapor edilmiştir [63]. Siyah frenk üzümün etil alkolün antioksidan sistem üzerinde oluşturduğu bu olumsuz etkiyi düzelttiği belirtilmiştir [63]. Siyah frenk üzümün içeriğinde bulunan antosiyanin moleküllerin bu etkiyi sağladığı açıklanmıştır [63].

Bir üzüm çeşidi olan *Emblica officinalis*' in etil alkole karşı ekstraktı uygulaması yapılmıştır. Etil alkolün rat karaciğerlerinde GSH, CAT, SOD ve GSH-P_x düzeylerini önemli düzeyde azalttığı belirtilirken, bu olumsuz etkiyi *Emblica officinalis* ekstraktını uygulamasıyla önemli düzeyde artırarak düzelttiği rapor edilmiştir [64]. *Emblica officinalis* içeriğinde bulunan polifenol türevli bileşiklerin etil alkolün karaciğerde oluşturduğu serbest radikalleri engelleyerek antioksidan sistemi düzelttiği rapor edilmiştir [64].

Kronik alkol uygulaması yapılan farelere zerdeçal bitkisinin içeriğinde bulunan ve doğal antioksidan özelliklere sahip curcumin maddesinin etkinliği araştırılmıştır. Araştırmada kronik alkol alan fare karaciğer dokularında GSH, GSH-P_x, GST düzeylerinde azalmalar ve yüksek MDA seviyesi rapor edilmiştir. Antioksidant sistemi curcumin'in düzelttiği ve yükselen oksidatif stresi düşürdüğü belirtilmiştir [65].

Resveratrol, özellikle kırmızı üzüm meyvesi içeriğinde bulunan polifenol türevli antioksidan özelliğe sahip moleküldür. Etanola maruz bırakılan rat karaciğer dokularında resveratrolün antioksidan etkinliği araştırılmıştır. Etanol rat karaciğer dokularında SOD, GSH-P_x ve CAT enzim aktivitelerini önemli düzeyde azalttığı ve MDA düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir. Resveratrol'ün etanolün oluşturduğu bu zararlı etkileri önemli düzeyde düzelttiği açıklanmıştır [66]. Klinik kanıtlar ve deneysel çalışmalarda etil alkol tüketiminin karaciğer ve diğer dokularda oksidatif stresi arttırdığı bildirilmiştir [67-68]. Etanol, reaktif oksijen türlerini artırarak hücrenin antioksidan savunma sistemini olumsuz etkilediği rapor edilmiştir [69-70].

Kronik etil uygulaması yapılan rat karaciğer dokularında yeşil çay dietinin etkinliği araştırılmıştır. 2 aylık ratlara uygulanan etil alkolün karaciğer dokularında MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca antioksidan savunma sisteminde önemli rol oynayan SOD, CAT, GSH-P_x ve GSH'ın azaldığı rapor edilmiştir. Etil alkolün bu olumsuz etkilerini yeşil çay dietinin önemli düzeyde düzelttiği rapor edilmiştir. Özellikle yeşil çay içeriğinde bulunan polifenol türevli katesin maddelerinin bu etkinliği belirtilmiştir [71].

Çalışmada mineral düzeyleri incelendiğinde Fe düzeyinde önemli farklılıkları gözlemlendi. Karaciğer ve testis dokusu Fe düzeyi E grubunda arttığı tespit edildi. Beyin dokusunda ise bu artış nispi olarak gözlemlendi. Karaciğer dokusu Ca düzeyi E grubunda azaldığı tespit edilirken, testis ve beyin dokusu Ca düzeyleri E grubunda arttığı gözlemlendi. Kve S grubu Ca düzeyleri tüm dokularda istatistiksel olarak fark gözlenmedi. Testis dokusu Zn düzeyi E grubunda önemli düzeyde azaldığı gözlenirken, ES grubu Zn düzeyi E grubuna göre artığı tespit edildi.

Etil alkol insan ve hayvan metabolizmasında mineraller üzerine etkileri vardır. Oksidatif stres durumlarında hücrede Fe ve Cu gibi mineraller katalizör olarak

reaksiyonlarda rol alırlar ve radikal üretimini arttıırırlar. Fe, Fenton rasyonu ile hücrede hidroksi radikali (OH $\cdot$) radikali oluşturark hücrede tahribatı arttırır [72-73]. Özellikle karaciğer hastalıklarında alkol ve demirin riski arttırdığı rapor edilmiştir [74-75].

Alkol alışkanlığı olan kişilerde, lipit peroksidasyon ve serum Fe düzeyleri incelenen çalışmada, alkol kullanan kişilerin lipit peroksidasyon düzeyinin oldukça yüksek çıktığı rapor edilmiştir. Ayrıca alkol kullanan kişilerin serumlarında Fe düzeylerininde yüksek çıktığı bildirilmiştir [76].

Çalışmada önemli sonuçlarımızdan biri de, testis dokusu Zn düzeyinin E grubunda azalmasıdır. Testis dokusunda Zn düzeyinin yetersizliği testiste yapısal hasarlara neden olur [77]. H₂O₂ uygulanan rat testis dokularında Zn düzeyinde istatistiksel olarak azaldığı rapor edilmiştir [78].

Etil alkol kullanımı dünyamızda oldukça yaygındır. Buna bağılı olarak insan metabolizmasında birçok olumsuz etki ortaya çıkmaktadır. Etil alkolün metabolizmada hücrede oluşturduğu oksidatif stres sonucunda oluşan birçok hastalık durumuna karşı günümüzde alternatif ilaç ve doğal maddeler kullanımı araştırmaları yapılmaktadır. Bu araştırmada kronik etil alkolün oluşturduğu olumsuz etkilerini azaltıcı yönde siyah havuç suyunun etkinliği araştırıldı. Siyah havuç suyu içerisinde birçok polifenol türevli maddeler mevcuttur. Bunların başında antiyosiyonidinler gelmektedir ve bu tür moleküllerin hayvan metabolizmasında birçok etkinliği belirtilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada, siyah havuç suyunun ratlarda etil alkolün oluşturduğu oksidatif stress-antioksidan sistem dengesine ve mineral metabolizmasına pozitif etkileri olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1] F. Zhang, J. Zhang, Y. Li, “Corn oligopeptides protect against early alcoholic liver injury in rats”, *Food and Chemical Toxicology*, 50: 2149–2154, 2012.
- [2] H. Alimi, N. Hfaeidh, Z. Bouoni, M. Sakly, K.B Rhouma, “Protective effect of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* prickly pear juice upon ethanol-induced damages in rat erythrocytes”, *Alcohol*, 46: 235-243, 2012.
- [3] F. Petitpasa, F. Sichelb, B. Hébertb, S. Lagadub, M. Beljeand, D. Pottier, M. Laurentiea, V. Prevostb, “Effects of alcohol consumption on biomarkers of oxidative damage to DNA and lipids in ethanol-fed pigs”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 263– 269, 2013.
- [4] V.D. Reddy, P. Padmavathi, R. Hymavathi, P. Maturu, N.Ch. Varadacharyulu, “Alcohol-induced oxidative stress in rat liver microsomes: Protective effect of *Emblica officinalis*”, *Pathophysiology*.
- [5] J. Cohen, L.E. Nagy, “Pathogenesis of alcoholic liver disease: interactions between parenchymal and non-parenchymal cells”, *Journal of Digestive Diseases*, 12: 3-9, 2011.
- [6] A.V. Rao, & L.G. “Rao Carotenoids and human health”, *Pharmaceutical Research*, 55, 207-216, 2007.
- [7] WHO, “World Health Organisation Global Status Report on Alcohol and Health”, *Global Information System on Alcohol and Health*, Switzerland, 2018.
- [8] K. Sugimoto, Y. Takei, “Pathogenesis of alcoholic liver disease”, *Hepatol Res*, 47, 70-79, 2017.
- [9] M.B. Freitas, E.A. Moreira, D.W. Filho, G.L. Faccin, E.B.S.M. Trindade, S.M.M. Batista, R.L.M. Fagundes, “Ethanol in lactation promotes oxidative stress in different phases of rat offspring”, *e-SPEN Journal*: 1-6, 2014.
- [10] L. Kaphalia, W.J. Calhoun, “Alcoholic lung injury: Metabolic, biochemical and immunological Aspects”, *Toxicology Letters*, 222, 171-179, 2013.
- [11] S. Gönenç, N. Uysal, O. Açıkgöz, B.M. Kayatekin, A. Sönmez, M. Kıray, İ. Aksu, B. Güleçer, B. Topçu, İ., Şemin, “Effects of melatonin on oxidative stress and spatial memory impairment induced by acute ethanol treatment in rats”, *Physiol. Res.*, 54: 341-348, 2005.
- [12] K.J. Kumar, S. Liao, J. Xiao, M.G. Vani, S. Wang, “Hepatoprotective effect of lucidone against alcohol-induced oxidative stress in human hepatic HepG2 cells through the up-regulation of HO-1/Nrf-2 antioxidant genes”, *Toxicology in Vitro*, 26: 700–708, 2012.
- [13] P. Maturua, V.D. Reddy, P. Padmavathia, N. Varadacharyulua, “Ethanol induced adaptive changes in blood for the pathological and toxicological effects of chronic ethanol consumption in humans”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 697–703, 2012.
- [14] J.L. Steiner, C.H. Lang, “Etiology of alcoholic cardiomyopathy: Mitochondria, oxidative stress and apoptosis”. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 89, 125–135, 2017.

- [15] M.Brandt, V. Garlapati, M. Oelze, E. Sotiriou, M. Knorr, S. Kröller-Schön, “et al. amplifies acetaldehyde-mediated cardiomyocyte mitochondrial dysfunction in alcoholic cardiomyopathy”. *Scientific Reports* 6, 32554, 2016.
- [16] K. Sowndhararajan, J.M. Joseph, S. Manian, “Antioxidant and free radical scavenging activities of indian acacias: *Acacia Leucophloea* (Roxb.) Willd., *Acacia Ferruginea* Dc.”, *Acacia Dealbata* Link. and *Acacia Pennata* (L.) Willd, *International Journal of Food Properties*, 16: 1717 -1729, 2013.
- [17] N.J.N. Brito, J.A. Lopez, M.A.D. Nascimento, J.B.M. Macedo, ”Antioxidant activity and protective effect of *Turnera ulmifolia* Linn. var. *Elegans* against carbon tetrachloride-induced oxidative damage in rats”, *Food and Chemical Toxicology*, 50: 4340–4347, 2012.
- [18] Q. Xie, F. Guo, W. Zhou,”Protective effects of cassia seed ethanol extract against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice”, *ABP*, 59: 265–270, 2012.
- [19] E. Padmini, B. T. Sundari, ”Erythrocyte glutathione depletion impairs resistance to haemolysis in women consuming alcohol”. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 42, 14-20. 2008.
- [20] T.F. Slater, K.H. Cheeseman, M.J. Davie,s, K. Proudfoot, W. Xin, “Free radical mechanisms in relation to tissue injury”, *Proc. Nutr. Soc*, 46: 1-12, 1987.
- [21] U. Mercan, “Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi”, *Y.Y.U. Vet. Fak. Derg.*, 15 1, 2: 91-96, 2004.
- [22] M.N.Alam, N.J. Bristi, M. Rafiquzzaman, “Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity”, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143-152, 2013.
- [23] B.T. Metzger, D.M. Barnes, J.D. Reed, “Purple carrot (*Daucus carota* L.) polyacetylenes decrease lipopolysaccharide- induced expression of inflammatory proteins in macrophage and endothelial cells”, *J Agric Food Chem* 56, p. 3554–3560, 2008.
- [24] T. Sun, P.W. Simon, S.A. Tanumihardjo, ”Antioxidant phytochemicals and antioxidant capacity of biofortified carrots (*Daucus carota* L.) of various colors”, *J Agric Food Chem* 57, p. 4142–4147, 2009.
- [25] H. Poudyal, S. Panchal, L. Brown, “Comparison of purple carrot juice and b-carotene in a high carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome”, *British Journal of Nutrition*, 104, p. 1322–1332, 2010.
- [26] C.S. Charron A.C. Kurilich, B.A.Clevidence, ”Bioavailability of anthocyanins from purple carrot juice: effects of acylation and plant matrix”, *J Agric Food Chem* 57, p. 1226–1230, 2009.
- [27] A. Deryaoğlu, “Şalgam Suyu Üretimi ve Bileşimi Üzerinde Bir Araştırma”, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, 1990.
- [28] H. Tangüler, “Şalgam Suyu Üretiminde Etkili Olan Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi Ve Şalgam Suyu Üretim Tekniğinin Geliştirilmesi”, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, 2010.
- [29] D. Kammerer, R. Carle, A. Schieber, “Characterization of phenolic acids in black carrots (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry”, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18, p. 1331– 1340, 2004.

- [30] M.M. Giusti, R.E. Wrolstad, "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems", *Biochemical Engineering Journal*, 14, p. 217–225, 2003.
- [31] Y. Liu, N. Murakami, L. Wang, S. Zhang, "Preparative High- Performance Liquid Chromatography for the Purification of Natural Acylated Anthocyanins from Red Radish (*Raphanus sativus* L.)", *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 46, 2008.
- [32] L. Wang, G.D. Stoner, "Anthocyanins and their role in cancer prevention", *Cancer Letters Natural Products Special Issue*, 269 (2), p. 281– 290, 2008.
- [33] M.Gajewski, P. Szymczak, K. Elkner, A. Dabrowska, A. Kret, H. Danilcenko, "Some aspects of nutritive and biological value of carrot cultivars with orange, yellow, and purple colored roots", *Veg Crop Res Bull*, 67, p. 149–61, 2007.
- [34] H. İyiçınar, "Kontrollü Şartlarda Şalgam Suyu Üretimi Üzerine Farklı Formülasyonların Etkisi", Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, 2007.
- [35] G.Özen, "Siyah Havuç Suyu Konsantresinin Türk Lokumunda Renklendirici Olarak Kullanılması ve Depolama Stabilitésinin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, 2008.
- [36] K.D. Sharma, S. Karki, N.S. Thakur, S. Attri, Chemical composition, functional properties and processing of carrot-a review, *J. Food Sci. Technol.* 49, 22–32, 2012 .
- [37] H. Erten, H. Tangüler, *Gıda Biyoteknolojisi*, Ankara, Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti., 2010.
- [38] D.K. Doughall, D.C Baker, E.G. Gakh, M.A. Redus, N.A. Whittemore, "Anthocyanins from wild carrot suspension cultures acylated with supplied carboxylic acids", *Carbohydrate Research*, 310, p. 177–189, 1998.
- [39] O.M. Andersen, M. Jordheim, *Chemistry, Biochemistry and Applications*, London, CRC Press, 2006.
- [40] C.R. Welch, Q. Wu, J.E. Simon, "Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization", *Curr Anal Chem. April* 1; 4(2), p. 75–101, 2008
- [41] M.A. Moutaerya, H.A. Rayesb, R.AL. Swailamb, I. Elfaki, H.A. Khand, M. Arshaduddinc, M. Tariqc, "Protective effect of a cysteine prodrug and antioxidant, L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate, against ethanol-induced gastric lesions in rats", *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 233– 237, 2012.
- [42] M. Maes, P. Galecki, Y.S. Chang, M. Berk, "A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness", *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 35: 676–692, 2011.
- [43] T. Yan, L.H. Tee, Y.M. Sin, "Effect of Mercury and Lead on Tissue Glutathione of the Green Mussel", *Perna viridis* L., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58, 845-850, 1997.
- [44] J.L. Forney, A.C. Reddy, M. Tien, T.S. Aust, "The Involment of Hidroxy Radical Derived From Hydrogen Peroxide Lignin Deratation by the White Rot Fungus Phanerochaete chrysosporium", *J. Biol. Chem*, 257: 19, 11455-11462, 1982.
- [45] D.L Nelson, M.M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry (3rd ed)*, New York ,Worth Publishers, 2000.

- [46] O.W. Griffith, "Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis", *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9): 922-935, 1999.
- [47] K. Nishi, S. Ramakrishnan, V.P. Gunasekaran, K. Parkash, A. Ramakrishnan, N. Vijayakumar, M. Ganeshan, "Protective effects of p-coumaric acid on ethanol induced male reproductive toxicity". *Life Sciences*, 209: 1-8, 2018.
- [48] M.J. Prieto-Alamo, N. Abril, C. Pueyo, "Mutagenesis in Escherichia coli K-12 Mutants Defective in Superoxide Dismutase or Catalase", *Mutat. Res-Fund. Mol. M.*, 14: 2, 237-244, 1993.
- [49] M. Chiba, A. Shinohara, K. Matsushita, H. Watanabe, Y. Inaba. "Indices of lead-exposure in blood and urine of lead-exposed workers and concentrations of major and trace elements and activities of SOD, GSH-Px and catalase in their blood". *Tohoku J Exp Med*, 178(1):49-62, 1996.
- [50] R. Singh, S. Rana, "Influence of Antioxidants on Metallothionein- Mediated Protection in Cadmium-Fed Rats", *Biol. Trace El. Res.*, 88, 71-77, 2002.
- [51] I. Marvelli, G. Rotilio, *Icosanoids and Cancer in Ed.Thaler-Dao*, New York, H. Crastes de Panlet, A. Paoletti, R. Raven Press, 1984.
- [52] M. Maes, P. Galecki, Y.S. Chang, M. Berk, "A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness", *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 35: 676-692, 2011.
- [53] M.Ceylan, S. Sener, A.C. Bayraktar, M. Kavutcu, "Oxidative imbalance in child and adolescent patients with attention-deficit/hyperactivity disorder", *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 34: 1491-1494, 2010.
- [54] M. Aksoy, *Beslenme Biyokimyası*. Ankara:Hatiboglu Yayınları, 2008.
- [55] P. Balasubramaniam, L. Pari, P. Venugopal "Protective Effect of Carrot (*Daucus carota* L.) Against Lindane - induced Hepatotoxicity in Rats", *Phytotherapy Research*, vol. 12, 434-436, 1998.
- [56] C.S. Lieber, L.M., DeCarli, M.F. Sorrel, "Experimental methods of ethanol administration". *Hepatology*, 10(4): 501-510, 1989.
- [57] Z.A. Placer, L.L. Cushman, B.C. Johnson, "Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems". *Anal Biochem.*, 16(2): 359-364, 1966.
- [58] S. Lartillot, P. Kadziora, A. Athios, "Purification and Characterization of New Fungal Catalase", *Preparative Biochemistry*, 18(3): 241-246, 1988.
- [59] R.A. Lawrence, R.F. Burk, "Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver". *Bioch Bioph Res Commun*. 71(4): 952-958, 1976.
- [60] O.H. Lowry, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr, R.J. Randall, "Protein measurement with folin phenol reagent". *J Biol Chem.*, 193(1), 265-275, 1951.
- [61] J. Sedlak, R.H. Lindsay, "Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent". *Anal. Biochem*, 25(1): 192-205, 1968.
- [62] A. Özkaya, H. Çiftçi, A. Dayangaç, B.S. Çevrimli, A. Ölçücü, S. Çelik. "Effects of Ellagic acid and Hesperetin on Levels of Some Elements in Livers of Aluminum-Induced Rats". *Turk J Biochem*, 38 (3); 345-349, 2013.

- [63] E. A. Żewicz, A. Augustyniak, A. Gęgotek, K. Bielawska, E. Skrzydlewska, "Black-Currant Protection Against Oxidative Stress Formation", *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 76: 1293–1306, 2013.
- [64] V.D. Reddy, P. Padmavathib, R. Hymavathia, P.N.Ch. Maturuc, "Alcohol-induced oxidative stress in rat liver microsomes: Protective effect of" *Emblica officinalis*, *Pathophysiology*, 21, 153–159, 2014.
- [65] S. Rong, Y. Zhao, W. Bao, X. Xiao, D. Wang, A.K. Nussler, H. Yan, P. Yao, L. Liu, "Curcumin prevents chronic alcohol-induced liver disease involving decreasing ROS generation and enhancing antioxidative capacity", *Phytomedicine*, 19, 545–550, 2012.
- [66] A. Kasdallah-Grissa, B. Mornagui, E. Aouani, M. Hammami, M. El May, N. Gharbi, A. Kamoun, S. El-Fazaâ, "Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver". *Life Sciences* 80, 1033–1039, 2007.
- [67] A. Cahill, C.C. Cunningham, M. Adachi, H. Isii, S.M. Bailey, B. Fromenty, A. Davies, "Effects of alcohol and oxidative stress on liver pathology: the role of the mitochondrion". *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 26, 907–915, 2002.
- [68] R.Castilla, R. Gonzalez, D. Fouad, E. Fraga, J. Muntané, 2004. "Dual effect of ethanol on cell death in primary culture of human and rat hepatocytes". *Alcohol and Alcoholism*, 39, 290–296, 2004.
- [69] P. Navasumrit, T.H. Ward, N.J.F. Dodd, P.J. O'Conner, "Ethanol induced free radicals and hepatic DNA strand breaks are prevented in vivo by antioxidants: effects of acute and chronic ethanol exposure". *Carcinogenesis*, 21, 93–99, 2000.
- [70] R. Ozaras, V. Tahan, S. Aydin, H. Uzun, S. Kaya, H. Santurk, "Nacetylcysteine attenuates alcohol-induced oxidative stress in the rat". *World Journal of Gastroenterology*, 9, 125–128, 2003.
- [71] A. Augustyniak, E. Waszkiewicz, E. Skrzydlewska, "Preventive action of green tea from changes in the liver antioxidant abilities of different aged rats intoxicated with ethanol". *Nutrition*, 21, 925–932, 2005.
- [72] B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, "Role of free radicals and catalytic metal ions in human diseases". *An Overview Methods Enzymol*, 186: 63-68, 1990.
- [73] R.S. Britton, "Metal-induced hepatotoxicity". *Semin Liver Dis*, 16: 3-12, 1996.
- [74] H. Ishii, I. Kurose, S. Kato, "Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress". *J Gastroenterol Hepatol*, 12: 272-282, 1997.
- [75] G. Poli, "Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress". *Mol Aspects Med*. 21: 49-98, 2000.
- [76] F. Armutcu, A. Gürel, S. Kurtman, A.G. Mungan, M. Ünalacak. "Alkol Alışkanlığı Olanlarda Lipid Peroksidasyonu ve Serum Demir Parametreler". *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 2: 61-67, 2003.
- [77] J.N. Ekwurugwu, C.U. Ifedi, R.C. Uchefuna, E. N. Ezeokafor, E.A. Alagwu, "Effects of zinc on male sex hormones and semen quality in rats", *Niger. J. Physiol. Sci.*, 28-1, 17, 2013.
- [78] Z. Sahin, A. Ozkaya, G. Cuce, M. Uckun, E. Yologlu. "Investigation of the effect of naringenin on oxidative stress-related alterations in testis of hydrogen peroxide-administered rats". *J BiochemMol Toxicol*. e 21928, 2017.

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ertuğrul ÇETİN
Doğum Yeri : Dört Yol
Doğum Tarihi : 03.05.1984
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ertugrulcetin0305@gmail.com

Eğitim Durumu

Derece	Alan	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Makine Mühendisliği	Osmaniye Korkut Ata	Devam ediyor
Lisans	Kimya	Fırat	2009
Lise	Fen / Fen Bilimleri	Dört Yol Atatürk Lisesi	2001