

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

1,4-DİOKSAN VERİLEN ALBİNO FARELERDE YEŞİL ÇAYIN

BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ

ELİF ÖZEN

ŞUBAT

2012

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

13/03/2012

Doç. Dr. M. Serkan SOYLU



Müdür

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

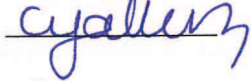
Prof. Dr. İhsan AKYURT



Anabilim Dalı Başkanı

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

Yrd.Doç.Dr.Emine YALÇIN



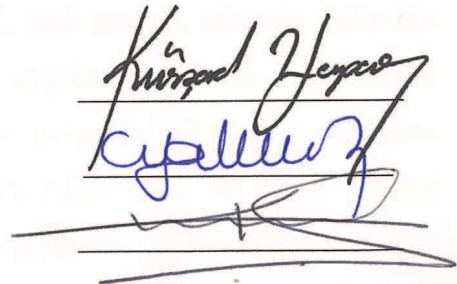
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç.Dr.Kürşad YAPAR

Yrd.Doç.Dr. Emine YALÇIN

Doç.Dr.Kültiğın ÇAVUŞOĞLU



## ÖZET

### 1,4-DİOKSAN VERİLEN ALBİNO FARELERDE YEŞİL ÇAYIN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ

ÖZEN, Elif

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Emine YALÇIN

ŞUBAT 2012, 60 sayfa

Bu çalışmada 1,4-Dioksanın ( $C_4H_8O_2$ ) albino farelerde bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. 1,4-Dioksanın toksik etkisine karşı yeşil çay 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 (10 hafta) I. gruba pellet yem ve çeşme suyu, II. gruba 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay, III. gruba 100mg/kg.ca dozunda yeşil çay, IV. gruba 720mg/kg.ca dozunda 1,4- Dioksan, V. gruba 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay, VI. gruba 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca dozunda yeşil çay verilmiştir. Uygulama süresi sonunda farelerin kan örnekleri alınarak serum örnekleri elde edilmiştir. Serum örneklerinde ALT, AST, GGT, total protein, albumin, bilirubin ve kreatinin parametreleri incelenmiştir. Ayrıca her uygulama grubuna ait karaciğer dokuları izole edilmiş ve GSH, MDA analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda 1,4-Dioksan uygulanan gruplarda serum ALT, AST ve GGT plazma seviyelerinde

önemli değişimler gözlenmiştir. Bu değişimler 1,4-Dioksanın hücreler üzerindeki muhtemel toksik etkileri ile açıklanabilir. Benzer şekilde 1,4-Dioksan uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla MDA ve bilirubin seviyelerinde artış gözlenirken, GSH, albumin ve total protein seviyelerinde azalmanın olduğu tespit edilmiştir. 1,4-Dioksan ile birlikte yeşil çay uygulanan gruplarda ise MDA ve bilirubin düzeylerinin IV. gruba kıyasla daha düşük olduğu, GSH ve albumin düzeylerinin ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar yeşil çayın toksik ajanlara karşı koruyucu etkisini desteklemektedir.

**Anahtar kelimeler:** 1,4-Dioksan, malondialdehit, glutatyon, AST, ALT, GGT, kreatinin

## ABSTRACT

### THE PROTECTIVE EFFECT OF GREEN TEA ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN MICE EXPOSED TO 1,4-DIOXANE

ÖZEN, Elif

University of Giresun

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Asist.Prof. Dr.Emine YALÇIN

FEBRUARY 2012, 60 pages

In this study, the effects of 1,4-Dioxane ( $C_4H_8O_2$ ) on some biochemical parameters in albino mice were investigated. Green tea was selected as a protective agent against the toxic effects of 1,4-Dioxane and Green tea 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 (10 week), group I treated with tap water, group II treated with 50mg/kg.bw green tea, group III treated with 100mg/kg.bw green tea, group IV treated with 720mg/kg.bw 1,4- Dioxane, group V treated with 50mg/kg.bw green tea+ 720mg/kg.bw 1,4-Dioxane, group VI treated with 100mg/kg.bw green tea+ 720mg/kg.bw 1,4-Dioxane. At the end of the experiment, blood samples were collected and then the serum samples were obtained. ALT, AST, GGT, total protein, albumin and creatinin parameters were investigated in serum samples. And also liver tissues were isolated and MDA, GSH analysis were performed.

As a result of study, important alterations were observed in ALT, AST and GGT levels of 1,4-Dioxane treated group. This alterations can be explained by the potential

toxic effects of 1,4-Dioxane on cells. Similiarly, an increase was observed in MDA and bilirubin levels of 1,4-Dioxane treated group and a decrease was observed in GSH, albumin and total protein levels compared to control. We found that MDA and bilirubin levels of 1,4-Dioxane + green tea treated groups were significantly lower then in IV. group subjects and GSH and albumin levels were higher. The protective effects of green tea against toxic agents were supported from these results.

**Anahtar kelimeler:** 1,4-Dioxane, malondialdehyde, glutation, AST, ALT, GGT, creatinine

## TEŞEKKÜR

Tez alıőmamın tım aőamalarında her tırlı bilimsel desteği sağlayan değerli hocam Yard.Do.Dr. Emine YALIN'a , bilgi birikimleri ve değerli gırıőleriyle katkı sağlayan değerli hocalarım Do. Dr. Kultiğin AVUŐOęLU'na ve Doç. Dr. Kırőad YAPAR'a, tez çalıőmamın deney aőamalarında bana yardım eden Figen ÇİÇEK'e, Melek AYDOğAN'a, Birgöl GÜR'e ve Tuğba AYDIN'a, tez metnimin dzenlemesinde yardımlarını esirgemeyen Delal ÖZEN'e, Arife KARAMAN'a, Sevgi BULAN'a ve Erdoğan ÇOKLUK'a, çevirilerin dzenlenmesinde yardım eden Meltem ÖZEN'e teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalıőmamın her aőamasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen anneme ve tım kardeőlerime de teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|  |     |
|--|-----|
| ÖZET.....  | I   |
| ABSTRACT.....  | III |
| TEŞEKKÜR.....  | V   |
| İÇİNDEKİLER .....                                    | VI  |
| TABLolar DİZİNİ.....                                 | IX  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                 | X   |
| KISALTMALAR DİZİNİ .....                             | XI  |
| 1. GİRİŞ.....  | 1   |
| 1.1. Ksenobiyotikler.....                            | 2   |
| 1.2. Ksenobiyotiklerin Etki Mekanizması.....         | 3   |
| 1.3. 1,4-Dioksan.....                                | 5   |
| 1.4. 1,4-Dioksanın Kimyasal Etkileri.....            | 6   |
| 1.4.1. 1,4-Dioksanın Lipitlere Etkisi.....           | 8   |
| 1.4.2. 1,4-Dioksanın Proteinlere Etkisi.....         | 10  |
| 1.4.3. 1,4-Dioksanın Dokular Üzerine Etkisi.....     | 12  |
| 1.4.3.1. 1,4-Dioksanın Karaciğer Üzerine Etkisi..... | 12  |
| 1.4.3.2. 1,4-Dioksanın Böbrekler Üzerine Etkisi..... | 13  |
| 1.5. Doğal Antioksidanlar.....                       | 14  |
| 1.5.1. Yeşil Çay.....                                | 16  |



|   |    |
|---|----|
| 1.6. Literatürde Mevcut Çalışmalar .....                          | 19 |
| 2. MATERYAL VE METOD.....   | 22 |
| 2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....                            | 22 |
| 2.2. Hayvanların Temini ve Grup Oluşturma Prensipleri.....        | 22 |
| 2.3. Albumin Tayini ve Prensibi.....                              | 23 |
| 2.4. Total Protein Tayini ve Prensibi.....                        | 24 |
| 2.5. Total Bilirubin Tayini ve Prensibi.....                      | 24 |
| 2.6. Kreatinin Tayini ve Prensibi .....                           | 24 |
| 2.7. GGT, AST, ALT Tayini ve Prensibi.....                        | 25 |
| 2.7.1. GGT Tayini ve Prensibi.....                                | 25 |
| 2.7.2. AST Tayini ve Prensibi.....                                | 26 |
| 2.7.3. ALT Tayini ve Prensibi.....                                | 26 |
| 2.8. MDA Tayini ve Prensibi.....                                  | 27 |
| 2.9. GSH Tayini ve Prensibi.....                                  | 27 |
| 2.10. İstatistiksel Analiz.....                                   | 28 |
| 3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....                                       | 29 |
| 3.1. 1,4-Dioksanın Albumin Düzeyine Etkisi.....                   | 29 |
| 3.2. 1,4-Dioksanın Total Protein Düzeyine Etkisi.....             | 30 |
| 3.3. 1,4-Dioksanın Total Bilirubin Düzeyine Etkisi .....          | 31 |
| 3.4. 1,4-Dioksanın Serum Kreatinin Düzeyine Etkisi.....           | 32 |
| 3.5. 1,4-Dioksanın GGT, AST ve ALT Değerleri Üzerine Etkisi ..... | 33 |

|  |    |
|--|----|
| 3.6. 1,4-Dioksanın Karaciğer MDA Düzeyine Etkisi. .... | 34 |
| 3.7. 1,4-Dioksanın Karaciğer GSH Düzeyine Etkisi ..... | 35 |
| 4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                             | 37 |
| KAYNAKLAR.....   | 46 |
| ÖZGEÇMİŞ.....  | 60 |

## TABLolar DİZİNİ

### TABLO

|  |    |
|--|----|
| 1.1. 1,4-Dioksanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....  | 6  |
| 1.2. Reaktif oksijen türleri .....   | 7  |
| 1.3. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri .....   | 8  |
| 1.4. Doğal antioksidanlar.....   | 15 |
| 1.5. Yeşil çayda bulunan bazı önemli bileşenler .....  | 17 |
| 1.6. Yeşil çayın fenolik madde kompozisyonu .....  | 18 |
| 1.7. Çay kateşinlerinin ve sekonder fenolik maddelerinin süperoksit ve hidroksil radikallerini yok etme yeteneği ..... | 19 |
| 2.1. Gruplar ve grup oluşturma prensibi.....   | 23 |
| 3.1. 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde GGT, AST ve ALT seviyesi üzerine etkisi.....                                  | 33 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

|  |    |
|--|----|
| 1.1. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu .....                                     | 10 |
| 3.1. 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde albumin seviyesi üzerine etkisi.....        | 29 |
| 3.2. 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde total protein seviyesi üzerine etkisi.....  | 30 |
| 3.3.1,4-Dioksan uygulamasının farelerde total bilirubin seviyesi üzerine etkisi..... | 31 |
| 3.4. 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde kreatinin seviyesi üzerine etkisi.....      | 32 |
| 3.5. 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde MDA seviyesi üzerine etkisi.....            | 35 |
| 3.6. 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde GSH seviyesi üzerine etkisi.....            | 36 |

## KISALTMALAR

|                               |                                   |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| ALT                           | Alanin aminotransferaz            |
| AST                           | Aspartat aminotransferaz          |
| CAT                           | Katalaz                           |
| GGT                           | Gamma-glutamil transferaz         |
| GSH                           | Redükte glutatyon                 |
| GSH-Px                        | Glutatyon peroksidaz              |
| GSSG                          | Okside glutatyon                  |
| GST                           | Glutatyon- S-Transferazlar        |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Hidrojen peroksit                 |
| HEAA                          | $\beta$ -hidroksietoksiasetikasit |
| LOOH                          | Lipit hidroperoksit               |
| MDA                           | Malondialdehit                    |
| MDH                           | Oksalasetat malat dehidrogenaz    |
| NO <sub>2</sub>               | Azotdioksit                       |
| O <sub>2</sub>                | Singlet Oksijen                   |
| O <sub>2</sub> <sup>·</sup>   | Süperoksit radikal                |
| OH <sup>·</sup>               | Hidroksil radikal                 |
| ROT                           | Reaktif oksijen türleri           |
| SOD                           | Süperoksit dismutaz               |

## 1. GİRİŞ

Gelişmiş ülkelerde artan endüstrileşmenin çevre ve insan sağlığı üzerine oluşturduğu risklerin çeşitli yönden değerlendirilmesi ve bu risklerin minimuma indirilmesi konusunda yoğun çabalar harcanmaktadır. Buna rağmen her geçen gün endüstriyel amaçlı kullanılan kimyasalların sayıları ve çeşitliliği de artmaya devam etmektedir. Bu artışın çevre ve insan açısından güvenilir olması için kullanılan kimyasalların biyolojik etkilerinin incelenmesi ve daha az toksik bileşikler kullanılması gerekmektedir. Bu sayede hem risk taşıyan kimyasalların etkilerinden korunmuş hemde bu kimyasalların oluşturdukları problemlerin çözümü için gerekli olan zaman ve maliyet ortadan kalkmış olacaktır. Teknolojik ve endüstriyel gelişmeler pek çok avantaj sağlarken beraberinde getirdiği olumsuz etkileri ile de hayatı tehdit eder duruma gelmiştir. Gelişen teknolojinin getirdiği üretim teknikleri ve tüketici beğenisinin çeşitlilik kazanması sonucunda, katkı maddelerinin pek çok endüstride kullanımı her geçen gün artmaktadır. Katkı maddeleri ve koruyucular, gıda sektörü başta olmak üzere endüstriyel ve medikal ürünlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Sağladığı avantajlara rağmen canlı organizmalar için yabancı olan ve ksenobiyotik olarak adlandırılan bu bileşiklerin toksik etki göstermesi önemli bir dezavantajdır. Ksenobiyotiklerin toksik etkisi çeşitli yollarla azaltılabilir. Canlı organizmalar bu toksik etkiyi minimum düzeye indirmek için çeşitli antioksidan sisteme sahiptir fakat endüstriyel gelişmeyle birlikte yüksek ksenobiyotik toksisitesine karşı bu koruyucu sistem yetersiz kalmakta ve hasarlar meydana gelmektedir. Yüksek oranda maruz kaldığımız bu endüstriyel kimyasalların olumsuz etkilerinden korunmak için eksojen antioksidan takviyesi alternatif bir çözüm olarak sunulabilir. Son yıllarda çoğunluğu bitkisel kaynaklı olan pek çok gıda maddesi antioksidan olarak kullanılabilirlik açısından test edilmektedir. Bu gıda maddesindeki antioksidan aktiviteler C vitamini, fenolik bileşikler, karotenoidler ve E vitamini gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Yeşil çay da yüksek polifenol içeriği ile güçlü bir antioksidandır.

Bu bilgiler ışığında çalışmada endüstriyel solventlerde, ilaç yapımında, herbisitlerde, antifriz ve kâğıt üretiminde sıkça kullanılan 1,4-Dioksanın albino farelerde bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece 1,4-Dioksanın muhtemel riskleri göz önüne serilmiş olacaktır. Bununla birlikte 1,4-Dioksan muhtemel toksik etkilerine karşı güçlü bir antioksidan olarak bilinen yeşil çayın koruyucu özelliği de araştırılacaktır.

### **1.1. Ksenobiyotikler**

Besin amaçlı doğal bileşikler dışında çeşitli yollarla vücuda giren ve vücuda yabancı olan bileşiklerin tümüne ksenobiyotik denir. Ksenobiyotik maddeler oral, inhalasyon, deriden emilim ve parenteral enjeksiyon gibi çeşitli yollarla vücuda girebilmektedir. Bazı ksenobiyotikler suda çözünebilir (hidrofilik) özellikte iken bazıları suda çözünür özellikte değildir (lipofilik). Hidrofilik ksenobiyotikler parçalandıktan sonra idrar ve safra ile kolayca dışarı atılabilmektedir fakat lipofilik ksenobiyotikler vücuttan kolayca atılamamaktadır. Bu nedenle lipofilik ksenobiyotikler idrar ve safra yolu ile atılabilecek suda çözünür bileşiklere dönüştürülmektedirler. Bu işleme ksenobiyotik metabolizması denir ve ksenobiyotik metabolizmasında temel organ karaciğerdir (1,2). Ksenobiyotikler biyolojik sistemlerde farklı etkiler göstermektedirler. Ksenobiyotiklerin oluşturduğu etki maruziyet ve ksenobiyotiğin mekanizması ile yakından ilişkilidir. Bu çok basamaklı etki süreci, kimyasal maruziyetle başlar, yapı ve fonksiyonlarda değişiklikler oluşturduktan sonra hastalık belirtileri ile sonuçlanır (3). Ksenobiyotiklerin toksik etkileri birkaç ana başlıkta incelenmektedir: İlk olarak ksenobiyotikler hücre ölümüne neden olabilecek kadar büyük bir hücre hasarı oluşturabilirler. Ksenobiyotiklerin sitotoksite oluşturmada kullandığı önemli yollardan biri ksenobiyotik metabolizması sonucu oluşan etkin yapıların hücredeki önemli makromoleküllere kovalent bağlanmasıdır. Ksenobiyotiğin bağlandığı makromolekülün fonksiyon kaybına uğraması ile sitotoksik etki oldukça hızlı bir şekilde ortaya çıkmaktadır (4).

## 1.2. Ksenobiyotiklerin Etki Mekanizması

Ksenobiyotiklerin hücredeki hedef molekülleri proteinler (reseptörler, enzimler, taşıyıcılar ve yapısal proteinler), lipitler ve nükleik asitlerdir. Bu moleküller ile etkileşimleri sonucu toksik etkiler meydana gelmektedir (5-9).

Ksenobiyotiklerin etki mekanizması şu şekilde sınıflandırılabilir:

1. Reseptörler ile etkileşimi
2. Membran fonksiyonunu etkileme
3. Hücresel enerji üretiminin engellenmesi
4. Biyomoleküllere kovalent bağlanma
5. Kalsiyum homeostazının bozulması

Plazma membranına, sitoplazmaya veya çekirdeğe yerleşmiş olan reseptörler fiziksel veya kimyasal sinyallerin hücreye aktarımına aracılık eden makro moleküllerdir. Reseptöre bağlanan ligand agonist ise reseptörün fizyolojik fonksiyonunu indükler antagonist ise de reseptör fonksiyonunu bloke eder. Her reseptör etkileştiği toksik maddelere kimyasal yapı bakımından seçicilik gösterir.

Hücre membranı farklı tipteki toksik maddelere maruz kaldığı zaman membran bütünlüğünün bozulmasına neden olabilir. Eter ve halotan gibi birçok madde hücre membranında birikir ve hücre içine oksijen ve glukoz taşıyan transport ile hücre içine girerler. Bu yüzden hücrelere oksijen ve glukoz taşınması azalır. Membranın organik solventler ve deterjanlar ile teması sonucunda ise membran ayrışması meydana gelebilir. Cıva ve kadmiyum iyonları fosfolipitler ile kompleks yapar ve membran yüzey alanını genişleterek onların fonksiyonlarının değişmesine neden olur. Kuvvetli asit ve bazlar hücre membranındaki proteinlerin denatürasyonuna sebep olur. Karbontetraklorür gibi birçok toksik maddenin nekrotik etkisinden dolayı hücre membran fonksiyonu etkilenir ve membran bütünlüğü bozulur buna bağlı olarak hücre fonksiyonu durur.



Birçok ksenobiyotik toksik etkisini, hücrel enerji oluşumunu engelleyerek gösterir. Hücrenin pek çok yapım ve yıkım reaksiyonları için ATP formundaki yüksek enerjili fosfat gereklidir. ATP oksidatif fosforilasyon (aerobik yol) ve glikolitik yol (anaerobik yol) olmak üzere iki yolla üretilmektedir. Memeli hücrelerinde önemli olan oksidatif fosforilasyondur.

Nitritler gibi bazı oksidan maddeler hemoglobinde demir-2 iyonunun (ferro), demir-3 iyonuna (ferri) yükseltgenerek methemoglobin oluşturmasını ve dokulara oksijen taşınmasını engeller. Karbonmonoksit (CO), hemoglobindeki ferro kısmına bağlanarak oksijenin yerine geçer ve nitritlerde olduğu gibi dokularda da oksijen yetersizliğine neden olur. Siyanür, kükürt, hidrojen ve sodyum azid gibi maddeler sitokrom oksidaz enzimini inhibe ederek, dokularda oksijen kullanımını engeller.

Ksenobiyotiklerin elektroflik metabolitleri, nükleofilik gruplara kovalent bağlanarak onlarla irreversibl olarak reaksiyona girebilirler. Bu nükleofilik hedefler hücredeki protein, DNA ve lipit gibi makromoleküllerdir. Toksik maddelerin proteinlerle etkileşimi enzimin, taşıyıcının ve yapısal proteinlerin inaktivasyonu ile sonuçlanır. Karbonmonoksitin bir taşıyıcı protein olan hemoglobine bağlanması dokulara oksijen taşınmasının durmasına neden olur. Kollojen gibi ekstrasellüler yapısal proteinlerin toksik maddelerden etkilenmesi pek mümkün değildir. Ancak ozon ve asbest gibi bazı toksik maddeler akciğerlerde kollojen depolanmasında artışa neden olabilir. İntrasellüler yapısal proteinler arsenik ve paraquat gibi toksik maddeler tarafından hasara uğrayabilir. Toksik maddeler, enzimleri yarışmalı (kompetitif) veya yarışmasız (nonkompetitif) olmak üzere iki şekilde inhibe eder. Yarışmalı inhibisyonda, substrata yapıca benzeyen toksik madde, enzimin aynı aktif bölgesi için substratla yarışır. Toksik madde enzim kompleksi eğer kovalent bir bağ değilse reversibldir. Yarışmasız inhibisyonda, toksik madde enzimin hidroksil (-OH), sülfidril (-SH), amino (-NH<sub>2</sub>), imidazol gruplarına bağlanır. Bu durumda enzim normal substratı ile birleşse de enzim fonksiyonu durmuş olur. Yarışmasız inhibisyon çoğu kez irrevesibldir. İnhibe olan enzimin fonksiyonu, yeni enzim sentezine kadar durur. Cıva, arsenik, kurşun, bakır ve siyanür gibi çeşitli maddeler sülfidril grubu içeren enzimleri yarışmasız şekilde inhibe ederek toksik etki gösterir. Organofosforlu insektisitlerde asetilkolinesteraz enzimini irreversibl olarak inhibe eder. Toksik maddeler

(alkilleyici ajanlar gibi) ile DNA ve RNA arasındaki kovalent bağlanma kanser, mutasyon ve teratojenenezise neden olabilir. Aminoproterin ve metotreksat gibi antimetabolitler DNA ve RNA ile birleşebilir ve sonra onların replikasyonlarına katılırlar.

Hücre fonksiyonlarının yerine getirilmesinde hücre kalsiyum homeostazı oldukça önemlidir. Ekstraselüler  $Ca^{+2}$  seviyesi sitoplazma konsantrasyonundan 10 kat daha fazladır. Bu iyonik denge plazma membranına yerleşmiş  $Ca^{+2}$  taşıyıcı ATPaz, endoplazmik retikulum, mitokondri ve nükleusta intraselüler kalmoduline bağlanarak depo edilmesi ile korunur. Hücre içinde  $Ca^{+2}$  artması hücreye potansiyel zararlı etkilere sahip birçok enzimin aktif hale geçmesine sebep olur. Kalsiyumun artışı ile aktifleşen enzimler fosfolipazlar (membran hasarına yol açar), proteazlar ( membran ve hücre iskeleti proteinlerini parçalar ), ATPazlar ( ATP tüketilmesini hızlandırır) ve endonükleazlardır (kromatin parçalanması). Bu enzimler hücre hasara neden olurlar (5-9).

İlaçlar, kozmetikler, katkı maddeleri, renklendiriciler, tatlandırıcılar, endüstriyel kimyasallar ve atıklar organizmaya yabancı oldukları için ksenobiyotik olarak adlandırılmaktadır. Çalışmamızda toksik ajan olarak kullandığımız 1,4-Dioksan da endüstriyel bir ksenobiyotiktir.

### **1.3. 1,4-Dioksan**

1,4-Dioksan dört karbon atomu ve iki oksijen atomu içeren halkalı bir eterdir. 1,4-Dioksanın dışında halkasında oksijen bulunduran 1,2-Dioksan ve 1,3-Dioksan olmak üzere iki Dioksan türü daha bulunmaktadır. 1,4-Dioksan su ile karışabilen, yüksek ısıda ve basınçta kararsız olan sentetik endüstriyel bir kimyasaldır (10). Güneş ışınları ile direkt olarak reaksiyon vermemektedir. Ancak atmosferde güneş ışınları 1,4-Dioksani değiştirip farklı yapıda bileşiklere dönüştürebilmektedir (11). 1,4-Dioksan ışığa ya da havaya maruz kaldığı zaman potansiyel bir patlayıcı gibi davranmaktadır (12).Doğada düşük oranda kaybolabilen polar organik bir bileşik olan Dioksan, p-Dioksan, dietilendioksit, dietileneter ve glikoletileneter ile benzerlik göstermektedir (13).

Endüstriyel bir solvent olarak kullanılabilen 1,4-Dioksan klorlanmayı önleyici etkisi ile solventleri sabitleştirmek için kullanılmaktadır (15). Aşırı hidrofilik bir solvent olduğu için 1,4-Dioksan bulunduğu ortamlarda difüze olabilmekte, hava, su ve toprak gibi ortamlarda yayılabilmekte (4), solunum ya da deriden difüzyon yoluyla vücuda alınabilmektedir. 1,4-Dioksan ve parçalanma ürünü olan  $\beta$ -hidroksi etoksiasetikasit (HEAA) vücuttan idrar yolu ve soluma yolu ile dışarı atılabilmektedir (16). 1,4-Dioksana ait fiziksel ve kimyasal özellikler Tablo 1.1.'de özetlenmiştir. Endüstriyel solventler; elektroniklerde, temizleyicilerin yapısında, ilaç yapımında, herbisitlerde, antifriz ve kâğıt üretiminde sıkça kullanılmaktadır. 1.1.1-trikloroetani sabitlemek amacıyla kullanılan 1,4-Dioksan (15) şampuanlar, sıvı sabunlar, saç losyonlarında ve diğer kozmetik ürünlerde bulunmaktadır (17). Bunların dışında boyaların, greslerin, mumların ve verniklerin yapımında da endüstriyel amaçlı kullanılmaktadır (5,13,18).

**Tablo 1.1.** 1,4-Dioksanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (11,14).

| Özellik                      | Değer                 |
|------------------------------|-----------------------|
| Formülü                      | $C_4H_8O_2$           |
| Sınıfı                       | Solvent               |
| Fiziksel durumu              | Yanıcı sıvı           |
| MA (g/mol)                   | 88.10                 |
| Su çözünürlüğü (25 °C, mg/L) | Çözünür               |
| Kaynama noktası (°C)         | 760 mm Hg da 101.1 °C |
| Buhar basıncı (25 °C, mm Hg) | 38.1                  |
| Erime noktası (°C)           | 11.8                  |

#### 1.4. 1,4-Dioksanın Kimyasal Etkileri

1,4-Dioksanın parçalanması ile aldehitler (formaldehit, asetaldehit ve glioksal gibi) ve organik asitler (formik, metoksiasetik asit, glikolik, glioksilik ve oksalik gibi) meydana gelmektedir (19). Ester formatları serbest radikal mekanizması yolu ile peroksitlerin ve hidroperoksitlerin transformasyonu sonucu oluşmaktadır. 1,4-Dioksan ortam sıcaklığında moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksitlere ve hidroperoksitlere parçalanır. Ayrıca havada hidroksil radikalleri ile reaksiyona giren 1,4-Dioksan ayrılmakta ve radikalik ürünlere dönüşebilmektedir (21-23). Burmistrov ve arkadaşları (24), 6 grup sıçanı bir ay boyunca haftada 5 gün ve bu 5 günün her günü 4 saat olmak koşulu ile (solunum yolu ile) 1,4-Dioksana maruz bırakmışlardır. Sıçanlarda glutatyon peroksidaz aktivitesini incelemiş ve kontrol grubuna kıyasla önemli bir artış gözlemişlerdir. Elde ettikleri verilere göre 1,4-Dioksanın bariz bir şekilde serbest radikal oluşturduğunu rapor etmişlerdir.

**Tablo 1.2.** Reaktif oksijen türleri (20).

| Radikal olmayanlar             | Radikaller                            |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) | Süperoksit radikal ( $O_2^{\cdot}$ )  |
| Lipit hidroperoksit (LOOH)     | Hidroksil radikal ( $OH^{\cdot}$ )    |
| Hipohaloz asit (HOX)           | Peroksil radikal ( $ROO^{\cdot}$ )    |
| N-Halojenli aminler (R-NH-X)   | Alkoksil radikal ( $RO^{\cdot}$ )     |
| Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )    | Semikinon radikal (HQ)                |
| Ozon ( $O_3$ )                 | Hemoproteine bağlı serbest radikaller |
| Azotdioksit ( $NO_2$ )         |                                       |

1,4-Dioksanın moleküllere etkisi direkt ya da dolaylı yollardan olabilmektedir. 1,4-Dioksanın parçalanma ürünlerinin oluşturduğu dolaylı etki total etkiler içinde baskın olan bir yoldur. Parçalanma ürünlerinden biri olan formaldehit bir çapraz bağlayıcı ajandır ve karaciğer tarafından oksidasyon yolu ile formik asite çevrilmektedir. Çeşitli yollarda formaldehit çok düşük düzeylerde oluşmaktadır ve düşük düzeyde kaldığı sürece toksik etki göstermemektedir. Formaldehit yüksek düzeylerde amin gruplarına karşı yüksek reaktivite gösterir ve lipit, DNA ve protein gibi moleküllere karşı yapışkanlık özelliği sergiler (25). Davison ve Wajda (26), formaldehit uygulaması ile hücrelerde plazmolojen hidrolizine bağlı olarak plazmolojen kaybının olduğunu, fosfatidilserin miktarının ise azaldığını belirlemişlerdir. 1,4-Dioksan özellikle lipitler, proteinler ve nükleik asitler üzerine oldukça zararlı etkileri olan serbest radikal oluşmasına sebep olabilmektedir (24).

**Tablo 1.3.** Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri (20).

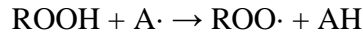
| <b>Moleküller</b>             | <b>Serbest Radikallerin zararlı Etkileri</b>  |
|-------------------------------|---|
| <b>Doymamış yağlar</b>        | Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon<br>Lipitlerde çapraz bağlanmalar<br>Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar |
| <b>Proteinler</b>             | Peptid zincirlerinde kopma ve Denatürasyon  |
| <b>Nükleik Asitler</b>        | Tek ve çift iplikçik kırılmaları<br>Proteinlerde çapraz bağlar<br>Baz içermeyen bölgeler                              |
| <b>Nükleik Asit Bazları</b>   | Hidroksilasyonlar, Mutasyonlar, kimyasal modifikasyonlar  |
| <b>Kükürtlü Amino Asitler</b> | Protein denatürasyonu ve çaprazlanma<br>Enzimlerde inhibisyon   |
| <b>Hyaluronik Asit</b>        | Sinovyal sıvı akışkanlığında değişmeler   |

### 1.4.1. 1,4-Dioksanın Lipitlere Etkisi

1,4-Dioksan, ortam sıcaklığında moleküler oksijenle reaksiyona girerek peroksitlere ve hidroperoksitler gibi radikalik bileşiklere dönüşmektedir. Hidroperoksitler lipit peroksidasyonu zincirini başlatarak yıkıcı etki göstermektedir. Lipitlerin otooksidasyonda ilk oluşan ana ürünlerin hidroperoksit ürünleri olduğu düşünülmektedir (27).

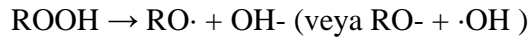
Hidroperoksitlerin bir zincir reaksiyonunu başlatabilmesi için üç temel mekanizma önerilmektedir (28):

1. Hidroperoksit, zincir reaksiyonuna katılabilecek bir peroksi radikalini (ROO·) oluşturmak üzere başlatıcı bir radikal (A·) ile reaksiyona girebilir.

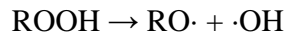


2. Hidroperoksit, bir metal iyonu veya farklı bir indirgenle alkoksi (RO·) radikalini oluşturmak üzere indirgenebilir.

[H]



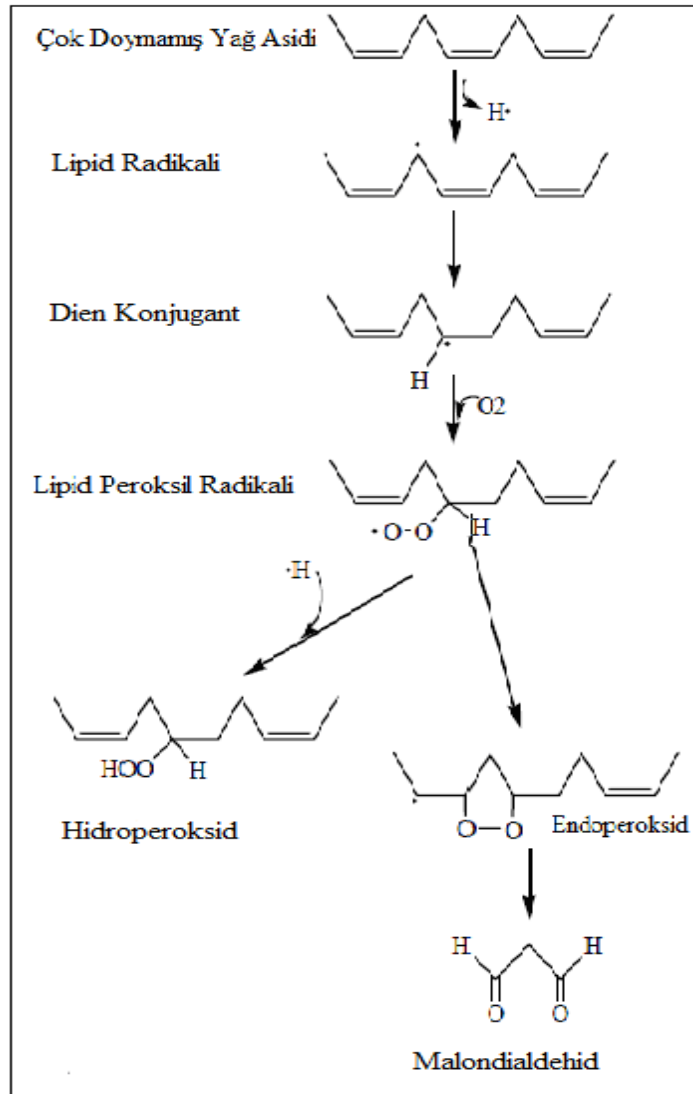
3. Oda sıcaklıklarında hidroperoksitteki O-O bağı parçalanarak alkoksi ve hidroksi radikallerine dönüşebilmektedir.



Peroksidasyon sonucunda oluşan alkoksi (RO·) ve hidroksi radikalleri hücre membranındaki kolesterolün ve yağ asitlerinin doymamış bağlarının reaksiyona girmesi ile peroksidasyon devam eder ve bu yolla kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonlar başlamaktadır. Bu zincirleme reaksiyonlar sonucunda hücre zarı deformasyonu, nekroz ve doku hasarı oluşmaktadır (29).

Peroksidasyon ürünlerinden biri de malondialdehit (MDA) gibi biyolojik olarak aktif olan aldehitlerdir (30). Üç veya daha fazla çift bağ bulunduran ve yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA meydana gelmektedir. Malondialdehit hücre zarı

deformasyonu, iyon transportu, enzim aktivitesi, hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerinde değişimler meydana getirerek membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olur. Yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olan MDA kan ve idrarda ortaya çıkar ve lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde, lipid peroksit seviyesinin ölçümünde kullanılır (29).



**Şekil 1.1.** Lipit peroksidasyonunun kimyasal yolu (4).

#### 1.4.2. 1,4-Dioksanın Proteinlere Etkisi

1,4-Dioksanın oluşmasına sebep olduğu serbest radikaller canlıların proteinlerine de oldukça zarar vermektedir. Zararlı etkilerinin en önemlisi proteinlerde meydana getirdiği denatürasyon olayıdır ( 31).

1,4-Dioksan ve parçalanma ürünleri proteinlerde oksidasyona sebep olmaktadır. Parçalanma ürünlerinden olan formaldehit, amin ve ilgili nükleofilik yapılarla etkileşime girerek çeşitli ara ürünler oluşturmaktadır. Bu ara ürünler denatüre proteinlerdir. Protein ve formaldehit arasında oluşan metilen köprüleride proteinlerde çapraz bağlanmaya sebep olmaktadır (32). Formaldehit hücrelerde metabolize olduktan sonra protein ve nükleik asitlere bağlanmaktadır. Bu bağlanmaya formaldehidin metabolik birleşmesi denir. Bununla birlikte kovalent bağlanma olarak bilinen formaldehidin direkt bağlanmasında ise yaşayan canlı dokularda nekroz, alerjenik ve mutajenik etkiler gözlenmektedir (33). Yapılan bazı çalışmalarda, formaldehitin bazı enzimlerin aktivitelerini inhibe ettiği belirtilmiştir (34). Bu inhibisyonun enzimin transkripsiyonu veya translasyonunu etkilemesinin yanısıra enzimlerin aktivitelerini indirekt bazı ara yollar üzerinden de değiştirebileceği düşünülebilir. Farooqui ve arkadaşları (35), formaldehiti subletal dozda (72 mg/kg) intraperitoneal olarak erkek farelere verdiklerinde, safra salgısında iki kata varan artış, glutasyon seviyesinde kontrole göre karaciğerde %39, böbrekte %33, akciğerde %31 ve beyinde %22 oranında azalma olduğunu belirtmişlerdir.

1,4-Dioksan dönüşüm ürünü olan hidroperoksitler ise proteinlerde kovalent modifikasyon sonucu oksidasyona sebep olmaktadır (36). Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları; enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkinlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler olarak sıralanabilir (29,37,38).

Toksik bileşiklerin etki derecesi proteinlerin amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitler,



doymamış bağ ve kükürt içeren proteinler toksik ajanlardan kolaylıkla etkilenirler. Bu tür aminoasitlerde sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşmaktadır. Bu radikallerin kendi aralarında etkileşimi de söz konusudur. Protein-protein çapraz bağlanmaları proteinlerin oksidatif değişiminin bir belirteci olmakla birlikte birkaç farklı reaksiyonla gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlar:

- i. Karbon merkezli iki radikalın direkt reaksiyonu,
- ii. İki tirozin radikali arasında etkileşimi,
- iii. Karbonil grubu içeren proteinlerin aynı veya farklı protein yan zincirindeki lizin bakiyeleri ile reaksiyonu,
- iv. Reaktif aldehytlerin aynı veya farklı protein moleküllerinin lizin bakiyeleri arasındaki reaksiyonu olarak sıralanabilir (39).

Protein radikallerinin oluşumu ile proteinlerde fonksiyon kaybı, proteaz inhibitör aktivitesi kaybı, protein agregasyonu, proteolize duyarlılığın artması ve azalması, anormal hücre alım, transkripsiyonda değişim ve immünolojik özelliklerin artması gibi sorunlar meydana gelebilir (40). İmmünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi bazı proteinler yapılarında çok sayıda disülfit bağı bulundurlar. Bu proteinlerin serbest radikallerden etkilenmesi sonucu tersiyer yapıları bozulmakta ve normal işlevlerini yerine getirememektedirler. İşlevini kaybetmiş proteinlere bağlı olarak da pek çok rahatsızlık oluşabilmektedir: Alzheimer, romatoid artrit, diabetes, kronik böbrek yetmezliği, solunum stresi sendromu bunlardan bazılarıdır. Bunların dışında kanser, ateroskleroz, iskemi, amfizem, katarakt ve alkolizm gibi protein oksidasyonu ile ilgili birçok hastalık bulunmaktadır (40).

#### **1.4.3. 1,4-Dioksanın Dokular Üzerine Etkisi**

1,4-Dioksan; karaciğer, böbrek, dalak, akciğer, kalın bağırsak ve iskelet kasları gibi birçok organda etki gösterebilmekte ve hasar meydana getirebilmektedir.

#### 1.4.3.1. 1,4-Dioksanın Karaciğer Üzerine Etkisi

1,4-Dioksan maruziyetinden zarar gören organların başında karaciğer gelmektedir. 1,4- Dioksan karaciğerde hepatik dejenerasyon, hiperplazi, adenoma ve kanser gibi birçok hasar meydana getirmektedir (41). Karaciğerde hepatositler, endotel, kuppfer ve epitel olmak üzere çeşitli hücreler bulunmaktadır. Hepatositler organizmada yağ metabolizmasının merkezi konumundadır. Karaciğere gelen yağ asitlerinin bir kısmı mitokondride  $\beta$ -oksidasyon sürecine girmektedir. Hepatositin çeşitli nedenlerle strese maruz kalması sonucu hücre hasarı, zar deformasyonu ve nekroz oluşabilmektedir. Karaciğer endotel hücreleri bakımından oldukça zengindir ve bu hücreler oksidatif hasardan ciddi şekilde etkilenmektedirler. Karaciğer mikro sirkülasyonun sürdürülmesine hem vazodilatasyon sağlayarak hem de kanın şekilli elemanlarının endotel duvarına adhezyonunu engelleyerek önemli görevleri üstlenmektedir. Ancak 1,4-Dioksan ve parçalanma ürünleri gibi toksik ajanların varlığında sitokinler kuppfer hücrelerinden fazla miktarda serbestleşir ve kanın şekilli elemanlarının endotel hücrelerine adhezyonuna yol açarak mikrosirkülasyonu tıkayabilmektedirler. Bu olay hepatositlerde iki yönlü zarara sebep olmaktadır: Bu zararlardan biri hepatositlerin hipoksiye maruz kalması iken diğeri endotel hücrelerinin zedelenmesi ile önlerinde bulunan bariyerleri kaybederek immün hücrelerinin saldırıya açık hale gelmesidir. Kuppfer hücreleri, sitokinler sayesinde hepatositte zararlı etkenlere karşı savunma oluşturabilmektedir. Ancak kuppfer hücrelerinin aşırı ve sürekli sitokin üretimi hepatositlerde hasara neden olabilmektedir. Bu sitokinlerinin en önemlisi Tümör nekrozis faktörü'dür. Kuppfer hücrelerinin çeşitli ajanlarla uyarılması sonucu tümör nekrozis faktörü oluşumu gerçekleşir ve bunun sonucun da kaspaz sistemi aktifleşmektedir. Sonuç olarak hepatosit apoptoza uğramaktadır. Eğer toksik ajanların seviyesi artmaya devam ederse kaspaz sistemi yetersiz kalmakta ve nekroz denilen daha tehlikeli bir hücre ölümü gerçekleşmektedir (42-45).

1,4-Dioksan parçalanma ürünleri de dokular üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Parçalanma ürünlerinden olan formaldehit dokular için fiksasyon ajanı olarak

kullanılmaktadır. Formaldehit dokularda oksidatif hasara neden olmaktadır (46). Yıldız ve arkadaşları (47), formaldehit uygulaması sonucunda kupffer hücrelerinde hiperplaziye ve hepatosit zedelenmesine rastlamışlardır.

#### **1.4.3.2. 1,4-Dioksanın Böbrekler Üzerine Etkisi**

1,4-Dioksanın zararlı etkileri sonucu böbreklerde çeşitli sorunlar meydana gelebilmektedir. Karaciğerden sonra 1,4-Dioksandaki en çok zarar gören organ böbreklerdir. Yüksek dozda 1,4-Dioksanın uygulaması böbrekler de renal lezyon (kortekste nekroz) oluşabilmektedir (48).

Bölüm 1.4'te belirttiğimiz üzere 1,4-Dioksan serbest radikal oluşmasına sebep olabilmektedir. 1,4-Dioksanın zararlı etkileri sonucu böbreklerde çeşitli sorunlar meydana gelebilmektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROT) böbrek hasarındaki rolü; glomerülonefrit, nefrotik sendrom, akut böbrek yetmezliği, transplantasyon, toksik hasar, enfeksiyon, obstrüktif nefropati ve kronik böbrek yetmezliği gibi patolojik bozukluklar deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (49-51). ROT'lar, hücre ve organel membranlarında lipid peroksidasyona neden olarak ve özellikle proksimal tübül segmentlerinde, tübül yapısını, hücre transport kapasitesini ve enerji üretimini bozarak etkilerini gösterirler (52,53). Deneysel immün glomerülonefritte ROT, monositler gibi kan kaynaklı infiltratif hücrelerden oluşurlar ve glomerül hücrelerine ve özellikle mezenşial hücrelere yerleşirler. Bunların oluşması, morfolojik lezyonların meydana gelmesine, proteazların aktive olmasına, proteoglikan sentezinin düşmesine ve bunlara bağlı olarak proteinlere karşı glomerüler permabilite artışının görülmesine neden olur (51,54,55). Glomerül hasar, glomerülonefritin in-vivo hayvan modellerinde, glomerular kapillerinde immün kompleks formasyonunun ve kompliman aktivasyonunun monosit ve makrofajları içine alan kemik iliği kaynaklı inflamatuvar hücrelerinin infiltrasyonunu takiben oluştuğu bildirilmiştir. Bu hücreler, glomerüler hemodinamik yapıyı değiştirerek ve proteinüri gelişmesini sağlayarak glomerüler hasarı indüklerler.

Bu patolojik gelişmeler ROT ile açıklanmaktadır. Bunlardan radikallerin sorumlu tutulmasının en önemli nedenlerinden biri, doku hasarının olduğu bölgede  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$  ve  $HO^{\cdot}$  gibi ROT' ların gösterilmesidir (50,51,54-57). Pek çok çalışmada serbest  $O_2$  radikalinin çeşitli lezyonların patolojisinde rol oynayabileceği bildirilmiştir (54).

1,4-Dioksan parçalanma ürünlerinden formaldehitin böbrekte genişleme ve kanamaya sebep olduğu makroskopik olarak belirlenmiştir. Belirgin olmayan bir glomerulus yapısına, pürüzlü ve polimorfik bir çekirdeğe sebep olduğu ise mikroskopik incelemeler sonucunda belirlenmiştir (58).

### **1.5. Doğal Antioksidanlar**

Çeşitli toksik ajanların ve ROT'un artış göstermesini ve bunların meydana getirdiği zararları önlemek için vücutta antioksidanlar olarak bilinen antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır.

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere 2 gruba ayrılır: İlki endojen antioksidanlar enzim olan endojenler (süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferazlar (GST), katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ve hidroperoksidaz ) ve ikincisi de enzim olmayan endojenler (melatonin, albumin, seruloplazmin, transferrin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin) olarak görülür. Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler (29).

Antioksidanların toplayıcı, zincir kırıcı, onarıcı ve bastırıcı olmak üzere dört ayrı etki mekanizması bulunmaktadır. Toplayıcı etki, serbest radikalleri tutarak daha zayıf olan yeni moleküllere çevirmesidir. Antioksidanların zincir kırıcı etkisi de serbest radikallere oksijen radikalinden bağlanarak, zincirlerini kırıp onların fonksiyonlarını engelleme şeklinde gerçekleşir. Onarıcı etki, serbest radikallerden dolayı meydana gelen

hasarların onarılması için gösterilen etkidir. Bastırıcı etki ise serbest radikallerle reaksiyona girip onlara bir H atomu aktararak onları inaktif hala dönüştürmesidir (29).

**Tablo 1.4.** Doğal Antioksidanlar.

| <b>Antioksidanlar</b>                       |   |
|---|---|
| <b>*Eksojen Antioksidanlar</b>              |   |
| Vitaminler, İlaçlar ve Gıda antioksidanları |   |
| <b>*Endojen Antioksidanlar</b>              |   |
| Enzim Olan Endojen Antioksidanlar           | SOD, GSH-Px, GST, CAT, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ve Hidroperoksidaz.   |
| Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar        | Melatonin, Albümin, Seruloplazmin, Transferin, Miyogloblin, Hemogloblin, Ferritin, Bilirubin, Glutasyon, Sistein ve Metyonin. |

C vitamini, fenolik bileşikler, karotenoitler, tokoferoller antioksidan aktivite gösteren önemli bileşiklerdendir. C vitamininin antioksidan özellikleri çok yönlü olup lipid oksidasyonunu farklı mekanizmalarla önlemektedir. Bu mekanizmalar, serbest radikal ve oksijen yok edici olarak indirgen etkileriyle bazı okside olabilir bileşikleri korumak, daha az reaktif olan radikallere dönüşmek suretiyle oksijen ve karbon merkezli radikalleri indirgemek ve bazı antioksidanları rejenere etme şeklinde meydana gelmektedir (59). Tokoferoller, fenolik hidroksil gruplarından hidrojen veya elektron vererek başlangıçtaki serbest yağ asidi radikali oluşumunu engelleyerek lipid oksidasyonunu inhibe etmektedir (60,61). Tokoferollerin en etkili türü çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol) dir. Hücre membran fosfolipitlerinde bulunan

poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipit peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonu, E vitamin vasıtasıyla sonlandırıldığı için zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. E vitamini okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Glutatyon peroksidaz ile E vitamini, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutatyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksitlerin sentezini engeller. Fenolik bileşiklerden olan Flavonoidlerin peroksi radikalleriyle reaksiyona girer ve elektron transferi yolu ile hidroksil ve süperoksit radikallerini yakalarlar. Karotenoidler hem serbest radikal toplayıcı hem de singlet oksijen bastırıcılar olarak fonksiyon gösterirler. Karotenoidlerdeki çift bağ sayısı arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır (59).

Bu çalışmada 1,4-Dioksana karşı koruyucu olarak kullanılan yeşil çay bol miktarda fenolik bileşik içermektedir. Bu fenolik zenginliği sayesinde oldukça güçlü bir antioksidan özelliği kazanmaktadır.

### **1.5.1. Yeşil Çay**

Latince ismiyle “*Camellia sinensis*”olarak bilinen ve her zaman yeşil olan çay “Theaceae” familyasındandır. Dünyada sudan sonra en fazla tüketilen içeceklerin başında yer alır. Dünya nüfusunun üçte ikisi tarafından yılda yaklaşık 3 milyon kg çay tüketilmektedir (62-64). Miktar olarak en fazla Hindistan, Çin, Sri Lanka, Japonya ve Tayvan olmak üzere çay, yaklaşık 30 ülkede tüketilmektedir. Ülkemizde de çay üretimi ve tüketimi oldukça fazladır (63, 65).

Dünya genelinde çay tüketimine bakıldığında Hindistan’ının batısında kalan ülkelerde siyah çay tüketiminin, Çin ve Japonya gibi Uzakdoğu ülkelerinde ise yeşil çay tüketiminin daha fazla olduğu görülmektedir (66).

Yeşil çay, çay (*Camellia sinensis*) bitkisinin tepe tomurcuğu ve tepe tomurcuğunu takip eden iki yaprak esasına göre hasat edilmiş taze sürgünlerinden üretilen ve oksidasyona uğratarak dehidretasyon sonucu elde edilen bir çay türüdür. Yeşil çayın kateşin, kafein, tanin ve vitamin gibi birçok bileşeni vardır (67).

**Tablo 1.5.** Yeşil çayda bulunan bazı önemli bileşenler (68,69).

| Yeşil çay içeriği           | Amino asitler | Mineraller |
|-----------------------------|---------------|------------|
| Polifenolik bileşikler      | Teanin        | Potasyum   |
| Karbohidratlar              | Glutamik asit | Alüminyum  |
| Yağ asitleri                | Aspartik asit | Selenyum   |
| Vitaminler                  | Arjinin       | Flor       |
| Mineraller                  | Glutamin      | İyot       |
| Kafein                      | Serin         | Nikel      |
| Amino asitler ve proteinler | Treanin       | Arsenik    |
| Triterpenik saponozitler    | Alanin        | Mangan     |

Yeşil çay ve bileşenlerinin; antioksidan, antimutajen, antikanserijen ve apoptozu başlatma gibi birçok biyolojik ve biyokimyasal etkileri bulunmaktadır (72-76). Bu bileşenlerden özellikle antioksidan etki gösteren kateşinler kendi arasında epigallokateşin gallat, epikateşin gallat, gallokateşin, epikateşin, epigallokateşin olarak ayrılabilir (77).

Yeşil çay, bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bakımında da oldukça zengindir. Fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılır. Fenolik asitler kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit ve *o*-kumarik asitlerdir (78). Flavonoidler en yaygın bulunan polifenollerdir ve yapısal olarak beş gruba ayrılırlar. Bunlar flavonlar ve flavonollar, kateşinler ve löykoantosiyanidinler, antosiyanidinler, flavanonlar ve proantosiyanidinlerdir (79).

Yapısında bulunan bu polifenoller sayesinde yeşil çay, serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma (metal şelatlama) ve singlet (tekli) oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma gibi özelliklerinden dolayı antioksidan etki göstermektedir. Bu bileşikler, lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin (protein, karbohidrat, nükleik asitler) serbest radikallerce okside olmalarını engellemek için aromatik halkalarındaki hidroksil gruplarında bulunan hidrojeni verebilmektedirler (80-82).

**Tablo 1.6.** Yeşil çayın fenolik madde kompozisyonu (70,71).

| Bileşen                | ( mg/100 mL) | Kuru madde (%) |
|------------------------|--------------|----------------|
| Epikateşin             | 1.0-9.54     | 0.55-0.87      |
| Epikateşin gallat      | 3.0-4.92     | 1.95-2.91      |
| Epigallokateşin        | 2.0-36.2     | 0.44-0.88      |
| Epigallokateşin gallat | 6.0-32.6     | 13.37-13.74    |
| Gallokateşin           | 2.57-2.81    | -              |
| Gallokateşin gallat    | -            | 0.26-0.38      |



Bu flavonoidlerin hücreleri serbest radikal hasarlarından, C ve E vitaminlerinden çok daha fazla koruduğu bilinmektedir (83). Bunun sebebi flavonoidlerin 3'-4'dihidroksi konfigürasyonu ile antioksidan aktiviteye sahip olması ve 5' pozisyonda ek OH-grubunu bulundurarak antioksidan aktiveyi daha da güçlendirmesidir. Flavonoidler, ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlar ile etkileşime girerek ve serbest radikalleri yakalayarak antioksidatif aktivite göstermektedirler (81). Hücrenin serbest radikallere karşı enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere iki korunma mekanizması vardır (84). Nonenzimatik koruma anti oksidan olarak bilinen A, E ve C vitaminleri gibi bileşiklerdir ve oksijen radikal lerinin temizlenmesini sağlarlar (85). Enzimatik korunmada önemli mekanizmalardan biri glutatyon peroksidazdır (86). Glutatyon peroksidaz, güçlü bir serbest radikal olduğu bilinen hidrojen peroksidi suya dönüştürme reaksiyonunu katalize eder. Vücudun en önemli antioksidan enzimi olan Glutatyon peroksidazın kofaktörü ise selenyumdur. Tablo 1.5'te görüldüğü gibi yeşil çayda bol miktarda selenyum bulunmaktadır. Glutatyon peroksidaz selenosistein rezidüsü içeren tetramerik bir selenoproteinden oluşur ve asıl fonksiyon gören kısım selenosistein ucudur, selenosistein içermeyen glutatyon peroksidaz formları afonksiyoneldir (87). Bu nedenle selenyum hücre zarlarının bütünlüğünün sağlanmasında ve korunmasında etkin fizyolojik bir görev üstlenmektedir (88,89).

Yeşil çay polifenol fraksiyonları sayesinde 12-o-tetradekanoil porbol-13-asetat (TPA)'ı ve 8-hidroksideoksi guanozinin  $H_2O_2$  oluşturmasını engellemektedir. Kateşinlerden epigallokateşin gallatın prostat ve meme tümörlerinin büyümesini ve deri ve akciğer tümörü oluşumunda hücre çoğalmasını önlediği bilinmektedir. Teaflavinlerin ise hücre oluşumu ve büyümesini inhibe ederek akciğer ve yemek borusu kanseri oluşumunu önlediği tespit edilmiştir (91,92).

**Tablo 1.7.** ay kateşinlerinin ve sekonder fenolik maddelerinin süperoksit ve hidroksil radikallerini yok etme yeteneği (90).

| <b>Radikal türü</b> | <b>Kateşinlerin<br/>yok etme<br/>oram (%)</b> | <b>Sekonder fenollerin<br/>yok etme<br/>oram (%)</b> | <b>Konsantrasyon<br/>µg/mL</b> |
|---------------------|---|--|--------------------------------|
| Süperoksit radikali | 52.75   | 56.93  | 8.3                            |
|                     | 57.14   | 68.44  | 16.6                           |
|                     | 64.83   | 74.84  | 24.9                           |
| Hidroksil radikali  | 27.6  | 38.5   | 5                              |
|                     | 50.9  | 49.1   | 10                             |
|                     | 58.9  | 66.7   | 20                             |

## 1.6. Literatürde Mevcut alışmalar

Literatürde 1,4-Dioksan ile ilgili yapılmış çalışmalar şu şekilde özetlenebilir: Barber (93), 16 ay boyunca 1,4-Dioksanın buharına maruz kalan bir grup tekstil işçisi üzerinde yaptığı araştırmada, bazı işçilerin karaciğer ve böbreklerinde oluşan nekroz nedeni ile öldüklerini rapor etmiştir. Argus ve arkadaşları (31), sıçanların içme suyuna 63 hafta boyunca 1,4-Dioksan eklemiş, sonuçta ve 6 sıçanda hepatoselüler karsinom, bir sıçanda lösemi ve böbrek dokusunda tümör oluşumuna rastlamışlardır. Hoch-Ligeti ve Argus (94), 22 tane erkek domuzun içme sularına 23 hafta boyunca % 0.5-2.0'lik konsantrasyonlarda 1,4-Dioksan eklemişler, inceleme sonucunda hiperplazi, bağırsakta nodül, böbrekte adenoma ve hepatomas meydana geldiğini bildirmişlerdir.

1,4-Dioksan ve beraberinde yeşil çay uygulamasına dair bir çalışmaya henüz rastlanılmamıştır. Fakat yeşil çay pek çok çalışmada koruyucu olarak kullanılmıştır. Yang ve arkadaşlarının (95), Çin toplumunda hipertansiyon üzerine yeşil çayın koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada, günde 120 mL yeşil çayı 1 yıldan fazla ve belli bir süre ile tüketen kişilerde hipertansiyon riskinin önemli derecede azaldığını bulmuşlardır. Stensvold ve arkadaşlarının (96), 35-49 yaş aralığında, 9856 erkek ve 10233 kadın üzerinde yaptıkları çalışmada çay, kolesterol ve sistolik kan basıncı arasındaki ilişkiyi araştırmışlar, sonuçta; çay tüketimi arttıkça, ortalama serum kolesterol düzeyinin düştüğünü, ayrıca sistolik kan basıncı ile çay arasında ise negatif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Fransa toplumunda çay tüketimi, kardiyovasküler risk faktörleri ve yaşam tarzı arasındaki ilişkileri içeren bir başka çalışmada; kadınlarda çay tüketimi arttıkça, bel-kalça oranları, total kolesterol, serum trigliserid ve açlık kan şekeri düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak çay tüketiminin kardiyovasküler hastalıklara karşı önemli bir koruyucu rol oynadığı belirlenmiştir (97).

Yeşil çayın, gastrointestinal sistemde intrasellüler antioksidanları aktive ettiği, prokarsinogen oluşumunu inhibe ettiği, anjiyogenezisi ve kanser hücre çoğalmasını da baskıladığı ifade edilmiştir. Ayrıca diş çürümelerini önlediği, kolesterolü düşürdüğü, gastrointestinal sistemde lipitleri absorbe ederek bireyleri kardiyovasküler hastalıklardan koruduğu belirtilmiştir (98). Şeker hastası sıçanlarda yapılan çalışmalarda oral olarak verilen yeşil çayın, serum glukoz toleransını azalttığı gösterilmiştir (99). Epidemiyolojik çalışmalarda, düzenli olarak içilen çayın koroner kalp hastalığı ve tümör gelişimini azaltıcı etki gösterdiğini, yeni kan damarlarının oluşumunu, aterosklerotik lezyon ve tümör gelişimini ise azalttığı belirtilmiştir (100-102). In-vitro olarak yapılan çalışmalarda, çayın içeriğinde bulunan epigallokatesin-3-gallo (EGCG) ve theaflavin bileşenlerinin antioksidan aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir. Çalışmaların birçoğu çayın bileşimindeki EGCG, diğerleri ise theaflavin bileşiği üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu iki bileşenin değişik kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engellediği ifade edilmektedir (103). Doss ve arkadaşları (104), bazı epidemiyolojik çalışmalarla yeşil çay tüketiminin hızla artan boğaz, prostat ve göğüs kanserleri için koruyucu bir etki sağladığını göstermişlerdir. Bu koruyucu etkinin çayın içeriğinde yer alan polifenolden

kaynaklandığı düşünölmüş, ancak moleköler düzeyde bunun etki mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır.

Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar, çayın ayrıca yaşlanmayı geciktirici özellikleri olduğunu, bu özelliklerin çayın içeriğindeki flavonoid bileşenlerin nöroprotektif özelliklerinden kaynaklandığını bildirilmiştir (105).

Yeşil çay, antioksidan özellikleri sebebiyle böbrek dokusu üzerinde toksik etki gösteren ajanların bu etkisini azaltmakta ve rejenerasyon işlemini artırarak böbreklerde fonksiyon kaybını önlemektedir (106). Yeşil çay içeriklerinden olan selenyumun bu ajanların zararlı etkilerini yok ettiği düşünölmektedir. Çünkü GSH-Px aktivitesi için gerekli bir metal olan selenyumun diyetle alınmamasının, sıçan böbreklerinde yapısal ve fonksiyonel hasarlar meydana getirmektedir (107). Nath ve Paller (108), iskemi-reperfüzyon modelinde selenyum ve vitamin E diyetinden yoksun bırakılan deney hayvanlarında, yapısal ve fonksiyonel böbrek hasarını göstermiş, ayrıca bu hayvanlarda yüksek MDA seviyeleri tespit ederek, kontrollerde rastlanmayan ölüm olaylarının diyetten yoksun bırakılan sıçanlarda %50 seviyelerine çıktığını ortaya koymuşlardır. Sıçan glomeröler mezanşial hücreleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile inkübe edildiklerinde Mn-SOD aktivitesinde artış tespit edilmiştir. Sıçanlardan izole edilen glomeröler hücreler iskemi-reperfüzyona maruz bırakıldıklarında total SOD, Mn-SOD, GSH-Px ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin tümünün arttığı gösterilmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma kapsamında kullanılan sodyum klorür, sodyum hidroksit, eter, elman ayracı, tris, Sigma'dan, temin edilmiştir. 1,4- Dioksan, trikloroasetik asit, disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ditiyobisnitrobenzoik asit ve tiyobarbiturik asit Merck'den, biyokimyasal analizlerde kullanılan ticari test kitleri Teco Diagnostics'den (Anaheim, California), yeşil çay ekstraktı ise Vega Naturel Ltd. şirketinden temin edilmiştir.

### 2.2. Hayvanların Temini ve Grup Oluşturma Prensipleri

Bu çalışmada Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda mevcut olan 36 adet Swiss albino fare kullanılmıştır. Hayvanlar bir haftalık alıştırma sürecinde pelet yem ve çeşme suyu ile bakılmışlardır. Uygulama periyodu süresince laboratuvar sıcaklığı  $25\pm 5^\circ\text{C}$  ve nisbi nem  $\%50\pm 5$  olarak ayarlanmıştır. Hayvanlar kontrol ve 5 uygulama grubu olmak üzere toplam 6 farklı gruba ayrılmışlardır. I. gruba pellet yem ve çeşme suyu, II. gruba 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay, III. gruba 100mg/kg.ca dozunda yeşil çay, IV. gruba 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan, V. gruba 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay, VI. gruba 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca dozunda yeşil çay ardışık 10 hafta boyunca uygulanmıştır. V. ve VI. Gruplarda yeşil çay uygulamasına 1,4-Dioksan verilmeden bir hafta önce başlanılmış ve 1,4-Dioksan ile birlikte 10 hafta süresince devam edilmiştir. Bu çalışmada, farelere uygulanan yöntem ve teknikler Dünya Sağlık Örgütü (Cenevre, İsviçre) ve Giresun Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından belirlenen esaslara göre yürütülmüştür.

Uygulama süresi sonunda farelerden kan örnekleri alınmıştır. Kan alma işlemi eter anestezisi altında cerrahi olarak cut-down açılan hayvanların kalbinden ince uçlu şırınga yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Alınan kan örnekleri; soğutmalı santrifüjde (Sigma 1-4 Sartorius) (+4 °C), 7000-75000 rpm'de 15 dakika süresince santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiştir.

Gruplar ve grup oluşturma prensibi Tablo 2.1'de verilmiştir.

Elde edilen serum örneklerinde albumin, total protein, total bilirubin, kreatinin (Cr), malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve gamma-glutamil transferaz (GGT) parametreleri spektrofotometrik (UV-Visible Spektrofotometre Shimadzu UV mini 1240) olarak ölçülmüştür.

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

| <b>Gruplar</b>   | <b>Fare sayısı</b> | <b>Prensip</b>                            |
|------------------|--------------------|---|
| <b>I. Grup</b>   | 6                  | Kontrol                                   |
| <b>II. Grup</b>  | 6                  | 50mg/kg yeşil çay                         |
| <b>III. Grup</b> | 6                  | 100mg/kg yeşil çay                        |
| <b>IV. Grup</b>  | 6                  | 720mg/kg 1,4-Dioksan                      |
| <b>V. Grup</b>   | 6                  | 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay  |
| <b>VI. Grup</b>  | 6                  | 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay |

### **2.3. Albumin Tayini ve Prensibi**

Serum albümin pH 4.2 de brom kresol yeşiline (BKY) seçici olarak bağlanmaktadır (109-111). Oluşan albümin-boya kompleksinin spektrofotometrik olarak 630 nm'de okunması ile albümin tayini gerçekleştirilmektedir. Bu kapsamda belirli konsantrasyonlarda standart albumin çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. 3 ml BKY reaktifi 20 µl serum örneği ile karıştırılmış ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

### **2.4. Total Protein Tayini ve prensibi**

Serum proteinleri alkali ortamda  $\text{Cu}^{2+}$  iyonu ile bağlanmakta ve Cu-protein kompleksi oluşmaktadır (112). Reaksiyon sonucunda oluşan mor renkli kompleks spektrofotometrede 520 nm'de analiz edilerek protein konsantrasyonu belirlenmektedir. Bu amaçla protein analiz çalışmaları için 3 ml biüret reaktifi, 100 µl serum örnekleri ile karıştırılmış ve spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

### **2.5. Total Bilirubin Tayini ve prensibi**

Diazo reaktifi ile bilirubin, azobilirubin adı verilen bir madde meydana getirmektedir ve oluşan bu rengin yoğunluğu bilirubin miktarı ile orantılı olduğundan spektrofotometrik olarak bilirubin miktarı belirlenebilmektedir (113-114 ). Bilirubin tayini için 1 ml diazo reaktifi ile 100 µl serum örneği karıştırılmış ve spektrofotometre de 560 nm'de analiz edilmiştir.

## 2.6. Kreatinin Tayini ve prensibi

Kreatinin sodyum pikrat ile reaksiyona girmekte ve kreatinin–pikrat kompleksi oluşmaktadır (115). Bu reaksiyon alkali ortamda gerçekleşmektedir. Bu amaçla ilk olarak alkali sodyum pikrat reaktifi hazırlanmıştır. Pikrik asit reaktifi ve sodyum hidroksit çözeltisi eşit hacimde (1:1, v/v) karıştırılmış ve çalışma ajanı olarak kullanılmıştır. Farelerden elde edilen serumlardan 0.05ml (50µl) örnek alınıp 2 ml çalışma ajanı ile karıştırılmış ve karışımlar bekletilmeden analize başlanmıştır. Aynı işlemler standart kreatinin çözeltisi için tekrarlanmış ve 510 nm’de spektrofotometrik analiz gerçekleştirilmiştir. İlk okuma (A1) reaksiyonun 30. saniyesinde ikinci okuma (A2) reaksiyonun 60. saniyesinde alınmıştır. Absorbansdaki değişim ( $\Delta$ Abs/min.) hesaplanarak aşağıdaki eşitlikte kullanılmıştır.

$$\text{Kreatinin(mg/dl)} = \frac{\Delta \text{ Abs. (Örnek)}}{\Delta \text{ Abs. (Standart)}} \times \text{Standart kreatinin konsantrasyonu}$$

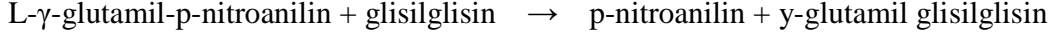
## 2.7. GGT, AST, ALT Tayini ve Prensibi

### 2.7.1. Gamma-glutamil Transferaz (GGT) Tayini ve Prensibi

GGT tayininde sentetik bir substrat olan  $\gamma$ -glutamil-p-nitroanilid (GGPNA) kullanılmaktadır. GGT substrattan  $\gamma$ -glutamil grubunun transferini sağlamaktadır (116). Reaksiyon aşağıda özetlenmiştir.



## GGT



Reaksiyon ortamında oluşan p-nitroanilin miktarı GGT aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir ve 405 nm'de spektrofotometrik tayini GGT tayinine olanak sağlamaktadır.

Farelerden elde edilen serumlardan 0.05ml (50µl) örnek alınıp 1 ml çalışma ajanı ile karıştırılmış ve karışımlar bekletilmeden analize başlanmıştır. İlk okuma (A1) reaksiyonun 60. saniyesinde ikinci okuma (A2) reaksiyonun 120. saniyesinde alınmıştır. Absorbansdaki değişim ( $\Delta\text{Abs}/\text{min.}$ ) hesaplanarak aşağıdaki eşitlikte kullanılmıştır.

$$\text{GGT ( IU/L)} = \frac{\Delta\text{A}/\text{dak} \times 10^3 \times \text{TV} \times 1000}{\varepsilon \times \text{SV} \times \text{LP}}$$

$10^3$ : milimol-mikromol dönüşümü için kullanılmıştır.

$\Delta\text{A}/\text{min}$ : absorbansdaki değişimi,

TV: total reaktif hacmini,

$\varepsilon$ : p-nitroanilinin molar absorptivitesini,

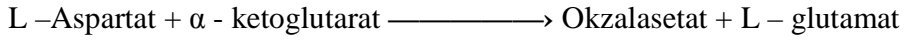
SV: örnek hacmini,

LP: ışık yolunu ifade etmektedir.

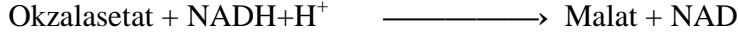
### 2.7.2. Aspartat Amino Transferaz (AST) Tayini ve Prensibi

AST, aspartatın amino grubunun  $\alpha$  – keto glutaratat transferini katalize eder. Karaciğer kökenli bir enzimdir. Meydana gelen oksalasetat malat dehidrogenaz (MDH) tarafından L – malata dönüştürülürken NADH, NAD<sup>+</sup>'ye oksitlenmektedir (117). NADH'daki bu değişim AST aktivitesi ile doğru orantılıdır ve bu nedenle 340 nm'de absorbandsdaki değişim AST tayininde rahatlıkla kullanılabilir.

AST



MDH



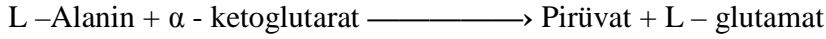
Bu amaçla spektrofotometrik analiz için 16 mmol/L  $\alpha$  – ketoglutarat, 218 mmol/L L – Aspartat, >600 IU/L MDH, ve 0.18mmol/L NADH içeren bir reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. 1.0 ml karışıma 50 $\mu$ l serum örneği eklenmiş ve birer dakika arayla absorbandslar kaydedilmiş ve  $\Delta A/\text{dak}$  okumalar gerçekleştirilmiş ve aşağıdaki eşitlikte kullanılmıştır.

$$\text{AST U/L} = \Delta A/\text{Min} \times 1768$$

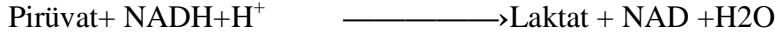
### 2.7.3. Alanin Amino Transferaz (ALT) Tayini ve Prensibi

Alanin aminotransferaz enzimi karaciğer kökenlidir ve karaciğer hasarlarının belirlenmesinde kullanılan önemli bir belirteçtir. ALT L-Alanin ve 2-ketoglutarat reaksiyonu katalizleyerek pirüvat oluşunu sağlamaktadır. Pirüvat ve ortamdaki NADH laktat dehidrojenaz (LDH) enzimi tarafından katalizlenmektedir ve NADH, NAD<sup>+</sup>ye oksitlenmektedir (117). NADH'daki bu değişim AST aktivitesi ile doğru orantılıdır ve bu nedenle 340 nm'de absorbandsaki değişim AST tayininde rahatlıkla kullanılabilir.

ALT



LDH



Bu amaçla spektrofotometrik analiz için 16 mmol/L  $\alpha$  - ketoglutarat, 500 mmol/L L - Alanin, >2300 IU/L LDH, 97mmol/L Tris tamponu ve 0.18mmol/L NADH içeren bir reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. 1.0 ml karışıma 50 $\mu$ l serum örneği eklenmiş ve birer dakika arayla absorbandslar kaydedilmiş ve  $\Delta A/\text{dak}$  okumalar gerçekleştirilmiş ve aşağıdaki eşitlikte kullanılmıştır.

$$\text{AST U/L} = \Delta A/\text{Min} \times 1768$$

## 2.8. MDA Tayini ve Prensibi

MDA tayini kontrol ve uygulama grubu farelerinin karaciğer dokularında gerçekleştirilmiştir. Farelerden alınan karaciğer 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 (118) 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.

## 2.9. GSH Tayini ve Prensibi

GSH tayini kontrol ve uygulama grubu farelerinin karaciğer dokularında gerçekleştirilmiştir. Farelerden alınan karaciğer 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 (119) önerdiği yönteme 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 (120).

## 2.10. İstatistiksel Analiz

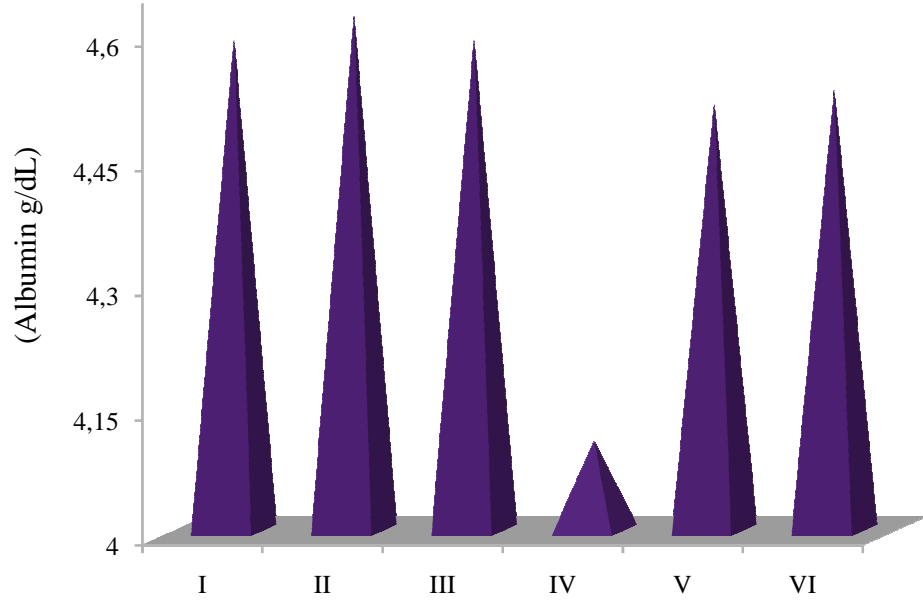
Çalışmada istatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 10.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) paket programından yararlanılmış, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi amacıyla One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  SD değerleri olarak gösterilmiş ve P değerleri  $<0.05$  olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. 1,4-Dioksanın Albumin Düzeyine Etkisi

1,4-Dioksan uygulamasının farelerde serum albümin seviyesi üzerine etkisi Şekil 3.1’de verilmiştir.

1,4-Dioksan uygulanan IV. gruba ait farelerin albumin düzeyinin kontrol grubuna kıyasla 1.12 kat azaldığı, istatistiksel olarak önemli olduğu ( $p < 0,05$ ) ve bu azalışın sadece yeşil çay uygulaması alan II. ve III. gruplarda ise albumin düzeyleri bakımından kontrol grubuna kıyasla çok düşük düzeyde bir değişim olduğu ve bu değişimin ise istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ).

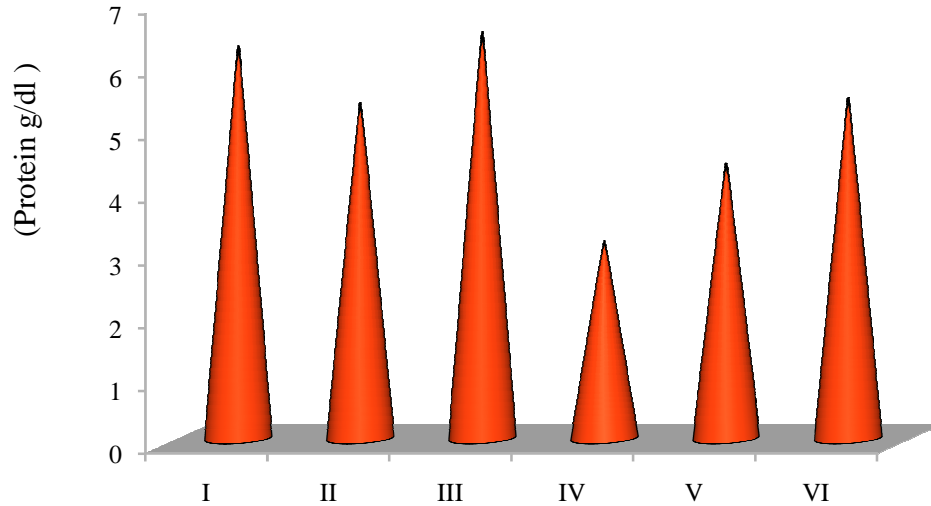


**Şekil 3.1.** 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde serum albumin seviyesi üzerine etkisi. (I. Grup Kontrol, II. Grup 50mg/kg yeşil çay, III. Grup 100mg/kg yeşil çay, IV. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan, V. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay, VI. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay.)

### 3.2. 1,4-Dioksanın Total Protein Düzeyine Etkisi

1,4-Dioksan uygulamasının serum protein seviyesi üzerine etkisi Şekil 3.2’de verilmiştir.

1,4-Dioksan uygulanan farelerin serum protein seviyelerinde, kontrol grubuna oranla yaklaşık % 49.7’lik bir düşüş olduğu gözlenmiş ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 3.2.** 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde serum total protein seviyesi üzerine etkisi. (I. Grup Kontrol, II. Grup 50mg/kg yeşil çay, III. Grup 100mg/kg yeşil çay, IV. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan, V. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay, VI. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay.)

720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan V. gruptaki farelerin protein seviyeleri sadece 1,4-Dioksan uygulanan IV. gruba oranla 1.39 kat'lık bir artış, 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca dozunda uygulanan VI. gruptaki farelerin protein seviyelerinde ise 1.72 kat'lık bir artış belirlenmiş ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ).

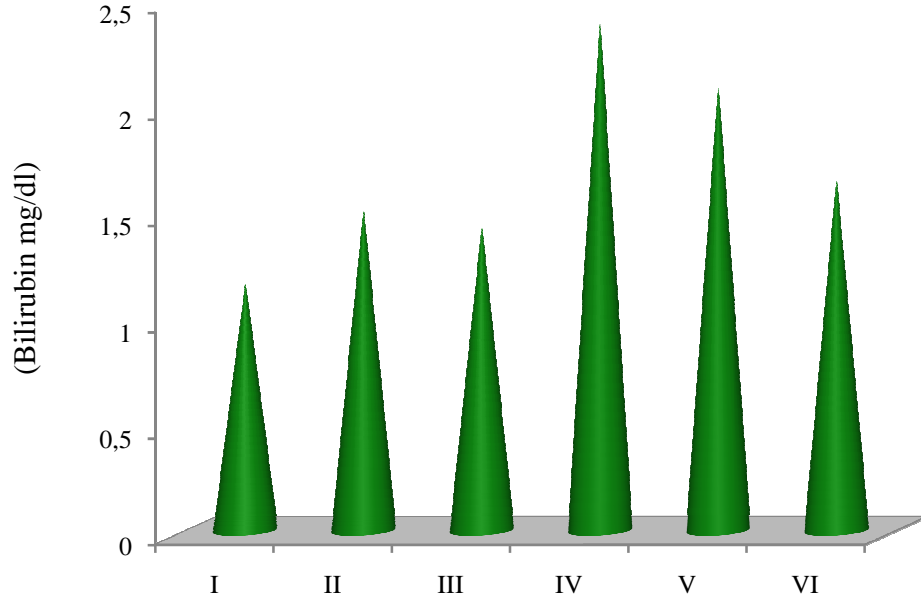
Tüm bu sonuçlardan 1,4-Dioksanın farelerde serum protein düzeyini azalttığı, 1,4-Dioksan ile birlikte verilen yeşil çay uygulamasının ise bu azalmanın şiddetini düşürdüğü belirlenmiştir. Bu sonuçlar Bölüm 3.1'de elde ettiğimiz albumin düzeyi bulguları ile birbirini desteklemektedir. Çünkü serum proteinlerinin büyük bir oranını albumin oluşturmakta ve albumindeki belirgin azalma total protein miktarında da azalmaya neden olmaktadır.

### **3.3. 1,4-Dioksanın Total Bilirubin Düzeyine Etkisi**

1,4-Dioksan uygulamasının farelerde serum bilirubin seviyesi üzerine etkisi Şekil 3.3'de verilmiştir.

1,4-Dioksan uygulanan grupta bilirubin seviyesinin kontrol grubuna kıyasla 2.125 kat arttığı belirlenmiştir.





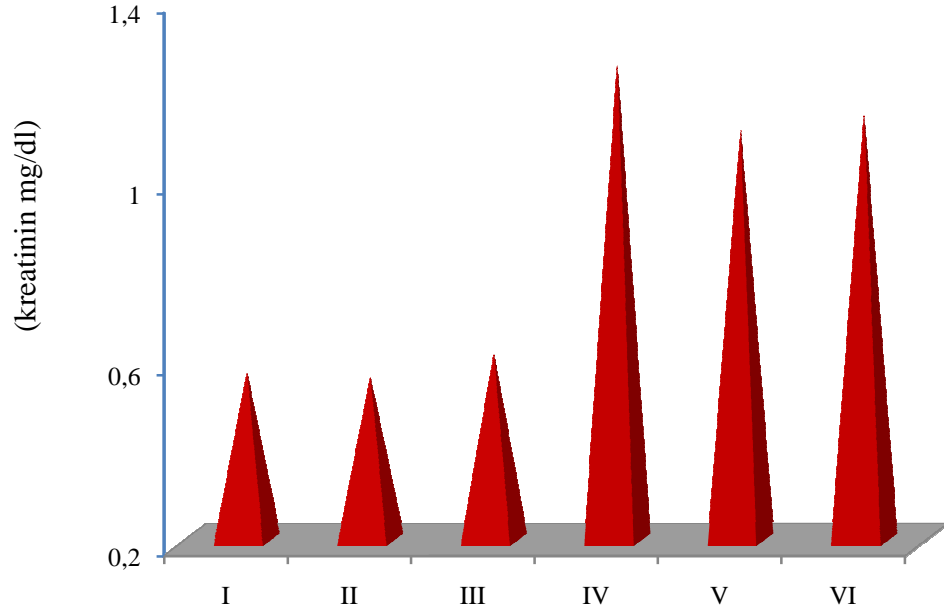
**Şekil 3.3.** 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde serum bilirubin seviyesi üzerine etkisi. (I. Grup Kontrol, II. Grup 50mg/kg yeşil çay, III. Grup 100mg/kg yeşil çay, IV. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan, V. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay, VI. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay.)

720mg/kg.ca 1,4-Dioksan + 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulaması alan V. gruba ait farelerde bilirubin düzeylerinde IV. gruba oranla istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı ( $p>0.05$ ), Fakat 720mg/kg.ca 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca yeşilçay uygulaması alan VI. gruba ait farelerin bilirubin düzeylerinin ise kontrol değerlerine yaklaştığı ve sadece 1,4-Dioksan uygulanan gruba oranla 1.48 kat azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu da belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Sadece yeşil çay uygulaması alan II. ve III. gruplardaki farelerin bilirubin düzeylerinde ise kontrol grubuna göre önemli olmayan ( $p>0,05$ ) bir artış tespit edilmiştir.

### 3.4. 1,4-Dioksanın Serum Kreatinin Düzeyine Etkisi

Kreatinin böbrek fonksiyon testlerinde önemli bir parametredir. Çalışma kapsamında da serum kreatinin değerleri araştırılmış ve sonuçlar Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

1,4-Dioksan uygulanan IV. grupta kreatinin seviyesinin kontrol grubuna oranla 2.19 kat fazla olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 3.4.** 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde kreatinin seviyesi üzerine etkisi. (I. Grup Kontrol, II. Grup 50mg/kg yeşil çay, III. Grup 100mg/kg yeşil çay, IV. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan, V. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay, VI. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay.)

720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan+50mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan V. grup ve 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan VI.

gruptaki farelerin kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak önemli olmayan değişiklikler gözlenmiştir ( $p>0.05$ ).

### 3.5. 1,4-Dioksanın GGT, AST ve ALT Değerleri Üzerine Etkisi

1,4-Dioksan uygulamasının farelerde ALT, AST ve GGT seviyeleri üzerine etkisi Tablo 3.1’te verilmiştir.

**Tablo 3.1.** 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde GGT, AST ve ALT seviyeleri üzerine etkisi.

| Parametre  | I                     | II                    | III                   | IV                    | V                      | VI                     |
|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| AST (U/L)  | 92.5±2.3 <sup>c</sup> | 90.2±1.8 <sup>c</sup> | 94.1±1.1 <sup>c</sup> | 151±1.2 <sup>a</sup>  | 149.1±1.7 <sup>a</sup> | 145.5±3.2 <sup>b</sup> |
| ALT (U/L)  | 58.3±1.2 <sup>c</sup> | 54.1±0.9 <sup>c</sup> | 56.1±1.2 <sup>c</sup> | 85.6±0.8 <sup>a</sup> | 82.5±1.9 <sup>a</sup>  | 79.6±2.2 <sup>b</sup>  |
| GGT (IU/L) | 16.8±1.9 <sup>b</sup> | 17.9±0.7 <sup>b</sup> | 16.9±1.4 <sup>b</sup> | 22.4±1.9 <sup>a</sup> | 20.4±2.1 <sup>a</sup>  | 19.8±1.2 <sup>a</sup>  |

\* (I. Grup Kontrol, II. Grup 50mg/kg yeşil çay, III. Grup 100mg/kg yeşil çay, IV. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan, V. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay, VI. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay.) Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak verildi (n = 6).

AST, aspartat aminotransferaz; ALT, alanin aminotransferaz; GGT, Gamma Glutamil Transferaz, Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı satır içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ( $P<0.05$ ).

1,4-Dioksan uygulanan grupta AST seviyesinin kontrol grubuna oranla 1.63 kat arttığı belirlenmiş ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan grupta AST seviyesinde sadece 1,4 Dioksan uygulanan gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir azalma tespit edilirken ( $p>0.05$ ), 100 mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan grupta ise AST seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

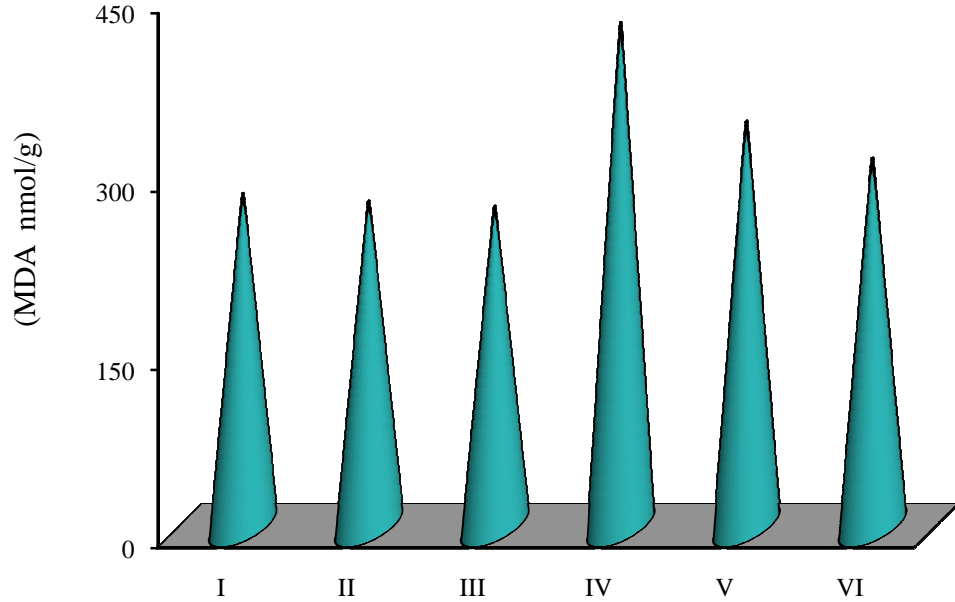
ALT enzimi, AST enzimine paralellik gösteren bir enzimdir. Ancak substrat olarak pirüvik asidi kullanmasıyla farklılık gösterir. 1,4-Dioksan uygulaması farelerde ALT düzeylerinin artışına sebep olmuştur. Kontrol grubuna göre 1,4-Dioksan alan grupta ALT düzeyinin 1.46 kat arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirtilmiştir ( $p<0.05$ ). 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan grupta ALT seviyesinde sadece 1,4 Dioksan uygulanan gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bir azalma tespit edilirken ( $p>0.05$ ), 100 mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan grupta ise ALT seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

GGT indüklenebilen bir karaciğer mikrozomal enzimi olduğu için bir çok ilaç GGT aktivitesinde artışa neden olabilir. 1,4-Dioksan uygulaması GGT düzeyinin artmasına neden olmuştur. VI. gruba ait farelerin GGT düzeylerinin sadece 1,4-Dioksan uygulanan gruba oranla 0.88 kat azaldığı belirlenmiştir.

### 3.6. 1,4-Dioksanın Karaciğer MDA Düzeyine Etkisi

1,4-Dioksan uygulamasının farelerde MDA seviyeleri üzerine etkisi Şekil 3.5'te verilmiştir. MDA lipid peroksidasyon belirteci olarak kullanılmaktadır ve çoğunlukla detoksifikasyon organı olan karaciğer MDA düzeyleri oldukça anlamlıdır.

1,4-Dioksan uygulanan IV. gruptaki farelerin MDA seviyeleri kontrol grubuna oranla 1.51 kat arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan V. gruptaki farelerin MDA seviyeleri 1,4-Dioksan uygulanan IV. gruba oranla 1.13 kat'lık bir azalış, 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca dozunda uygulanan VI. gruptaki farelerin MDA düzeylerinde ise 1.36 kat'lık bir düşüş belirlenmiş ve bu azalışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).



**Şekil 3.5.** 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde MDA seviyesi üzerine etkisi. (I. Grup Kontrol, II. Grup 50mg/kg yeşil çay, III. Grup 100mg/kg yeşil çay, IV. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan, V. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay, VI. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay.)

Bu sonuçlardan 1,4-Dioksan uygulanan tüm gruplarda MDA düzeylerinin belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Fakat bu artış 1,4-Dioksanla birlikte yeşil çay uygulanan gruplarda, sadece 1,4-Dioksan uygulanan gruplara kıyasla daha düşük düzeylerde kalmıştır. Sadece yeşil çay uygulaması alan II. ve III. gruplara ait farelerde MDA düzeyinin kontrol grubuna oranla belirgin bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuç yeşil çayın koruyucu özelliğini doğrulamaktadır.

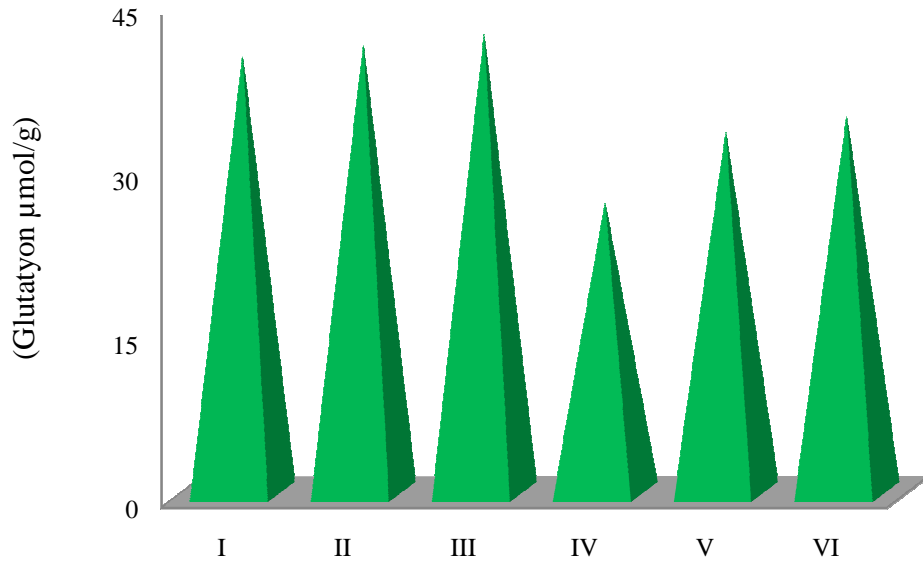
### **3.7. 1,4-Dioksanın Karaciğer GSH Düzeyine Etkisi**

GSH endojen bir antioksidandır ve karaciğer GSH düzeyi antioksidan kapasite ölçümü açısından oldukça hassastır. 1,4-Dioksan uygulamasının farelerin karaciğer doku GSH seviyesi üzerine etkileri Şekil 3.6'da verilmiştir.

1,4-Dioksan uygulaması ile farelerin GSH seviyelerinin kontrol grubuna göre 1.5 kat azaldığı gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ). 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 50mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan V. gruptaki farelerin GSH seviyeleri 1,4-Dioksan uygulanan IV. gruba oranla 1.24 kat'lık bir artış, 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca dozunda uygulanan VI. gruptaki farelerin GSH düzeylerinde ise 1.32 kat'lık bir artış belirlenmiş ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).

Bu sonuçlardan 1,4-Dioksan uygulanan tüm gruplarda GSH düzeylerinin belirgin bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Fakat bu azalma 1,4-Dioksanla birlikte yeşil çay uygulanan gruplarda sadece, 1,4-Dioksan uygulanan gruba oranla daha düşük düzeylerde kalmıştır. Sadece yeşil çay uygulaması alan II. ve III. gruplarda GSH

düzeyinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış gösterdiği belirlenmiştir ( $p>0.05$ ).



**Şekil 3.6.** 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde GSH seviyesi üzerine etkisi. (I. Grup Kontrol, II. Grup 50mg/kg yeşil çay, III. Grup 100mg/kg yeşil çay, IV. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan, V. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 50mg/kg yeşil çay, VI. Grup 720mg/kg 1,4-Dioksan + 100mg/kg yeşil çay.)

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hızlı sanayileşme ve endüstriyel gelişim, artan talebi karşılamak amacıyla her geçen gün artmaktadır. Bu gelişme ile birlikte kullanılan kimyasallarda çeşitlilik ve aynı oranda endüstriyel atıklar da yaygınlaşmaktadır. Pek çok endüstriyel ürünlerde bulunan ve vücudumuza yabancı olan bu tür ksenobiyotikler oral, inhalasyon, deri emilimi ve parenteral enjeksiyon gibi çeşitli yollarla vücuda girebilmektedirler. Bu çalışmada bu ksenobiyotiklerden biri olan 1,4-Dioksanın albino farelerde biyokimyasal etkileri incelenmiş ve seçilen parametreler açısından önemli değişimler saptanmıştır. 1,4-Dioksan şampuanlarda, sıvı sabunlarda, saç losyonlarında ve diğer kozmetik ürünlerde bulunmaktadır (17). Ayrıca boya, gres, mum ve vernik yapımında stabilizatör olarak kullanılmaktadır (5,13,18,). 1,4-Dioksanın pek çok endüstriyel üründe yaygın bir şekilde kullanılması maruziyeti kaçınılmaz kılmaktadır ve bu nedenle canlılar üzerine etkisinin araştırılması da önem taşımaktadır. Yüksek hidrofilik özelliği ile 1,4-Dioksan bulunduğu ortamlarda kolaylıkla difüze olabilmektedir. Kolay difüzyon özelliği ile hava, su ve toprak gibi ortamlarda yayılabilmektedir (4). Solunum ya da deriden difüzyon yoluyla vücuda ulaşabilmekte ve canlı organizmalar üzerine olumsuz etki göstermektedir. 1,4-Dioksan canlılar üzerine direkt etki gösterebilirken, metabolize edilmesi sonucunda oluşan metabolitler de canlılar üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir. 1,4-Dioksanın parçalanması sonucu formaldehit, asetaldehit ve glioksal gibi aldehitler, formik, metoksiasetik asit, glikolik, glioksilik gibi organik asitler meydana gelmektedir (19). Ayrıca 1,4-Dioksanın ortam sıcaklığında moleküler oksijenle reaksiyona girmesi sonucu peroksitler ve hidroperoksitler oluşmaktadır. Havada hidroksil radikalleri ile reaksiyona giren 1,4-Dioksan bu reaksiyonla radikalik ürünlere de dönüşebilmektedir (21-23). Bu kapsamda 1,4-Dioksanın albino farelerde total protein, albumin, kreatinin, bilirubin, AST, ALT, GGT parametreleri üzerine etkisi incelenirken, çıkarılan karaciğer dokularında elde edilen MDA ve GSH düzeyleri de araştırılmıştır.

Çeşitli toksik ajanlara karşı vücutta bir detoksifikasyon sistemi mevcuttur. Bu sistem içerisinde pek çok endojen antioksidan moleküller mevcuttur. Ksenobiyotik



toksitesine karşı eksojen kaynaklı antioksidanların alımı meydana gelebilecek hasarları önlemek için alternatif bir yoldur. Yapısında yüksek oranda polifenol içeren yeşil çay güçlü antioksidan etkiye sahiptir. Lipit, protein, karbonhidrat ve nükleik asitlerin okside olmalarını engelleyen yeşil çay C ve E vitaminlerinden çok daha fazla koruyucu etkiye sahiptir (83). Bu çalışmada da 1,4-Dioksan toksitesine karşı yeşil çayın koruyucu etkisi araştırılmıştır.

Çalışma kapsamında 1,4-Dioksan uygulanan farelerde serum albumin ve protein düzeyleri incelenmiştir. 1,4-Dioksan uygulaması ile serum albumin seviyelerinin ve total protein düzeyinin azaldığı, yeşil çay uygulamasının ise bu olumsuz etkiyi azaltarak koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. 1,4-Dioksan uygulaması ile albumin seviyesinde görülen azalma karaciğerde albumin sentezinin azalması ile ilişkilendirilebilir (121). Bunun dışında bu sonuç 1,4-Dioksanın, 1,4-Dioksan parçalanma ürünlerinin ya da 1,4-Dioksanın dolaylı olarak oluşturduğu radikal bileşiklerin protein denatürasyonuna yol açması ile de açıklanabilir. Bununla birlikte 1,4-Dioksanın proteinleri denatüre edici bir ajan olduğu da rapor edilmektedir (122). Denatüre proteinler dolaşımdan hızla uzaklaştırılmakta ve ilgili proteinin serum seviyesi azalmaktadır. Albumin serumda en bol bulunan proteindir. Albumindeki azalma total protein düzeyine yansımakta ve total protein düzeyi de buna bağlı olarak azalmaktadır. 1,4-Dioksanın serum proteinleri üzerine etkisine dair çok az çalışma mevcuttur ve bu çalışmalarda da benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Kano ve arkadaşları (123), fare ve sıçanlara 13 hafta boyunca 1,4-Dioksan uygulamış ve albumin seviyesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Yoshioka ve arkadaşları (124), sıçanlarda dioksin türevlerinin hepatik albumin düzeylerinde azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Literatürde pek çok kimyasal ajanın serum albumin düzeyleri üzerine etkisi incelenmiştir. Subbotina ve Belonozhko (121), fosforlu pestisit ilaçlaması yapan, sağlıklı erkek tarım işçilerinin total protein seviyesinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir ve benzer şekilde bu azalmayı albumin sentezindeki azalma ile ilişkilendirmişlerdir.

1,4-Dioksanın etkisinin incelendiği diğer bir parametrede bilirubindir. Bilirubin safraya renk veren maddedir. Bilirubin normal yaşam süresini tamamlayan alyuvarların parçalanması ile oluşur. Bu bilirubin serbest bilirubin (indirekt bilirubin) ismini alır,

kanda proteine bağlanarak karaciğere taşınır ve orada bağlı bilirubine (direkt bilirubin) dönüşür. Karaciğer hücrelerinde direkt bilirubin şeklinde safra kanallarına salınır ve safra ile bağırsağa geçer. Bağırsakta bir kısmı bağırsak bakterileri tarafından parçalanır, bir kısmı ise tekrar kana geçerek karaciğere geri döner, bir kısmı da dışkı ile atılır ve dışkıya rengini verir. Kanda arttığında cilt, göz akı ve ağız içi gibi mukoza denilen bölgelerde sararma görülür. Karaciğerde oluşan hasar bu işlemleri aksatacağından bilirubin konjuge olamaz ve vücuttan atılamaz. Bu durumda bilirubin seviyesi kanda artar (125,126). Çalışmamız sonucunda 1,4-Dioksan uygulanan farelerde bilirubin seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Bilirubin, üç tek karbon köprüsüyle birbirine bağlanmış dört pirol halkasından oluşur. Bu molekülün üç boyutlu yapısında, bütün polar gruplar molekül içinde bulunduğundan hidrofobik ve lipofilik bir özellik kazanır (127). Bu nedenlerden dolayı bilirubin kanda albumine bağlanarak taşınmaktadır. 1,4-Dioksan uygulamasının albino farelerde albumin seviyesini azalttığı daha önceki bölümlerde tartışılmıştır. Bilirubin kanda albumine bağlanarak taşınmaktadır, fakat albumin düzeyinin azalışı albumin-bilirubin kompleksinin oluşumunu azaltarak bilirubin seviyesinin artışına sebep olmaktadır. 1,4-Dioksan uygulaması ile bilirubin artışı bu yolla açıklanabilir. Bunun dışında bilirubin artışının 1,4-Dioksanın sebep olabileceği muhtemel hepatosellüler hasar ya da safra kanalları tıkanıklığı ile de açıklanabilir. Bu sonuca benzer olarak literatürde araştırılan pek çok çalışmada çeşitli ksenobiyotiklerin bilirubin düzeylerinde anormalliklere neden olduğu rapor edilmektedir. Stewart and Andrews (128), farelerde 1,1,1-trikloroetan oral uygulamasının bilirubin seviyesini arttırdığını belirtmişlerdir. Fairley ve arkadaşları (129), sıçan, fare ve tavşan gibi hayvanlarda 3 saat/5 gün 1000 ppm 1,4-Dioksan uygulamasının hepatosit dejenerasyonuna sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Kas kasılması için gerekli bir aminoasit olan kreatinden türeyen kreatinin serumdaki artışı, ya yapılarındaki artıştan ya da idrarla atılımındaki azalıştan (böbrek yetmezliği, üremi ve ciddi kalp yetmezliği) ileri gelmektedir. Böbrek işlevlerini değerlendirmede serum kreatinin değerlerinin bilinmesi çok önemlidir. İlerlemiş böbrek fonksiyon hastalıklarında kreatin miktarı iki katına çıkabilir. Çalışmamızda 1,4-Dioksan uygulamasının farelerde serum kreatinin düzeyini önemli derecede arttırdığı

bulunmuştur. Kreatinin böbrek fonksiyonu ile yakından ilişkilidir. 1,4-Dioksanın böbreklerde renal lezyon (48), genişleme ve kanamaya sebep olduğu rapor edilmektedir. Bu tür böbrek hasarları böbrek fonksiyonunda bozulmalara sebep olmakta ve kreatinin düzeyindeki artışında muhtemel sebep olarak gösterilir. Literatürde de benzer şekilde bozulmuş bir böbrek fonksiyonunun artmış serum kreatinin düzeyi ile sonuçlandığı rapor edilmektedir. Yapar ve arkadaşları (130), uranyum uygulaması verdikleri farelerde serum kreatinin düzeylerinin istatistiksel olarak arttığını, *Ginkgo biloba* ekstraktı uygulamasının ise uranyumun toksik etkisini azalttığını rapor etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Çavuşoğlu ve arkadaşları (131), kadmiyum uygulaması alan farelerde serum kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna oranla önemli derecede arttığını, arı sütü uygulamasının ise kreatinin seviyelerini kadmiyum uygulanan gruba kıyasla azalttığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde toksik maddelere maruz kalma ve böbreklerde deformasyon sonucunda kreatinin seviyesinin arttığı Casillas ve arkadaşları (132) tarafından da rapor edilmiştir.

Pek çok kimyasal ajanın biyokimyasal etkilerinin değerlendirilmesinde klinik enzimlerden yararlanılmaktadır. Bu enzimlerde ekstraselüllere oranla hücrel enzimler kullanılmaktadır. Ekstraselüllere oranla hücrel enzim düzeyleri çok yüksek olduğu için plazma veya serum enzimatik aktivitesinde görülen en küçük artış hücrel hasarın duyarlı bir göstergesidir. Hücrel enzimlerden AST, ALT ve GGT en çok tercih edilenlerdendir. Bu testlerden ALT ve AST hepatoselüler hasara, GGT daha çok kolestaza işaret etmektedir. 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 için spesifik olduğu düşünülmektedir. ALT enzimi genellikle AST enzimi ile paralel olarak yükselme göstermektedir. AST, çoğunlukla karaciğer ve böbrek dokularında hasar oluşması durumunda artan bir enzimdir. Özellikle hepatobiliyer, siroz ve metazatik karsinoma rahatsızlıklarında seviyesi artmaktadır (133). AST, karaciğer, kalp ve iskelet kasında, böbrek, pankreas ve eritrositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Bu dokularda herhangi bir hasar durumunda AST kana salınır ve serum da seviyesi yükselir (134). GGT,

membrana yerleşmiş bir enzimdir. Karaciğer, böbrek ve pankreas GGT bakımından oldukça zengindir ve bu dokularda meydana gelen hasarlar sonucu GGT'nin seviyesinde artış meydana gelmektedir (135,136).

Çalışmamızda 1,4-Dioksan uygulaması alan IV. gruba ait farelerde ALT, AST ve GGT düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Karaciğerde 1,4-Dioksan uygulaması sonucu ciddi hasarlar oluşmaktadır. Bu hasarların başında karaciğerde hepatik parçalanma ve hiperplazi gelmektedir. 1,4-Dioksan uygulaması hepatositlerde hipoksiye bağlı hasar ve endotel hücrelerinde zedelenmeye sebep olmaktadır. Sonuç olarak hepatosit nekrozu görülebilmektedir. Ayrıca 1,4-Dioksan maruziyeti böbreklerde renal lezyona sebep olmaktadır (48). 1,4-Dioksan uygulamasının sebep olduğu bu hasarlar karaciğer enzimlerinin seruma geçmesine ve serum düzeylerinin artışına neden olur. Benzer bir şekilde Kasai ve arkadaşları (137), 50 sıçanı 104 hafta boyunca haftada 5 gün ve günde 6 saat olmak koşulu ile oral yolla 0, 50, 250 ve 1250 ppm(v/v) 1,4-Dioksana maruz bırakmışlardır. Uygulama süresi sonunda plazma ALT, AST ve GGT enzimlerinin seviyelerinde önemli değişimler gözlemişlerdir. Ayrıca yüksek dozlarda 1,4-Dioksana maruz kalan grubun böbrek hücrelerinde karsinoma ve karaciğerlerinde lezyon tespit etmişlerdir. Drew ve arkadaşları (138), erkek sıçan hepatositlerinde ALT, AST seviyeleri üzerine 1,4-Dioksanın etkilerini araştırmışlardır. 48 saatlik bir uygulama sonucunda bu enzimlerin aktivitesinde artış olduğunu rapor etmişlerdir. Sameh El-safty (139), albino erkek fareleri karbon tetrakloride (CCl<sub>4</sub>) maruz bırakmış, ALT, AST ve GGT serum değerlerinde artış gözlemişlerdir.

Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile biyoaktif aldehitler oluşmaktadır. Bunlardan en önemlisi MDA'dır. Lipit hidroperoksitleri ile nihai yıkım ürünü olan düşük molekül ağırlıklı MDA lipit peroksidasyonunun indeksi olarak kabul edilmektedir. MDA hücre düzeyinde metabolize edilmekte ya da 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 periferel oluşturdukları hasarlar,

bazı hücrelerde permeabiliteyi artırarak hücrenin ölümüne yol açar (140,141). MDA kanda ve idrarda ortaya çıkmakta ve lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon göstermektedir. Bu anlamda pek çok çalışmada MDA lipit peroksidasyonunun araştırılmasında önemli bir parametredir. Bu çalışmada da 1,4-Dioksan uygulaması alan farelerde MDA düzeyi araştırılmış ve 1,4-Dioksan uygulaması alan tüm gruplarda MDA düzeyinin kontrole oranla arttığı belirlenmiştir. MDA düzeyindeki bu artış, 1,4-Dioksan uygulamasının oksidatif hasara yol açması ile ilişkilendirilebilir. Literatürde pek çok ksenobiyotiğin ya da sentetik kimyasalların MDA düzeyi üzerine etkisi incelenmiştir. Kuş ve arkadaşları (142), Wistar-Albino cinsi erişkin erkek sıçanları 14 gün boyunca formaldehite maruz bırakmışlar, sonuçta MDA seviyesinin arttığını ve SOD, GSH-Px aktivitelerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Benzer bir şekilde Humberto ve arkadaşları (143) sıçanlara ferriknitriлотriasetat (Fe-NTA) uygulamışlar ve MDA seviyesinin arttığını gözlemişlerdir. Alem (144) N-Nitro L- Arginin Metil Ester uygulamasının fibroblast hücre kültürlerinde MDA seviyelerini yükselttiğini rapor etmişlerdir. Li ve arkadaşları (145), Japon balığına (*C.auratus*) herbisid sentezinde ön madde olarak kullanılan 3,4-dikloroanilinini uygulamış ve MDA miktarını arttırdığı saptanmışlardır. Bagchi ve arkadaşları (146), dişi Sprague-Dawley sıçanlarında fenthion etkisinde karaciğer ve beyin dokusunda lipit peroksidasyonunun arttığı belirlenmiştir.

Karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan sentezlenebilen bir tripeptit olan GSH enzimatik olmayan önemli bir antioksidandır. Bu antioksidan özelliği ile serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır (29,116,147). Redükte glutatyon (GSH) glutamik asit, sistein ve glisin içerir ve aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir (20,148,149).

Hücre içi ortamın en önemli antioksidan molekülü olan redükte glutatyonun antioksidan aktivite dışında ksenobiyotiklerin etkisizleştirilmesi, aminoasitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril gruplarının indirgenmesinde görev almaktadır (150). Redükte formdaki GSH hidrojen peroksit veya lipit peroksitlerle reaksiyona girerek detoksifikasyonda rol alırken, kendisi başka ikinci bir GSH molekülüyle disülfid bağı kurarak okside glutatyon (GSSG) formuna dönüşmektedir. GSH bilinen tüm fonksiyonunu yerine getirebilmesi için redükte formuna geri dönüştürülmesi

gerekmektedir (29). Bu çalışmada da karaciğer GSH düzeyleri üzerine 1,4-Dioksanın etkisinin araştırılması amacıyla karaciğer doku ekstraktında redükte glutatyon düzeyi incelenmiştir. 1,4-Dioksan uygulaması ile GSH seviyesinin belirgin derecede düştüğü gözlenmiştir. Bu düşüş GSH sentezindeki azalma ya da okside GSH'ın düzeyinin artması ile açıklanabilir. Bilirubin seviyesinin artışı, albümin ve protein seviyelerinin azalması muhtemel karaciğer hasarına işaret etmektedir. Ayrıca çalışma sonuçlarından yüksek MDA düzeyide karaciğer hasarına yol açabilmektedir. Bu veriler ışığında muhtemel bir karaciğer harabiyeti GSH sentezinde azalmaya neden olmuştur ve 1,4-Dioksan uygulanan gruplarda GSH düzeyinin düşük bulunması bu olasılığı kuvvetlendirmektedir. GSH üzerine pek çok toksik ajanların etkilerinin incelendiği çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Güreer ve arkadaşları (151), kurşunlu diyetle beslenen sıçanlarda eritrosit GSH miktarının azaldığı ve MDA miktarının arttığını rapor etmişlerdir. Zhou ve arkadaşları (152), *sazan balığı (C. carpio)* retinasında paraquat enjeksiyonu ile GSH miktarının azaldığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda 1,4-Dioksanın toksik etkisi yanında yeşil çayın koruyucu etkisi de incelenmiştir. Yeşil çay uygulanan V. ve VI. gruplara ait biyokimyasal parametrelerde IV. gruba oranla iyileşme olduğu görülmüştür. Albumin analizlerinde 1,4-Dioksanla beraber yeşil çay uygulanan V. ve VI. gruplara ait albumin seviyelerinin 1,4-Dioksan uygulaması alan IV. gruba kıyasla belirgin bir şekilde kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Benzer sonuçlar protein analizlerinde de elde edilmiştir ve 1,4-Dioksan ile birlikte verilen yeşil çay uygulamasının protein düzeyi üzerindeki olumsuz etkisini azalttığı görülmüştür. Bilirubin analizlerinde ise 720mg/kg.ca dozunda 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca dozunda yeşil çay uygulanan VI. gruba ait farelerin bilirubin düzeylerinin kontrol değerlerine yaklaştığı ve sadece 1,4-Dioksan uygulanan gruba oranla 1.48 kat azaldığı belirlenmiştir. 720mg/kg.ca 1,4-Dioksan + 100mg/kg.ca yeşil çay uygulaması alan VI. gruba ait farelerin GGT düzeylerinin sadece 1,4-Dioksan uygulanan gruba kıyasla önemli derecede azaldığı belirlenmiştir ve bu sonuç yeşil çayın 1,4-Dioksanın olumsuz etkisini azalttığını desteklemektedir. 1,4-Dioksan uygulaması IV. gruba ait farelerde MDA düzeylerinde artışa yol açarken, yeşil çay uygulaması bu toksik özelliği azaltmıştır. 1,4-Dioksan uygulaması ile önemli bir hücre içi antioksidan

molekül olan GSH düzeyi belirgin bir şekilde azalırken, 1,4-Dioksanla birlikte yeşil çay uygulanan gruplarda sadece 1,4-Dioksan uygulanan gruba oranla bu azalma daha düşük düzeylerde kalmıştır. Tüm bu sonuçlar yeşil çayın koruyucu özelliğini doğrulamaktadır. Yeşil çayın koruyucu özelliği içeriğindeki aktif bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler polifenoller ve flavonoidlerdir. Flavonoidler, kateşinler ve kateşin türevlerince zengindir (153, 154). Yeşil çay içeriğindeki polifenoller reaktif oksijen ve nitrojen türlerini bağlayarak, ayrıca süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-redüktaz, katalaz, ve kinon redüktaz gibi hücre içinde bulunan (endojen) antioksidan enzimlerin sentezini tetikleyerek, antioksidan aktivite göstermektedir. Bu etkileriyle yeşil çay lipid peroksidasyonunu ve DNA yapısında oluşabilecek hasarları engellemektedir. Ayrıca, yeşil çaydaki epigallocateşin gallat metal iyonları ile bağlanarak serbest radikallerin oluşumunu azaltmaktadır. Böylece, yeşil çay hücre nekrozuna ve ölümüne sebep olan lipid peroksidasyonunu ve mutasyonlara yol açan DNA hasarlarını önleyebilmektedir. (98,155). Weinreb ve arkadaşları (156), yeşil çay içeriğinin antioksidan enzimlerin indükleyerek, Alzheimer ve Parkinsona karşı koruyucu etki gösterebileceğini bildirmektedir. Deney hayvanları üzerinde yürütülen çalışmalarda, yeşil çayın kanserojen nedenli tümör gelişimine karşı antikanserojen etki gösterdiği bildirilmiştir (157). Yeşil çayın koruyucu etkisi; hücre döngüsünü durdurma (158), mitotik uyarıları baskılama, mutajeniteyi önleme, detoksifikasyon enzimlerini etkinleştirme, serbest radikal temizleme, hasarlı hücrelerinin apoptosisini hızlandırma gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır. Alessio ve arkadaşları (159), sıçanlarda yeşil çayın vücutta özellikle böbrekte koruyucu etkiler yaptığını rapor etmişlerdir. In-vitro çalışmalarda ise yeşil çayın, hücre döngüsünün durmasına neden olduğu ve kanser hücrelerinin apoptosisini hızlandırdığını gözlemlemişler (98,155). El-Beshbishy (160) 14 gün boyunca sıçanların içme sularına tamoksifen sitrat uygulamış ve yeşil çayın tamoksifene karşı koruyucu etkisini araştırmış ve karaciğer homojenatlarında tamoksifen sitratın toksik etkisinin yeşil çay ile birlikte önemli ölçüde azaldığını rapor etmiştir. El-Shahat ve arkadaşları (161) bir grup erkek sıçanı 5 hafta boyunca kadmiyuma maruz bırakmış ve testler sonucunda sadece kadmiyum uygulanan gruptaki sıçanlarda oksidatif stres ve nekroz tespit etmişlerdir. Bu grupta kontrol grubuna göre lipid peroksidasyonunun seviyesi fazla iken, GSH seviyesi ise oldukça düşük olarak tespit

edilmiştir. Kadmiyum ile birlikte koruyucu olarak sıçanların içme suyuna yeşil çay ilave edilmiş ve buna bağlı olarak GSH seviyesinin arttığını, oksidatif stres ve nekroz oluşumunun ise azaldığı gözlemlenmiştir. Wei O-Y ve arkadaşları (162), yeşil çay polifenollerinin insan da kırmızı kan hücreleri üzerine etkisini incelemişler ve sonuçta serbest radikaller tarafından başlatılan lipid peroksidasyonuna karşı güçlü bir antioksidan etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir. Cellat ve Kılıçal (163), bir grup sıçanı 30 gün boyunca elektromanyetik radyasyona maruz bırakmışlar, sıçanların böbrek ve karaciğer dokularında MDA seviyesinin arttığı ve koruyucu olarak kullanılan yeşil çayın ise bu olumsuz etkileri azaltıcı yönde etki gösterdiği rapor edilmiştir. Yokozawa ve arkadaşları (164), sıçanlar üzerinde yaptıkları araştırmada yeşil çay metabolitlerinden olan taninin böbrek dokusunda MDA seviyesini düşürerek ve oksidatif stresi ortadan kaldırarak böbrek fonksiyonlarını düzelttiği rapor edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler 1,4 Dioksanın Swiss albino farelerde seçilen biyokimyasal parametreler üzerinde olumsuz etkilere neden olduğunu göstermiştir. Fakat yeşil çay uygulaması, serbest radikallerin etkisini azaltarak 1,4 Dioksanın teşvik ettiği toksisiteye karşı koruyucu bir özellik göstermiştir. Bu nedenle, yeşil çayın antioksidan rolü yakın gelecekte kimyasalların insan sağlığı üzerindeki etkilerini azaltmak amacıyla "toksisite sınırlayıcı bir ajan" olarak kullanılabilir.



## KAYNAKLAR

1. [http://www.mersin.edu.tr/uploads/320/files/Ksenobiyotikler.ppt#260,5,Slayt 5](http://www.mersin.edu.tr/uploads/320/files/Ksenobiyotikler.ppt#260,5,Slayt%205). Web adresinden 10 Kasım 2011 tarihinde edinilmiştir.
2. [http://ocw.jhsph.edu/courses/publichealthtoxicology/PDFs/Lecture2\\_Trush.pdf](http://ocw.jhsph.edu/courses/publichealthtoxicology/PDFs/Lecture2_Trush.pdf). Web adresinden 7Aralık 2011 tarihinde edinilmiştir.
3. Akay, C. 2004. Biyomarkörlerin toksikolojide kullanımı. *Gülhane Tıp Dergisi*, 46(1): 73-83.
4. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. 1996. *Harper'in Biyokimyası*. Barış Kitabevi. İstanbul.
5. Moeller, D.W. 2005. *Environmental Health*. Harvard University Press. London.
6. Kocataş, A. 2008. *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi*. Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir.
7. Kışlalıoğlu, M., Berkes F. 2003. *Ekoloji ve Çevre Bilimleri*. Remzi Kitabevi. İzmir.
8. Gökmen, S. 2007. *Genel Ekoloji*. Nobel Yayın Dağıtım. Ankara.
9. National Geographic Türkiye. 2010. Mayıs ayı baskısı.
10. EPA. 2006. "Treatment Technologies for 1,4- Dioxane. Fundamentals and Field Applications." EPA 542-R-06-009.
11. Agency for Toxic Substance & Disease Registry (ATSDR). 2007. PUBLIC HEALTH STATEMENT 1,4-Dioxane. R-06-009.
12. Alexeeff, G.1998. Office of Environmental Hazard Assessment. Memorandum: 1,4-Dioxane Action Level.
13. Mohr, T.K.G. 2001. "Solvent Stabilizers, White Paper." Prepublication Copy. Santa Clara Valley Water District of California. San Jose, California.
14. EPA, Integrated Risk Information System (IRIS). 2010. "1,4-Dioxane (CASRN 123-91-1)".
15. Zenker, M. J., Borden, R.C., Barlaz, M. A. 2004 . Occurrence and Treatment of 1,4-Dioxane in Aqueous Environments. *Environmental Engineering Science*. 20(5): 423-432.

16. Young, J.D., Braun, W.H., Gehring, P.J., Horvath, B.S., Daniel, R.L. 1976. 1,4-Dioxane and bhydroxyethoxyacetic acid excretion in urine of humans exposed to dioxane vapors. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 38: 643-646.
17. Black, R.E., Hurley, F.J., Havery, D.C. 2001. Occurrence of 1,4-dioxane in cosmetic raw materials and finished cosmetic products. *J AOAC Int* 84: 666-670.
18. ATSDR. 2006. Toxicological profile for 1,4-dioxane (update). U.S. Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
19. Stefan, M.I., Bolton, J.R. 1998. Mechanism of the Degradation of 1,4-Dioxane in Dilute Aqueous Solution Using the UV/Hydrogen Peroxide Process. *Environ. Sci. Technol.* 32 (11), pp 1588–1595.
20. Yanbeyi, S. 1999. Aspirin ve antioksidant buthylatedhydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88s (yayınlanmamış).
21. Atkinson, H.J., Ingold, K.U. 1969. Absolute rate constants for hydrocarbon autoxidation XVII. The oxidation of some cyclic ethers. *Can J Chem* 47:3809-3815.
22. Jewett, D., Lawless, J.G. 1980. Formate esters of 1,2-ethanediol. Major decomposition products of p-dioxane during storage. *Bull Environ Contam Toxicol* 25: 118-121.
23. EPA. 2000. EPIWIN Suite. Estimation Program Interface for Windows. Environmental Protection Agency. Version 3.11. U.S.
24. Burmistrov, S.O., Arutyunyan, A.V., Stepanov, M.G., Oparina, T.I., Prokopenko, V.M. 2001. Effect of chronic inhalation of toluene and dioxane on activity of free radical processes in rat ovaries and brain. *Bull ExpBiol Med*, 132: 832-836.
25. EPA. 1976. Environmental Protection Agency Report No:-560/2, 76-009, Washington D.C., U.S.
26. Davison, A. N., Wajda, M. 1962. Analysis of lipids from fresh and preserved adult human brains. *Biochem. .I.* 82: 113.

27. Porter, N.A. 1985. Mechanism of fatty acid and phospholipid autoxidation. In "Chemical Changes in Food During Processing", T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:73-105. Van NostrandRainhold Company, New York.
28. Foote, C.S. 1985. Chemistry of reactive oxygen species. In " Chemical Changes in Food During Processing", T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:17-32. Van Nostrand Rainhold Company, New York.
29. Akkuş, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. s. 3-10, 1. Baskı, Mimoza Yayınları. Konya.
30. Slater, M.S., Mullins, R.J. 1998. Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in traumaand surgical patients: a review. *J Am Coll Surg.* 6(186):693-716.
31. Argus, M.F., Arcos, J.C., Hochligeti, C. 1965. Studies on the carcinogenic activity of protein-denaturing agents: hepatocarcinogenicity of dioxane. *J Natl Cancer Inst* 35: 949-958.
32. Walker, J.F., 1964. Formaldehyde. 3rd Ed. Reinhold Publishing Corp. New York.
33. World Healt Organization and published under the joint sponsorship of the united nations environmental programme the International Labour Organization. 1989. Formaldehyde: EnviromentalHealt Criteria 89. First ed. Geneva: WHO 3-176.
34. Cassee, F.R., Feron, V.J. 1994. Biochemical and histopathological changes in nasal epithelium of rats after 3-day intermittent exposure to formaldehyde and ozone alone or in combination. *ToxicolLett* 72: 257-68.
35. Farooqui, M.Y., Upreti, R.K., Ahmed, A.E., Ensari, GA. 1986. Influence of intraperitoneally administered formaldehyde on bile production and tissue glutathione levels in rats. *Res CommunChemPatholPharmacol* 53: 233-236.
36. Grisham, M.B., Mc Cord, J.M. 1986. Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. In: *Physiology of oxygen radicals*. Ed: Taylor AE, Malton S, Ward PA. American Phsiology Society, Bethesda, Maryland, USA, pp: 1-18.
37. Deby, C., Pincemail, J. 1988. Oxygen toxicity, free radicals and defense mechanisms. In: *Rökan (Ginkgo Biloba). Recent result in pharmacology and clinic*. Ed: FünfgeldEW. Springer- Verlag, Berlin pp: 57-70.

38. Mathers, J., Fraser, J.A., McMahon, M., Saunders, R.D., Hayes, J.D. 2004. McLellan LI.:Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress. *BiochemSocSymp.* (71): 157-76.
39. Stadtman, E.R., Levine, R.L. 2003. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids.* 3-4: 207-18.
40. <http://www.scribd.com/doc/30163215/B-II-2007-2008-2>. Web adresinden 17 Aralık 2011 tarihinde edinilmiştir.
41. Derosa, C., Wilbur, S., Holler, J., Richter, P., Stevens, Y.W. 1996. Health evaluation of 1,4-dioxane. *Toxicology and IndustrialHealth*, 12(1): 1-43.
42. Mc Cuskey, R.S. 2006. Anatomy of the liver. In: Boyer TD, Wright TL, Manns MP (Eds.). *Zakim end Boyer's hepatology: A Textbook of Liver Disease. Hepatology.* 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company 3-21.
43. Issekutz, T.B. 1990. Effects of six different cytokines on lymphocyte adherence to microvascular endothelium and in vivo lymphocyte migration in the rat. *J Immunol.* 144(6):2140-6.
44. Tsujimoto, M., Yokota, S., Vilcek, J., Weissmann, G. 1986. Tumor necrosis factor provokes superoxide anion generation from neutrophils. *BiochemBiophys Res Commun.* 137(3):1094-100.
45. Meyer, J.D., Yurt, R.W., Duhaney, R., Hesse, D.G., Tracey, K.J., Fong, Y.M., Verma, M., Shires, G.T., Dineen, P., Lowry, S.F., Davis, J.M. 1988. Tumor necrosis factor-enhanced leukotriene B4 generation and chemotaxis in human neutrophils. *Arch Surg. Dec;* 123(12):1454-58.
46. Zararsız, İ., Meydan, S., Sarsılmaz, M., Songur, A., Ozen, O.A. 2011. Sogut S. Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced cerebellar damage in rats. *ToxicolInd Health;* 27(6):489-95.
47. Yıldız, E., Göze, F. 1997. Kenelerde formaldehidin kemikiliği, deri, dalak, karaciğer, akciğer ve böbrek üzerine etkisinin histopatolojik değerlendirilmesi, *Türk Patoloji Dergisi*, 13-1; 57-59.
48. NOHSC. 1994. Approved Criteria for Classifying Hazardous Substances. NOHSC:1008. Canberra, ACT, Australian Government Publishing Service.

- Johnstone, RT (1959) Death due to dioxane? American Medical Association Archives of Industrial Health, 20: 445-447.
49. Waz, W.R., Feld, L.G. 1994. Reactive oxygen molecules in the kidney. *AdvExp Med Biol* 366:171-183.
50. Andreoli, S.P. 1991. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *PediatriNefrol* 5: 733-742.
51. Shah, S.V. 1989. Role of reactive oxygen metabolites in experimental glomerular disease. *Kidney Int.* 35: 1093-1106.
52. Andreoli, S.P., Mc Ateer, J.A. 1990. Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubular epithelial cells in vitro. *Kidney. Int* 38: 785-794.
53. Paller, M.S, Neumann, T.V. 1991. Reactive oxygen species and renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation. *Kidney Int* 40: 1041-1049.
54. Baud, L., Ardaillou, R. 1993. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *British Med Bulletin* 49: 621-630.
55. Boyce, N.W., Tipping, P.G., Holdsworth, S.R. 1989. Glomerular macrophages produce reactive oxygen species in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 35: 778-782.
56. Baud, L., Ardaillou, R. 1986. Reactive oxygen species: Production and role in the kidney. *Am J Physiol.* 765-76.
57. Johns, R.J., Klebanoff, S.J., Ochi, R.F., Adler, S., Baker, P., Sparks, L., Couser, W.G. 1987. Participation of the myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-halide system in immune complex nephritis. *Kidney Int* 32: 342-349.
58. [www.jem.rupress.org](http://www.jem.rupress.org). Web adresinden 6 Ocak 2012 tarihinde edinilmiştir.
59. Koca, N., Karadeniz, F. 2005. Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda*, 30(4)229-236.
60. Sherwin, E.R., Branen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S. 1990. Antioxidants. *Food Additives*, , pp. 139-191, Marcel Dekker Inc., New York.
61. Üstün, N.S., Turhan, S. 1999. *Yağ Oksidasyonu ve Antioksidanlar*. OMÜ Ziraat Fak. Yardımcı Ders Notu No: 11, 81 s, Samsun
62. [www.caykur.gov.tr/detay.aspx?ID=1](http://www.caykur.gov.tr/detay.aspx?ID=1) Web adresinden 8 Ekim 2011 tarihinde edinilmiştir.

63. Henning, S.M., Fajardo- Lira, C., Lee, H., Youssefian, A.A., Go, V.L.W., Heber, D. 2003,2005. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with antioxidant capacity. *Nutrition and Cancer*. 45; 226- 235. 11; 521-528.
64. McKay, D.L., Blumberg, J.B. 2002. The role of tea in human health: An update. *J Am Coll Nutr* 21: 1-13.
65. Cooper, R., Morr , D.J., Morr , D.M. 2005. Medical benefits of green tea: part I. review of non-cancer health benefits. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 11; 521-528
66. Sumpio, B.A., Cordova, A.C., Berke-Schlessel, D.W., Qin, F., Chen, Q.H. 2006. Green tea,the “Asian paradox”, and the cardiovascular disease. *Journal of American College of Surgeons*.202; 813-825.
67. Takeo, T. 1992. Green and semi-fermented teas. *In: Willson KC and Clifford MN (ed). Tea: Cultivation to Consumption, Chapman and Hall, London and Tokyo. pp.413-457*
68. Kacar, B. 1987.  ayın Biyokimyası ve İşleme Teknolojisi.  aykur Yayınları, No: 6. 329 s. Wu, W.W., Chadik, P.A., Davis, W.M., Powell, D.H., Delfino, J.J., 1998. Disinfection Byproduct Formation from the Preparation of Instant Tea. *J Agric Food Chem*. 46: 3272-3279.
69. Yoshikawa, M., Morikawa, T., Li, N., Nagatomo, A., Li, X., Matsuda, H. 2005. Bioactive Saponins and Glycosides. XXIII. TriterpeneSaponins with Gastroprotective Effect from the Seeds of *Camellia sinensis*-Theasaponins E3, E4, E5, E6 andE7-.*Chemistry of Pharmaceutical Bulletin*, 53: 1559-1564.
70. Bronner, W.E., Beecher, G.R., 1998. Method for Determining the Content of Catechins in Tea Infusions by High-Performance Liquid Chromatography. *J Chromatography A* 805: 137- 142.
71. Wang, H., Helliwell, K., You, X., 2000a. Isocratic Elution System for the Determination of Catechins,83 Caffeine and Gallic Acid in Green Tea Using HPLC. *Food Chem*. 68: 115-121.
72. Okuda, T., Mori, K. ,Hayatsu, H. 1984. Inhibitory effect of tannins on direct-acting mutation. *Chem Pharm Bull* 32: 3755-3758

73. Oguni, I., Nasu, K., Kanaya, S., Ota, Y., Yamamoto, S., Nomura, T. 1989. Epidemiological and experimental studies on the antitumor activity by green tea extract. *Jpn J Nutr*47: 93-102.
74. Valcic, S., Timmermann, B.N., Aiberts, D.S., Wachter, G.A., Krutzsch, M., Wymer, J., Guillen, J.M. 1996. Inhibitory effect of six green tea catechins and caffeine on the growth of four selected human tumor cell lines. *Anti-cancer Drugs* 7: 461-468.
75. Matsuzaki, T., Hara, Y. 1985. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59: 129-134.
76. Ahmad, N., Fayes, D.K., Nieminen, A.L., Agarwal, R., Mukhtar, H. 1997. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J Nat Cancer Inst*89: 1881-1889.
77. Benzie, I.F.F., Szeto, Y.T. 1999. Total Antioxidant Capacity of Teas By The Ferric Reducing/Antioksidant Power Assay. *J Agric Food Chem.* 64: 633-636.
78. Cemeroğlu, B. 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, 77-88. Ankara.
79. Bilaloğlu, G. V., Harmandar, M. 1999. Flavonoidler. Aktif Yayınevi, 334-354. İstanbul.
80. Önenç, S. S., Açıkgöz, Z. 2005. Aromatik Bitkilerin Hayvansal Urunlerde Antioksidan Etkileri. *Hayvansal Uretim* .46 (1): 50-55 .
81. Fidan., A.F., Dündar., Y. 2007. *Yucca Schidigera* ve içerdiği Saponinlerle Fenolik Bileşiklerinin Hipokolesterolemik ve Antioksidan Etkileri. *Lalahan Hay. Aras. Enst. Derg.* 47 (2): 31-39.
82. Başer., C.H.K. 2002. Fonksiyonel Gıdalar ve Nutrasotikler. 14. Bit. İlac Ham. Top. Bil 29-31. Eskişehir.
83. Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M., Jang, J. 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerfull antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *J. Agric Food Chem.* 43: 2-2800.
84. Fridovic, I., Freeman, B. 1986. Antioxidant Defense in the Lung. *Ann. Rev. Physiol.* Vol.48, 693-702.
85. Diplock, A.T. 1991. Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: An Overview. *Am. J. Chim Nutr.* 53: 1895-1935.

86. Condell, A.R., Tappel, A.L. 1983. Evidence for Suitability of GSH-Px as a Protective Enzyme: Studies of Oxidative Damage, Renaturation, and Proteolysis. Archives of Biochemistry and Biophysics. Vol.223:2, 407-416.
87. Brown, K.M., Arthur, J.R. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. Public Health Nutr. 4: 593-9.
88. Combs, G.F., Combs, S.B. 1986. The Role of Selenium in Nutrition. London: Academic press. Inc. Ltd.
89. Sies, H., Stahl, W., Sundquist, A.R. 1982. Antioxidant Functions of Vitamins. Annals New York Academy of Sciences, 669: 7-15.
90. Li, C., Xie, B. 2000. Evaluation of the Antioxidant and Pro-oxidant Effects of Tea oxypolimers. J Agric Food Chem. 48: 6362-6366.
91. Utuş, D. 2008. şalgam Suyu Üretiminde Kullanılan Siyah Havuç (*DaucusCarota*) Boyutunun şalgam Suyu Kalitesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Adana.
92. Pekşen, E., Artık, C. 2005. Antibesinsel Maddeler ve Yemeklik Tane Baklagillerin Besleyici Değerleri. OMÜ Zir. Fak. Dergisi 20 (2): 110-120.
93. Barber, H. 1934. Hemorrhagic nephritis and necrosis of the liver from dioxane poisoning. Guys Hospital Report, 84: 267-280.
94. Hoch-Ligeti, C., Argus, M. F. 1970. Effect of Carcinogens on the lung of guinea pigs. In Conference on the Morphology of Experimental Respiratory Carcinogenesis (P. Nettesheim, M. G. Hanna, Jr. and J. W. Deatherage, eds.), Vol. 21, pp. 267-279. AEC Symposium Series, Gatlinberg, Tennessee.
95. Yang, Y.C., Lu, F.H., Wu, J.S., Wu, C.H., Chang, C.J. 2004. The protective effect of habitual tea consumption on hypertension. Arch Intern Med 164:1534-40.
96. Stensvold, I., Tverdal, A., Solvoll, K., Foss, O.P. 1992. Tea consumption. Relationship to cholesterol, blood pressure, and coronary and total mortality. Prev Med 21: 546-53.
97. Mennen, L.I., Malvy, D., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Bruckert, E. 2003. Tea consumption and cardiovascular risk in the SU.VI.MAX Study: Are life-style factors important? Nutrition Research 23: 879-90.
98. Koo, M.W.L., Cho, C.H. 2004. Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. Eur.J.Pharm. 500:177-185.



99. El Bedoui, J., Oak, M., Anglard, P., Schini-Kerth, V.B. 2005. Catechins prevent vascular smooth muscle cell invasion by inhibiting MT1-MMP activity and MMP-2 expression. *Cardiovasc Res.* 67: 317-25.
100. Hodgson, J.M., Puddey, I.B., Burke, V., Watts, G.F., Beilin, L.J. 2002. Regular ingestion of black tea improves brachial artery vasodilator function, *Clin Sci (Lond)*;102:195-201.
101. McAnlis, G.T., McEneny, J., Pearce, J., Young, I.S. 1998. Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. *Eur J Clin Nutr.* 52: 202-6.
102. Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Romanello, M., Carando, S., Threlkeld, M.S., Rogers, J., Dimitrova, Y., Muhammed, S., Wiley, R.L. 2002. Consumption of green tea protects rats from exercise-induced oxidative stress in kidney and liver. *Nutrition Research*; 22: 1177-88.
103. Yang, C.S., Maliakal, P., Meng, X., 2002, Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*; 42: 25-54.
104. Doss, M.X., Potta, S.P., Hescheler, J., Sachinidis, A. 2005. Trapping of growth factors by catechins: A possible therapeutic target for prevention of proliferative diseases. *J Nutr Biochem* 16: 259-66.
105. Esposito, E., Rotilio, D., Di Matteo, V., Di Giulio, C., Cacchio, M., Algeri, S. 2002. A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiol Aging* 23: 719-35.
106. Khan, S.A., Priyamvada, S., Farooq, N., Khan, S., Khan, M.W., Yusufi, A.N.K. 2009. Protective effect of green tea extract on gentamicin-induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Pharmacol Res.*59(4): 254-262.
107. Nath, K.A., Paller, M.S. 1990. Dietary deficiency of antioxidants exacerbates ischemic injury in the rat kidney. *Kidney Int* 38:1109-1117.
108. Ichikawa, I., Kiyama, S., Yoshioka, T. 1994. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int* 45:1-9.
109. Kızıl, M., Çay, M. 2010. Benzo(A)piren Uygulanan Ratlarda E Vitamini ve Selenyumun Kan ve Dokularda Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Koruyucu Etkileri, *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.* 24 (2): 81 – 85.

110. Bartholomev, R., Delany, A. 1964. Proc Australian Assoc. Clin. Biochem. 1: 64.
111. Dumas, B., et al. 1971. Clin. Chem. Acta. 31: 87.
112. Bingol, G. 1974. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları .Sayı : 30.
113. Michaelson, M., Sand, J. 1961. J. Clin. Lab. Invest. (Suppl. 49) 13. 1.
114. Gambino, S.R., Di Re, J. 1968. Bilirubin Assay (Revised), Commission on Continuing Education. Am. Soc. of Clin. Path., Chicago.
115. Jaffe, M.Z. 1886. Method for measurement of creatinine in serum. Physiol Chem. 10: 391. 31.
116. Szacz, G.(1969). Clin. Chem. 15:24
117. International Federation of Clinical Chemistry. 1977. Provisional Recommendations on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentrations of Enzymes. ClinChem 23: 887.
118. 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.
119. Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med. 61: 882-888.
120. Boyne, A.F., Ellman, G.L. 1972. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. Anal Biochem. 46: 639-53.
121. Subbotina, S.G., Belonozhko, G.A. 1968. The effect of Sevin on the thermoresistance and fractionary protein content of blood serum. Primen Toxicol. Pestic. Klin. Otrav. 442-444.
122. AGS, Ausschlußfür Gefahrstoffe. 2001. Justification for classification of substances as carcinogenic, mutagenic or toxic to reproduction. Regarding substances classified in TRGS 905:Issue 3, pp. 97-101; last altered in Bundesarbeitsblatt, Issue 9, pp. 96.
123. Kano, H., Umeda, Y., Saito, M., Senoh, H., Ohbayashi, H., Aiso, S., Yamazaki, K., Nagano, K., Fukushima, S. 2008 . Thirteen-week oral toxicity of 1,4-dioxane in rats and mice. Journal of Toxicological Sciences;33: 141-153.
124. Yoshioka, Y., Ishii, Y., Ishida, T., Yamada, H., Oguri. Motojima, K. 2001. Suppression of stress proteins GRP78, GRP94, calreticulin and calnexin in liver

- endoplasmic reticulum of rat treated with a highly toxic coplanar PCB. *Fukuoka IgakuZasshi*;92: 201-16.
125. Gourley, G. 2004. Bilirubin metabolism *Pediatric Gastrointestinal Disease* . Alan Walker 1344-62.
126. Kliegman, R.M. 1996. Jaundice and hyperbilirubinemia in the newborn. *Nelson Textbook of Pediatrics Nelson W. 88. 3: 493-96.*
127. <http://www.aligurtuna.com/yenidoganda-sarilik-indirekt-hiperbilirubinemi-1509.html>. Web adresinden 13 Ekim 2011 tarihinde edinilmiştir.
128. Stewart, R.D., Andrews, J.T. 1966. Acute toxication with methylchloroform. *JAMA* 195:904–906.
129. Fairley, A., Linton, EC., Ford-Moore, A.H. 1934. The toxicity to animals of 1:4 dioxan. *Journal of Hygiene.* 34:486-501
130. 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.
131. 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.
132. Casillas, E., Myers, M., Ames, W.E. 1983. Relationship of serum chemistry values to liver and kidney histopathology in english sole (*Parophrys vetulus*). *Pharmacology and Experimental Therapeutic,* 193: 264-273.
133. Henry, J.B. 1974. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method* W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA p. 332-335.
134. 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.)
135. Rosalki, S.B. 1975. Gamma-glutamyltransferase, *Adv. Clin. Chem.* 17:53-107.

136. Orłowski, M., Meister, A. 1963.  $\gamma$ -glutamyl-p-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D- $\gamma$ -glutamyltranspeptidase activities, *Biochemical Biophys. Acta* 73: 679-681
137. Kasai, T., Kano, H., Umeda, Y., Sasaki, T., Ikawa, N., Nishizawa, T., Nagano, K., Arito, H., Nagashima, H., and Fukushima, S. 2009. Two-year inhalation study of carcinogenicity and chronic toxicity of 1,4-dioxane in male rats. *Inhalation Toxicology* 21,889-897.
138. Drew, R.T., Patel, J.M., Lin, F.N. 1978. Changes in serum enzymes in rats after inhalation of organic solvents singly and in combination. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 45: 809-819.
139. El-safty, S.M.S. 2011. Curative effect of basil on liver injury in experimental rats. *Journal of American Science*, 7(3) .Egypt
140. Cheeseman, K.H, Slater, T.F. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 49(3):481-93.
141. Porter, N.A. 1984. Chemistry of Lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 105: 273-82.
142. Kuş, İ., Zararsız, İ., Ögetürk, M., Yılmaz, H.R., Sarsılmaz, M. 2008. Deneysel Formaldehit Toksisitesinde Testis SOD, GSH-Px, MDA Düzeylerive  $\omega$ -3 Yağ Asitlerinin Koruyucu Etkisi *Fırat Tıp Dergisi*.13(1): 01-04.
143. Matos, H.R., Capelozzi, V.L., Gomes, O.F., Mascio, P.D., Medeiros, M.H. 2001. Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys.* 15;396(2):171-7.
144. Alem, N. 2007. Askorbikasidin hücre yaşlanması üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi. Gazi üniversitesi. Ankara.
145. Li, W., Yin, D., Zhou, Y., Hu, S., Wang, L. 2003. 3,4-dichloroaniline-induced oxidative stress in liver of crucian carp (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56: 251-255.
146. Bağcı, D., Bağcı, M., Tang, L., Stohs, S.J. 1997. Comparative *in vitro* and *in vivo* protein kinase C activation by selected pesticides and transition metal salts. *Toxicology Letters*, 91: 31-37.

147. Dikci, İ. 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya, 73s (yayınlanmamış).
148. Fırat, S. 1997. Kobaylarda radyasyonlar oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 95s (yayınlanmamış).
149. Champe, P.C., Harvey, R.A. 1997. Glikozaminoglikanlar. Tokullugil, A., Dirican, M., Ulukaya, E. Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya. İkinci baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, s. 147-156.
150. Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., J.gens, G. 1992. The role of lipit peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic Biol Med; 13: 341-90.
151. Gürer, H., Özgüneş, H., Neal, R., Spitz, D.R., Erçal, N. 1998 . Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells fromlead-exposed rats. Toxicology, 128: 181-189.
152. 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.
153. Weisburger, J.H., Chung, F.L. 2002. Mechanisms of chronic disease causation by nutritional factors and tobacco products and their prevention by tea polyphenols. Food ChemToxicol 40: 1145-54.
154. Khokhar, S., Magnusdottir, S.G. 2002. J Agric Food Chem, 50: 565-570.
155. Ahmad, N., Mukhtar, H. 1999 .Nutr Rev, 57:78-83.
156. Weinreb, O., Mandel, S., Amit, T., Youdim, M.B.H. 2004. Journal of Nutritional Biochemistry. 15: 506-516.
157. Kuroda, Y., Hara, Y. 1999. Mutation Research 436 1999 69-97
158. Liang, Y.C., LinShiau, S.Y., Chen, C.F., Lin, J.K. 1999. J. Cell. Biochem., 75:1-12.

159. Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Romanello, M., et al. 2002. Consumption of green tea protects rats from exercise-induced oxidative stress in kidney and liver. *Nutrition Research*; 22:1177-88.
160. El-Beshbishy, H.A. 2005. Hepatoprotective Effect of Green Tea (*Camellia sinensis*) Extract against Tamoxifen-induced Liver Injury in Rats. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 38: 563-570
161. El-Shahat, A.E., Gabr, A., Meki, A.R., Mehana, E.S. 2009. Altered Testicular Morphology and Oxidative Stress Induced by Cadmium in Experimental Rats and Protective Effect of Simultaneous Green Tea Extract *Int. J. Morphol.*,27(3):757-764.
162. Wei, O.Y., Zhou, B., Cai, Y.J., Yang, L., Liu, Z.L. 2006. *Food Chemistry*, 96: 90–95.
163. Cellat, M. Ve Kılıçal, D.K. 2010. Elektromanyetik Radyasyona Maruz Bırakılan Kobayların Böbrek Dokusunda Prooksidan-Antioksidan Düzeylerine Yeşil Çayın Etkisi. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.* 24 (1): 17 – 21
164. Yokozawa, T., Nakagawa, T., Lee, K.I., Cho, E.J., Terasawa, K., Takeuchi, S. 1999. Effects of green tea tannin on cisplatin-induced nephropathy in LLC-PK1 cells and rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 51(11): 1325-1331.

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzurum'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İzmir'de tamamladı. 2005 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden Temmuz 2009'da mezun oldu. Şubat 2009'da girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek-Lisans programında öğrenim görmeye başladı. Yüksek Lisans öğrenimini Şubat 2012'de tamamladı. 1 adet SCI indexli dergilerde, 1 adet ulusal hakemli dergilerde olmak üzere toplam iki yayını mevcuttur. 1 adet Giresun Üniversitesi BAP birimi destekli projesi bulunmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir.