

**FARE KARACİĞER DOKUSUNDA YEŞİL ÇAY (*Camellia sinensis L.*) ve  
MAYDANOZ'UN (*Petroselinum crispum*) MDA ve GSH DÜZEYLERİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Aysel GÜVEN<sup>1</sup>, Engin ERKAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyokimya Bilim Dalı

[aguven@baskent.edu.tr](mailto:aguven@baskent.edu.tr)

**Abstract**

In this study, it has been tried to be searched the effects of green tea (*Camellia sinensis L.*) and parsley (*Petroselinum crispum*) that is known their antioxidant features on levels of MDA and GSH on mice liver tissue.

In the study, total 24 Swiss albino mice has been used that 8 of them are control and 16 of them are practise. By dividing 16 mice into 2 different groups in practise group, for 1.group 3 g/L green tea and for 2.group 0,464 g/kg parsley have been given orally during 8 weeks.

As a results, by increasing GSH levels on groups given green tea and parsley to control group ( $p<0,05$ ), but in MDA levels has not been seen a significant decreasing as statistical. When compared the group given green tea to parsley, it has been observed that green tea has increased more GSH level in comparison with parsley as statistical ( $p<0,05$ ).

**Key words:** Malondialdehyde (MDA), Reduced Glutathione (GSH), Green tea (*Camellia sinensis L.*), Parsley, (*Petroselinum crispum*), Antioxidant, Mice.

**Giriş**

Pek çok araştırmacı tarafından yeşil çay ve maydanoz bitkilerinin çeşitli deney hayvanlarında ve bunların karaciğer ve diğer dokularında meydana gelebilecek lipid peroksidasyon düzeyleri ile antioksidan savunma sistemi elemanları olan eksojen antioksidanların seviyeleri değerlendirilmiştir. Yeşil çay, polifenol bileşenleri oksidasyona uğratılmadan *Camellia sinensis* yapraklarının dehidratasyonundan elde edilmektedir. Bu nedenle, yeşil çay, kateşin grubundan monomerik polifenollerin yüksek düzeyde konsantrasyonunu içermektedir. Theaflavinler, thearubiginler gibi polifenoller ve özellikle kateşinler gibi bileşenlerin antioksidan etkilerden sorumlu olduğu düşünülmektedir (1). Yeşil çay içerisinde bulunan bileşenlerin antioksidan, antikanserojenik ve antiaterosklerotik özelliklere sahip olduğu birçok çalışmada belirtilmektedir (2). Çayda çok güçlü antioksidan

içeren flavonoid bileşiği olduğu ve antioksidan içeren bu bileşiğin hücreleri serbest radikal hasarlarından, C ve E vitaminlerinden çok daha iyi koruduğu gösterilmiştir (3,4).

Yang ve ark., çay tüketimi alışkanlığının Çin toplumunda hipertansiyon riskini önemli derecede azalttığını bulmuşlardır (5). Flavonoidlerce zengin gıdaların tüketimi arttıkça, hipertansiyon oranının düştüğü de yapılan çalışmalar arasındadır (6). Ayrıca yeşil çay polifenol fraksiyonları H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunu teşvik eden 12-o-tetradekanoil porbol-13-asetat (TPA)'ı ve 8-hidroksideoksi guanozin oluşumunu inhibe etmektedir. Çay preparatlarının TPA tarafından teşvik edilen epidermal ornitin dekarboksilaz, protein kinaz C, lipoksigenaz ve cyclogenaz gibi kanser ilerlemesiyle ilgili enzimleri inhibe ettiği bilinmektedir (7). Fareler üzerinde yapılan çalışmalar, çayın sekonder fenolik maddelerinin, tehlikeli türde radikalleri parçalama yeteneğine sahip bir enzim olan süperoksit dismutaz enziminin aktivitesini arttırdığını ve lipit oksidasyon ürünü olan malondialdehit miktarını düşürdüğünü göstermektedir (8).

Çayda bulunan fenolik bileşiklerin akciğer tümörü oluşumunu inhibe ettiği (7), gastrointestinal sistemde intrasellüler antioksidan aktivasyonunu sağladığı, prokarsinojen oluşumunu inhibe ederek kardiyovasküler hastalıkları önlediği (9), diyabette serum glukoz toleransını azalttığı (10), böbrekte ve kansere karşı koruyucu etki yaptığı(11-13), antioksidan ve lipit peroksidasyonuna etkileri mevcut çalışmalarla gösterilmektedir (14). Sabu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada Wistar albino tipi ratlara sırayla yeşil çay polifenolünün sıvı bir solüsyonu 50 mg/kg oranında daha sonra ise 100 mg/kg oranında verilmiştir. Lipit peroksidasyonu oluşturabilmek için alloxan verilerek farelerde lipit peroksidasyonu oluşturulmuştur. Sonuç olarak karaciğer MDA düzeylerinde (P<0,001) bir azalış belirlenirken, GSH düzeylerinde (P<0,001) anlamlı bir artış görüldüğü saptanmıştır (15).

Maydanoz (*Petroselinum crispum*) ile daha önce yapılmış invivo çalışmalarda bitkinin metanol ekstresinin, sıçan beyin homojenizatlarında lipit peroksidasyonunu azalttığı, ayrıca antiradikal aktiviteye sahip olduğu ve bitkinin yaprak ekstrelerinin güçlü antimikrobiyal etkisinin bulunduğu rapor edilmiştir (16).

Peter ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise dondurularak kurutulmuş maydanoz (*Petroselinum crispum*) ve kişniş (*Coriandrum sativum*)'in yaprak ve gövdelerinden metanol ve su ile ekstre elde edilip antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır. Maydanoz ve kişniş arasında metanol ve su ekstraktlarında fenol çeşitliliği olduğu görülmüş ayrıca *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* mikroplarına karşı antimikrobiyal özelliklerine bakılmıştır. Sonuç olarak hem maydanozun hem de kişnişin serbest radikallere karşı antioksidan aktivite gösterdikleri, *B. Subtilis* ve *E. Coli* mikroplarına karşı da antimikrobiyal

özelliik gösterdiği ortaya konulmuştur (17). Özlem ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise streptozotosin etkisi ile diyabet oluşturulmuş ratlarda maydanoz ekstraktının ve glibornuride'nin karaciğer dokusu üzerine etkisi araştırılmış, maydanoz verilen grupta karaciğer lipid peroksidasyonu seviyesinde düşüş, GSH seviyelerinde ise artış meydana gelmiştir (18).

Bu çalışmada polifenollerin endojen antioksidan enzimlerden biri olan GSH ile lipid peroksidasyonu değişimlerini nasıl etkileyebileceğinin ortaya koyulması amaçlanmıştır.

## **Materyal ve Metot**

### **Hayvan Materyali**

Bu araştırmada, 24 adet (26-31 gr) Swiss albino tipi fare kullanıldı. Hayvanlar dişi erkek ayırımı yapılmaksızın üç eşit gruba ayrıldı. 12 saat ışık ve 12 saat karanlık, yaklaşık  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve nem oranı  $\%50\pm 5$  olan bir ortam sağlandı. Her gün I. Gruba (Kontrol grubu) standart fare yemi ve su verilirken, II. Gruba 3 g/L yeşil çay (14), (*Camellia sinensis* .L) yaprakları kurutulmuş 3 gram yeşil çay tartılarak özel olarak demlenip soğutulularak hazırlanmış ve oral yolla verilmiştir. III. Gruba ise hayvanların canlı ağırlıkları tartılarak canlı ağırlık başına 0.464 g/kg maydanoz (18), (*Petroselinum crispum*) mikserde sap ve yaprak kısımlarını ayırmaksızın ekstrakte edilerek oral yolla verilmiştir. Bu işlemler 8 hafta (56 gün) boyunca her gün tekrar edilmiştir.

8 hafta sonra uygun laboratuvar koşullarında karaciğer dokuları alındı ve diğer işlemlere kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda bekletildi. Derin dondurucudan çıkarılan karaciğerler homojenizasyon işlemi için tartılarak 1 gram doku başına 9 ml kadar (1:10) potasyum fosfat tamponu ile homojenizasyon tüpüne alındı. 60 sn 13500 rpm'de ultra turrax T25 tipi homojenizatörde homojenize edildi, sonra santrifüj tüpüne boşaltıldı. Bundan sonra 3500 rpm'de 5 dk  $4^{\circ}\text{C}$ ' de santrifüj edildi. Santrifüjden çıkan numunelerin süpernatant kısmı ependorf tüplere alındı. Tortu kısmı atıldı. Ependorf tüpteki süpernatantlar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de MDA ve GSH ölçümleri için derin dondurucuda saklandı.

### **Metot**

Uygulanan metotların rutin hale getirilmesi için araştırmaya başlamadan önce gerekli ön çalışmalar yapıldı. Araştırmadan daha iyi sonuçların alınması amacıyla en duyarlı metotların kullanılmasına çalışıldı. Homojenizat hazırlanması metotlarda belirtildiği şekilde yapıldı.

### **Dokuda Lipit Peroksidasyonu (MDA) Tayini**

Dokuda lipit peroksidasyonu (MDA) belirlemek için Placer ve ark. (19)'nın tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı. pH'nın 3.4 olduğu aerobik bir ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile üst kısımdaki organik tabakanın 100 °C'de inkübasyonu, lipit peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olan malondialdehidi (MDA) oluşturmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks yapar. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipit peroksidasyonu saptanır. Standart eğri çizimi için 1, 1, 3, 3 tetraethoxypropane'den 10µl alındı. Daha sonra 10 ml absolut etanolde çözülerek +4°C'de koyu bir şişede saklandı. Bu stok çözeltilerden farklı konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizildi. Belirlenen absorbans değerleri MDA standart eğrisinden nmol/gr.yaş doku olarak hesaplandı.

### **Dokuda GSH Tayini**

Dokuda GSH düzeylerini belirlemek için Sedlak ve Lindsay (20)'in tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı. GSH'nın sülfidril grubunun asitte çözünerek, tiyol grubunun enzimatik veya kimyasal işlemler ile ölçülmesi bu bileşiğin miktar tayininin temelini oluşturur. Belirlenen absorbans değerleri GSH standart eğrisinden µmol/gr.yaş doku olarak hesaplandı.

### **İstatistiksel Analiz**

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. Çoklu gruplar arasında farkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analizi kullanıldı ve gruplar arasında farklar Tukey'in çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi, gruplar arasında P değerinin 0,05 den küçük olduğu değerler anlamlı olarak kabul edildi.

### **Bulgular**

Gruplar arasındaki GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ( $P<0,05$ ) gözlenirken, gruplar arasındaki MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış ( $P>0,05$ ) gözlenmemiştir. Kontrol ve deney gruplarına ait GSH ve MDA düzeylerinin ortalama, standart hata ve gruplar arasındaki önemi Tablo 1'de sunulmuştur. Ayrıca gruplar arası GSH ve MDA düzeylerinin grafiksel olarak değişimi Şekil 1 ve 2'de belirtilmiştir.

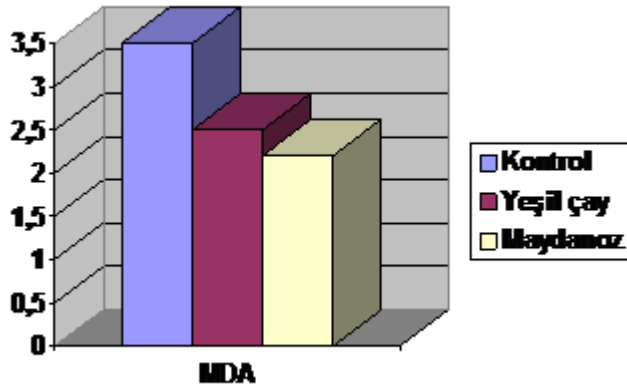
Tablo 1. Kontrol ve Deney Gruplarına Ait GSH ve MDA Düzeylerinin Ortalama, Standart Hata ve Gruplar Arasındaki Önemi.

	Kontrol Grubu (n = 8)	Yeşil çay grubu (n = 8)	Maydanoz grubu (n = 8)
	<b>X±S.D</b>	<b>X±S.D</b>	<b>X±S.D</b>
MDA (nmol/gr.yaş doku)	3,5±1,3 <sup>a</sup>	2,5±1,1 <sup>a</sup>	2,2±0,6 <sup>a</sup>
GSH (μmol/gr.yaş doku)	10,4±0,9 <sup>a</sup>	35,8±8,9 <sup>b</sup>	26,0±2,0 <sup>c</sup>

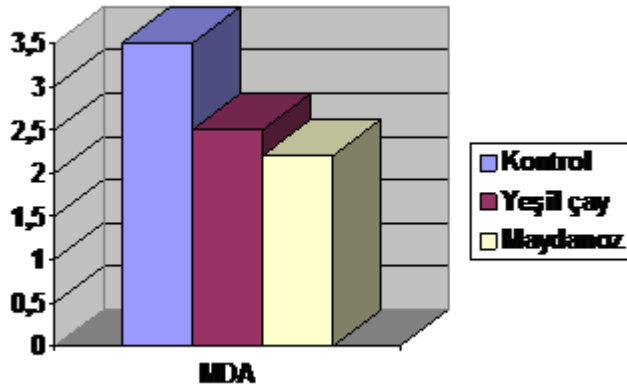
n: Her gruptaki hayvan sayısı

a, b, c: Aynı satırda yer alan farklı harfler arasında istatistiki olarak P<0,05'e göre fark vardır.

X±SD: Ortalama±standart sapma



Şekil 1. Çalışma Gruplarında Doku GSH Düzeyleri



Şekil 2. Çalışma Gruplarında Doku MDA Düzeyleri

## Tartışma ve Sonuç

Pek çok araştırmacı tarafından yeşil çay ve maydanoz bitkilerinin çeşitli deney hayvanlarında ve bunların karaciğer ve diğer dokularında meydana gelebilecek lipid peroksidasyonu düzeyleri ile antioksidan savunma sistemi elemanları olan eksojen antioksidanların seviyeleri değerlendirilmiştir. Biz de bu çalışmamızda içerdiği flavonoidler, polifenoller, kateşinler (yeşil çay), apigenin, luteolin, apiin, miristisin (maydanoz) v.b. bileşikler sayesinde antioksidan özelliği yüksek yeşil çay ve yeşil çay kadar olmasa da antioksidan özelliğe sahip maydanoz bitkilerinin deney hayvanı olarak seçilen Swiss albino tipi farelerde MDA ve GSH düzeylerini nasıl etkileyebileceğini araştırdık.

Yeşil ay içerisinde bulunan bileşenlerin antioksidan, antikanserojenik ve antiaterosklerotik özelliklere sahip olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (1-4). Yeşil ay polifenol fraksiyonları H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunu teşvik eden 12-o-tetradekanoil porbol-13-asetat (TPA)'ı ve 8-hidroksideoksi guanozin oluşumunu inhibe etmektedir. ay preparatlarının TPA tarafından teşvik edilen epidermal ornitin dekarboksilaz, protein kinaz C, lipoksigenaz ve cyclogenaz gibi kanser ilerlemesiyle ilgili enzimleri inhibe ettiği bilinmektedir. Epigallokateşin gallatin prostat ve meme tümörlerinin büyümesini önlediği, ek olarak deri, mide, kolon ve akciğer kanserlerini, teaflavinlerin akciğer ve yemek borusu kanseri oluşumunu inhibe ettiği bildirilmektedir (7). Farelerde gama ışını ile serbest oksijen radikalleri oluşturulmuş ve bu yolla DNA hasarı indüklenmiştir. Oral olarak verilen flavon-3-ols (kateşin)'un bir DNA hasarı göstergesi olan çekirdeği parçalanmış retiklositlerin oluşmasını önlediği saptanmıştır. Yine farelerde gama ışını sonrası oluşmuş karaciğer lipidlerindeki oksidatif hasarı epigallokateşin-3-gallat (EGKG)'ın bir ay süreyle oral verilmesi %33 oranında düzeltmiştir. Ayrıca flavonoidlerin serbest oksijen radikalleri ile indüklenen LDL oksidasyonunu vitamin C ve vitamin E'den daha güçlü olarak önledikleri bildirilmiştir (21,22).

Skrzydewska ve ark.nın yaptığı bir çalışmada yeşil çayın kan serumunda, beyinde ve karaciğerde lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu etki göstererek, karaciğerde MDA düzeyi anlamlı bir düşüşe (P<0,001), GSH düzeyinde de anlamlı bir artışa neden olduğu belirtilmiştir (P<0,05) (14). Bizim alışmamızda 8 hafta boyunca 3g/L yeşil çay içme suyunda demlenerek oral yolla verilen farelerin karaciğerleri incelendiğinde yeşil çay verilen grupta MDA düzeyleri kontrol grubuna göre sayısal olarak azalırken istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken GSH düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (P<0,05). Benzer sonuçları gösteren çalışmalar mevcuttur (23).

Maydanoz (*Petroselinum crispum*) ile daha önce yapılmış *invivo* çalışmalarda bitkinin metanol ekstresinin sıçan beyin homojenizatlarında lipit peroksidasyonunu azalttığı, ayrıca antiradikal aktiviteye sahip olduğu ve bitkinin yaprak ekstralarının güçlü antimikrobiyal etkisinin bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca bitkinin içerdiği bir flavon olan apigeninin etkin bir antioksidan madde olduğu da bildirilmiştir. Cilt hastalıklarının tedavisinde (16), *B. Subtilis* ve *E. Coli* mikroplarına karşı da antimikrobiyal özellik gösterdiği (17), streptozotosin etkisi ile diyabet oluşturulmuş ratlarda maydanoz ekstraktının ve glibornuride'nin karaciğer dokusunun LPO seviyesinde düşüşe, GSH seviyelerinde ise artışa neden olduğu belirtilmektedir (18).

Bu çalışmada yapılan istatistiksel analizler sonucunda yeşil çay ve maydanoz verilen farelerde yeşil çay ve maydanoz grubunun kontrol grubuna göre lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinde sayısal olarak düşüş saptanırken istatistiksel olarak fark bulunmazken hücre içi antioksidan olan GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Bu da bize polifenollerin endojen antioksidan enzimlerden biri olan GSH ile lipit peroksidasyonunda değişimlere neden olabileceğini göstermiştir.

#### KAYNAKLAR

- 1 . Forouzan M , Hossein N, Aliakbar , Javad A M, Mahdi S: Effects of Herbal Medicine on Male Infertility, Anatomical Sciences, 10;4, 1-16. 2013.
2. Haidari F, Omidian K, Rafiei H, Mehdi Z and Shahi M M: Green Tea (*Camellia sinensis*) Supplementation to Diabetic Rats Improves Serum and Hepatic Oxidative Stress Markers, Iran J Pharm Res. Winter; 12(1): 109–114, 2013.
- 3 . Vinson JA, Dabbagh YA, Serry MM, Jang J: Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerfull antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. J Agric Food Chem, 43, 2800-2802, 1995.
- 4 . Craig WJ: Health-promoting properties of common herbs. Am J Clin Nutr 70, 491-499, 1999.
- 5 . Yang YC, Lu FH, Wu JS, Wu CH, Chang CJ: The protective effect of habitual tea consumption on hypertension. Arch Intern Med, 164, 1534-1540, 2004.
- 6 . Moline J, Bukharovich IF, Wolff MS, Philips R: Dietary flavonoids and hypertension: Is there a link? Med Hypotheses, 55, 306-309, 2000.
- 7 . Yang CS, Landau JM: Effects of Tea Consumption on Nutrition and Health. American Society for Nutritional Sciences, 130, 2409-2412, 2000.
- 8 . Li C, Xie B: Evaluation of the Antioxidant and Pro-oxidant Effects of Tea oxypolimers. J Agric Food Chem, 48, 6362-6366, 2000.
- 9 . Koo MW, Cho CH: Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. Eur J Pharmacol, 500, 177-85, 2004.
- 10 . Sabu MC, Smitha K, Ramadasan K: Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stres in experimental diabetes. Journal of Ethnopharmacology, 83, 109-116, 2002.

11. Allesio HM, Hagerman AE, Romanello M, Carando S, Threlkeld MS, Rogers J, Dimitrova Y, Muhammed S, Wiley RL: Consumption of green tea protects rats from exercise induced oxidative stress in kidney and liver. *Nutrition Research*, 22, 1177-1188, 2000.
12. Klein EA: Chemoprevention of prostate cancer. *Crit Rev Oncol/Hematol*, 54, 1-10, 2005.
13. Jian L, Xie LP, Lee AH, Binns CW: Protective effect of green tea against prostate cancer: A case-control study in southeast China. *Int J Cancer*, 108, 130-135, 2004.
14. Skrzydlewska E, Ostrowska J, Farbiszewski R, Michalak K: Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain, *Phytomedicine*, 9, 232-238, 2002.
15. Öztürk N, Tunalıer Z, Koşar M, Başer KHC: *Petroselinum crispum*, *Anethum graveolens* ve *Eruca Sativa*'nın Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002.
16. Ali-Shtayah MS, Yaniv Z, Mahajna J: Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing. *J Ethnopharm*, 73, 221-232, 2000.
17. De M, De AK, Banerjee AB: Antimicrobial screening of some indian spices. *Phytotherapy Research*, 13(7), 616-618, 1999.
18. Sacan OO, Yanardağ R, Orak H, Özgey Y, Yerat A, Tunali T: Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin induced, diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 104, 175-181, 2006.
19. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC: Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malonyldialdehyde) in Biochemical Systems. *Anal Biochem*, 16, 359-364, 1966.
20. Sedlak J, Lindsay RH: Estimation of Total Protein-bound and Non-protein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205, 1968.
21. Augustyniak A, Waszkiewicz E, Skrzydlewska E: Preventive action of green tea from changes in the liver antioxidant abilities of different aged rats intoxicated with ethanol. *Nutrition*, 21, 925-932, 2005.
22. Ostrowska J, Lucjaz W, Kasacka I, Rozanski A, Skrzydlewska E: Green tea protects against ethanol-induced lipid peroxidation in rat organs. *Alcohol*, 32, 25-32, 2004.
23. Wong Peter YY, Kitts DD: Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*, 97, 505-515, 2006.