

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

KÖPEKLERDE YAŞLANMANIN ENZİMATİK VE NONENZİMATİK
ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

GAMZE AKIN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Funda KIRAL

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-15060 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

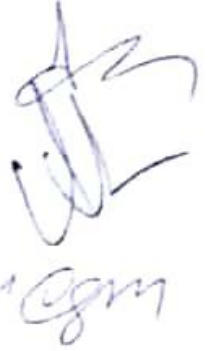
T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Veteriner) Biyokimya Anabilim Dalı Doktora/Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Gamze AKIN tarafından hazırlanan "Köpeklerde Yaşlanmanın Enzimatik ve Nonenzimatik Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi" başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora/Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 22/03/2018

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Funda KIRAL Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Metin Ögün Kafkas Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ...19.04.2018... tarih ve16..... sayılı oturumunda alınan 2018-16-I... nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmamda; öncelikle bana ışık tutan danışmanım Prof. Dr. Funda KIRAL'a, Biyokimya Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm hocalarıma, tez çalışmamın deney aşamalarının kurulumunda bana yardımcı olan Araş. Gör. Gamze Ekren AŞICI' ya ve tezimin her aşamasında desteğini benden esirgemeyen yüksek lisans öğrencisi Sema Kırılı BAKIRCI' ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde, maddi manevi yanımda olan sevgili aileme de sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Serbest Radikaller	2
2.1.1. Serbest Radikal Kaynakları	5
2.1.2. Serbest Radikallerin Etkileri	6
2.1.2.1. Lipidlere Etkileri	7
2.1.2.1.1. Malondialdehit (MDA)	7
2.1.2.2. Proteinlere etkileri:.....	8
2.1.2.3. Karbonhidratlara etkileri	9
2.1.2.4. Nükleik asitlere ve DNA'ya etkileri.....	9
2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri	9
2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	10
2.2.1.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	13
2.2.1.1.1. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	13
2.2.1.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD).....	14
2.2.1.1.3. Katalaz (CAT).....	15
2.2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	17
2.2.1.2.1. α Tokoferol.....	17
2.2.1.2.2. β -Karoten (A Vitamini).....	18
2.2.1.2.3. Koenzim Q ₁₀	18
2.2.1.2.4. Askorbik asit (Vitamin C)	21
2.2.1.2.5. Seruloplazmin.....	22
2.2.1.2.6. Ferritin	24
2.2.1.2.7. Transferrin	25

2.2.1.2.8. Laktoferrin	25
2.2.1.2.9. Hemoglobin	25
2.2.1.2.10. Miyoglobin	26
2.2.1.2.11. Albumin	27
2.2.1.2.12. Bilirubin	27
2.2.1.2.13. Glutasyon (GSH)	28
2.2.1.2.14. Melatonin	29
2.2.1.2.15. Metiyonin	30
2.3. Yaşlanma ve Antioksidanlar	31
3.GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Gereç	33
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	33
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Serum örneklerinin hazırlanması:	34
3.2.2. Eritrosit Hemolizatının Hazırlanması:	34
3.2.3. Eritrosit Hemolizatında Hemoglobin Düzeyi Ölçümü	35
3.2.4. Plazma Malondialdehit Düzeyi Ölçümü	36
3.2.5. Eritrosit Hemolizatında Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü	37
3.2.6. Serum Seruloplazmin Düzeyi Ölçümü	38
3.2.7. Eritrosit Hemolizatında Glutasyon Düzeyi Ölçümü	39
3.2.8. Serum Koenzim Q ₁₀ Düzeyi Ölçümü	40
4. BULGULAR	43
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	79

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Fe	: Demir
Fe⁺²	: Ferro demir
Fe⁺³	: Ferri demir
Cu	: Bakır
Mn	: Mangan
Zn	: Çinko
Co	: Kobalt
Mo	: Molibden
MDA	: Malondialdehit
SOD	: Süperoksit dismutaz
CoQ₁₀	: Koenzim Q ₁₀ / Ubikinon
Cp	: Seruloplazmin
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Oksitlenmiş glutasyon formu
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon S-Transferaz
GS[•]	: Tiyil radikali
O₂^{-•}	: Süperoksit radikali
OH[•]	: Hidroksil radikali
HO₂[•]	: Hidroperoksit radikali
LOO[•]	: Lipit peroksit radikali

LOOH	: Lipit hidroperoksiti
ROS	: Serbest oksijen radikali
PHGPx	: Fosfolipid glutasyon peroksidaz
Ig G	: İmmüoglobülin G
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
kDa	: Kilodalton
CuZnSOD	: Çinko ve Bakır süperoksit dismutaz
MnSOD	: Mangan süperoksit dismutaz
RES	: Retikuloendoteliyal sistem
SH	: Sülfidril grubu
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
ATP	: Adenozintrifosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Serbest Radikal	2
Şekil 2. Glutasyonun açık formülü	14
Şekil 3. Katalaz' ın üç boyutlu yapısı	16
Şekil 4. Alfa tokoferolün kimyasal formülü	17
Şekil 5. Koenzim Q ₁₀ ' un kimyasal formülü	18
Şekil 6. Koenzim Q ₁₀ ' un ATP üretimindeki yeri	19
Şekil 7. Redükte (GSH) ve okside (GSSG) glutasyon yapıları	28
Şekil 8. Melatoninin antioksidan fonksiyonu	30

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Sık Karşılaşılan Radikaller ve Simgeleri	3
Tablo 2. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve radikal hasarı sonuçları	6
Tablo 3. Serbest Radikallerin Etkileri	6
Tablo 4. Başlıca enzimatik endojen antioksidanlar	11
Tablo 5. Enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar	12
Tablo 6. Vitamin antioksidanlar	12
Tablo 7. Diğer ekzojen antioksidanlar	13
Tablo 8. Dişi köpeklere ait MDA, SOD, seruloplazmin, glutatyon ve koenzim Q ₁₀ düzeyleri.....	43
Tablo 9. Erkek köpeklere ait MDA, SOD, seruloplazmin, glutatyon ve koenzim Q ₁₀ düzeyleri.....	44

ÖZET

KÖPEKLERDE YAŞLANMANIN ENZİMATİK VE NONENZİMATİK ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

**AKIN G. Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Programı
Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.**

Bu çalışmada; antioksidan sistemde görev alan; plazma malondialdehit, eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD), serum seruloplazmin, eritrosit glutatyon (GSH) ve serum koenzim Q₁₀ (Ubikuitin) düzeylerinin klinik olarak sağlıklı köpeklerde ölçülmesi amaçlandı.

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kliniklerine aşı amacıyla getirilen ve veteriner hekim kontrolündeki Aydın-Didim Belediyesi Köpek Barınağında bulunan, iç-dış parazit muayeneleri yapılmış 37 köpek çalışmamıza dahil edildi. Yaşları 0-3 yaş aralığında bulunan 13 adet dişi genç köpek ve 9 adet erkek genç köpek ile genç grup oluşturuldu. 6 yaş üstü köpeklerden ise 7 adet dişi yaşlı köpek ile 8 adet erkek yaşlı köpek seçildi.

Analiz sonuçlarına göre lipid peroksidasyonunun göstergesi olan plazma MDA düzeylerinin dişi köpeklerde yaşa bağlı olarak arttığı ($p<0,05$) gözlenirken, eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi ile serum seruloplazmin düzeylerindeki artış ve eritrosit glutatyon düzeylerindeki azalış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Analiz sonuçlarına göre yaşlı dişi köpeklerin serum koenzim Q₁₀ seviyesi genç dişi köpeklerden $p<0,05$ düzeyinde önemli derecede daha düşüktü.

Plazma MDA düzeyleri ve eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi yaşlı erkek köpeklerde gençlere göre daha yüksek ölçüldü ($p<0,05$). Serum seruloplazmin düzeyleri genç erkek köpeklerde yaşlı erkek köpeklere göre daha düşük ölçülmesine rağmen; sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$). Eritrosit glutatyon düzeyleri ve serum koenzim Q₁₀ düzeyi yaşa bağlı olarak azalış gösterdi ($p<0,05$).

Elde edilen bulgular ile köpeklerin yaşlandıkça serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerine maruz kaldıkları, buna bağlı olarak da antioksidan aktivitelerinin değişiklikler gösterdiği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Köpek, yaş, cinsiyet, MDA, SOD, seruloplazmin, glutatyon, koenzim Q₁₀.

ABSTRACT

EFFECTS OF AGING ON ENZYMATIC AND NONENZYMATIC ANTIOXIDANT SYSTEM IN DOGS

AKIN G. Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Biochemistry Programme Master Thesis, Aydın, 2018.

This study aimed to measure levels of plasma malondialdehyde, erythrocyte superoxide dismutase activity (SOD), serum ceruloplasmin, erythrocyte glutathione (GSH) and serum coenzyme Q₁₀ (Ubiquitin) that function in antioxidant system on clinically healthy dogs.

37 dogs which had internal and external parasitic examinations, which lived in Aydın-Didim Municipality dog shelter which is under the control of a veterinarian, and which were brought to the clinic in Veterinarian Faculty of Adnan Menderes University for vaccination were included in this study. The group of young dogs aged 0-3, which consisted of 13 female and 9 male young dogs, was formed. From the older category of dogs which were over 6 years old, 7 female and 8 male old dogs were chosen.

It was observed from the results of analysis that the plasma MDA levels, which are indicative of lipid peroxidation, increased for female dogs in relation to age ($p < 0,05$), whereas the increase in erythrocyte superoxide dismutase activity and serum ceruloplasmin levels increase and the decrease in erythrocyte glutathione levels were found not as statistically significant ($p > 0,05$). The serum coenzyme Q₁₀ level for old female dogs was significantly lower than for young female dogs at level $p < 0.05$.

Plasma MDA levels and erythrocyte superoxide dismutase activity were higher in old male dogs than in young male dogs ($p < 0.05$). Although the serum ceruloplasmin levels were lower in young male dogs than in older male dogs, no significant difference was found between the results ($p > 0.05$). Erythrocyte glutathione levels and serum coenzyme Q₁₀ levels decreased in relation to age ($p < 0.05$).

Based on the finding, it was observed that the dogs were subjected to free radicals and harmful effects of lipid peroxidation and that relatedly their antioxidant activities showed differences.

Key Words: Dog, age, gender, MDA, SOD, ceruloplasmin, glutation, coenzyme Q₁₀.

1. GİRİŞ

Yaşlanma; yaş ilerledikçe hastalık ve ölüm riskinin kademeli olarak artmasına yol açan, vücudun molekül, hücre, doku, organ ve sistemlerindeki morfolojik ve fonksiyonel değişiklikleri kapsayan bir yaşam sürecidir (Abrass, 1990; Lakatta, 1990). Ardışık değişikliklerle şekillenen bu önemli yaşam sürecinin sonuçlarının çok büyük olduğunun bilinmesine rağmen, bilimsel olarak anlaşılmasına yönelik yakın zamana kadar nispeten az sistematik çaba harcanmıştır. Birçok disiplinden bilim adamı, doğanın en kompleks fenomeni olan biyolojik yaşlanmayı keşfetmeye yönelerek, biyolojik yaşlanma kavramını bir organizmanın homeostazı sürdürmedeki başarısızlığı şeklinde yorumlamıştır (Gutteridge, 1992).

Yaşlanmayı açıklamaya çalışan fizyolojik mekanizmalar genellikle teori seviyesinde kalmıştır ve bunlardan hiçbiri yaşlanmanın mekanizmasını açıklamaya yeterli değildir. Ancak bu teoriler arasında günümüzde en çok destek göreni serbest radikal teorisi (Demirel ve ark, 2006). Son yıllarda doğa kirliliği, stres ve hazır gıdaların yaygın olarak tüketimi sonucu vücutta serbest radikallerin oluşumu artış göstermeye başlamıştır (Pratico, 2002). Oksidan bileşiklerin artması sonucu gelişen oksidatif stresin lipid, protein karbonhidrat ve DNA üzerinde meydana getirdiği hasar ve birikim ise; yaşlanma belirtileri olarak karşımıza çıkar (Balaban ve ark, 2005; Çakatay ve Kayalı, 2006). Antioksidanların bir kısmının bu belirtileri bertaraf etmek üzere organizma tarafından üretilmelerine rağmen, bunların kandaki seviyeleri yaşlanma, yaşam tarzı ve çevresel faktörlere göre değişiklik gösterir (Balaban ve ark, 2005).

Köpeklerde oksidatif stres parametrelerinin verilerinin sınırlı ve çelişkili olduğu düşünüldüğünden (Freeman ve ark, 1999), klinik olarak sağlıklı hayvanlarda malondialdehit, eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD), serum seruloplazmin, eritrosit glutatyon (GSH) ve koenzim Q₁₀ (Ubikuitin) değerlerini belirlemeyi amaçladık. Ayrıca elde edilen sonuçlar yaş ve cinsiyet faktörleri ile beraber irdelenecektir.

Bu çalışma, “Köpeklerde Yaşlanmanın Enzimatik ve Nonenzimatik Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi” isimli ve VTF-15060 nolu proje olarak, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

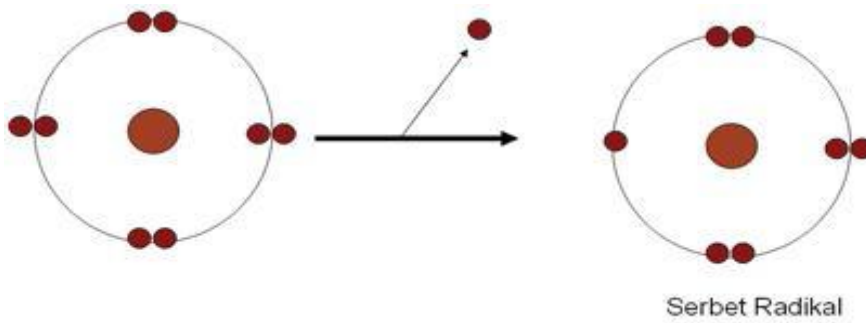
2.GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller

‘Radikal’ terimi organizmada meydana gelen bir dizi reaksiyon esnasında herhangi bir değişiklik geçirmeden kalan ve varlığını devam ettiren atom grupları için kullanılan bir terimdir (Staroverov ve Davidson, 2000).

Reaksiyonlar sırasında; bir maddenin elektronlarını kaybetmesine oksidasyon adı verilirken; kaybedilen elektronları bir başka maddenin almasına redüksiyon adı verilir. Redoks reaksiyonları elektronların transferi ile gerçekleştiği gibi; kovalent bağlarda elektron yörüngelerinin değişmesi ile de şekillenebilir. Okside olmuş ajanların elektrofilik özelliklerinin yüksek olması diğer moleküllerden elektron almalarını kolaylaştırır ve bu şekilde serbest radikallerin oluşmasına neden olurlar (Arasimowicz ve ark, 2009).

Atomun yapısı çekirdeğin içinde bulunan nötron ve proton ile çevresinde dönen elektronlar şeklinde dağılım gösterirken; atomun merkezinde bulunan çekirdeğin etrafında sıralanmış elektronların bulunduğu boşluğa orbital adı verilir. Bu orbitallerde birbirine zıt spinli ortaklanmış veya eşleşmiş olarak bulunan iki elektron olabilir (Tekkeş, 2006). En dış orbitalde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan atom veya moleküller serbest radikaller olarak adlandırılır (Şekil 1).



Şekil 1. Serbest Radikal (Türkmen ve Özdemir, 2011)

Serbest radikallerdeki eşleşmemiş bu elektrona bağlı olan atom veya moleküller reaktifler ve diğer moleküller ile reaksiyona girmeye hazır halde bulunurlar (Greene ve Paller, 1991; Reilly ve ark, 1991; Cheeseman ve Slater, 1993). Pozitif, negatif veya nötral olarak bulunabilen serbest radikallerin (Jesberger ve Richardson, 1991) yarı ömürleri çok

kısadır ve normal metabolik olaylar sırasında oluşabilecekleri gibi çok çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da meydana gelebilirler (Barber ve Harris, 1994; Halliwell, 1994). Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da onlardan elektron alabildiklerinden dolayı vücutta indirgeyici veya yükseltgeyici ajan görevlerini üstlenebilirler (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Flora, 2007).

Hidrojen atomu, halojen atomlar, oksijen türleri, klor ve brom gibi tek atomlu yapılar, sodyum, potasyum gibi alkali metal atomları ile nitrik oksit ve nitrojen dioksit radikaller arasında yer alan atomlardır. Geçiş elementlerinden Fe, Cu, Mn, Zn, Co ve Mo esansiyel elementlerdir ve bu elementler dış orbitallerinde bir veya daha fazla sayıda paylaşılmamış elektron içerirler. Buna rağmen serbest radikal olarak kabul edilmeyen bu elementler serbest reaksiyonların katalizlenmesi için gerekli olduklarından, radikal oluşumunda önemli bir yere sahiptirler. Biyolojik moleküller genellikle kovalent bağlı olup non-radikal oldukları için, (Halliwell, 1984; McCord, 1993; Akkuş, 1995; Aslan ve ark, 1995) canlılarda radikal kavramından bahsedildiğinde genel olarak oksijen merkezli radikaller akla gelir (Tablo 1).

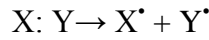
Tablo 1. Sık Karşılaşılan Radikaller ve Simgeleri (Dündar ve Aslan, 2000)

Radikal	Simge
Hidrojen	H [•]
Singlet oksijen	O ₂ ⁻
Süperoksit	O ₂ ^{-•}
Hidroksil	OH [•]
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Perhidroksi radikal	HO ₂ [•]
Triklorometil	CCl ₃
Tiyonil radikali	RS [•]
Alkoksil	RO [•]
Nitrojen oksit	NO
Nitrojen dioksit	NO ₂
Peroksil radikali	ROO [•]

Serbest radikallerin oluşması ise üç yolla şekillenir (Cheeseman ve Slater, 1993):

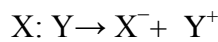
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında elektronlardan birinin kalarak homolitik bölünmesi:

Yüksek sıcaklık (500-600°C) veya yüksek enerjili elektromanyetik dalgaların etkisinde kalan kimyasal bağların kırılması ile bağ yapısındaki iki elektronun her biri farklı atomlar üzerinde yer alıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiflerdir (Türkmen ve Özdemir, 2011).



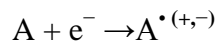
2. Normal bir molekülden bir tane elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi:

Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birinin üzerinde kalır. Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, bu molekülün radikal formu meydana gelir. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formları oluşur. Glutatyon (GSH) radikalleri indirgerken, kendisinin tiyil radikali oluşur (GS[•]). İki tiyil radikalinin birbiriyle tepkimesi sonucu oluşan tür ise glutatyonun oksitlenmiş (GSSG) formudur (Türkmen ve Özdemir, 2011).



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi:

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksitin (O₂^{•-}) oluşumuna neden olur. Bu mekanizma ile oluşan radikaller canlılar için önemlidir. Canlılarda süperoksit üretimi birçok enzimatik olmayan tepkimelerle meydana gelir. Süperoksit radikalinin yapımındaki artış, oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerinin oluşumu için etkin rol oynar (Akkuş, 1995).



2.1.1. Serbest Radikal Kaynakları

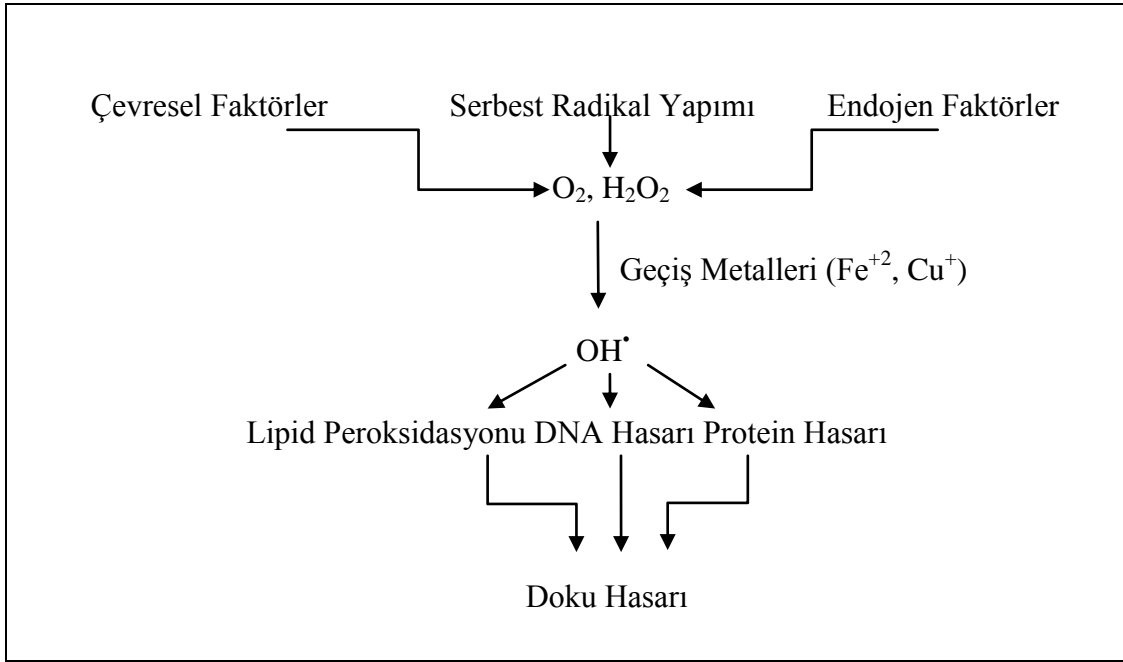
Organizmada oluşan serbest radikaller endojen ve ekzojen kaynaklı olarak gruplandırılır:

Endojen kaynaklı etmenler arasında; ksantin oksidaz enzim sistemi ve mitokondri elektron taşıma zinciri komponentleri en önemli kaynaklar olarak sayılırlar. Antioksidanların alınmasının engellendiği; stres, egzersiz, enfeksiyon, kronik hastalıklar, yaşlılık, malabsorbsiyon gibi durumlarda da serbest radikaller hücresel düzeyde açığa çıkar. Normal aerobik mitokondriyal solunum zincirine bağlı olarak ise; hidroksil, süperoksit ve hidrojen peroksit radikali oluşur. Reaktif oksijen türleri nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, ksantin oksidaz, nötrofil miyeloperoksidaz gibi birçok enzimin aktivitesinin bir sonucu olarak üretilir (Gutteridge, 1995).

Canlı sistemde serbest oksijen radikali oluşturan başlıca enzimatik kaynaklardan biri Ksantin oksidazdır. Ksantin oksidazın beyinde iskemi, ödem, damar geçirgenliğinde değişkenlik gibi oksidatif hasarlara neden olduğu ayrıca hepatit ve beyin tümörü olgularında da serum düzeylerinde artış meydana getirdiği bilinmektedir. (Gutteridge, 1995; Lavelli ve ark, 2000). Oksidan yan ürünler, karaciğerde detoksifikasyon ve eliminasyonda görevli olan sistemin aktive olması sonucu da oluşurlar. Peroksizomlar yağ asitlerinin yıkılmasından sorumludur ve burada yan ürün olarak hidrojen peroksit oluşur (Gutteridge, 1995) (Tablo 2).

Ekzojen kaynaklı etmenler arasında: ilaç toksikasyonları (karbon tetraklorür (CCl₄)) alloksan gibi bir kimyasala maruz kalma, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı gibi çevresel faktörler, iyonize ve ultraviyole radyasyon, antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucu gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunur. (Trimarchi ve ark, 2000; Çaylak, 2011).

Tablo 2. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve radikal hasarı sonuçları (Antmen, 2005)



2.1.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller; biyolojik moleküllerde çoğaldıkça, birçok hasara yol açarak varlıklarını belli ederler (Lee ve ark, 2012). Organizmada bu hasarın görüldüğü hedef yapılar, nükleik asitler (DNA/RNA), proteinler (enzimler, kollajen) ve çoklu doymamış yağ asitleridir (Tablo 3). Bu etkiler aşağıda başlıklar halinde sıralanmıştır:

Tablo 3. Serbest Radikallerin Etkileri (Yanbeyi, 1999)

Proteinler	Denatürasyon, Peptid zincirlerinde kopma
Kükürtlü aminoasitler	Enzimlerde inhibisyon Proteinlerin denatürasyonu ve çaprazlanma
Karbonhidratlar	Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Doymamış yağlar	Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon Organel, hücre ve lipitlerde çapraz bağlanmalar
Nükleik asit bazları	Mutasyonlar ve kimyasal modifikasyonlar Hidroksilasyonlar, Şekerlerde reaksiyonlar

2.1.2.1. Lipidlere Etkileri

Biyolojik moleküllerin savunma mekanizması membranlarda çeşitli faktörlerle oluşan serbest radikallerin etkisi karşısında yetersiz kalabilir ve bunun sonucu olarak; birçok molekül ve bileşik hasara uğrar. Bu hasara en fazla maruz kalan yapıların başında lipidler gelir ve bunun nedeni hücre membranında bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağlarının, serbest radikallerle reaksiyona girmeye meyilli olmasıdır. Lipidlerle gerçekleşen reaksiyonlarla, peroksidasyon ürünlerini meydana getiren serbest radikallerin (Memişoğulları, 2005) zincirleme reaksiyonları şekillenir ve geri dönüşümü olmayan durumlar ortaya çıkar.

Zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren ve serbest radikaller tarafından başlatılan kimyasal olay 'lipid peroksidasyonu' olarak adlandırılmaktadır. Lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili olan radikal ise OH^{*} radikali olarak kabul edilmektedir. Organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile bu kimyasal olayın başlıyor olması OH^{*} radikalinin etkisini ortaya koymaktadır. Bu yüzden serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden kopan hidrojen atomunun uzaklaşması ile bu yağ asidi zinciri; radikal özelliği kazanır. Oluşan lipid radikali (L^{*}) dayanıksız bir bileşiktir ve her türlü kimyasal olaydan hemen etkilenerek bir dizi değişikliğe uğramaktadır (Akpoyraz ve Durak, 1995).

Lipid peroksidasyonu; fosfolipid, gliserit glikolipid, ve steroidlerin yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidan maddeler aracılığıyla aldehit, alkol, hidroksi asit, pentan ve etan gibi ürünlere yıkılmasını kapsayan bir zincir reaksiyonudur. Molekül içi çift bağ aktarılması ile oluşan dien konjugatlarından sonra, lipid radikallerinin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi ile lipid peroksit radikali (LOO^{*}) meydana gelir. Bu lipid peroksit radikalleri de zar yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerine etki ederek yeni lipid radikallerinin oluşumuna neden olur. Kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüştürür. Böylece reaksiyonun oto-katalitik bir biçimde yürümesi sağlanır (Southorn ve Powis, 1988; Uysal, 1998). Lipid peroksidasyonu, LOOH' ın aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile son bulur.

2.1.2.1.1. Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan zincirleme reaksiyonlarda hidroperoksitler oluşur ve hidroperoksitler de daha zararlı radikal özelliği olan aldehitlere çevrilirler. Bu

bileşikler, oluştukları yerden diffüze olup hücrenin diğer kısımlarında ve dolaşım yoluyla diğer dokularda hasar oluşturabilirler (Valko ve ark, 2007). Lipid peroksidleri yıkıldığında meydana gelen lipid peroksidasyon ürünleri arasında hücrede en fazla bulunan ve çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehit; malondialdehittir (MDA) (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

İkiden daha fazla çift bağ içeren (Linolenik ve araşidonik) poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bunun sonucunda da; deformasyon, iyon transportu, membrana bağlı enzim ve reseptörlerin inaktivasyonu ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirir (Yılmaz ve ark, 2011). MDA bu özelliği nedeniyle DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir. Bu nedenle MDA mutajeniktir, hücre kültürleri için ise genotoksik ve karsinojeniktir (Akkuş, 1995; Monaghan, 2009).

Malondialdehit, yağ asidi oksidasyonunun spesifik veya kantitatif bir belirleyicisi değildir. Fakat lipid peroksidasyonun göstergesi olarak kullanılan parametrelerden biridir ve oksidatif hasarın, sistematik dolaşımında düzeyi saptanabilen dolaylı göstergesidir. Malondialdehit yükselmesi, serbest oksijen radikallerinin etkisi ile artmış lipid peroksidasyonunun kanıtıdır. Lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerine bağlı olarak, organik yapıların ve membranların fonksiyonları üzerinde, hücre ölümüne kadar ilerleyen değişiklikler oluşturur (De Zwart ve ark, 1999; Mc Cord, 2000; Fang ve ark, 2002).

2.1.2.2. Proteinlere etkileri:

Proteinlerin serbest radikal hasarına karşı duyarlılığı; aminoasit bileşimi, proteinin aktivasyonundan veya yapısının düzenlenmesinden sorumlu aminoasitlerin yerleşimi ve hasarlı proteinin tamir edilebilirliği gibi nedenlere bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin ve kükürt içeren aminoasitlerden metiyonin, sistein ile yapısında doymamış bağ bulunduran proteinler serbest radikallerden oldukça kolay etkilenirler (Trelstad ve ark, 1981). Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (Ig G) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozuldukları için, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin ROS üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin $O_2^- \cdot$ veya H_2O_2 reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (Clarkson ve Thompson, 2000)

2.1.2.3. Karbonhidratlara etkileri:

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerindeki etkisinin sonucunda oluşan çeşitli ürünler birçok patolojik süreçte önemli rol oynarlar. Koroner kalp hastalığı, diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, hipertansiyon, romatoid artrit, psöriyazis, behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu belirlenmiştir. Ancak bu hallerde serbest radikal artışının sebep ya da sonuç olduğu tam olarak netleştirilememiştir (Lelli ve ark, 1993).

2.1.2.4. Nükleik asitlere ve DNA'ya etkileri:

İyonize radyasyondan kaynaklanan hücre mutasyonları ve ölüm, serbest radikallerin DNA ile reaksiyonu sonucu oluşur. Bu olaydan özellikle hidroksil radikali sorumlu tutulur. Nükleik asit baz değişimleri ve DNA'da zincir kırılmaları sitotoksositeye neden olur ve tamir sistemlerindeki yetersizlik sonucu mutasyonlar gelişir. (Kanofsky, 1989; Floyd, 1990)

2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikal reaksiyonları nötrofil, makrofaj gibi immün sistem hücrelerinin savunma mekanizması için gereklidir. Ancak serbest radikallerin fazla üretimi ile doku hasarı şekillenebilir ve bu durum hücre ölümü ile sonuçlanır. Bu yüzden vücutta oluşan zararlı oksidanları uzaklaştırmak ve hasarı onarmak için güçlü savunma sistemleri vardır (Chapple, 1997; Dennison ve Van Dyke, 1997). Serbest radikallerle uyarılan ve oksidatif strese karşı oluşturulan bu savunma mekanizmaları; koruyucu mekanizmalar, tamir mekanizmaları, fiziksel savunma ve antioksidan savunma şeklindedir (Valko ve ark, 2007).

Serbest radikallerin oluşumuna karşı savunma sistemlerinin verdiği cevaplar dengede olduğu sürece organizma oluşan radikallerden etkilenmez ve bu durum 'oksidatif denge' olarak tanımlanır. Fakat zararlı bileşiklerin oluşumu savunma sisteminin gücünden daha hızlı olursa; bu denge bozulur ve oksidatif hasar ortaya çıkar (Sen, 2001; Meram ve Aktaran, 2002).

Antioksidan savunma mekanizmaları serbest radikal oluşumunu önlemek ve oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini elimine etmekle yükümlüdür. (Halliwell ve Gutteridge,

1999). Bu işlevleri yapan maddelere genel olarak ‘antioksidanlar’ antioksidanların bir araya gelerek oluşturdukları bu mekanizmaya ise ‘antioksidan savunma sistemi’ adı verilir (Deveci ve Güven, 2008).

Antioksidanlar;

- a) Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak,
- b) Singlet oksijeni temizleme ya da suya doyurarak,
- c) Süperoksit ve hidrojen peroksit gibi anahtar reaktif oksijen türlerini uzaklaştırarak,
- d) Oksijeni uzaklaştırarak ya da lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak,
- e) Hidroksil, alkoksil gibi başlıca serbest radikaller ve peroksil türlerini temizleyerek,
- f) Başlangıç bölüm zincirlerini kırarak serbest radikal oluşumunu engellemeye çalışırlar, (Gutteridge, 1995).

Antioksidanlarla oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesinin yöntemleri ise temizleyici, bastırıcı, onarıcı ve zincir kırıcı etkiler olarak sınıflandırılabilir;

1. Süpürücü etki: ROT’ u etkileyerek onları tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Antioksidan enzimler bu şekilde etki gösterirler.
2. Bastırıcı etki: Radikallere bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya onları inaktif forma dönüştüren bir etkidir.
3. Onarıcı etki: Bu grup içinde DNA tamir enzimleri; metiyonin sülfoksit redüktaz sayılabilir.
4. Zincir kırıcı etki: Serbest radikalleri kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin ve seruloplazmin bu tip etkiye örnek gösterilebilir (Akkuş, 1995).

2.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılır (Akkuş, 1995).

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Akkuş, 1995) (Tablo 4,5).

Tablo 4. Başlıca enzimatik endojen antioksidanlar (Akkuş, 1995; Aslan ve ark, 1995; Madi ve ark, 1999)

Antioksidan	Reaksiyonu
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Özellikle eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimidir. $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \longrightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$
Glutasyon Redüktaz	GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan Okside Glutasyonu (GSSG) tekrar indirgenmiş Glutatyona (GSH) dönüşümünü kataliz eder.
Glutasyon S-Transferaz (GST)	Lipid peroksitlere karşı GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Süperoksit serbest radikalının ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) radikallerinin moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. $(2\text{O}_2 + 2\text{H} \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2)$
Katalaz	Hidrojen peroksidi (H_2O_2) ve hidroksil (OH^{\cdot}) radikallerinin oluşumunu önlemek için bunları suya ve oksijene parçalar.
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	Solunumun zincirinin son enzimi olarak, Süperoksidi ($\text{O}_2^{\cdot-}$) detoksifiye eder.

Tablo 5. Enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar (Akkuş, 1995; Aslan ve ark, 1995; Madi ve ark, 1999)

Antioksidan	Reaksiyonu
Seruloplazmin	Ferro demiri (Fe^{+2}) ferri demire (Fe^{+3}) yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller
Transferrin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu önler.
Laktoferrin	Düşük pH' lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar.
Albumin	Proteini ve metal iyonlarını bağlar.
Bilirubin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.
Glikoz	Hidroksil radikali gidericisidir.
Melatonin	Lipofilik özelliği ile hücrelerin hemen hemen bütün organellerine hatta hücrelerine kadar ulaşabilen melatonin, hidroksil ve süperoksit radikallerini tutarak antioksidan etki gösterir.
Sistein	Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleri de toplar.

Ekzojen kaynaklı antioksidanlar; vitaminler ve diğer antioksidanlar olarak sınıflandırılır (Akkuş, 1995) (Tablo 6,7).

Tablo 6. Vitamin antioksidanlar (Aslan ve Dündar, 1999)

Antioksidan	Reaksiyonu
Vitamin E (α -tokoferol)	Süperoksit, hidroksil radikallerini indirger. Membran lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar.
B-karoten	Serbest radikal toplayıcısıdır.
Koenzim Q (ubikinin)	Tüm canlılarda endojen olarak sentezlenebildiği gibi besinlerle de alınabilen vitamin benzeri bir antioksidan olarak, mitokondriyal enerji metabolizmasında görev alır. B ₃ vitamini ile DNA onarımında rol alır.
Vitamin C (askorbikasit)	Tokoferolu indirger ve hidroksil radikal gidericidir ve Kollagen sentezinde prolin ve lizinin hidroksilasyonu için gereklidir.

Tablo 7. Diğer ekzojen antioksidanlar (Akkuş, 1995; Aslan ve Dündar, 1999)

Antioksidan	Reaksiyonu
Allopurinol, oksipurinol, tungsten, pterin aldehit	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder.
Lokal anastezikler, nonsteroid antiinflamatuvarlar, kalsiyum kanal blokerleri, adenozin	NADPH oksidaz inhibitörüdürler.
Demir şelatörleri	Hücre içinde serbest demiri bağlayarak, fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.
Desferroksamin	Serbest ferri demiri (Fe^{3+}) bağlar.
Ebselen, asetilsistein	Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) artırır.
Mannitol	Hidroksil radikalini toplayıcı etki gösterirler.
Trolox-C	Vitamin E analogu olarak görev yapar.

2.2.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.2.1.1.1. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

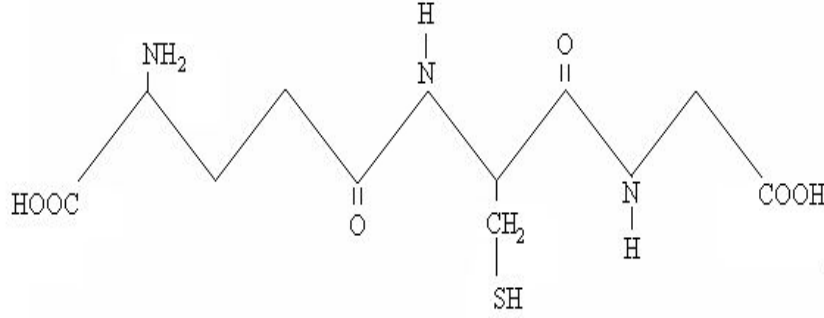
Hücrelerde meydana gelen hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasında görev alan 85 kDa molekül ağırlığına sahip bir enzim olan glutasyon peroksidaz ilk kez 1957 yılında Mills tarafından memeli eritrositlerinde saptanmıştır (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Glutasyon peroksidaz enzimi; dört protein alt ünitesinden oluşan tetramerik bir yapıdadır ve her ünitenin aktif bölgesinde bir atom selenyum elementi bulunur. Bu yüzden biyosentezinde selenyuma ihtiyaç duyulur ve bu enzimin bir selenoenzim olduğu düşünülür (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

Glutasyon peroksidazın memeli sistemlerinde dört adet izoenzimi vardır ve bu izoenzimlerin aktiviteleri dokuda; kasta düşük; kalp, akciğer ve beyinde orta; karaciğerde ise yüksek olarak derecelendirilir. Hücrede ise çoğunlukla sitozolde ve mitokondride bulunurlar (Gutteridge, 1995). Bu izoenzimlerden en çok bulunanı peroksidaz GPx1'dir. GPx2 daha çok gastrointestinal bölgede yer alırken GPx3 plazma formudur. GPx4 ise membranla ilişkili proteindir ve aynı zamanda fosfolipid glutasyon peroksidaz (PHGPx) olarak da bilinir. Her ne

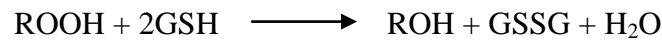
kadar işlevleri aynı olsa da her izoenzimin seviyesi dokudan dokuya değişiklik gösterir ve bu şekilde lokalize olurlar (Rojkind ve Domínguez-Rosales, 2002).

Glutasyon peroksidaz enzimi iki adet substrata sahiptir; bunlardan biri peroksitler, diğeri ise redüklenmiş glutatyonudur (Şekil 2). Glutasyon peroksidaz, redükte glutatyonu yükseltirken H_2O_2 ' i de suya çevirir ve böylece membran lipitlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korumuş olur (Memişoğulları, 2005).



Şekil 2. Glutasyonun açık formülü (Stryer, 1994)

Glutasyonun (GSH) yükseltgenmiş formu glutasyon disülfittir (GSSG). GSH-Px' in aktivitesinin devam etmesi için glutasyonun belirli bir seviyede bulunması gerekir. NADPH' e bağımlı glutasyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyonla, Glutasyon disülfid (GSSG), tekrar iki molekül GSH' a dönüşür. H_2O_2 molekülüne etki eden katalazdan farklı olarak GSH-Px, türlü reaksiyonlarda hızlı oluşan tek molekül H_2O_2 ' in ortadan kaybolmasını sağlar (Akkuş, 1995).



Glutasyon peroksidaz hidrojen peroksiti indirgediği gibi lipit peroksitlerini de indirgeyebildiği için biyolojik membranların yapısının ve fonksiyonunun korunmasında lipit peroksidasyonunu engellemede son derece önemli bir enzimdir (Mc Cord, 2000).

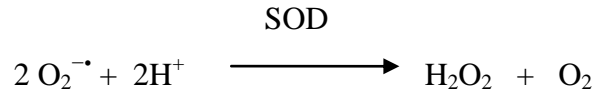
2.2.1.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), ilk kez 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanan (Riemarsma ve ark, 1991), süperoksit anyonunun hidrojen perokside ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen hücre içi antioksidan bir enzimdir. Hücresel kompartımanlardaki O_2^- düzeyleri bu sistem sayesinde kontrol altında tutulur (Sander ve ark,

2002). Süperoksit dismutaz, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur, özellikle eritrositlerde fazladır. Antioksidan savunmanın belirteci olarak tanımlanmasının sebebi vücut tarafından üretilen en güçlü antioksidan olmasıdır (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Süperoksit, metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımına neden olur, metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır ve kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar. Diğer radikallere göre daha az reaktif olmasına rağmen, süperoksit, indirgenmiş nükleotidleri, bazı aminoasitleri ve antioksidan bileşikleri (askorbik asit, glutatyon, tokoferol) oksitler (Fridovich, 1983).

Süperoksit radikali hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlüdür ve çözünürlüğü daha fazladır. Hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir çünkü bu zarın yapısı fosfolipidlerden oluşmuştur ve süperoksit burada daha kolay bir şekilde proton alarak hidroperoksit radikalini oluşturur. Bu radikal hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve tokoferol gibi antioksidanları oksitleyebilir nitelikte olup çok reaktiftir (Fridovich, 1983).

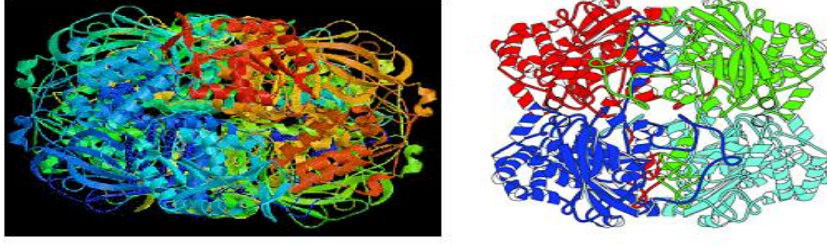


Süperoksit dismutazın enzimatik sistemlerde sitozolik, mitokondriyel ve ekstrasellüler olmak üzere 3 tipi vardır Çinko ve Bakır içerenler; CuZnSOD olarak adlandırılır ve sitozolde yer alır. Mangan içerenler ise MnSOD olarak isimlendirilir ve mitokondride yer alır. Üçüncüsü ise hücre dışında yer alan SOD formudur ve plazma membranı yüzeyinde lokalize olan heparin bağlayıcı bir proteindir (Kanta, 2011).

Süperoksit dismutazın her üç formu da metal iyonlarının varlığında (Cu ve Fe) süperoksit anyonlarını H_2O_2 ' ye çevirir. Bu enzim, reaktif nitrik oksit türlerinden olan peroksinitritin oluşumunu süperoksitlerin ortamdaki derişimini azaltarak engeller (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

2.2.1.1.3. Katalaz (CAT)

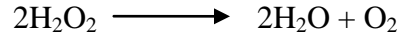
Katalaz enzimi, molekül ağırlığı yaklaşık 248000 Dalton olan, çoğu hücre tipinde farklı miktarlarda bulunan bir hemoproteindir (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999). Her bir katalaz molekülü 4 polipeptit zincirinden oluşan bir tetramer olup her bir tetramer bir adet prostetik hem grubu (Protoporfirin IX halkası) içerir (Alptekin, 2009).



Şekil 3. Katalaz' ın üç boyutlu yapısı (Cengiz, 2007)

Katalaz enzimi, karaciğer, kemik iliği, böbrekler, eritrositler, mukoz membranlar ve hücrede peroksizomlarda yüksek miktarlarda bulunur (Scibior ve Czecht, 2006).

Enzim, hidrojen peroksitle reaksiyona girerek; H_2O ve moleküler oksijeni oluşturan reaksiyonu katalize eder (Rojkind ve Domínguez-Rosales, 2002).



Oksidoredüktazlar; oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında rol olan enzimleri kapsarken, katalaz enzimi oksidoredüktazların (Oksidazlar, oksijenazlar, dehidrojenazlar, hidroperoksidazlar) bir grubu olan hidroperoksidazlar sınıfında yer alır. Hidroperoksidazlar substrat olarak hidrojen peroksit veya H_2O_2 ' ye ek olarak; etanol, metanol, fenoller ve nitritler gibi bazı çeşitli substratları da metabolize eder (Rojkind ve Domínguez-Rosales, 2002). Böylelikle, canlıyı zararlı peroksitlere karşı korurlar. Peroksitlerin birikmesi ile serbest radikallerin ortaya çıkmasına ve membran yapısının bozulmasına engel olur (Yıldırım, 2010).

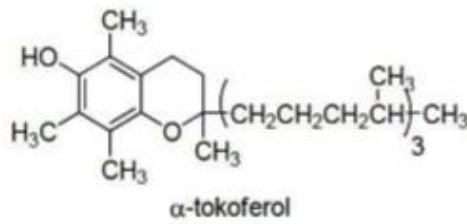


Katalaz, H_2O_2 ' in zararlı etkilerini ise iki kademedede ortadan kaldırır. İlk basamakta CAT bir molekül hidrojen peroksiti suya indirgerken kendisi porfirin katyon radikaline yükseltgenir. İkinci basamakta ise ikinci hidrojen peroksit molekülünü, moleküler oksijene yükseltgeyerek tekrar indirgenir. Bu reaksiyonlarda hidrojen peroksit moleküllerinden biri elektron alıcısı, diğeri ise elektron vericisi olarak görev yapar. Ancak katalaz büyük moleküllu lipit hidroperoksitlerine etki etmez. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Katalaz her ne kadar normal şartlar altında, bazı hücre tipleri için esasi olmasa da hücrelerin oksidatif strese karşı tolerans kazanmasında önemli bir rol oynar (Matés ve Jimenez, 1999; Rojkind ve Domínguez-Rosales, 2002).

2.2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.2.1.2.1. α Tokoferol

E vitamini; tokoferoller (Alfa, beta, gama ve delta) ve tokotrienoller olarak sınıflandırılmış bir vitamindir (Brigelius-Flohe ve Traber, 1999; Janson, 2006). Biyolojik aktivitesi en güçlü olan ve en yüksek antioksidan etki gösteren tokoferol; alfa tokoferoldür. Bu vitaminin kimyasal olarak aktif olan kısmını oluşturan fenolik hidroksil gruplu aromatik halkası; tokoferollerin antioksidan özelliğini yansıtan kısmıdır (Aydın ve ark, 2001).



Şekil 4. Alfa tokoferolün kimyasal formülü (Aydın ve ark, 2001)

Yapılan çalışmalarda genel olarak, tokoferollerin; radikallerin yok edilmesi, zincirin kırılması, baskılması, bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamını kullanıyor olması nedenleriyle antioksidan kapasitesinin çok geniş olduğu kabul edilmiştir (Kizhakekuttu ve Widlansky, 2010).

Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membranlarının fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma mekanizması ile süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipid peroksil radikallerini temizler. Lipid peroksil radikalleri ile tokoferoller reaksiyona girerek tokoferoksil radikalleri oluşturup lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinir. Daha çok hücre membranları olmak üzere hücrelerin lipid kısımlarını korurlar. Tokoferoller kolesterolün oksidasyonunu önleyerek arterosklerozisin önlenmesine katkıda bulunurlar (Saldamlı ve Sağlam, 1998; Gök ve Serteser, 2003; Anıl, 2006).

Hücre zarında antioksidan olarak Vitamin E görev yaparken; hücre içerisinde bu görevi genelde glutatyon peroksidaz (GPx) üstlenir. GPx metalloenziminin aktivasyonu için selenyum elementi gereklidir (Hoekstra, 1975; Packer, 1991; Gutteridge, 1995; Vallyathan ve ark, 1997) Vitamin E selenyum metabolizmasında da önemli rol oynadığından glutatyon peroksidaz ve Vitamin E birbirlerine tamamlayıcı etki gösterirler. Aynı zamanda Vitamin E

selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif halde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır (El-Demardash, 2004).

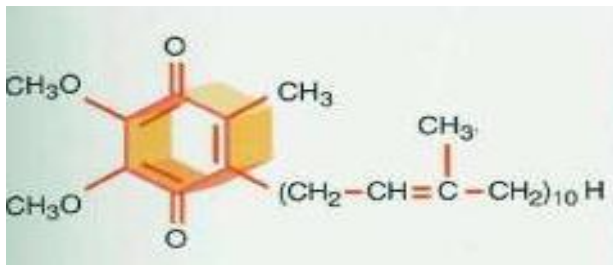
2.2.1.2.2. β -Karoten (A Vitamini)

A vitamini, hayvanlarda retinolün uzun zincirli yağ asidi esterleri halinde, bitkilerde ise bir provitamin olan β -karotenler formunda bulunur (Akkan, 1999). Yağda eriyen vitaminlerden olan A vitamininin ön maddesi olan karoten; bitkilerdeki kloroplastın bir bileşenidir (Çevik, 2004). β -karoten, α -karoten ve β -kriptoksantin A vitaminine dönüşebildikleri için provitamin A olarak da bilinirler (Saldamlı, 1998; Cemeroğlu ve ark, 2003). Tüm bu provitaminler antioksidan karotenoidlerdir (Murcia ve ark, 2009). Özellikle; sarı, turuncu sebze ve meyvelerde, yeşil sebzelerde; havuç, yeşil ve kurutulmuş yoncada β -karoten yoğun olarak bulunmaktadır (Diplock, 1998).

Serbest radikal reaksiyonlarına katılan karotenoidler antioksidan aktivitelerini; zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltarak gösterirler ve membran lipidlerini peroksidatif hasara karşı korurlar (Di Mascio ve ark, 1991). Singlet oksijen, peroksil radikali, süperoksit anyonu, vücutta nitrik oksitin oksidasyonu ile oluşan nitrojen dioksit gibi reaktif oksijen türevlerini ve serbest radikalleri temizleyerek etki ederler (Khopde, 1998).

2.2.1.2.3. Koenzim Q₁₀

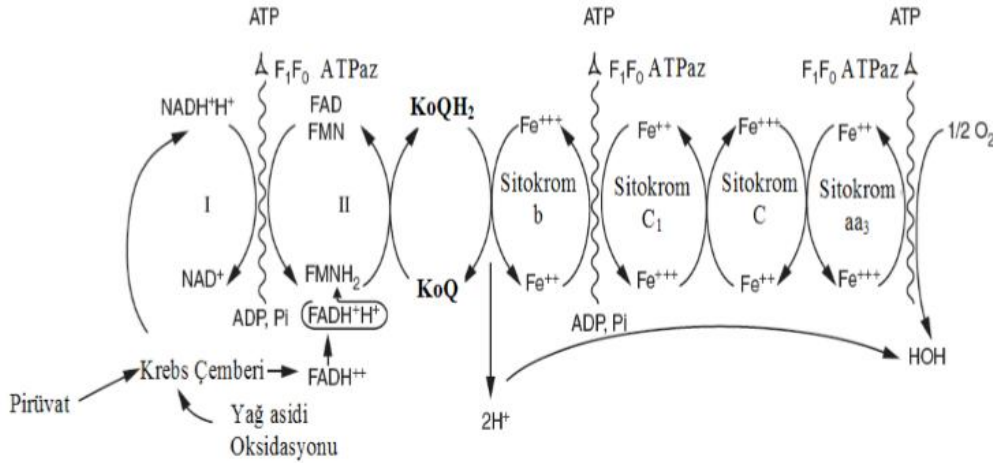
Koenzim Q₁₀' un ilk izolasyonu; sığır kalbinin mitokondrisinden 1957 yılında Winconsin' de Dr. Frederick Crane tarafından yapılmıştır. Aynı yıl içinde İngiltere' de Prof. Dr. Morton rat karaciğerinde Vitamin K ile benzer yapıda olan CoQ₁₀ bulunduğunu bildirmiş ve bu yapının kinon formda olduğunu fakat K vitamininden farklı olarak bileşik benzen halkasında 2 metoksi grubunun yer değiştirmiş şekilde bulunduğunu açıklamıştır. "Ubikinon" ya da "koenzim q₁₀" adını vermiştir (Turunen ve ark, 2004).



Şekil 5. Koenzim Q₁₀' un kimyasal formülü (Briere ve ark, 2004)

Koenzim Q₁₀ hemen hemen tüm hücrelerde, özellikle intraselüler enerji ihtiyacı fazla olan kalp, karaciğer, böbrek ve pankreasta tirozin (veya fenil alanin) ve mevalonattan üretilir. Koenzim Q₁₀' un kimyasal yapısı 2,3 dimethoxyl-5-methyl-6-decaprenil-1,4 benzoquinone şeklindedir. İsminde bulunan Q harfi bir kinon halkası içerdiğini, 6, 7, 8, 9, 10 rakamları ise isoprenoid yan zincirinde kaç adet prenil ünitesi bulundurduğunu gösterir (Karolkiewicz ve ark, 2006; Nakajima ve ark, 2008).

CoQ₁₀' un elektron taşıyıcısı özelliği yapısındaki kinon grubundan kaynaklıdır. Redoks özelliği ile elektronların kompleks I (nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz) ve kompleks II' den (süksinat dehidrogenaz) kompleks III' e (ubikinon- sitokrom c redüktaz) taşınmasını sağlar (Şekil 5). Bu yüzden, CoQ₁₀ hücresel enerjinin üretilmesinde önemli bir rol oynar (Quinzii ve Hirano, 2010).



Şekil 6. Koenzim Q₁₀' un ATP üretimindeki yeri (Berdanier ve ark, 2008)

En çok mitokondride bulunun koenzim Q₁₀' un sentezi, endoplazmik retikulumda başlayarak golgide tamamlanır, buradan hücredeki diğer bölgelere dağılır. Hayvan hücrelerinde mitokondriye ek olarak endoplazmik retikulum, golgi, lizozom, peroksizom ve plazma membranında yer alır. CoQ yüksüz olması, sınırlı miktardaki fazlalık plazma membranından kana geçebilmesini ve plazma lipoproteinlerine kolaylıkla bağlanabilmesini sağlar (Deichmann ve ark, 2010)

CoQ' nun redükte formu (ubikinol) lipit peroksidasyonunu engelleyici bir rol üstlenerek (Deichmann ve ark, 2010) lipit radikali veya lipit peroksit radikallerini yakalar. Ubikinol, Vitamin E' nin redükte formunun devamlılığını sağlayarak da lipit peroksidasyonunun inhibisyonunu sağlayabilir (Ernster ve Dalliner, 1995). Koenzim Q₁₀,

golgi cismi, lizozom, mikrozom, peroksizom ve hücre membranı gibi membranlarda doymamış lipid zincirlerine yakın olacak şekilde durarak; membrandaki lipid peroksidasyonunu engelleme ve böylelikle serbest radikal çöçülüğü yapma görevini yerine getirir. Peroksil radikaline doğrudan etki eden, ayrıca C ve E vitamininin rejenerasyonunda indirekt olarak rol alan CoQ₁₀ yoğun olarak bulunduğu organ ve organellerde enerji üretiminin anahtarı konumundadır (Crane, 2001). Koenzim Q₁₀' un hücre sinyali ve gen ekspresyonu ile birlikte hücre büyümesi ve apoptozisi kontrolünde yer alır (Crane, 2001).

Koenzim Q₁₀ endojen ve ekzojen kaynaklarda bulunur (Oudshoorn ve ark, 2006). İnsanlarda Asetil-KoA ve ekzojen kaynaklı tirozin aminoasidinin katkılarıyla kolesterol biyosentezinin de gerçekleştiği ortak bir yolda sentezlenir (Overvad ve ark, 1999). Ekzojen olarak diyet ile alınan CoQ₁₀; tavuk eti, dana eti, alabalık, soya fasulyesi, brokoli gibi tüm hayvansal ve bitkisel gıdalarda farklı oranlarda bulunur (Weber ve ark, 1997; Overvad ve ark, 1999).

Koenzim Q₁₀' un vücutta eksikliği nadir görülür, ancak sentezindeki aksaklıklar nedeni ile ilgili olarak bu durum sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Beslenme eksiklikleri nedeniyle bozulmuş CoQ₁₀ sentezi (örneğin; CoQ biyosentezinde kofaktör olan B₆ vitamini eksikliği), CoQ₁₀ sentez veya kullanımında genetik veya edinsel defekt, özel bir hastalık sonucu artan doku ihtiyacı eksikliğini ortaya çıkaran nedenler arasındadır. Bunun yanında birçok hastalık süreci örneğin; ensefalomiyopati, şiddetli multisistemik infantil hastalığı, serebellar ataksi, büyüme geriliği ile Leigh sendromu ve izole miyopati gibi sağlık sorunları CoQ₁₀ eksikliği ile ilişkilendirilir (Quinzii ve ark, 2007). Oral CoQ₁₀ desteğinin de pek çok hastalığa karşı koruyucu olabileceğine dair çalışmalar vardır. (Thorne, 2007).

Literatürde CoQ₁₀ takviyesinin sayısız sağlık faydası bildirilmiştir. Bu çalışmaların büyük bir kısmı, standart tıbbi tedavinin bir parçası olarak CoQ₁₀' un kullanıldığı kardiyovasküler hastalıklarla ilgilidir (Greenberg ve Frishman, 1990; Overvad ve ark, 1999; Langsjoen ve Langsjoen, 1999; Belardinelli ve ark, 2006). Son yıllarda, CoQ₁₀ çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda terapötik bir madde olarak test edilmektedir. Mitokondrial hastalıkların tedavisinde CoQ₁₀' un önemi artık kabul edilmektedir (DiMauro ve ark, 2006). Parkinson ve Huntington's gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde CoQ₁₀ ile yapılan ön sonuçlar umut vericidir (Kiebertz, 2001; Beal, 2002; Shults ve ark, 2002; Shults, 2003). CoQ₁₀' un potansiyel terapötik değeri başka koşullarda da belirginleşmiştir (Littarru ve Tiano, 2005; Bhagavan ve Chopra, 2006).

CoQ₁₀, tüm hayvan ve bitki hücrelerinde bulunur. Bununla birlikte, gıdalardan terapötik bir doz almak zordur. CoQ₁₀ takviyesi, yaşlı hayvanlarda enerji ve egzersiz

toleransını artırır ve bağışıklık sisteminde yaşa bağlı düşüşün düzeltilmesinde etkili olabilir. Zira Koenzim Q₁₀ eksikliği, enerji eksikliği, serbest radikal hasarının artması ve buna bağlı kardiyovasküler problemlerin artması ile sonuçlanır. Pet hayvanlarında, hayvanın boyutuna ve bireysel ihtiyaçlarına bağlı olarak değişmekle birlikte veteriner hekimlerin önerdiği tipik dozaj (özellikle 7 yaşın üzerindeki köpeklerde) her 24 ila 48 saatte 30 miligram'dır. Ancak moleküler kütlesi ve suda zayıf çözünürlüğü nedeniyle, koenzim Q₁₀' un biyoyararlılığı düşüktür. Bu yüzden koenzim Q₁₀' un ticari formlarının biyoyararlılığının artırılması ve gıdaların koenzim Q₁₀ ile zenginleştirilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır (Zaghloul ve ark, 2002, Bhagavan ve Chopra, 2007).

Hücre ve dokulara zarar veren serbest oksijen radikallerini nötralize eden koenzim Q₁₀ organizma tarafından endojen olarak da bulunabildiğinden; güçlü antioksidanlar sınıfındadır (Balaban ve ark, 2005; Demiroglu ve ark, 2006). Bu serbest radikal çöpçüsünün yaşlanma ile ilişkisine bakıldığında ise; elektron transport sisteminde, hücrelerin hayati fonksiyonları ve kas kontraksiyonu için gerekli ATP oluşumunu sağlayarak yaşlanmayı yavaşlatmadaki en önemli etmenlerden biri olduğu düşünülmektedir (Pelit ve Aydın, 2001). Hücre membranlarındaki doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonunu ve ateroskleroz gelişiminde önemli bir basamak olan LDL kolesterolün oksidasyonunu engellemesinden dolayı yaşlanma üzerindeki geciktirici etkiye sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Çakatay ve Kayalı, 2006).

2.2.1.2.4. Askorbik asit (Vitamin C)

Doğada en yaygın vitamin olarak bulunan C vitamininin kimyasal adı askorbik asittir ve C₆H₈O₆ kapalı formülü ile gösterilir. Suda çözünebilir, zayıf asidik karakterli bir ketolaktondur. Askorbik asit; algler ve karayosunlarının da dahil olduğu bütün fotosentetik ökaryotlarda bulunur (Loewus, 1980). Bitkilerdeki biyosentezi tam olarak bilinmemekle beraber, mitokondride sentezlendiği ve buradan hücrenin diğer kısımlarına aktarıldığı düşünülür (Doğan, 2005).

Çoğu hayvan kendi C vitaminini glikozdan sentezleyebilirken; başta insanlar olmak üzere bazı hayvanlar bunu diyetle almak zorundadırlar (Dave ve Shah, 1997 b).

Canlı dokularda oksidasyon ve redüksiyon olaylarındaki rolü nedeniyle beyaz, kristal halde bulunan askorbik asit; L-Askorbik asit, D-Askorbik asit ve D-izoaskorbik asit (eritorbik asit) olarak 3 çeşit izomere sahiptir. En çok bilinen izomeri L-Askorbik asittir, çünkü sadece bu izomeri biyolojik olarak aktiftir (Dizlek ve Gül, 2007).

Askorbik asidin en önemli biyokimyasal özelliği; elektronlarını kolaylıkla verebilmesinden kaynaklı antioksidan etkisidir. Birçok reaktif oksidan türleri için indirgeme ajanı olarak görev yapar. Hücresel membranlarda tokoferol radikallerini yeniden aktif formlarına indirger. Bununla birlikte serbest demir iyonları, oksidatif bozulmayı katalizleyen tehlikeli Fe^{+2} iyonlarını meydana getirebilir (Gök ve Serteser, 2003; Anıl, 2006). Bağırsaklardan emilimini, serum konsantrasyonunu, hücresel dağılımını, kullanımı ve dışarı atılımını içeren farmakokinetik özelliğe de sahiptir (Dave ve Shah, 1997 b). Güçlü bir indirgeyici ajan olması ile birlikte oksijen tutma özelliğine de sahip olması askorbik asidin organizma için önemini ortaya koyar. Sulu fazda bulunmasına karşın lipit peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek, lipitleri ve zarları da oksidan hasara karşı korur.

C vitamini antioksidan özelliğinin yanında oksidan özellik de gösterir. Fe^{+3} i Fe^{+2} e indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek hücre içi moleküldür (Memişoğulları, 2005). Ancak bu etkisini düşük konsantrasyonlarda göstermektedir, yüksek konsantrasyonlarda ise antioksidan etkiye sahiptir. Sulu fazda önemli bir zincir kırıcı antioksidandır (Odum ve Wakwe, 2012).

2.2.1.2.5. Seruloplazmin

Tek bir polipeptit zincirinden şekillenen, memeliler ve kanatlıların serum bakırının çok büyük bir kısmını oluşturan seruloplazmin (Cp); 130000 Dalton molekül ağırlığına sahip bir glikoproteindir (Cederbland, 1979). Her bir molekül başına altı bakır atomu bağlanır (Eckersall ve Conner, 1988).

Plazmada bakırın başlıca taşıyıcılığını yapar ve (Mc Pearson, 1996) sağlıklı bireylerde dolaşımdaki total bakırın yaklaşık %90-95' ini yapısında bulundurur (Fox ve ark, 1995). Bu protein ilk kez Laurel ve Holmberg tarafından 1948'de domuz ve insan plazmasından elde edilmiştir. Yapısındaki bakır atomlarından dolayı saf protein mavi renkli görünür (Curzon ve Vallet, 1960). Seruloplazmin karaciğerin paraneşim hücrelerinde (Amer ve ark, 1975; Chang ve ark, 1975; Chang ve ark, 1976) aposeruloplazmin olarak sentezlenir ve golgi organelinde 6-7 adet bakır atomu yapısına katıldıktan sonra holoseruloplazmin olarak plazmaya salınır (Perman ve ark, 1979; Yüce ve ark, 1999).

Seruloplazmin plazmada bakır taşıyan bir protein olduğundan proteinin en önemli görevinin bakır vericisi olduğu düşünülür (Silverman ve Christenson, 1994; Krüger ve ark, 1995; Wittum ve ark, 1996).

Hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplazmin, albumin, bilirubin, beta-karoten ve alfa-1 antitripsin sorumludur (Halliwell, 1991). Seruloplazmin de hücre dışı bir antioksidan olarak süperoksit radikallerini nötralize ederken (Byung, 1994), serbest oksijen radikallerini kendisine bağlayarak fonksiyonlarını engelleyici bir etki gösterir (Akkuş, 1995).

Ferrokسيدaz aktivitesine egemen olan seruloplazmin; nitrik oksit, azidler ve oksijenli bileşiklerle etkileşim halindedir ve demir metabolizması için çok önemlidir (Osaki ve ark, 1966). Fe^{+2} yi, Fe^{+3} e yükseltgeyerek (Fenton reaksiyonu) toksik ferro demirin, toksik olmayan ferri demire oksitlenmesini sağlamasıyla (Ceron ve ark, 2005) birlikte; demirle ilişkili serbest radikallerin zararlarından dokuları korumakta, çeşitli antioksidatif ve sitoprotektif olaylarda da görev almaktadır (Murata ve ark, 2004).

Seruloplazminin herhangi bir durumdaki eksikliği dolayısıyla demir metabolizmasını etkiler. Farelerde Cp eksikliğinde karaciğer ve diğer organlarda demir birikimi gözlenmiştir (Harris ve ark, 1999; Patel ve ark, 2002). Karaciğer yetersizliği ve malnütrisyon gibi protein sentez bozuklukları, protein kaybettiren enteropati, nefrotik sendrom, herediter hiposeruloplazminemi, Wilson hastalığı, Menkes hastalığı, nutrisyonel bakır eksikliği (Scheinberg ve Steinlieb, 1984; Danks, 1989) ve diyabetli hastalarda (Cunningham ve ark, 1995) plazma Cp düzeylerinin önemli düzeyde düşük olduğu bildirilmiştir. 1987'de Miyajima ve ark Aseruloplazminemi adını verdikleri, dolaşımdaki seruloplazminin hemen hemen yokluğu ile karakterize, otozomal resesif, nörodejeneratif bir hastalık tanımladı. Seruloplazmin geninde mutasyonla ortaya çıkan aseruloplazminemide; pankreas, retina ve beyinde fazla demir birikimi meydana gelmekte ve (Xu ve ark, 2004) artan demir konsantrasyonu, beyinde lipid peroksidasyonunun artmasına neden olabilmektedir (Miyajima ve ark, 2002).

Seruloplazmin, tamamen zararsız değildir çünkü yüksek seviyelerdeki bu protein aterosklerozise zemin hazırlar. Birçok araştırmacı kardiyovasküler hastalıklar ve artmış Cp seviyeleri arasında korelasyon bildirmişlerdir (Fox ve ark, 1995). Yüksek riskli akut miyokardial enfarktüs ve Cp seviyelerindeki artış arasındaki ilişki Fillandiya'da yapılan epidemiyolojik çalışmalarla da gösterilmiştir (Reunanen ve ark, 1992). Seruloplazminin akut miyokard enfarktüsünde meydana gelen inflamasyon ve iskemik dokudaki hasar sonucu akut faz reaksiyonu ile karaciğerden atılımı artarken plazma düzeyleri yükselmeye başlar (Reunanen ve ark, 1992; Fox ve ark, 2000). Geç akut faz reaktanı olarak bilinen Cp' nin (Mc Pearson, 1996) miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda enfarktüsün 24. saati sonunda bile sağlıklılara göre 2 kat artış gösterdiği bildirilmektedir (Güngör ve ark, 2004). Miyokard

infarktüsündeki artmış riskin Cp' nin pro-oksidan aktivitesinden ve LDL' yi oksidatif modifikasyona uğratarak aterosklerozun fizyopatolojisine katkıda bulunmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Lamb ve Leake, 1994).

Seruloplazmin, ferritin, transferin ve laktoferin gibi metaloproteinler, metal homeostazi ve bakır ve demir gibi önemli iz elementlerin depo rezervuarındaki kritik rolleri ile bilinmektedirler. Bu proteinlerin oksidatif stres şartları altında uyarıldıklarına dair kanıtlar mevcuttur. Bu proteinler redoks aktif metaller olan demir ve bakırı bağlayarak onların Fenton reaksiyonu yoluyla ROS üretimini katalizleme kapasitelerini azaltırlar. Böylece ROS' un zararlı etkilerini önlerler (Rojkind ve Domínguez, 2002).

2.2.1.2.6. Ferritin

Ferritin; 440 kDa molekül ağırlığında, 24 alt birimi olan bir proteindir (Domenico ve ark, 2011). Ferritinin, demiri depolama ve işlev dışı demiri toksik olmayan halde tutma gibi görevleri vardır (Wilson, 2009). Vücutta hemen hemen tüm hücrelerde bulunabilir; özellikle karaciğer, dalak ve kemik iliğinde bol miktarda mevcuttur. Bir ferritin molekülü 4500 demir atomu içeren ferrik hidroksifosfat yapısında bir çekirdek ve onun etrafını saran apoprotein kabuktan oluşur ve suda eriyebilir formdadır (Ganong, 1991; Soner ve Kurdoğlu, 1993).

Ferritin, demir depo proteini olmak için bütün özelliklere sahiptir. Öncelikle apoferritin Fe^{+2} yi alır, Fe^{+3} e oksitler ve çekirdekte depolanır. İkinci olarak; Fe^{+3} ün Fe^{+2} ye indirgenmesi ile demir salınımı şekillenir. Son olarak apoferritin sentezini stimüle eder (Worwood, 1980). Normalde plazmadaki ferritin düzeyi sellüler ferritin miktarı ile orantılıdır. İntrasellüler ferritinin sentezi, düz endoplazmik retikulumda intrasellüler demir azlığı veya yüksekliğine bağlıdır. Kısaca plazma ferritin konsantrasyonu vücut demir depolarını yansıtır (Ülkü, 2001).

Antioksidan enzim fonksiyonunda anahtar rol oynayan Demir (Fe^{+2}), hidrojen peroksidin hidroksil radikaline dönüşümünde katalizör olarak rol alır (Liochev ve Fridovich, 1994). Hücrel demir seviyeleri fenton reaksiyonu yoluyla aşırı hidroksil radikali oluşumundan kaçınmak için minimum seviyede tutulur. Bu da demir depo proteini ferritin yoluyla sağlanır (Tsuji ve ark, 2000).

2.2.1.2.7. Transferrin

Transferrin; iki demir atomu bağlama kapasitesine sahip, 95000 Dalton molekül ağırlığında bir glikoproteindir (Yıldız ve Yüksel, 1996). Transferinin görevi temelde demir taşımayla ilişkilendirilir. Metal katalizli lipid peroksidasyonuna yol açan demir iyonlarını bağlayarak serbest demir oluşmasını önler (Halliwell ve Chirico, 1993). Ayrıca fizyolojik durumlarda demiri çözümler halinde tutulmasını sağlaması, demirin ilişkili olduğu serbest radikal toksisitesini önlemesi, demirin hücrelere girişini kolaylaştırması gibi görevler üstlenir (Andrews ve ark, 2009).

Transferrinin en çok sentezlendiği organ karaciğerdir. Testisin sertoli hücreleri, santral sinir sisteminin oligodentrositleri, lenfositler, kas hücreleri de bu proteini üretir (Gerber ve Connor,1989). Transferinin demire afinitesi diğer bütün demir bağlayan ajanlardan daha yüksektir. Bu özelliği demirin sadece plazmada değil, enterositlere taşınmasında da etkilidir (Provan, 1999).

2.2.1.2.8. Laktoferrin

Laktoferrin, transferrin ailesine ait, 80 kDa ağırlığında tek zincirli bir glikoproteindir. Polimorfonükleer lökositlerin spesifik granülleri içerisinde mukozal yüzeylerde ve süt, tükürük ile seminal sıvı dahil biyolojik sıvılarda bulunur. İlk defa süttten izole edilmiş olması laktoferrin' e adını vermiştir (Emekli ve Yarat, 2008; Legrand ve ark, 2008).

Laktoferinin yapısını; amino ve karboksi olarak ayrılan iki lob oluşturur. Her bir lob, demir, bakır, çinko gibi tek bir metal iyonunu bağlayabilir. Her demir atomu, iki tirozin, bir aspartat ve bir adet histidin olmak üzere dört protein ligandı arasına yerleşir. Bunlara eşlik eden anyon genelde bikarbonat anyonudur. Bu yönleri ile laktoferrin, transferin ailesine ait olduğunu kanıtlar. Demir emilimi, antimikrobiyal aktivite, inflamasyon sırasında demir metabolizmasının düzenlenmesi gibi demir bağlama özelliklerine yönelik birçok çalışma bulunur (Berlutti ve ark, 2004; Emekli ve Yarat, 2008).

2.2.1.2.9. Hemoglobin

Hemoglobin; hem ve globinin birleşmesi ile meydana gelen bir proteindir. Hem kısmı alfa metilen köprüleri ile birbirine bağlanmış 4 pürol molekülünden oluşur. Bu düzeysel

halkanın ortasında bir ferro demir (Fe^{+2}) bulunur. Kanın kırmızı rengini veren eritrositlerin yapısında bulunan hemoglobin bir kromoproteindir (Cotton ve ark, 1999).

Hemoglobin en çok akciğerden doku kapillerine oksijen taşınması fonksiyonunun görüldüğü eritrositlerde bulunur. İtemel görevi vardır; birincisi Oksijeni akciğerden alıp dokulara götürmesi iken ikinci görevi, dokulardan karbondioksiti alarak akciğerlere getirmesidir (Noyan, 1993).

Hemoglobin molekülünün suda çözünmesini; globulinin dış kısmının hidrofilik olması sağlar. Hidrofilik olan cep kısmında ise; suyun girmesi önlenerek oksijen taşınmasına olanak sağlanır. Normal olan akciğerlerden dokulara taşınan oksijenin % 97- 98 kadarı hemoglobin molekülü ile geriye dönüşümlü reaksiyonlar şeklinde taşınır (Murray ve ark, 1993).

Hemoglobinin antioksidan işlevi ROT' u ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendine bağlayıp; zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki göstermesidir (Berköz ve ark, 2008).

2.2.1.2.10. Miyogloblin

Miyogloblin; hemoglobin gibi hem grubu içeren, 153 aminoasitten oluşan globüler bir proteindir. Kalpte ve iskelet kası sitozolünde yer alarak bu dokuların toplam ağırlığının %2'sini oluşturur (Kagen ve ark, 1975). Metalligant komplekslerinden biri olan miyogloblin; kandaki oksijen basıncının düştüğü durumlarda, depoladığı oksijeni serbest bırakarak Oksijenasyon (oksijenlenme) ve deoksijenasyon yeteneği ile gerekli ihtiyacı karşılar (Kanner ve ark, 2006). Kısa ve uzun süreli oksijen depolama, intrasellüler oksijen difüzyonunu kolaylaştırma, oksijeni toplama, biyokimyasal katalizör olarak çalışma ve oksijeni algılama gibi fizyolojik fonksiyonları üstlenir (Flögel ve ark, 2001).

Miyogloblinin elektron transfer zincirinde bir fonksiyonu yoktur ancak in vitro koşullarda çeşitli oksidatif reaksiyonları ve prosesleri katalizlediği kanıtlanmıştır. Memeli hücrelerinde oksijen ve enerji depolanmasının yanında taşınmasında da önemli rol oynar (Samsøe ve ark, 1986). Miyogloblin, hasarlı miyokard hücreleri tarafından dolaşıma salınır ve infarktüsün başlangıcından hemen sonra artan konsantrasyonlarda serumda belirlenebilen, düşük molekül ağırlıklı bir proteindir.

2.2.1.2.11. Albumin

Karaciğerde sentezlenen ve plazma proteinlerinden olan albümin, plazma onkotik basıncın ayarlanmasında önemli bir yere sahiptir ve kan pH'ının ayarlanmasında da tampon görevi görür. Aminoasit deposu gibi görev yaparak karaciğerin protein sentezi aktivitesini destekler. Tiroksin, bilirubin, kortizol, östrojen, serbest yağasitleri, warfarin ve penisilin gibi birçok ilacın ve kalsiyum, magnezyum, gibi metabolizma için önemli ya da toksik olan organik veya inorganik birçok maddenin taşınmasında görevlidir (Smi ve ark, 1993; Carter ve Ho, 1994; Sugio ve ark, 1999).

Albumin üzerinde biri yüksek, diğeri düşük afiniteli iki bağlanma bölgesi vardır ve her bir albumin molekülü bu bağlanma bölgeleriyle 2 bilirubin molekülünün taşınmasını sağlar (Schmid, 1972; Can ve ark, 2002). Vücutta tüm bu fonksiyonlarına ek olarak bakır iyonunu bağlama özelliği bulunur ve bu sayede bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder (Dündar ve Aslan, 2000).

2.2.1.2.12. Bilirubin

Bilirubin; eritrositlerin dalak, karaciğer ve kemik iliğindeki retikuloendotelial hücreler tarafından parçalanmaları ile ortaya çıkan hemoglobin ve diğer hemoproteinlerin "hem" fonksiyonel grubunun yıkım yan ürünüdür. Hemoglobin; hem ve globin şeklinde katalizlenir ve globin yıkılarak aminoasitler arasında yerini alır (Tiribelli ve Ostrow, 1990; Oran ve Gürakan, 1995). Hem'in katabolizması sonucu ile de ortaya çıkan bilirubinin %75'i yaşlanmış eritrositlerin retikuloendotelial sistemde (RES) lizisi sonucu ile oluşurken; geri kalan %25'lik bölümü ise myoglobin, sitokrom, katalaz, siklooksijenaz, guanil siklaz, nitrik oksit sentetaz ve peroksidaz gibi hemoproteinlerin yıkımı ile oluşur (Dağoğlu ve Ovalı, 2000; Can ve ark, 2002; Shapiro, 2003).

Hem yıkımının ilk basamağının tamamlanması ile retikuloendotelial sistem veya hepatik parankim hücrelerinde oluşan bilirubin dolaşıma salınır ancak; konjuge olmadığından, suda çözünemediği için plazmada taşınması sadece albümin veya alfa-feto protein gibi proteinlere bağlandığında mümkün hale gelir (Schmid 1972; Mac Mahon ve ark, 1998; Can ve ark, 2002).

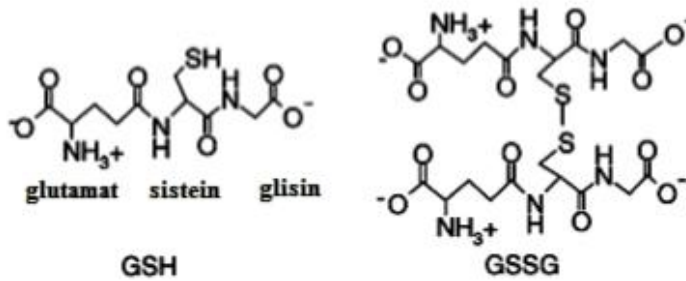
Bilirubin; serbest radikal ürünlerin ve peroksitlerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı oluşturulan antioksidan savunma sisteminde enzimatik olmayan antioksidanlar sınıfında yer alır. Lipit peroksidasyonunu inhibe eder, hidroksil ve hidrojen peroksit radikallerinin

temizleyiciliğini yapar. Bağırsaktan emilerek karaciğere gelen bilirubinin bir kısmı safra ile tekrar bağırsağa atılır, bir kısmı ise karaciğerde doymamış yağ asitleri peroksidlerinin oluşumunu önler ve antioksidan görevini yaptıktan sonra yıkılır (Shapiro, 2003). Ayrıca taşınması için gerekli olan albuminin de antioksidan etkisi vardır (Krijgsman ve ark, 2002).

2.2.1.2.13. Glutasyon (GSH)

Glutasyon; hücrelerde çok düşük konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen, enzimatik olmayan antioksidanlar arasında en önemli olanıdır (Finkel ve Holbrook, 2000). 1888 yılında De Rey Pailhade tarafından ilk olarak izole edilmiş, 1921’de Hopkins tarafından kristalleştirilmiş ve 1929’ da kimyasal formülü açıklanmış olan bir tripeptittir. 1935 yılında Harrington ve Mead tarafından d-L-glutamil-L-sisteil-glisin halinde sentez edilmiştir (Gözükara, 1989).

Glutasyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşur (Şekil 6). Genelde redükte hali GSH olarak kısaltılır; SH sisteinin sülfidril grubunu ifade eder ve molekülün alışveriş yapan kısmıdır. Okside formu ise GSSG glutasyon disülfittir (Stryer, 1994).



Şekil 7. Redükte (GSH) ve okside (GSSG) glutasyon yapıları (Valko ve ark, 2007)

Glutasyonun sentezi, glutamil sistein sentetaz ve glutasyon sentetaz enzimlerinin ard arda aktivasyonları ile katalizlenir. Oksidatif stresin bir göstergesi olarak artan oksitlenmiş glutasyon; tiyol içeren proteinlerin konformasyonu ve aktivitesi üzerine zararlı etkiler yaratır. Prooksidan bir madde olduğu için hızla redüklenmesi gerekir. Yükseltgenmiş glutasyonun tekrar indirgenmesi NADPH’ in da kullanıldığı bir reaksiyonla olur. Bunun için iki glutasyon disülfid bağı ile birleşerek, okside glutasyonu (GSSG) oluşturur. Daha sonra bu molekül

pentoz fosfat yolunda sentezlenen NADPH^+ ve H^+ ile reaksiyona girerek redükte hale geçer ve indirgenmiş durumda hemoglobin ile eritrosit hücre proteinlerinin sistein artıklarını muhafaza eden bir sülfidril tamponu olarak görev yapar (Gözükara, 1989).

Glutasyonun eritrositlerin normal hücre yapısının korunması ve hemoglobindeki demirin ferro durumunda tutulması için de gerekli olduğu düşünülür. Hücrelerin hemolize olan dayanıklılığını indirgenmiş glutasyon konsantrasyonunun miktarı belirler. Daha düşük düzeyde indirgenmiş glutasyon, hemolize daha hassas bir yapıdadır (Stryer, 1994). Ayrıca protein yapısındaki -SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Aminoasitlerin membrandan taşınmasını sağlar. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önler. İndirgenmiş glutasyonun peroksitlerle ve disülfidlerle GPx enzimi varlığında reaksiyonu sonucu GSSG (okside glutasyon) oluşur. GSH-Px redükte glutasyonun (GSH) glutasyon di sülfite (GSSG) dönüşümüyle H_2O_2 'nin yıkımını katalizler (Yue ve ark, 2010).

Suda çözünebilen bir yapıda önemli bir antioksidan olan glutasyon; hücre içi indirgenme reaksiyonlarında, kataliz olaylarında, metabolizmada ve aminoasitlerin transportunda rol alan indirgeyici bir ajandır. Hücreleri, serbest radikallere, reaktif oksijen türlerine, endojen ve ekzojen orijinli toksik bileşiklere karşı korur (Rose, 1984; Murray ve ark, 1996). Glutasyon peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substrat veya kosubstratıdır. İndirgenmiş form H_2O_2 ve organik peroksitlerin sebep olduğu detoksifikasyon reaksiyonlarına girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. (Stryer, 1994; Murray ve ark, 1996).

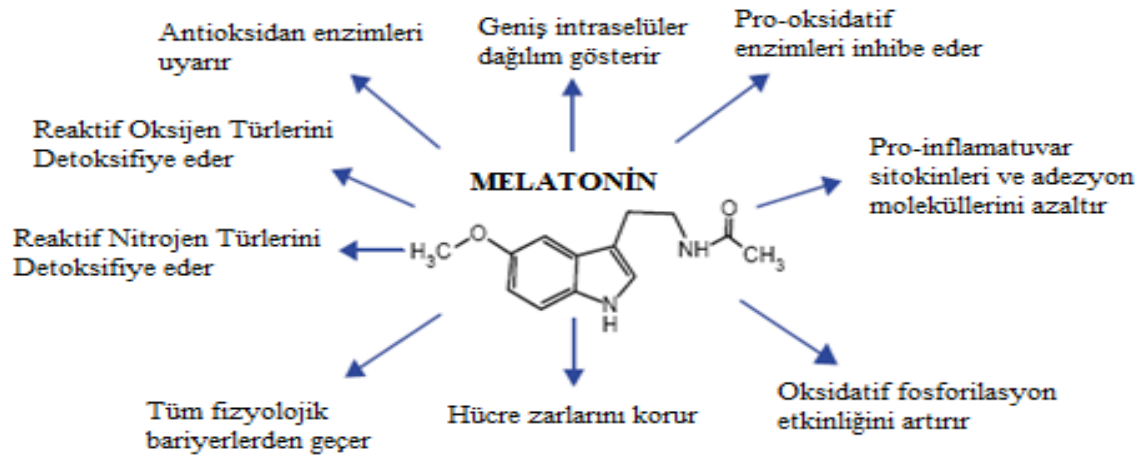
2.2.1.2.14. Melatonin

Melatonin, diğer adıyla N-asetil-5-metoksitriptamin ilk kez sığır pineal ekstrelerinde melanin granüllerini agrege etme ve kurbağa derisinin rengini değiştirmesiyle farkedilerek tanımlanmıştır. Pineal bez, karanlıkta ve sirkadiyan bir ritimde salgıladığı melatonin hormonu aracılığıyla vücudun diğer kısımlarına zaman sinyalleri gönderir. Böylece, günün ve yılın farklı zamanlarına bağlı fizyolojik siklusların senkronizasyonunu sağlamada önemli bir rol alır (Beyer ve ark, 1998; Alonso ve ark, 2006; Harmandaro, 2008).

Pineal bezden dolaşıma verilen melatonin lipofilik özelliğinden dolayı direkt olarak veya spesifik reseptörler aracılığıyla hedef hücrelere ulaşır (Reiter, 1991). Melatoninin, ruhsal durumun sıkı bir düzenleyicisi, uyku, retinal fizyoloji, seksüel davranışlar, mevsimsel üreme fizyolojisi ve üreme davranışları, sirkadiyan ritimler ve immünolojik fonksiyonda güçlü bir

biyolojik modölatör olduğu bilinmektedir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretiminin azalması da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli bir rolü olduğunu işaret etmektedir (Tuncer ve ark, 1998).

Melatonin, lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını kırmada C vitamini ve α -tokoferolden 10 kat daha güçlü etkiye sahiptir (Beyer ve ark, 1998; Pahkla ve ark, 1998; Mazepa ve ark, 2000; Alonso ve ark, 2006). Diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda kullanılsa da toksik bir etkisi yoktur.



Şekil 8. Melatoninin antioksidan fonksiyonu (Reiter, 2000)

2.2.1.2.15. Metiyonin

Metiyonin; insanlar ve hayvanlar tarafından sentezlenemediği için ekzojen olarak alınması gereken, apolar ve esansiyel bir aminoasittir (Ensminger, 1990; Stryer, 1995, Grimble, 2006).

Metiyonin vücuttan toksinlerin atılmasına yardım eden ve karaciğerde yağ toplanmasına engel olarak karaciğerin düzgün çalışmasını sağlayan lipotropik bir aminoasittir. Vücutta doğal antioksidan olarak bulunan glutatyonun üretiminde kullanılan sülfürü içerir. Ayrıca sistein ve taurin gibi, sülfür içeren, vücuttan toksinlerin atılmasını sağlayan, sağlıklı dokuların oluşturulması ve kalp sağlığı için önemli aminoasitlerin üretimi için metiyonin gereklidir. Ayrıca metiyonin, toksik olan asetaldehidin düzeyini düşürerek alkolün zararlı etkilerini azaltır (Amanvermez ve ark, 2008).

Metiyonin, kaslarda bulunan, kasların hareketi için gerekli olan enerjiyi sağlamasında görevli, kısa ve yoğun antrenmanlarda performansı artıran kreatinin üretiminde de yer alır.

Kreatin bütün kaslar için gerekli olduğu gibi kalp kaslarının normal çalışması ve dolaşım sisteminin sağlığı için de gereklidir (Wassef ve ark, 2007).

Parkinson hastalarında yapılan çalışmalarda metiyoninin indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarına bağlı olarak katalitik etki yaratması ve hücreleri oksidatif hasara karşı koruması nedeniyle tedaviye katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (Wassef ve ark, 2007).

2.3. Yaşlanma ve Antioksidanlar

Yaşlanma; bir sistemin fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlardan kaynaklanan ekzojen ve endojen stres faktörlerine karşı cevap verme yetisinde azalma ile karakterize, çok yönlü ve zamana bağımlı çeşitli fizyolojik işlevlerdeki gerileme ile kendini gösteren biyolojik bir süreçtir (Tüzün ve Dolar, 2005).

Tüm canlı varlıklarda, yaşlanma süreci yıpranma ve bozulma ile birlikte ilerlese de onarım ve yeniden yapım mekanizmaları da bu süreç içerisinde şekillenmeye devam eder. (Duyar ve ark, 2008). Bu süreç; tüm canlılarda yaş ilerledikçe molekül, hücre, doku, organ ve organ sistemleri düzeyinde kendini gösterir. Canlının hayata başlamasıyla birlikte gelişmesi, kendini yenilemesi, hareket etmesi, üremesi, metabolik olayları gibi hayati fonksiyonlarında gerileme hatta fonksiyon kaybıyla karşımıza çıkar ve ölümle son bulur. Yaşlanmanın kendini belli etme ve ilerleme hızının farklı türlerde, aynı türdeki farklı canlılarda, bir organizmanın dokularında, dokudaki hücre tiplerinde ve hücredeki makromoleküllerde oldukça değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (Burçak ve Andican, 2004; Viña ve ark, 2007).

Yaşlanmayı etkileyen faktörleri belirlemeye yönelik çok sayıda klinik ve laboratuvar çalışması yapılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda yaşlanmanın tek bir faktöre bağlı olmadığı, kalıtsal ve çevresel faktörlerle yaşam tarzının bir bileşkesi olarak gerçekleştiği kabul edilmiştir. Yaşlanmada, genetik yapı başta olmak üzere beslenme ve egzersiz alışkanlığı, sigara, alkol kullanımı gibi yaşam stili ile ilgili etkenler, stres, serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar gibi bazı moleküllerin organizmadaki düzeyi, hipertansiyon ve diyabet gibi kronik hastalıkların varlığı olmak üzere birçok faktörün etkili olduğu belirlenmiştir (Medvedev, 1990; Rattan, 2006).

Canlıların yaşlanma süreçlerine yönelik birçok teori ortaya atılmıştır (Medvedev, 1990). Bu teorileri iç ve dış etkenler olarak iki ayrı sınıflandırma yapmak mümkündür. İç etkenler; yaşlanmanın kalıtsal olarak programlanmış gelişimsel mekanizmayla kontrol edilen bölümünü oluşturur. Bu teorilerden bazıları uzun yaşam genleri teorisi, nöroendokrin teori,

immunolojik teori, hücresel yaşlılık teorisi, hücre ölümü teorisi (Jazwinski, 2000). Dış etkenler ise; rastlantısal olarak canlı moleküllerde oluşan hataların hepsinin yaşlılığın gelişimine neden olduğunu savunur. Oluşan bu hataların yarattığı hasarlar birikerek fizyolojik aktiviteyi azaltır. Buna yönelik teoriler arasında; somatik mutasyon ve DNA tamir teorileri, ölümcül hata teorisi, proteinlerin değişikliğe uğraması teorisi ve serbest radikal teorisi bulunmaktadır (Levine, 1996)

Yaşlanma konusunda ortaya atılan bu teoriler arasında, serbest radikal teorisi en fazla kabul gören ve en çok araştırılan teoridir. 1956 yılında Harman yaşla birlikte hücre ve dokularda biriken bazı değişikliklerin hastalık ve ölüm riskini arttırdığını söylerken, yaşlanma sürecinin iki önemli faktörü olan biyolojik fonksiyonlar ve strese dirençteki azalma ile hastalık eğilimdeki artışa dikkat çekerek serbest radikal teorisini ortaya atmıştır (Beckman ve Ames, 1998). Bu teori ile bütün canlıların yaşlanmasından sorumlu olan faktörlerin genetik ve çevre ile ilgili olduğunu savunmuştur. Buna göre yaşlanma ve ona bağlı olarak ortaya çıkan dejeneratif hastalıklar, serbest radikallerin hücre bileşenleri ve bağ dokusuna yaptığı saldırıların bir sonucudur (Arnal ve ark, 1996; Tirlapur ve ark, 2001; Krasnovsky ve ark, 2003; King ve ark, 2004; Uysal, 2010).

Yaş ilerledikçe oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki denge oksidanlar lehine bozulur ve oksidatif hasar şekillenir. Bu hasar; hücrelerin büyüme ve gelişme fonksiyonlarındaki bozulma ile kendini gösterirken; kanser ve ateroskleroz gibi hastalıklara da neden olabilir. Son olarak ise ölüm ile kendini gösterir (Arnal ve ark, 1996; Tirlapur ve ark, 2001; Krasnovsky ve ark, 2003; King ve ark, 2004; Uysal, 2010).

Yapılan çalışmalarla, yaşlanmaya karşı ve yaşlanmayı geciktirmeye yönelik olarak kullanılan anti-aging uygulamalar da artmıştır. Bu çalışmalarla vücudun bir bütün olarak orantılı ve sağlıklı yaşlanması istenirken; yaşlanmayı da olabildiğince yavaşlatmak hedeflenmiştir. Diyet kısıtlaması, vücutta daha fazla antioksidan üretimini sağlayacak gen tedavileri, daha fazla antioksidan içeren genetik olarak üretilmiş bitkiler, sentetik antioksidan enzimler, antioksidanlardan zenginleştirilmiş gıdalar tüketilmesi bu amaçlara yönelik alternatifler arasında sayılabilir. Doğru beslenmek, egzersiz, çevresel ve psikolojik streslerden uzak durmak (çevre şartları, UV ışınları, alkol, sigara, düzensiz yaşam) ile takviye edilen anti-aging uygulamalar en doğru adımlarla yaşlanmaya direnme yolu olarak belirlenmiştir (Yu, 1996; Percival, 1998; Adachi ve Ishii, 2000; Borek, 2001; Dykens, 2001; Bokov ve ark, 2004;).

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmada; Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kliniklerine aşı amacıyla getirilen ve veteriner hekim kontrolündeki Aydın-Didim Belediyesi Köpek Barınağında bulunan, iç-dış parazit muayeneleri yapılmış, klinik olarak sağlıklı, farklı yaş gruplarından olan toplam 37 köpek kullanıldı. Yaşları 0-3 yaş aralığında bulunan 13 adet dişi genç köpek ile 9 adet erkek genç köpek genç grup olarak belirlendi. 6 yaş üstü köpeklerden ise 7 adet dişi yaşlı köpek ile 8 adet erkek yaşlı köpektten yaşlı grup oluşturuldu. Çalışmaya başlamadan önce Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan 14.08.2015 tarih ve 2015/082 sayılı etik kurul kararı ile onay alındı.

Kan örnekleri, çalışmaya dahil edilen köpeklerin ön bacaklarında bulunan *Vena Cephalica Antebrachii*' den, etik kurallara uygun şekilde heparinli tüp ve serum tüpü olmak üzere 2 ayrı tüpe, yaklaşık 3'er ml alındı. Analizler Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Analizler sırasında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında bulunan; distile su cihazı (Nüve), spektrofotometre (UV-1601 Shimadzu Corporation, Avusturalya), etüv (Memmert), pH metre (Hanna Instrument), soğutmalı santrifüj (Nuve), manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica), su banyosu (Nüve), -80°C derin dondurucu (Nuair), +4 buzdolabı (Indesit) analitik terazi (Denver Instrument), ELİSA okuyucusu (Optic Ivymen System 2100-C, İspanya)-çalkalayıcısı (Insel Hamble SO38DH, İngiltere) otomatik pipetler ve çeşitli cam malzemeler kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Analizler sırasında kimyasal madde olarak; Triklorasetik Asit ($C_2HCl_3O_2$, Sigma Aldrich), Tiyobarbitürik Asit ($C_4H_4O_2N_2S$, EMD Millipore Corporation), Absolut Etanol

(C₂H₅OH, MERCK), n-Butanol (C₄H₁₀O, Sigma-Aldrich), Metafosforik asit (H₃PO₄, Sigma-Aldrich), Etilendiamintetraasetik asit (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈, EMD Millipore Corporation), Sodyum klorür (NaCl, EMD Millipore Corporation), Disodyumhidrojen fosfat (Na₂HPO₄, EMD Millipore Corporation), Dinitrobenzoik Asit (C₇H₄O₆N₂, Sigma-Aldrich), Sodyum Sitrat (C₆H₅Na₃O₇, EMD Millipore Corporation), p-Fenilendiamin (C₆H₈N₂, Sigma), Asetik Asit (C₂H₄O₂, Sigma-Aldrich), Sodyum Asetat (CH₃COONa, EMD Millipore Corporation), Sodyum Azid (NaN₃, Aldrich), Kloroform (CHCl₃, Sigma-Aldrich), Ksantin (2,6 dihydroxypurine, Sigma), Sodyum hidroksit (NaOH, Merck) Ksantinoksidaz enzim (20U/ml) (Sigma), Amonyum sülfat ((NH₄)₂SO₄, Sigma-Aldrich), Nitroblue tetrazolium (C₄₀H₃₀Cl₂N₁₀O₆, Sigma-Aldrich), Sodyum karbonat (Na₂CO₃, Sigma-Aldrich), Bakır (II) klorür (CuCl₂, Carlo Erba), Potasyumklorür (KCl, EMD Millipore Corporation), Potasyumdihidrojen, fosfat (KH₂PO₄, Carlo Erba), Potasyumferriyosiyaniür (K₃Fe(CN)₆, EMD Millipore Corporation), Potasyum siyaniür (KCN, EMD Millipore Corporation), Sodyum hidrojen karbonat (NaHCO₃, EMD Millipore Corporation), Koenzim Q₁₀ ELİSA Kit (Köpek, Bioassay Technology Lab., E0155Ca) kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Serum örneklerinin hazırlanması:

Tüm hayvanlardan alınan kan örnekleri; 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra serum örnekleri ependorflara konuldu ve analiz yapıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.2.2. Eritrosit Hemolizatının Hazırlanması:

Enzim analizleri için kullanılan eritrositlerin hazırlanmasında Winternbourn (1975) tarafından bildirilen yöntemden faydalanıldı.

Kullanılan Ayıraçlar:

Salin fosfat tampon çözeltisi (PBS): 8,06g Sodyum klorür (NaCl) (138mM), 0,201g Potasyum klorür (KCl) (2,7mM), 0,2g Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) (1,47mM), 1,15g Disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) (8,1mM) bir beherde çözüldükten sonra bidistile su ile bir litreye tamamlandı ve pH'sı 7,4'e ayarlandı.

Testin Yapılışı:

Heparinli tüplere alınan kan örnekleri önce 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Üstteki plazma ve lökosit tabakası otomatik pipetle alınıp uzaklaştırıldıktan sonra, tüpün dibine çökmüş olan eritrositler pastör pipeti yardımıyla PBS ile üç kez yıkandı. Her defasında 5'er dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Son yıkama ve santrifüj sonrası tüpte bulunan eritrositlerden 0,4 ml alınıp 1,5ml hacmindeki kapaklı polietilen tüplere aktarıldı. Üzerlerine aynı miktar PBS ilave edilerek tüpler alt üst edildi ve analiz yapılincaya kadar derin dondurucuda -20°C 'de saklandı.

3.2.3. Eritrosit Hemolizatında Hemoglobin Düzeyi Ölçümü

Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılan hemoglobin düzeyleri ferrosiyanomethemoglobin metoduyla ölçüldü (Tietz, 1987).

Testin Prensibi:

Hemoglobindeki Fe^{+2} , ferrisiyanür ile Fe^{+3} e oksitlenir ve Potasyumsiyanür eklenmesiyle stabil siyanmethemoglobine dönüşür. Siyanmethemoglobinin 540 nm'de ölçülen absorbansı hemoglobin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Kullanılan ayıraçlar:

Drabkin Çözeltisi: 0,198g Potasyum ferrisiyanür ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), 0,052g Potasyum siyanür (KCN), 1g Sodyum hidrojenkarbonat (NaHCO_3) 1 litre bidistile suda çözülerek hazırlandı.

Testin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 5ml Drabkin çözeltisi konulduktan sonra, 20 μl eritrosit hemolizati eklendi. İyice karıştırıldı ve 10 dakika bekletilerek; spektrofotometrede Drabkin çözeltisine karşı 540 nm dalga boyunda okundu.

Hesaplanması:

Elde edilen absorbansların karşılık geldiği hemoglobin konsantrasyonları aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplandı:

$$\text{Hb konsantrasyonu} = \frac{\text{Absorbans} \times \text{Hb standardının konsantrasyonu} \times \text{Dilüsyon faktörü}}{\text{Hb standardının absorbansı} \times 1000}$$

(g/dl)

3.2.4. Plazma Malondialdehit Düzeyi Ölçümü

Plazma malondialdehit düzeyi ölçümünde Yoshioko ve ark (1979) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı.

Testin Prensi:

Tiyobarbütirik asit tepkimesinde; lipid içerik düşük pH'da, Tiyobarbütirik asit varlığında ısıtılarak 532–535 nm'de maksimum pik oluşturan stabil kırmızı-pembe renk elde edilir. Bu rengi; malondialdehit (MDA) molekülü ile iki TBA molekülünün birleşmesi sonucu oluşan kromojen verir. MDA'nın bir kısmı peroksidasyon sırasında açığa çıkarken, büyük çoğunluğu ortam asitleştirildikten sonra uygulanan ısıtma aşamasında lipid peroksidlerin yıkımı ile meydana gelir.

Kullanılan Ayraçlar:

%20 Triklorasetik Asit: 200g Triklorasetik asit ($C_2HCl_3O_2$) bidistile su ile çözülerek hacim bir litreye tamamlandı.

%0,67 Tiyobarbütirik asit: 1,675g Tiyobarbütirik asit (TBA) (4,6–Dihidroksi–2–tiyoprimidin) bidistile suda çözülerek hacim 250ml'ye tamamlandı.

Tetraetoksipropan standart çözeltisi (20mmol/L): 0,494ml Tetraetoksipropan ($C_{11}H_{24}O_4$) 100ml absolut etanolde eritilerek 20mmol/L'lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden 0,1ml alınarak tridistile su ile 100ml'ye tamamlandı ve 20 μ mol/L'lik çalışma standart çözeltisi elde edildi.

n-bütanol

Testin Yapılışı:

Kör ve test olarak belirlenen iki tane kapaklı deney tüpü alındı. İlk olarak test tüpüne 0,5 ml plazma konuldu. Kör tüpüne 3ml, test tüpüne 2,5ml % 20'lik TCAA ilave edildi. Her iki tüpe de 1'er ml TBA eklenildi ve ağızları kapatıldıktan sonra 30 dakika kaynar su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi bitince tüpler buz banyosunda hemen soğutuldu. Üzerine 4'er ml n-bütanol konularak 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra n-bütanol tabakası başka bir tüpe alınarak, spektrofotometrede 535 nm dalga boyunda köre karşı okundu.

Hesaplanması:

20 μ mol/L'lik tetraetoksipropan çalışma standart çözeltisi ile 1, 2, 4, 5, 10 μ mol/L'lik dilusyonlar hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanılarak MDA değerleri μ mol/L olarak verildi.

3.2.5. Eritrosit Hemolizatında Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü

Eritrosit hemolizatlarında süperoksit dismutaz aktivitesi Sun ve ark (1988) tarafından geliştirilen yöntem ile ölçüldü.

Testin Prensipleri:

Reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyon ile üretilen süperoksit radikallerinin, örnekteki SOD tarafından ortamdaki nitrobluetetrazolium' u indirgemesinin engellenmesi esasına dayanır. Yöntemde süperoksit radikali üretimi ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Bu şekilde üretilen süperoksit radikallerinin, NBT ile reaksiyona girerek bu maddeyi indirgemesi sonunda maksimum absorbanasını 560 nm'de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen radikalleri dismutasyona uğratması oranında, NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorban değerleri düşer. Dolayısıyla formazon oluşumunun inhibisyonunun tayin edilmesiyle SOD miktarı indirekt olarak saptanır.

Kullanılan Ayraçlar:

Kloroform

Absolut Etanol

Ksantin stok çözeltisi (3mmol/L): 23mg Ksantin ($C_5H_4N_4O_2$) 50ml'lik balon jöjeye alınarak, 5ml 0,1N NaOH ile çözüldü ve distile su ile hacim 50ml' ye tamamlandı. +4°C' de saklandı. Çözelti kullanılırken 10 kat seyreltildi.

Ksantin oksidaz enzim çözeltisi: 20U/ml aktiviteye sahip Ksantin oksidaz enzim çözeltisinden 20µmol alınarak 2ml 2M Amonyum sülfat çözeltisinde çözüldü.

Disodyum EDTA (0,6mmol/l): 0,233g EDTA bidistile su ile çözümlenerek hacim 1 litreye tamamlandı ve +4°C' de saklandı.

Nitroblue tetrazolium çözeltisi (0,15 mmol/L): 30,75mg NBT tridistile su ile çözümlenerek hacim 250ml'ye tamamlandı ve +4°C' de saklandı.

Sodyum karbonat çözeltisi (400 mmol/L): 10,5g Sodyum karbonat (Na_2CO_3) bidistile su ile çözümlenerek hacim 250ml 'ye tamamlandı ve +4 °C' de saklandı.

Sığır albümini çözeltisi (1,0g/L): 100mg Sığır albümini bidistlie suda çözümlenerek hacim 100ml'ye tamamlandı ve +4°C' de saklandı.

Bakır klorür çözeltisi (0,8mmol/L): 26,75mg Bakırklorür ($CuCl_2$) bidistile su ile çözüldü. Hacim 250ml' ye tamamlandı ve +4°C' de saklandı.

Amonyum sülfat çözeltisi (2M): 26,428g Amonyum sülfat ($(NH_4)_2SO_4$) bidistile su ile çözümlenerek hacim 250ml'ye tamamlandı ve +4°C' de saklandı.

Reaktif karışımı: 20 tüplük bir seri analiz için 20ml 10 kat seyreltilmiş Ksantin stok çözeltisi, 10ml EDTA çözeltisi, 10ml NBT çözeltisi, 6ml Sodyum karbonat çözeltisi ve 3ml Sığır albümüni çözeltisi 100ml' lik bir erlen içerisinde karıştırıldı.

Testin yapılışı:

Kör ve test işaretli 2 adet deney tüpü alındı. Her iki tüpe de 2,45ml'lik reaktif karışımından konuldu. Kör tüpüne 0,5ml bidistile su ilave edildi. Eritrosit hemolizatından 1ml alınıp üzerine 0,3ml Kloroform ve 0,5ml Etanol ilave edilerek 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan berrak kısımdan 0,5ml alınarak test tüpüne konuldu. Daha sonra tüplere 50µl Ksantin oksidaz enzim çözeltisi konularak karıştırıldı. 20 dakika 25°C'lik su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası tüplere 1ml CuCl₂ eklenerek reaksiyonun durdurulması sağlandı. Spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda meydana gelen rengin absorbansı köre karşı okundu.

Hesaplanması:

SOD enzim aktivitesinin hesaplanmasında aşağıdaki formülden yararlanılarak % inhibisyon hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{\text{Körün absorbansı} - \text{Testin absorbansı}}{\text{Körün absorbansı}} \times 100$$

Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu %50 inhibe eden aktivite olarak kabul edildiğinden reaksiyon ortamında bulunan enzim aktiviteleri, bu ünite cinsinden hesaplandı ve eritrositler için U/g Hb olarak değerlendirildi.

3.2.6. Serum Seruloplazmin Düzeyi Ölçümü

Serum Seruloplazmin aktivitesi Sunderman ve Numato' nun (1970) bildirdiği yöntem ile spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Testin Prensibi:

Seruloplazmin, p-fenilendiaminin oksidasyonunu katalize ederek mavi-viyole renkli bir oksidasyon ürünü oluşturur. Renkli ürünün meydana gelme oranı serum seruloplazmin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Kullanılan Ayıraçlar:

Substrat çözelti: 144mg p-fenilendiamin 100ml asetat tamponda eritildi. pH' s 5,6 olarak ayarlandı.

Asetat tampon: 1,34ml Asetik asit ve 26,49 Sodyum asetat 1L distile suda eritildi. pH'sı 5,6 olarak ayarlandı.

Sodyum Azid: 3g/dl sodyum azid içerir.

Testin Yapılışı:

	Kör	Test
Sodyum azid	1ml	-
Substrat	5ml	5ml
Test serumu	0,1ml	0,1ml
37 °C' de 15 dakika inkübe edildi		
Sodyum azid	-	1ml

546 nm' de distile suya karşı kör ve test örneklerinin absorbanları okundu.

Hesaplanması:

% mg Seruloplazmin = $237 \times (A \text{ test} - A \text{ kör})$

3.2.7. Eritrosit Hemolizatında Glutasyon Düzeyi Ölçümü:

Eritrosit hemolizatlarında glutasyon düzeyleri Beutler ve ark (1963)' nın bildirdiği yöntemle göre ölçüldü.

Testin Prensi:

Heparinli kanın PBS ile hazırlanan hemolizatında, GSH konsantrasyonu Beutler ve ark (1963)' nın klasik DTNB metodu doğrultusunda 5'5'-dinitrobenzoik asit ile oluşan renk ölçülür. Bu yöntemde -SH taşımayan tüm proteinler çöktürülerek, elde edilen berrak sıvıda, -SH gruplarının DTNB ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçülür.

Kullanılan Ayıraçlar:

Presipitasyon solüsyonu: Bir beher içine 1,67g Metafosforik asit, 0,2g EDTA, 30g NaCl eklendikten sonra distile su ile 100ml' ye tamamlandı.

Fosfat solüsyonu: 0,3M Na₂HPO₄ hazırlandı.

DTNB: 40mg DTNB; %1 Sodyum Sitrat hazırlandı.

Testin Yapılışı:

Analiz için; kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı. Standart tüpe 200µl standart, numune tüpüne 200µl örnek konulduktan sonra her iki tüpe 1,8ml saf su ve 3ml presipitasyon solüsyonu eklendi. Kör tüpüne ise; 0,4ml saf su ve 0,6ml presipitasyon solüsyonu konuldu. Hazırlanan karışımlara süzme işlemi uygulandıktan sonra süzülen kısımlardan 1ml süpernatant alındı ve üzerine 4ml fosfat solüsyonu ve 0,5ml DTNB (5-5'-dithiobis (2-nitro benzoik asit) eklendikten sonra 412 nm' de okundu. Sonuçlar mg/dl kan olarak hesaplandı (Beutler ve ark, 1963).

Hesaplanması:

$$\text{GSH düzeyi (\%mg) mg/dl kan} = (\text{Num. Absorbansı} \times 40\text{mg}) / \text{St. Absorbansı}$$

3.2.8. Serum Koenzim Q₁₀ Düzeyi Ölçümü

Köpek Koenzim Q₁₀ Elisa ticari Kit (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E0155Ca) ile manuel olarak ELİSA cihazında çalışıldı.

Testin Prensipleri:

Bu kit; köpeklerde koenzim Q₁₀'u (CoQ₁₀) analiz etmek için kullanılan, biyotin çift antikor sandviç teknolojisine dayalı bir yöntemdir. Mikroplakada hazır olarak monoklonal Koenzim Q₁₀ (CoQ₁₀) antikoru ile kaplanmış kuyucuklar bulunur. Kuyucuklara eklenen örnekler ve standartlar HRP-konjugat koenzim Q₁₀ ve Q₁₀'a spesifik antikor ile muamele edilerek inkübe edilir. İnkübasyondan sonra bağlanmamış enzimler yıkama işlemi ile uzaklaştırılır. Substrat solüsyonları eklenir. Reaksiyonu durdurmak için eklenen asidin etkisiyle mavi renk sarıya döner. Çözeltinin verdiği renkler ile köpek Koenzim Q₁₀'un (CoQ₁₀) konsantrasyonu pozitif yönde ilişkilidir.

Analiz aralığı: 2ng/ml → 160ng/ml olarak hazırlanır. Duyarlılığı 0,23ng/ml.

Testin Yapılışı:

100ng/ml	Standart no 5	120µl orijinal standart + 120µl standart dilusyonu
50ng/ml	Standart no 4	120µl Standart no 5 + 120µl standart dilusyonu
25ng/ml	Standart no 3	120µl Standart no 4 + 120µl standart dilusyonu
12,5ng/ml	Standart no 2	120µl Standart no 3 + 120µl standart dilusyonu
6,25ng/ml	Standart no 1	120µl Standart no 2 + 120µl standart dilusyonu

STANDART	S5	S4	S3	S2	S1
200ng/ml	100ng/ml	50ng/ml	25ng/ml	12,5ng/ml	6,25ng/ml

1. Standart grafiğinin oluşturulması için kuyucuklara 50µl standart ve 50µl HRP-konjugat eklendi.
2. Örneklerin koenzim Q₁₀ miktarlarını belirlemek için kuyucuğa 40µl örnek eklendi ve 10µl CoQ₁₀ antikoru ile 50µl HRP-konjugat eklenerek, orbital karıştırıcıda 200 rpm' de 37°C' de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
3. Her bir kuyucuk yıkama çözeltisi ile (yaklaşık 200µl) doldurularak 30 saniye beklendikten sonra hafifçe çalkalandı. Bu işlem 5 kez tekrarlandı. En son yıkamadan sonra kalan yıkama çözeltisi tüm kuyucuklardan uzaklaştırıldı.
4. Örnek ve standartların bulunduğu kuyucuklara 50µl substrat A ve 50µl substrat B ilave edilip karıştırıldıktan sonra 37°C' de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.
5. Reaksiyonu durdurmak için her hazneye 50µl stop solüsyonu pipetlendi.
6. Örnek ve standartların optik dansitesi substrat A, substrat B ve stop solüsyonu içeren köre karşı 10 dakika içinde mikropilaka okuyucuda 450 nm' de okundu.
7. Standartların konsantrasyonları OD değerlerine karşı lineer regresyon analizinden yararlanılarak grafiği oluşturuldu ve denklemi hesaplandı. Örneklerin OD değerleri denklemden yararlanılarak ng/ml olarak hesaplandı.

Hesaplanması:

Sonuçlar standart eğriden faydalanılarak hesaplandı ve ng/ml olarak verildi.

İstatiksel Analiz

Elde edilen bulguların analizi SPSS 21 (Statistical Package for the Social Sciences) programı yardımıyla gerçekleştirildi. Bağımsız örnekleme testi ile (Independent Samples

Test) istatıksel açıdan farklarının anlamlı olup olmadığı ve önemlilik düzeyleri saptandı.
 $p < 0,05$ altındaki değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen sağlıklı, dişi ve erkek köpeklere ait kan örneklerinde plazma MDA, eritrosit SOD aktivitesi, serum seruloplazmin, eritrosit glutatyon ve serum koenzim Q₁₀ düzeyleri ile t-testi sonuçları Tablo 8 ve Tablo 9’ da gösterilmiştir.

Tablo 8. Dişi köpeklere ait MDA, SOD, seruloplazmin, glutatyon ve koenzim Q₁₀ düzeyleri

DİŞİ KÖPEKLER				
	Gruplar	n	X±Sx	p
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	Genç Grup	13	24,26 ± 1,20	p < 0,05
	Yaşlı Grup	7	33,46 ± 2,39	
SOD (U/g Hb)	Genç Grup	13	4,83 ± 0,25	p > 0,05
	Yaşlı Grup	7	5,39 ± 0,71	
Seruloplazmin (mg/dl)	Genç Grup	13	20,29 ± 2,32	p > 0,05
	Yaşlı Grup	7	24,38 ± 3,66	
Glutatyon (mg/dl)	Genç Grup	13	67,30 ± 8,66	p > 0,05
	Yaşlı Grup	7	54,66 ± 9,85	
Koenzim Q₁₀ (ng/ml)	Genç Grup	13	89,91 ± 7,56	p < 0,05
	Yaşlı Grup	7	58,30± 10,94	

Analiz sonuçlarına göre plazma MDA düzeyleri genç ve yaşlı dişi köpeklerde sırası ile ortalama 24,26±1,20 $\mu\text{mol/L}$ ve ortalama 33,46±2,39 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü. Sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak p<0,05 düzeyinde anlamlı olduğu gözlemlendi.

Genç ve yaşlı dişi köpeklerde eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi sırası ile ortalama 4,83±0,25U/g Hb ve ortalama 5,39±0,71U/g Hb olarak ölçülürken, artış oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

Serum seruloplazmin düzeyleri genç ve yaşlı dişi köpeklerde sırası ile ortalama 20,29±2,32mg/dl ve ortalama 24,38±3,66mg/dl olarak ölçüldü. Gerçekleştirilen istatistiksel analizde anlamlı bir farklılık bulunamadı (p>0,05).

Eritrosit glutatyon düzeylerinin yaşlı dişi köpeklerde daha düşük olduğunun gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (p>0,05). Genç dişi

köpeklerde eritrosit glutasyon düzeyi ortalama $67,30 \pm 8,66$ mg/dl olarak hesaplanırken, yaşlı dişi köpeklerde ortalama $54,66 \pm 9,85$ mg/dl 'dir.

Serum koenzim Q₁₀ seviyesi, genç dişi köpeklerde ortalama $89,91 \pm 7,56$ ng/ml ve yaşlı dişi köpeklerde ortalama $58,30 \pm 0,94$ ng/ml olarak ölçüldü. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre yaşlı dişi köpeklerin serum koenzim Q₁₀ seviyesi genç dişi köpeklerden $p < 0,05$ düzeyinde önemli derecede daha düşüktür.

Tablo 9. Erkek köpeklere ait MDA, SOD, seruloplazmin, glutasyon ve koenzim Q₁₀ düzeyleri

ERKEK KÖPEKLER				
	Gruplar	n	X±Sx	p
MDA (μ mol/L)	Genç Grup	9	24,85 ± 1,94	p < 0,05
	Yaşlı Grup	8	40,24 ± 6,25	
SOD (U/g Hb)	Genç Grup	9	5,54 ± 0,37	p < 0,05
	Yaşlı Grup	8	7,37 ± 0,61	
Seruloplazmin (mg/dl)	Genç Grup	9	15,71 ± 1,98	p > 0,05
	Yaşlı Grup	8	21,21 ± 3,31	
Glutasyon (mg/dl)	Genç Grup	9	64,33 ± 7,35	p < 0,05
	Yaşlı Grup	8	41,23 ± 5,54	
Koenzim Q₁₀ (ng/ml)	Genç Grup	9	97,42± 11,65	p < 0,05
	Yaşlı Grup	8	60,74 ±12,37	

Analiz sonuçlarına göre plazma MDA düzeyleri genç ve yaşlı erkek köpeklerde sırası ile ortalama $24,85 \pm 1,94$ μmol/L ve ortalama $40,24 \pm 6,25$ μmol/L olarak ölçüldü. Gruplar arasındaki fark, istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bulundu.

Eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi genç ve yaşlı erkek köpeklerde sırası ile ortalama $5,54 \pm 0,37$ U/g Hb ve ortalama $7,37 \pm 0,61$ U/g Hb olarak ölçülürken, artış oranının istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu saptandı.

Serum seruloplazmin düzeyleri genç erkek köpeklerde ($15,71 \pm 1,98$ mg/dl) yaşlı erkek köpeklere ($21,21 \pm 3,31$ mg/dl) göre daha düşük ölçülmesine rağmen; sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p > 0,05$).

Yaşlı erkek köpeklerde eritrosit glutasyon düzeyleri, ($41,23 \pm 5,54$ mg/dl) sadece genç erkek köpeklere ($64,33 \pm 7,35$ mg/dl) göre değil, aynı zamanda cinsiyete göre

karşılaştırıldığında, yaşlı dişi köpeklere ($54,66 \pm 9,85$ mg/dl) göre de daha düşük bulunmuştur. Sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p < 0,05$).

Yaşlı erkek köpeklerin serum koenzim Q₁₀ düzeyi, genç erkek köpeklere göre istatistiksel olarak anlamlı azalış gösterdi ($p < 0,05$). Genç erkek köpeklerde ortalama $97,42 \pm 11,65$ ng/ml, yaşlı erkek köpeklerde ise ortalama $60,74 \pm 12,37$ ng/ml koenzim Q₁₀ düzeyi ölçüldü.

5. TARTIŞMA

Yaşlanma, zamanın ilerlemesi ile ortaya çıkan, vücudun molekül, hücre, doku, organ ve sistemlerinde geriye dönüşü olmayan yapısal ve işlevsel değişikliklerdir (Jazwinski, 2000; Pelit ve Aydın, 2001; Gavrilov ve Gavrilova, 2002; Burçak ve Andican, 2004). Gerçek biyolojik yaşlanma genetik özellikler ve çevre koşullarının da etkisiyle bireysel olarak farklı hızlarda olmaktadır (Gökçe, 2000; Burçak ve Andican, 2004; Balaban ve ark, 2005).

Gerçek yaşlanmayla vücudun çeşitli streslere ve değişen koşullara uyumu azalmaktadır (Balaban ve ark, 2005; Demiroglu ve ark, 2006). Yaşlanma fenomenini açıklamaya çalışan çok sayıdaki teoriler hem stokastik hem de programlanmış olayları içeren iki ana sınıfta gruplanabilirler. İlk kategorideki bazı örnekler yaşlanmayı negatif faktörlerin etkisine bağlayan teorileri içerir. Bu negatif faktörler arasında serbest radikaller, metabolik hatalı sonuçlar, DNA hasarı, glikolizasyon veya çapraz bağlanma sayılabilir (Kujoth ve ark, 2005; Berneburg ve ark, 2006).

Vücut yaşlanırken, oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının vücudu etkileyebilecek düzeyde birçok disfonksiyonel değişikliğe yol açabileceği görüşüne dayanan serbest radikal teorisi en çok destek gören yaşlanma modelidir. Oldukça reaktif olan serbest radikaller normalde hücre metabolizma sırasında meydana geldikleri için hipotetik olarak zaman içinde birikip hücre fonksiyonlarında hatalara neden olabilirler (Harman, 1956; 1972)

Serbest radikallerin yaşlanma sürecindeki rolü, bu süreci açıklayan temel hipotezlerden biridir. En büyük serbest radikal miktarı, mitokondri, lizozom ve peroksizomlarda hücre metabolizması ürünü olarak üretilirken bu organelleri çevreleyen zarlar, hücreleri kendinden üretilen serbest radikallerden koruyabilir. Bazı araştırmacılar, yaşlanma ile birlikte serbest radikal üretiminin arttığını göstermiştir (Sastre ve ark, 2002). Farklı memeli türlerinin mitokondrisi üzerine yapılan diğer çalışmalar, yağ asidi zincirlerinin uzunluğunun ve doymamışlığının yaşla birlikte arttığını diğer bir deyişle, lipid peroksidasyonuna karşı daha düşük duyarlılığın daha uzun ömür için bir önkoşul olduğunu ortaya koymuştur (Pamplona ve ark, 1998).

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit düzeyleri ile yaş arasında pozitif korelasyon bildiren çok sayıda çalışma vardır (Sakamoto ve ark, 1992; Sanderson ve ark, 1995; Bhagwat, 1997; Coudray ve ark, 1997; Rondanelli ve ark, 1997; Miquel ve ark, 1998; Büyükbaş ve ark, 2000; Kasapoğlu ve Özben, 2001). Bununla birlikte plazma lipit

peroksidasyon ürünleriyle yaş arasında herhangi bir korelasyon tespit edilemeyen çalışmalar da vardır (Nielsen ve ark, 1997).

Yaşa ek olarak, oksidatif durumdaki cinsiyet farklılıklarının farklı türlerde var olduğunu gösteren iyi kanıtlar vardır. Fano ve ark (2001) yaşa bağlı DNA ve lipid oksidasyonunun arttığını ve bunun da erkeklerde kadınlardan daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir.

Erkek cinsiyeti iyi bilinen bir kardiyovasküler risk faktörüdür ve bazı yazarlar, kardiyovasküler riski, erkeklerde MDA gibi tiyobarbitürik aside karşı reaktif maddelerin yüksek plazma seviyeleri ile ilişkilendirir (Ide ve ark, 2002). Birçok türün dişileri erkeklerden daha uzun yaşar ve bunun nedeni kadınların mitokondriyasında daha düşük serbest radikal olması olarak düşünülür (Sastre ve ark, 2002). Dişilerde yaşam süresinin daha uzun olması, antioksidanların gen ifadesinin artması ve kadınlarda mitokondriyanın daha düşük oksidatif hasara maruz kalmasına bağlı olabilir (Borras ve ark, 2003). Üstelik östrojenlerin güçlü antioksidan özelliklerine dair kanıtlar vardır (Tudus, 2000). Aynı özellikler progesteron ve testosteron için karakteristik değildir (Barp ve ark, 2002).

Todorova ve ark (2005)' nın farklı yaş ve cinsiyetteki kedi ve köpeklerde yaptıkları çalışmadan elde edilen sonuçlar, erkek köpeklerde plazmada MDA konsantrasyonlarının dişilerden daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Aynı sonuç kedilerde bulunurken cinsiyet farklılıkları daha belirgin bulunmuştur. SOD aktivitesi, iki cinsiyet arasında herhangi bir farklılık göstermezken kedilerde sadece CAT değerleri erkeklerde dişilerden daha düşük saptanmıştır.

Rikans ve Hornbrook (1997) genç, ergin ve yaşlı Fischer sıçanlarını kullanarak, 4-5 aylık, 14-15 aylık, 26-29 aylık dişi ve erkek çalışma grupları oluşturmuş ve bu sıçanların karaciğerlerinden elde ettiği hücre homojenatlarında yaşlanmaya ve cinsiyete bağlı olarak lipid peroksidasyonu ve antioksidan savunmada meydana gelen değişimleri gözlemlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda erkek bireylerde yaşlanmaya bağlı olarak MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı olan önemli bir artış gözlenmiştir. GSH konsantrasyonunun ise her iki cinsiyette de yaşlanma ile değişmediği sonucunu elde etmişlerdir.

Köpek ve kedilerdeki oksidatif stres parametrelerinin referans değerleri için veriler oldukça sınırlı ve çelişkilidir (Freeman ve ark, 1999). Oksidatif durum değişkendir ve farklı faktörlerin etkisi ile değiştirilebilir. Egzersiz sırasında bile oksidatif stres provoke edilir ve antioksidan kapasitesi azalır (Marshall ve ark, 2002). Normal şartlarda, serbest radikal oluşumundaki en büyük etki yaşlıdır. MDA konsantrasyonlarının yaşlı köpeklerde daha yüksek olduğu aynı zamanda; GSH-Px ve SOD aktivitesinin iki katına çıktığı gösterilmiştir

(Vajdovich ve ark, 1997). Bizim çalışmamızda da plazma MDA düzeyleri her iki cinsiyette de yaşlı köpeklerde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

Serbest radikallerin uzaklaştırılması ve hasarın tamiri için organizmada enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz enzimi de bunlardan birisidir ve süperoksidin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eder (Chance ve ark, 1979).

Tolmasoff ve ark (1980) farklı hayvan türlerinin (örneğin; fare, rat, tavşan, domuz, at, inek, köpek, kedi) karaciğer, beyin ve kalbinde SOD aktivitesi ile maksimum yaşam süresi arasında önemli ilişkiler bulmuşlardır. Bu sonuçlar uzun ömürlü türlerin metabolizma hızlarının yavaş, SOD enzimsel savunma sisteminin ise yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak bütün türler için bu ilişkinin doğruluğu tartışmalıdır.

Sohal ve ark (2002) maksimum ömürleri 3,5-20 yıl arasında değişen çeşitli memeli türleri üzerinde yapmış oldukları çalışmalarda, beyin dokusundaki SOD aktivitesi ile yaşam süresi arasında bir ilişki kuramazken, karaciğer ve kalp dokusunda bu enzim aktivitesi ile yaşam süresi arasında bir ilişkinin varlığını tespit etmişlerdir. SOD aktivitesindeki tür varyasyonları muhtemelen gen regülasyonundaki gelişim veya homeostatik dalgalanmalar nedeniyle ortaya çıkmaktadır.

Garcia-Arumi ve ark (1998) lenfositlerle yaptıkları bir çalışmada; yaşlı bireylerin antioksidan savunma mekanizmalarında yaşla azalma görülmediğini, buna karşılık protein karbonil düzeylerindeki artışa bağlı olarak oksidatif protein hasarında artış görüldüğünü bildirmişlerdir.

Karasinekler üzerine yapılan bir çalışmada SOD, GSH sadece yaşlılarda önemli derecede düşmektedir (Sohal ve ark, 1984).

Tian ve ark (1998) beyin, karaciğer, böbrek ve kalp gibi farklı organlarda, yaşlanma süreci boyunca antioksidan enzim aktivitelerinde ve makromoleküler oksidatif hasarda meydana gelen değişimleri gözlemlemek için yaptıkları çalışmada farklı yaş gruplarından (1, 6, 12, 18 ve 24 aylık) erkek sıçanlar kullanmışlardır. 1 aylık grubun SOD ve Mn-SOD aktivitesinin en düşük seviyede olduğu görülürken; çalışmanın devamında SOD ve Mn-SOD aktiviteleri kalp ve böbrekte özellikle 6 ay grubuna göre 24 ay grubunda önemli derecede azalma gösterdiğini, bu enzimlerin aktiviteleri yönünden karaciğer dokusunda yaşlanmaya bağlı bir değişim gözlenmediğini bulmuşlardır.

Farklı yaştaki sıçanlarda yapılan benzer araştırmalarda, yaşa bağlı olarak C ve E antioksidan vitaminlerinin plazma seviyeleri ve SOD aktivitesi azalırken CAT aktivitesinde artış gözlemlenmiştir (De ve Durad, 1991).

Ademoğlu ve ark (2013) alışmalarında 12 ve 24 aylık Wistar cinsi sıçanların karaciğer mitokondrilerinde yaş ve cinsiyet ile ilişkili olarak mangan süperoksit dismutaz (Mn-SOD) aktivitesi ile ekspresyonundaki ortaya çıkan değişikliklerin incelenmesini amaçlamışlardır. 12 ve 24 aylık sıçanlar karşılaştırıldığında dişi sıçanların Mn-SOD ekspresyonunun akranı olan erkek sıçanlara göre anlamlı olarak yüksek olduğu, karaciğer mitokondrilerinin oksidatif strese duyarlılığının ise daha az olduğu görölmüştür. Yaş ilerledikçe iki cinsiyet arasında Mn-SOD aktivitesi ve ekspresyon paterninde ortaya çıkan bu değişikliklerin sadece östrojen etkisi ile açıklanamayacağı, başka faktörlerin de katkısının olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmaların çoğunda insan eritrositlerinde yaşla ilişkili olarak SOD aktivitesindeki azalma oldukça sabit görünmektedir (Ceballos-Picot ve ark, 1992; Andersen ve ark, 1997; Bolzan ve ark, 1997; İnal ve ark, 2001). Ancak bazı araştırmacılar, SOD aktivitesinde yařa bağlı anlamlı bir fark tespit etmezken (Mendoza-Nunez ve ark, 2007; Hübner-Woźniak ve ark, 2011), bazıları eritrosit SOD aktivitesinde yaşla ilişkili bir artış bildirmişlerdir (Kasapođlu ve Özben, 2001).

Antioksidan parametrelerin (TAC, SOD, GSH-Px) konsantrasyonu ile yaşlanmaya bağlı şekillenen oksidatif hasar arasındaki korelasyon, bu parametrelerin cinsiyete bağlı farklılıkları olduğunu insanlarda yapılan çalışmayla ortaya koymuştur (Aejmelaeus ve ark, 1997; Pandey ve Rizvi, 2010; Giergiel ve ark, 2012). Ancak köpekler için bildirilen çok az sayıda çalışma vardır. Bunlardan biri Tomsic ve ark, (2016)'nın sağlıklı köpeklerde yaş ve cinsiyetin antioksidan parametreler üzerine olan etkisini araştırdıkları çalışmadır. Bu alışmada SOD aktivitesi yaşa bağlı olarak her iki cinsiyette de lineer artış gösterirken cinsiyetler arası farka rastlanmamıştır. Bu sonuç bizim bulgularımız ile uyumludur.

Vajdovich ve ark (1997) yaşlı köpeklerde, genç köpeklere göre önemli derecede yüksek eritrosit SOD aktivitesi bildirmiştir. Yaşlı hayvanlarda bu antioksidan enzimin artmış aktivitesi, ileri yaşlarda yüksek ROS seviyeleri için telafi edici bir mekanizma gibi görünmektedir.

Antioksidan enzimlerin aktivitelerinin steroid hormonların kontrolü altında olduğunu gösteren kanıtlar vardır; bu sadece yaşa bağlı değil aynı zamanda cinsiyete bağlı değişiklikleri de açıklayabilir. Östrojen hormonunun kendisinin de antioksidan olduğuna dair literatür kaynakları bulunmaktadır ki bu da bu farklılıkların nedeni olabilir (Giergiel ve ark, 2012). Bununla birlikte, insan çalışmaları, sağlıklı bireylerin kan örneklerinde saptanan SOD aktivitesinde cinsiyete bağlı farklılıklara ilişkin tartışmalı bulguları ortaya koymuştur

(Ceballos-Picot ve ark, 1992; Bolzan ve ark, 1997; Mendoza-Nunez ve ark, 2007; Giergiel ve ark, 2012).

Çalışmamızda sağlıklı köpeklerde erkek ve dişi köpekler arasında SOD aktivitesinde önemli bir fark olmadığını gözlemledik. Benzer şekilde, Todorova ve ark (2005) sağlıklı köpeklerde SOD aktivitesinde cinsiyete bağlı herhangi bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Vajdovich ve ark (1997) da genç dişi ve erkek köpekler arasında SOD aktivitesinde önemli bir farklılık olmadığını belirtirken yaşlı erkek köpeklerde belirgin şekilde daha yüksek SOD aktivitesi bulmuşlardır.

Seruloplazmin ileri yaştaki tipik bozukluklarla ortaya çıkan giderek artan stresli koşullarla başa çıkmak için gerekli bir proteindir. (Mezzetti ve ark, 1998; Malavolta ve ark, 2010) Seruloplazmin (Cp) önemli bir α -2-glikoprotein akut faz proteindir. İnflamatuvar durumlar sırasında fagositik hücrelerden salınan toksik oksijen metabolitlerinden konakçı dokuları korumada önemli bir rol oynar. Ek olarak, bakır transportu ve bakır iyonu tarafından uyarılan reaktif oksidan oluşumunu inhibe eder. (Gruys ve ark, 1994; Ulutaş, 2003; Kahyaoğlu, 2011)

Seruloplazmin, ferrokسيدaz yoluyla apo-transferrin bağlanması için Fe (II)' nin Fe (III)' e dönüşmesini katalize ederek demir homeostazının önemli oranda düzenleyiciliğini yapar. Akut faz inflamatuvar yanıt, organizmanın, enfeksiyon ve doku hasarının neden olduğu homeostazisindeki lokal veya sistemik bozukluklara karşı belirgin bir sistemik reaksiyonudur. Akut faz cevap, serum seruloplazmin düzeylerinin yükselmesine neden olur (Ceron ve ark, 2005).

Sağlıklı kişilerde farklı analitik teknikler kullanılarak ölçülen serum seruloplazmin konsantrasyonları dişilerde erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur (Cartwright ve ark, 1960; Cox, 1966; Yunice ve ark, 1974). Yaşla birlikte serum seruloplazmin düzeylerindeki değişiklikler çocukluk ve ergenlik döneminde bildirilmiş olsa da (Cox, 1966), yetişkinlerde yaşın serum seruloplazmin düzeylerine etkisini tanımlayan hiçbir bilgi ortaya çıkmamıştır.

Denko ve Gabriel (1981) insanlarda yaşla seruloplazmin ilişkisini inceledikleri çalışmalarında erkeklerin her yaşta kadınlara göre düşük seruloplazmin seviyelerine sahip olduğunu ve 55 yaş üstü kadınlarda seruloplazmin düzeyinin östrojen hormonu azalışına paralel arttığını bildirmişlerdir.

Inoue ve ark (2013) 20-65 yaş arası farklı yaş gruplarında seruloplazmin düzeyleri arasında erkeklerde bir farka rastlamazken; kadınlarda yaşa bağlı olarak anlamlı bir artış bulmuşlardır.

Ulutaş ve ark (2017) sağlıklı Saanen keçi yavrularında doğumu takiben yaptıkları çalışmada, seruloplazmin konsantrasyonlarını birinci haftada düşük bulurken 14. ve 28. günlerde anlamlı şekilde arttığını gözlemlemişler ve serum bakır konsantrasyonlarına bakılmaksızın, kolostrum alımının birinci haftadan sonra yüksek seruloplazmin konsantrasyonlarında bir rolü olabileceği sonucuna varmışlardır (Tabrizi ve ark, 2011).

Cu ve Cp' nin yaşla değişimi üzerine yapılan araştırmalar uzun yıllardan beri yürütülmektedir. Farelerde ve insanlarda yapılan karşılaştırmalı bir çalışma, C57BL/6J farelerde 3 aydan 30 aya kadar sırasıyla Cu ve Cp' nin bir kat ve iki kat arttığını bildirirken, insanlarda 17 ila 98 yıl arasında bir değişiklik görülmemiştir (Massie ve ark, 1979). Son yapılan çalışmalar Cu ve Cp' nin yaşla birlikte özürülülerde ya da hasta yaşlılarda artabileceğini düşündürmektedir (Malavolta ve ark, 2015).

Literatürde köpeklerde çeşitli hastalıklar ve seruloplazmin düzeylerini inceleyen çok sayıda çalışma olmasına rağmen yaşa bağlı değişimini araştıran çalışmalara rastlanmamıştır. Çalışmamızda serum seruloplazmin düzeyleri her iki cinsiyetteki genç köpeklerde yaşlılara göre daha düşük ölçülmesine rağmen; sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$).

Seruloplazminin toplam serum Cu' nu yüksek afinitesi ile %80-95' ini bağladığını göz önüne alırsak, serumda artan Cu seviyelerinin karaciğer dokularında Cp' nin artmış transkripsiyonunun bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Bu arada Cp' nin karaciğer dokularındaki transkripsiyonunun, hiperoksik koşullarla değil, enflamasyonla güçlü bir şekilde etkilenebildiği düşünülmektedir (Fleming ve ark, 1991). Bu nedenle, Cp stres tepki mekanizmaları ile üretilmesine rağmen, hepatik seviyede hareket eden inflamatuvar mediatörler, yaşla ilişkili bozukluklar sırasında serumda seruloplazmin artışını belirleyen başlıca faktörler olabilir.

Hücrel yaşlanma sürecinde rol oynayan önemli bileşiklerden biri de tripeptit (Sistein, Glutamat, ve Glisin) yapısındaki Glutatyondur (GSH) (Dröge, 2002). Glutasyon, hem önemli bir indirgeyici olarak E ve C vitaminlerini oksidasyondan korur, hem de GSH-Px enziminin kofaktörü olarak önemli bir antioksidan etkinlik gösterir. Glutasyon'un ana fonksiyonu, oksidatif ve peroksidatif zararlardan hücreleri ve mitokondriyi korumaktır.

Samiec ve ark (1998)' nin insan plazmasında, Pansarasa ve ark (1999)' nin insan iskelet kasında ve Kim ve ark (2002)' nin rat plazmasında yaptığı çalışmalarda, yaşlanmayla birlikte GSH konsantrasyonunun önemli derecede düştüğü ve yaşlandıkça, vücudun glutasyon üretim yeteneğinin azaldığı bildirilmektedir.

Gil ve ark (2006) yaşlı kadınlarda GSH konsantrasyonlarının daha genç olanlara veya erkeklere kıyasla daha düşük olduğunu bildirirken Rizvi ve Maurya (2007) yaptıkları çalışma ile hücre içi indirgenmiş glutatyon ve membran sülfidril gruplarında yaşa bağlı bir azalmayı göstermiştir.

Aydilek ve Şimşek (2006) yaşlanmanın kısıraklarda plazma oksidan ve antioksidan parametreler üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında yaşlı kısıraklarda plazma MDA seviyesi artarken buna karşın GSH seviyesinde düşüş olduğunu belirtmişlerdir. E vitamini ve β -karoten gibi antioksidan maddelerin konsantrasyonları, artan oksidatif stres karşısında kendi seviyelerini korumuş, GSH-Px ve katalaz gibi enzimlerin ise adaptasyon cevabı olarak aktivitelerinin arttığını görmüşlerdir.

Rikans ve Hornbrook (1997) yaptıkları çalışmalarında 4-5 aylık, 14-15 aylık, 26-29 aylık dişi ve erkek çalışma grupları oluşturmuş ve bu sıçanların karaciğerlerinden elde ettikleri hücre homojenatlarında yaşlanmaya ve cinsiyete bağlı olarak lipit peroksidasyonunda ve antioksidan savunmada meydana gelen değişimleri gözlemlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda erkek bireylerde yaşlanmaya bağlı olarak MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı olan önemli bir artış gözlenmiştir. GSH konsantrasyonunun ise her iki cinsiyette de yaşlanma ile değişmediği sonucunu elde etmişlerdir.

Todorova ve ark (2005) yaşlı köpeklerde gençlere göre daha düşük GSH düzeyleri ölçerken bu azalışta cinsiyete bağlı farklılıklar bulmuşlardır (erkeklerde %43, kadınlarda %9 azalma). Bu nedenle, yaşlı köpeklerin, özellikle de erkeklerin, serbest radikallerin ve lipit peroksidasyonunun daha zararlı etkilerine maruz kaldıklarını savunmuşlardır.

Çalışmamızda yaşlı dişi köpeklerde GSH düzeyinin gençlere göre daha düşük ama istatistiksel olarak anlamsız azalış gösterdiğini tespit ettik. Ancak yaşlı erkek köpeklerde $p < 0,05$ düzeyinde önemli derecede daha düşük bulundu. Bulgularımız literatürde, bu konuda yapılan çalışmalar ile uyumlu görülmektedir.

Yaşla beraber eritrosit GSH konsantrasyonunun düşmesi, artan oksidatif stresin GSH' ı okside ederek tüketebileceği gibi, yaşla birlikte GSH sentez hızının veya GSH' ı redükte eden glutatyon redüktaz enzim aktivitesinin azalmasına bağlı olabilir (Stio ve ark, 1994). Ayrıca, yaşlı hayvanlarda GSH prekürsörlerinden biri olan sistenin kan dolaşımından hemen temizlenememesi büyük oranda okside olarak fonksiyonunu kaybetmesi de glutatyon konsantrasyonunu etkileyebilir.

Koenzim Q₁₀ (Ubikuitin) bütün dokularda sentezlenebilen 10 adet izopren ünitesi içeren 50 karbonlu, 1,4-benzokinon bileşiğidir (Dada ve ark, 2003). Bu bileşik hem metabolik olayların hem de hücrel fonksiyonların devamlılığı için gerekli olan ATP' nin sentezinde rol

oyunur. Bunun yanı sıra koenzim Q₁₀, çeşitli organelleri ve hücreleri çevreleyen membranların lipit bileşeni olup, hemen hemen tüm membranlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunması ve etkisinin daha güçlü olması nedeniyle antioksidanlar arasında önemli bir yer tutar (Geromel ve ark, 2004).

Köpeklerde CoQ₁₀ terapötik olarak en yaygın konjestif kalp yetmezliği için kullanılmasına rağmen, devam eden araştırmalar, çok çeşitli ek hastalıklar için de yararlı olabileceğini öne sürmektedir. Bunlar arasında da periodontal hastalıklar, gastrointestinal ülserler, karaciğer hastalıkları ve immün sistemin güçlendirilmesi sayılabilir (Greenberg ve Frishman, 1990).

Yaşlanma süreci ve yaşlanmayla ilişkili hastalıklar sırasında CoQ₁₀'un biyosentez hızında belirgin bir azalmanın meydana geldiği öne sürülmüştür (Beyer ve ark, 1985; Kalen ve ark, 1989; Battino ve ark, 1995; Turunen ve ark, 1999). Sonuçlarımız bu bulgular ile uyumludur. Bununla birlikte, CoQ düzeyleri ile yaşlanmanın ilerlemesi arasındaki ilişki konusunda tutarsızlıklar vardır.

Memelilerde, çoğunlukla da kemirgenlerde doku koenzim Q₁₀ düzeyleri farklılık göstermektedir. Farelerde, karaciğer homojenatlarında (Onur ve ark, 2014) ve iskelet kasında mitokondriyal CoQ düzeylerinde yaşla ilişkili azalma gözlenirken, böbrek, beyin ya da kalp düzeylerinde fark bulunmamıştır (Lass ve ark, 1999). Farelerde olduğu gibi domuzlarda da karaciğer CoQ düzeyleri yaşla birlikte azalmaktadır (Onur ve ark, 2014). Bununla birlikte, 19 aylık ad libitum besleme yapılan sıçanlardan alınan karaciğer, kalp ve böbrek mitokondrilerinde 4 aylık hayvanlara göre daha düşük CoQ₁₀ düzeyi saptanmıştır ve bu azalma mitokondriyal fraksiyonda CoQ' nun tercihli sekestrasyonuna bağlanmıştır.

Benzer şekilde, yaşamın ilk aylarında artış, sonrasında sıçan beynindeki CoQ düzeylerinde herhangi bir değişiklik bildirilmemiştir (Zhang ve ark, 1996). Öte yandan, pankreas ve böbrek üstü bezi, beyin, kalp ve akciğerde 30 günlük yaşta en yüksek değere ulaşan erken bir artıştan sonra yaşla ilişkili azalan bir CoQ konsantrasyonu tespit edilmiştir (Kalen ve ark, 1989).

Yapılan bir çalışmada, CoQ, 2 ila 18 ay arasında artmış; kalp, böbrek ve vastus lateralis kaslarında 25. ayda ise anlamlı olarak azalmıştır. Öte yandan, sıçan karaciğerinin CoQ konsantrasyonu ömrü boyunca artarken, beyin, akciğer ve vastus lateralis kaslarında nispeten sabit kalmıştır (Beyer ve ark, 1985). Bu sonuçlar, bazı çalışmaların neden yaşla ilişkili net değişimler bulamadığını açıklamaktadır. Açıklanan çeşitli çalışmaların sonuçları, tüm canlı organizmalar için ortak bir eğilimin varlığını desteklemezken, buna karşın Sohal ve

Forster' in önerdiği gibi, yaşa bağlı CoQ içeriğindeki değişiklikler mitokondride en belirgindir (Sohal ve Forster, 2007).

Memelilerde, CoQ seviyeleri yaşlanma ile birlikte azalma eğilimi gösterir, ancak bu doku ve organizmalara ve muhtemelen birçok başka faktöre bağlıdır. Bu, en azından kısmen, farklı organizmalar arasındaki yaşlanma süreçlerinde bulunan farklılıkları ve aynı zamanda bazı dokuların yaşlanmaya ya da yaşlanmayla ilişkili hastalıklara daha duyarlı olduğunu açıklayabilir.

İnsanlarda yaş ve CoQ konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalar da çelişik sonuçlar vermiştir. Yaşlı kadınlarda, CoQ₁₀ plazma düzeyleri ile yaş arasında anlamlı bir korelasyon saptanmazken pankreas ve böbrek üstü bezinde, CoQ₁₀ düzeyleri ilk bir yılda en yüksek düzeydedir; daha sonra azalır, buna karşılık beyin, kalp ve akciğerde, karşılık gelen zirve değeri 20 yaşındayken, ileriki zamanlarda da sürekli azalma izlenmiştir (Kalen ve ark, 1989). Yaşla ilişkili beyindeki azalma daha sonraki çalışmalarla doğrulanmıştır (Söderberg ve ark, 1990; Edlund ve ark, 1992).

Son çalışmalar CoQ' nun mitokondriyel seviyeleri ile ömür arasında direkt bir ilişki olduğunu bildirmektedir. Ubiquinol ile desteklemenin, mitokondriyal biyogenezini kontrol eden mekanizmaları (Schmelzer ve ark, 2010) ve gecikmiş yaşlanmayı aktive ettiği gösterilmiştir (Tian ve ark, 2014).

Hem genç hem de yaşlı erişkinlerde CoQ₁₀' un kan düzeylerini incelemek üzere tasarlanan bir çalışmadan ilginç bir bulgu ortaya çıkmıştır. Gençlerde, fiziksel aktivite plazmada daha düşük Q₁₀ seviyeleri ile korelasyon gösterirken, yaşlı erişkinlerde fiziksel aktivite plazmada Q₁₀ seviyeleri ile doğrudan ilişkili bulunmuştur. Özellikle, yaşlılık döneminde fiziksel aktivitenin artırılmasının, plazmada antioksidan kapasitesini artırabileceği ve CoQ₁₀' un artan üretimi yoluyla yaşlanmayı yavaşlatarak kronik dejeneratif hastalıkları önlemede yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır (Del Pozo-Cruz ve ark, 2014a, b).

CoQ₁₀ antioksidan takviyesinin yüksek bir CoQ₁₀ H₂ /CoQ₁₀ oranına ve kas gücünde bir artışa neden olduğu ayrıca yaşlanma sırasında iskelet kası performansı ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Fischer ve ark, 2016). Tersine, CoQ₁₀ H₂ /CoQ₁₀ oranının düşük olması, insanlarda sarkopeninin prediktörü olabilir. 4 yıllık bir süre boyunca selenyum ve CoQ₁₀ kombinasyonu verilen yaşlı bireylerde canlılık, fiziksel performans ve yaşam kalitesinde iyileşme bildirilmiştir (Johansson ve ark, 2015). Ayrıca, CoQ₁₀ takviyesi, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili kronik oksidatif stresin önlenmesiyle yaşlı insanlara sağlık yararları sağlamaktadır (Gonzalez-Guardia ve ark, 2015). Bu kanıtlara

rağmen, CoQ₁₀'u etkili bir yaşlanmayı önleme terapisi olarak düşünmeden önce yaşlılara odaklanan daha güvenilir klinik araştırmalara ihtiyaç vardır (Varela-Lopez ve ark, 2016).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tıp alanındaki büyük ilgi ve ilerlemeye rağmen, sağlıklı köpeklerde antioksidan parametreler ile ilgili veriler sınırlıdır. Elde edilen sonuçlar veteriner hekimlikte en çok çalışılan türler olarak, köpek hastalıklarında kullanılmak üzere genel sağlık durumunu gösteren veriler içermektedir.

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan plazma MDA düzeylerinin dişi köpeklerde yaşa bağlı olarak arttığı ($p<0,05$) gözlenirken, eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi ile serum seruloplazmin düzeylerindeki artış ve eritrosit glutatyon düzeylerindeki azalış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Analiz sonuçlarına göre yaşlı dişi köpeklerin serum koenzim Q₁₀ seviyesi genç dişi köpeklerden $p<0,05$ düzeyinde önemli derecede daha düşüktü.

Plazma MDA düzeyleri ve eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi yaşlı erkek köpeklerde gençlere göre daha yüksek ölçüldü ($p<0,05$). Serum seruloplazmin düzeyleri genç erkek köpeklerde yaşlı erkek köpeklere göre daha düşük ölçülmesine rağmen; sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0,05$). Eritrosit glutatyon düzeyleri ve serum koenzim Q₁₀ düzeyi yaşa bağlı olarak azalış gösterdi ($p<0,05$).

Sonuç olarak çalışmamızın bulguları, köpeklerde antioksidan aktivitelerin yaşlanmadan etkilenebileceğini ve yaşla ilişkili lipid peroksidasyonunun olduğunu göstermektedir. Bu nedenle ciddi enerji kısıtlamalarının yanında köpeklere antioksidan ve özel diyetler uygulanması antioksidan-oksidan homeostazisinin korunmasında önemli destek sağlayabilir. Dişi ve erkek köpekler arasında antioksidan seviyeleri açısından muhtemelen hormonlardan kaynaklanan farklılıklar ortaya çıkmıştır. Yaşla beraber verilecek olan antioksidan takviyelerinde cinsiyete bağlı olarak da doz ayarlaması gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abrass IB.** The biology and physiology of aging. *The Western Journal of Medicine - Journals* 1990, 153, 641-645.
- Adachi H, Ishii N.** Effects of tocotrienols on life span and protein carbonylation in *Caenorhabditis elegans*. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences* 2000, 80-285.
- Ademođlu E, Özcan K, Tanrikulu Kucuk S, Gurdol F.** Diři ve erkek sıčanların mangan superoksit dismutaz aktivitesi ve ekspresyonu ile mitokondriyal oksidan üretiminde yaşla ilişkili değişiklikler. *Türk Biyokimya Dergisi* 2013, 38(4), 445–450.
- Aejmelaesus RT, Holm P, Kaukinen U, Metsa-Ketela TJ, Laippala P, Hervonen AL, Alho HE.** Age-related changes in the peroxy radical scavenging capacity of human plasma. *Free Radical Biology & Medicine* 1997, 23, 69–75.
- Akkan GA.** “Vitaminler”. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı ilaç Kullanımı Sempozyumu, İstanbul* 1999, 45-57.
- Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya* 1995.
- Akpoyraz M, Durak İ.** Serbest radikallerin biyolojik etkileri. *The Journal of the Faculty of Medicine* 1995, 48, 253-262.
- Alonso M, Collado PS, González-Gallego.** Melatonin inhibits the expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B activation in rat skeletal muscle. *Journal of Pineal Research* 2006, 41(1), 8-14.
- Alptekin Ö.** Katalazın eupergit, florisil ve cam desteklere kovalent olarak immobilizasyonu ve karakterizasyonu. *Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana* 2009, 246.
- Amanvermez R, Tunçel OK, Demir S, Kefeli M, Bek Y, Celik C.** Protective effects of cysteine methionine and vitamin C on the stomach in chronically alcohol treated rats. *Journal of Applied Toxicology* 2008, 28(5), 591-8.
- Amer MA, ST-Laurent GJ, Brisson GJ.** Supplemental copper and selenium for calves: Effects upon ceruloplasmin activity and liver copper concentration. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1975, 51, 649-653.
- Andersen HR, Nielsen JB, Nielsen F, Grandjean P.** Antioxidative enzyme activities in human Erythrocytes. *Clinical Chemistry* 1997, 43,4 562–568.

Andrews NC, Ullrich CK, Fleming MD. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Orkin S, Nathan David G, Gingsburg D, Look AT (Eds.). *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 7th edition. Philadelphia W.B. Saunders Co* 2009, 521-533.

Anıl M. Antioksidan Olarak Tahıllar. *Hububat 2006 - Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi Gaziantep* 2006.

Antmen ŞE. Beta talasemide oksidatif stres. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 2005.

Arasimowicz M, Floryszak-Wieczorek J, Milczarek G, Jelonek T. Nitric oxide, induced by wounding, mediates redox regulation in pelargonium leaves. *Plant Biology-Stuttgart* 2009, 11, 650-663.

Arnal JF, Clamens S, Pechet C, Negre-Salvayre A, Allera C, Girolami JP, Salvayre R, Bayard F. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1996, 93, 4108–4113.

Aslan R, Şekeroğlu R, Bayıroğlu F. Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *100. Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 1995, 2, 137-142.

Aslan R, DüNDAR Y. Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi* 1999, 2(2), 134-42.

Aydın A, Sayal A, İsimer A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. *Gata Basımevi, Ankara* 2001.

Aydilek N, Şimşek H. Yaşlanmanın Kısraclarda Plazma Oksidan ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2006, 3(2), 73-77.

Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitokondria, Oxidants, and Aging. *Cell* 2005, 4(20), 483–95.

Barber DA, Harris SR. Oxygen Free Radicals and Antioxidants: A rewiev. *AM Pharmacy* 1994, 34(9), 26-35.

Barp J, Araujo AS, Fernandes TR, Rigatto KV, Llesuy S, Bello- Klein A, Singal P. Myocardial antioxidant and oxidative stress changes due to sex hormones. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2002, 35(9), 1075–1081.

Battino M, Gorini A, Villa, RF, Genova ML, Bovina C, Sassi S. et al. Coenzyme Q content in synaptic and non-synaptic mitochondria from different brain regions in the ageing rat. *Mechanisms of Ageing and Development* 1995, 78, 173–187.

Beal MF. Coenzyme Q10 as a possible treatment for neurodegenerative diseases. *Free Radical Research* 2002, 36, 455–460.

Beckman KB, Ames B. The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews* 1998, 78, 547-581.

Belardinelli R, Mucaj A, Lacalaprice F, Solenghi M, Seddaiu G, Principi F, Tiano L, Littarru GP. Coenzyme Q₁₀ and exercise training in chronic heart failure. *European Heart Journal* 2006, 27, 2675–2681.

Berdanier CD, Dwyer J, Feldman EB. Handbook of Nutrition and Food. *CRC Press Taylor&Francis Group, London NewYork* 2008, 1247.

Berköz M, Yahn S, Güler GV, Yalçın A. Akut Lösemilerde Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitesi. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)* 2008, 30(3), 157-162.

Berlutti F, Ajello M, Bosso P, Morea C, Petrucca A, Antonini G, Valenti P. Both lactoferrin and iron influence aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *New content - Biometals June* 2004, 17(3), 271-278.

Berneburg M, Kamenisch Y, Krutmann J. Repair of mitochondrial DNA in aging and carcinogenesis. *Photochemical & Photobiological Sciences* 2006, 5, 190–198.

Beyer RE, Burnett BA, Cartwright KJ, Edington DW, Falzon MJ, Kreitman KR ve ark. Tissue coenzyme Q (ubiquinone) and protein concentrations over the life span of the laboratory rat. *Mechanisms of Ageing and Development* 1985, 32, 267–281.

Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant Properties of Melatonin An Emerging Mystery. *Biochemical Pharmacology* 1998, 56, 1265-1272.

Bhagavan HN, Chopra RK. Coenzyme Q₁₀: Absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radical Research* 2006, 40, 445–453.

Bhagavan HN, Chopra RK, Craft NE, Chitchumroonchokchai C, Failla ML. Assessment of coenzyme Q₁₀ absorption using an in vitro digestion-Caco-2 cell model. *International Journal of Pharmaceutics* 2007, 333, 112–117.

Bhagwat VR. Relationship of erythrocyte superoxide dismutase, serum lipid peroxides and age. *Indian Journal of Medical Sciences* 1997, 51(2), 45-51.

Bokov A, Chaudhuri A, Richardson A. The role of oxidative damage and stres in aging. *Mechanisms of Ageing and Development* 2004, 811-826.

- Bolzan AD, Bianchi MS, Bianchi NO.** Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking. *Clinical Biochemistry* 1997, 30, 449–454.
- Borras C, Sastre J, Garcia-Sala D, Lloret A, Pallardo FV, Vina J.** Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radical Biology & Medicine* 2003, 34(5), 546–552.
- Borek C.** Antioxidant health effects of aged garlic extract. *The Journal of Nutrition* 2001, 1010-1015.
- Briere JJ, Schlemmer D, Chretien D, Rustin P.** Quinone analogues regulate mitochondrial substrate competitive oxidation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004, 316, 1138-1142.
- Brigelius-Flohe R, Traber M-G.** Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal* 1999, 13, 1145- 1155, 10.
- Burçak G, Andican G.** Oxidative DNA damage and aging. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2004, 35, 59–69.
- Büyükbaş S, Gürel A, Uz E, Bodur S.** Sağlıklı Kişilerde Malondialdehit ve Konjuge Dien ile Yaş İlişkisi. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 2000, 7(3).
- Byung PY.** Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews* 1994, 74, 139-172.
- Can G, Çoban A, İnci Z.** Yenidoğan Sarılıkları. In: *Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri Cilt:1 Nobel İstanbul*, 2002, 402-20.
- Carter DC, and Ho JX.** *Journal of Protein Chemistry* 1994, 45, 153-203.
- Cartwright GE, Markowitz H, Shields GS, & Wintrobe MM.** Studies in copper metabolism. XXIX. A critical analysis of serum copper and ceruloplasmin concentrations in normal subjects, patients with Wilson's disease and relatives of patients with Wilson's disease. *American Journal of Medicine* 1960, 28, 555-563.
- Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M.** Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry* 1992, 38, 66–70.
- Cederbland G.** Plasma proteins involved in haem metabolism and in transport of metals, hormones and vitamins, in plasma proteins (edited by B. Blamback and LA. Hanson), *A. Wiley interscience publication, John Wiley and Sons, Chister- New York-Brisbane-Toronto* 1979, 34–117.

- Cemeroğlu B, Karadeniz F, Özkan M.** Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* 2003, 28, 541.
- Cengiz S.** Immobilization of catalase onto clays. *Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir* 2007, 109.
- Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S.** Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology* 2005, 34(2), 85-99.
- Chang IC, Lee TP, Matrone G.** Development of ceruloplasmin in pigs during the neonatal growth period. *The Journal of Nutrition* 1975, 105, 624-630.
- Chang IC, Millholland DC, Matrone G.** Controlling factors in the development of ceruloplasmin in pigs during the neonatal growth period. *The Journal of Nutrition* 1976, 106, 1343-1349.
- Chance B, Sies H, Boveris A.** Hyperperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews - American Journal of Physiology* 1979, 59, 527-603.
- Chapple ILC.** Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 1997, 24, 287-296.
- Cheeseman KH, Slater TF.** An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993, 49(3), 481 -493.
- Clark MD.** Influence of Age and Sex on Serum Copper and Ceruloplasmin Levels1. *Journal of Gerontology* 1974, Vol. 29, No. 3, 277-281.
- Clarkson MP, Thompson SH.** Antioxidants: what role do they play in physical and health? *The American Journal of Clinical Nutrition* 2000, 72 (suppl), 637-646.
- Coudray C, Roussel AM, Arnaud J, et. al.** Selenium and antioxidant vitamin and lipidperoxidation levels in preaging French population. EVA Study Group. Etude de vieillissement arteriel. *Biological Trace Element Research* 1997, 57(2), 183-90.
- Cox DW.** Factors influencing serum ceruloplasmin levels in normal individuals. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine*, 1966, 68, 893-904.
- Cotton, F, Lin C, Fontaine B, Gulbis B, Janssens J. and Vertongen F.** Evaluation of a Capillary Electrophoresis Method for Routine Determination of Hemoglobins A2 and F. *Clinical Chemistry* 1999, 52(2), 237-243.
- Crane FL.** Biochemical Functions of Coenzyme Q₁₀. *Journal of the American College of Nutrition* 2001, 20,591-598.
- Cunningham J, Leffell M, Mearkle P, Harmatz P.** Elevated plasma ceruloplasmin in insulindependent diabetes mellitus: evidence for increased oxidative stress as a variable complication. *Metabolism*, 1995, 44, 996-999.

- Curzon G, Vallet L.** The purification of human caeroplasmin. *Biochemical Journal* 1960, 74, 279-287.
- Çakatay U, Kayalı R.** Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Journal Medicine* 2006, 37, 62–7.
- Çaylak E.** Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2011, 9 (1), 73-83.
- Çevik A.** Broilerlerde bakır noksanlığına bağlı oksidatif strese karşı antioksidan yanıt. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi İstanbul*, 2004.
- Dada LA, Chandel NS, Ridge KM, Pedemonte C, Bertorello AM** et al. Hypoxia-induced endocytosis of Na, K-ATPase in aveolar epithelial cells is mediated by mitochondrial reactive oxygen species and PKC-zeta. *The Journal of Clinical Investigation*, 2003, 111,1057–64.
- Dağoğlu T, Ovalı F.** İndirekt Hiperbilirubinemi. *Neonatoloji, İstanbul, Nobel Tıp* 2000, 443-460.
- Danks DM.** Disorders of copper transport; in *The Metabolic Basis of Inherited Disease. Scriver CR, Beaudet, AL, Sly WS and Vale D (eds.), McGraw Hill, New York, USA* 1989, 1411- 1431.
- Dave RI, Shah NP.** Effectiveness of Ascorbic Acid as an Oxygen Scavenger in Improving Viability of Probiotic Bacteria in Yoghurts Made from Commercial Starter Cultures. *International Dairy Journal* 1997b, 7, 435-443.
- Deichmann RMD, Lavie C, Andrews SMD.** Coenzyme Q₁₀ and statin-induced mitochondrial dysfunction. *The Ochsner Journal* 2010, 10, 16-21, 5.
- Del Pozo-Cruz J, Rodriguez-Bies E, Ballesteros-Simarro M, Navas-Enamorado I, Tung BT, Navas P. ve ark.** Physical activity affects plasma coenzyme Q10 levels differently in young and old humans. *Biogerontology* 2014a, 15, 199–211.
- Del Pozo-Cruz J, Rodriguez-Bies E, Navas-Enamorado I, Del Pozo-Cruz B, Navas P, ve López-Lluch G.** Relationship between functional capacity and body mass index with plasma coenzyme Q10 and oxidative damage in community-dwelling elderly-people. *Experimental Gerontology* 2014b, 52, 46–54.
- Demirel A, Bozdağ G, Kart C, Gürgan T.** Yaşlanma Fizyolojisi ve olası teoriler. *Turkish Journal of Geriatrics* 2006, 9(4), 250–5.
- Denko PhD, Gabriel P, Charles W ve MD.** Age and Sex Related Levels of Albumin, Ceruloplasmin, A₁ Antitrypsin, A₁ Acid Glycoprotein, And Transferrin. *Annals Of Clinical And Laboratory Science* 1981, Vol. 11, No. 1.
- Dennison DK, Van Dyke TE.** The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontology* 1997, 14, 54-78.

- Deveci H-A, Güven A.** Mastitisli ineklerde kan MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008, 14(1), 63-66, 3.
- De AK, Durad R.** Age-associated changes in antioxidants and antioxidative enzymes in rat. *Mechanisms of Ageing and Development* 1991, 59(1-2), 123-128.
- De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, et al.** Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology & Medicine* 1999, 27, 202-226.
- DiMauro S, Hirano M, Schon EA.** Approaches to the treatment of mitochondrial diseases. *Muscle Nerve* 2006, 34, 265-283.
- Diplock, A.** Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series* Belgium 1998, 59.
- Dizlek H, Gül H.** L-askorbik asit ve ekmeççilikteki işlevleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2007, 2 (1), 26-34.
- Di Mascio P, Murphy ME, Sies H.** Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1991, 53, 194-200.
- Doğan M.** *Ceratophyllum demersum L.*'de Kadmiyum Klorür, Sodyum Klorür ve Bunların Kombinasyonlarının Fizyolojik ve Morfolojik Etkileri. *Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana* 2005, 137.
- Domenico ID, Vaughn MB, Paraddkar PN, Lo E, Ward DM, Kaplan J.** Secreted ferritin arises from the entry of newly translated ferritin chains into the secretory apparatus in response to a deficiency in free cytosolic iron. *Cell Metabolism* 2011, 5,13(1)57-67.
- Dröge W.** Aging-related changes in the thiol/disulfide redox state: Implications for the use of thiol antioxidants. *Experimental Gerontology* 2002, 37, 1331-1343.
- Duyar İ. Eds: Mas R, I. A., Karan MA, Beğler T, Akman Ş, Ünal, and T.** Gerontolojinin Temelleri, *Geriatric Bölüm 1*, 2008, 9-19.
- Dünder Y, Aslan R.** Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları Afyonkarahisar*. 2000, 1. Basım, S,5.
- Dykens J.** Oxidative stres and aging. *IDrugs* 2001, 767-769.
- Eckersall PD, Conner JG.** Bovine and canine acute phase proteins, *Veterinary Research Communications* 1988, 12 (2-3), 169 - 178.
- Edlund C, Söderberg M, Kristensson K, Dallner G.** Ubiquinone, dolichol, and cholesterol metabolism in aging and Alzheimer's disease. *Biochemistry and Cell Biology* 1992, 70, 422-428.

El-Demardash FM. Antioxidant effect of vitamin e and selenium on lipid peroxidation enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Element in Medicine and Biology* 2004, 18, 113-121.

Emekli N, Yarat A. *Tükürük Histolojisi, Fizyolojisi, Mikrobiyolojisi ve Biyokimyası* 2008, 5-32, 211-224.

Ensminger ME. Oldfield JE. Heinemann, WW Feeds and Nutrition. *The Ensminger Publishing Company, USA.* 1990, 1065-1118.

Ernster L, Dalliner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta* 1995, 1271, 195-204, 9.

Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition Journal* 2002, 18, 872-879.

Fano G, Mecocci P, Vecchiet J, Belia S, Fulle S, Polidori MC, Felzani G, Senin U, Vecchiet L, Beal MF. Age and sex influence on oxidative damage and functional status in human skeletal muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 2001, 22, 345–351.

Fırat S. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz düzeyleri ve N-Asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. *Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye* 1997, 95.

Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000, 408.

Fischer A, Onur S, Niklowitz P, Menke T, Laudes M, Rimbach G. Coenzyme Q10 status as a determinant of muscular strength in two independent cohorts. *PLOS ONE* 2016.

Fleming RE, Whitman IP, Gitlin JD. Induction of ceruloplasmin gene expression in rat lung during inflammation and hyperoxia. *American Journal of Physiology* 1991, 260, L68–74.

Flora SJ. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cellular and Molecular Biology* 2007, 53, 1-2.

Floyd RA. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *The FASEB Journal* 1990, 4, 2587-97.

Flögel U, Merx MW, Gödecke A, Decking UKM, Schrader J. Myoglobin: A scavenger of bioactive NO. *PNAS* 2001, 98 (2), 735–740.

Fox PL, Mukhopadhyay C, Ehrenwald E Structure. Oxidant activity and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin. *Life Sciences* 1995, 56 (21), 1749- 58.

Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free Radical Biology & Medicine* 2000, 28, 1735- 44.

- Freeman LM, Brown DJ, Rush JE.** Assessment of degree of oxidative stress and antioxidant concentrations in dogs with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1999, 215, 644–646.
- Fridovich I.** Superoxide Radical: An Endogenous Toxicant. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1983, 23, 239-257.
- Ganong WF.** Digestion and Absorption. *Review of Medical Physiology. 15th Edition. Appleton And Lange* 1991, 437-447.
- Garcia-Arumi E, Andreu AL, Lopez-Hellin J, Schwartz S.** Effect of oxidative stress on lymphocytes from elderly subjects. *Clinical Science* 1998, 94, 447-452.
- Giergiel M, Lopucki M, Stachowicz N, Kankofer M.** The influence of age and gender on antioxidant enzyme activities in humans and laboratory animals. *Aging Clinical and Experimental Research* 2012, 24, 561–569.
- Gruys E, Obłowo MJ, Toussaint JM.** Diagnostic significance of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Veterinary Bulletin* 1994, (64) 11, 1009 -1015.
- Gil L, Siems W, Mazurek B, Gross J, Schroeder P, Voss P, Grune T.** Age-associated analysis of oxidative stress parameters in human plasma and erythrocytes. *Free Radical Research* 2006, 40, 495–505.
- Gutteridge JMC.** *Medical Laboratory Sciences* 1992, 49, 313±318.
- Gavrilov LA, Gavrilova NS.** Evolutionary theories of aging and longevity. *The Scientific World Journal* 2002, 2, 339–56.
- Gerber MR, Connor JR.** Do oligodendrocytes mediate iron regulation in the human brain. *Annals of Neurology* 1989, 26(1), 95-98.
- Geromel V, Darin N, Chretien D, Benit P, DeLonlay P, Rötig A, Munnich A.** Coenzyme Q₁₀ and idebenone in the therapy of respiratory chain diseases: rationale and comparative benefits. *Molecular Genetics and Metabolism* 2004, 77, 21-30.
- Gonzalez-Guardia L, Yubero-Serrano EM, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Marin C.** Effects of the Mediterranean diet supplemented with coenzyme q10 on metabolomic profiles in elderly men and women. *The Journals of Gerontology* 2015, 70, 78–84.
- Gökçe KY.** Neden Geriatri. *Geriatri 2000 Sempozyum Kitabı, ATO Yayınları* 2000, 39-41.
- Gök V, Serteser A.** Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı. 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi Ankara* 2003.
- Gözükara EM.** *Biyokimya, İstanbul Üniversitesi Yayınları*, 1989.

- Greene EL, Paller MS.** Oxygen Free Radicals in Acute Renal Failure. *Mineral and Electrolyte Metabolism* 1991, 17(2), 124 -132.
- Greenberg S, Frishman, WH.** Co-enzyme Q10: A new drug for cardiovascular disease. *The Journal of Clinical Pharmacology* 1990, 30, 596–608.
- Grimble RF.** The effects of sulfur amino acids intake on immune function in humans. *The Journal of Nutrition* 2006, 136,1660–1665.
- Gutteridge JMC.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinic Chemistry* 1995, 41/12, 1819-1828.
- Güngör Ö ve ark.** *Türk Biyokimya Dergisi*, 2004, 29 (3), 226- 231.
- Halliwell B.** Oxygen radicals: commonsense look at their nature and medical importance. *Medical Biology* 1984, 62, 71-77.
- Halliwell B, Gutteridge JMC.** Free radicals in biology and medicine. *2nd ed. Oxford: Clarendon Press* 1989, 188-196.
- Halliwell B.** Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine* 1991, 30, 91(3C), 14-22.
- Halliwell B, Chirico S.** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1993, 57, 7155-65, 9.
- Halliwell B.** Free radicals antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *The Lancet* 1994, 344, 721-724.
- Halliwell B, Gutteridge JMC.** Free Radicals in Biology and Medicine. *3rd ed. Oxford University Press, Newyork* 1999, 246-351.
- Harmandaro Eren S.** Sıçanlarda Melatonin Desteğinin Akut (Hafif ve Ağır)Egzersizle Çeşitli Dokularda Olusan Lipid Peroksidasyonu ve AntioksidanDurum Üzerine Etkileri. *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi SağlıkBilimleri Enstitüsü, Konya* 2008, 39.
- Harman D.** Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Gerontology* 1956, 11, 298–300.
- Harman D.** The biologic clock: the mitochondria? *Journal of the American Geriatrics Society* 1972, 20, 145–57.
- Harris ZL, Durley AP, Man TK, and Gitlin JD.** *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* 1999, 96, 10812–10817.
- Hoekstra GW.** Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Federation Proceedings* 1975, 34 (11), 2083-89.

Hübner-Woźniak E, Okecka-Szymańska J, Stupnicki R, Malara M, Kozdroń E. Age-Related Blood Antioxidant Capacity in Men and Women. *Journal of Medical Biochemistry* 2011, 30.

Ide T, Tsutsui H, Ohashi N, Hayashidani S, Suematsu N, Tsuchihashi M, Tamai H, Takeshita A. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. *Arterioscler Thromb Vase Biol* 2002, 22(7), 1239–1241.

Inoue K, Sakano N, Ogino K, Sato Y, Da-Hong W, Kubo M, Takahashi H, Kanbara S, Miyatake N. Relationship between ceruloplasmin and oxidative biomarkers including ferritin among healthy Japanese. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 2013, 52(2), 160-166.

İnal ME, Kanbak, G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level related to aging. *Clinica Chimica Acta* 2001, 305, 75-80.

Janson M. Orthomolecular medicine: the therapeutic use of dietary supplements for anti-aging, *Clinical Interventions in Aging* 2006, 1(3), 261–265, 4.

Jazwinski SM. Aging and longevity genes. *Acta Biochimica Polonica* 2000, 47(2), 269–79.

Jesberger JA, Richardson JS. ‘Oxygen free radicals and brain dysfunction. *International Journal of Neuroscience* 1991, 57, 1-17.

Johansson P, Dahlstrom O, Dahlstrom U, ve Alehagen U. Improved health-related quality of life, and more days out of hospital with supplementation with selenium and coenzyme Q10 combined. Results from a double blind, placebo-controlled prospective study. *The Journal of Nutrition Health and Aging* 2015, 19, 870–877.

Kagen L, Scheidt S, Roberts L, Porter A, Paul H. Myoglobinemia following acute myocardial infarction. *The American Journal of Medicine* 1975, 58, 177-82.

Kahyaoğlu A. Deneysel diabet oluşturulan ratlarda bazı akut faz proteinleri ve iz elementler arasındaki ilişkiler. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri, 2011.

Kalen A, Appelkvist EL, Dallner G. Age-related changes in the lipid compositions of rat and human tissues. *Lipids* 1989, 24, 579–584.

Kanner J, Ben-gera I, Berman S. Nitric-oxide myoglobin as an inhibitor of lipid oxidation. *Biomedical and Life Science* 2006, 15(11), 944-94.

Kanofsky JR. Singlet oxygen production by biological systems. *Chemico-Biological Interactions* 1989, 70, 1-28.

Kanta J. The role of hydrogen peroxide and other reactive oxygen species in wound healing. *Acta Medica*, 2011, 54 (3), 97-101, 5.

Karolkiewicz J, Pilaczynska-Szczesniak L, Maciaszek J, Osinski W. Insulin resistance, oxidative stress markers and the blood antioxidant system in overweight elderly men. *Aging Male* 2006, 9, 159–63.

Khopde SM, Priyadarsini KI, Mukherjee T, Kulkarni PB, Satav JG, Bhattacharya RK. Does β Carotene protect membrane lipids from nitrogen dioxide. *Free Radical Biology & Medicine* 1998, 25, 66-71.

Kieburtz K. A randomized, placebocontrolled trial of coenzyme Q10 and remacemide in Huntington's disease. *Neurology The Huntington Study Group*, 2001, 57, 397–404.

Kim JW, No JK, Ikeno Y, Yu BP, Choi JS, Yokozawa T, Chung HY. Age-related changes in redox status of rat serum. *Archives of Gerontology and Geriatrics – Journal* 2002, 34, 9-17.

King A, Gottlieb E, Brooks DG, Murphy MP, Dunaief JL. Mitochondria-derived reactive oxygen species mediate if blue light-induced death of retinal pigment epithelial cells. *Photochemistry and Photobiology* 2004, 79, 470–475.

Kizhakekuttu JT, Widlansky EM. Natural Antioxidants and hypertension: promise and challenges. *Cardiovascular Therapeutics* 2010, 28, 20-32, 12.

Krasnovsky AA, Drozdova NN, Ivanov AV, Ambartsumian RV. Activation of molecular oxygen by infrared laser radiation in pigment-free aerobic systems. *Biochemistry* 2003, 68, 963–966.

Krijgsman B, Papadakis JA, Ganotakis ES, Mikhailidis DP, Hamilton G. The effect of peripheral vascular disease on the serum levels of natural anti-oxidants: bilirubin and albumin. *International Angiology London, UK.* 2002, 21(1), 44-52.

Krüger M, Schrödl W, Lindner A, Kunze R. C-reaktives protein akute phase protein mit labormedizinischer bedeutung in der veterinarmedizin. *Tierärztliche Praxis* 1995, 23, 236-240.

Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, Hofer T, Seo, AY, Sullivan, R, Jobling WA, Morrow JD, Remmen HV, Sevidy JM, Yamasoba T, Tanokura M, Weindruch R, Leewenburgh C, Prolla TA. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress and apoptosis in mammalian aging. *Science* 2005, 309, 481–484.

Kasapoğlu M, Özben T. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative stress markers in aging. *Experimental Gerontology* 2001, 36, 209–220.

Lamb DJ, Leake DS. Acidic pH enables ceruloplasmin to catalyse the modification of lowdensity lipoprotein. *FEBS Letters* 1994, 338, 122- 6.

Langsjoen PH, Langsjoen AM. Overview of the use of coenzyme Q10 in cardiovascular disease. *Biofactors* 1999, 9, 273–284.

- Lass A, Kwong L, Sohal RS.** Mitochondrial coenzyme Q content and aging. *Biofactors* 1999, 9, 199–205.
- Lavelli V, Peri C, Rizzola A.** Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using Xanthine oxidase, Myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000, 48(5),1442-1448.
- Lee BJ, Lin YC, Huang YC, Ko YW, Hsia S, Lin PT.** The relationship between coenzyme Q₁₀, oxidative stress, and antioxidant enzymes activities and coronary artery disease. *Scientific World Journal* 2012, 2012, 792756.
- Lelli JL, Pradhan S, Cobb LM.** Prevention of the posts ischemic injury in immature intestine by deferoxamine. *Journal of Surgical Research* 1993, 54, 34-38.
- Legrand D, Pierce A, Ellass E, Carpentier M, Mariller C, Mazurier J.** Lactoferrin structure and functions. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2008, 606, 163-194.
- Levine RL, Stadtman ER.** Protein modifications with aging, *1 st ed, San Diego, Academic Press*, 1996.
- Liochev SI, Fridovich I.** The role of O₂ in the production of HO: in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine* 1994, 16, 29-33.
- Littarru GP, Tiano L.** Clinical aspects of coenzyme Q₁₀: an update. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 2005, 8, 641–646.
- Loewus FA.** l-Ascorbic Acid: Metabolism, Biosynthesis, Function. In: Preiss J, (Ed.) *The Biochemistry of Plants, New York* 1980, 3, 77-99.
- Mac Mahon JR, Stevenson DK, Oski FA.** Bilirubin In: Taeusch HM, Ballard RA. (eds). *Avery's Diseases of the Newborn, 7th ed, Philadelphia: A Division of horcourt Brace Company*, 1998, 995-1020.
- Madi BC, Sandal J, Bannett R.** Effects of Female Relative in Labor. *Birth*. 1999, 26, 9-10.
- Malavolta M, Giacconi R, Piacenza F, Santarelli L, Cipriano C, Costarelli L, Tesei, S, Lakatta EG.** The aging process. *Annals of Internal Medicine* 1990, 113, 455-466.
- Malavolta M. ve ark.** *Mechanisms of Ageing and Development* 2015, 151, 93–100.
- Marshall RJ, Scott KC, Hill RC, Lewis DD, Sundstrom D, Jones GL, Harper J.** Supplemental vitamin C appears to slow racing greyhounds. *The Journal of Nutrition* 2002, 132(6), 1616–1621.
- Massie HR, Colacicco JR, Aiello VR.** Changes with age in copper and ceruloplasmin in serum from humans and C57BL/6J mice. *Age* 1979, 2, 97–101.
- Matés JM, Jiménez FS.** Antioxidant Enzymes and their Implications in Pathophysiologic Processes. *Frontiers in Bioscience* 1999, 4, 339-345.

Mazepa RC, Cuevas MJ, Collado PS. ‘et all’. Melatonin increases muscle and liver glycogen content in nonexercised and exercised rats. *Life Science* 2000, 66, 153-60.

Mc Cord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine* 2000, 108, 652-659.

Mc Cord J.M. Human disease, free radicals and the oxidant antioxidant balance. *Clinical Biochemistry* 1993, 26, 651-357.

Mc Pearson RA. Philadelphia: W.B. Saunders Company. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method In: Henry JB, editor* 1996, 237- 57.

Medvedev Z. An attempt at a rational classification of theories of aging. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 1990, 65, 375–398.

Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005, 3, 30-39.

Mendoza-Nunez VM, Ruiz-Ramos M, Sanchez-Rodriguez MA, Retana-Ugalde R, Munoz- Sanchez JL. Aging-related oxidative stress in healthy humans. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 2007, 213, 261–268.

Meram, Aktaran S. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri. *Arsiv* 2002, 11, 299.

Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F, Romano F, De Cesare D, Cuccurullo F, Imbastaro T, Riario-Sforza G, Di Giacomo F, Zuliani G, Fellin R. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radical Biology & Medicine* 1998, 25, 676–681.

Miyajima H, Kono S, Takahashi Y, Sugimoto M. Increased lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction in aceruloplasminemia brains. *Blood Cells, Molecules & Diseases* 2002, 29 (3), 433- 8.

Miquel J, Ramirez-Bosca A, Soler A, et. al. Increase with age of serum lipid peroxides: implications for the prevention of atherosclerosis. *Mechanisms of Ageing and Development* 1998, 100(1), 17-24.

Monaghan P, Metcalfe NB, Torres R. Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecology Letters* 2009, 12,75-92.

Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis. *The Veterinary Journal* 2004, 168, 28-40.

Murcia MA, Jimenez AM, Martinez-Tome M. Vegetables Antioxidant Losses During Industrial Processing and Refrigerated Storage. *Food Research International* 2009, 42, 1046-1052.

- Murray RK, Mayes PA, Granner KD, and Rodwell VW.** Haper'in Biyokimyası. (Çev. G. Menteş ve B. Ersöz), Barış Kitapevi, İstanbul, Yirmiikinci baskı 1993, 769, 60-71, 73-127.
- Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW.** Fizyolojik Öneme Sahip Lipidler, Harper'in Biyokimyası. Yirmidördüncü baskı, Barış Kitapevi, İstanbul 1996.
- Nakajima Y, Inokuchi Y, Nishi M, Shimazawa M, Otsubo K et al.** Coenzyme Q₁₀ protects retinal cells against oxidative stress in vitro and in vivo. *Brain Research* 2008, 1226, 226–33.
- Nielsen JB, Nielsen F, Andersen HR, Grandjean P.** Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry* 1997, 43, 562–568.
- Noyan A.** Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. *Meteksan A.Ş., Ankara, sekizinci baskı*, 1993, 670-672, 522-526.
- Odum EP, Wakwe VC.** Plasma concentrations of water-soluble vitamins in metabolic syndrome subjects, *Original Article* 2012, 442-447, 5.
- Onur S, Niklowitz P, Fischer A, Metges CC, Grune T, Menke T, Rimbach G, Döring F.** A comparative study into alterations of coenzyme Q redox status in ageing pigs, mice, and worms. *Biofactors* 2014, 40, 346–354.
- Oran O, Gürakan B.** Bilirubin Metabolizması. *Katkı Pediatri Dergisi* 1995, 16, 667-669.
- Osaki S, Johnson DA, Frieden E.** The possible significance of the ferrous oxidase activity of Ceruloplasmin in normal human serum. *The Journal of Biological Chemistry* 1966, 241, 2746- 2751.
- Oudshoorn JH, ALY, Lecluse R, Berg WHJ, Vaes J, Laag RHJ.** Houwen, “Decreased Coenzyme Q₁₀ concentration in plasma of children with cystic fibrosis”. *Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition* 2006, 43(5), 646-50.
- Overvad KB, Diamant L, Holm G, Hülmer SA, Mortensen SS.** “Review Coenzyme Q₁₀ in health and disease”. *European Journal of Clinical Nutrition* 1999, 53, 764-770.
- Packer L.** Protective role of vitamin E in biological systems. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1991, 53,1050-5.
- Pahkla R, Zilmer M, Kullisaar T ‘et all’.** Comparison of the antioxidant activity of melatonin and inositol in vitro. *Journal of Pineal Research* 1998, 24, 96-101.
- Pamplona R, Portero-Oti'n M, Riba D, Ruiz C, Prat J, Bellmunt MJ, Barja G.** Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. *The Journal of Lipid Research* 1998, 39, 1989–1994.
- Pandey KB, Rizvi SI.** Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2010, 3, 2–12.

- Pansarasa O, Bertorelli L, Vecchiet J, Felzani G, Marzatico F.** Age dependent changes of antioxidant activities and markers of free radical damage in human skeletal muscle. *Free Radical Biology Medicine* 1999, 27, 617-622.
- Patel BN, Dunn RJ, Jeong SY, Zhu Q, Julien JP and David S.** Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *Journal of Neuroscience*, 2002, 22, 6578–6586.
- Pelit A, Aydın P.** Oküler yaşlanma. *Geriatrici* 2001, 4(1), 28–32.
- Perman JA, Werlin SL, Grand RJ, Watkins JB.** Laboratory measures of copper metabolism in the differentiation of chronic active hepatitis and Wilson disease in children. *Journal of Pediatrics* 1979, 94, 564- 8.
- Percival M.** Antioksidants. *Clinical Nutrition Insight*, 1998.
- Pierpaoli S, Basso A, Galeazzi R, Lattanzio F, Mocchegiani E.** Plasma copper/zinc ratio: an inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population. *Biogerontology* 2010, 11,309–319.
- Pratico D.** Lipid Peroxidation and the Aging Process. Science of Aging Knowledge Environment. <http://sageke.sciencemag.org/cgi/content/full/sageke> 2002, 50, 5.
- Provan D.** Mechanisms and management of iron deficiency anemia. *British Journal of Haematology* 1999, 105, 19-26.
- Quinzii CM, Hirano M, Dimauro S.** CoQ₁₀ deficiency diseases in adults. *Mitochondrion* 2007, 7, 122-126.
- Quinzii CM, Hirano M.** Coenzyme Q and mitochondrial disease. *Developmental Disabilities Research Reviews* 2010, 16, 183-188.
- Rattan SI.** Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals. *Free Radical Research* 2006, 40, 1230–1238.
- Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB.** Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *The American Journal of Surgery* 1991, 161(4),488 -503.
- Reiter RJ.** Melatonin: The chemical expression of darkness. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1991, 79, 153-8.
- Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E.** Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *Journal of Biomedical Science* 2000, 7, 444-58.
- Reunanen A, Knekt P, Ritva-Kaarina A.** Serum ceruloplasmin level and the risk of myocardial infarction and stroke *American Journal of Epidemiology* 1992, 136, 1082- 90.

- Riemarsma R-A, Wood D-A, Elton R-A, Oliver M-F.** Risk of angina pectoris and plasma concentration of vitamin A, C, E, and caroten. *The Lancet* 1991, 337, 1-5.
- Rikans LE, Hornbrook KR.** Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochemica et Biophysica Acta* 1997, 1362, 116-127.
- Rizvi SI, Maurya PK.** Markers of oxidative stress in erythrocytes during ageing in humans. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007, 1100, 373–82.
- Rojkind M, Domínguez-Rosales JA.** Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. *CMLS, Cellular and Molecular Life Sciences* 2002, 59, 1872-1891.
- Rondanelli M, Melzi d’Eril GV, Anesi A.** et al. Altered oxidative stress in healthy old subjects. *Aging* 1997, 9(3), 221-3.
- Rose WC.** New aspects of glutathione biochemistry and transport-selective alteration of glutathione metabolism. *Nature Reviews* 1984, 42, 12, 397-410.
- Saldamlı İ, Sağlam F.** Vitaminler ve Mineraller. Gıda Kimyası, Ed: Saldamlı, İ. *Hacettepe Üniversitesi, Ankara* 1998, 337-398.
- Saldamlı G.** Gıda Kimyası. *Hacettepe Üniversitesi Yayınları Ankara* 1998, 435- 450.
- Samiec PS, Drews-Botsch C, Flagg EW, Kurtz JC, Sternberg P, Reed RL, Jones DP.** Glutathione in human plasma: Decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine* 1998, 24, 699-704.
- Samsoe BD, Christiansen E, and Andersen RB.** Myofascial pain and the role of myoglobin. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 1986, 15, 174-178.
- Sander S-C, Chang H, Salzmann S, Mueller S-LC, Ekanayake-Mudiyanselage S, Elsner, P, Thiele JJ.** Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. *The Society for Investigative Dermatology* 2002, 118, 618-625, 7.
- Sastre J, Borrás C, Garcia-Sala D, Lloret A, Pallardo FV, Vina J.** Mitochondrial damage in aging and apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2002, 959, 448–451.
- Sakamoto M, Nakano A, Kinjo Y, et. al.** A cross-sectional study of lipid peroxide levels (plasma TBA levels) in a mass health examination. *Nippon Koshu Eisei Zasshi* 1992, 399-409.
- Sanderson KJ, Van- Rij AM, Wade CR, et. al.** Lipid peroxidation of circulating low density lipoproteins with age, smoking and in peripheral vascular disease. *Atherosclerosis* 1995, 118(1), 45-51.

Scibior D, Czczot H. Catalase: structure, properties, functions. *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej* 2006, 60, 170-180.

Scheinberg IH, Steinlieb I. Ceruloplasmin; in Wilson Disease. *Lloyd H. and Smith Jr. (eds.) W. B.Saunders Co, Philadelphia, USA.* 1984, 1- 171.

Schmelzer C, Kubo H, Mori M, Sawashita J, Kitano M, Hosoe K. ve ark. Supplementation with the reduced form of Coenzyme Q10 decelerates phenotypic characteristics of senescence and induces a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha gene expression signature in SAMP1 mice. *Molecular Nutrition & Food Research* 2010, 54, 805–815.

Schmid R. Bilirubin Metabolizm in *The New England Journal of Medicine* 1972, 287,573-578.

Sen, CK. Symposium: *Antioxidant and Redox Regulation of Cellular Signaling 2001.*

Shapiro SM. Bilirubin toxicity in the developing nervous system. *Pediatric Neurology* 2003, 29, 410-421.

Shults CW, Oakes D, Kieburtz K, Beal FL, Haas R, Plumb S, Junco, JL, Nutt J, Shoulson I, Carter J, Kompoliti K, Perlmutter JS, Reich S, Stern M, Watts RL, Kurlan R, Molho E, Harrison M, ve Lew M. The Parkinson Study Group, Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson Disease. *Archives of Neurology* 2002, 59, 1541–1550.

Shults CW. Coenzyme Q₁₀ in neurodegenerative diseases. *Current Medicinal Chemistry* 2003, 10, 1917–1921.

Silverman LM, Christenson RH. Aminoacid and proteins. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry (second edition), Edited by Burtis CA, Ashwood ER, Saunders Company, Philedelphia,* 1994.

Smi A, Othani W, Kobayashi K, Ohmura T, Yokoyama K, Nishida M and Suyama T. Blood Proteins. *Biotechnol* 1993, 227, 293-298.

Sohal RS, Farmer KJ, Allen RG, Cohen NR. Effect of age on oxygen consumption, superoxidedismutase, catalase, glutathione, inorganic peroxide sand chloroform-soluble antioxidants in the adult malehouseşy, *Musca domestica.* *Mechanisms of Ageing Development* 1984, 16, 159–167.

Sohal RS. Role of oxidative stres and protein oxidation in theagingprocess. *Free Radical Biology and Medicine* 2002, 33(1), 37.44.

Sohal RS, Forster MJ. Coenzyme Q, oxidative stress and aging. *Mitochondrion* 2007, 7, S103–S111.

Soner G, Kurdoğlu G. Beslenme ve Beslenme Bozuklukları-Mineraller. *Pediatrici cilt I. 7. Ed. Nobel Tıp Kitabevi* 1993, 369-376.

Southorn P-A, Powis O. Free radical in medicine I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clinic Proceedings* 1988, 63(4),381-9.

Söderberg M, Edlund C, Kristensson K, Dallner G. Lipid compositions of different regions of the human brain during aging. *Journal of Neurochemistry* 1990, 54, 415–423.

Staroverov VN, Davidson ER. Distribution of effectively unpaired electrons. *Chemical Physics Letters* 2000, 330, 161-168.

Stio M, Iantomasi T, Favilli F, Marraccini P, Lunghi B, Vincenzini MT, Treves C. Glutathione metabolism in heart and liver of the aging rat. *Biochemistry and Cell Biology* 1994, 72, 58-61.

Stryer L. *Biochemistry, Stanford University, W.H. Freeman and Company, New York* 1994.

Stryer L. *Biochemistry (4th Ed.). W. H. Freeman and Company, New York,* 1995, 567-568.

Sugio S, Kashima A, Mochizuki S, Noda M, Kobayashi K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Medicine PEDS* 1999, 12,6, 439-446.

Tabrizi BA, Hasanpour A, Mousavi G, Hajjalilou S. Evaluation of serum levels of copper in holstein cows and their calves during colostrum nourishing. *Middle-East Journal of Scientific Research* 2011, 7 (5), 712–714.

Tekkeş Y. “Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması”. *Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv., Fen Bil. Enstitüsü, Kahramanmaraş* 2006, 81.

Thorne R. Inc. Coenzyme Q₁₀. *Alternative Medicine Review*, 2007, 12, 159-168.

Tian L, Cai, Wei H. Alterations of antioxidant enzyme and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radical Biology & Medicine* 1998, 24 (9), 1477–1484.

Tirlapur UK, König K, Peuckert C, Krieg R, Halhuber KJ. Femtosecond near-infrared laser pulses elicit generation of reactive oxygen species in mammalian cells leading to apoptosis-like death. *Experimental Cell Research* 2001, 263, 88–97.

Tolmasoff JM, Ono T, Cutler RG. Superoxide dismutase correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. *Proceeding of the National Academy of Science* 1980, 77, 2777. 2781.

Tomsic K, Seliskar A, Lukanc B, Nemeč Svete A. Plasma Total Antioxidant Capacity And Activities Of Blood Glutathione Peroxidase And Superoxide Dismutase Determined In

Healthy Dogs By Using Commercially Available Kits. *Acta Veterinaria-Beograd* 2016, 66 (4), 534-548.

Trelstad RL, Lawley KR, Holmes LB. Nonenzymatic hydroxylations of proline and lysine on reduced oxygen derivatives. *Nature* 1981, 289, 310-5.

Trimarchi JR, Liu L, Porterfield DM, Smith PJ, Keefe DL. Oxidative phosphorylation-dependent and -independent oxygen consumption by individual preimplantation mouse embryos. *Biology of Reproduction* 2000, 62, 1866-1874.

Tsuji Y, Ayaki H, Whitman SP, et al. Coordinate transcriptional and translational regulation of ferritin in response to oxidative stress. *Molecular and Cellular Biology* 2000, 20, 5818-27.

Turunen M, Appelkvist EL, Sindelar P, Dallner G. Blood concentration of coenzyme Q(10) increases in rats when esterified forms are administered. *The Journal of Nutrition* 1999, 129, 2113–2118.

Turunen M, Olsson J, Dallner G. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 2004, 1, 171-199.

Tian G, Sawashita J, Kubo H, Nishio SY, Hashimoto S, Suzuki, N. ve ark. Ubiquinol-10 supplementation activates mitochondria functions to decelerate senescence in senescence-accelerated mice. *Antioxidants & Redox Signaling* 2014, 20, 2606–2620.

Tiribelli C, Ostrow JD. New concepts in bilirubin chemistry, transport and metabolism. *Report of the international bilirubin workshop, April 6-8, 1989, Trieste, Italy. Hepatology* 11, 303-313, 1990.

Tudus PM. Estrogen and gender effects on muscle damage, inflammation, and oxidative stress. *Canadian Journal of Applied Physiology* 2000, 25(4),274–287.

Todorova I, Simeonova G, Kyuchukova D, Dinev D, Gadjeva V. Reference values of oxidative stress parameters (MDA, SOD, CAT) in dogs and cats. *Comparative Clinical Pathology* 2005, 13,190–194.

Tuncer M, Kılınç K, Pehlivanoglu B, Balkancı D. ve Duman O. Deneysel Önbeyin İskemi-Reperfüzyon Hasrında Melatonin Antioksidan Etkisi. *Klinik gelişim* 1998, 11,423-425.

Türkmen R, Özdemir M. Diabetes mellitusta serbest radikallerin rolü. *Kocatepe Veterinary Journal* 2011, 4 (1), 65-72.

Tüzün Y, Dolar N, Foto yaşlanma ve kronolojik yaşlanma arasındaki farklar. 2005, 1, 1-6.

Ulutaş PA. Deneysel *Pasteurella haemolytica* enfeksiyonlu koyunlarda kolostrum ve anne sütü ile beslemenin kan akut faz proteinleri ve bazı mineral düzeylerine etkisi. *Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 2003.

- Ulutaş a PA, Ulutaş b B, Kıral a F, Aşıcı a GSE, Gültekin b M.** Changes of acute phase protein levels in Saanen goat kids during neonatal period. *Small Ruminant Research* 2017, 146, 33–36.
- Uysal M.** Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998, 11,336-41.
- Uysal M.** Serbest radikaller ve oksidatif stres. *Biyokimya, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri* 2010.
- Ülkü B.** Anemiler. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri; Anemiler Sempozyumu* 2001, 25, 23-32.
- Vajdovich P, Gaal T, Szilagyı A, Harnos A.** Changes in some red blood cell and clinical laboratory parameters in young and old Beagle dogs. *Veterinary Research Communications* 1997, 21, 463–470.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, and Telser J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007, 39, 44-84.
- Vallyathan V, Leonard S, Kuppusamy P, Pack D, Chzhan M, Sanders SP.** Oxidative stress in silicosis: evidence for the enhanced clearance of free radicals from whole lungs. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1997, 168 (1-2), 125-32.
- Varela-Lopez A, Giampieri F, Battino M, ve Quiles JL.** Coenzyme Q and its role in the dietary therapy against aging. *Molecules* 2016, 21,373.
- Viña J, Borrás C, Miquel J.** Theories of ageing. *IUBMB Life* 2007, 4, 249–254.
- Wassef R, Haenold R, Hansel A, Brot N, Heinemann SH, Hoshi T.** Methionine sulfoxide reductase A and a dietary supplement S-methyl-L-cysteine prevent Parkinson's-like symptoms. *Journal of Neuroscience* 2007, 2747, 12808-12816.
- Weber C, Bysted A, Holmer G.** “Intestinal Absorption of Coenzyme Q₁₀ Administered in a Meal or as Capsules to Healthy Subjects”. *Nutrition Research* 1997, 17(6), 941-945.
- Wilson DB.** Disorders of Iron Metabolism and Sideroblastic Anemia. In:Nathan D.G, Orkin S.H, Gingsburg D, Look T.A. eds. Nathan and Oski’s Hematology of Infancy and Childhood. 6th edit. W.B Saunders company, philadelphia. 2009, 522-542.
- Wittum TE, Young CR, Stanker LH, Griffin DD, Perino LJ, Littledike ET.** Haptoglobin response to clinical respiratory disease in feedlot cattle. *American Journal of Veterinary Research* 1996, (57) 5, 646 - 649.
- Worwood M.** Serum ferritin-Iron metabolism. *Iron Newyork, Churchill Livingstone* 1980, 4, 59-60.

- Xu X, Pin S, Gathinji M, Haris ZL.** Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2004, 1012, 299- 305.
- Yanbeyi S.** Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. *Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye* 1999, 88.
- Yıldırım E.** Tuzlu topraklarda katalaz enziminin aktivitesi ve kinetiği. *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya* 2010, 81.
- Yıldız İ, Yüksel L.** Kan Hastalıkları. *Onat T. (Editör) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları. İstanbul. Eksen yayınları* 1996, 611-656.
- Yılmaz Z, Şenoğlu M, Kurutaş E-B, Çıralık H, Özbağ D.** Neuroprotective effects of mannitol and vitamin C on crush injury of sciatic nerve; an experimental rat study. *Journal of Neurological Sciences* 2011, 28(4), 538-551,13.
- Yoshoiko T, Kawada K, Shimada T.** Lipit peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism aganist actived-oxygen toxicity in the blood. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 1979,135,372-376.
- Yüce A, Koçak N, Özen H, Gürakan F.** Wilson's disease patients with normal ceruloplasmin levels. *The Turkish Journal of Pediatrics* 1999, 41, 99- 102.
- Yunice PhD, Aniece A, Robert D, Lindeman MD, Anthony W, Czerwinski MD, Mervin Zhang Y, Appelkvist EL, Kristensson K, Dallner G.** The lipid compositions of different regions of rat brain during development and aging. *Neurobiology of Aging* 1996, 17, 869–875.
- Yue, Y, Zhou H, Liu G, Li Y, Yan Z, Duan M.** The advantages of a novel CoQ10 delivery system in skin photo-protection. *International Journal of Pharmaceutics* 2010, 392, 57-63, 6.
- Yu BP.** Aging and oxidative stres. *Free Radical Biology & Medicine* 1996, 651-668.
- Zaghloul AA, Gurley B, Khan M, Bhagavan, H, Chopra R, Reddy I.** Bioavailability assessment of oral coenzyme Q₁₀ formulations in dogs. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 2002, 28, 1195–1200.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : AKIN Gamze
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Antalya/TÜRKİYE 08.06.1991
E-mail : gamzeakin08@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi	2014

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2014-2015	Çınar Et	Sorumlu Yönetici
2016-2017	Ekonomistler Platformu	Proje Asistanı