

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİYOSEMİKARBAZON TÜREVİ İHTİVA EDEN SCHİFF BAZI VE METAL
KOMPLEKSLERİNİN RATLARIN ANTİOKSİDAN VE AMİNO ASİT
DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

176636

Mustafa KARATEPE

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

116636

ELAZIĞ - 2002

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİYOSEMİKARBAZON TÜREVİ İHTİVA EDEN SCHİFF BAZI VE METAL
KOMPLEKSLERİNİN RATLARIN ANTİOKSİDAN VE AMİNO ASİT
DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa KARATEPE

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından desteklenmiştir

(FÜBAP-Proje No : 522)

ELAZIĞ - 2002

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİYOSEMİKARBAZON TÜREVİ İHTİVA EDEN SCHİFF BAZI VE METAL
KOMPLEKSLERİNİN RATLARIN ANTİOKSİDAN VE AMİNO ASİT
DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa KARATEPE

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

Bu Tez, Tarihinde Aşağıda Belirtilen Jüri Tarafından Oybirliği /
Oyçokluğu ile Başarılı / Başarısız Olarak Değerlendirilmiştir.

Prof. Dr. Cihan Kalkan *Doç. Dr. Nezir ÖLMEK* *Doç. Dr. İhsan Halil Yeşil*
Yrd. Doç. Dr. İsmet Yılmaz

(İmza) (İmza) (İmza) (İmza)

Karatas *[Signature]* *[Signature]* *[Signature]* *[Signature]*

Danışman

Yrd.Doç. Dr. Fikret KARATAŞ

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih
ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖZET

DOKTORA TEZİ

TİYOSEMIKARBAZON TÜREVİ İHTİVA EDEN SCHIFF BAZI VE METAL
KOMPLEKSLERİNİN RATLARIN ANTİOKSİDAN VE AMİNO ASİT
DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa KARATEPE

Fırat Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
2002, Sayfa: 67

Bu çalışmada, tiyosemikarbazon türevi tiyazol halkalı Schiff bazı ve Cu(II), Zn(II) metal komplekslerinin deri altına enjeksiyonu ile ratların, eritrosit antioksidan enzim GSH-Px aktivitesi, lipid peroksidasyonunun derecesini gösteren serum MDA konsantrasyonu, serum antioksidan A, E, C vitaminlerinin düzeyleri, valin, metiyonin, triptofan ve izolösin serbest amino asit konsantrasyonlarına olan etkisi araştırıldı.

Deney grupları arasındaki karşılaştırmalarda, eritrosit GSH-Px enzim aktivitesi, serum MDA, A, E vitaminleri ve metiyonin, triptofan, izolösin amino asitlerinin konsantrasyonlarının istatistiksel olarak değiştiği ($p < 0.0166$), fakat serum selenyum, C vitamini ve valin düzeylerinin değişmediği gözlemlendi.

Sonuç olarak, ölçülen parametreler Cu(L)₂'nin oksidatif stres oluşturduğunu, Zn(L)₂'nin bir antioksidan gibi davrandığını, ligandın ise kontrol grubuna göre herhangi bir farklılık oluşturmadığını, fakat bütün bileşiklerin serumda çalışılan, valin hariç diğer amino asit düzeylerini etkilediğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler : Tiyosemikarbazon, Rat, Antioksidan Vitaminler (A, E, C), Amino Asit, Selenyum, GSH-Px, MDA, HPLC

ABSTRACT

PhD Thesis

AN INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF THIOSEMICARBAZONE
DERIVATIVE SCHIFF BASE AND ITS METAL COMPLEXES ON THE
ANTIOXIDANTS AND AMINO ACIDS LEVELS OF RATS

Mustafa KARATEPE

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences.

Department of Chemistry

2002, Page: 67

In this study, the effect of thiosemicarbazone derivative thiazole ring Schiff base and its Cu(II), Zn(II) metal complexes on the erythrocyte antioxidant enzyme GSH-Px activity and serum MDA concentration which is an indicator of lipid peroxidation, serum antioxidant vitamins A, E, C levels, free amino acids valin, methionin, tryptophan and isoleucine concentrations in serum of rats which is injected subcutaneously were investigated.

In the comparison done among groups, it was observed that erythrocyte GSH-Px activity, serum MDA, vitamins A, E and amino acids methionin, tryptophan and isoleucine ($p < 0.0166$) concentrations were statistically changed, but the serum levels of selenium, vitamin C and valin were not changed.

In conclusion, the parameters measured here in show that Cu(L)₂ caused a considerable oxidative stress and Zn(L)₂ behaved as an antioxidant, no any oxidative stress in ligand was observed compared to control group, but all compounds have effected the free amino acid levels studied, except valin, on the serum.

Key Words : Thiosemicarbazone, Rat, Antioxidant Vitamins (A, E, C), Amino Acid, Selenium, GSH-Px, MDA, HPLC

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, yürütülmesinde ve çalışmalarım süresince destek ve ilgisini esirgemeyen bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım Sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Fikret KARATAŞ'a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Sentezlemiş oldukları orijinal maddeleri bu tezde kullanmama izin veren hocam Sayın Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI, Prof. Dr. Misir AHMEDZADE ve Arş. Gör. Dr. İbrahim YILMAZ'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Haki KARA, Arş. Gör. Dr. Hakan ÖNER, Prof. Dr. Cihan ALKAN, Doç. Dr. İhsan HALİFEOĞLU, Doç. Dr. Necmi ÖZDEMİR, Doç. Dr. Ali ÖLÇÜCÜ, Doç. Dr. Memet ŞEKERCİ, Doç. Dr. Sinan SAYDAM, Yrd. Doç. Dr. Habibe ÖZMEN, Yrd. Doç. Dr. Süleyman SERVİ ve Arş. Gör. İbrahim ŞEKER'e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Abdurrahman ÖKSÜZ ve Bekir ÇINAR ile yazışmalarımnda yardımcı olan Kimya Bölüm Sekreteri Mehmet ORHAN'a teşekkür ederim.

Araştırmalarım sırasında bana her türlü desteği veren, çalışmalarım süresince göstermiş oldukları sabır ve bana verdikleri moral için anne ve babama sonsuz saygılarımı sunarım.

Mustafa KARATEPE

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	II
SUMMARY	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
TABLOLARIN LİSTESİ	VII
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	VIII
RESİMLERİN LİSTESİ	IX
KISALTMALARIN LİSTESİ	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TSC Biyolojik Aktivite Mekanizmaları	3
2.2. Yapı Aktivite İlişkisi	3
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	6
2.3.1. Serbest Radikaller	6
2.3.1.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu	6
2.3.2. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)	8
2.3.3. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri	9
2.3.3.1. E Vitamininin Antioksidan Etkisi	10
2.3.3.2. A Vitamininin Antioksidan Etkisi	10
2.3.3.3. GSH-Px ve Selenyumun Antioksidan Etkisi	11
2.3.3.4. C Vitamininin Antioksidan Etkisi	12
2.4. TSC ve Schiff Bazlarının Amino Asit ve Protein Metabolizması Üzerine Etkileri	12
2.5. Amino Asitlerin Metabolizması	13
2.5.1. Amino Asitlerin Vücutta Dağılımı	14
2.5.2. Amino Asitlerin Karbon İskeletinin Metabolik Yolları	15
2.5.3. Amino Asitlerin Özel Metabolizmaları ve Fonksiyonları	15
2.5.4. Analizi Yapılan Amino Asitlerin Metabolizması ve Özellikleri	16
2.5.4.1. Valin ve İzolösin	16
2.5.4.2. Metiyonin	16
2.5.4.3. Triptofan	17
2.6. Işık Mikroskobik Analizi Yapılan Dokuların Histolojik Yapısı	17
2.6.1. Karaciğer	18
2.6.1.1. Karaciğerin Fonksiyonları	18
2.6.2. Böbrek	19
2.6.3. Adrenal (Suprarenal) Bezler	19
2.6.3.1. Adrenal Korteks	20
2.6.3.2. Adrenal Medulla	20

2.7. Çalışmanın Amacı	20
3. MATERYAL ve METOT	22
3.1. Materyal	22
3.1.1. Hayvan Materyali	22
3.1.2. Öldürücü Dozun Belirlenmesi	22
3.1.3. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar	23
3.1.4. Kan örneklerinin Alınması	23
3.1.5. Eritrosit GSH-Px Tayini İçin Kan Örneğinin Hazırlanması	23
3.2. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler	24
3.3. Örneklerin Analizleri	24
3.3.1. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini	24
3.3.2. Selenyum Analizi	27
3.3.3. MDA Analizi	28
3.3.4. C Vitamini Analizi	29
3.3.5. A ve E Vitamini Analizi	30
3.3.6. Amino Asit Analizi	31
3.4. Işık Mikroskopisi İçin Seçilen Dokuların Analizi	33
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	34
4. BULGULAR	35
4.1. Uygulamalardaki Farklı Gruplar Arası Karşılaştırmalar	35
4.1.1. Eritrosit GSH-Px Aktivitesi	35
4.1.2. Serum - Selenyum Düzeyleri	36
4.1.3. Serum - MDA Düzeyleri	37
4.1.4. Serum - C Vitamini Düzeyleri	38
4.1.5. Serum - A Vitamini düzeyleri	39
4.1.6. Serum - E Vitamini Düzeyleri	40
4.1.7. Serum - Valin Düzeyleri	41
4.1.8. Serum - Metiyonin Düzeyleri	42
4.1.9. Serum - Triptofan Düzeyleri	43
4.1.10. Serum - İzolösin Düzeyleri	44
4.2. Işık Mikroskopik Bulgular	45
4.2.1. Karaciğer	45
4.2.2. Böbrek	45
4.2.3. Adren	45
4.3. Seçilen Dokuların Işık Mikroskopik Görünümleri	46
4.4. Uygulama Süresindeki Ağırlık Değişimleri	52
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	53
6. KAYNAKLAR	61

TABLOLARIN LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	9
Tablo 4.1. Eritrosit GSH-Px (U/gr Hb) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	35
Tablo 4.2. Serum - Selenyum ($\mu\text{mol/L}$) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	36
Tablo 4.3. Serum - MDA (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	37
Tablo 4.4. Serum - C Vitamini (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	38
Tablo 4.5. Serum - A Vitamini (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	39
Tablo 4.6. Serum - E Vitamini (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	40
Tablo 4.7. Serum - Valin (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	41
Tablo 4.8. Serum - Metiyonin (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	42
Tablo 4.9. Serum - Triptofan (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	43
Tablo 4.10. Serum - İzolösin (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri	44
Tablo 4.11. Uygulama Süresince Gruplardaki Ağırlık Değişimlerinin Ortalamaları	52

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Oksidan ve antioksidan denge	7
Şekil 2.2. Hücre amino asit birikintisinin sağlanım ve tüketim yolları	14
Şekil 2.3. Besin proteininden elde edilen amino asitlerin vücutta dağılımı.....	14
Şekil 3.1. Selenyuma ait çalışma eğrisi	28
Şekil 3.2. Selenyuma ait kromatogram	28
Şekil 3.3. Malondialdehite ait çalışma eğrisi	29
Şekil 3.4. Malondialdehite ait kromatogram	29
Şekil 3.5. C vitamini çalışma eğrisi	29
Şekil 3.6. C vitaminine ait kromatogram	29
Şekil 3.7. A vitamini çalışma eğrisi	30
Şekil 3.8. A ve E vitaminlerine ait kromatogram	30
Şekil 3.9. E vitamini çalışma eğrisi	31
Şekil 3.10. Valin'e ait çalışma eğrisi.....	32
Şekil 3.11. Metiyonin'e ait çalışma eğrisi	32
Şekil 3.12. Triptofan'a ait çalışma eğrisi.....	32
Şekil 3.13. İzolösine ait çalışma eğrisi.....	33
Şekil 3.14. Aminoasitlere ait kromatogram	33
Şekil 4.1. Gruplardaki eritrosit GSH-Px düzeylerindeki değişiklikler	36
Şekil 4.2. Gruplardaki Serum - Selenyum düzeylerindeki değişiklikler.....	37
Şekil 4.3. Serum - MDA düzeylerindeki değişiklikler	38
Şekil 4.4. Serum - C vitamini düzeylerindeki değişiklikler.....	39
Şekil 4.5. Serum - A vitamini düzeylerindeki değişiklikler.....	40
Şekil 4.6. Serum - E vitamini düzeylerindeki değişiklikler	41
Şekil 4.7. Serum - Valin düzeylerindeki değişiklikler	42
Şekil 4.8. Serum - Metiyonin düzeylerindeki değişiklikler	43
Şekil 4.9. Serum - Triptofan düzeylerindeki değişiklikler.....	44
Şekil 4.10. Serum - İzolösine düzeylerindeki değişiklikler	45
Şekil 4.11. Uygulama süresince gruplardaki ağırlık değişimleri	52

IX
RESİMLERİN LİSTESİ

Sayfa No

Resim 4.1. Kontrol grubuna ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d). H.E.x10.....	46
Resim 4.2. Ligand verilen gruba ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d). H.E.x10.....	46
Resim 4.3. Cu(L) ₂ verilen gruba ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d). H.E.x10.....	47
Resim 4.4. Zn(L) ₂ verilen gruba ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d). H.E.x10.....	47
Resim 4.5. Zn(L) ₂ verilen gruba ait rat böbrek dokusunun proksimal görünümü. H.E.x20	48
Resim 4.6. Kontrol grubuna ait rat karaciğer dokusunun görünümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10.....	48
Resim 4.7. Ligand verilen gruba ait rat karaciğer dokusunun görünümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10.....	49
Resim 4.8. Zn(L) ₂ verilen gruba ait rat karaciğer dokusunun görünümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10.....	49
Resim 4.9. Cu(L) ₂ verilen gruba ait rat karaciğer dokusunun görünümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10.....	50
Resim 4.10. Cu(L) ₂ verilen gruba ait rat karaciğer dokusunda Vena sentralis duvarının (ok) kalınlaştığı gözlenmekte. Hepatosit (h). Sinuzoid (S). H.E.x10.....	50
Resim 4.11. Kontrol grubuna ait rat adren bezi korteks yapısının ışık mikroskopik görünümü. Kapsül (ok), Z. glomeruloza (g), Z. fasikülata (f). H.E.x10	51
Resim 4.12. Kontrol grubuna ait rat adren bez yapısının korteks ve medullasının (M) ışık mikroskopik görünümü. Z. fasikülata (f), Z. retikularis (r). H.E.x10.....	51

KISALTMALARIN LİSTESİ

CAR	: β -Karoten
Cd	: Kadmiyum
Cis - DDP	: Cis - Diamindikloro Platin
Cu	: Bakır
Cu(L) ₂	: 4-(1-Fenil-1-Metil Siklobütil-3-il)-2-(2-hidroksil benziliden hidrazino) tiyazol Ligandının Bakır (II) Kompleksi
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ESR	: Elektron Spin Rezonans Spektroskopisi
Fe	: Demir
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz Enzimi
GSSG	: Okside Glutasyon
H.E.	: Hematoksilen - Eoisin Boyaları
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
H ₂ SO ₄	: Sülfürik Asit
Hb	: Hemoglobin
HClO ₄	: Perklorik Asit
HCOOH	: Formik Asit
Hg	: Civa
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyum Ferrisiyanür
KCN	: Potasyum siyanür
KH ₂ PO ₄	: Potasyum Dihidrojenfosfat
L	: 4-(1-Fenil-1-Metil Siklobütil-3-il)-2-(2-hidroksil benziliden hidrazino) tiyazol
LOOH	: Lipid hidroperoksit
MAIQ	: 4-Metil-5-Amino-1-Formilizokinolin Tiyosemikarbazon
MDA	: Malondialdehit
NaCl	: Sodyum klorür
NADP ⁻	: Nikotinamit Adenin Dinükleotik Fosfat
NADPH	: Nikotinamit Adenin Dinükleotik Hidrojen Fosfat
NH ₃	: Amonyak
Ni	: Nikel
Pt	: Platin

XI

RNA	: Ribonükleik Asit
RR	: Ribonükeosit Redüktaz
SAM	: S-Adenozilmetiyonin
Se	: Selenyum
SOD	: Süperoksit Dismutaz Enzimi
ToCOH	: Tokoferol
tRNA	: Transfer Ribonükleik Asit
TSC	: Tiyosemikarbazon
Zn	: Çinko
Zn(L) ₂	: 4-(1-Fenil-1-Metil Siklobütil-3-il)-2-(2-hidroksil benziliden hidrazino) tiyazol Ligandının Çinko (II) Kompleksi



1. GİRİŞ

Tiyosemikarbazon (TSC) ve Schiff bazı türevleri antiviral, antineoplastik, antimalariyal, antifungal ve antibakteriyal özelliklerinden dolayı farmakolojide büyük ilgi görmektedir (Liberta ve West, 1992).

Bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin, molekülün iki azot atomu ve bir kükürt atomu ile esansiyel ağır metal iyonları arasında oluşan üç dişli şelat oluşturma yeteneğinden kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Demertzi ve diğ., 1997). Bazı araştırmacılar ligandlara göre şelatların daha aktif olduğunu ve aromatik aldehitlerle süstitüe olmuş TSC'lar ve metal komplekslerinin güçlü bir farmakolojik etkiye sahip olduklarını rapor etmektedirler (Offing ve Martelli, 1994).

Dialkil grupları ile yan zinciri terminal azot atomlu süstitüye TSC türevlerinin DNA ve RNA içeren virüslerinde dahil olduğu, daha geniş bir antiviral aktivite sergilediği ileri sürülmektedir (Teitz ve diğ., 1994).

Hidroksi üre, hidroksi guanidin ve TSC türevlerinin antiviral olduğu kadar antitümör aktiviteye sahip oldukları rapor edilmektedir (Wang ve diğ., 1990).

Ayrıca TSC'ların platin ve palladyum komplekslerinin tümör gelişimini durdurucu ve sitogenetik etkilerinin olduğu belirtilmektedir (Demertzi ve diğ., 1998).

TSC - bakır komplekslerinin indirgenme potansiyellerinin, kalp mitokondrial oksidatif fosforilasyonunu inhibe edici ve tümör hücrelerine karşı in vitro sitotoksik etkileri ile doğrudan ilişkili olduğunu belirtmektedirler (Chan ve diğ., 1976).

2-asetil piridin tiyosemikarbazon türevleri ve metal komplekslerinin antitümör aktivitesinin rutenyum (III) kompleksi hariç diğer metal komplekslerinde liganddan daha az aktif olduğu belirtilmektedir (Offing ve Martelli, 1997).

Son yıllarda çeşitli tiyazol analoglarının antitümör aktiviteleri bu bileşiklerin tiyosemikarbazon ile tiyotüre türevleri için denenmiş ve tiyosemikarbazon parçasına süstitüye olmuş alifatik gruplara sahip türevlerin aynı yerde aromatik gruplara sahip türevlere göre daha fazla aktivite gösterebileceği belirtilmektedir (Subbagh ve Obaid, 1996).

TSC türevlerinin DNA ve RNA sentezini inhibe edici etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir (Cory ve diğ., 1995).

Tümör hücrelerini inhibe etmek için DNA hedef seçilerek palladyum TSC komplekslerinin kullanılmasıyla yapılan bir çalışmada komplekslerin cis-platin'den farklı bir mekanizma ile DNA bağına etki edebileceği belirtilmektedir (Barton ve Lippard, 1980).

TSC'lu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin DNA ile olan van der Waals ve hidrojen bağı gibi zayıf etkileşimlerden kaynaklandığı hipotezi ileri sürülmektedir (Ferrari ve diğ., 1999).

İzotiyosemikarbazonların iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmektedir (Cardia ve diğ., 2000).

Fareler ile yapılan bir çalışmada, TSC türevlerinin antitiroid aktivite gösterdiği belirtilmektedir (Kumamoto ve diğ., 1990).

Çeşitli TSC türevleri ve bakır komplekslerinin spektrofotometrik davranışlarının süperoksit dismutaz (SOD) ile mukayesesi yapılan bir çalışmada, bu bileşiklerin geniş spektrumlu biyolojik aktivitelerinin yanısıra SOD benzeri aktivite gösterdikleri de vurgulanmaktadır (Durackova ve diğ., 1999).

Ayrıca N-Metil isatin β -tiyosemikarbazon 1-formilizokinolin bakır komplekslerinin amino açıl tRNA sentetaz aktivitesini inhibe ettikleri ve bu inhibisyonda 1:1 ligand metal kompleksinin 2:1 kompleksinden daha aktif olduğu rapor edilmektedir (Rohde ve diğ., 1977).

In vitro olarak yapılan bir başka araştırmada 4-metil-5-amino-1-formilizokinolin tiyosemikarbazon (MAIQ)'nun karaciğer enzimlerinden bazılarını inhibe ettiği ileri sürülmektedir (Williams ve diğ., 1988).

Tiyosemikarbazon ve asethidrazon türevlerinin farelere intraperitoneal olarak uygulanması ile bu bileşiklerin hipolipidemik etki göstererek serum kolesterol ve trigliserit seviyesinde azalma meydana getirdikleri belirtilmektedir (Chapman ve diğ., 1990).

Ayrıca siklobütan halkasının biyolojik aktivite gösteren başka diğer bileşiklerle olan türevlerinin antiviral, antineoplastik, antiproliferatif etkileri ve siklobütan grubunun bu özelliklerin zenginleşmesindeki katkıları açıklanmaya çalışılmaktadır (Blanco ve diğ., 1999; Christophe ve diğ., 2000).

Bu amaçla yapılan bir çalışmada, cis-diamin-1,1-siklobütan dikarboksil platin (II) komplekslerinin, cis-diamin dikloroplatin (II) (cis-DDP) kompleksine benzer etkilere sahip olabileceği ve bu kompleksin hayvan ve insanlarda cis-DDP'den daha az nefrotoksik etki gösterdiği rapor edilmektedir (Potdevin ve diğ., 1998).

Bu literatür bilgilerine göre, ligandın yapısı ve konformasyonu ile koordinasyon bileşiklerindeki merkez atomunun redoks potansiyellerinin bu tür bileşiklerin biyolojik aktivitelerini etkilediği görülmektedir. Bu gibi çalışmalar daha aktif komplekslerin sentezini veya doğal biyokoordinatif bileşiklerin davranışını anlamaya yardımcı olacaktır (Durackova ve diğ., 1999).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TSC Biyolojik Aktivite Mekanizmaları

TSC'lar biyolojik aktivitelerinden dolayı kimya ve biyolojide büyük ilgi görmektedir. Onların antitümör aktivitelerinin mekanizması, zorunlu bir enzim olan ribonükleotit redüktaz (RR)'ı inhibe etmesi ve DNA strandartlarında lezyon oluşturmaları ile açıklanmıştır. TSC'lar, ribonükleosit difosfat redüktazın bilinen en güçlü inhibitörleridir (Liberta ve diğ., 1992). Ribonükleotidleri deoksiribonükleotidlere indirgeyerek dönüşümünü sağlayan bu enzim DNA biyosentezinde hız kontrolünü sağlayan basamak olarak görülmektedir. Böylece, bu reaksiyonu katalize eden, ribonükleosit difosfat redüktaz, hücrel replikasyonun hızı ile yakın ilişkilidir. Ayrıca, deoksiribonükleosit trifosfatlar memeli hücrelerinde oldukça düşük düzeylerde bulundukları için Cory ve Chiba (1989), DNA sentezinde DNA polimeraza göre ribonükleosit difosfat redüktazın bir inhibitör tarafından daha çok etkilenebileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu özelliklerden dolayı bu enzim, kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçların gelişimi için önemli bir metabolik hedeftir (Cory ve diğ., 1995).

2.2. Yapı Aktivite İlişkisi

TSC ve Schiff bazlarının biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinin incelenmesi sürekli olarak yeni türevlerinin sentezleri ile birlikte devam etmektedir. Bu çalışmalar ilerledikçe bileşiklerin mevcut biyolojik aktivitelerinin açıklanması veya tahmini için yapı-aktivite ilişkisi de incelenme alanına dahil edilmiş ve bu konudaki çalışmalar hızlanmıştır. Elektrokimya ve koordinasyon kimyası çoğu önemli alanlarda ve teknolojiye büyük ilgi görmektedir. Özellikle Cu - kompleksleri düşük oksidasyon basamaklarının öneminden dolayı biyolojik ve teknolojik olarak katalitik proseslerde kullanılmaktadır. Bazı Cu(III) bileşikleri galaktoz oksidaz gibi enzimler için önemli model teşkil etmiş ve etkili oksidasyon ve redüksiyon katalizörleri olarak kullanılmıştır (Farver ve Pecht, 1989).

Mikroligand içeren TSC parçaları günümüzde ilgi görmektedir. Çünkü bu moleküller ve metal kompleksleri biyolojik etkilere sahiptir. Cu(II) bileşiklerinin düşük indirgeme potansiyellerinin artmış antifungal aktiviteleriyle ilgili olabileceği belirtilmektedir. Redoks özelliklerine merkez metal iyonunun, ligandın, ligand ve metal atomunun her ikisini de içeren oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları dahil edilebilir. Cu(II), Cu(I) sisteminin redoks potansiyelleri verilen ligand çevresindeki iki oksidasyon basamağının termodinamik kararlılığına bağlıdır. Metal merkezli özellikleri etkileyen faktörler geniş olarak çalışılmaktadır (Haiduc ve Silvestru, 1990).

Bazı Cu-kompleksleri diğer önemli biyolojik aktivitelerin yanı sıra SOD'a benzer aktivite gösterilebilirler. Farklı bileşiklerin muhtemel biyotaklit aktivitesi onların spektroskopik karakteristiklerinden ve elektrokimyasal özelliklerinden tahmin edilebilir. Durackova ve diğ. (1999) bazı çalışmalarında, farklı Schiff bazı Cu(II) kompleksleri için SOD - benzeri aktiviteyi rapor etmiştir.

Bazı durumlarda TSC'dan ziyade metal kompleksinin in vivo aktivitesinin daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Heterosiklik TSC türevlerinin sentezi ve yapısal çalışmaları ve bunların metal iyonları ile değişimi için yapı - aktivite ilişkisini açıklamak için çalışılmıştır.

Bu tür bileşiklerle ilgili olarak yapılan bazı yapı- aktivite çalışmalarında bulgular şöyle sıralanmıştır.

- Sülfür atomuna bağlanmış zincirin uzunluk ve doğası
- Aromatik halkaya farklı sübstituentlerin girişi
- Bir alkil grubu ile ariliden hidrojeninin sübstitüsyonu
- Sekonder amin ile primer amin grubunun sübstitüsyonu
- Diğer aromatik sistemler ile 5-nitrofuran grubunun sübstitüsyonu (Cardia ve diğ., 2000).

Yine bu sınıf bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik aktiviteleri arasındaki korrelasyonu daha iyi anlayabilmek için incelemeler şu bakımlardan yoğunlaşmıştır. Moleküllerdeki halka adedi, orto-OH grubunun varlığı ve yokluğu, halkadaki elektron salıcı ve çekici grupların varlığı, heterosiklik veya aromatik halkanın varlığı gibi özellikler geniş bir şekilde araştırılmıştır (Wang ve diğ., 1990).

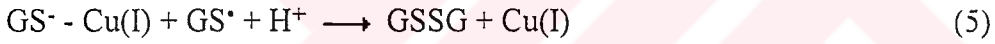
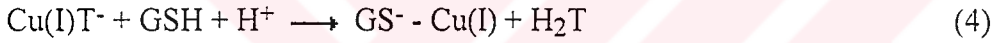
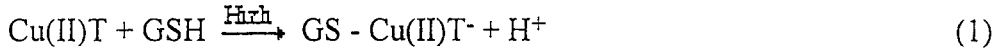
Yapısal değişimler, TSC'ların metale olan ilgisini azaltarak veya yok ederek şelat oluşturma fonksiyonunu ve ilaç aktivitelerini engelleyebilir (Demertzi ve diğ., 1997).

Rosenberg ve diğ. (1969) biyolojik olarak önemli moleküller ile platinin etkileşimini incelediklerinde antikanser aktivite sergileyen cis-diamin dikloroplatin (cis-DDP)'i keşfetmişlerdir. Son yıllarda platin grubu metal komplekslerinin sitotoksik belirteç olarak davranışlarını açıklamak amacı ile kimya ve biyokimyada araştırmalar hızlanmış ve diğer geçiş metallerinin yeni antitümör bileşik olarak araştırılmasına yol açmıştır. Özellikle 2-asetil pridin TSC'lar mevcut araştırmalarda ligand olarak seçilmiş ve potansiyel antimalarial, antibakteriyel, antiviral ve antilösemik ajanlar olarak yaygın şekilde çalışılmıştır. Geçiş metali olarak çoğu enzim kofaktörleri olan Cu, Co, Ni, Zn gibi metallerle birlikte Pt, Pd, Cd metalleri de seçilmiştir (Ferrari ve diğ., 1999).

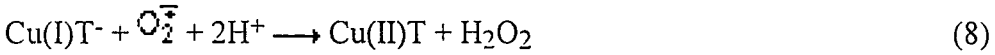
Tümör gelişiminin inhibisyonunda Zn bileşiklerinin ilişkisi birkaç çalışmaya konu olmuş ve bazı inorganik Zn ve kompleks bileşikleri antitümör belirteçler olarak gösterilmiştir. Bununla birlikte antitümör özellikler canlı organizmalar için çok zehirleyici olmalarına rağmen Cd ve Hg bileşikleri için de denenmiştir. Zn(II) ve Cd(II)'nin TSC ligandının farmakolojik aktivitesini zenginleştirip zenginleştirmeyeceği

araştırılmıştır. Özel olarak Zn kompleksinin cis-DDP'ye karşı dirençli hücreler olan (Pam-ras hücreleri) H-ras onkogen hücrelerine de sitotoksik aktivite gösterdiği açıklanmıştır (Perez ve diğ., 1999).

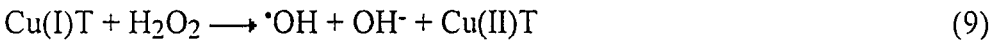
TSC - metal komplekslerinin aktif oksijen türlerini oluşturduğu önerilmiştir. Bu mekanizmada metal kompleks ve serbest ligandlardan ise Fe ve Cu komplekslerinin kültür hücrelerinde çok daha fazla toksik olduğu gösterilmiş ve Cu-2-formilpiridin TSC'nin hücreler ve kimyasal reaksiyonlardaki oksidasyon - redüksiyon aktiviteleriyle oldukça uyum içinde olduğu gösterilmiştir. Oksijenin tüketiminin uyarımı ile birlikte onların oksidasyonu ve tiyollere Cu kompleksinin bağlanımı kimyasal ve hücresel model sistemlerin her ikisiyle de ölçülmüştür. Serbest hücre sistemindeki glutatyon ve Cu kompleksi tarafından hidroksil radikallerinin üretimi ESR (Elektron Spin Rezonans) spektroskopisiyle gösterilmiştir (Byrnes ve diğ., 1990).



Benzer şekilde çoğu bakır kompleksleri süperoksit anyonundaki dismutasyonu katalizler.



Hidrojen peroksit şekillendikten sonra Fenton kimyasıyla hidroksil radikaline dönüşecektir.



Bu mekanizma ile in vivo ve in vitro şartlarda GSH-Px azalması olabileceği düşünülmektedir (Byrnes ve diğ., 1990).

GSH-Px konsantrasyonunun ve aktivitesinin ölçümünün, tiyosemikarbazonların toksisitesini tayin etmede oldukça önemli olduğu belirtilmektedir (Romine ve Kessel, 1986).

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

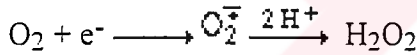
2.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan çiftleşmemiş elektrona sahip, reaktif ve kısa ömürlü kimyasal bileşiklerdir. Serbest radikallere, oksidan moleküller veya en doğru adlandırma ile "Reaktif Oksijen Partikülleri" de denilmektedir (Stoian ve diğ., 1996).

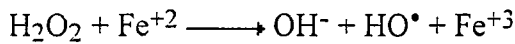
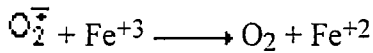
2.3.1.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler.

Bir serbest radikalın başlangıç ürünü moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşan süperoksit anyon radikalidir ($O_2^{\cdot-}$). Bir serbest radikal, çiftleşmemiş elektrona sahip bir atom veya moleküldür. Bu ürün kararsız bir yapıdır ve çevresindeki bir organik veya inorganik yapıya saldırabilir. Peroksit anyonu çözeltiden iki proton alarak hidrojen perokside dönüşür.

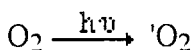


Canlı sistemlerde oksijen radikalinin zararlı etkilerine dikkat edilmesi ve bu radikallerin oluşumu ile hemen etkilerinin uzaklaştırılması gerekir. Aksi halde bunlar Fe veya Cu gibi iki değerli katyonları katalizleyerek daha etkili bir serbest radikal olan hidroksil radikalini oluştururlar (Wolf ve diğ., 1998).



$HO^{\cdot}$ radikali, canlı sistemlere çok zararlı olabilecek çok güçlü bir radikaldir. Birçok hastalıklara sebebiyet verebilecek biyokimyasal değişimleri oluşturulabilir (Betteridge, 2000). Serbest radikaller belli miktarlarda hücreler tarafından bazı hücre içi redoks ve sinyal farklılıklarını göstermek gibi fizyolojik faydalar için kullanılabilir (Nordberg ve Arner, 2001).

Oksijenin diğer bir metaboliti singlet oksijendir (1O_2). Bu molekül oksijenin enerji yakalamasıyla şekillenir.



Singlet oksijen serbest radikal değildir (Kılınç, 1985). Ancak biyokimyasal olaylarda önemlidir ve doku hasarlarına yol açabilir. Bu zararlarının ortadan kalkışı vitamin A ve diğer retinoitler veya β -karoten ve diğer karotenoitler gibi antioksidanların kimyasal değişmeksizin enerji absorbe eden bileşikler olarak singlet oksijeni biyolojik sistemlere zarar vermeden O_2 'ye dönüştürmesiyle olur (Diplock, 1991).

Bu açıklamalara göre oksidanlar, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alışverişi yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde bileşenler (non-radikaller) olmak üzere 2 grupta toplanırlar (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

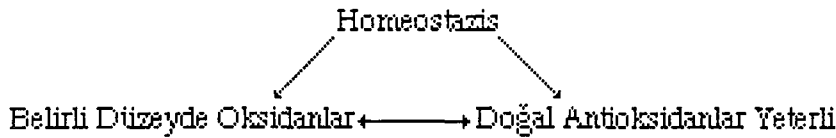
1. Radikaller

- Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)
- Hidroksil radikali ($HO^{\cdot}$)
- Alkoksil radikali ($LO^{\cdot}$)
- Peroksit radikali ($LOO^{\cdot}$)

2. Non-Radikaller

- Hidrojenperoksit (H_2O_2)
- Lipit hidroperoksitler ($LOOH$)
- Hipoklorik asit ($HOCl$)

Oksidanlar, organizmada başlıca glukozun oksidasyonu sırasında olmak üzere tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırası ve sonrasında sürekli bir oluşum ve "endojen antioksidanlar" adı verilen moleküller tarafından sürekli etkisizleştirilme süreci içindedirler. Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge (homeostazis) içindedir (Repine, 1991).



Şekil 2.1. Oksidan ve antioksidan denge

Kanser, romatoit artrit, katarakt, parkinson, şeker hastalığı ve yaşlanma süreci oksidan moleküllerin etkin olduğu kabul edilen hastalıklar arasında sayılmaktadır (Sudha ve diğ., 2001).

Oksidan moleküller, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (Nordberg ve Arner, 2001).

2.3.2. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserit ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle, başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltgenebilen tüm hücre elemanları ile etkileşirler (Nordberg ve Arner, 2001).

Hücreleri saran membranlar ve hücre organelleri, geniş miktarlarda poliansature yağ asiti ihtiva ederler. Serbest radikaller hücre membranındaki bu poliansature yağ asitlerine saldırır ve lipid peroksitlerin teşekkülüne yol açan lipid radikallerinin oluşumuna sebep olurlar. Lipid peroksidasyonundaki artış serbest radikal aktivasyonunun indirekt bir işaretidir. Biyolojik membranların en önemli unsurları lipid ve proteinlerdir. Lipid peroksidasyonu, lipidler kadar mebran proteinlerini de hasara uğratabilir. Hayvan hücre membranlarında dominant lipidler, gliserol içeren fosfolipidlerdir, ancak bazı membranlar özellikle plazma membranları önemli oranlarda sfingolipidleri ve hidrofobik molekül olan kolesterolü de içerirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde O_2 'nin redüksiyonundan oluşan türlerin olağan dışı ve şiddetli üretimiyle karakterize oksidatif stresin meydana geldiği günümüzde iyi bilinmektedir. Bu oksidatif stresin genel bir sonucu, hücre organizasyonunun az yada çok degradasyonu ile sonuçlanan hücre lipidlerinin peroksidasyonudur (Nordberg ve Arner, 2001).

Oksijen molekülü lipidlere karşı yüksek afiniteye sahiptir. Bu molekül hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit zarındaki lipidlerde çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır. Bu sırada dokularda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması sonucu lipid peroksidasyonu kimyasal reaksiyonu meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonunun zar yapısı ve bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine zararlı etkileri ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları düşünülmektedir (Tamer ve diğ., 2000).

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olurlar. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin

mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hem insanlardaki ve hem de doğadaki lipid peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanlar kullanılmaktadır (Köse ve Doğan, 1992).

2.3.3. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar, okside olabilir bir substratla mukayese edildiğinde, düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratın oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da inhibe eden "herhangi bir substrat" olarak tanımlanmaktadırlar. Endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar) antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (Nordberg ve Arner, 2001; Repine, 1991).

Tablo 2.1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar

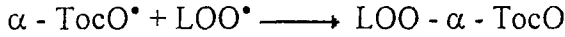
A- Endojen (Doğal) Antioksidanlar		
I. Enzimler	II. Makromoleküller	III. Mikromoleküller
- Süperoksid dismutaz	- Seruloplazmin	- E vitamini ve analogları
- Katalaz	- Transferrin	- C vitamini
-Glutatyon peroksidaz	- Ferritin	- Tiyo içerener: GSH
- Glutatyon redükaz	- Hemoglobin	-N-asetil sistein, Metiyonin kaptopril
- Hidroperoksidaz	- Miyoglobin	- A vitamini-β-karoten
- Sitokrom -C oksidaz		- Glikoz
		- Ürik asit
		- Ubikinon
		- Bilirubin
B - Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)		Gıda Antioksidanları
- NADPH oksidaz inhibitörleri		- Bütil Hidroksitoluen (BHT)
-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler		- Bütil Hidroksianisol (BHA)
- Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları		- Sodyum benzoat
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri		- Etoksikuin
- Nötrofil adezyon inhibitörleri		- Propilgalat
- Rekombinant h-SOD		
- 21 - Aminosteroidler, Indopamid		
- Sitokinler, Flavonoidler		
- Ksantin oksidaz inhibitörleri		
- Barbitüratlar, Trimetazidin		

2.3.3.1. E Vitamininin Antioksidan Etkisi

E vitamininin normal fizyolojik süreçlerde ve farklı hastalık durumlarındaki rolü sürekli olarak araştırılmıştır. E vitamini diğer biyolojik moleküllerden daha fazla peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu önler ve hücre yapısını koruyarak güçlü bir antioksidan etki gösterir (Nordberg ve Arner, 2001). Lipid peroksidasyonunda oluşan peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek çok fazla zayıf ve etkisiz bir radikal olan tokoferoksil radikalini oluşturur.



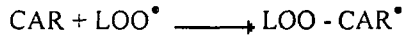
Daha sonra tekrar ikinci bir radikalle reaksiyona girerek radikal olmayan bir ürün olan LOO - TocO'yi oluşturur.



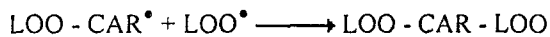
Böylece her tokoferol molekülü, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını önleyerek antioksidan etkisini gösterir (Wolf ve diğ. 1998).

2.3.3.2. A Vitamininin Antioksidan Etkisi

Konjuge polienlerin büyük kısmı benzer biyolojik aktiviteye sahiptir. Karotenoitler, lipid peroksidasyonu esnasında ortaya çıkan radikalleri önlemede etkilidir ve aktif oksijen çeşitlerini durdurmada etkili olan pigmentler olarak görülürler. Karotenoitlerin uzun, konjuge, çift bağlı sistemleri radikal saldırılarına karşı onları üstün hale getirmektedir. β - karotenin (CAR) peroksil radikali ile direkt olarak reaksiyona girebileceği ve karbon merkezli radikal oluşturarak rezonans kararlı hale geleceği belirtilmektedir (Nikolai ve diğ., 2001).



Karotenoitler α - tokoferollerde görüldüğü gibi iki peroksil radikali ile reaksiyona girebilir (Young ve Woodside, 2001).



Bununla birlikte bu antioksidan etki burada bitmez. Aşağıda gösterildiği gibi çoklu rezonans kararlılığı ile bir karoten molekülü, karbon merkezli radikaller oluşturarak iki peroksil radikale daha etki eder.

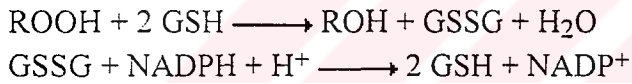


β - karoten ile peroksil radikalinin reaksiyonundan oluşan ürünlerin bazıları son zamanlarda ESR ile tarif edilmiştir. Ürünler bazı epoksitler ile β - karotenin karbonil türevleridir (Kennedy ve Liebler, 1991; Nikolai ve diğ., 2001).

2.3.3.3. GSH-Px ve Selenyumun Antioksidan Etkisi

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) intrasellüler bir enzim olup aktif merkezinde selenosistein içerir. GSH-Px; iki adet tiyol grubu ihtiva eden glutatyonu, glutatyon disülfide okside ederken hidroperoksitleri indirger. Redükte glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi tarafından NADPH kullanarak rejenere edilir. NADPH enerji üretimi, yağ asidi, steroid hormon, bazı amino asitler ile nükleik asit, nükleotid koenzim sentezi gibi metabolik olaylar için gereklidir. NADPH pentoz fosfat yolundan elde edildiğinden bu yol detoksifikasyon mekanizmasını destekleyici bir görünümündedir (Açan, 1992; Gutteridge, 1988; Yöntem, 1993).

GSH-Px enzimi, karaciğer, böbrek, eritrositler, damar endoteli ve gözün lens metabolizmasında büyük önem taşır (Underwood, 1997). GSH-Px peroksitlerin alkollere dönüşümünü katalize ederek; eritrosit zar lipidleri, hücre zarı, selluler ve subselluler membranların oksidatif etkiden korunmasını sağlar (Nordberg ve Arner, 2001; Sudha ve diğ., 2001).



GSH-Px'in selenyum bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki şekli mevcuttur (Kutsky, 1981). Selenyum bağımlı enzim hem H_2O_2 'ye hem de hidroperoksitlere etki eder. Selenyuma bağılı olmayan ise H_2O_2 yıkımını kataliz etmez, ancak lipid hidroperoksitlerinin yıkımında görev alır.

GSH-Px enziminin katalize ettiği reaksiyon ile membran lipidlerinin ve hemoglobinin peroksitler tarafından oksidasyonu önlenir. Bu reaksiyon hemoglobinin (Fe^{+2}) methemoglobine (Fe^{+3}) oksidasyon oranını azaltarak eritrositin ömrünü uzatır (Gutteridge, 1988).

E vitamini eksikliğinde oluşan bir takım bozuklukların düzeltilmesinde selenyumun etkisi vardır. Dolayısıyla Se antioksidatif mekanizmada oldukça önemli bir görev üstlenmiştir (Underwood, 1997). Ayrıca Se, α -tekoferolün bozunmasının önlenmesinde, absorpsiyonunda ve biyolojik aktivitenin artmasında etkili olabilmektedir (Oldfield, 1987).

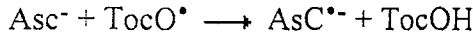
Antioksidanların çoğu radikallerin etkisini önlemek amacıyla hastalıkların tedavisinde kullanılır (Diplock, 1991).

2.3.3.4. C Vitamininin Antioksidan Etkisi

C vitamini bir ketolaktondur. Kollajenin prolin ve lizin birimlerinin hidroksilasyon reaksiyonlarında koenzim olarak görev alır. Suda çözünebilir vitaminlerden olan askorbik asit bağırsaklarda kolayca emilir ve kana karışır (Tüzün, 1997; Emerk, 1997).

C vitamini güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğundan güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar (Akkuş, 1995; Granado, 1998). C vitamininin etkili bir singlet oksijen temizleyicisi olduğu da belirtilmektedir (Kılınç, 1985).

Ayrıca C vitamini askorbat radikali oluşturarak, radikalik tokoferollerin yenilenmesini sağlar (Wolf ve diğ., 1998).



2.4. TSC ve Schiff Bazlarının Amino Asit ve Protein Metabolizması Üzerine Etkileri

Tiyosemikarbazonlar, ribonükleotit difosfat redüktazın en güçlü inhibitörleri olarak bildirilmektedir (Liberta ve diğ., 1992). Ribonükleotitleri deoksiribonükleotitlere indirgeyerek dönüşümünü sağlayan bu enzim DNA biyosentezinde hız kontrolü yapan basamak olarak görülmektedir (Liu ve diğ., 1992). Ribonükleotit redüktaz ADP, GDP, CDP, UDP gibi nükleotit difosfatların indirgenmesini sağlayan özel bir enzimdir (Murray ve diğ., 1993).

Bazı tiyosemikarbazon türevlerinin hücre gelişimini, hücrel mRNA veya protein sentezine etki etmeksizin, DNA sentezlerini inhibe ederek etkilediği gösterilmiştir (Teitz ve diğ., 1994).

Başka bir araştırmada N-metil isatin beta-tiyosemikarbazon-Cu komplekslerinin nükleik asitler ve proteinlere bağlanımı UV ve görünür bölge spektroskopisiyle gösterilmiş ve bakır komplekslerinin diğer metal komplekslerine göre çok aktif olduğu belirtilmiştir (Rohde ve diğ., 1979).

Sato ve diğ. (1995) ratları % 2'lik mısırözü yağı ihtiva eden ıspanak yaprağı proteinleri ile beslediklerinde, serum treonin, serin, glutamin, glisin, sistein ve izolösin düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını, diğer amino asitlerin düzeylerinin değişmediğini gözlemişlerdir.

Uygulaması yapılan TSC türevi ve Cu, Zn komplekslerinin amino asitlere etkilerinin araştırılmasında, mevcut imkanlarla analizi yapılabilen esansiyel amino asitlerden metiyonin, valin, izolösin ve triptofanın miktarları belirlenebildi.

2.5. Amino Asitlerin Metabolizması

Organizmada karbonhidrat ve lipid metabolizmasında son ürün olarak karbondioksit (CO_2) ve su (H_2O) oluşmaktadır. Proteinlerin C ve H atomlarından da son ürün olarak H_2O ve CO_2 oluşur. Ayrıca, proteinlerde % 16 oranında bulunan azot, amonyak ve üre gibi atılım ürünlerinin oluşumuna yol açar. Bu nedenle protein metabolizması, azot atomu aracılığı ile incelenmektedir (Murray ve diğ., 1993).

Protein metabolizmasının, karbonhidrat ve lipid metabolizmasından farklılıkları şu şekilde özetlenebilir:

- a) Protein metabolizması azot ve azotlu bileşikler aracılığı ile incelenmektedir.
- b) Proteinin enerji kaynağı olarak değeri diğer makromoleküllerden daha düşüktür.
- c) Protein veya amino asidin fazlası depo edilemez.

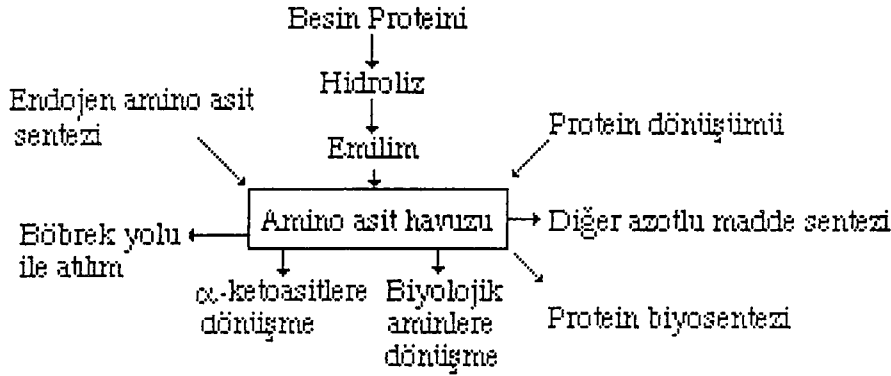
Organizmada proteinlerin peptid bağlarının hidrolizi ile proteinlerin yapıtaşları olan aminoasitler serbestleştiği için protein metabolizması yerine aminoasit metabolizması deyimi kullanılması daha doğrudur. Peptid bağlarının hidrolizi, metabolizmanın ortak başlangıç yolu olup, bunu her amino asit için birden fazla olmak üzere 20 amino aside ait değişik metabolik yollar izlenmektedir. Protein metabolizmasını, proteinlerin hidrolizi (sindirim = yıkım = proteoliz) ve hidroliz sonrası açığa çıkan amino asitlerin yıkımı olmak üzere iki ana başlık altında incelemek mümkündür (Emerk, 1997).

Organizmada yıkıma uğrayan proteinler, besinle alınmakta ve endojen olarak sentez edilmektedir. Bu iki yolla sağlanan proteinlerden açığa çıkan amino asitler vücudun genel amino asit havuzunu oluşturmaktadır. Bu amino asit havuzunda 20 amino asidin dengeli bir şekilde bulunması gerekir. aksi halde protein biyosentezi durur. Bu dinamik bir denge olup amino asitler bir yandan protein ve diğer azotlu bileşiklerin sentezi için kullanılırken, öte yandan da havuza yenileri katılır. Bitki ve mikroorganizmalarda bu havuza katılım, amino asitlerin endojen sentezi ile sağlanmaktadır. Sentez geriye doğru beslenme mekanizmasıyla düzenlendiğinden gereksinmelere uygun olarak gerçekleşmektedir. Gelişmiş canlılarda ise 20 amino asidin ancak bir kısmı de novo sentez edilebilmektedir. Bunlara endojen veya esansiyel olmayan amino asitler adı verilmektedir. Geriye kalanlar ise besinle alınan proteinlerden sağlanır (Murray ve diğ., 1993).

Amino asit metabolizmasını incelerken şu hususları gözönünde bulundurmak gerekir (Şekil 2.2).

1. Organizmada dinamik bir amino asit havuzu vardır.
2. Bu havuza amino asitlerin katılımı üç yolla sağlanmaktadır.
 - a. Besinle protein alınımı, sindirim ve emilim
 - b. Endjen proteinin hidrolizi
 - c. Endjen amino asit sentezi

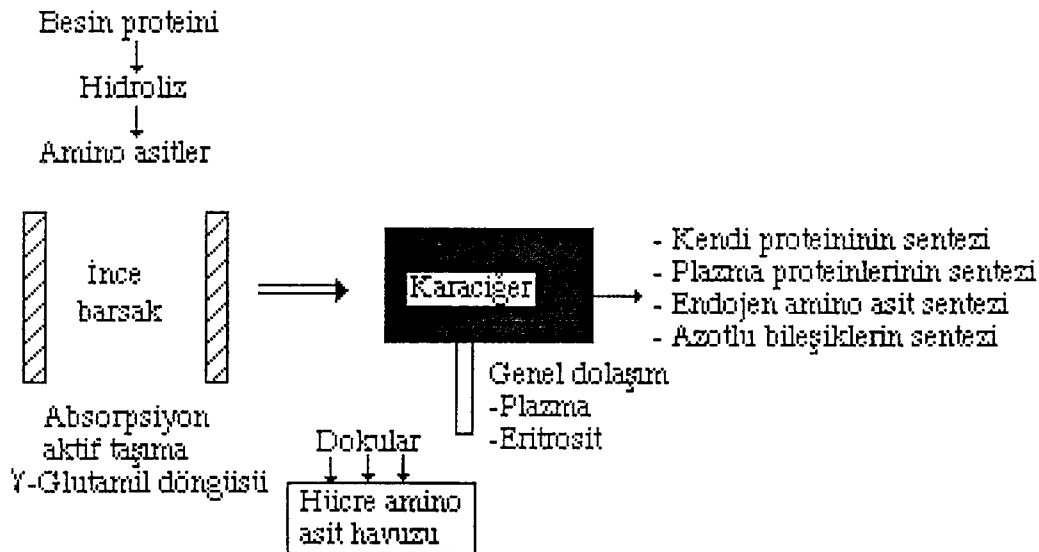
3. Bu havuzun kullanımı, protein veya diğer azotlu maddelerin sentezi, amino asitlerin çeşitli metabolik yollarla yıkılması veya böbrek yoluyla vücuttan atılması şeklinde gerçekleşmektedir (Champe ve Harvey, 1994; Munro, 1991).



Şekil 2.2. Hücre amino asit birikintisinin sağlanım ve tüketim yolları (Emerk, 1997)

2.5.1. Amino Asitlerin Vücutta Dağılımı

İnce barsak hücresine giren amino asitlerin küçük bir bölümü o hücrede protein sentezinde kullanılmaktadır. Venaportaya geçen amino asitler bu yolla karaciğere taşınarak plazma proteinlerinin ve diğer azotlu maddelerin sentezi için kullanılır. Karaciğerdeki kullanımdan geriye kalan amino asitler endojen olarak sentezlenen amino asitlerle birlikte genel dolaşıma verilir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Besin proteininden elde edilen amino asitlerin vücutta dağılımı (Champe ve Harvey, 1994)

Plazma amino asit düzeylerindeki denge durumu, amino asitlerin endojen proteinlerden açığa çıkması ile dokular tarafından kullanılması arasındaki dengeye bağlı bulunmaktadır. Endojen amino asit kaynağının yarısından fazlasını kas dokusu sağlamaktadır. Karaciğer ise azot taşıyan son ürünün oluşumu için gerekli enzimleri taşımaktadır. Bu nedenle kas ve karaciğer, kan dolaşımındaki amino asitlerin düzeyini ve dönüşümünü düzenleyen başlıca dokulardır (Champe ve Harvey, 1994).

Amino asitler plazmadan aktif taşıma ile dokulara geçmektedir. Beyin dokusu amino asitleri seçici olarak alır. Bunlar dallı amino asitler, glutamin, histidin, glisin, metiyonin, tirozin ve arginindir. Böbrek glomerüllerinden süzülen amino asitler tübüliden geri emilmektedir (Emerk, 1997).

2.5.2. Amino Asitlerin Karbon İskeletinin Metabolik Yolları

Çeşitli biyosentez yollarına katılan amino asitlerin karbon iskeletinin daha ileri yıkılıp, son ürün olarak Sitrik asit döngüsü ara maddeleri, pirüvat veya asetil - CoA'ya dönüşmektedir. Oluşan asetil - CoA, Sitrik asit döngüsüne katılmakta veya asetoasetat üzerinden yağlara dönüşmektedir. Pirüvat ve Sitrik asit döngüsünün ara maddeleri glukoneojenez yoluyla glukozla dönüşebildikleri için bunları oluşturan amino asitlere glukoplastik veya glukojenik amino asitler adı verilmektedir. Asetil - CoA veya asetoasetat üzerinden yağa dönüşebilen amino asitler ise ketoplastik veya ketojenik amino asitler olarak tanınmaktadırlar. İzolösin, lizin, fenilalanin, tirozin ve triptofan gibi bir grup amino asit glukoketojeniktir. Ayrıca bütün endojen α -ketoasitler transaminasyon ile tekrar amino asit haline çevrilebilmektedir (Emerk, 1997).

2.5.3. Amino Asitlerin Özel Metabolizmaları ve Fonksiyonları

Amino asitlerin herbiri özel bir yolla metabolize olur. Amino asitler diğer amino asitlerin sentezinde kullanılmalarının yanı sıra, porfirinler, katekolaminler ve diğer bazı hormonlar, nörotransmitterler, metil grubu taşıyan bazı bileşikler, sülfatlanmış endojen ve yabancı moleküller, piridin nükleotitlerinin yapısında yer alan nikotinik asit, pürinler, pirimidinler, melanin pigmenti, kreatin, karnitin, spermin ve spermidin poliaminleri ve henüz fonksiyonları bilinmeyen birçok bileşiğin yapısındaki temel grupların ön maddeleri olarak görev yapmaktadırlar (Munro, 1991).

2.5.4. Analizi Yapılan Amino Asitlerin Metabolizması ve Özellikleri

2.5.4.1. Valin ve İzolösin

Dallı zincirli ve esansiyel amino asitlerdir, ancak kendilerine uyan α -ketoasitlerden sentez edilebilmektedirler. Protein içeriği zengin bir beslenme sonrasında özellikle kas tarafından alınıp tutulan dallı zincirli amino asitler burada transamine olmaktadır. Bu amino asitler karaciğerin yanı sıra kalp, böbrek, beyin, iskelet kası gibi karaciğer dışı dokularda metabolize olarak enerji sağlamaktadırlar. Dallı zincirli amino asitlerin katabolizmalarının sırasıyla transaminasyon, oksidatif dekarboksilasyon tepkimeleri, daha sonra ise dehidrogenasyon tepkimeleri ortaktır (Murray ve diğ., 1993).

Valinden oksidasyon ile oluşan metil malonil - CoA, daha sonra süksinil - CoA'ya dönüşmektedir. Süksinil - CoA sitrik asit döngüsü veya diğer yollarla metabolize olabilir. Süksinil - CoA glukoneogenez ile glukozla dönüşebildiği için valin, glikojenik etkili bir amino asit olarak değerlendirilmektedir.

İzolösin - CoA türevidir, birkaç aşamada glikojenik olan propionil - CoA ve ketojenik etkili asetil - CoA meydana gelmektedir. İzolösin ve valinden oluşan propionil - CoA aynı zamanda tek sayıda karbon atomu taşıyan yağ asitlerinin bir substratıdır (Emerk, 1997).

2.5.4.2. Metiyonin

Esansiyel bir amino asit olup, organik kükürtün en önemli kaynağı, metiyonin ve sisteindir. Metiyonin bakteriler ve bitkilerde aspartattan sentezlenebildiği halde, memelilerde yeterli miktarda homosistein ve metil grupları sağlanmadığı sürece esansiyeldir (Murray ve diğ., 1993).

Öncelikle protein sentezinde kullanılan metiyonin, sistein sentezi için kükürt sağlamaktadır. Vücuttaki en önemli metil vericisi olan metiyonin, besinlerle alındıktan sonra ATP kullanılarak S-adenozil-metiyonine (SAM) dönüşmektedir. SAM yapısındaki metil grubu özel metiltransferazlar ile uygun alıcılara taşınmakta ve homosistein ile adenezine hidroliz olan S-adenozilhomosistein oluşmaktadır. Homosistein, N⁵-metiltetrahidrofolat (N⁵-metil FH₄) veya kolinin oksidasyonu ile oluşan betain (trimetilglisin) gibi bileşiklerden metil grubu alarak yeniden metiyonine dönüşebilmektedir.

SAM, özel bir enzimle S-adenozilmetiltiyopropilamine dekarboksile olmaktadır. Bu ürün, poliaminlerin oluşumunda kullanılan üç karbonlu birimin vericisidir. Propilamin grubunun alıcısı, ornitin dekarboksilasyonu ile oluşan putressin adlı diamindir ve ilk ürün spermidindir. Propilamino kalıntısının ikinci bir aktarımı ile spermin poliamini oluşmaktadır. Ökaryotlarda putressin az, spermidin ve spermin daha

fazla bulunmaktadır. Tümör hücreleri gibi hızlı çoğalan hücrelerde poliaminlerin konsantrasyonları yüksek olmaktadır.

Besinle alınan metiyonin yeterli olduğu durumlarda sistein, esansiyel bir aminoasit değildir. Sistein biyosentezinde kükürt metiyoninden transsülfürasyon ile karbon iskeleti ve amino grubu ise serinden sağlanmaktadır (Emerk, 1997).

2.5.4.3. Triptofan

Aromatik ve esansiyel bir amino asittir. Triptofan yapısında bulunan indol halkası, nikotinamid ve serotonin gibi önemli bileşiklerin yapısına katılmaktadır (Murray ve diğ., 1993).

Triptofan, asetoasetil - CoA oluşturduğu için ketojenik yıkılımı sırasında oluşan alanin nedeni ile glikojenik bir amino asit olarak enerji metabolizmasına katılmaktadır (Emerk, 1997).

2.6. Işık Mikroskopik Analizi Yapılan Dokuların Histolojik Yapısı

Oksidan moleküller, belirli düzeyde kaldıkları sürece, organizmanın yabancı maddeler ve enfeksiyöz ajanlara karşı savaşmasında önemli savunma molekülleridir. Fagositozda nötrofil, monosit ve granulositler tarafından salınarak bakterisidal etki gösterirler. Ancak belirli düzeyin üstünde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olur ise, yani homeostazis bozulursa, sözkonusu oksidan moleküller, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Dokularda normal olarak bulunan antioksidan enzimlerin miktarları, O_2^- , H_2O_2 ve NO 'in her zamanki olağan üretim oranları ile başa çıkmak için yeterlidir. Eğer bu reaktif türlerin miktarları, normalden daha yüksek ise, hücrenin cevabı, koruyucu enzim aktivitelerini artırmak, onarıcı sistemleri aktive etmek olacaktır. ancak hasar durdurulamıyor ise, aktif hücre ölümü gerçekleşecektir (Brody, 1988: Stoian ve diğ., 1996).

Oksidanların ilk etkileyip yapısını bozduğu moleküller, ne kadar yaşamsal öneme sahipse, doku lezyonu da o kadar erken başlayacak ve geniş olacaktır. Ayrıca antioksidan metabolizması zayıf olan organ, ilk etkilenecek organ olacaktır (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Karaciğer ve diğer doku hasarları lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres ile ilişkilidir (Baron ve Muriel, 1999). Bu çalışmada bileşiklerimizin karaciğer, böbrek ve adren dokusu üzerine olan etkileri ışık mikroskopunda incelendi.

2.6.1. Karaciğer

Karaciğer, sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer kısımları tarafından kullanılmak üzere depolandığı bir organdır. Bu yüzden sindirim sistemi ile kan arasında bir geçiş bölgesi oluşturur.

Karaciğer ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson kapsülü) ile örtülüdür. Karaciğerin temel yapısal elamanı karaciğer hücresi ya da hepatositler birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde gruplaşmışlardır. Işık mikroskobu kesitlerinde, klasik karaciğer lobülü olarak isimlendirilen yapısal birimler görülebilir. Bu lobüller poligonal bir doku kütesidir. Bazı bölgelerde lobüller safra kanalları, lenfatikler, sinirler ve kan damarları içeren bağ dokusu ile sınırlanmıştır. Portal alanlar adı verilen bu bölgeler lobüllerin köşelerinde bulunur ve portal triadlar içerir. Herbir portal triadda bir venül (portal venin bir dalı); bir arteriol (hepatik arterin bir dalı); bir safra kanalı ve lenfatik damarlar bulunur. Hepatositler, karaciğer lobülü içinde ışınsal olarak dizilerek kordonlar yaparlar. Bu kordonlar arasındaki boşlukta kapillerler bulunur ve bu kapillerlere karaciğer sinüzoidleri denir. Sinüzoidlerin epiteli (endotel hücreleri) altlarında bulunan hepatositlerden Disse aralığı adı verilen subendotelyal bir boşlukla ayrılmıştır. Endotel hücrelerine ek olarak sinüzoidler mononükleer fagosit serilerinin fagositatik hücrelerini de içerir. Kupffer hücreleri adı verilen bu hücreler endotel hücrelerinin lümene bakan yüzeyinde bulunur. Yağ depolayıcı hücreler (İto hücreleri) Disse aralığına yerleşmiş yıldızsı hücrelerdir. Bu hücreler dışarıdan verilen A vitaminini lipid damarları içinde retinil esterler halinde biriktirme kapasitesine sahiptir, ancak bu hücrelerin A vitamini metabolizmasındaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Lobülün merkezinde sentral ven bulunur. Sinüzoidler lobülün periferinde görünmeye başlar ve lobülün merkezine doğru seyrederek sentral vene açılırlar (Gartner ve Hiatt, 1997).

2.6.1.1. Karaciğerin Fonksiyonları

Karaciğer hücresi, kendisi için gerekli proteinlere ek olarak, salgılamak üzere çeşitli plazma proteinlerini de (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) sentezler. Safrayı üretir. Lipidler ve karbonhidratlar karaciğerde trigliseridler ve glikojen şeklinde depolanır. Vitaminler (özellikle A vitamini) içinde en büyük depolanma yeridir. Hepatosit, lipidleri ve aminoasitleri glukoneogenez adı verilen kompleks bir enzimatik olayla glukoz haline dönüştürür. Çeşitli ilaçları ve maddeleri oksidasyon, metilasyon ve konjugasyonla inaktive edebilir (Detoksifikasyon ve inaktivasyon) (Junqueira ve diğ., 1998).

2.6.2. Böbrek

Böbrekler vücudun sıvı ve elektrolit dengesini ayarlar, aynı zamanda renin ve eritropoietinin üretildiği yerdir. Renin kan basıncının düzenlenmesinde görev alırken eritropoietin kırmızı kan hücrelerinin üretimini uyarır. Böbrek dıştan korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılır. Her böbrek 1 ile 4 milyon nefron içerir. Nefron böbreğin fonksiyon gören birimidir. Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, Henle kangalının ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden oluşmaktadır (Gartner ve Hiatt, 1997).

Her renal cisimcik kapiler bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak Bowman kapsülü olarak adlandırılan iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (viseral tabaka) glomerülün kapilerlerini örter. Dış tabaka renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur ve Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında kapiler duvarından ve viseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır. Her renal cisimcikte arteriollerin girip çıktığı bir damar kutbu, proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı noktada ise bir idrar kutbu bulunur. Renal cisimciğin idrar kutbunda proksimal tübüller başlar. Proksimal kıvrımlı tübüller tek katlı prizmatik epitelle örtülüdür. Hücre apeksinde mikrovilluslar bulunur. Bu mikrovilluslardan dolayı lumenleri kesitlerde dar olarak görünür. Proksimal tübüller henle kangalı izler. Henle kangalı bir kalın inen kol: bir ince inen kol; bir çıkan ince kol ve yapıcı distal kıvrımlı tübüllerle aynı olan bir kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır. Henle kangalı böbreğin medullasında bulunur. Henle kangalını distal kıvrımlı tübüller izler. Bu tübül tek katlı kübik epitelle döşelidir. Histolojik kesitlerde proksimal ve distal tübüller böbreğin korteksinde bulunur. Distal kıvrımlı tübüllerde hücreler küçük, mikrovillus içermezler. Bu yüzden lümenleri geniş gözüktür.

Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle, büyük olanları prizmatik epitelle döşelidir. Toplayıcı tübüller böbreğin medullasında bulunur (Ross ve diğ., 1995).

2.6.3. Adrenal (Suprarenal) Bezler

Adrenal (böbrek üstü) bezler çift organlardır ve yağ dokusu içine gömülü olarak böbreklerin üst kutupları yakınında yerleşmişlerdir. Bez iç içe adrenal korteks ve adrenal medulla olmak üzere 2 tabakadan oluşmuştur (Gartner ve Hiatt., 1997).

2.6.3.1. Adrenal Korteks

Adrenal korteks hücrelerinin görünüş ve yerleşmelerindeki farklardan dolayı üç konsantrik tabakaya ayrılır.

1. Zona Glomerüloza : Adrenallerin toplam hacminin % 15'ini oluşturur. Bağ dokusu kapsülünün hemen altındaki tabaka olan zona glomerülozda prizmatik ya da piramidal hücreler, kapillerlerle çevrili, sıkı, yuvarlak ya da yay şeklinde topluluklar oluşturacak biçimde dizilmişlerdir. Bu zonda, esas olarak elektrolit (örneğin sodyum ve potasyum) ve su dengesiyle ilişkili mineralokortikoidler, öncelikle de aldosteron salgılanır.

2. Zona Fasikülata : Organın yüzeyine dik açılarla seyreden bir ya da iki hücre kalınlığında düzgün kordonlar şeklinde sıralanan tabakadır. Hücreleri polihedral olup sitoplazmalarında çok sayıda lipid damlacıkları bulunur. Adrenallerin toplam hacminin % 65'ini oluşturur.

3. Zona Retikülaris : Zona fasikülata ile medülla arasında yerleşmiş olup. anastomoz yapan bir ağ içerir. Bu hücreler diğer iki tabakadaki hücrelerden daha küçüktür. Toplam hacmin % 7'sini oluşturur.

Zona fasikülata ve muhtemelen zona retikülaris glükokortikoidlerden kortizon ve kortizolü ya da bazı hayvanlarda olduğu gibi kortikosteronu salgılar; bunlar karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasının düzenlenmesinden sorumludurlar. Bu iki bölgede az miktarda androjen ve muhtemelen östrojen üretilir (Gartner ve Hiatt., 1997).

2.6.3.2. Adrenal Medulla

Retiküler lif ağı ile desteklenmiş kordonlar ya da gruplar oluşturan polihedral parenkim hücrelerinden kurulmuştur. Kordonlar arasında az sayıda parasempatik gangliyon hücreleri bulunur. Meduller parenkim hücreleri epinefrin ve norepinefrin salgılayan hücrelerdir (Junqueira ve diğ., 1998).

2.7. Çalışmanın Amacı

TSC ve Schiff bazlarının çeşitli türevleri ve bunların metal kompleksleri antineoplastik, antiviral, antimikrobiyal, antimalarial gibi biyolojik fonksiyonlarından dolayı kimya, biyoloji ve farmakoloji bilim dallarında büyük ilgi görmektedir. Bu bileşiklerin sahip oldukları biyolojik etkilerin değişimi sentezlenen bileşiğin yapısına.

farklı sübstitüentlerin konumuna ve komplekslerinde kullanılan metal atomunun özelliğine göre farklılanmaktadır. Ayrıca ligandın konformasyonunun ve yapısının, koordinasyon bileşiklerindeki merkez atomunun redoks potansiyelini etkilediği de bildirilmektedir.

Yapılan literatür taramalarında bu bileşiklerin antioksidan özellikleriyle ilgili çok fazla araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile TSC türevi tiyazol halkalı Schiff bazı ve bu bileşiğin Cu(II) ve Zn(II) komplekslerinin antioksidan sistemdeki GSH-Px enzim aktivitesi, vitamin, A, E, C düzeylerine etkisi, lipid peroksidasyon derecesi (MDA), selenyum düzeyleri ve valin, metiyonin, triptofan ve izolösin amino asit düzeylerine etkisi ile karaciğer, böbrek ve adrende oluşturabileceği doku hasarlarının mikroskopik araştırılması amaçlanmıştır.



3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada 12-14 haftalık ortalama 250 gr ağırlığında erişkin wistar cinsi erkek ratlar kullanıldı.

Deneylerde kullanılan hayvanların bulunduğu ortamın 12 saat ışık, 12 saat karanlık olarak ışık düzenlemesi yapıldı. Yine ortamın ısısı oda şartlarında sabit tutuldu (24-26°C). Hayvanların beslenmesi için su ve yem yeteri kadar (ad libitum) verildi. Yemler Elazığ Yem Fabrikası'ndan, su ise Elazığ şehir şebekesinden sağlandı. Uygulamalar hergün aynı saatte yapıldı. Uygulamalarda kullanılan ratlar doğumdan itibaren sürekli kontrol edilerek hastalık şüphesi olabilecek ratlar gruplara dahil edilmedi. Uygulamalar süresince ligand ve $Zn(L)_2$ grubu deneklerinin fiziksel görünüşleri normaldi. Tablo 4.11'de görüldüğü gibi herhangi bir ağırlık değişimi gözlenmedi. $Cu(L)_2$ grubu deneklerinde ise ağırlık azalması ile birlikte uyuşukluk ve tüylerinde kabarmalar gözlemlendi. Deneyler boyunca hiçbir nedenle denek ölümü görülmedi.

3.1.2. Öldürücü Dozun Belirlenmesi

Sabit doza karar verilmeden önce kullanılan bileşiğin ve bunun çinko ve bakır komplekslerinin öldürücü dozu belirlenmeye çalışıldı.

Bu işlemler için her grupta 6 hayvan olacak şekilde gruplar oluşturuldu. Uygulanacak olan maddeler önce dimetilsülfoksit (DMSO)'te çözüldü ve DMSO miktarı % 10'un altında olacak şekilde mısır özü yağında seyreltildi. Çünkü DMSO miktarı % 10'un altında olduğu zaman DMSO'ya ait herhangi bir gözlenebilir toksik etki oluşmayacağı belirtilmektedir (Papageorgiou ve diğ., 1997). Bu çözeltiler enjektöre çekilerek hayvanlara deri altına uygulandı (Baumgart ve diğ., 1989).

Öldürücü dozun belirlenmesinde doz artırma metodu kullanıldı (Kumamoto ve diğ., 1990). Ancak ileriki aşamalarda ligand ve metal komplekslerinin çözünürlüğünün düşük olduğu görüldü. Bu bileşiklerin dozu son olarak 400 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde çözüldü ve uygulama yapıldı. Bu dozun üstündeki doza çıkılamadı. Çünkü maddenin çözünürlüğünün az olması, çözme işlemini, çözeltilerin enjektöre çekilmelerini ve deneklere deri altına enjekte edilmelerini zorlaştırdı. Yukarıdaki sebeplerden dolayı öldürücü doz deri altı uygulamalar için belirlenemedi.

3.1.3. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar

Araştırmada kullanılacak ratlar 1 kontrol ve 3 uygulama grubundan oluşturuldu ve her grupta 1., 2., 4., 8., 16. ve 32. günlerde 5'er denek, 64. günde 6 denek olmak üzere toplam 36 rat yereldi.

İlgili literatür taramasından sonra (Chapman ve diğ., 1990; Papageorgiou ve diğ., 1997) ligand ve komplekslerinin molekül yapıları (büyüklük) göz önüne alınarak uygulamaların kontrol ve denek grupları için 0. gün, 3. gün, 6. gün, 9. gün, ..., olacak şekilde 3 gün ara ile yapılmasına karar verildi.

Uygulama maddelerinin dozları literatürden faydalanılarak kararlaştırıldı ve şartlara uygun olarak 25 mg/kg vücut ağırlığı (Liu ve diğ., 1992) olacak şekilde önce DMSO'da çözüldü ve DMSO miktarı % 10'un altında olacak şekilde mısır özü yağı ile seyreltildikten sonra hayvanlara deri altından uygulandı.

Kontrol gruplarına, DMSO miktarı % 10'un altında olacak şekilde yağ hazırlanarak 0.5 mL çözelti deri altına enjekte edildi. Uygulama gruplarına ise 0.5 mL çözelti içerisindeki ligand ve metal kompleksleri derişimi 25 mg/kg vücut ağırlığı dozunu ihtiva edecek şekilde hazırlanan çözeltiler deri altına enjekte edildi (Papageorgiou ve diğ., 1997).

3.1.4. Kan örneklerinin Alınması

Uygulama sürelerinin sonunda hayvanlara eter ile anestezi yapılarak göğüs kafesleri açıldı ve kalplerinden yeterli miktarda (4-8 mL) kan alındı. Alınan kan örnekleri safrifüjlenerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar en geç üç gün içerisinde analizlendi. Analiz anına kadar serum örnekleri -20°C'de bekletildi.

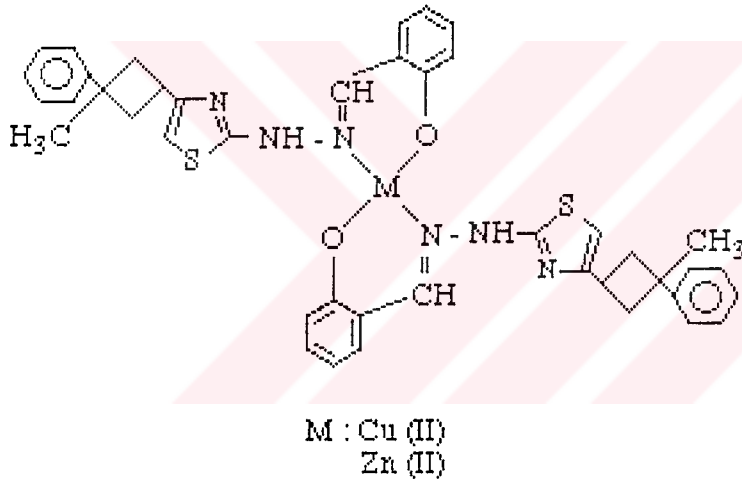
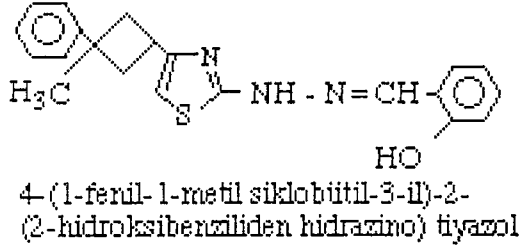
3.1.5. Eritrosit GSH-Px Tayini İçin Kan Örneğinin Hazırlanması

Hayvanlardan kan alımı sırasında 1'er mL'lik kısım EDTA'lı tüplere alındı. Alınan kan örnekleri serum fizyolojik ile üç kez yıkandı, oluşan hücre süspansiyonu 1:5 oranında soğuk distile su ile sulandırılarak lizat elde edildi. Hazırlanan lizatta en geç üç gün içerisinde GSH-Px enzim aktivitesi ve hemogloblin (Hb) tayinleri yapıldı (Paglia ve Valentine, 1967; Teitz, 1986; İlhan, 1998).

3.2. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler

Uygulamalarda kullanılan ligand ve metal kompleksleri tiyosemikarbazon türevi tiyazol halkalı Schiff bazı ve son yıllarda ilgi çeken siklobütan halkası içermektedir.

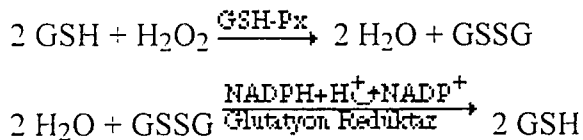
Bu ligand ve ligandın Cu ile Zn metal kompleksleri Yılmaz (2002) tarafından sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Ligand ve komplekslerin yapısı aşağıdadır.



3.3. Örneklerin Analizleri

3.3.1. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini

GSH-Px, hidrojen peroksit (H-O-O-H) varlığında redükte glutatyon (GSH) okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini kataliz eder. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla GSH'ye indirgenir.



GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın NADP⁺'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbanst farkının 340 nm'de okunmasıyla ölçülür (Paglia ve Valentine, 1967).

Hemolizat Hazırlanması

EDTA'lı tüplere alınan 1 mL'lik kan örnekleri 3 defa soğuk % 0.9'luk NaCl ile yıkandı. Oluşan hücre süspansiyonundan 0.1 mL alınıp üzerine 0.4 mL soğuk distile su ilavesiyle lizat elde edildi ve 10 dakika dondurucuda eritrositlerin tamamen parçalanması için bekletildi. Bu lizat diğer peroksidazların pozitif inhibisyonunu önlemek için eşit miktarda çift güçlü drabkin çözeltisi ile karıştırıldı. Bu karışımın 0.1 mL'sine içerisinde 0.005 M EDTA bulunan pH : 7'de 0.05 M fosfat tamponundan 2.58 mL eklendi ve böylece enzim kaynağı hazırlanmış oldu (İlhan, 1998).

Deneyde Kullanılan Reaktifler

GSH (150 mM) = 50 mg GSH 1 mL tamponda çözöldü
 NaN₃ (1 M) = 65 mg sodyum azid 1 mL tamponda çözöldü.
 NADPH (3 mM) = 10 mg NADPH 2 mL tamponda çözöldü.
 GSH - Redöktaz = Ticari preparatdan (U/mL, spesifik aktivite) direkt olarak seyreltme yapılmaksızın kullanıldı.
 H₂O₂ (50 mM) = 15 µL H₂O₂ alınıp hacim 5 mL'ye tamponla tamamlandı.
 Tampon (pH : 7.5), 50 mM fosfat tamponu = 600 mL A + 400 mL B + 2.08 gr NaEDTA ile hazırlandı.
 A : Na₂HPO₄, 50 mM, 7.1 gr/L B : KH₂PO₄, 50 mM, 6.8 gr/L

Deneyin Yapılışı

	Numune	Kör
Fosfat Tamponu (mL)	2.66	2.68
Redökte GSH (mL)	0.10	0.10
NADPH (mL)	0.10	0.10
GSH - Redöktaz (mL)	0.01	0.01
NaN ₃ (mL)	0.01	0.01
Numune (eritrosit) (mL)	0.02	-

Tüpler iyice karıştırılarak oda sıcaklığında (25°C) 30 dak. inkübe edildi. Sürenin sonunda her tüpe 0.1 mL H₂O₂ ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede 5 dakika süre ile takip edildi. İlk absorbans - son absorbans değeri alınarak 5'e bölündü (ΔA / dakika).

Enzim Aktivitesinin Hesaplanması

$E = 6.22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} = \text{NADH ve NADPH için molar absorplama katsayısı}$

$V_T = \text{Total Hacim (mL)}$

$V_n = \text{Total hacimdeki numune hacmi}$

$L = \text{Küvet çapı (1 cm)}$

$\Delta A/t = \text{Dakikadaki absorbans}$

$10^6 = \text{Molü mikromole dönüştürme sabiti}$

$$U / L (\text{Mmol/dakika.L}) = \frac{(\Delta A / t) \times V_T \times 10^6}{E \times V_n \times L} = \frac{(\Delta A/5) \times V_T \times 10^6}{6.22 \cdot 10^3 \times 0.02 \times L} = \frac{(\Delta A/5) \times V_T \times 10^6}{124.44}$$

Hemoglobin, Drabkin ile ölçülerek GSH-Px enzim aktivitesi U / gr Hb olarak belirlendi (Paglia ve Valentine, 1967).

Hemoglobin Tayini

Hemoglobin miktarı Drabkin yöntemiyle ölçüldü. Bu yöntemde ferrisiyanür hemoglobindeki demiri oksitleyerek iki değerlikli demiri üç değerlikli demire çevirerek methemoglobine dönüşmesini sağlar. Bunu takiben potasyum siyanür ile kararlı bir pigment olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Siyanmethemoglobinin absorbansı spektrofotometrik olarak 546 nm'de okundu (Teitz, 1986).

Ayırıcılar

1. Drabkin Çözeltisi : 50 mg KCN + 200 mg K₃Fe(CN)₆ + 1 gr NaHCO₃ alınarak distile su ile 1 litreye tamamlanan çözelti renkli şişede ve oda sıcaklığında 1 yıl saklanabilir.

2. Hemoglobin Standardı : 18 gr liyolifize Hb standardı 100 mL distile suda çözöldü. Bu standart 18 gr/dl Hb içermektedir.

İşlem

	Kör	Standart	Örnek
Drabkin çözeltisi (mL)	5.00	5.00	5.00
Hb standardı (mL)	-	0.02	-
Hemolizat (mL)	-	-	0.02
Distile su (mL)	0.02	-	-

Tüpler iyice karıştırıldı ve oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra 546 nm'de köre karşı absorbanları okundu.

$$\text{Hemoglobin (gr / dL)} = \frac{\text{Örnek Absorbansı}}{\text{Standart Absorbansı}} \times \text{Standart Konsantrasyonu}$$

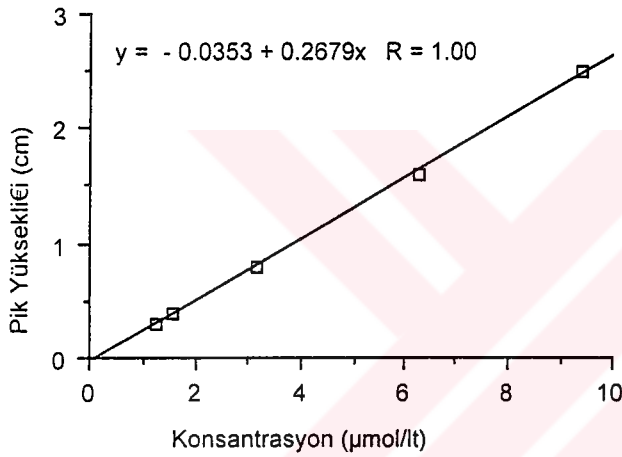
3.3.2. Selenyum Analizi

Selenyum tayini için 1-0.5 mL serum örneği 5.0 mL perklorik asit : nitrik asit (1:5. v/v oranında) karışımında teflon bomba içerisinde 120°C'de etüvde 12 saat bekletilerek parçalandı (Breyer ve Gilbert, 1987). Daha sonra oda sıcaklığına kadar soğutulan parçalanmış örnek üzerine ortamın derişimi 4 N HCl olacak şekilde derişik HCl ilave edilerek 90°C'de su banyosunda 15 dakika ısıtılarak ortamda HNO₃ etkisiyle +6 değeriğe yükseltgenmiş olan selenyumun +4 değeriğli olması sağlandı. Oda sıcaklığına soğutulan örnekler üzerine 0.1 M EDTA çözeltisinden 5 mL ve 2.5 M HCOOH çözeltisinden de 2 mL katılarak karıştırıldı. Daha sonra ortamın derişimi 1000 µg/mL olacak şekilde 1.2-diaminobenzen çözeltisi katılarak karıştırıldı. Kompleks oluşumu için 4 N NH₃ ile pH 1.5'e ayarlandı. Kompleks oluşumunun tamamlanması için karanlıkta 60 dakika bekletildi. Sürenin sonunda örnekler üzerine 0.5 mL n-hekzan ilave edilerek ayırma hunisine alındı ve iyice karıştırıldı. Ayırma hunisindeki n-hekzan fazı bir tüpe alındı. Tüpe alınan n-hekzan fazından 20 µL alınarak HPLC'de dalga boyu 332 nm, mobil faz 1 : 1 oranında metanol su karışımı kullanılarak akış hızı 1 mL/dak.'ya ayarlanarak analizlendi (Arain, 1999). Bu çalışmada Standart Ekleme Yöntemi uygulandığında çalışma grafiği ile Se grafiğinin paralel olduğu ve girişimin olmadığı gözlemlendi. Bundan dolayı veriler çalışma grafiği ile değerlendirildi. Selenyum analizi için geri kazanım % 96 olarak bulundu.

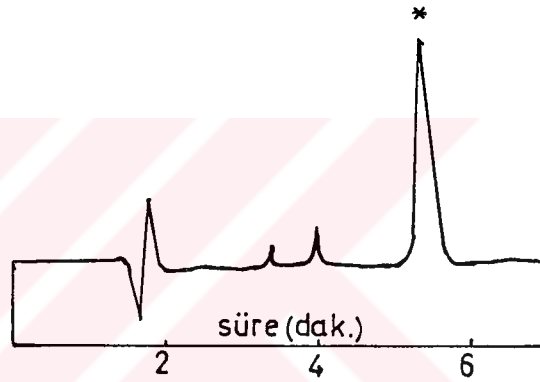
Geri Kazanım

Geri kazanım analizleri için serum örneği üzerine konsantrasyonu bilinecek şekilde analizlenen parametrelerin standartları ilave edildi. Herbir numune için anlatılan ön işlemler tekrarlandı. Standart çözeltisi ile birlikte standart ilaveli serum örnekleri ve standart ilave edilmemiş serum örnekleri aynı şartlarda analizlendi. Standart ilaveli örneklerin pik yüksekliklerinden standartlara ait pik yükseklikleri çıkarıldı ve standart ilave edilmemiş serumun pik yüksekliğine bölünerek geri kazanımlar aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$\% \text{ Geri Kazanım} = \frac{\text{Standart İlaveli Serum} - \text{Standart}}{\text{Normal Serum}} \times 100$$



Şekil 3.1. Selenyuma ait çalışma eğrisi

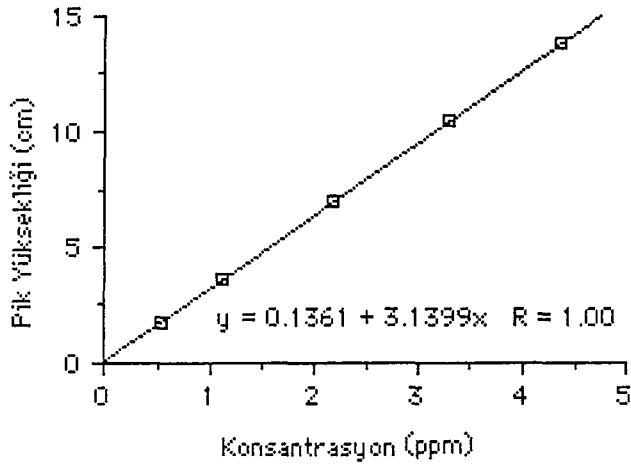


Şekil 3.2. Selenyuma ait kromatogram

3.3.3. MDA Analizi

0.3 mL serum örneği üzerine 0.5 M HClO₄'den 0.2 mL ilave edildi. Proteinlerin çöktürülmesinden sonra saf su ilave edilerek toplam hacim 1 mL'ye tamamlandı. Karışım 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra berrak kısımdan 20 µL dikkatlice alınarak HPLC'de analizlendi.

Analizler hareketli faz olarak 30 mM KH₂PO₄ - metanol (% 65 - 35; pH : 4) karışımında 254 nm'de Techopak 10µ C-18 (25 cm x 3.9 mm) kolonu kullanılarak akış hızı 1.5 mL/dakikada yapıldı. MDA analizlerinde uygulanan metod Tsaknis ve diğ. (1998)'den modifiye edilerek yapıldı. MDA için geri kazanım % 98.8 olarak bulundu.



Şekil 3.3. Malondialdehit'e ait çalışma eğri

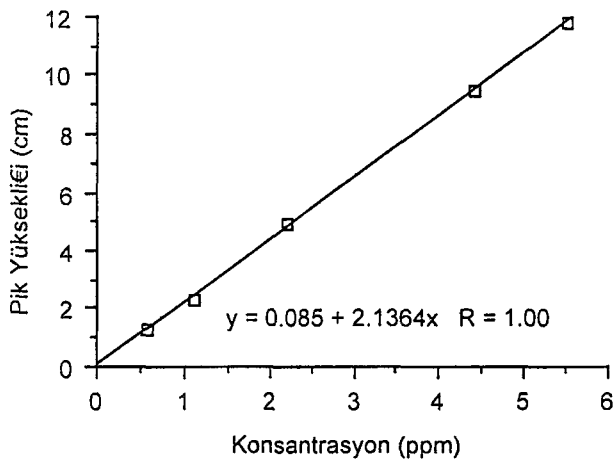


Şekil 3.4. Malondialdehit'e ait kromatogram

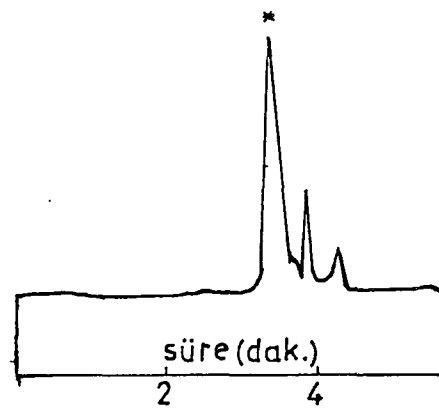
3.3.4. C Vitamini Analizi

Serum örneğinden 0.3 mL alınıp üzerine 0.2 mL 0.5 M HClO₄ ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Daha sonra bu karışım vortekslelendikten sonra üzerine saf su ilave edilerek toplam hacim 1 mL'ye tamamlandı. Karışım 5 dakika santrifüjlelendikten (4500 devir/dak) sonra örneklerin üzerindeki berrak kısımdan dikkatlice 20µL alınarak HPLC'ye enjekte edildi (Cerhata ve diğ., 1994).

HPLC analizlerinde hareketli faz olarak litresinde 0.5 gr KH₂PO₄ (pH : 4) çözeltisi kullanıldı. 246 nm dalga boyunda akış hızı 1 mL/dakikada Li-60 (25 cm x 4.6 mm) kolonu kullanıldı (Tavazzi ve diğ., 1992). Bu analiz için geri kazanım % 99.6 olarak hesaplandı .



Şekil 3.5. C vitamini çalışma eğrisi

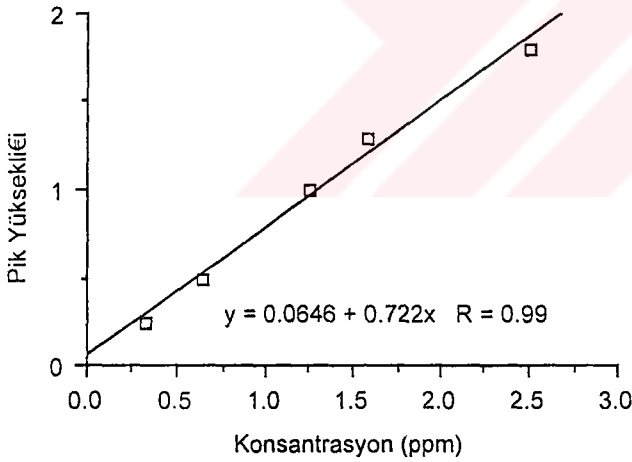


Şekil 3.6. C vitaminine ait kromatogram

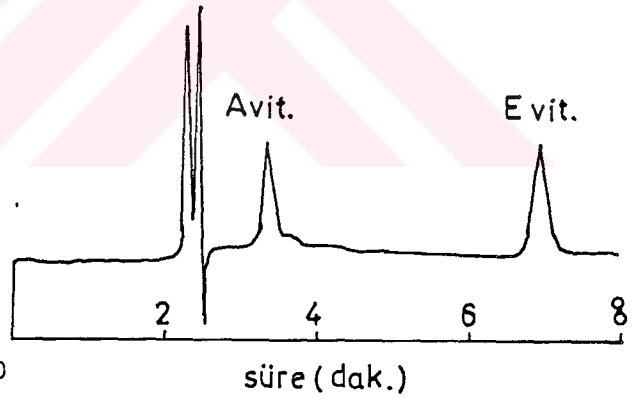
3.3.5. A ve E Vitamini Analizi

Derin dondurucudan alınan serum örnekleri çözünme işlemi yapıldıktan sonra 0.5 mL serum örneği üzerine % 1'lik H_2SO_4 ihtiva eden etil alkolden 2 mL ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Karışım vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendi, sonra örnekler üzerine 0.3 mL n-hekzan ilave edildi. Hekzan ilavesiyle ortamdaki yağda çözünen vitaminler hekzan fazına ekstrakte edilmektedir. Hekzan ilave edildikten sonra tekrar vorteksde karıştırıldı ve tüpler santrifüjlendi. Santrifüj sonunda hekzan fazı dikkatli bir şekilde ayrılarak cam tüpe alındı. Örnek üzerine tekrar 0.3 mL n-hekzan ilave edilerek karıştırılıp santrifüjlendi ve n-hekzan fazı cam tüpteki hekzan fazı ile birleştirildi. Ekstrakte edilen hekzan, kuru azot altında dikkatlice uzaklaştırıldı. Kalıntı 100 μ L metanolde çözüldü (Çetinkaya ve Özcan, 1991). Bu çözeltiden 20 μ L alınıp HPLC'ye enjekte edildi. Örneklerdeki E vitamini 296 nm ve A vitamini 326 nm dalga boyunda ODS-2 80A 5 μ (25 cm x 4.6 mm) kolonu ve metanol : asetonitril : kloroform (47 : 42 : 11) hareketli fazında akış hızı 1 mL/dak. olacak şekilde analizlendi (Catignani, 1983).

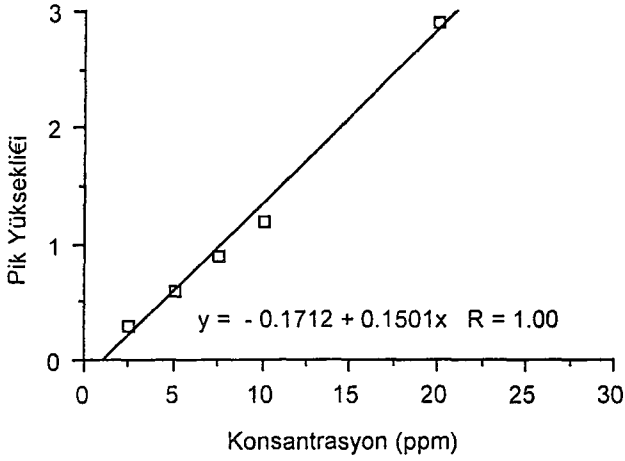
Vitaminler için geri kazanım değerleri E vitamini için % 98 ve A vitamini için % 96.7 olarak hesaplandı.



Şekil 3.7. A vitamini çalışma eğrisi



Şekil 3.8. A ve E vitaminlerine ait kromatogram

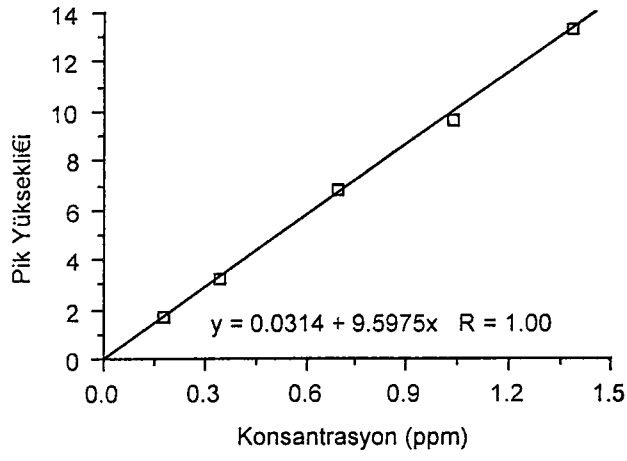


Şekil 3.9. E vitamini çalışma eğrisi

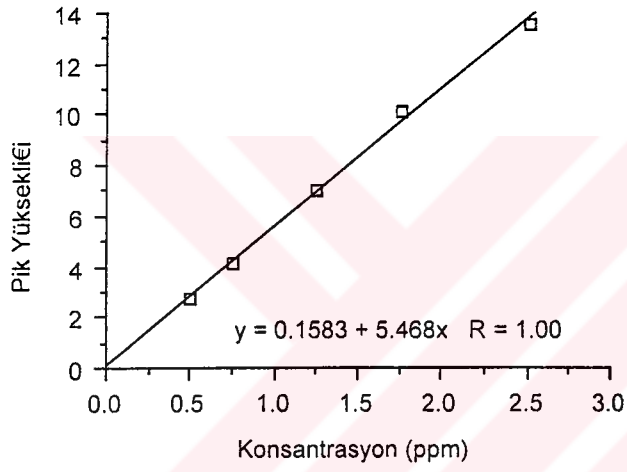
3.3.6. Amino Asit Analizi

Serum örneğinden 0.3 mL alınıp üzerine 0.3 mL metanol ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Karışım santrifüjlendikten sonra üstteki berrak kısım alınarak, vakum pompası ile kuru azot ortamında kurutuldu. Kalıntı üzerine metanol, trietilamin, fenilizotiyosiyanat reaktifi (80 : 15 : 5) ilave edildi. Amino asitlerle fenilizotiyosiyanat reaksiyonun oluşması için 60°C'de su banyosunda 30 dak. beklendi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım tekrar vakum ve kuru azot altında kurutuldu. Kalıntı 5 M Na₂HPO₄ - asetonitril (% 96 - 4) karışımının 1 mL'sinde çözüldü (Woo ve Leo, 1994). Bu çözelti uygun şekilde seyreltildi ve 20 µL alınarak HPLC'ye enjekte edildi.

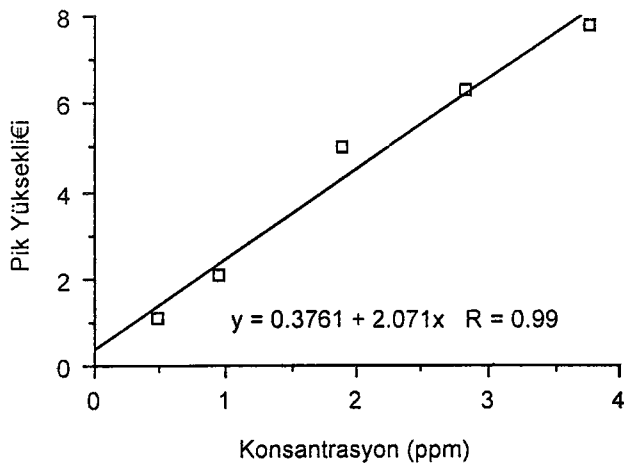
Amino asitler 254 nm'de Techsphere ODS 5µ (25 cm x 4.6 mm) kolonunda ve THF : NH₄CH₃COO : su : asetonitril [THF : 3 M NaCH₃COO, pH : 3.9, su (4.5 = 0.55 = 94.95) - % 30 ACN] hareketli fazında akış hızı 0.8 mL/dakikada tayin edildi (Woo ve Leo, 1994). Analizlenen tüm aminoasitler için geri kazanım % 96 ile % 104 arasında değişmektedir.



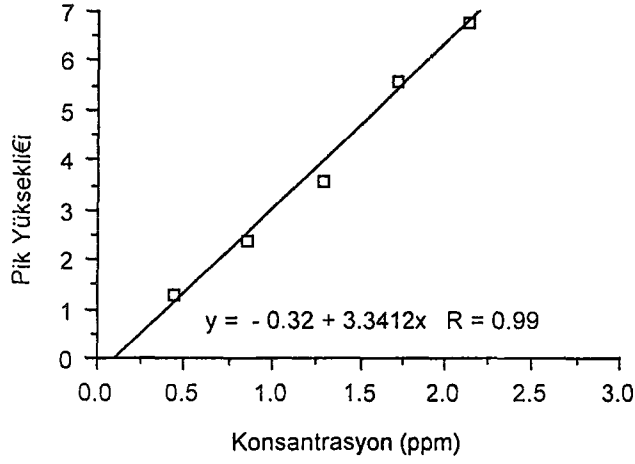
Şekil 3.10. Valin'e ait çalışma eğrisi



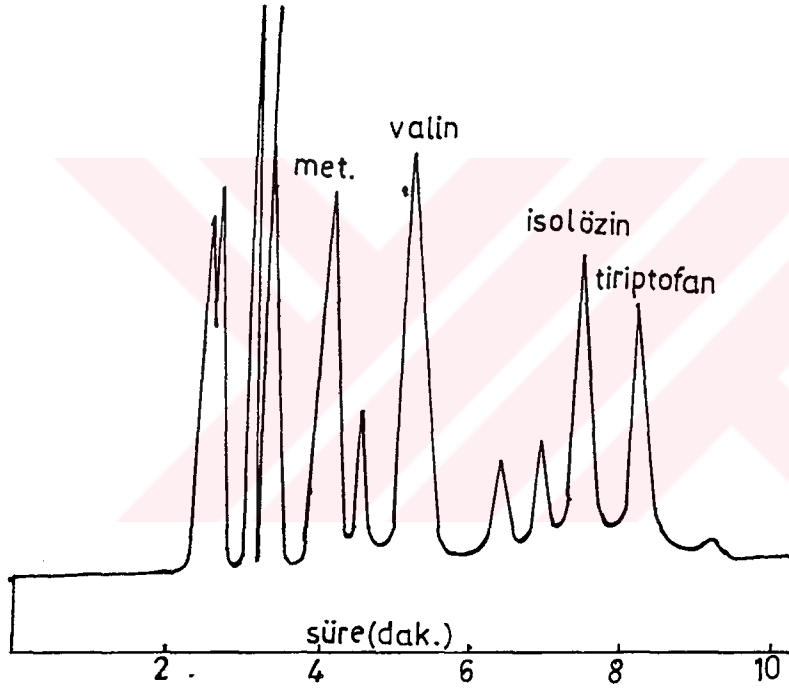
Şekil 3.11. Metiyonin'e ait çalışma eğrisi



Şekil 3.12. Triptofan'a ait çalışma eğrisi



Şekil 3.13. İzolösin'e ait çalışma eğrisi



Şekil 3.14. Aminoasitlere ait kromatogram

3.4. Işık Mikroskobisi İçin Seçilen Dokuların Analizi

Deney süreleri sonunda hayvanlardan eter anestezisi altında doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri % 10'luk formol - alkol solüsyonunda 24 saat süreyle tespit edildi. Tespit edilen doku örnekleri aşağıda belirtilen işlemlerden geçirilerek parafine gömüldü.

% 70 Alkol	120 dakika
% 80 Alkol	90 dakika
% 96 Alkol	30 dakika
% 96 Alkol	30 dakika
% 100 Alkol	30 dakika
% 100 Alkol	30 dakika
% 100 Alkol - Ksilen (1 : 1)	15 dakika
Ksilen I	30 dakika
Ksilen II	30 dakika
Ksilen - Yumuşak parafin (46-48°C) (1 : 1)	45 dakika
Yumuşak parafin (46-48°C)	60 dakika
Y. parafin (46-48°C)- Sert parafin (56-58°C) (1 : 1)	60 dakika
Sert parafin (56-58°C)	180 dakika

Parafine gömülen dokulardan mikrotomda 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler lam üzerine alınarak hücre çekirdekleri hematoksislen ile sitoplazmalar ise eosin ile boyandı (Ross ve Diğ., 1995). Boyama işleminden sonra mikroskop altına alınan örnekler incelendi ve fotoğrafları çekildi. Bu fotoğraflar değerlendirilerek gerekli görülen resimler bulgular kısmına alındı. Dokuların ışık mikroskopik analizler için hazırlanması ve değerlendirilmesi F.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından yapıldı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler, SPSS istatistik programı ile yapıldı. Deneysel çalışmalar sonunda elde edilen veriler normal dağılım göstermediğinden grup karşılaştırmaları Kruskal Wallis varyans analizi ile yapıldı. Bu analiz sonucunda önemli çıkan parametreler için gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltilmiş Mann-Whitney testi kullanıldı (Düzgüneş ve diğ., 1983).

4. BULGULAR

Elde edilen bulgular parametrelerin herbirinde uygulama boyunca grupların birbirleriyle kıyaslarını gösterecek tablolar halinde verildi.

Ratların alınan doku örneklerine ait fotoğraflar Resim 4.1. - 4.12.'de, eritrositlere ait GSH-Px enzim aktivitesi, Se, MDA, antioksidan vitaminler C, A, E, aminoasitler; valin, metiyonin, triptofan ve izolösine ait karşılaştırmalar Tablo 4.1. - 4.10.'da. ve bu parametrelere ait düzeylerindeki değişiklikler Şekil 4.1. - 4.10.'da verilmiştir.

4.1. Uygulamalardaki Farklı Gruplar Arası Karşılaştırmalar

4.1.1. Eritrosit GSH-Px Aktivitesi

Uygulama gruplarına ait ortalama eritrosit GSH-Px aktiviteleri Tablo 4.1. ve Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

Farklı grupların kıyaslamalarında eritrosit GSH-Px aktivitelerinde anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

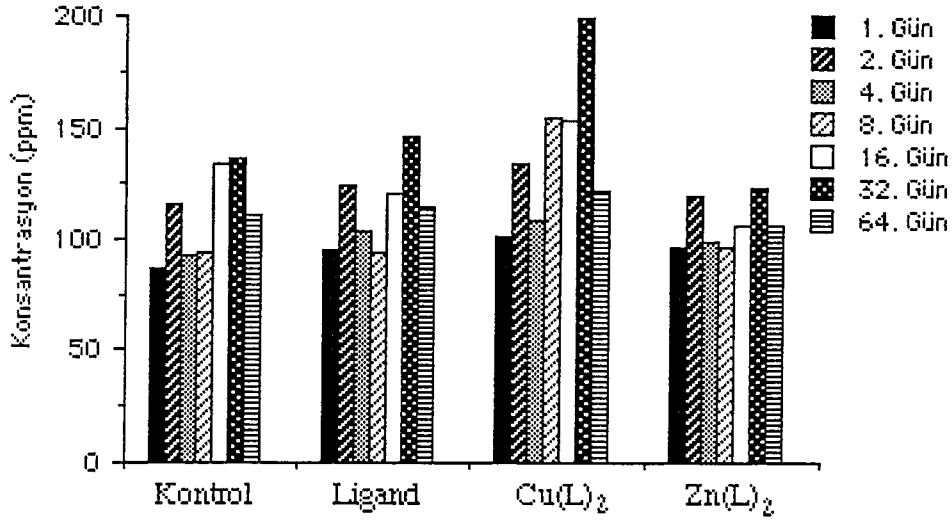
Tablo 4.1. Eritrosit GSH-Px (U/gr Hb) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulama	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	86.93±1.5	115.70±4.3	92.77±2.6	93.65±2.7 ^a	133.2±12.4 ^a	136.3±17.2 ^a	110.6±7.7 ^a
Ligand	94.61±27.0	123.84±7.6	103.3±20.1	94.27±6.0 ^a	120.5±21.9 ^a	145.2±55.9 ^a	114.54±5.5 ^a
Cu(L) ₂	101.2±22.4	133.8±19.6	108.5±22.6	153.6±24.6 ^b	152.6±4.7 ^b	199.1±45.9 ^b	121.26±4.9 ^b
Zn(L) ₂	95.99±18.8	118.7±18.3	98.26±7.3	96.8±17.3 ^a	106.4±26.0 ^a	123.4±27.9 ^a	105.6±5.9 ^a
p	-	-	-	**	**	*	**

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; - : Önemli değil

p değerleri Kruskal Wallis varyans analizi sonucuna göre düzenlendi.

a, b : Gün içinde kontrol grubu ile diğer grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı çıkan farklılıkları belirtmektedir (p < 0.0166).



Şekil 4.1. Gruplardaki eritrosit GSH-Px düzeylerindeki değişiklikler

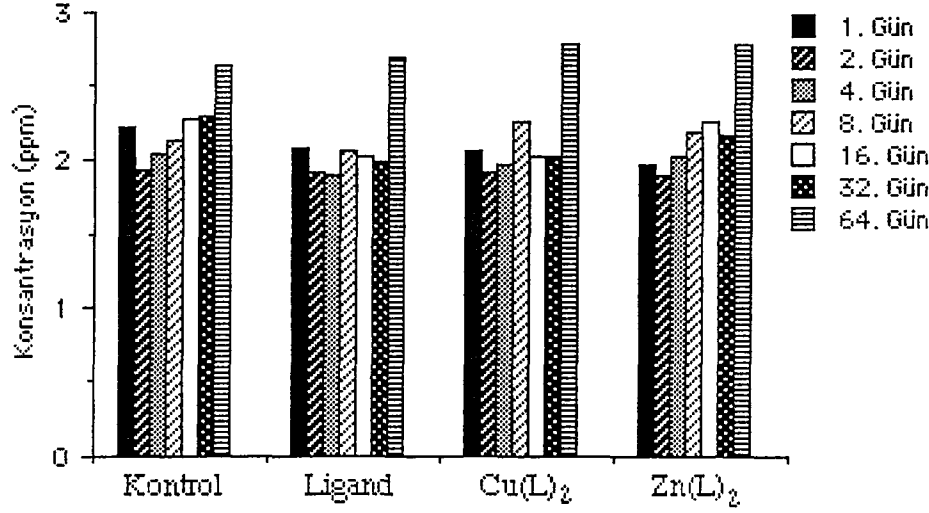
4.1.2. Serum - Selenyum Düzeyleri

Serum - selenyum düzeyleri Tablo 4.2. ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Serum - selenyum düzeylerinde uygulama süresi içinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 4.2. Serum - Selenyum ($\mu\text{mol/L}$) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulama	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	2.22±0.2	1.93±0.1	2.04±0.1	2.12±0.2	2.28±0.2	2.29±0.1	2.64±0.6
Ligand	2.08±0.6	1.91±0.2	1.90±0.2	2.05±0.3	2.02±0.3	1.99±0.5	2.69±0.4
Cu(L) ₂	2.05±0.2	1.91±0.2	1.97±0.3	2.25±0.7	2.02±0.2	2.02±0.7	2.79±0.4
Zn(L) ₂	1.96±0.2	1.89±0.1	2.02±0.1	2.18±0.6	2.25±0.4	2.16±0.3	2.79±0.3
p	-	-	-	-	-	-	-

- : Önemli değil



Şekil 4.2. Gruplardaki Serum - Selenyum düzeylerindeki değişiklikler

4.1.3. Serum - MDA Düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - MDA düzeyleri Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'de verilmiştir. Serum - MDA düzeylerinde anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

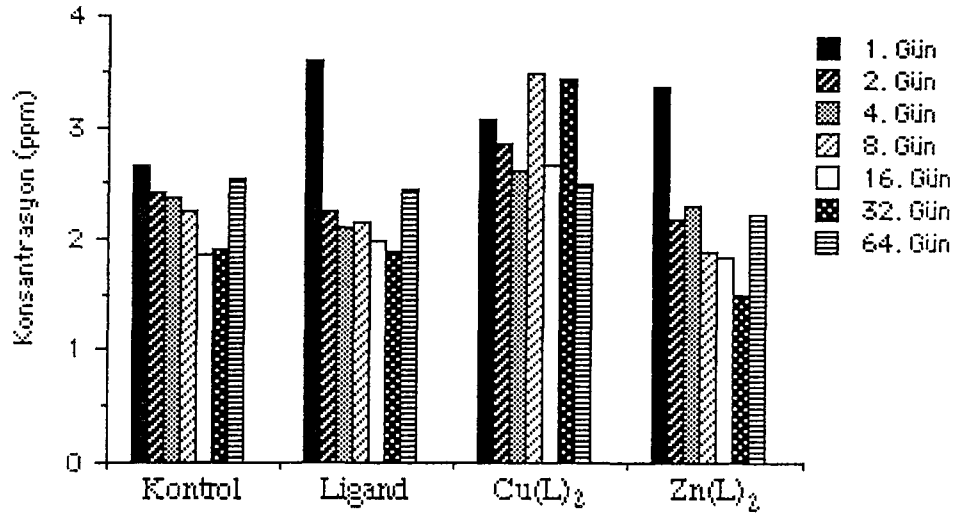
Tablo 4.3. Serum - MDA (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulama	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	2.65±0.8	2.40±0.2	2.37±0.3	2.25±0.2 ^a	1.86±0.2 ^a	1.91±0.4 ^a	2.53±0.9
Ligand	3.59±2.1	2.25±0.8	2.10±1.0	2.15±1.0 ^a	1.97±0.3 ^a	1.89±0.2 ^a	2.44±0.8
Cu(L) ₂	3.07±1.2	2.85±1.0	2.61±0.6	3.48±0.1 ^b	2.66±0.4 ^b	3.42±0.4 ^b	2.49±0.8
Zn(L) ₂	3.36±0.9	2.17±0.9	2.29±0.6	1.87±0.1 ^b	1.84±0.5 ^a	1.49±0.4 ^a	2.21±0.5
p	-	-	-	*	*	**	-

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; - : Önemli değil

p değerleri Kruskal Wallis varyans analizi sonucuna göre düzenlendi.

a, b : Gün içinde kontrol grubu ile diğer grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı çıkan farklılıkları belirtmektedir (p < 0.0166).



Şekil 4.3. Serum - MDA düzeylerindeki değişiklikler

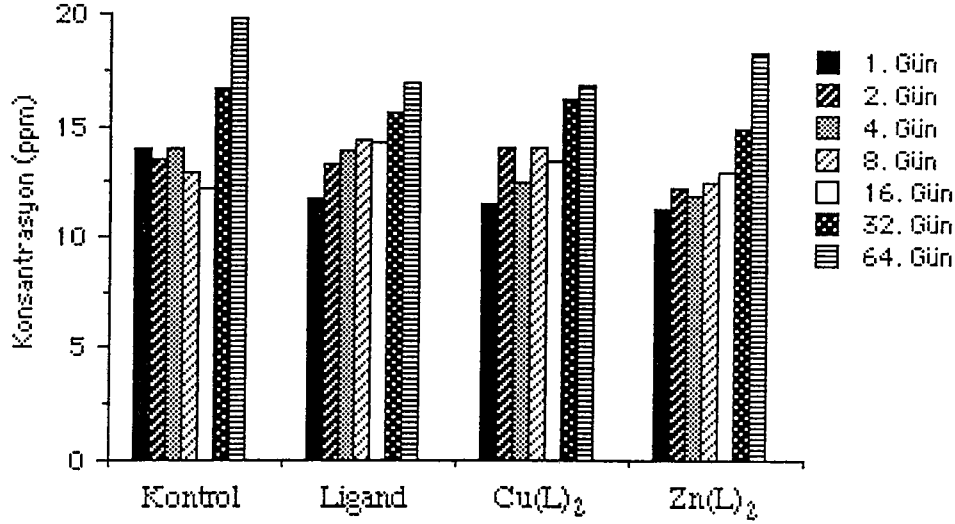
4.1.4. Serum - C Vitamini Düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - C vitamini düzeyleri Tablo 4.4 ve Şekil 4.4.'de verilmiştir. Serum - C vitamin düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tablo 4.4. Serum - C Vitamini (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulama	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	13.92±2.7	13.44±1.6	13.95±1.4	12.92±1.2	12.17±1.0	16.59±0.9	19.80±2.7
Ligand	11.68±1.2	13.30±1.9	13.86±2.5	14.28±2.1	13.42±2.2	15.51±4.6	16.85±1.7
Cu(L) ₂	11.47±1.9	14.01±2.5	12.44±0.8	13.96±1.4	13.32±1.8	16.19±1.6	16.73±3.9
Zn(L) ₂	11.26±1.9	12.19±1.1	11.78±2.1	12.38±2.3	12.87±1.7	14.78±2.4	18.16±3.7
p	-	-	-	-	-	-	-

- : Önemli değil



Şekil 4.4. Serum - C vitamini düzeylerindeki değişiklikler

4.1.5. Serum - A Vitamini düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - vitamin A düzeyleri Tablo 4.5 ve Şekil 4.5'de verilmiştir. Serum - vitamin A düzeylerinde grup karşılaştırmalardaki farklılıklar anlamlı bulunmuştur.

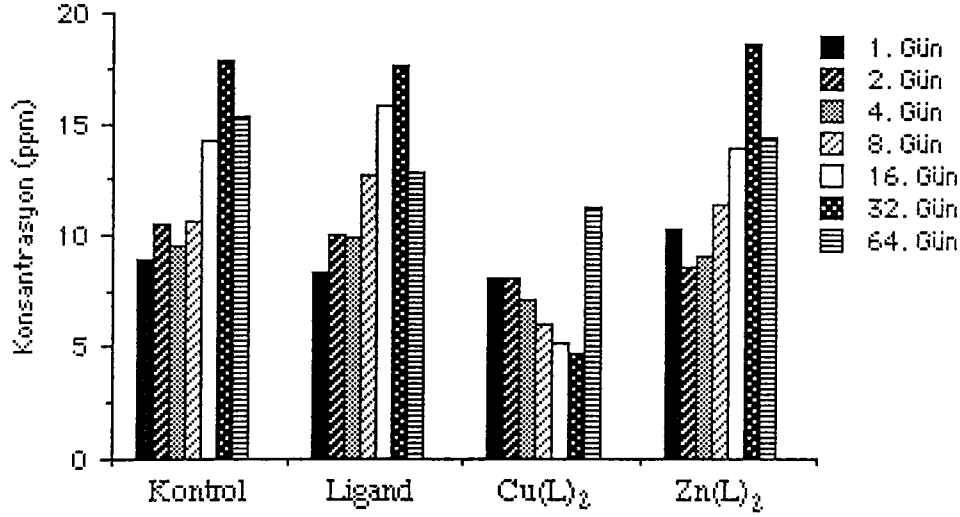
Tablo 4.5. Serum - A Vitamini (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Uygulama	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Grubu	(x10 ⁻²)	(x10 ⁻²)	(x10 ⁻²)	(x10 ⁻²)	(x10 ⁻²)	(x10 ⁻²)	(x10 ⁻²)
Kontrol	8.89±0.2 ^a	10.50±0.1 ^a	9.46±0.4 ^a	10.64±0.5 ^a	14.20±0.3 ^a	17.80±1.7 ^a	15.30±1.2 ^a
Ligand	8.33±0.1 ^a	10.00±0.5 ^a	9.82±0.8 ^a	12.70±0.6 ^b	15.80±0.8 ^b	17.60±1.6 ^a	12.80±2.2 ^a
Cu(L) ₂	8.03±0.5 ^b	8.09±0.6 ^b	7.09±0.3 ^b	6.08±0.2 ^b	5.19±0.7 ^b	4.72±0.7 ^b	11.20±1.8 ^b
Zn(L) ₂	10.19±0.8 ^b	8.51±0.5 ^b	9.02±0.3 ^a	11.30±1.1 ^a	13.86±0.1 ^a	18.61±1.2 ^a	14.33±1.2 ^a
p	**	**	**	***	**	**	**

** : p < 0.01; *** : p < 0.001;

p değerleri Kruskal Wallis varyans analizi sonucuna göre düzenlendi.

a, b : Gün içinde kontrol grubu ile diğer grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı çıkan farklılıkları belirtmektedir (p < 0.0166).



Şekil 4.5. Serum - A vitamini düzeylerindeki değişiklikler

4.1.6. Serum - E Vitamini Düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - E vitamin düzeyleri Tablo 4.6 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Serum - E vitamin düzeylerinde grup kıyaslamalarında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

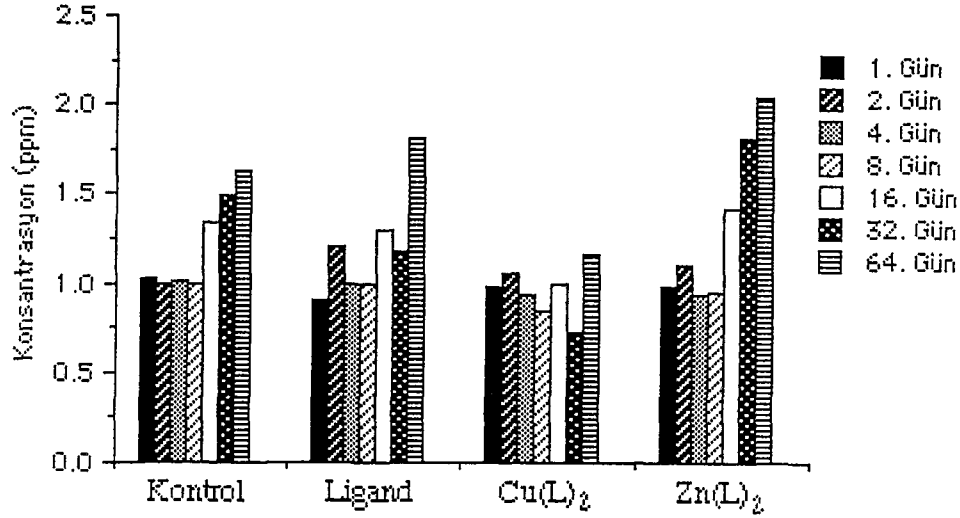
Tablo 4.6. Serum - E Vitamini (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Uygulama	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Grubu	(SDx10 ⁻²)	(SDx10 ⁻²)	(SDx10 ⁻²)	(SDx10 ⁻²)	(SDx10 ⁻²)	(SDx10 ⁻²)	(SDx10 ⁻²)
Kontrol	1.03±7.1	1.09±5.2	1.01±5.4	1.00±7.9 ^a	1.34±1.2 ^a	1.49±2.1 ^a	1.62±9.6 ^a
Ligand	0.91±9.7	1.10±6.5	0.99±7.4	0.99±7.5 ^a	1.30±5.9 ^a	1.37±10.6 ^a	1.81±23.4 ^a
Cu(L) ₂	0.98±4.7	1.05±6.9	0.93±4.9	0.85±3.3 ^b	0.99±10.7 ^b	0.72±1.2 ^b	1.16±1.4 ^b
Zn(L) ₂	0.98±4.4	1.10±13.6	0.93±4.1	0.95±8.6 ^a	1.42±4.9 ^b	1.81±12.7 ^b	2.03±12.3 ^b
p	-	-	-	**	**	***	***

** : p < 0.01; *** : p < 0.001; - : Önemli değil

p değerleri Kruskal Wallis varyans analizi sonucuna göre düzenlendi.

a, b : Gün içinde kontrol grubu ile diğer grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı çıkan farklılıkları belirtmektedir (p < 0.0166).



Şekil 4.6. Serum - E vitamini düzeylerindeki değişiklikler

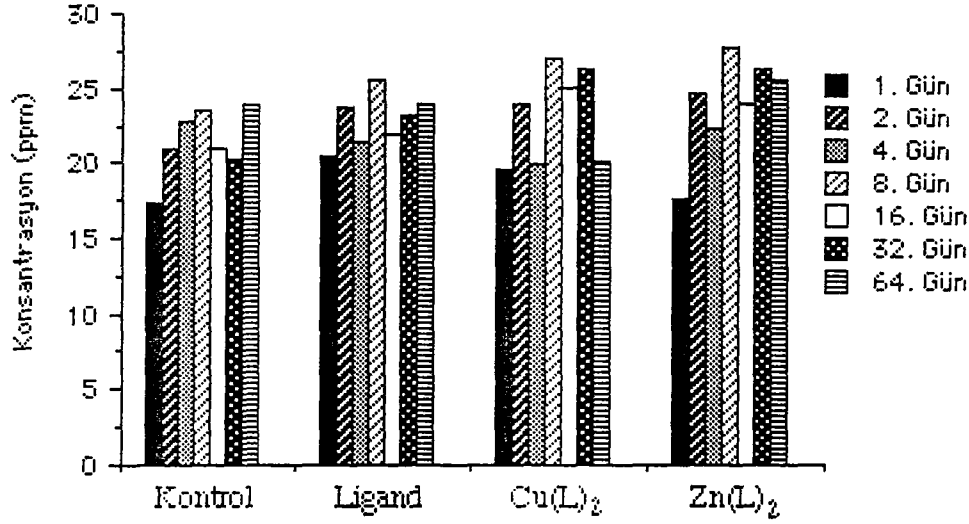
4.1.7. Serum - Valin Düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - valin düzeyleri Tablo 4.7. ve Şekil 4.7.'de verilmiştir. Serum - valin düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 4.7. Serum - Valin (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulama	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	17.37±0.9	20.90±1.2	22.77±3.1	23.43±2.6	20.95±2.1	20.26±3.7	23.84±3.9
Ligand	20.51±2.4	23.74±4.1	21.27±2.1	25.49±4.4	21.78±2.5	23.11±5.2	23.93±5.2
Cu(L) ₂	19.50±3.2	23.88±1.7	19.82±1.7	26.95±1.7	24.86±2.4	26.24±3.9	19.98±3.9
Zn(L) ₂	17.48±3.2	24.52±3.0	22.29±0.8	27.59±2.9	23.80±3.9	26.23±4.4	25.56±5.4
p	-	-	-	-	-	-	-

- : Önemli değil



Şekil 4.7. Serum - Valin düzeylerindeki değişiklikler

4.1.8. Serum - Metiyonin Düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - metiyonin düzeyleri Tablo 4.8 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Serum - metiyonin düzeylerinde gruplar arası karşılaştırmalarda anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

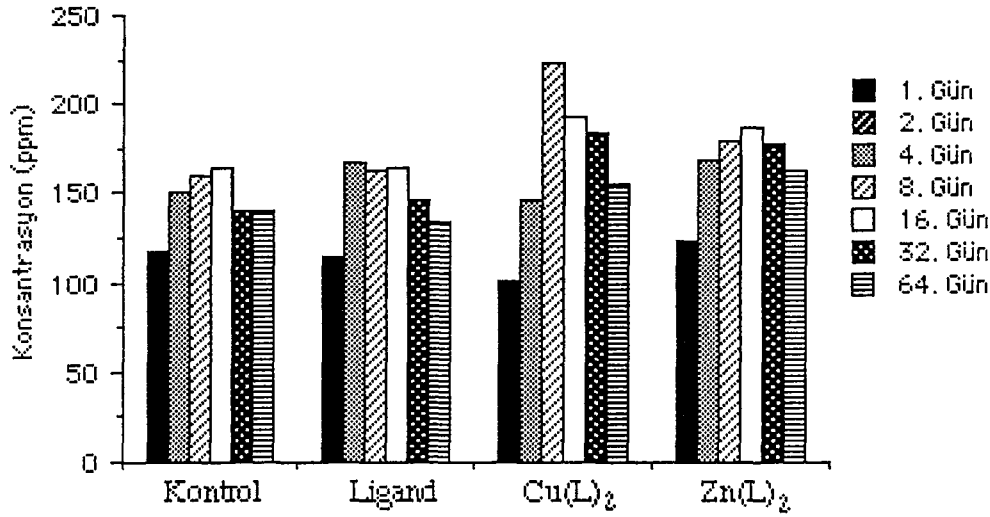
Tablo 4.8. Serum - Metiyonin (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulama	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	116.78±4.4	124.79±8.1	150.56±14.7	159.75±5.4 ^a	163.86±2.3 ^a	140.25±8.1 ^a	140.5±7.13 ^a
Ligand	114.73±6.5	115.61±15.2	166.83±22.7	162.85±7.3 ^a	164.33±6.7 ^a	145.8±15.9 ^a	133.9±7.4 ^a
Cu(L) ₂	100.2±16.9	124.71±5.3	146.57±16.6	222.64±18.7 ^b	192.96±9.0 ^b	183.27±20.6 ^b	154.7±22.1 ^a
Zn(L) ₂	122.86±14.2	115.93±15.4	168.71±21.6	179.78±21.2 ^a	186.96±6.1 ^b	177.51±16.6 ^b	163.1±8.5 ^b
p	-	-	-	*	**	**	**

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; - : Önemli değil

p değerleri Kruskal Wallis varyans analizi sonucuna göre düzenlendi.

a, b : Gün içinde kontrol grubu ile diğer grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı çıkan farklılıkları belirtmektedir (p < 0.0166).



Şekil 4.8. Serum - Metiyonin düzeylerindeki değişiklikler

4.1.9. Serum - Triptofan Düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - triptofan düzeyleri Tablo 4.9 ve Şekil 4.9'da verilmiştir. Serum - triptofan düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

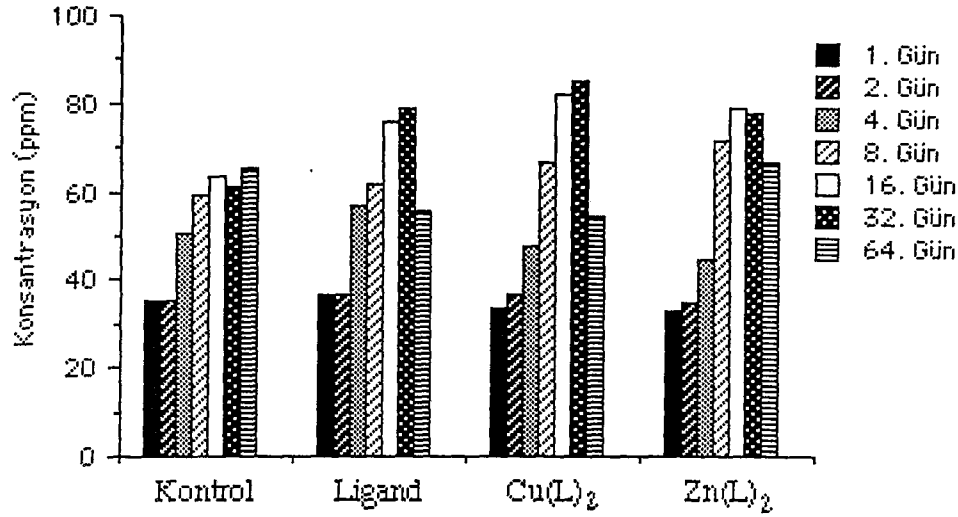
Tablo 4.9. Serum - Triptofan (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulama	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	35.46±0.6	35.47±2.9	50.57±2.6	59.06±3.6	63.31±4.2 ^a	61.21±6.2 ^a	65.03±8.5
Ligand	36.43±8.8	36.30±5.6	56.72±8.5	61.59±12.0	75.85±3.1 ^b	78.71±11.2 ^b	55.32±11.5
Cu(L) ₂	33.46±5.8	36.35±3.6	47.85±17.7	66.28±2.7	81.92±4.9 ^b	84.77±10.0 ^b	54.15±13.7
Zn(L) ₂	32.92±4.9	34.86±5.0	44.77±4.1	71.27±12.6	78.65±4.4 ^b	77.55±9.4 ^b	66.29±11.9
p	-	-	-	-	**	**	-

** : p < 0.01; - : Önemli değil

p değerleri Kruskal Wallis varyans analizi sonucuna göre düzenlendi.

a, b : Gün içinde kontrol grubu ile diğer grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı çıkan farklılıkları belirtmektedir (p < 0.0166).



Şekil 4.9. Serum - Triptofan düzeylerindeki değişiklikler

4.1.10. Serum - İzolösün Düzeyleri

Gruplara ait ortalama serum - izolösün düzeyleri Tablo 4.10 ve Şekil 10'de verilmiştir. Serum - izolösün düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

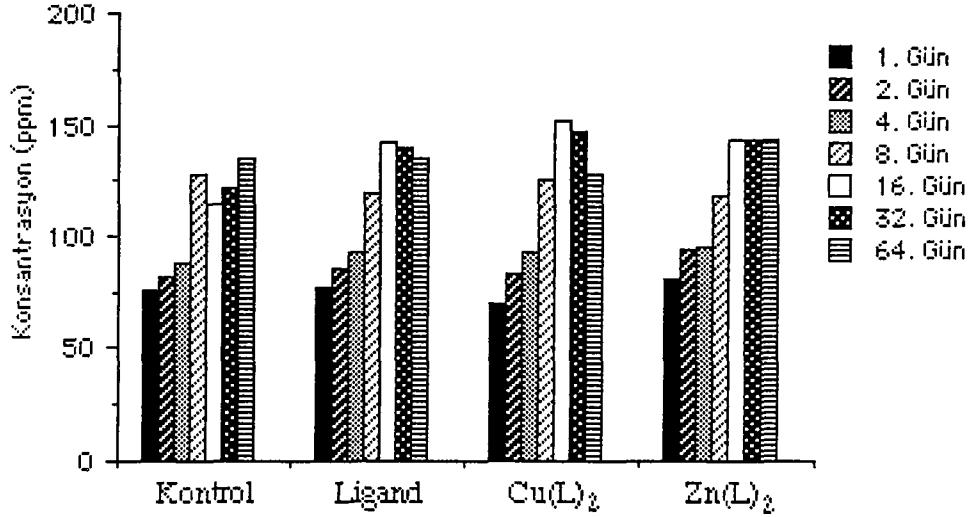
Tablo 4.10. Serum - İzolösün (mg/L) Düzeylerinin Günlere ve Gruplara Göre Ortalama Değerleri

Uygulam	1. Gün	2. Gün	4. Gün	8. Gün	16. Gün	32. Gün	64. Gün
a							
Grubu	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)	(n = 6)
Kontrol	76.47±3.4	81.64±6.4	87.58±8.9	128.10±6.8	114.34±6.7 ^a	121.20±6.3 ^a	134.51±7.6
Ligand	76.84±1.1	85.85±4.6	92.75±2.0	119.6±14.5	142.74±5.9 ^b	139.46±5.1 ^b	135.31±14.6
Cu(L) ₂	70.46±9.2	82.64±8.0	93.07±9.5	124.75±8.4	151.72±7.6 ^b	147.16±8.8 ^b	127.42±20.9
Zn(L) ₂	80.37±5.7	94.31±9.7	94.90±8.3	118.6±11.3	143.85±4.3 ^b	142.9±12.3 ^b	143.89±25.2
p	-	-	-	-	**	*	-

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; - : Önemli değil

p değerleri Kruskal Wallis varyans analizi sonucuna göre düzenlendi.

a, b : Gün içinde kontrol grubu ile diğer grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı çıkan farklılıkları belirtmektedir (p < 0.0166).



Şekil 4.10. Serum - İzolösin düzeylerindeki değişiklikler

4.2. Işık Mikroskopik Bulgular

4.2.1. Karaciğer

Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda hepatositler, vena sentralis ve sinüzoidler normal görünümündeydi (Resim 4.6.).

Ligand ve Zn(L)₂ verilen grupların karaciğer dokusu görünümü kontrolle aynı görünümdeydi. Fakat Cu(L)₂ verilen gruplarda sinüzoidlerin genişlediği ve vena sentralis duvarlarında kalınlaşma ve hücre yoğunlaşması gözlemlendi (Resim 4.7. - 4.10.).

4.2.2. Böbrek

Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun glomerul ve tübül yapılarının normal görünümüne oldukları gözlemlendi.

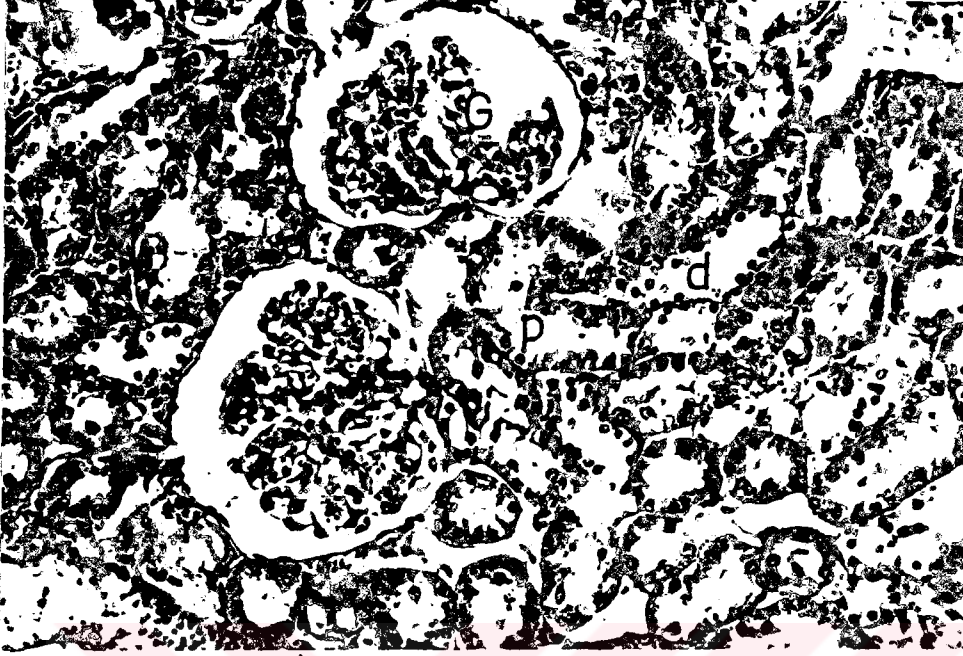
Ligand, Cu(L)₂ ve Zn(L)₂ verilen gruplarda da yapısal olarak bir değişiklik gözlemlenmedi. Sadece Zn(L)₂ verilen grupların proksimal tübüllerinde homojen görünümüne madde birikimi gözlemlendi (Resim 4.1. - 4.5.).

4.2.3. Adren

Kontrol grubunun adren dokularının korteks ve medullası normal görünümündeydi.

Ligand, Cu(L)₂ ve Zn(L)₂ verilen grupların görünümü kontrollerle karşılaştırıldığında bir değişiklik gözlemlenmedi (Resim 4.11. - 4.12.).

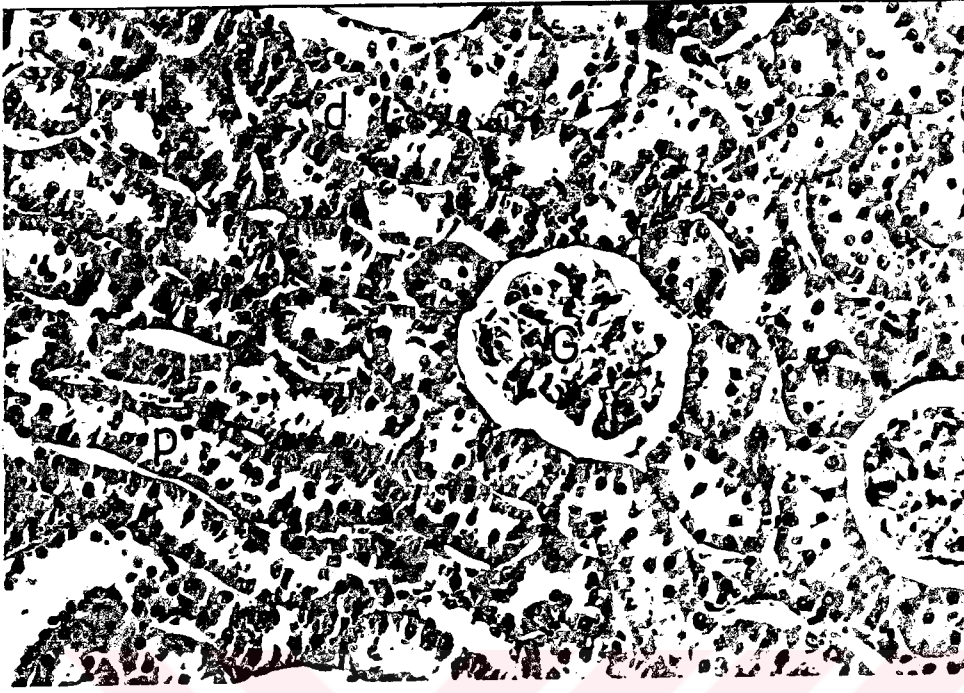
4.3. Seçilen Dokuların Işık Mikroskopik Görünümleri



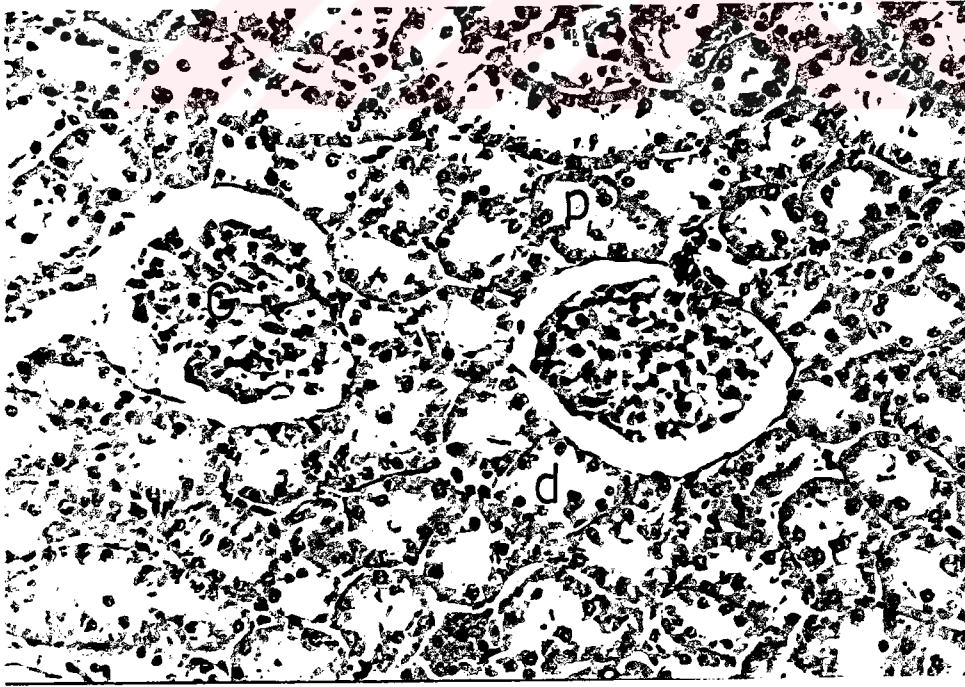
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d), H.E.x10



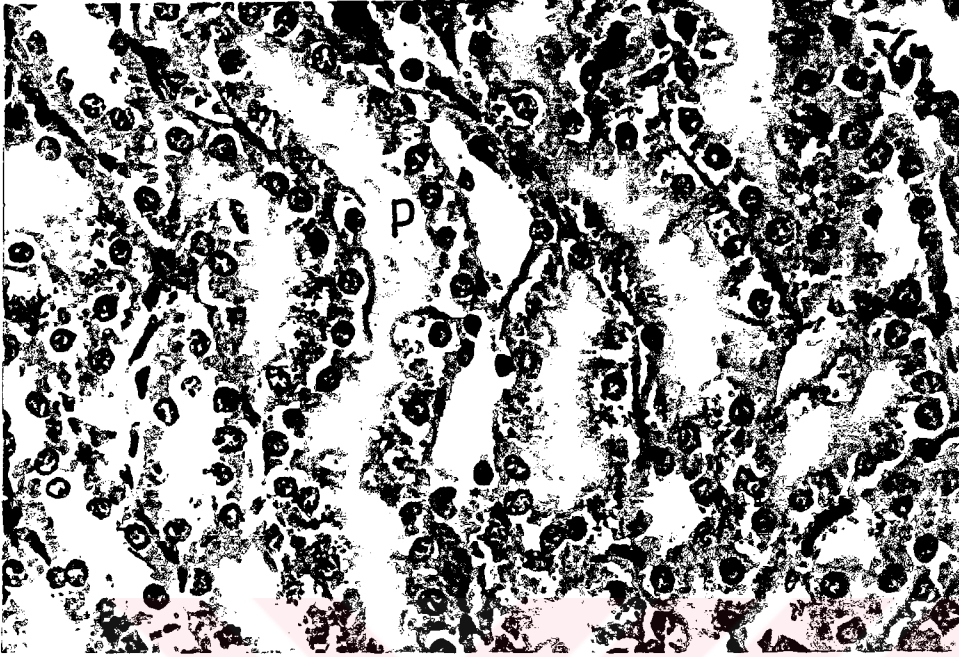
Resim 4.2. Ligand verilen gruba ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d), H.E.x10



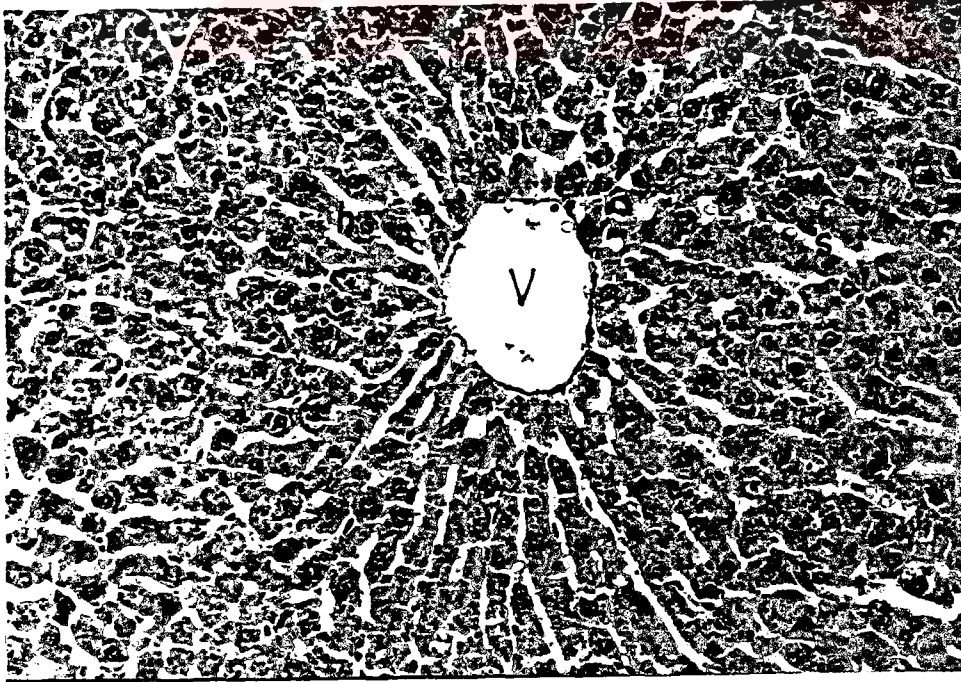
Resim 4.3. Cu(L)₂ verilen gruba ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d), H.E.x10



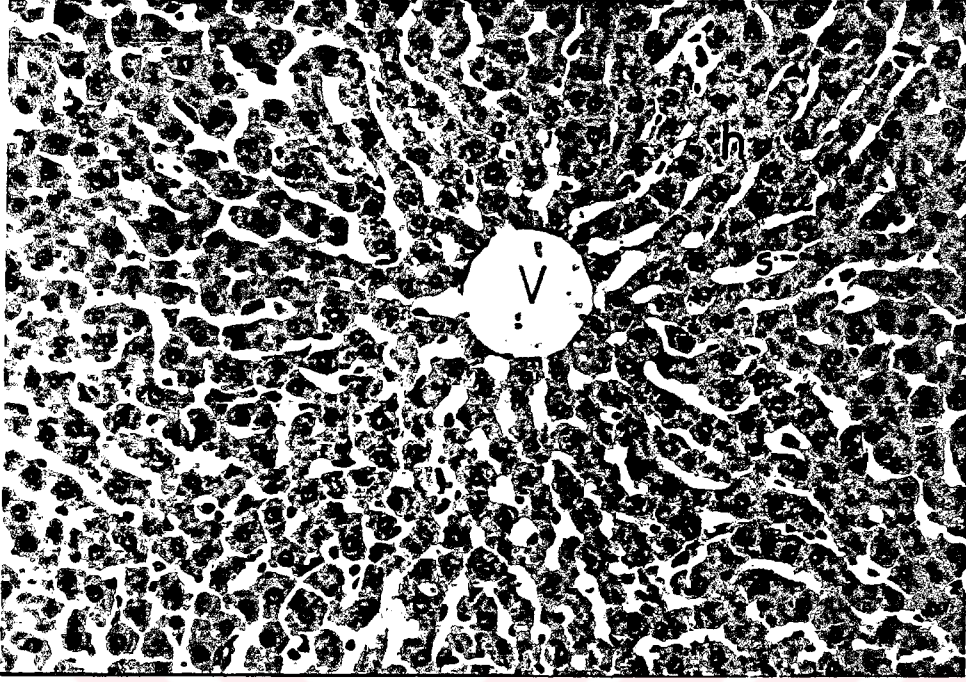
Resim 4.4. Zn(L)₂ verilen gruba ait rat böbrek korteksinin ışık mikroskopik görünümü. Glomerül (G), Proksimal Tubül (P), Distal Tubül (d), H.E.x10



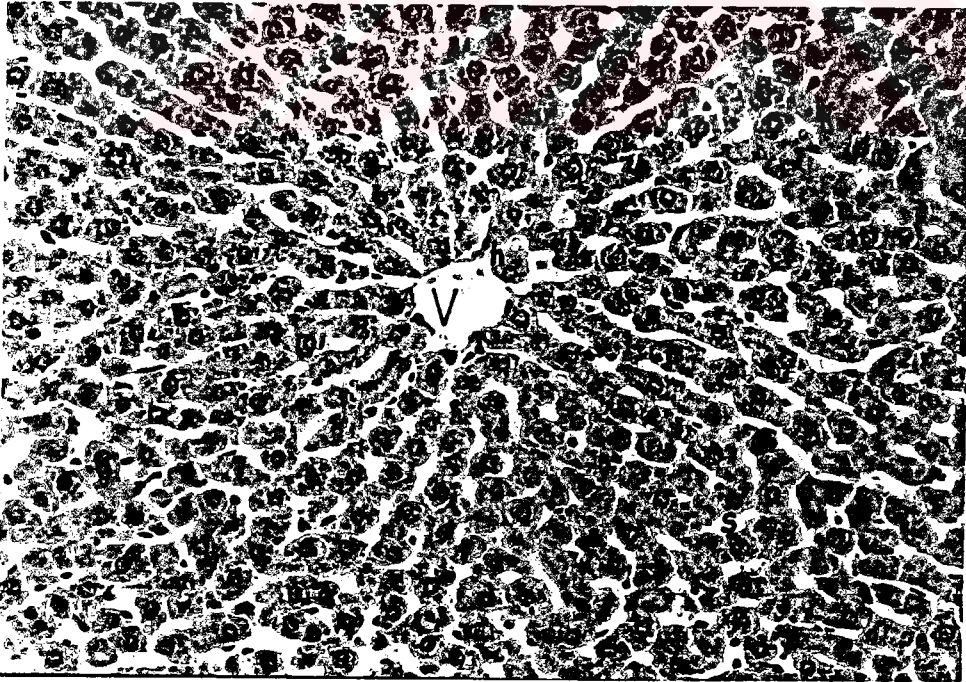
Resim 4.5. $Zn(L)_2$ verilen gruba ait rat böbrek dokusunun proksimal görüntümü. H.E.x20



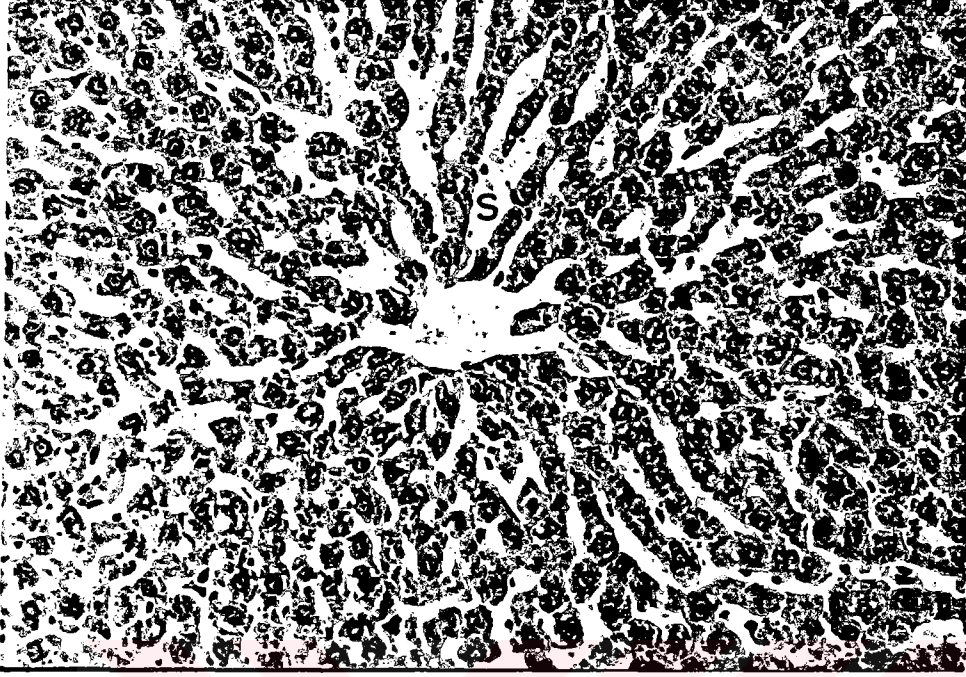
Resim 4.6. Kontrol grubuna ait rat karaciğer dokusunun görüntümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10



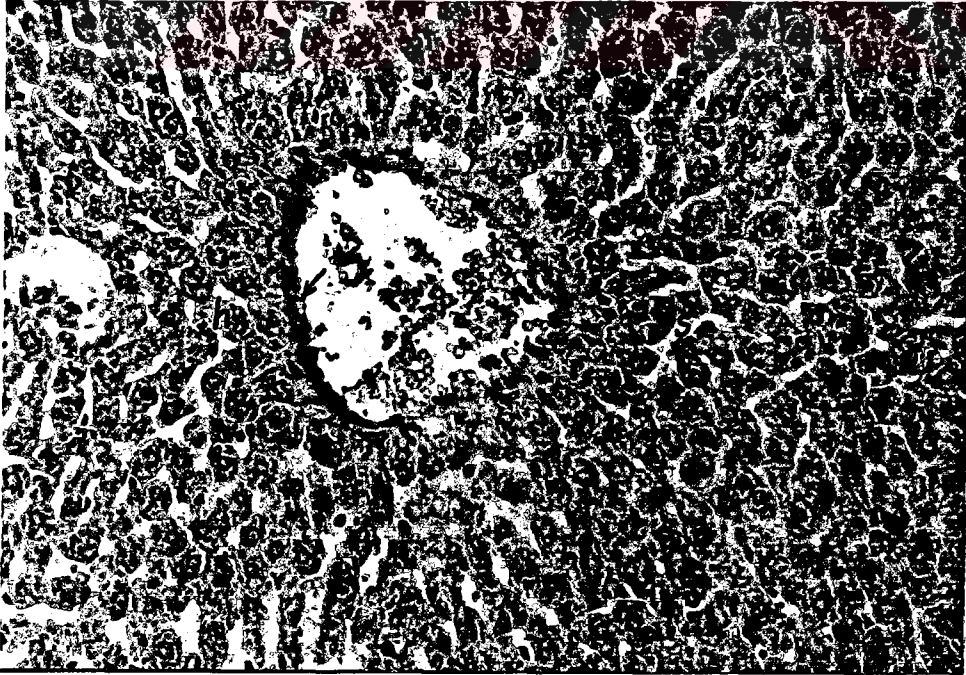
Resim 4.7. Ligand verilen gruba ait rat karaciğer dokusunun görünümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10



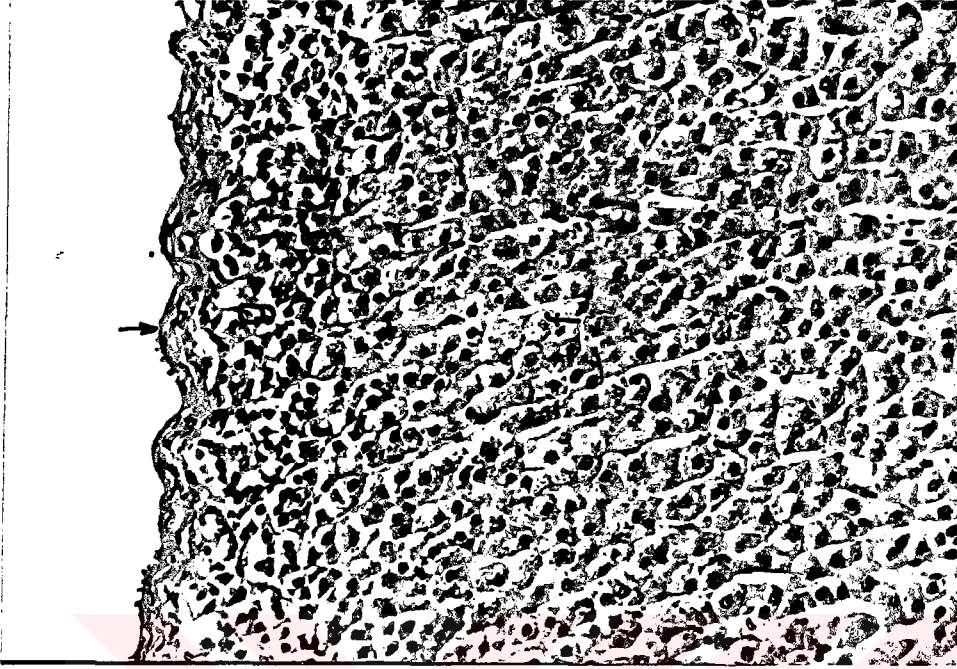
Resim 4.8. $Zn(L)_2$ verilen gruba ait rat karaciğer dokusunun görünümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10



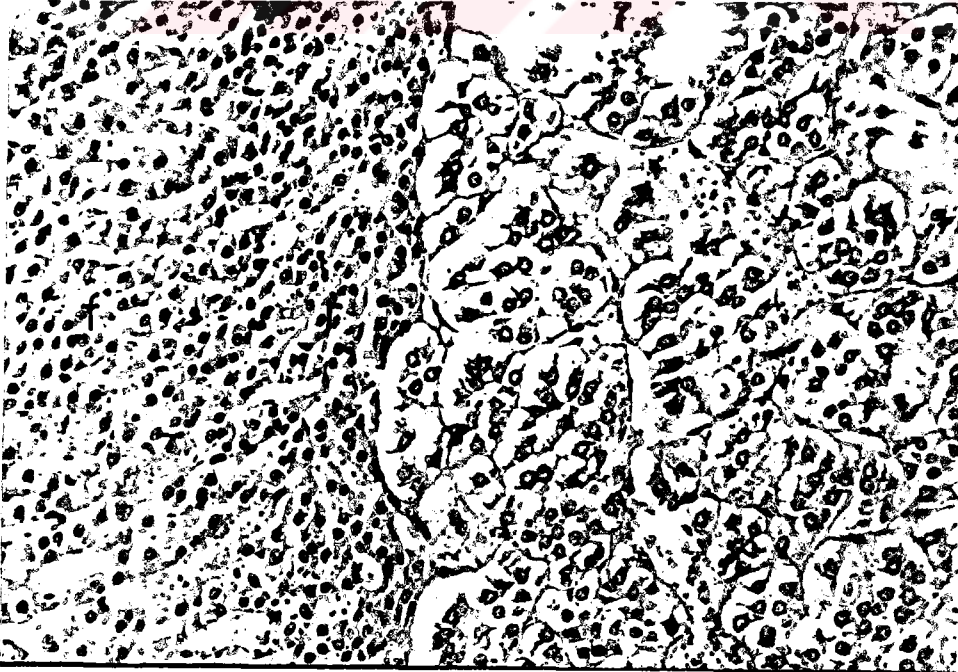
Resim 4.9. Cu(L)_2 verilen gruba ait rat karaciğer dokusunun görünümü. Vena sentralis (V), Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10



Resim 4.10. Cu(L)_2 verilen gruba ait rat karaciğer dokusunda Vena sentralis duvarının (ok) kalınlaştığı gözlenmekte. Hepatosit (h), Sinuzoid (S), H.E.x10



Resim 4.11. Kontrol grubuna ait rat adren bezi korteks yapısının ışık mikroskopik görünümü. Kapsül (ok), Z. glomeruloza (g), Z. fasikülata (f), H.E.x10



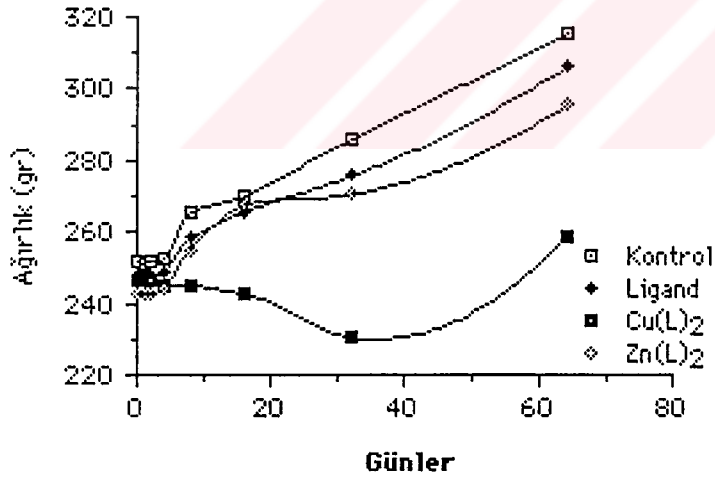
Resim 4.12. Kontrol grubuna ait rat adren bez yapısının korteks ve medullasının (M) ışık mikroskopik görünümü. Z. fasikülata (f), Z. retikularis (r), H.E.x10

4.4. Uygulama Süresindeki Ağırlık Değişimleri

Tablo 4.11. ve Şekil 4.11.'de görüldüğü gibi uygulama süresinde deney gruplarında ağırlık değişimleri gözlemlendi. Ligand ve $Zn(L)_2$ gruplarındaki değişim kontrol grubu ile paralel seyrederken, $Cu(L)_2$ grubunda 16. ve 32. günlerde ağırlıkların en düşük seviyeye indiği görüldü. 32. günden sonra $Cu(L)_2$ grubunun ağırlığında artış olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.11. Uygulama Süresince Gruplardaki Ağırlık Değişimlerinin Ortalamaları (gr)

Uygulama Grubu	GÜNLER							
	Başlangıç	1	2	4	8	16	32	64
Kontrol	251.5	251.4	251.6	252.3	265.6	270.1	285.7	315.1
Ligand	248.4	248.3	248.1	248.7	256.6	265.6	275.7	306.1
$Cu(L)_2$	246.7	246.6	246.3	245.1	244.9	242.7	230.5	258.7
$Zn(L)_2$	242.6	242.7	242.6	244.1	255.2	267.6	270.5	295.6



Şekil 4.11. Uygulama süresince gruplardaki ağırlık değişimleri

5. TARTIŞMA

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücresel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücresel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması ile bu moleküllerin kanser, şeker, kalp hastalıkları gibi birçok hastalıkla ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır (Sudha ve diğ., 2001).

Biyolojik sistemlerde hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de yabancı maddelerin etkisiyle meydana gelen serbest radikaller hücre membranlarına zarar verirler ve değişik hastalıklarla etkilerini gösterirler. Organizmada bu bileşiklerin zararlı etkilerine karşı küçük molekül ağırlıklı radikal tutucuları ve enzimlerden oluşan savunma sistemleri bulunmaktadır. Serbest radikallerin reaktif yapıları ve çok kısa ömürlü olmaları doğrudan tayinlerini güçleştirmektedir. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının ürünleri ve savunma sistemlerinin incelenmesi pek çok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir (Matez ve diğ., 1999).

Bu araştırmada ratlara deri altı uygulaması ile verilen TSC türevi ve metal komplekslerinin bazı antioksidan ve oksidan parametreler ile amino asit düzeylerine olan etkilerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip oldukları görülmüştür.

Kontrol Grubu ile Ligand Grubunun Karşılaştırılması

Yapılan çalışmada kontrol grubu ile ligand grubu kıyaslamalarında eritrosit GSH-Px aktiviteleri (Tablo ve Şekil 4.1), serum selenyum (Tablo ve Şekil 4.2), MDA (Tablo ve Şekil 4.3), C vitamini (Tablo ve Şekil 4.4), E vitamini (Tablo ve Şekil 4.6) ile valin (Tablo ve Şekil 4.7) ve metiyonin (Tablo ve Şekil 4.8) amino asitleri düzeylerinde istatistiksel bir farklılık gözlenmedi. Serum A vitamini (Tablo ve Şekil 4.5) ile triptofan (Tablo ve Şekil 4.9) ve izolösın (Tablo ve Şekil 4.10) amino asitleri düzeylerinde istatistiksel açıdan önemli bir farklılık gözlemlendi ($p < 0.0166$).

Eritrosit GSH-Px aktivitesi, serum - selenyum, C vitamini, MDA, E vitamini, valin ve metiyonin düzeylerinde farklılık görülmemesi ligandın bu parametreler ve metabolizmaları üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığını göstergesi olabilir.

Ligand grubunda A vitamini miktarları 8. ve 16. günde en yüksek değerlere ulaşmıştır. Diğer günlerde ise istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı değildir. 8. ve 16. günlerde A vitamini düzeyindeki bu artış ligandın zayıf bir antioksidan etki sergilemesine bağlanabilir.

Tablo ve Şekil 4.9'a bakıldığında 16. ve 32. günlerde ligand triptofan düzeylerinin kontrolden yüksek çıktığı görülmektedir ($p < 0.0166$). Bu sonuç ligandın triptofan metabolizması üzerinde etkili olduğunun göstergesi olabilir.

Yine Tablo ve Şekil 4.10'da 16. ve 32. günlerde izolösın düzeylerinin kontrole göre farklılığı görülmektedir ($P < 0.0166$).

Ligandın amino asit metabolizmasına olan etkisine bakıldığında valin ve metiyonin düzeylerini değiştirmediği, triptofan ve izolösin düzeylerinde bir artışa sebep olduğu görölmektedir.

Kontrol Grubu ile Zn(L)₂ Grubunun Karşılaştırılması

Zn(II). vücuttaki farklı organların fonksiyonları ve düzenli gelişimi için gerekli olan bir eser elementtir. Çinko eksikliği negatif azot dengesi, psikiyatrik semptomlar. organizmanın savunma sisteminde zayıflama, yara iyileşmesinde gecikme ve gelişim bozukluğu ile görülebilir. Deney hayvanlarında, çinko eksikliğinin lenf dokusunda önemli etkilere sebep olduğu belirtilmiştir. Yapılan araştırmalar, çinkonun lenfosit hücrelerinin çoğalmasında ve hücre ürünlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Al-Bader ve diğ., 2000).

Kontrol ile Zn(L)₂ grubu kıyaslamalarında, eritrosit GSH-Px enzim aktivitesinin (Tablo ve Şekil 4.1), serum selenyum (Tablo ve Şekil 4.2), MDA(Tablo ve Şekil 4.3), C vitamini (Tablo ve Şekil 4.4), A vitamini (Tablo ve Şekil 4.5), valin (Tablo ve Şekil 4.7) düzeylerinin istatistiksel olarak değişmediği gözlemlendi. Serum - E vitamini (Tablo ve Şekil 4.6), metiyonin (Tablo ve Şekil 4.8), triptofan (Tablo ve Şekil 4.9) ve izolösin (Tablo ve Şekil 4.10) düzeylerinin ise arttığı gözlemlendi(p<0.0166).

Tablo 4.3.'de görüldüğü gibi Zn(L)₂ grubunun MDA düzeylerinde 8. gün değerleri hariç anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen 64. güne kadar düzenli bir azalma olduğu görölmektedir ve kontrol grubuyla yakın değerlere sahiptir.

Hrnciarava ve diğ. (1998) diabetik ratlara tiyosemikarbazon türevleri vererek lipit peroksidasyonunun derecesini araştırmışlar ve MDA düzeyinin azaldığını gözlemişlerdir.

Yine 2-aril-3-[4-(süstitüe fenil)-3-tiyosemikarbazon] indol türevlerinin hipoosmotik hemolize karşı insan eritrosit hücre membranını koruma yeteneği ve rat homojenize karaciğerinde lipit peroksidasyonunu önlediği belirtilmiştir (Kaur ve Ali, 1982). Zn(L)₂ grubuna ait MDA verileri bu çalışmalarla uyumludur.

Tablo ve Şekil 4.5.'de yine Zn(L)₂ grubu A vitamini düzeyleri 1. ve 2. günde kontrole göre bir artışa (p<0.0166) sebep olmuş iken diğer günlerde tekrar normal değerlere ulaştığı gözlenmiştir.

Tablo ve Şekil 4.6'da görüleceği üzere E vitamini düzeylerinin 16., 32. ve 64. günlerde tüm gruplar içinde en yüksek değerlere ulaştığı görölmektedir (P < 0.0166).

A ve C vitamini, MDA, Se miktarları ve GSH-Px enzim aktivitesinin kontrol ile aynı olması, E vitamini miktarının da artması Zn(L)₂ kompleksinin antioksidan özellik göstermiş olabileceği sorusunu akla getirmektedir. Belirtildiği gibi kontrole göre MDA düzeyinde düzenli bir azalma ile E vitamini düzeyindeki artış bunun göstergesi olabilir.

Serbest radikal oluşumundaki artış MDA düzeyi ve GSH-Px enzim aktivitesinde artmaya, E vitamini düzeyinde ise azalmaya neden olur (Bott ve Green, 1991; Novelli ve diğ., 1997; Diplock, 1991).

Jeon ve diğ. (2002) antioksidan özellik gösteren maddeleri (naringin ve probukol) diyet ile tavşanlara verdiklerinde bu maddelerin plazma MDA ve A vitamini düzeyini etkilemediğini, E vitamini düzeyini ise, kullanımını azaltarak yükselttiğini gözlemişlerdir. Bu sonuçlar bulgularımızla uyumludur.

Serum metiyonin, triptofan ve izolösin amin oasit düzeylerinin $Zn(L)_2$ grubunda kontrole göre artış göstermesi ($p < 0.0166$), $Zn(L)_2$ kompleksinin bu amino asitlerin metabolizmasında etkili olduğunun bir göstergesi olabilir.

Kontrol Grubu İle $Cu(L)_2$ Grubu Karşılaştırmaları

$Cu(II)$, farklı organların fonksiyonları ve normal gelişimi için esansiyeldir. Hipokupremiya (düşük bakır miktarı), erken doğanlarda düşük doğum ağırlığına sebep olmaktadır. Ayrıca bakır, lizil oksidaz, sitokrom oksidaz ve $Zn-Cu$ süperoksit dismutaz gibi birçok enzimin fonksiyonu için gereklidir (Al-Bader ve diğ., 2000). Bakır, potansiyel bir hepatotoksin olarak bilinmektedir. Karaciğer hasarı oluşturması hücre membranı yağ asitlerinin dahil edilebileceği lipid peroksidasyonuna bir delil olabilir. $Cu(II)$, diğer mekanizmalar ile birlikte, hemoglobin (Hb) ile etkileşim ve Haber-Weiss reaksiyonunda ferrik demirin süstitüsüyonu ile lipid peroksidasyonunu başlatmaya sebep olan reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalizleyebilir (Sokol ve diğ., 1989).

Kontrol ile $Cu(L)_2$ grubu karşılaştırmalarında, serum-selenyum (Tablo ve Şekil 4.2), C vitamini (Tablo ve Şekil 4.4), valin (Tablo ve Şekil 4.7) düzeylerinin istatistiksel olarak değişmediği gözlemlendi.

Eritrosit GSH-Px aktivitesi (Tablo ve Şekil 4.1), serum MDA (Tablo ve Şekil 4.3), metiyonin (Tablo ve Şekil 4.8), triptofan (Tablo ve Şekil 4.9) ve izolösin (Tablo ve Şekil 4.10) amino asit düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.0166$). Serum A vitamini (Tablo ve Şekil 4.5), E vitamini (Tablo ve Şekil 4.6) düzeylerinde ise azalma gözlemlendi ($p < 0.0166$).

Kontrol grubuna göre, $Cu(L)_2$ grubunda eritrosit GSH-Px aktivitesinde 8., 16., 32., 64. günlerde istatistiksel anlamda bir artma gözlemlendi ($p < 0.0166$).

^{62}Cu işaretli $Cu(II)$ pürivaldehit bis(N4-metil tiyosemikarbazon) [$Cu(PTSM)$] bileşiğinin, ratlarda, intrasellüler sülfidril gruplarına (GSH) olan etkisi incelendiğinde, bu bileşiğin kontrol grubuna göre büyük farklılıklarda GSH azalması oluşturduğu görülmüştür (Bott ve Green, 1991). Bulgularımız bu araştırma ile uyumludur.

Serum MDA düzeyleri de Tablo ve Şekil 4.3.'de görüldüğü gibi, $Cu(L)_2$ grubunda kontrol değerlerine göre 8., 16. ve 32. günlerde yüksek çıkmıştır ($P < 0.0166$).

Novelli ve diğ. (1997) antimalariyal özellik gösteren azometin H'nin yan etkilerini incelemiş ve bu maddenin kullanımı sürecinde reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ratlarda MDA düzeyleri ve alanin transaminaz (ALT) ile amilaz enzimlerinin serum aktivitelerinin artışı ile göstermişlerdir. $Cu(L)_2$ bileşiğinin benzer bir etkiye sahip olduğu ve sonuçlarımızın bu çalışma ile uyduğu görülmektedir.

A vitamini (Tablo ve Şekil 4.5.) miktarları ise 1. günden itibaren azalmıştır ($p < 0.0166$).

Brandt ve diğ. (1997) sürekli stres altındaki ratların plazma vitamin A düzeylerini ölçmüşler ve on günlük süreç içerisinde vitamin A düzeylerinin $p < 0.001$ düzeyinde azaldığını gözlemişlerdir.

Karataş ve diğ. (2002) balıklarla yaptıkları bir çalışmada Cu(II) tuzu, bir tiyazol türevi ve bu bileşiğin Cu(II) kompleksinin serbest radikal ürettiğini, antioksidan özellik gösteren A, E, C vitaminlerinin doku konsantrasyonlarındaki önemli bir azalma ile gözlemişlerdir. Bulgularımız bu literatürler ile uyumludur.

Serum - E vitamini düzeyleri Tablo ve Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi kontrol grubuna göre 8. günden itibaren azalmaya başlamıştır ($p < 0.0166$).

Novelli ve diğ. (1995) sıtmayı önleyici ilaçlarda Schiff bazlarının bazı metal komplekslerinin aktif oksijen ürettiğini Byrnes ve diğ. (1990) ise tiyosemikarbazon-Cu kompleksinin oksidatif strese sebep olduğu savını ileri sürmüşlerdir. Güçlü bir antioksidan olan E vitaminin serum düzeylerindeki azalma Cu(L)₂ kompleksinin oksidatif stres oluşturduğunun bir delili sayılabilir.

Cu(L)₂ grubundaki metiyonin 8. günden, triptofan ve izolösin amino asitleri ise 16. günden itibaren kontrol grubuna göre artış göstermiştir ($p < 0.0166$). Amino asit düzeylerindeki bu artış Cu(L)₂ kompleksinin ligand ve Zn(L)₂ kompleksinde olduğu gibi bu amino asitlerin metabolizmasını etkilemiş olmasıyla açıklanabilir.

Cu(L)₂ kompleksinin serum metiyonin, triptofan ve izolösin düzeylerini en yüksek değerlere çıkardığı dönemin Şekil 4.11.'de görüldüğü gibi ağırlıklarının minimum olduğu döneme rastlaması dikkat çekmektedir.

Antioksidan parametreler açısından bakıldığında Cu(L)₂ grubunda en yüksek GSH-Px enzim aktivitesi ve serum MDA düzeyi ile en düşük vitamin A ve E değerleri ile Tablo ve Şekil 4.11.'deki ağırlık değişimleri kıyaslandığında ağırlıkların minimum olduğu 16. ve 32. günlerde çalışılan antioksidan parametrelerin en fazla etkilendiği görülmektedir.

Bu veriler ışığında Cu(L)₂ kompleksinin ratlarda oksidatif stres oluşturarak serbest radikal oluşumunu artırdığı ileri sürülebilir.

Serum selenyum, C vitamini ve valin amino asidi düzeylerinde ligand grubunda olduğu gibi kontrole göre bir farklılık oluşmamıştır. Bu durum Zn(L)₂ grubu için de geçerlidir. Bilindiği gibi selenyum GSH-Px enziminin kofaktörüdür. GSH-Px aktivitesindeki artışa paralel olarak selenyumun artması beklenen bir durumdur. Bulgularımız ise literatür bilgileri ile çelişkilidir. Bu durum serum selenyum düzeyinin değişken olmasına bağlanabilir. Saç selenyum değerleri ise daha uzun sürede etkilenmektedir.

C vitamini düzeylerinin değişmemesi hayvanların iyi ve düzenli beslendiğinin bir göstergesi olabilir. Valin düzeylerinde bir farklılık oluşmaması ise bu maddelerin valin metabolizması üzerine bir etkilerinin olmadığı kanısına varmamızı sağlayabilir.

Işık Mikroskopik Sonuçların Yorumlanması

Tiyosemikarbazon türevlerinin doku hasarı oluşturup oluşturmadığı konusunda fazla literatüre rastlanılmamıştır.

Bir tiyosemikarbazon türevi olan ambazon'un (1,4-benzokinon-guanilhidrazon-tiyosemikarbazon) ^{14}C işaretli olarak farmakokinetik çalışmaları yapılmış, bu çalışmada 0.08, 1, 5 ve 24 saat süreyle ambazon miktarı çeşitli dokularda ölçülmüştür. Uygulamalar damar içi ve oral olarak yapılmıştır. Ölçümler, ambazonun tam olarak absorplanmadığını, hızlı bir şekilde farklı dokulara dağıldığını ve tercihli olarak böbreklerde elimine edildiğini göstermiştir. Ambazonun absorpsiyonu % 45'i geçmemektedir. Ambazonun absorpsiyonu, fizikokimyasal özelliklerine bakılarak açıklanabilir. Bileşik suda çok az çözünmekte, yağda sudakinin 4 katı daha fazla çözünmektedir. Fizikokimyasal özelliklerinden dolayı hücre membranına güçlü bir şekilde bağlanımı ve ekstrasellüler bölgedeki dağılımı muhtemeldir (Kühnel ve diğ., 1988).

En yüksek konsantrasyonlar, en iyi kan sağlanan dokular olan akciğer, karaciğer ve böbreklerde tespit edilmiştir. Dalak ve timustaki yüksek ve uzun süreli aktivitesi bileşiğin immünomodülatör etkisiyle açıklanmıştır (Gutsche ve diğ., 1984). Oral muameleden sonra daha yüksek karaciğer değerleri, daha yüksek biyotransformasyonla açıklanmıştır. Bu antineoplastik bileşiğin yüksek etkinliği, gastrointestinal bölgedeki yeterli absorpsiyonu, sudaki düşük çözünürlüğü, klinik kullanımlar için tercihli olarak gözönüne alınabileceğini önermektedir (Kühnel ve diğ., 1988). Bu çalışmalar dikkate alınarak deneklerin karaciğer, böbrek ve adren dokularının incelenmesi uygun görüldü.

Hem Cu birikim hastalıklarında (Wilson's hastalığı gibi) hem de deneysel olarak aşırı dozda Cu uygulaması durumunda Cu, karaciğer, beyin ve böbreklerde aşırı miktarda birikir. Bu durumda karaciğerde hepatitis, fibrosis ve siroz oluşur (Sternlieb, 1980).

Myers ve diğ. (1993) % 0.125 oranında bakır asetat solusyonu ile 6 hafta süresince maruz kalan ratların karaciğer dokularında ışık mikroskopik olarak histolojik bir değişiklik gözlenmezken, elektron mikroskopunda lizozomların genişlediğini, şekillerinin düzensizleştiğini ve dejenere olduklarını gözlemişlerdir.

Sokol ve diğ. (1989) yaptıkları çalışmalarda CuCl_2 'e maruz kalan ratların hepatositlerinde mikrovillusların mevcut olmadığını ve az miktarda endoplazmik retikulum dışında hücre organeli içermediklerini elektron mikroskobu ile gözlemişlerdir. CuCl_2 ile birlikte bir antioksidan olan E vitamini verilen gruplarda hepatositlerin kontrollere yakın bir görünüme sahip olduklarını kaydetmişlerdir.

Toyokuni ve diğ. (1989) ratlara bakır nitrilotriasetat uygulaması sonucu karaciğerde mitoz yaygın fibrozis, mikronodüler siroz, nekroz ve yağ dejenerasyonu, safra kanallarında proliferasyon, böbrekte proksimal tübüllerde atipik hücrelerin mevcut olduğunu ışık mikroskobu ile gözlemlemişlerdir. Elektron mikroskobunda hem lizozomların hem de hepatositlerin yağ damlacıklarında artış olduğunu kaydetmişlerdir.

Fuentealba ve diğ. (1989) deneysel olarak ratlara verilen bakırın böbrekte proksimal tübüllerde biriktiğini, tübül hücrelerinin nekroze olduklarını, hem lizozomların hem de çekirdeğin zarar gördüğünü elektron mikroskobu ile tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda $Zn(L)_2$ verilen grubun böbrek proksimal tübüllerinde homojen görünümlü madde birikimi gözlemlendi (Resim 4.5.).

Karaciğerde L ve $Zn(L)_2$ gruplarında kontrole göre bir farklılaşma görülmedi (Resim 4.6. - 4.9.). $Cu(L)_2$ verilen gruplarda ise sinüzoidlerin genişlediği ve vena sentralis duvarlarında kalınlaşma ve hücre yoğunlaşması gözlemlendi (Resim 4.10.).

Adren dokuda ise L, $Cu(L)_2$ ve $Zn(L)_2$ gruplarının görünümleri kontrole kıyaslandığında bir fark görülmedi (Resim 4.11. - 4.12.).

Bu ışık mikroskobik bulguları değerlendirildiğinde TSC ve metal komplekslerinin uygulanan dozda ratların incelenen dokularında herhangi önemli bir hasara sebep olmadığı ve yapılarını değiştirmedikleri söylenebilir.

Sonuç

Ölçülen biyokimyasal değerlere bakıldığında deneylerde kullanılan tiyosemikarbazon türevli Schiff bazının ve bunun Zn ve Cu komplekslerinin farklı davranışlarda bulunduğu görülmektedir.

Cu özellikle eritrositlerde oksidatif stres oluşturarak serbet radikal oluşumunu artırmaktadır. $Cu(L)_2$ kompleksinde de $Cu(II)$ 'nin indirgenme-yükseltgenme potansiyelinin kompleksin indirgenme-yükseltgenme potansiyelini etkileyerek serbest radikal üretimini tetiklediği daha muhtemel görülmektedir. $Zn(L)_2$ 'de de aynı şekilde metalin vücut için gerekliliği ve düzenleyici etkisinin kompleksin davranışını etkilediği açıktır. Ligand grubuna ait ölçülen parametrelerin (A vitamini hariç) kontrol değerlerine yakın çıkması ligandın metabolizmada herhangi bir stres oluşturmadığının bir göstergesi olabilir.

$Cu(L)_2$ ve $Zn(L)_2$ grupları karşılaştırıldığında, $Cu(L)_2$ 'nin eritrosit GSH-Px aktivitesini artırdığı, serum MDA düzeylerini yükselttiği, antioksidan vitaminlerden A, E düzeylerini azalttığı gözlenmiştir. Bunun aksine $Zn(L)_2$ 'nin ise antioksidan gibi davranarak eritrosit GSH-Px aktivitesini etkilemediği, serum MDA ve A vitamini düzeylerini kontrol seviyesinde tuttuğu, metabolizmada E vitamini kullanımını azaltarak bu vitaminin serum miktarının artmasına sebep olduğu önerilebilir.

$Cu(L)_2$ ve $Zn(L)_2$ bileşiklerinin kontrol grubuna göre metiyonin, triptofan ve izolösin esansiyel amino asitlerinin serumdaki konsantrasyonlarını artırdıkları

gözlenmiştir. Ligand, Cu(L)_2 ve Zn(L)_2 komplekslerinin belirlenen antioksidan parametreleri farklı etkiledikleri, amino asit düzeylerinde ise yükselmeye sebep oldukları söylenebilir.

Valin hariç diğer üç amino asidin serum düzeylerinin önce anlamlı olarak artışı ve uygulama süresinin sonunda kontrol düzeylerine inmesi bu bileşiklerin amino asit metabolizmasındaki. metiyoninin; S - adenoilmetiyonine dönüşümünü, triptofanın: niasin. serotonin ve N-formilkinüre'ye dönüşümünü, izolösinin: α -keto- β -metil valerat'a dönüşümünü (Emerk, 1997) kısmen inhibe etmesiyle ya da bu tür bileşiklerin DNA ve RNA sentezini engelleyici etkileri (Rohde ve diğ., 1979) ile protein sentezinin yavaşlaması sonucu daha az amino asit harcanmasına bağlanabilir.

Cu(L)_2 , Zn(L)_2 ve L gruplarında MDA düzeylerinde ilk günlük değerlerinin diğer günlere oranla yüksek olduğu ve bunun sebebinin enjeksiyondan kaynaklanan geçici stres olabileceği düşünülebilir (Tablo 4.3). Çünkü dışarıdan alınan kimyasallara metabolizma uyum sağlayıncaya kadar stres oluşumunda bir artış muhtemeldir. Enjeksiyondan sonraki birinci ve ikinci günlerde kan alınması tablolardaki bazı parametrelerin günlere bağlı olarak değişiklik göstermesine neden olabilir.

Tablolar incelendiğinde uygulama süresince, Cu(L)_2 grubundaki MDA düzeyi ile A ve E vitaminleri hariç. grupların tümünde incelenen parametrelerde düzenli bir artış görülmektedir. Bu artış metabolizmanın uygulanan kimyasallara karşı zamanla adaptasyonu şeklinde yorumlanabilir.

Cu(L)_2 'nin bir oksidan olarak davrandığı fakat aynı zamanda da amino asit düzeylerini etkilediği, L ve Zn(L)_2 'nin ise oksidan özelliğinin olmadığı, belki de bir antioksidan tavır sergilediği söylenebilir. L ve Zn(L)_2 'nin bu tür davranışının yanı sıra. yine amino asit düzeylerini etkilediği görülmektedir.

Tiyosemikarbazon-Schiff bazı türevi olan bileşiğimizin ve metal komplekslerinin herhangi bir doku hasarı oluşturmadığı, özellikle Zn(II) kompleksinin antioksidan gibi davrandığı ve serbest radikal oluşumunu kısmen önlediği ileri sürülebilir.

TSC türevlerinin araştırılan birçok farmakolojik özelliklerine ilave olarak araştırdığımız bu parametrelerinde literatür bilgisine katkıda bulunacağı kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

- Açan, N.L., Tezcan E.F., 1992, "Glutasyon Redüktaz", *Biyokimya Dergisi*, 17 (2), 67-83.
- Akkuş, İ., 1995, **Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri**, Mimoza Yayınları, Konya.
- Al-Bader, A., Mathew, T.C., Khoursheed, M., Asfar, S., Al-Sayer, H., Dashti, H.M., 2000, Thioacetamide Toxicity and Spleen : Histological and Biochemical Analysis, *Anat. Histol. Embryol.*, 29, 3-8.
- Arain, M.A., Khuhawar, M.Y., Bhanger, M.I., 1999, Liquid Chromatographic Determination of Selenium in Vegetables and Tea Leaves as 2.1.3-Benzoselenadiazole, *J. Chem. Soc. Pak.*, 21 (2), 137-140.
- Baron, U., Muriel, P., 1999, Role of Glutathione Lipid Peroxidation and Antioxidants on Acute Bile - Duct Obstruction in The Rat, *Biochemica et Biophysica Acta*, 1472, 173-180.
- Barton, J.K., Lippard, S.J., 1980, **Nucleic Acid Metal Ion Interactions**, Sparo, T.G., Ed., Wiley Interscience, New York, 31-113.
- Baumgart, J., Wisniewski, H.G., Amlacher, R., Zhukovskaya, N.V., Rentz, E., 1989, Age Dependent Antileukemic Action and Suppression of Immune Respanse by 1.4-Benzoquinone - Guanylhyazone - Thiosemicarbazone (Ambazone) in Mice, *Neoplazma*, 36 (4), 393-400.
- Betteridge, D.J., 2000, What is Oxidative Stress?, *Metabolizm*, 49, 3-8.
- Blanco, J.M., Caamano, O., Fernandez, F., Mera, X.G., Hergueta, A.R., Lopez, C., Borgez, J.E.R., Balzarini, J., de Clercq, E., 1999, Synthesis and Antiviral and Antineoplastic Activities of Some Novel Carbocyclic Guanosine Analogues with a Cyclobutane Ring, *Chem. Pharm. Bull.*, 47 (9), 1314-1317.
- Bott, A.B., Green, M.A., 1991, Effect of Glutation Depletion on The Biodistribution of Cu (PTSM) in Rats, *Int. J. Rad. Appl. Inst. B.*, 18 (18), 865-9.
- Brandt, R.B., Doyle, B.A., Chan, W., Poland, J.L., Seibel, H.R., 1997, The Effect of Running Stress on Plasma Vitamin A Levels in Rats, *Food and Chemical Tox.*, 35, 459-463.
- Breyer, P.H. and Gilbert, B.P., 1987, "Determination of Selenium (IV) Differential Pulse Voltametry of The 3,3-Diaminobenzidine Piazselenol", *Analytica Chimica Acta*, 201 : 23-32.
- Brody, E.J., 1988, The Destructive Potential of Free Oxygen Radicals. *International Herald Tribune*, 2, 4-5.

- Byrnes, R.W., Mohan, M., Antholine, W.E., Xu, R.X., Petering, D.H., 1990, Oxidative Stress Induced by a Copper Thiosemicarbazones Complex, **Biochemistry**, 31, 29 (30), 7046-7053.
- Cardia, M.C., Begala, M., Delogu, A., Maccioni, E., Plumitallo, A., 2000, Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel Arylidencisothiosemicarbazones, **II, Farmaco**, 55, 93-98.
- Catignani, G.L., 1983, Simultaneous Determination of Retinol and α -Tocopherol in Serum of Plasma by Liquid Chromatography, **Clin. Chem.**, 29(4), 708-712.
- Cerhata, D., Bauerova, A., Ginter, E., 1994, "Determination of Ascorbic Acid in Blood Serum Using High-Performance Liquid Chromatography and Its Correlation with Spectrophotometric" **Caska - Slov - Farm.**, Vol. 43 (4), pp. 166-168.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., 1994, **Biochemistry**, Lippincott Company.
- Chan-Stier, C.H., Minkel, D., Petering, D.H., 1976, Reactions of bis (Thiosemicarbazonato) Copper (II) Complexes with Tumor Cells and Mitochondria, **Bioinorganic Chem.**, 6 (3), 203-217.
- Chapman, J.M., Delucy, P., Wong, O.T., Hall, I.H., 1990, Structure Activity Relationship of Imido N-Alkyl Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Acetylhydrazones as Hypolipidemic Agents in Rodents, **Lipids**, 25 (7), 391-397.
- Christophe, S.G., Caubere, C.K., Renard, P., Pfeiffer, B., Pierre, A., Leonce, S., Caubera, P., 2000, Synthesis and Antiproliferative Activity of Benzocyclobutacarbazol Derivatives. A New Class of Potential Antitumor Agents, **Bioorganic and Med. Chem. Let.**, 10, 2589-91.
- Cory, J.G., Chiba, P., 1989, Combination Chemotherapy Directed at The Components of Nucleoside Diphosphate Reductase, In *Inhibitors of Ribonucleoside Diphosphate Reductase Activity*, Eds.: Pergamon Press : Oxford, 245-264.
- Cory, J.G., Cory, A.H., Rappa, G., Lorico, A., Liu, M.C., Lin, T.S., Sartorelli, A.C., 1995, Structure - Function Relationships for a New Series of Pyridine - 2 - Carboxaldehyde Thiosemicarbazones on Ribonucleotide Reductase Activity and Tumour Cell Growth in Culture and in vivo, **Adv. Enz.Regul.**, 35, 55-68.
- Çetinkaya, N., and Özcan, H., 1991, Investigation of Seasonal Variations in Cow Serum Retinol and β -Carotene by High Performance Liquid Chromatographic Method, **Comp. Biochem. Physiol.**, Vol. 100 A, No: 4, pp. 1003-1008.
- Demertzi, D.K., Demertzis, M.A., Voragi, V., Papageorgiou, A., Mourelatus, D., Mioglou, E., Iakovidou, Z., Kotsis, A., 1998, Antineoplastic and Cytogenetic Effects of Platinum (II) and Palladium (II) Complexes with Pyridine - 2 - Carboxaldehyde Thiosemicarbazone, **Chemotherapy**, 44 (6), 421-6.

- Demertzi, D.K., Domopoulou, A., Demertzis, M.A., Valle, G., Papageorgiou, A., 1997, Palladium (II) Complexes of 2-Acetylpyridine N(4)-Methyl, N(4)-Ethyl and N(4)-Phenyl - Thiosemicarbazones. Crystal Structure of Chloro (2-Acetylpyridine N(4)-Methylthiosemicarbazonato) Palladium (II). Synthesis, Spectral Studies, In Vitro and In Vivo Antitumour Activity, **J. of Inorg. Biochem.**, 68, 147-155.
- Diplock, A.T., 1991. Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: An Overview, **Am. J. Chim Nutr.**, 53: 1895-1935.
- Durackova, Z., Mendiola, M.A., Sevilla, M.T., Valent, A., 1999, Thiohydrazone Copper (II) Complexes. The Relationship Between Redox Properties and Superoxide Dismutase Mimetic Activity, **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, 48, 109-116.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F., 1983, **İstatistik Metodları**, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No : 861, Ankara, Üniv. Basımevi, Ankara.
- Emerk, K., Onat, T., 1997, **Temel Biyokimya**, 2. Baskı, Saray Medikal Yayıncılık ve Tic. Ytd. Şti., İzmir - Türkiye.
- Farver, O., Pecht, I., 1989, Structure - Reactivity Studies of Blue Copper Proteins Affinity Labeling of Electron Transfer Proteins by Transition Metal Coordination, **Coord. Chem. Rev.**, 94, 17.
- Ferrari, B.M., Capacchi, S., Pelosi, G., Reffo, G., Tarasconi, P., Albertini, R., Pinelli, S., Lungni, P., 1999, Synthesis, Structural Characterization and Biological Activity of Helicin Thiosemicarbazone Monohydrate and a Copper (II) Complex of Salicylaldehyde Thiosemicarbazone, **Inorganica, Chimica Acta**, 286, 134-141.
- Fuentealba, I.C., Haywood, S., Foster, J., 1989, Cellular Mechanisms of Toxicity and Tolerance in The Copper Loaded Rat. III Ultrastructural Changes and Copper Localization in The Kidney, **Br. J. Exp. Path.**, 70, 543-56.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L., 1997, **Colour Textbook of Histology**, W.B. Saunders Company, 262-267, 346-352, 358-370.
- Granado, F., Olmedilla, B., Gil-Martinez, E., Blanco, I., Millan, I., Rojas-Hidalgo, E., 1998, Carotenoids, Retinol and Tocopherols in Patients with Insulin - Dependent Diabetes Mellitus and Their Immediate Relatives, **Clin. Sci. (Colch)**, 94, 2, 189-195.
- Gutsche, W., Güttner, J., Baumgart, J., Schulze, W., 1984, **24 th Ann. Cong. Soc. Pharmacol. Toxicol. GDR**, Magdeburg, 6(8), 48.
- Gutteridge, J.M.C., and Halliwell, B., 1988, The Deoxysriboz Assay : An Assay Both for Free Radical and For Site - Specific Hydroxyl Radical Production. **Biochem.**, 253, 932.

- Haiduc, I., Silvestru, C., 1990, Metal Compounds in Cancer Chemotherapy, **Coord. Chem. Rev.**, 99, 253.
- Halliwell, B., Gutteridge, W.M.C., 1999, **Free Radicals in Biology and Medicine**, Oxford Medicine Press, 246-351.
- Hrnciarova, M., Carsky, J., Jakus, V., Zlatos, L., Kucharska, J., Gvozdzakova, A., 1998, Inhibition of Lipid Peroxidation in Erythrocytes by Aminoguanidine, Resoreylidine Aminoquanidine and Their Oxygen and Sulfur Analogs in Diabetic Rats, **Bratisl. Lek. Listy.**, 99 (7), 364-7.
- İlhan, N., 1998, Deneyisel Olarak Karaciğer İskemi Reperfüzyon Hasarı Oluşturulan Kobaylarda Oksidan ve Antioksidan Sistemin İncelenmesi, **F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi**, Elazığ.
- Jenquira, L.C., Carneiro, J., Kelly, R.O., 1998, **Temel Histoloji**, Çev. Ed. Prof. Dr. Yener Aytekin, 8. Baskı, Barış Kitapçılık, İstanbul.
- Jeon, S.M., Bok, S.H., Jang, M.K., Kim, Y.H., Nam, K.T., Jeong, T.S., Park, Y.B., Choi, M.S., 2002, Comparison of Antioxidant Effects of Naringin and Probucol in Cholesterol-Fed Rabbits, **Clin. Chimica Acta**, 317, 181-190.
- Karataş, F., Obek, E., Karatepe, M., Saydam, S., Saatçi, Y., 2002, An Investigation of Vitamin Levels of The Carp (Cyprinus Carpio L.) Muscle Tissue Subjected to Thiazole Copper (II) Complex, **Pak. J. of Biological Sci.**, 5(11), 54-56.
- Kaur, S., Ali, B., 1982, Membrane Stabilization and Inhibition of Lipid Peroxidation by Anti -Inflammatory Indoles, **Pharmacology**, 25 (4), 210-3.
- Kennedy, T.A., Liebler, D.C., 1991, Peroxyl Radical Oxidation of β -Caratone: Formation of β -Caratone Epoxides, **Chem. Res. Toxicol.**, 4: 290-295.
- Kılınç, K., 1985, Oksijen Radikalleri, Üretilmeleri, Fonksiyonları, Toksik Etkileri, **Biyokimya Dergisi**, 10 : 60-89.
- Köse, K., Doğan, P., 1992, Lipid Peroksidasyonu, **Erciyes Üniv. Tıp Dergisi**, Ek 1, 340-350.
- Kumamoto, T., Toyooka, K., Nishida, M., Kuwahara, H., Yashimura, Y., Kawada, J., Kubota, S., 1990, Effect of 2,4-Dihydro-3H-1,2,4-Triazole-3-Thiones and Thiosemicarbazones on Iodide Uptake by The Mouse Thyroid; The Relationship Between Their Structure and Antithyroid Activity, **Chem. Pharm. Bull.**, 38 (9), 2595-6.
- Kutsky, R.J., 1981, **Handbook of Vitamins, Mineral and Hormones**, 2th Ed. VNR, 157-207, New York.
- Kühnel, H.J., Amlacher, R., Kramarczyk, K., Schulze, W., 1988, Pharmacokinetics of ^{14}C -Ambazone in Rats, **Pharmazie**, 43, 197-199.
- Liberta, A.E., West, D.X., 1992, Antifungal and Antitumour Activity of Heterocyclic Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes, **Biometals**, 5, 121-126.

- Liu, C.M., Lin, T.S., Sartorelli, A.C., 1992. Synthesis and Antitumor Activity of Amino Derivatives of Pyridine-2-Carboxaldehyde Thiosemicarbazone. **J. Med. Chem.**, 35, 3672-3677.
- Matez, J.M., Gomez, P.C., Casto, N.I., 1999, Antioxidant Enzymes and Human Diseases. **Clin. Biochem.**, 32, 595-603.
- Munro, H.N., 1991. **Nutritional Biochemistry and Metabolism** (Ed: Maria C. Linder, Ph.D.). Elsevier Science Publishing Company, New York.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W., 1993. **Harper'in Biyokimyası** (Çev. Ed. Menteş, G., Ersöz, B). Barış Kitapevi, İstanbul.
- Myers, B.M., Prendergast, F.G., Holman, R., Kuntz, S.M., Larusso, N.F., 1993. Alteractions in Hepatocyte Lysosomes in Experimental Hepatic Copper Overload in Rats, **Gastroenterology**, 105, 1814-23.
- Nikolai, E.P., Tatyana, V.L., Tatyana, A.K., Lowell, P.K., 2001, Carotenoids as Scavengers of Free Radicals in a Fenton Reaction : Antioxidants or Pro - Oxidants? **Free Rad. Bio. and Med.**, 31(3), 398-404.
- Nordberg, J., Arner, E.S.J., 2001, Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. **Free Rad. Biol. and Med.**, 31(11), 1287-1317.
- Novelli, E.L., Silva, A.M., Monteiro, J.P., Sacomani, L.B., Novellif, J.L., 1997, Free Radical Production by Azomethine H : Effects on Pancreatic and Hepatic Tissues. **Free Radic. Res.**, 26 (4), 319-324.
- Novelli, E.L., Silva, A.M., Novellif, J.L., Curi, P.R., 1995. Reactive Oxygen Generation by Azomethine H : A New Antimalarial Drug., **Can. J. Physiol. Pharma**, 73 (8), 1189-1194.
- Odfield, J.E., 1987. The Two Faces of Selenium, **J. Nutrition**, 117, 2002-2008.
- Offing, E.O., Martelli, S., 1997, Stereochemistry and Antitumour Activity of Platinum Metal Complexes of 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones. **Transition Metal Chem.**, 22, 263-69.
- Offing, O.E., Martelli, S., 1994. Antibacterial Activity of Metal Complexes of Benzil and Benzoin Thiosemicarbazones, **IL Farmaco**, 49 (7,8), 513-518.
- Paglia, D.E. and Valentine, W.N., 1967, "Studies on The Quantitative and Qualitative of Erythrocyte Glutathione Peroxidase", **J. Lab. Clin. Med.**, 70 (1) : 158-168.
- Papageorgiou, Z., Iakovidou, D.M., Mioglou, E., Boutis, L., Kotsis, A., Demertzi, D.K., Domopoulou, A., West, D.X., Demertzis, M.A., 1997, Antineoplastic and Cytogenetic Effects of Complexes of Pd (II) with 4N-Substituted Derivatives of 2-Acetyl-Pyridine-Thiosemicarbazone, **Anticancer Research**, 17, 247-252.

- Perez, J.M., Matesanz, A.I., Martin - Ambite, A., Novarro, P., Alonso, C., Savza, P., 1999, Synthesis and Characterization of Complexes of p-Isopropyl Benzaldehyde and Methyl - 2 - Pyridyl Ketone Thiosemicarbazones with Zn(II) and Cd (II), Metallic Centers, Cytotoxic Activity and Induction of Apoptosis in Pam - Ras Cells. **J. of Inorganic. Biochem.**, 75, 255-261.
- Potdevin, S., Gautier, F.C., Ripoche, P., Toutain, H.J., 1998, Similar Effects of cis-Diamminedichloroplatinum (II) and cis-Diammine-1,1-Cyclobutanedicarboxylato Platinum (II) on Sodium - Coupled Glucose Uptake in Renal Brush - Border Membrane Vesicles, **Arch. Toxicol.**, 72, 663-670.
- Repine, J.E., 1991. Oxidant - Antioxidant Balance : Some Observation From Studies of Ischemia Reperfusion in Isolated Perfused Rat Hearts, **The Am. J. of Med.**, 91, 45-53.
- Rohde, W., Cordell, B., Webster, R., Levinson, W., 1977, Inhibition of Amino Acyl tRNA Synthetase Activity by Copper Complexes of Two Metalbinding Ligands, **Biochemica et Biophys. Acta**, 477, 102-111.
- Rohde, W., Shafer, R., Idriss, T., Levinson, W., 1979, Binding of N-Methyl Isatin Beta - Thiosemicarbazone - Copper Complexes to Proteins and Nucleic Acids, **J. Inorganic Biochem.**, 10 (3), 183-94.
- Romine, M.T., Kessel, D., 1986, Intracellular Glutathione as a Determinant of Responsiveness to Antitumor Drugs., **Biochem. Pharm.**, 35 (19), 3323-6.
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Trosks, J.E., Mansour, V.H., 1969, Platinum Compounds : A New Class of Potent Antitumour Agents, **Nature**, 222, 385.
- Ross, M.H., Romrell, L.J., Kaye, G.I., 1995. **Histology**, Third Edition, Ed. Patricia A Caryell. Williams and Wilkins.
- Satoh, A., Histomi, M., Igarashi, K., 1995. Effects of Spinach Leaf Protein Concentrate on The Cholesterol and Amino Acid Concentrations in Rats Fed a Cholesterol - Free Diet, **J. of Nutritional Sci. and Vit.**, 41 (5), 563-573.
- Sokol, R.J., Devereaux, M.W., Traber, M.G., Shikes, R.H., 1989, Copper Toxicity and Lipid Peroxidation in Isolated Rat Hepatocytes : Effect of Vitamin E., **Pediatric Res.**, 25 (1), 55-62.
- Sternlieb, I., 1980. Copper and The Liver, **Gastroenterology**, 78, 1615-28.
- Stoian, I., Oros, A., Moldoveanu, E., 1996, Apoptosis and Free Radicals, **Biochem. and Mol. Med.**, 59, 93-97.
- Subbagh, H.E., Obaid, A.A., 1996, 2,4-Disubstituted Thiazoles II. A New Class of Antitumour Agents, Synthesis and Biological Evaluation, **Eur. J. Med. Chem.**, 31, 1017-21.
- Sudha, K., Ashalatha, V.R., Anjali, R., 2001, Oxidative Stress and Antioxidants in Epilepsy. **Clinica Chimica Acta**, 303, 19-24.

- Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B., Atik, U., 2000, Serbest Radikaller, **Mersin Üniv. Tıp Fak. Dergisi**, 1, 52-58.
- Tavazzi, B., Lazzarino, G., Di-Pierro, D., Giardina, B., 1992, "Malondialdehyde Production and Ascorbate Decrease are Associated to The Eperfusion of The Isolated Postischemic Rat Heart" **Free - Radic. Biol. Med.**, Vol. 13 (1), pp. 75-78.
- Teitz. Y., Barko, N., Abramoff, M., Ronen, D., 1994, Relationship Between Structure and Antiretroviral Activity of Thiosemicarbazone Derivatives. **Chemotherapy**, 40, 195-200.
- Tietz, N.W., 1986, **Textbook of Clinical Chemistry**, W.B. Saunders Company, 1532-1534.
- Toyokuni, S., Okada, S., Hamazaki, S., Fujioka, M., Li, J.L., Midorikawa, O., 1989, Cirrhosis of The Liver Induced by Cupric Nitritriacetate in Wistar Rats. **American J. of Pathol.**, 134 (6), 1263-74.
- Tsaknis, J., Lalas, S., Hole, M., Smith, G. and Tychopoulos. V., 1998, Rapid High-Performance Liquid Chromatographic Method of Determining Malondialdehyde for Evaluation of Rancidity in Edible Oils. **Analyst**. Vol. 123, 325-327.
- Tüzün, C., 1997, **Biyokimya**, 3. Baskı. Palme Yayıncılık, 151-187, Ankara.
- Underwood. E.J., 1997. **Trace Elements in Human and Animal Nutrition**, Acedemic Press, New York, pp. 302-346.
- Wang, P.H., Keck, J.G., Lien, E.J., Lai, M.M.C., 1990, Design. Synthesis. Testing and Quantitative Structure - Activity Relationship Analysis of Substituted Salicylaldehyde Schiff Bases of 1-Amino-3-Hydroxyguanidine Tosylate as New Antiviral Agents Against Coronavirus, **J. Med. Chem.**, 33, 608-614.
- Williams, M.T., Simonet, L., Cory, A.H., Cory, J.G., 1988, Liver Microsomal Inactivation of 4-Methyl-5-Amino-1-Formilinoquinoline Thiosemicarbazone as An Inhibitor of Ribonucleotide Reductase, **Cancer Research**, 48, 6375-78.
- Wolf. R., Wolf, D., Ruocco, V., 1998. Vitamin E : The Radical Protector, **J. of Eur. Academy of Derm. and Ver.**, 10, 103-117.
- Woo, K.L., Lee, S.H., 1994, Determination of Protein Amino Acids as Butylthiocarbamyl Derivatives by Reversed - Phase High Performance Liquid Chromatography with Precolumn Derivatization and U.V. Detection. **J. of Chromat. A.**, 667, 105-111.
- Yılmaz, İ., 2002, Bazı Schiff Bazları İle Metal Komplekslerinin Sentezi, Protonasyon ve Kararlılık Sabitlerinin Potansiyometrik Metotla Tayini, **F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi**, Elazığ.

Young, I.S., Woodside, J.V., 2001, Antioxidants in Health and Disease. *J. Clin. Pathol.*, 54 (3), 176-86.

Yöntem, M., Akkuş, İ., Şekeroğlu, M.R., Vural, H., Öztok, İ., Kalak, S. ve Koçyiğit, A., 1993, Erkeklerde Orta Derecede Alkol Alımının Eritrosit Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Olan Etkisi, *S.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 339-344.



ÖZGEÇMİŞİM

1970 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi Elazığ'da tamamladım. 1990 yılında Fırat Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne girerek 1994 yılında mezun oldum. 1995 yılında Fırat Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne Araştırma Görevlisi olarak atandım. 1995 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans'a başladım ve 1997 yılında tamamladım. 1998 yılında yine aynı Enstitü'de Doktora'ya başladım. Halen Fırat Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde görev yapmaktayım.

Mustafa KARATEPE