



**GİRESUN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ALBİNO FARELERDE BİSFENOL-A'NIN MUHTEMEL  
BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:  
YEŞİL KAHVENİN KORUYUCU ROLÜ**

**BURHAN DURHAN**

**OCAK 2016**

**GİRESUN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ALBİNO FARELERDE BİSFENOL-A'NIN MUHTEMEL  
BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:  
YEŞİL KAHVENİN KORUYUCU ROLÜ**

**BURHAN DURHAN**

**OCAK 2016**


Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

  
Prof. Dr. Birsen Şengül OKSAL

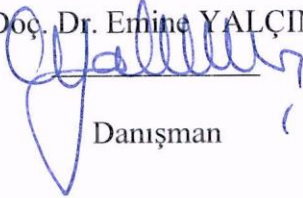
.../.../2016

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İhsan AKYURT  
  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans Tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç. Dr. Emine YALÇIN  
  
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Doç. Dr. Kürşat ÇAVUŞOĞLU


## ÖZET

# ALBİNO FARELERDE BİSFENOL-A'NIN MUHTEMEL BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI: YEŞİL KAHVENİN KORUYUCU ROLÜ

**DURHAN, Burhan**

**Giresun Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman: Doç. Dr. Emine YALÇIN**

**Ocak 2016, 33 sayfa**

Bu çalışmada Bisfenol A'nın (BFA) albino farelerde bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. BFA'nın toksik etkisine karşı yeşil kahve koruyucu madde olarak seçilmiş ve tüm uygulama gruplarına iki doz halinde uygulanmıştır. Bu kapsamda her bir grupta 6 albino fare (*Mus musculus*, 12–14 haftalık, 25–30 g ) olmak üzere 6 uygulama grubu oluşturulmuştur. Çalışma süresince I. gruba pellet yem ve çeşme suyu, II. gruba 100 mg/kg.ca dozunda yeşil kahve, III. gruba 400 mg/kg.ca dozunda yeşil kahve, IV. gruba 50 mg/kg.ca dozunda BFA, V. gruba 50 mg/kg.ca dozunda BFA + 100 mg/kg.ca dozunda yeşil kahve, VI. gruba 50 mg/kg.ca dozunda BFA + 400 mg/kg.ca dozunda yeşil kahve verilmiştir. Uygulama süresi sonunda farelerin kan örnekleri alınarak serum örnekleri elde edilmiştir. Serum örneklerinde Alanin transaminaz (ALT), Aspartat transaminaz (AST), kan üre azotu (BUN) ve kreatinin parametreleri incelenmiştir. Ayrıca her uygulama grubuna ait karaciğer ve böbrek dokuları izole edilmiş ve GSH, MDA analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda BFA uygulanan gruplarda serum ALT, AST,

BUN ve kreatinin plazma seviyelerinde önemli değişimler gözlenmiştir. Bu değişimler BFA'nın hücreler üzerindeki muhtemel toksik etkileri ile açıklanabilir. Benzer şekilde BFA uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla MDA seviyelerinde artış gözlenirken, GSH seviyelerinde azalmanın olduğu tespit edilmiştir. BFA ile birlikte yeşil kahve uygulanan gruplarda test edilen parametrelerde yeniden düzelme olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar yeşil kahvenin BFA toksisitesine karşı koruyucu etkisini ortaya koymaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Bisfenol A, Yeşil kahve, malondialdehit, glutatyon, AST, ALT, BUN, kreatinin



## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF THE POTENTIAL BIOCHEMICAL EFFECTS OF BISPHENOL-A ON ALBINO MICE: PROTEVTIVE ROLE OF GREEN COFFEE**

**DURHAN, Burhan**

**University of Giresun**

**Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Department of Biology, Master Thesis**

**Supervisor: Assoc.Prof. Dr.Emine YALÇIN**

**January 2016, page 33**

In this study, the effects of Bisphenol A (BPA) on some biochemical parameters in albino mice were investigated. Green coffee was selected as a protective agent against the toxic effects of BPA and Green coffee applied to all treatment groups in two dosage. In this scope, 6 treatment groups (each group contain 6 mice, *Mus musculus*, 12–14 week, 25–30 g ) were created. In experimental period, group I treated with tap water, group II treated with 100 mg/kg.bw green coffee, group III treated with 400 mg/kg.bw green coffee, group IV treated with 50 mg/kg.bw BPA, group V treated with 100 mg/kg.bw green coffee + 50 mg/kg.bw BPA, group VI treated with 400 mg/kg.bw green coffee + 50 mg/kg.bw BPA. At the end of the experiment, blood samples were collected and then the serum samples were obtained. Alaninetransaminase (ALT), Aspartate tarnsaminase (AST), Blood urea nitrogen (BUN) and creatinin parameters were investigated in serum samples. And also liver and kidney tissues were isolated and MDA, GSH analysis were performed.

As a result of study, important alterations were observed in ALT, AST, BUN and creatinine levels of BFA treated group. This alterations can be explained by the potential toxic effects of BFA on cells. MDA levels of BFA treated group were increased and GSH levels were decreased. Some improvements were observed in all testted parameters in Green Coffee and BFA treated groups according to BFA treated group. So the protective effect of green coffee against BPA toxicity was supported from these results.

**Keywords:** BPA, Green coffee, malondialdehyde, glutation, AST, ALT, BUN, creatinine



## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım sűresince, engin deneyimi ve bilgi birikimi ile yol haritamın oluŐmasını sađlayan, fikirleri ve yol gűstericiliđi ile çalıŐmamın geliŐmesine imkan tanıyan, maddi manevi bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, sabırla beni yűnlendiren deđerli hocam Sayın Doç.Dr. Emine YALÇIN'a teŐekkűrű bir borç sayıyorum. Her konuda yardımlarını ve desteđini esirgemeyen deđerli hocam Sayın Doç. Dr. Kűltiđin ÇAVUŐOĐLU'na teŐekkűrlerimi sunarım. Tez çalıŐmamın deney aŐamalarında bana yardım eden Őđr.Gűr. Figen ÇİÇEK'e ve Betűl TAŐLI'ya teŐekkűr ederim. Bana bűtűn eđitim hayatım boyunca maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen anne ve babama sonsuz teŐekkűrlerimi sunarım.

FEN-BAP-C-200515-18 kodlu proje ile tezimi destekleyen Giresun Őniversitesi BAP birimine teŐekkűrűmű sunarım.



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar DİZİNİ .....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Endokrin Bozucular.....	2
1.1.1. Endokrin Bozuların Sınıflandırılması.....	4
1.1.2. Bisfenol A.....	6
1.1.3. BFA Metabolizması.....	7
1.2.1.2. BFA'nın Toksik Etkileri.....	8
1.2. Yeşil Kahve.....	11
2. MATERYAL VE METOT.....	15
2.1. Serum Analizi.....	15
2.2. MDA Tayini.....	16
2.3. GSH Tayini.....	16
2.4. İstatiksel Analiz.....	16
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	18
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	22
5. KAYNAKLAR.....	27
ÖZGEÇMİŞ .....	33

## TABLULAR DİZİNİ

### TABLO

<b>Tablo 1.1.</b> Endokrin bozucu kimyasalların sınıflandırılması .....	5
<b>Tablo 1.2.</b> BFA'nın genel özellikleri.....	7
<b>Tablo 1.3.</b> Yeşil Kahve'nin bileşenleri .....	13
<b>Tablo 2.1.</b> Gruplar ve grup oluşturma prensibi .....	15
<b>Tablo 3.1.</b> Bisfenol A'nın bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi .....	19
<b>Tablo 3.2.</b> Bisfenol A'nın MDA ve GSH düzeylerine etkisi.....	21

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

Şekil 1.1. BFA'nın etki mekanizması .....	3
Şekil 1.2. Bisfenolün endokrin sistem üzerine olumsuz etkisi .....	9
Şekil 1.3. BFA'nın anjiogenez üzerine etkisi.....	11
Şekil 1.4. Kafein ve adenozin yapısı.....	14
Şekil 3.1. BFA'nın bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi .....	19
Şekil 3.2. Bisfenol A'nın MDA ve GSH düzeylerine etkisi .....	21

## 1.GİRİŞ

Canlılar yaşadığı dış ortamda meydana gelen değişimlere uyum sağlamak ve iç ortamlarındaki dengeyi korumak zorundadır . İç ortamın değişmez tutulmasına homeostasis denilmektedir ve homeostasisin sağlanmasında sinir sistemi ve endokrin sistem koordineli çalışmaktadırlar (1).Endokrin sistem , salgılarını doğrudan kana veren bezlerin bir araya gelmesi ile oluşan sistemdir . Endokrin sistemin üreme , beslenme, maddelerin hücreler tarafından kullanımı , tuz ve sıvı dengesini ayarlama, metabolik aktiviteyi düzenleme , büyüme ve gelişme gibi pek çok görevleri bilinmektedir. İnsan sağlığı ve neslinin devamı metabolizma, büyüme-gelişme, zihinsel fonksiyonlar, bağışıklık sistemi ve üreme için hayati rolleri bulunan hormon ve benzeri sinyal taşıyıcı maddelerin kusursuz çalışmasına bağlıdır.Endokrin ve sinir sisteminde herhangi bir sebeple düzensizliğe ve bozulmalara yol açan kimyasal maddelere ise “endokrin bozucular” adı verilmektedir (2).

Endokrin bozucular, organizmada hormonları taklit ederek ya da engelleyerek vücudun işleyişini bozan sentetik veya doğal kimyasal maddelerdir. Endokrin bozucular hormonların metabolizmalarını değiştirerek ya da engelleyerek, hipotalamus, adipoz doku, karaciğer ve diğer doku/organlardaki nükleer reseptörleri aktive veya inhibe ederek etki göstermektedirler. Büyüme, stres cevabı, cinsiyet gelişimi, üreme yeteneği, insülin yapımı ve kullanımı ve metabolik hız gibi birçok temel süreci de etkiledikleri bilinmektedir (3).

Endokrin bozucular doğada doğal olarak bulunabildiği gibi değişik sentetik ve endüstriyel ürünlerin içerisinde de yer almaktadırlar. Bazı ilaçlar, dioksin ve dioksin benzeri bileşikler, poliklorlu bifeniller, bazı pestisitler, ftalatlar ve bisfenol A (BFA) gibi maddeler endokrin bozucu etkiye sahip maddeler arasında sıralanmaktadır. Ftalatlar ve bisfenol A (BFA) gıda paketlemede, yiyeceklerle teması olan materyallerde, kozmetiklerde, oyuncaklarda, çantalarda, ayakkabılarda, ilaçlarda, medikal malzemelerde ve yapı malzemelerinde yaygın olarak kullanılan endokrin bozucu türleridir. Pek çok çalışmada BFA“nın yapay bir östrojen olduğu rapor edilmiş, östrojen reseptörlerine bağlanarak ve doğal östrojeni taklit ederek östrojen metaboizmasını bozduğu belirtilmiştir (4). Ayrıca, BPA“nın peroksizom proliferatör aktive reseptörleri (PPAR)“ nin aktivasyonu gibi çeşitli biyolojik mekanizmalarla obeziteye yol açtığı da rapor edilmektedir (3).

Endüstriyel amaçlı kullanılan kimyasalların ve toksik ajanların artışıyla birlikte oluşan zararları önlemek için çeşitli doğal koruyucu, antioksidan bileşikler bulunmaktadır. Bu çalışmada BFA'nın albino farelerde biyokimyasal etkileri ve bu etkilere karşı Yeşil Kahvenin koruyucu rolü araştırılmıştır.

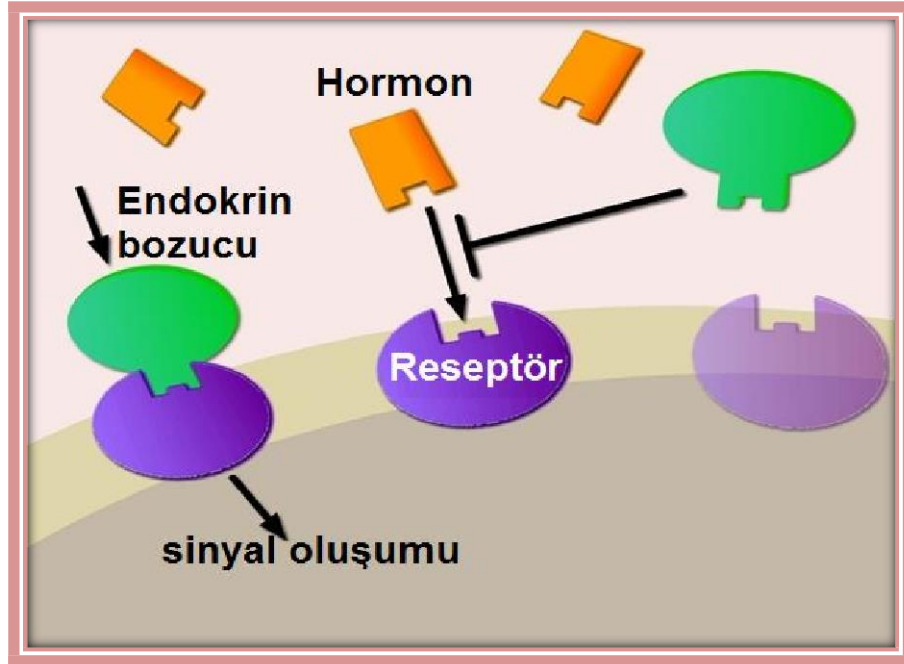
Antioksidanlar, oluşan serbest radikalleri toplayıp kararlı hale getirerek, serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurarak, baskılayıcı etki ile reaksiyon hızını azaltarak, onarıcı etki ile biyolojik molekülerdeki hasarı onararak etki göstermektedir (5). Son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar, kahvenin, doğal ve güçlü antioksidan kaynakları arasında önemli bir yere sahip olduğunu ortaya koymuştur (6). Kökboyasıgiller (Rubiaceae) familyasının Coffea cinsinden 5 metreye kadar büyüeyebilen bir ağacın meyve çekirdeklerinin kavrulup öğütülmesi ile kahve elde edilmektedir. Yeşil kahve ise kahvenin ham yani henüz kavrulmamış halidir. Yeşil kahvedekavrulma işlemleri uygulanmadığı için kafein oranı düşük, antioksidan oranı ise yüksektir. Yeşil kahve içerik olarak su, karbohidrat, protein, serbest amino asit, lipid, mineral, organik asit, klorojenik asit, trigonelin ve kafeinden oluşmaktadır. Kahve içeriğinde bulunan antosiyanin ve lignin gibi fenolik bileşikler, kafein metabolitlerinden 1-metilksantin ve 1-metilürat antioksidan özellik sergilemektedir (7). Antioksidan özellik pek çok kimyasalların zararlı etkilerine karşı organizmaları/hücreleri korumaktadır.

### **1.1. Endokrin Bozucular**

Endokrin sistemini bozan kimyasallar, endokrin sistemin gelişimi ve fonksiyonunu olumsuz yönde etkileyen, bir organizmada yada onun döllerinde yada yan popülasyonlarda hastalıklara neden olan madde veya madde karışımlardır. Bu kimyasallar insan üretimi sonucu oluşabileceği gibi, doğal yolla oluşan farklı yapılarda bileşikler de olabilir. Bu maddeler, endokrin sistemde üretim, salınım, bağlanma, taşınma, aktivite, yıkım ve vücuttan atılım mekanizmaları üzerine etki etmektedirler. Endokrin bozucular, östrojenlere benzer etkilere sahip olmalarından dolayı yapay östrojenolarak da kabul edilmektedirler. Yapay östrojenler doğada birçok hayvan türünde (bazı balıklarda, kuşlarda ve memelilerde) cinsiyet bozukluklarına, cinsiyetsiz doğumlara, spermsayılarında azalmaya, erkek organizmalarda dişilik, dişi organizmalarda erkeklik özelliklerinin artışına neden olmaktadır. Plastiklerde yumuşatıcı olarak kullanılan ftalatların erkek eşey

hormonunu etkileyerekve spermiyogenez metabolizmasında aksamalara neden olduğu rapor edilmektedir.Endokrin bozucular listesinde yer alan dietilbesterol, erkek çocuklarda testis kanser riskini arttırmaktadır. PCB, DDT, Bisfenol A, fitalat ve pestisitlerde aynı şekilde hormon sisteminin dengesini bozmaktadır. Endokrin bozucu kimyasalların vücuttaki yarılanma ömürleri uzundur. Bu yüzden düşük dozlarda bile vücutta önemli etkiler gösterebilmektedirler (8,9).

Avrupa Birliği'nin 2002 yılında yayınladığı endokrin bozucular ile ilgili raporunda, yüzlerce kimyasal madde içinde çevre ve insan sağlığına zararı açık olarak gösterilmiş olan 60 madde bulunmaktadır. Bazı ilaçlar, dioksin ve dioksin benzeri bileşikler, poliklorlu bifeniller, bazı pestisitler, fitalatlar ve BFA gibi plastizer maddeler endokrin bozucu etkiye sahip maddeler arasında sıralanmaktadır. Bu maddelerin pek çoğu besinler, kişisel bakım ürünleri, deterjanlar, oyuncaklar, plastik şişeler gibi günlük hayatta yoğun olarak kullanılan ürünler içerisinde yer almaktadır. Endokrin bozuculara maruziyetin, gelişimsel ters etkiler, üreme sistemi ve immün sistem toksisitesi ile nörolojik ters etkiler gibi istenmeyen etkiler ile sonuçlandığı bildirilmektedir (10). Endokrin bozucular, hormonlara agonist ve/veya antagonistçalışarak etki göstermektedir. Bu etki, hormonun üretimine veya transportuna etki ederek, ya da hormon reseptörüne bağlanarak metabolize olması ve atılımını değiştirmesi ile ortaya çıkabilir (Şekiil 1.1)(11).



Şekil 1.1. BFA'nın Etki Mekanizması (11).

### 1.1.1. Endokrin Bozucuların Sınıflandırılması

Endokrin bozucular doğada doğal olarak bulunabildikleri gibi, değişik sentetik ve endüstriyel ürünlerin içerisinde de yer alabilmektedirler. Bu kapsamda endokrin bozucular doğal ve sentetik bozucular olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Tablo 1.1).

Doğal Endokrin Bozucular; yarı ömürleri kısa oldukları ve dokularda birikmeden vücuttan uzaklaştırıldıkları için genellikle önemli yan etkileri oluşturmayan bozuculardır. Bunlardan en iyi bilinen grup fitoöstrojenlerdir. Bitkilerde fenilpropan ve basit fenollerden sentezlenen fitoöstrojenler, kimyasal olarak çok geniş çeşitlilik gösterirler. Fitoöstrojenler kimyasal yapılarına göre izoflavonlar, izoflavanlar, flavanonlar, kalkonlar, lignanlar, kumestanlar, makrolitler, stilbenler ve steroller olarak sınıflandırılır. Fitoöstrojenlerin, herbirinin yoğun olarak buldukları besin kaynakları farklılık göstermektedir. İzoflavonların bilinen en iyi kaynağı Leguminosae ailesine ait bitkilerden kurubaklagillerdir (bezelye, fasulye, mercimek vb.). Ancak Graminae, Rosaceae (*Prunus* sp.), Iridaceae (*Iris* sp) ve Solanaceae (*Nicotiniana tabacum*) türlerinde de görülmektedir (12). Fitoöstrojenler, intestinal bakteriler tarafından metabolize edilip absorbe olduktan sonra portal venöz sistem aracılığı ile karaciğere taşınır ve burada konjüge edilerek dolaşıma salınır ve en sonunda idrar ve safra yolu ile atılmaktadır (13,14). Fitoöstrojenlerin en önemli biyolojik potansiyelleri, östrojenik ve antiöstrojenik aktiviteye sahip olmalarıdır. Fitoöstrojenlerin östrojenik ve antiöstrojenik özellikleri, 17- $\beta$ -östradiol'e yapısal ve işlevsel benzerliği nedeniyle östrojen reseptörlerine (ER) kolay bağlanmasıyla açıklanmaktadır (15). Fitoöstrojenlerin etkisi steroid metabolizmasını etkileyen enzimler üzerindeki etkileri ile de açıklanabilir. İzoflavonların plasenta ve overlerdeki mikrozomlarda aromataz enzimini baskılayarak androjenlerin östrojenlere dönüşümünü bloke ettiği bilinmektedir. Ayrıca fitoöstrojenlerden kumestrol ve genisteinin 17- $\beta$ - östradiol oksidoredüktaz enzimini baskılayarak östronun östradiole dönüşüm metabolizmasında aksamalara neden olmaktadır. Fitoöstrojenlerin antioksidan, antiproliferatif ve antianjiyogenik fonksiyonları da bulunmaktadır (16,17).

Tablo 1.1. Endokrin bozucu kimyasalların sınıflandırılması

Doğal Endokrin Bozucular	Sentetik Endokrin Bozucular					
<u>Fitoöstrojenler</u>	<u>Pestisitler</u>			<u>Endüstriyel Bozucular</u>		
	<u>Herbisidler</u>	<u>Insektisidler</u>	<u>Fungisidler</u>	<u>Organohalojenler</u>	<u>Fitalatlar</u>	<u>Diğer</u>
Zearalanon						
Daidzein	Alachlor	Chlordane	Benomyl	Dioksinler	Di-etilheksil fitalat	Bisfenol A, B
Genistein	Amitrole	Oxychlordane	Hexachlorobenzene	Furanlar	Butil benzil fitalat	Etan dimetan
Formononetin	Atrazine	Mirex	Mancozeb	Hekzaklorobenzen	Di-n-butil fitalat	Sulfonat
Biokanin-A	Trifluralin	Methoxychlor	Maneb	Pentaklorofenon	Diheksil fitalat	Metanol
Prunetin	Nitrofen	Methomyl	Metiram-complex	Poliklorine bifeniller	Di-propil fitalat	Benzofenol
Pratensein	Metribuzin	Dicofol	Tributyl tin		Di-kloroheksil fitalat	N-butil benzen
Glisetein,		Dieldrin	Zineb		Di-etil fitalat	4- nitrotoluen
Ekuol		Parathion	Ziram			
Desmetilangolestin		Transnonachlor				
Enterolakton		Toxaphene				



Sentetik endokrin bozucular daha çok endüstride, tarımda ve evde kullanılan farklı ürünlerin yapısında farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Bazı pestisitler ve endüstriyel katkı maddeleri bu sınıfta yer almaktadır (18,19).

Sentetik bozucular yağda çözünebilme ve yağ dokuda birikme özelliklerinden dolayı vücutta uzun süre kalabilme özelliklerine sahiptir. Bu nedenle doğal endokrin bozuculara göre daha uzun ömürlüdürler ve organizmada daha zararlı etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (20,21).

Sentetik endokrin bozucular çeşitli endüstriyel alanlarda sıkça kullanılmaktadır. Günümüzde özellikle plastik, naylon, polyester ve PVC gibi maddelerin üretilmesinde kullanılan sentetik endokrin bozucular, çoğunlukla şeffaf ve dayanıklı, tekrar kullanılabilen kalın plastik ürünlerin yapısında (PVC pencereler, biberonlar, su damacaneleri, yemek saklama kapları, buzdolabı çekmeceleri) bulunmaktadır. Metal kutuların (su, kola ve meyve suyu şişeleri, kola ve bira kutuları) iç yüzeyinde, metal yüzey ile besin ürünlerinin etkileşiminin engellenmesi amacıyla da kullanılmaktadır. Diş hekimlerinin diş yapımında kullandığı malzemelerde, sanayide köpük ve paketleme sistemlerinde, fiberglas üretiminde, beton restorasyonu ve korumasını içine alan inşaat uygulamalarında kullanılmaktadır (10).

1953 yılında polivinil klorür (PVC) gelişimi ile plastik ürünlerin yapısında sentetik endokrin bozucular önemli rol almaya başlamıştır. Bisfenol A (BFA) dünya genelinde en fazla üretilen kimyasal maddelerden biridir 1980'li yıllarda yıllık üretim kapasitesi 1 milyon ton iken, bu miktar artarak 2009 yılında 2.2 milyon tonu aşkın bir üretime ulaşmıştır (22,23).

### **1.1.2. Bisfenol A**

Bisfenol A (BFA) [2,2-bis (4-hidroksifenil) propan], iki fenol ve polikarbonat moleküllerinin birleşmesiyle elde edilen bir tür organik bileşiktir. Genel özellikleri Tablo 1.2.'de verilen BFA katı, fenolik kokulu, krem-beyaz renkte ve kristal yapıdadır.

**Tablo 1.2.** BFA'nın Genel Özellikleri (24)

Genel Özellikleri	
Genel adı	Bisfenol A
IUPAC adlandırılması	2,2-bis(4-hidroksifenil)propan
CAS numarası	80-05-7
Kimyasal formülü	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
Yapısal formülü	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -C-(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -OH) <sub>2</sub>
Molekül ağırlığı	228.9 g/mol
Erime sıcaklığı	153-156 °C (1 atm basınçta)
Kaynama sıcaklığı	220 °C (0.5 kPa)
Alevlenme sıcaklığı	270 °C
Uçuculuğu	193 °C ( 1 atm basınçta)
Log Kow	3.32
Log Pow	3.32
Sudaki çözünürlüğü	(25 °C) 120 mg/L

BFA'nın dünyadaki üretim miktarı 1980'lerde yaklaşık bir milyon ton iken, 2009'da bu miktar 2.2 milyon tonun üzerine çıkmıştır. BFA'nın en fazla kullanıldığı alan % 60'lık oranla polikarbonat plastik üretimidir. Bunu % 26'lık oranla epoksi reçine üretimi takip etmektedir (25).Günlük hayatımızda kullandığımız PVC plastik pencereler, kompakt disk, iş güvenlik kaskları, kurşungeçirmez camların yüzeyine kaplanan film, otomotiv parçaları, toz boya, su ve süt şişesi, bebek biberonu, birçok elektrik ve elektronik parça yapımında BFA kullanılmaktadır (24).

### 1.1.2. BFA Metabolizması

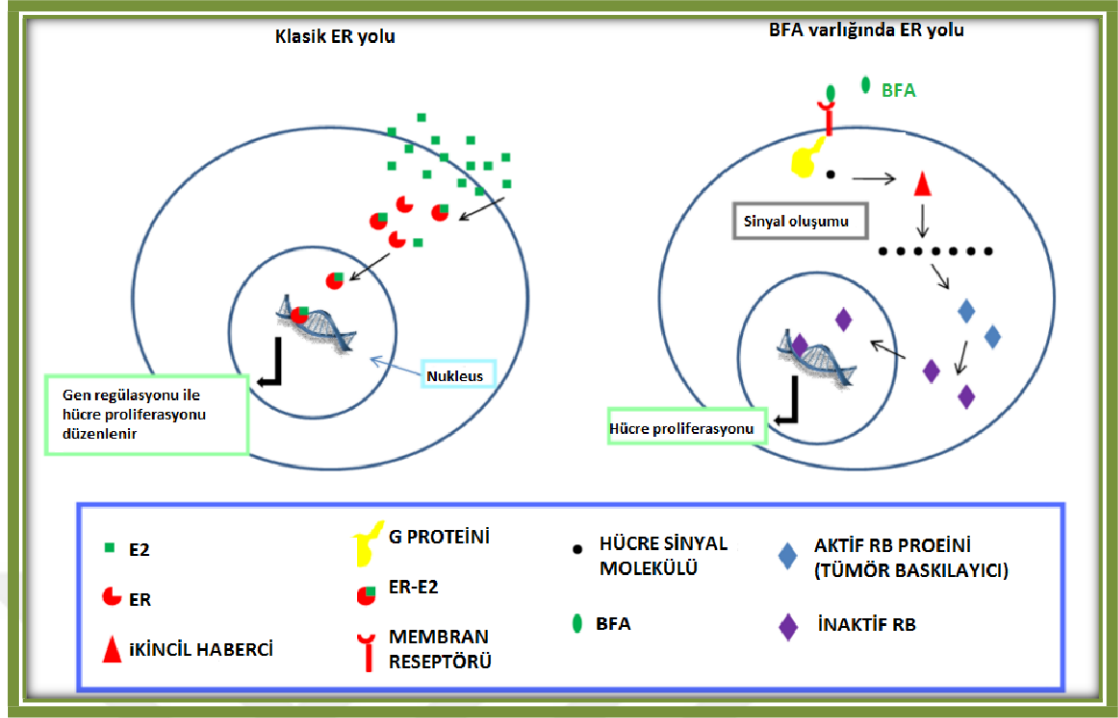
İnsanlarda oral yolla alınan BFA, gastrointestinal sistemden emilmektedir. Dermal yolla kontaminasyonda %10'a yakın bir miktarda emilim olduğu rapor edilmektedir (26). BFA, oral emilimi takiben insan karaciğ erinde hızla ana olarak büyük oranda CYP2C18, CYP2C19 ve CYP2C9 enzimleri ile metabolize edilmektedir. Karaciğerde glukronik asit ile konjuge olarak major metaboliti BFA-

glukronit'e (BFAG) dönüşmektedir. Düşük düzeyde sülfat konjugasyonu sonucu minor metabolit BFA -sülfat (BFAS) oluşmaktadır. BFA'nın yaklaşık 42 saatte tamamına yakınının idrarla atıldığı belirtilmiştir . İdrarla atılan BFA'nın %9.5'unun değişikliğe uğramadan BFA olarak , %69.5 oranında BFAG ve %21 oranında BFAS şeklinde atıldığı rapor edilmektedir . BFA toksisitesinde asıl etkinin serbest BFA formu ile ilgili olduğu, konjuge formların toksisitede rol oynamadığı gözlenmiştir (27,28).

#### **1.2.1.2. BFA'nın Toksik Etkileri**

BFA canlı organizmalarda özellikle endokrin sistem üzerine olumsuz etkilere sahiptir. Pek çok çalışmada BFA'nın yapay bir östrojen olduğunu belirtmiş, östradiol ve BFA'nın fenol grupları benzerlik gösterdiği için, BFA'nın östrojen reseptörlerine bağlandığı ve doğal östrojeni taklit ettiği rapor edilmiştir (29). Endokrin hücre sinyal sisteminde, östrojen (E2) östrojen reseptörüne (ER) bağlanarak ER-E2 kompleksini oluşturmakta ve bu kompleks transkripsiyon faktörü olarak rol oynamaktadır. Kompleks DNA'ya bağlanarak gen ekspresyonunu başlatmaktadır/arttırmaktadır. Retinoblastoma proteini (Rb) hücre döngüsünde düzenleyici role sahiptir ve BFA, Rb protein üzerinden hücre döngüsünde aksamalara neden olmakta ve endokrin sistem sinyal yolağını bozmaktadır (Şekil 1.1) (30).

Son yıllarda BFA'nın nükleer östrojen reseptörlerine etkisinin dışında „östrojen ile tetiklenen klasik olmayan yol“ olarak adlandırılan hücre membranında ve sitozolde başka reseptörleri aktive edebileceği ve östrojenik etki yaratabileceği gösterilmiştir. Östrojenik etkilenim meme kanser gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biridir (16). Perinatal düşük doz BFA ile etkilenim sonucu farelerde meme dokusu gelişiminin hızlandığı , özellikle duktal komponentinde artma ve apoptoz hızında azalma olduğu gözlenmiştir (31).



**Şekil 1.2.** Bisfenolün endokrin sistem üzerine olumsuz etkisi (30).

Literatürde BFA uygulaması sonrasında endokrin sistem ve ilişkili diğer sistemlerdeki değişimler sıkça araştırılmıştır. Markey ve arkadaşları BFA maruziyeti sonucunda farelerin over dokularında önemli anatomik değişiklik olduğu saptanmıştır. Antral folliküllerin boyutlarında artma ile korpus luteum yüzdesinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir (30). Hunt ve arkadaşları BFA'ya maruz kalan hayvanlarda anaploidi gibi hücre bölünmesinde gözlenen bozukluklarda artış olduğunu belirtmişlerdir (32). Erkek sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise düşük doz BFA maruziyetinin testiküler ve epididimal ağırlığında ve sperm üretiminde azalma gözlemlendiği saptanmıştır (26).

Östrojen ve progesteron beyin gelişiminde önemli rol alan hormonlardır. Birçok hayvan çalışmasında BPA'nın östrojen benzeri etki yaparak, beyin gelişimi sırasında cinsel farklılaşmadan sorumlu bölgelerde değişikliğe neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, BFA'nın öğrenme azlığı ve hafıza bozukluğuna neden olabileceği bildirilmektedir (18).

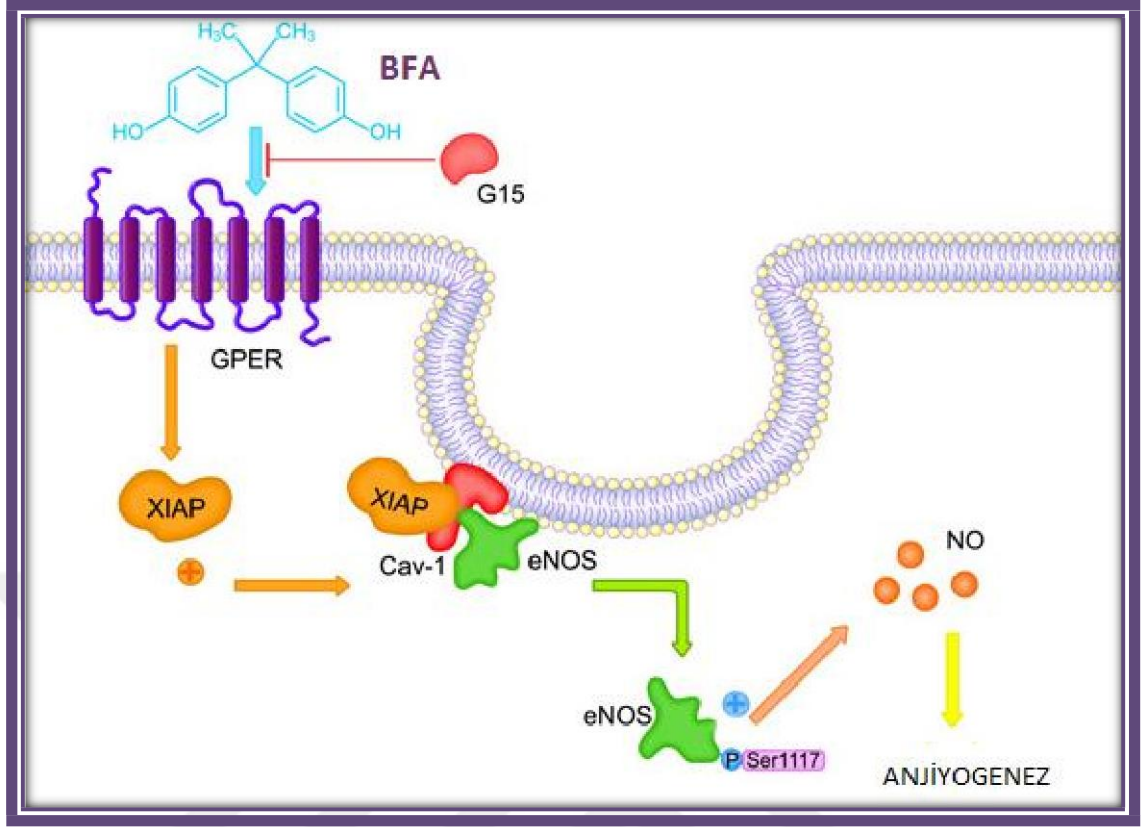
Başka bir çalışmada, 20 mg/kg BFA'ya uygulanan erişkinfarelerde, günlük sperm üretimlerinde ve total sperm sayılarında azalma; prostat ve seminal vezikül ağırlıklarında düşüş olduğu belirlenmiş; serum testosteron düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (25).

Ayrıca, BFA uygulamasının plazma LH hormon düzeyinde değişiklik ve plazma testosteron miktarında azalmanın sonucunda sperm sayısında azalma olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (4,33).

Bazı epidomiyolojik çalışmalarda BFA'nın sıçanlarda meme kanseri ve anjiogenezle ilişkili olduğu rapor edilmektedir (34). Anjiogenez tümör gelişiminde, ilerlemesinde ve metastazda önemli bir role sahiptir. BFA'nın anjiogenez metabolizmasındaki etkisi Şekil 1.3'te verilmiştir. Hücre proliferasyonu ve migrasyonunu düzenleyen XIAP proteini Nitrik oksit (NO) modülatörü olarak görev yapmaktadır. NO anjiogenez cevabının oluşumunda önemli bir role sahiptir. GPER, BFA'ya yüksek afinite sergilemektedir ve GPER- BFA etkileşimi sonrasında XIAP ekspresyonu artmaktadır. XIAP Cav-I ile etkileşime girerek NO üretimine sebep olmaktadır NO ise anjiogenez sürecinde önemli role sahiptir (35).

BFA maruziyeti sonucu, tiroid hormon düzeyleri ve etkilerindeki değişimlere işaret eden çalışmalar da bulunmaktadır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, gebelik ve laktasyon döneminde BFA maruziyeti sonucu doğan yavruların 15. gün total T4 düzeylerinde kontrol grubuna göre artış gözlemlendiği, ancak 35. günde bu değerlerin normal düzeylere geldiği gözlemlenmiştir (20). Aynı zamanda BFA'nın tiroid hormon reseptörlerine bağlanabildiği ve tiroid hormon reseptör kaynaklı gen ekspresyonunun baskılanmasına neden olabileceği de rapor edilmiştir (21).

Ayrıca, BFA'nın peroksizom proliferatör aktive reseptörleri (PPAR)'nin aktivasyonu gibi çeşitli biyolojik mekanizmalarla obeziteye yol açtığı da rapor edilmektedir. BFA'nın PPAR $\gamma$  ve lipoprotein lipaz gibi adiposit-spesifik gen ve transkripsiyon etmenleri aracılığıyla bazı metabolik değişikliklere yol açtığı, yağ hücresi oluşumunu arttırdığı ve olgun yağ hücrelerinde lipid birikimine neden olduğu rapor edilmiştir (3).



**Şekil 1.3.** BFA'nın anjiyenez üzerine etkisi: BFA: Bisfenol A, eNOS: endotel nitrik oksit, GPER: G protein ilişkili östrojen reseptörü, NO: nitrik oksit, XIAP: Apoptosis inhibitör protein (35).

## 1.2. Yeşil Kahve

Popülaritesi son zamanlarda gittikçe artan yeşil kahve, bildiğimiz normal kahvenin ham, yani henüz kavrulmamış halidir. Kahve, kökboyasığıllar (Rubiaceae) familyasının Coffea cinsinden 5 metreye kadar büyüeyebilen bir ağacın meyve çekirdeklerinin kavrulup öğütülmesi ile elde edilmektedir. Yeşil kahvede kavrulma işlemi gerçekleşmemektedir ve bu nedenle kafein oranı daha düşüktür (36).

Yeşil kahve çekirdekleri, kavrulmuş kahve çekirdeklerine oranla daha fazla antioksidan içermektedir. Aynı zamanda normal kahveden farklı olarak yüksek ısıda kavrulmadığı için % 47 oranında daha fazla klorojenik asit içermektedir. Yeşil kahve çekirdeklerinin içeriğinde yüksek oranda bulunan „klorojenik asit“ in yapılan bazı çalışmalarda kilo vermeye yardımcı olabileceği belirtilmektedir. Bu

madde metabolizmayı hızlandırarak vücudun kalori harcama düzeyinde arttırıcı etki göstermektedir (36).

İçeriği Tablo 1.3''de verilen yeşil kahve su, karbohidrat, protein, serbest amino asit, lipid, mineral, organik asit, klorojenik asit, trigonelin ve kafeinden oluşmaktadır. Antosiyanin ve lignin gibi fenolik bileşikler de içermektedir (7).Kavurma işlemi sırasında piroliz, karamelizasyon ve Maillard reaksiyonu sonucu kahve içeriği değişmektedir. Kahve içeriğindeki proteinler degrade olmakta, serbest amino asitler ise Strecker reaksiyonu ile dekarboksile olmaktadır. Bazı aminoasitler ise Maillard reaksiyonu ile düşük moleküler ağırlıklı ürünlere dönüşmektedir. Kavurma işlemi sırasında oluşan reaksiyonlar ile melanoidin, galaktomannan ve arabinogalaktan gibiar ürünler de oluşmaktadır (37).

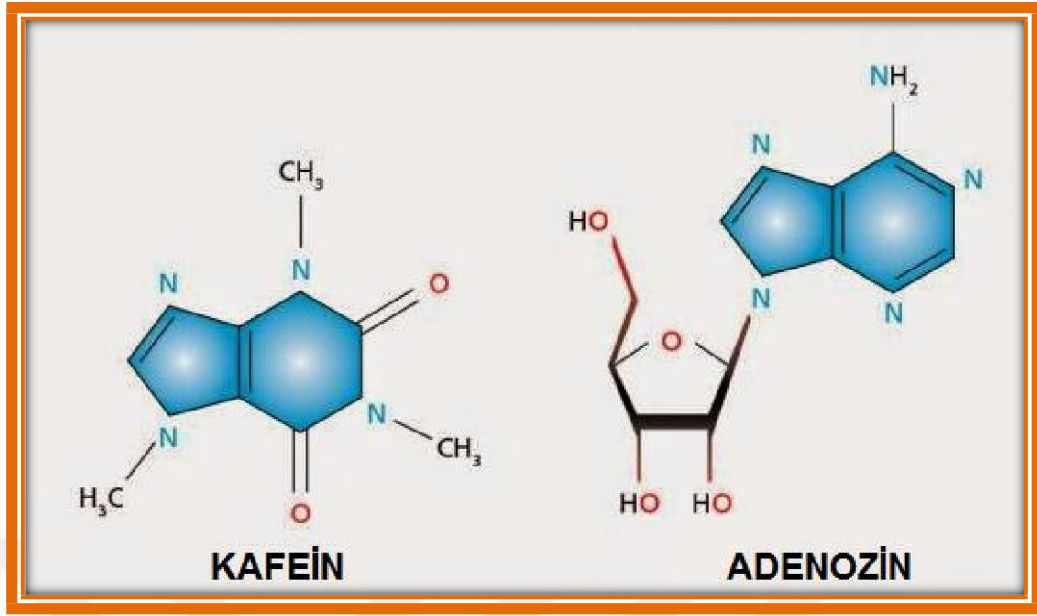
Melanoidin kahvede renk oluşumu ve antioksidan/antibakteriyel aktivite özelliği sağlamaktadır. Kahve içeriğindeki klorojenik asit sıcaklığa karşı kararsızlığından dolayı izomerizasyon, epimerizasyon ve degradedasyon sonucu fenol ve katekol gibi ara ürünlere dönüşmektedir. Kavurma derecesine bağlı olarak klorojenik asit içeriği %1 oranında azalabilmektedir (39).

Kafein vücutta yağ yıkımını hızlandırarak, kanda serbest yağ asitleri ve gliserolü yükseltmektedir. Kafeinin kardiovasküler sistem üzerine olan etkiler ile de kalp atışlarını hızlandırdığı ve kan damarlarını genişlettiği (vazodilatasyon) ve metabolizmayı hızlandırdığı bilinmektedir. 8 mg/kg kafeinin kişilerde metabolik hızı ilk 3 saatte önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir.Adenozin ile kafein arasındaki yapısal benzerlik (Şekil 1.4), kafeinin adenozin reseptörlerine bağlanması için yarışabilmesine olanak tanımaktadır.Bu yolla kafein adenozin reseptör antogonisti olarak sinir sistemini stimüle etmektedir.Bununla birlikte kafein metabolitlerinden 1-metilksantin ve 1-metilürat antioksidan özellik sergilemektedir (40).

**Tablo 1.3.** Yeşil Kahve'nin Bileşenleri (38).

<b>Bileşen</b>	<b>Konsantrasyon <sup>a</sup>(g/100g)</b>
<b><u>Karbonhidratlar/Lif</u></b>	
<b>Sakaroz</b>	6.0-9.0
<b>İndirgeyici Şeker</b>	0.1
<b>Polisakkaritler</b>	34-44
<b>Lignin</b>	3.0
<b>Pektin</b>	2.0
<b>Azotlu Bileşikler</b>	
<b>Protein/Peptidler</b>	10.0-11.0
<b>Serbest Aminoasitler</b>	0.5
<b>Kafein</b>	0.9-1.3
<b>Trigonellin</b>	0.6-2.0
<b><u>Lipidler</u></b>	
<b>Kahve Yağı trigliserid, steroller/tokoferoller)</b>	15-17.0
<b>Diterpenler ( serbest ve esterlenmiş)</b>	0.5-1.2
<b>Mineraller</b>	3.0-4.2
<b><u>Asidler ve Esterler</u></b>	
<b>Klorojenik Asitler</b>	4.1-7.9
<b>Alifatik Asitler</b>	1.0
<b>Kuinik Asitler</b>	0.4





Şekil 1.4. Kafein ve adenozin yapısı (41)

Yeşil kahve içeriğinde bulunan trigonellin nikotik asidin enzimatik metilasyonu sonucunda oluşan bir alkaloiddir. Kavrulma işlemi sırasında trigonellinin demetilasyonu ile nikotik asit oluşmaktadır ve invitro çalışmalarda nikotik asidin kanser hücrelerinin yayılmasını önlediği belirlenmiştir. Ayrıca alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), kan üre azotu (BUN) ve kreatinin trigonellin molekülünün dendrit ve aksonların rejenerasyonunda önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir (42).

Bu çalışmada 50 mg/kg BFA uygulanan albino farelerde Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat transaminaz (AST), kan üre azotu (BUN), kreatinin, karaciğer Malondialdehit (MDA) ve Glutasyon (GSH) düzeyleri ve böbrek Malondialdehit (MDA) ve Glutasyon (GSH) düzeyleri araştırılmıştır. BFA'nın oluşturabileceği muhtemel toksisiteye karşı Yeşil Kahvenin 100 mg/kg ve 400 mg/kg dozlarında koruyucu rolü de çalışma kapsamında araştırılmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Giresun Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Laboratuvarı'nda bakımları yapılan 36 adet Swiss albino fare ile gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar bir (1) kontrol ve beş (5) uygulama olmak üzere toplam altı (6) gruba ayrılmış, 12 saat ışık 12 saat karanlık döngüde, oda sıcaklığında ve %50 nem ortamında bakımları sağlanmıştır. On (10) haftalık uygulama periyodu süresince, kontrol grubundaki fareler çeşme suyu, uygulama grubundaki fareler ise 50 mg/kg c.a dozunda BFA ile yeşil kahvenin 100 ve 400 mg/kg c.a dozlarıyla muamele edilmişlerdir. Gruplar ve grup oluşturma prensibi Tablo 2.1'de verilmiştir. Uygulama periyodundan bir hafta önce hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenerek ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

**Tablo 2.1.** Gruplar ve grup oluşturma prensibi

Gruplar	Fare sayısı	Uygulama türü
I. Grup	6	Kontrol
II. Grup	6	100 mg/kg Yeşil Kahve
III. Grup	6	400 mg/kg Yeşil Kahve
IV. Grup	6	50 mg/kg c.a BFA
V. Grup	6	100 mg/kg Yeşil Kahve +50 mg/kg c.a BFA
VI. Grup	6	400 mg/kg Yeşil Kahve+50 mg/kg c.a BFA

### 2.1. Serum Analizi

Serum izolasyonu için, tam kan örnekleri hafif eter anestezi altında farelerden intrakardiyak olarak alınmış, Vacutainer tüplere (BD Vacutainer Systems, San Jose, CA, ABD) alınan kan örnekleri +4 °C'de 10 dakika 1200 g santrifüj edilmiş ve analiz süresine kadar -20 °C'de saklanmıştır. AST (GOT sıvı reaktif, katalog numarası A559-150, TecoDiagnostics), ALT (GPT sıvı reaktif, katalog numarası A524-150, TecoDiagnostics) enzim aktiviteleri ile BUN (katalog numarası B549-150, TecoDiagnostics) ve kreatinin (katalog numarası C513-480,

TecoDiagnostics) konsantrasyonları(Model 99M Chemistry Analyzer, Medispec, Germantown, MD, USA) yardımıyla ölçülmüştür.

## **2.2. MDA Tayini**

MDA tayini kontrol ve uygulama grubu farelerinin karaciğer ve böbrek dokularında gerçekleştirilmiştir. Farelerden alınan doku örnekleri soğuk % 0,9'luk sodyum klorür çözeltisiyle yıkanmış, 2ml sodyum klorür ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası homojenize doku örnekleri 7000 rpm'de 5 dakika 4°C'de santrifüjlenmiş, elde edilen süpernatantlarda MDA analizi gerçekleştirilmiştir. MDA analizi Yoshiko ve arkadaşları (43) tarafından belirtilen yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir. Tiyobarbitirik asit ile MDA 90-95°C'de reaksiyona girerek pembe renkli bileşik oluşturmaktadır. Bu prensipten yola çıkarak 0.4 ml doku süpernatantları, 1.5 ml tiyobarbitirik asit ile karıştırılmıştır ve oluşan renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak analizi gerçekleştirilmiştir.

## **2.3.GSH Tayini**

GSH tayini kontrol ve uygulama grubu farelerinin karaciğer ve böbrek dokularında gerçekleştirilmiştir. Farelerden alınan doku örnekleri soğuk % 0,9'luk sodyum klorür çözeltisiyle yıkanmış, 2ml sodyum klorür ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası homojenize doku örnekleri 7000 rpm'de 5 dakika 4°C'de santrifüjlenmiş, elde edilen süpernatantlarda GSH analizi gerçekleştirilmiştir. GSH analizi Beutler ve arkadaşlarının (44) önerdiği yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Dokudan elde edilen süpernatantlar TCA ile % 10 v/v olacak şekilde muamele edilip santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantların üzerine disodyum hidrojen fosfat çözeltisi ile ditiyobisnitrobenzoik asit içeren Elman ayracı eklenmiş ve 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunmuştur. Sonuçlar mmol GSH/ g doku olarak ifade edilmiştir (45).

## **2.4. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 2013) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel

farklılıkların değerlendirilmesi One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama  $\pm$  SD değerleri olarak verilmiş ve P değeri 0.05'den kuk olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

BFA uygulamasının seçilen bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri Tablo 3.1/Şekil 3.1''de verilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerinde en fazla artış BFA ile muamele edilen Grup IV''de, en az ise kontrol ve yeşil kahve özütünün iki farklı dozu ile beslenen Grup II ve Grup III''de tespit edilmiştir. Grup IV''de ölçülen değerlerin kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olduğu da belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

BFA uygulanan farelerde AST değerinin kontrol grubuna kıyasla 1.35 kat, ALT değerinin ise 2.2 kat arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç ALT''nin BFA toksisitesine karşı daha hassas olduğunu göstermektedir. BFA uygulanan farelerde BUN değerinin kontrol grubuna kıyasla 1.53 kat, kreatinin düzeyinin 1.38 kat arttığı belirlenmiştir. Bu artış böbrek fonksiyonundaki değişimlerle ilişkilendirilebilmektedir.

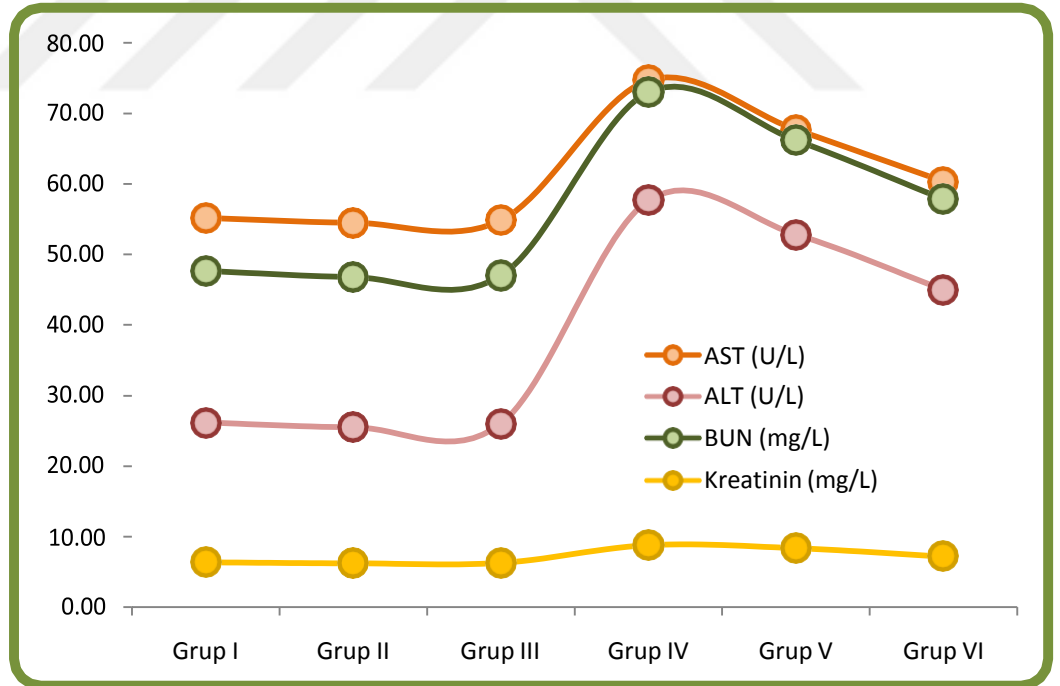
BFA ile birlikte yeşil kahve özütü uygulamasının Grup V ve Grup VI''da AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerinde Grup IV''e göre tekrar bir azalmaya neden olmuş, bu azalmanın ise istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Grup I, Grup II ve Grup III''e ait serum AST, ALT, BUN ve kreatinin değerlerinin birbirine paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum yeşil kahve özütü uygulamasının bu parametreler üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını göstermektedir. BFA ve Yeşil kahve özütünün birlikte uygulandığı Grup V ve Grup VI''ya ait AST, ALT, BUN ve kreatinin değerlerinin sadece BFA uygulanan Grup VI değerlerine kıyasla kontrol grubu değerlerine daha yakın olduğu belirlenmiştir. Buna rağmen Grup V ve Grup VI''ya ait düzeylerin kontrol grubuna kıyasla hala yüksek olduğu belirlenmiş, bu sonucun bu gruplara BFA uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Örneğin BFA uygulaması ALT değerinin kontrol grubuna kıyasla 2.2 kat artmasına neden olurken BFA+Yeşil kahve (400 mg/kg) uygulaması bu artışı 1.71 kata geriletmiştir. Bu sonuç ile yeşil kahvenin 400 mg/kg dozunda BFA toksisitesini %22.7 oranında azalttığı belirlenmiştir.

**Tablo 3.1.** Bisfenol A'nın bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

	AST (U/L)	ALT (U/L)	BUN (mg/L)	Kreatinin (mg/L)
<b>Grup I</b>	55.17±6.34 <sup>c</sup>	26.17±5.60 <sup>c</sup>	47.67±6.09 <sup>c</sup>	6.36±0.87 <sup>bc</sup>
<b>Grup II</b>	54.50±5.13 <sup>c</sup>	25.50±7.74 <sup>c</sup>	46.83±8.35 <sup>c</sup>	6.22±0.74 <sup>c</sup>
<b>Grup III</b>	54.83±6.79 <sup>c</sup>	26.00±7.72 <sup>c</sup>	47.00±8.17 <sup>c</sup>	6.28±0.70 <sup>bc</sup>
<b>Grup IV</b>	74.67±7.26 <sup>a</sup>	57.67±5.82 <sup>a</sup>	73.00±6.87 <sup>a</sup>	8.78±0.82 <sup>a</sup>
<b>Grup V</b>	67.67±7.12 <sup>ab</sup>	52.83±6.77 <sup>ab</sup>	66.17±7.76 <sup>ab</sup>	8.35±0.73 <sup>a</sup>
<b>Grup VI</b>	60.33±6.02 <sup>bc</sup>	45.00±6.45 <sup>b</sup>	57.83±8.23 <sup>b</sup>	7.16±0.46 <sup>b</sup>

- Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



**Şekil 3.1.** BFA'nın bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

BFA'nın karaciğer ve böbrek MDA ve GSH düzeylerine etkileri Tablo 3.2/Şekil 3.2.'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek MDA ve en düşük GSH düzeyleri Grup IV'de, en düşük MDA ve en yüksek GSH ise kontrol ve yeşil kahve özütünün iki farklı dozuyla muamele edilen Grup II ve Grup III'de tespit edilmiştir. Grup IV'de ölçülen bu değerlerin ise söz konusu üç gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Bisfenol A ile birlikte yeşil kahve özütü ile muamele edilen Grup V ve Grup VI'da MDA düzeylerinde Grup IV'e göre tekrar bir azalmaya, GSH düzeylerinde ise tekrar bir artışa neden olduğu belirlenmiştir.

BFA uygulanan farelerde karaciğer MDA değerinin kontrol grubuna kıyasla 1.84 kat, böbrek MDA değerinin ise 1.65 kat arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç karaciğer dokusunun BFA toksisitesine karşı daha hassas olduğunu göstermektedir. BFA uygulanan farelerde karaciğer GSH değerinin kontrol grubuna kıyasla 2.0 kat, böbrek GSH düzeyinin ise 2.44 kat azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar karaciğer ve böbrek dokularının BFA maruziyeti sonucu oluşan oksidatif hasar ile ilişkilendirilebilmektedir.

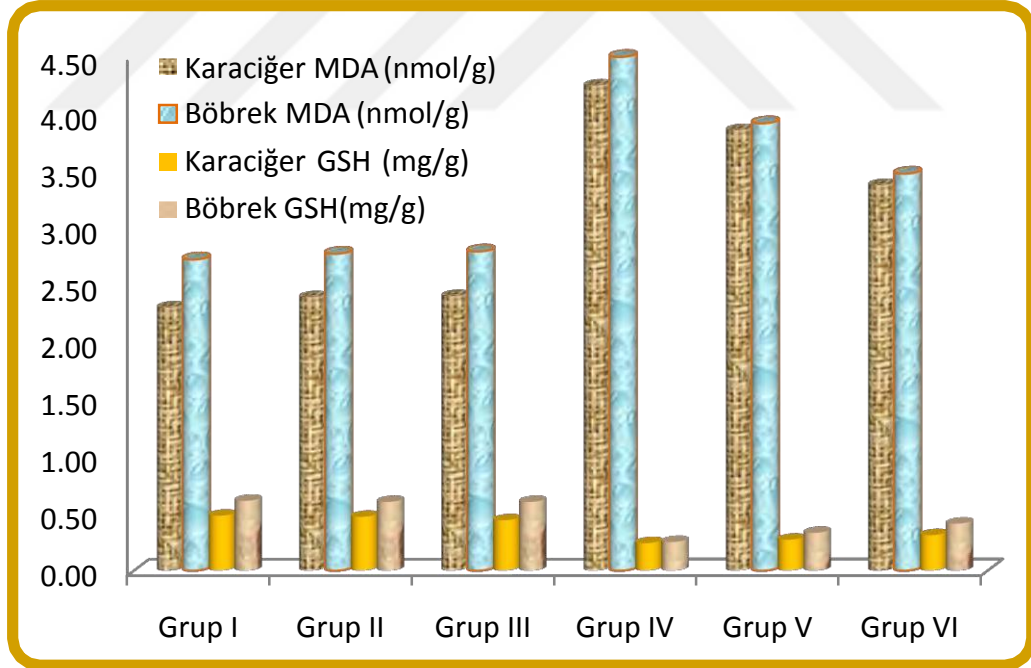
BFA ile birlikte yeşil kahve özütü uygulaması Grup V ve Grup VI'da karaciğer/böbrek MDA ve GSH düzeylerinde Grup IV'e göre bir düzelmeye neden olmuş, bu düzelmelerin özellikle Grup VI'da istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Grup I, Grup II ve Grup III'e ait karaciğer/böbrek MDA ve GSH düzeylerinin birbirine paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum yeşil kahve özütü uygulamasının bu parametreler üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını göstermektedir.

BFA ve Yeşil kahve özütünün birlikte uygulandığı Grup V ve Grup VI'ya ait MDA ve GSH değerlerinin sadece BFA uygulanan Grup VI değerlerine kıyasla kontrol grubu değerlerine daha yakın olduğu belirlenmiştir. BFA uygulaması karaciğer MDA değerinin kontrol grubuna kıyasla 1.84 kat artmasına neden olurken BFA+Yeşil kahve (400 mg/kg) uygulaması bu artışı 1.46 kata geriletmiştir. Bu sonuç ile yeşil kahvenin 400 mg/kg dozunda karaciğer MDA düzeyi açısından BFA toksisitesini %20.6 oranında azalttığı belirlenmiştir. Bu sonuç ile Yeşil kahve özütünün koruyucu rolü ortaya çıkarılmıştır.

**Tablo 3.2.** Bisfenol A'nın MDA ve GSH düzeylerine etkisi

	Karaciğer MDA (nmol/g)	Böbrek MDA (nmol/g)	Karaciğer GSH (mg/g)	Böbrek GSH(mg/g)
Grup I	2.30±0.41 <sup>c</sup>	2.72±0.31 <sup>d</sup>	0.48±0.07 <sup>a</sup>	0.61±0.06 <sup>a</sup>
Grup II	2.39±0.51 <sup>c</sup>	2.77±0.35 <sup>d</sup>	0.47±0.09 <sup>a</sup>	0.60±0.04 <sup>a</sup>
Grup III	2.40±0.47 <sup>c</sup>	2.79±0.32 <sup>d</sup>	0.44±0.08 <sup>a</sup>	0.60±0.06 <sup>a</sup>
Grup IV	4.24±0.33 <sup>a</sup>	4.49±0.38 <sup>a</sup>	0.24±0.03 <sup>b</sup>	0.25±0.04 <sup>d</sup>
Grup V	3.85±0.46 <sup>ab</sup>	3.91±0.42 <sup>b</sup>	0.27±0.04 <sup>b</sup>	0.33±0.06 <sup>c</sup>
Grup VI	3.37±0.51 <sup>b</sup>	3.47±0.32 <sup>c</sup>	0.31±0.03 <sup>b</sup>	0.41±0.05 <sup>b</sup>

- Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



**Şekil 3.2.** Bisfenol A'nın MDA ve GSH düzeylerine etkisi



#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hızlı sanayileşme ve endüstriyel gelişim ve bu gelişimlere bağlı olarak kullanılan kimyasal ürünler artan talebi karşılamak amacıyla her geçen gün artmaktadır. Pek çok endüstriyel ürünlerde bulunan ve vücudumuza yabancı olan bu tür kimyasallar oral, inhalasyon, deri emilimi ve parenteral enjeksiyon gibi çeşitli yollarla vücuda girebilmektedirler. Gıda paketlenme, kozmetik sektörü, oyuncak üretimi, çanta ve ayakkabı yapımı, ilaçlarda ve medikal ürünlerde sıkça kullanılan bazı katkı maddeleri endokrin sistem üzerine olumsuz etki etmekte ve bu bileşikler endokrin bozucular olarak adlandırılmaktadır (2). BFA pek çok üründe yaygın bir şekilde kullanılan sentetik endokrin bozucular sınıfında yer alan bir kimyasaldır. Endokrin sistemle birlikte özellikle üreme sistemi üzerine olumsuz etkilere sahiptir. Bununla birlikte anjiogenezde de rol oynadığı, hücre sinyal sistemini reseptörlere bağlanarak bloke ettiği ya da değiştirdiği bilinmektedir (18,35).

Bu çalışmada BFA'nın albino farelerde bazı biyokimyasal parametreler üzerine toksik etkileri incelenmiş, BFA'nın oluşturabileceği etkiler üzerine Yeşil kahvenin koruyucu rolü de araştırılmıştır. Bu kapsamda BFA'nın albino farelerde kreatinin, AST, ALT, BUN ve kreatinin parametreleri üzerine etkisi incelenirken, izole edilen karaciğer ve böbrek dokularında MDA ve GSH düzeyleri de araştırılmıştır.

Pek çok kimyasal ajanın biyokimyasal etkilerinin değerlendirilmesinde klinik enzimlerden yararlanılmaktadır. Klinik değerlendirmede ekstraselüller enzimlerden daha çok hücresel enzimler kullanılmaktadır. ALT, çalışmalarda karaciğer hastalıklarının belirlenmesi için kullanılan hepatik kökenli bir enzimdir. Karaciğer hasarları ile seviyesi yükselmektedir. ALT enzimi, karaciğer dışındaki dokularda düşük konsantrasyonda olduğu için yüksek serum ALT seviyelerinin karaciğer hasarı ile ilgili olduğu düşünülmektedir (46).

ALT enzimi genellikle AST enzimi ile paralel olarak artış göstermektedir. AST, çoğunlukla karaciğer ve böbrek dokularında hasar oluşması durumlarında artan

bir enzimdir. Özellikle hepatobiliyer, siroz ve metastatik karsinoma rdurumlarında seviyesi artmaktadır (47). AST, karaciğer, kalp ve iskelet kasında, böbrek, pankreas ve eritrositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu dokularda herhangi bir hasar durumunda AST kana salınır ve serum seviyesi yükselmektedir (48).

Bu çalışmada albino farelerde BFA uygulamasının AST ve ALT düzeylerini arttırdığı belirlenmiştir. BFA uygulamasının sebep olduğu bu artış karaciğer hasarına işaret etmektedir ve bu hasar sonucu karaciğer enzimleri seruma geçmekte ve serum düzeylerinde artışa neden olmaktadır. BFA toksisitesi üzerine yapılan çalışmalar daha çok endokrin ve üreme sistemine etkileri üzerinedir. Kan parametreleri ve oksidatif hasar üzerine etkileri başlığında çalışma oldukça azdır. Zeinab ve arkadaşları 50 mg/kg BFA uyguladıkları sıçanlarda ALT, ALP ve total bilirubin düzeyinde artış rapor etmişlerdir (49).

Çalışma kapsamında ALT ve AST enzimleri ile birlikte BFA uygulamasının Kreatinin ve BUN düzeyi üzerine etkileri de incelenmiştir. Kreatin metabolizması sonucu oluşan kreatininin serumdaki artışı, yapılarındaki artıştan ya da idrarla atılımındaki azalıştan kaynaklanmaktadır. Böbrek işlevlerini değerlendirmede serum kreatinin ve BUN değerlerinin bilinmesi çok önemlidir. BUN testi ve kreatinin testi genelde beraber yapılmaktadır. Kreatinin testi, kandaki mevcut kreatinin seviyesini saptamaktadır. Yüksek kreatinin seviyesi böbrek fonksiyonlarının zayıfladığına işaret etmektedir. BUN seviyesinin kreatinin seviyesine oranı, zayıf böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesine imkan sağlamaktadır. İlerlemiş böbrek fonksiyon hastalıklarında kreatinin ve BUN miktarlarında artış gözlenmektedir. Çalışmamızda BFA uygulamasının farelerde serum kreatinin ve BUN düzeyini önemli derecede arttırdığı belirlenmiştir. Bu artış BFA uygulamasının börek fonksiyonunda bozulmalara neden olması ile açıklanabilir. Literatürde de benzer şekilde bozulmuş böbrek fonksiyon kaybının artmış serum kreatinin ve BUN düzeyi ile sonuçlandığı rapor edilmektedir. Yapar ve arkadaşları (50), uranyum uygulaması verdikleri farelerde serum kreatinin düzeylerinin istatikselsel olarak arttığını rapor etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Çavuşoğlu ve arkadaşları (51), kadmiyum uygulaması alan farelerde serum

kreatinin ve BUN düzeylerinin kontrol grubuna oranla önemli derecede arttığını, arı sütü uygulamasının ise kreatinin seviyelerini kadmiyum uygulanan gruba kıyasla azalttığını rapor etmişlerdir.

Karaciğer enzimlerindeki artış ve BUN-kreatinin parametrelerindeki değişim BFA maruziyeti sonucu serbest radikal oluşumu ile açıklanabilir. BFA'nın serbest radikal oluşumuna yol açarak karaciğer, böbrek ve beyinde hasara yol açtığı rapor edilmektedir (52).

Serbest radikaller hücre membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır. Lipid peroksidasyonu membranda çeşitli zincir reaksiyonlarını başlatır ve aktif ara moleküllerin oluşumu gerçekleşir. Bunlardan en önemlisi Malondialdehidtir (MDA). MDA hücre düzeyinde metabolize edilmekte, diffüze olmakta ve diğer hücrelerde hasar yaratmaktadır. MDA pek çok hücrede membran bütünlüğünün bozulmasına neden olmakta ve bunun sonucunda lizozomal membranlarda yırtılmaya, hücre membran bütünlüğünün kaybına neden olmaktadır. Ayrıca MDA proteinlerin amino gruplarına ataklar yaparak molekül içi ya da proteinler arası bağlar oluşturarak protein yapısını bozmaktadır. Özellikle zarda bulunan integral ya da periferik proteinler üzerinde oluşturdukları hasarlar, bazı hücrelerde permeabiliteyi artırarak hücrenin ölümüne yol açmaktadır (53,54). Bu anlamda pek çok çalışmada MDA lipid peroksidasyonunun araştırılmasında önemli bir parametredir. Bu çalışmada da BFA uygulaması alan farelerde MDA düzeyi araştırılmış ve BFA uygulaması alan gruplarda karaciğer ve böbrek dokularında MDA düzeyinin kontrole oranla yüksek olduğu belirlenmiştir. MDA düzeyindeki bu artış, BFA ve yarattığı oksidatif hasar ile ilişkilendirilebilir.

Kourouma ve arkadaşları BFA uyguladıkları sıçanlarda fertilité oranının düştüğünü belirtmişler bu durumu BFA uygulaması sonucu oluşan serbest radikallerin etkisi ile spermatazoada oluşan oksidatif hasar ile ilişkilendirmişlerdir (55).

BFA toksisitesini belirlemede kullanılan diğer bir parametrede karaciğer/böbrek GSH düzeyidir. Hücre içi ortamın en önemli antioksidan molekülü olan redükte

glutasyonun antioksidan aktivite dışında kimyasalların detoksifikasyonunda, aminoasitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril gruplarının indirgenmesinde görev almaktadır (56). Redükte formdaki GSH hidrojen peroksit veya lipid peroksitlerle reaksiyona girerek detoksifikasyonda rol alırken, kendisi ikinci bir GSH molekülüyle disülfid bağı kurarak okside glutasyon (GS-SG) formuna dönüşmektedir. GSH"ın bilinen tüm fonksiyonunu yerine getirebilmesi için redükte formuna geri dönüştürülmesigerekmektedir (57). Bu çalışmada BFA uygulaması sonrasında karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin belirgin derecede azaldığı gözlenmiştir. Bu azalma GSH sentezindeki azalma ya da okside GSH"ın düzeyinin artması ile açıklanabilir. GSH üzerine pek çok toksik ajanların etkilerinin incelendiği çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (58,59).

Çalışmamızda BFA"nın toksik etkisi yanında yeşil kahvenin koruyucu etkisi de incelenmiştir. BFA uygulaması ile birlikte verilen yeşil kahvenin kan parametrelerinde yeniden düzelmeye, BFA toksisite düzeyinin azalmasına neden olduğu belirlenmiştir.Bu sonuçlar yeşil kahvenin koruyucu özelliğini ortaya koymaktadır.

Yeşil kahve içerik olarak su, karbohidrat, protein, serbest aminoasit, lipid, mineral, organik asit, klorojenik asit, trigonelin ve kafeinden oluşmaktadır. Antosiyanin ve lignin gibi fenolik bileşikler de içermektedir (7).

Yeşil kahve normal kahveden farklı olarak yüksek ısıda kavrulmadığı için daha yüksek antioksidan özelliğe sahiptir (36). Yeşil kahve içeriğinde bulunan trigonellin nikotinik asidin enzimatik metilasyonu sonucunda oluşan bir alkaloiddir (42). Alkaloidlerinde antioksidan rolü olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte kafein metabolitlerinden 1-metilksantin ve 1-metilürat antioksidan özellik sergilemektedir (40).

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize etmek için karşılıklı etkileşim halinde olan endergonik ve ekzergonik kaynaklı, çok çeşitli bileşiklerdir. Antioksidanlar lipid peroksidasyonunu ve DNA yapısında oluşabilecek hasarları engellemektedir. Ayrıca antioksidanlar metal iyonlarını bağlayarak ve GSH düzeyini de arttırarak serbest radikallerin oluşumunu ve etkilerini de azaltmaktadır. Bu çalışmada BFA toksisitesine karşı yeşil kahvenin toksik etkileri azalttığı belirlenmiştir. Bu

koruyucu etki yeşil kahve içeriğindeki metabolitlerin antioksidan aktiviteleri ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler endokrin bozucu olarak bilinen BFA'nın Swiss albino farelerde seçilen biyokimyasal parametreler üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu belirlenmiştir. BFA'nın bu toksik etkisi hücrede oluşturduğu oksidatif hasar ile ilişkilendirilmiştir. Vücuda dışardan alınan kimyasalların toksisitesi farklı koruyucu bileşenler kullanılarak azaltılabilmektedir. Bu çalışmada Yeşil kahvenin BFA toksisitesine karşı koruyucu etkisi incelenmiş ve BFA uygulaması ile değişen kan parametrelerinin Yeşil kahve uygulaması ile normal düzeylere yaklaştığı belirlenmiştir. Bu kapsamda yeşil kahvenin BFA tarafından oluşturulan toksisiteye karşı koruyucu özellik sergilediği belirlenmiştir. Bu veriler ışığında, doğal ürünlerin kimyasalların insan sağlığı üzerindeki etkilerini azaltmak amacıyla "toksikite sınırlayıcı/azaltıcı ajan" olarak kullanılabilirliği araştırılmalı ve sonuçların literatürde paylaşılması son derece önemlidir.

## KAYNAKLAR

1. [http://www.kmo.org.tr/resimler/ekler/24396bb0fc8d94f\\_ek.pdf?tipi=2&turu=H&sub1](http://www.kmo.org.tr/resimler/ekler/24396bb0fc8d94f_ek.pdf?tipi=2&turu=H&sub1)
2. Bigsby, R., Chapin, R.E., Daston, G.P. et a. 1999. Evaluating the effects of endocrine disruptors on endocrine function during development. *Environ Health Perspect*107: 613-8.
3. Koçer-Gümüsel, B.,Erkekoğlu, P.,Aşcı, A., BalcıA., Yaman, Ü. Endokrin Bozucu Kimyasal Maddeler ve Obezite Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi: Ftalatlar ve Bisfenol A (S10). *Türk Toksikoloji Derneği* no:41.
4. Akingbemi, B.T., Sottas, C.M., Koulova, A.I., Klinefelter, G.R., Hardy, M.P. 2004.Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *Endocrinology*145: 592–603.
5. Lee, M.M.2007. A Current Review of Pediatric Endocrinology.*Endocrine Disrupters*,109-18.
6. Kelce, W.R., Wilson, E.M. 2001. Antiandrogenic Effects of Environmental Endocrine Disruptors. In: Metzler M (ed). *The Handbook of Enviromental Chemistry, Endocrine Disruptors Part 1*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg p. 39-61.
7. Mazzafera, P., Baumann, T. W., Shimizu, M. M. 2009. Decaf and the steepchase towards decaffito the coffee from caffeine-free Arabica plants. *Tropical Plant Biol.* 2, 63–76
8. Metzler, M., Pfeiffer, E. 2001. Chemistry of Natural and Anthropogenic Endocrine Active Compounds. In: Metzler M (ed). *The Handbook of Enviromental Chemistry, Endocrine Disruptors Part 1*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg p.63-80.
9. Yeşilkaya, E. 2008. Endokrin Bozucular. *Güncel Pediatri*6: 76-82
10. Giusti, R.M., Iwamoto K., Hatch, E.E. 1995. Diethylstilbestrol revisited: a review of the long-term health effects. *Ann Intern Med.* 122: 778-88.

11. [http://www.greenpeace.org/international/community\\_images/84/2284/119287\\_201246.jpg](http://www.greenpeace.org/international/community_images/84/2284/119287_201246.jpg)
12. Solomon, G.M., Schettler, T. 2000. Environment and health. 6. Endocrine disruption and potential human health implications. *CMAJ Canadian Medical Association Journal* 116:1467-74.
13. Setchell, K.D.R., Cassidy, A. 1999. Dietary isoflavones-biological effect and relevance to human health. *J. Nutrition* 129:758-767.
14. W Dixon, R.A., Ferreira, D. 2002. Molecules of interest. *Phytochemistry* 60:205-211
15. Dodds, E., Lawson, W. 1936. Synthetic, oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature* 137:996.
16. Alonso-Magdalena, P., Ropero, A.B., Soriano, S., et al. 2012. Bisphenol-A acts as a potent estrogen via non-classical estrogen triggered pathways. *Mol Cell Endocrinol* 355: 201-207.
17. Greiner E, Kaelin T, Toki G. Bisphenol A. *A Chemical Economics Handbook*. Menlo Park, CA: SRI Consulting, 2004.
18. MacLusky, N.J., Hajszan, T., Leranath, C. 2005. The environmental estrogen bisphenol-A inhibits estrogen-induced hippocampal synaptogenesis. *Environ Health Perspect* 113: 675-679.
19. Braun, J.M., Yolton, K., Dietrich, K.N. 2009. Prenatal bisphenol A exposure and early childhood behavior. *Environ Health Perspect* 117: 1945-1952.
20. Zoeller, R.T., Bansal, R., Parris, C. 2005. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology* 146:607-612.
21. Kashiwagi, K., Furuno, N., Kitamura, S. 2009. Disruption of thyroid hormone function by environmental pollutants. *J Health Sci* 55: 147-160.
22. Alonso-Magdalena, P., Vieira, E., Soriano, S. 2010. Bisphenol A exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male offspring. *Environ Health Perspect* 118: 1243-1250.
23. Hugo, E.R., Brandebourg, T.D., Woo, J.G., Loftus, J., Alexander, J.W., Ben-Jonathan, N. 2008. Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits

adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes.

Environ Health Perspect 116: 1642-1647.

24. Masuno, H., Iwanami, J., Kidani, T., Sakayama, K., Honda, K. 2005. Bisphenol A accelerates terminal differentiation of 3T3-L1 cells into adipocytes through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Toxicol Sci*84: 319-327.
25. Takahashi, O., Oishi, S. 2003. Testicular toxicity of dietarily or parenterally administered bisphenol A in rats and mice. *Food Chem Toxicol* 41: 1035- 1044.
26. US Department of Health and Human Services. NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A. September 2008 NIH Publication No. 08 5994.
27. Verner, M., Magher, T., Haddad, S. 2009. High concentrations of commonly used drugs can inhibit the in vitro glucuronidation of bisphenol a and nonylphenol in rats. *Xenobiotica*40: 83-92.
28. Ginsberg, G., Deborah, C., Rice, G., Rice, D.C. 2009. Does rapid metabolism ensure negligible risk from bisphenol A. *Environ Health Perspec*117: 1639-1643.
29. Honma, S., Suzuki, A., Buchanan, D.L., Katsu, Y., Watanabe, H., Iguchi, T. 2002. Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female Mouse reproduction. *Reprod Toxicol* 16: 117-122.
30. Markey, C.M., Wadia, P.R., Rubin, B.S., Sonnenschein, C., Soto, A.M. 2005. Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract. *Biol Reprod* 72: 1344-1351.
31. Muñoz-de-Toro, M., Markey, C.M., Wadia, P.R., et al. 2005. Perinatal exposure to bisphenol-A alters peripubertal mammary gland development in mice. *Endocrinology*146: 4138-4147.
32. Hunt, P.A., Koehler, K.E., Susiarjo, M. 2003. Bisphenol A exposure causes meiotic aneuploidy in the female mouse. *Curr Biol*. 13: 546-553.
33. Kawai, K., Takehiro, N., Nishikata, H., Aou, S., Takii, M., Kubo, C. 2003. Aggressive behavior and serum testosterone concentration during the



maturation process of male mice: the effects of fetal exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect* 111: 175-178.

34. Liu, J., Jin, X., Zhao, N., Ye, X., Ying, C. 2015 Feb 7. *J Appl Toxicol*.
35. Powell, J.A., Mohamed, S.N., Kerr, J.S., Mousa, S,A.2000. Antian- giogenesis efficacy of nitric oxide donors. *J Cell Bio- chem*80(1):104-14.
36. <http://www.doktorsitesi.com/makale/yesil-kahve-nedir-faydalari-nelerdir>
37. Bekedam, E. K., Loots, M. J., Schols, H. A., Van Boekel, M. A. J. S., Smit, G. 2008. Roasting effects on formation mechanisms of coffee brew melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* 56, 7138–7145.
38. [http://www.ift.org/~media/Knowledge%20Center/Publications/Books/Samples/IFTPressBook\\_Coffee\\_PreviewChapter.pdf](http://www.ift.org/~media/Knowledge%20Center/Publications/Books/Samples/IFTPressBook_Coffee_PreviewChapter.pdf)
39. Trugo, L. C., Macrae R. 1984. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chem.* 15, 219– 227
40. [http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/bcbff5c1f1ded46\\_ek.pdf?dergi=11](http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/bcbff5c1f1ded46_ek.pdf?dergi=11)
41. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/53/Caffeine\\_and\\_adenosine.svg/3095px-Caffeine\\_and\\_adenosine.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/53/Caffeine_and_adenosine.svg/3095px-Caffeine_and_adenosine.svg.png)
42. Trugo, L. C.,Caballero, B., Finglas, P. M., eds. 2003. *Coffee Analysis*. In: *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, Oxford, UK. Oxford Academic Press Vol. 2, p. 498.
43. Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T., Mori, M. 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gyn.* 135, 372-376.
44. Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 61: 882-888.
45. Boyne, A.F., Ellman, G.L. 1972. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. *Anal Biochem.* 46: 639-53
46. <http://www.karaciger.gen.tr/karaciger-enzimleri-neden-yukselir.html>
47. Henry, J.B. 1974. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method* W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA p. 332-335.
48. 1.Rosalki SB, McIntyre N. Biochemical investigations in the management of liver disease. In: J Bircher, JP Benhamou, N McIntyre, M Rizzetto, Editors.

Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Volume 1, Second ed. Oxford University Press, 1999; 503-521. 2. Friedman LS, Martin P, Munoz SJ. Laboratory evaluation of the patient with liver disease. In D. Zakim, TD. Boyer, Editors. Hepatology, A Textbook of Liver Disease. Volume 1, Fourth ed. Philadelphia. Saunders 2003; 661-708.)

49. Zeinab, K. H., Mai, A. E., Promy, V., Sawsan A. O., Maha, El-A., Maha, H. D., Ebtisam M. A. 2012. Bisphenol A Induces Hepatotoxicity through Oxidative Stress in Rat Model *Oxid Med Cell Longev* 2012: 194829.
50. Yapar, K., Çavuşoğlu, K., Oruç, E., Yalçın, E. 2010. Protective Role of Ginkgo biloba Against Hepotoxicity and Nephrotoxicity In Uranium-Treated Mice. *Journal of Medicinal Food*. 13 (1): 179–188.
51. Çavuşoğlu, K., Yapar, K., Oruç, E., Yalçın, E. 2010. Protective Effect of Royal Jelly on Some Biochemical Parameters in Cadmium-Treated Albino Mice. *Fresenius Environmental Bulletin*. 19 (10): 2164-2169.
52. Mariam, G. E. , Hala F. O. 2014. Biological Effects of Chitosan against Bisphenol- A Induced Endocrine Toxicity and Androgen Receptor Gene Expression Changes in Male Rats. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 6(4): 300-311
53. Cheeseman, K.H, Slater, T.F. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 49(3):481-93.
54. Porter, N.A. 1984. Chemistry of Lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 105: 273-82.
55. Kourouma, A., Peng, D., Chao, Q., Lopez, M.Y., Changjiang, L., Chengmin, W., Wenjuan, F., Suqin, Q., Tingting, Y., Kedi, Y. 2014. Bisphenol A induced reactive oxygen species (ROS) in the liver and affect epididymal semen quality in adults Sprague-Dawley rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences* vol. 6 (4), pp. 103-112.
56. Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., J. J. Gens, G. 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med*; 13: 341-90.

- 57.** Akkuş, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. s. 3-10, 1. Baskı, Mimoza Yayınları. Konya.
- 58.** Gürer, H., Özgüneç, H., Neal, R., Spitz, D.R., Erçal, N. 1998 . Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. Toxicology, 128: 181-189.
- 59.** Zhou, Z.Y., Sugawara, K., Mawatari, K., Matsukawa, T., Liu, Z.W., Devadas, M., Kato, S. 2001. Reactive oxygen species uncouple external horizontal cells in the carp retina and glutathione couples them again. Neuroscience, 102:959-967.



## ÖZGEÇMİŞ

1985 Yılında Rize’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Giresun’da tamamladı.2005 Yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2009 yılında mezun oldu. 2012 Yılından itibaren Çalışma ve İş Kurumu’nda İş ve Meslek Danışmanı olarak çalışmaktadır. 2014 Yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programını Ocak 2016’da tamamladı.

