



T.C  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

# **Dİ (2-ETİLHEKZİL) FİTALATIN RATLARDA LİPİD PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Merve ESKİCİ KAYMAK**

Samsun  
Ocak- 2020





T.C  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

# **Dİ (2-ETİLHEKZİL) FİTALATIN RATLARDA LİPİD PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Merve ESKİCİ KAYMAK**

Samsun  
Ocak- 2020

T.C  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Merve ESKİCİ KAYMAK tarafından Prof. Dr. Ali ERTEKİN danışmanlığında hazırlanan “Di (2-Etilhekzil) Fitalatın Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Düzeylerine Etkileri” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından ..23.1/2020 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Aysegül GEB  
Giresun Üniv.

Üye : Prof. Dr. Ali Ertekin  
Ondokuz Mayıs Üniv.

Üye : Prof. Dr. Sena Çenesir  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..23.1/2020

Prof. Dr. Ahmet UZUN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Müdürü

## TEŞEKKÜR

Akademik eğitim sürecimin bir üst noktası olan yüksek lisans eğitimim boyunca yardım ve desteğini benden esirgemeyen, tez çalışmalarım boyunca bilgisine her başvurduğumda güleryüzlüve çözümleyici bir şekilde beni yönlendiren danışman hocam sayın Prof. Dr. Ali ERTEKİN'e, yine eğitimim süresince bilgilerinden faydalandığım Prof. Dr. Gül Fatma YARIM'a, Prof. Dr. Sena ÇENESİZ'e, Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'ye ve Prof. Dr. Cevat NİSBET'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında beni destekleyen ve anlayışla karşılayan sevgili eşim Utku KAYMAK'a ve hayatım boyunca manevi desteklerini her zaman hissettiğim, beni bugünlere getiren, başta annem olmak üzere canım aileme sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan arkadaşım Tuğçe Ayşen ŞENSOY ve araştırma görevlisi Emine ALTIN'a teşekkür ederim.

Bu araştırma PYO.VET.1904.19.014 nolu proje ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### Dİ (2-ETİLHEKZİL) FİTALATIN RATLARDA LİPİD PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN DÜZEYLERİNE ETKİSİ

**Amaç:** Bu çalışma, di (2-etilhekzil) fitalatın ratlarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan düzeyleri üzerine etkilerini araştırmak için planlandı.

**Materyal Metot:** Çalışmada 250-300 g ağırlığında 40 Wistar-Albino dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar beş gruba ayrıldı (1. grup: kontrol, 2. grup: yağ kontrol, 3. grup: 20 mg fitalat, 4. grup: 100 mg fitalat, 5. grup: 500 mg fitalat grubu). Fitalat ve mısır yağı karışımı gastrik gavaj yöntemi ile verildi. Deneme süresi 14 gün olarak belirlendi. Çalışmanın sonunda alınan kan örneklerinde malondialdehit, redükte glutatyon, seruloplazmin, total protein ve vitamin C düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Fitalat grubunda GSH düzeylerindeki azalma kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). C vitamini ve total protein düzeylerindeki düşüşler ve MDA ve seruloplazmin düzeylerindeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı değildi.

**Sonuç:** Sonuç olarak, 20 mg, 100 mg ve 500 mg fitalat ile indüklenen deney gruplarında malondialdehit, glutatyon, seruloplazmin, C vitamini ve total protein seviyelerinde gözlenen değişiklikler, hücrelerde oksidatif stresle ilgili hasarın oluşmuş olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan maddeler; Fitalat; Lipit peroksidasyonu

Merve ESKİCİ KAYMAK, Yüksek Lisans Tezi  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ocak - 2020

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF DI (2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT LEVELS IN RATS

**Aim:** This study was planned to investigate the effects of di (2-ethylhexyl) phthalate on lipid peroxidation and antioxidant levels in rats.

**Material and Method:** 40 Wistar–Albino female rats weighing 250-300 g were used in the study. The rats were divided into five groups (group 1: control, group 2: fat control, group 3: 20 mg phthalate, group 4: 100 mg phthalate, group 5: 500 mg phthalate group). Phthalate and corn oil mixture was given by gastric gavage method. Experimental period was determined as 14 days. At the end of the study, malondialdehyde, reduced glutathione, ceruloplasmin, total protein and vitamin C levels were measured.

**Results:** The decrease in GSH levels in the phthalate group was statistically significant compared to the control group ( $p < 0.05$ ). Decreases in vitamin C and total protein levels and increases in MDA and ceruloplasmin levels were not statistically significant.

**Conclusion:** As a result, the changes observed in malondialdehyde, glutathione, ceruloplasmin, vitamin C and total protein levels in experimental groups induced with 20 mg, 100 mg and 500 mg phthalate indicate that oxidative stress-related damage may be formed in the cells.

**Keywords:** Antioxidant substances; Phthalates; Lipid peroxidation

Merve ESKİCİ KAYMAK, Master Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, January – 2020

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|       |                         |
|-------|-------------------------|
| DEHP: | Dietilhekzil Fitalat    |
| GPx:  | Glutasyon Peroksidaz    |
| GR:   | Glutasyon Redüktaz      |
| GSH:  | İndirgenmiş Glutasyon   |
| GSSG: | Yükseltgenmiş Glutasyon |
| MDA:  | Malondialdehit          |
| ROS:  | Reaktif Oksijen Türleri |
| SOD:  | Süperoksit Dismutaz     |

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEŞEKKÜR .....                                                                        | iii |
| ÖZET .....                                                                            | iv  |
| ABSTRACT .....                                                                        | v   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                         | vi  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                     | vii |
| 1. GİRİŞ .....                                                                        | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                                | 2   |
| 2.1. Fitalat .....                                                                    | 2   |
| 2.1.1. Fitalatın Genel Kimyasal Yapısı .....                                          | 2   |
| 2.1.2. Ticari Piyasada En Fazla Kullanılan Fitalat Türleri.....                       | 4   |
| 2.1.3. Fitalatların Sınıflandırılması .....                                           | 5   |
| 2.1.4. Fitalat Türlerinin Kullanım Alanları ve Denetlenmesi.....                      | 6   |
| 2.1.5. Fitalat Kullanımının Taşıdığı Riskler.....                                     | 10  |
| 2.1.6. Fitalatın Çevresel Etkileri ve Fitalata Maruz Kalma .....                      | 10  |
| 2.1.7. Sağlık Üzerine Fitalatın Etkileri.....                                         | 11  |
| 2.1.8. Fitalat ve Kanseri Arasındaki İlişki.....                                      | 15  |
| 2.2. Serbest Radikaller .....                                                         | 16  |
| 2.2.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Genel Özellikleri .....                         | 16  |
| 2.2.2. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ..... | 17  |
| 2.2.3. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\bullet}$ ).....                                   | 20  |
| 2.2.4. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ) .....                                           | 21  |
| 2.2.5. Hidroksil Radikali ( $OH^{\bullet}$ ) .....                                    | 22  |
| 2.2.6. Singlet Oksijen ( $^1O_2$ ).....                                               | 22  |
| 2.2.7. Hipokloröz Asit ( $HOCl$ ).....                                                | 23  |
| 2.2.8. Peroksil Radikali ( $ROO^{\bullet}$ ) .....                                    | 23  |
| 2.2.9. Nitrik Oksit ( $NO^{\bullet}$ ).....                                           | 24  |
| 2.2.10. Peroksi nitrit ( $ONOO^-$ ).....                                              | 26  |
| 2.3. Serbest Radikallerin Etkileri ve Oluşturduğu Hasarlar .....                      | 26  |
| 2.3.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerine Etkileri .....                  | 26  |
| 2.3.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri .....                         | 28  |
| 2.3.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkileri .....                    | 28  |
| 2.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri .....                    | 28  |
| 2.4. Serbest Radikallerin Yararları.....                                              | 29  |

|                                                                       |           |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.5. Lipit Peroksidasyonu.....                                        | 29        |
| 2.5.1. Malondialdehit .....                                           | 31        |
| 2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri .....                             | 32        |
| 2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar.....                                  | 33        |
| 2.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar .....                         | 34        |
| <b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>                                      | <b>38</b> |
| 3.1. Materyal .....                                                   | 38        |
| 3.1.1. Deney Hayvanları.....                                          | 38        |
| 3.1.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Analizler İçin Hazırlanması ..... | 38        |
| 3.2. Metot .....                                                      | 39        |
| 3.2.1. Malondialdehit Tayini.....                                     | 39        |
| 3.2.2. Redükte Glutasyon (GSH) Tayini .....                           | 40        |
| 3.2.3. Vitamin C Tayini.....                                          | 40        |
| 3.2.4. Seruloplazmin Tayini .....                                     | 41        |
| 3.2.5. Total Protein Tayini .....                                     | 41        |
| 3.3. İstatiksel Analizler .....                                       | 42        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                              | <b>43</b> |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>                                     | <b>47</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                | <b>56</b> |

## 1. GİRİŞ

Vücuda dışarıdan alınarak endokrin sistem ile birlikte vücut dengesini tahrip eden, doğal ya da doğal olmayan maddelere endokrin bozucular denir. Endokrin bozan moleküller, hormonlar için agonist ve/veya antagonist etki gösterirler. Endokrin bozucular hormonun sentezine veya taşınmasına etki edebilir. Hormon reseptörüne bağlanarak hormonun metabolize olması ve atılımını da bozabilir. (Erna ve ark., 1996).

Fitalatların gıda ile temas eden materyallerde kullanımı sınırlıdır, yine de yağda çözünen bir madde olması sebebiyle yağ oranı yüksek gıdalarda, yağ ve yağlı sos içerisinde depolanmış gıda ürünlerinde sağlık riski oluşturabilir. PVC materyallerinde fitalat ya da fitalik asit esterleri kullanılmaktadır. Fitalatlar renksiz, kokusuz ve uçucu bileşiklerdir. Polimer matrikse kovalent bağ ile bağlanamazlar. Bu materyallerden doğaya geçişi kolay olmaktadır. Yeryüzü ve yeraltı sularında, içme suyunda ve sulu ortamda yapılan çalışmalarda fitalat ve fitalat esterleri görülmüştür. Bunlardan özellikle DEHP (dietilhekszil fitalat) ve DBP (dibütil fitalat)'in çokluğu dikkat çekici olmuştur (Yuan ve ark., 2002; Sirivithayapakorn ve Thuyviang, 2010; Liu ve ark., 2014).

Fitalatların besin zincirine kontaminasyon yolları süzülerek, buharlaşarak, aşınarak veya göç gibi farklı yollarla olmaktadır (Wittasek ve ark., 2011). İnsanlar öncelikle besin maddeleri başta olarak sindirim sistemi yoluyla, ten temasıyla, solunum yoluyla ve medikal aletler ile fitalatlara maruz kalmaktadırlar. DBP ve DEHP çocuk oyun materyallerinde de sıklıkla kullanılmaktadır, bu nedenle çocukların daha fazla dozda fitalata maruz kaldıkları görülmektedir (Alves ve ark., 2016). Besin ile, su ile, toz/toprak patikülleri ile solunum ve ten teması gibi nedenlerle organizmaya fitalat alımı olmaktadır. Günlük fitalat doz miktarı ortalama 70µg/kg olarak bildirilmiştir (Net ve ark., 2015).

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Fitalat**

Kağıt ya da kağıt türevleri, kozmetik malzemeler, temizlik deterjanları, şampuan, sabun türevleri ve boyar madde üretimi gibi çok çeşitli endüstrilerde hammadde ya da yardımcı kimyasal materyal olarak fitalatlar sıkça kullanılır. Fitalatlar kanserojen ve endokrin bozucu kimyasallar arasındadırlar. Esneklik özelliğini arttırmada faydalı fitalatların endüstride 60'dan fazla türü vardır. Fitalat esterlerinden yüksek moleküllü olan grup, sanayide %80 aralığında sıkça tercih edilmektedir. Düşük molekül ağırlıklı fitalatlardan olan selülozik maddeler, akrilik maddeler ve üreten maddeler gibi vinil madde olmayan reçinelerde esnek plastikleştirici olarak kullanılmaktadır (Matsumoto ve ark., 2007).

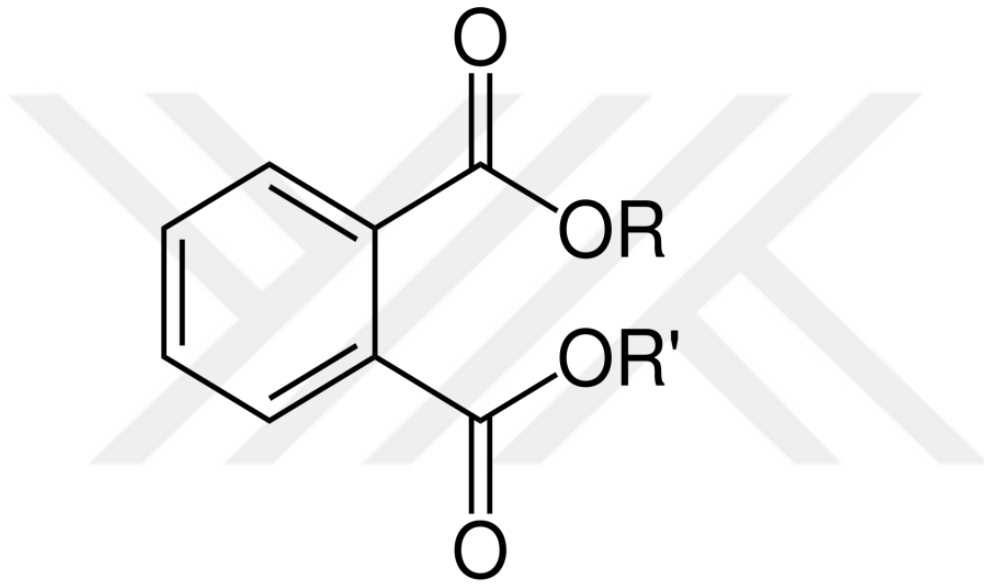
Düşük molekül ağırlıklı olan fitalatlardan; kağıt ve kağıt türevi, kozmetik maddeler, temizlik deterjanı, şampuan, sabun, otomotiv sanayi, inşaat malzemeleri ve yapı materyalleri, tıbbi amaçlı torbalar, tüpler ve boyar madde üretiminde hammadde veya yardımcı kimyasal madde olarak faydalanılmaktadır. Fitalatlar veya fitalat esterleri, fitalik asit esterleridir. Plastiklerde esnekleştirici yapı maddesi olarak kullanıldıklarında uzun polivinil molekülünün birbirleri üzerinde kaymasını sağlarlar. Uçuculukları düşük olan fitalatların en iyi çözündükleri madde yağdır. Suda çözünürlükleri düşüktür (Babu ve Wu, 2010).

#### **2.1.1. Fitalatın Genel Kimyasal Yapısı**

Fitalatlar diğer bir deyişle 1,2-dikarboksilik asit – fitalik asit esterleri, 1920'de endüstriyel kimyasal bileşikler arasına katılan sentetik bileşiklerdir. 1933'den beri en çok tercih edilen türü di-2-etilhekzil fitalattır (DEHP)'dir. Endokrin sistemini bozucu etkisi de vardır (Bajkın ve ark., 2014). İnsan vücudunun fitalata maruziyetinde fitalatlar hızlı bir şekilde metabolize olurlar (Bi ve ark., 2013).

Fitalatların kimyasal yapısında değişik sayılarda alkol esterleri ve dallanma yapıları birçok değişik fitalat üretilmiştir. Amaç değişik alanlarda da kullanabilmektir. Bunlar arasında en çok tercih edilenler di-(2- 28 etilhekzil) fitalat (DEHP), diisodesil fitalat ve diisononil fitalat ile diğerlerine göre daha küçük molekül olan dietil fitalat ve dibutil fitalattır. DEHP'in diğer fitalatlardan daha çok tercih edilmesinin temel sebebi maliyetinin düşük olmasıdır. Ayrıca daha geniş alan yelpazesinde kullanılabilmesidir (Bradbury, 1996).

Çoğunlukla son üründe kopma direnci ve esneklik sağlama gibi özelliklerinden dolayı DEHP fazlaca tercih edilen yüksek molekül ağırlıklı plastifiyanlardandır. Bunun yanında öncelikle renk ve koku tutucu olarak kullanılan di-n-bütil fitalat (DBP) ve bütil benzil fitalat (BBP) da düşük molekül ağırlıkta tercih edilen bileşiklerdendir (Sun ve Thom, 2010; Xu ve ark., 2010). Dünyada en yaygın üretilen fitalat olan DEHP, tüm fitalat üretiminin %65'ini kapsamaktadır. DEHP esnek vinil ürünlerde de plastifiyan olarak en çok tercih edilir. Plastikler ağırlıklarının %40'ı kadar DEHP bulundurabilirler (Durusoy ve Karababa, 2011).



**Şekil 1.** Di-2-etilhekzil fitalatın kimyasal yapısı (Durusoy ve Karababa' dan, 2011)

Fitalat esterleri benzenin orto-dikarboksilik asit türevi olan fitalik asitin mono- ve diesterleridir. Örneğin; dimetil fitalat (DMP), dietil fitalat (DEP), dipropil fitalat (DPP), diizobütil fitalat (DIBP), dibütil fitalat (DBP), bütil benzil fitalat (BBzP), disiklohekzil fitalat (DCHP), di-n-hekzil fitalat (DHP), di-2-etilhekzil fitalat (DEHP), di-n-oktil fitalat (DOP), diizononil fitalat (DINP), diizodesil fitalat (DIDP), di-2-etilhekzil adipat (DEHA) ve diizononil adipat (DINA) gibi (Sun ve ark., 2012).

**Tablo 1.** Bazı fitalatların temel fizikokimyasal özellikleri (Holadová ve ark. ' dan, 2007)

| Analit                   | Kısaltması | Molekül Ağırlığı | Suda Çözünürlüğü (mg L <sup>-1</sup> ) | logK <sub>OW</sub> <sup>a</sup> | Buhar Basıncı (mPa) [25°C] |
|--------------------------|------------|------------------|----------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Dimetil fitalat          | DMP        | 194,19           | 4200                                   | ,61                             | 267                        |
| Dietil fitalat           | DEP        | 222,24           | 1100                                   | ,38                             | 133                        |
| Di-n-bütil fitalat       | DnBP       | 278,35           | 11,2                                   | ,45                             | 3,60                       |
| Bütilbenzil fitalat      | BBP        | 313,39           | 2,7                                    | ,59                             | 0,67                       |
| Di-2- etilheksil fitalat | DEHP       | 390,56           | 0,003                                  | ,5                              | 0.003                      |
| Di-n-oktil fitalat       | DnOP       | 390,56           | 0,0005                                 | ,06                             | 0.003                      |

### 2.1.2. Ticari Piyasada En Fazla Kullanılan Fitalat Türleri

Ambalaj sanayisinde ülkemizde ve dünyada kullanımda olan plastik maddeler polimerlerden oluşmaktadır. Kolay kırılma dezavantajı olan polivinil klorür (PVC) gibi plastik türevi maddelere esneklik ve sağlamlığını yükseltmek için yüksek oranda plastik yapan (yumuşatıcılar, plastifiyan) kimyasal eklenmektedir. Ticari alanda en sık tercih edilen plastikleştirici madde fitalattır. Fitalatın en çok tercih edilmesinin nedeni alkil zincirinin alkol bazlı olmasıdır. Fitalat besin paketleri, çocuklar için oyun materyalleri, kozmetik maddeler, farmasotik maddeler, çözgen maddeler, yapıştırıcı maddeler, boru hatları materyalleri, boyar maddeler, insektisit maddeler, temizlik ürünleri gibi daha pek çok alanda tercih edilmektedir (Schettler, 2006).

Çoğunlukla PVC ürünlerinde fitalat ya da fitalik asit esterleri kullanılmakta, çokça tercih edilmesi nedeniyle doğada her yerde görülebilmektedir. Rengi ve kokusu olmayan uçucu bileşiklerdir. Yağda çözünürlükleri en yüksektir. Polimerlere kovalent bağ ile bağlanmazlar. Bu yüzden eklendikleri materyallerden çevreye geçişi daha kolay olmaktadır. Yapılan araştırmalarda yeryüzü ve yeraltı sularında, içme suyunda, suda ve sedimentte fitalat esterleri görüldüğü belirtilmiştir. Mevsim değişikliğinden de etkilendiği görülen DEHP (dietilheksil fitalat) ve DBP (dibütil fitalat) miktar olarak

en fazla gözlemlenmiştir (Yuan ve ark., 2002; Sirivithayapakorn ve Thuyviang, 2010; Liu ve ark., 2014).

Molekülün kümyasal yapısında yapılan değişikliklerle çeşitli sentetik fitalat türleri üretilmiştir. En sık tercih edilen fitalat türleri DEHP, diisodisil fitalat ve diisononil fitalat ve bunlardan daha çok düşüklükte molekül ağırlıklı olan dietil fitalat ve dibütil fitalattır. DEHP'nin verimliliği ve maliyetinin düşük olması öncelikli ve en çok tercih edilen fitalat yapmıştır (Bradbury, 1996).

Gıda ile teması olan ürünlerde katılmasına belli ölçülerde izin verilebilen birkaç fitalat esterlerinin özellikleri aşağıda verilmiştir;

DEHP: En yaygın tercih edilen DEHP senelik üretimi iki milyon tondan fazla olan fitalat esteridir. DEHP, PVC için plastikleştirici ajan olarak üretilmektedir. Endüstriyel alanda üretilen miktarın %90'dan fazlası tercih edilmektedir. Besin maddesi materyallerinde, besin ambalajlanmasında, yapıştırıcı maddelerde, medikal amaçlı ürünlerde, oyun materyallerinde ve PVC'nin kullanıldığı tüm sahalarda kullanılmaktadır. Doğaya kontamine olabilen DEHP her yerde bulunabilir. Polimerlerle kovalent bağ yapmaz. Hegzan ve mineral yağlarda çözünür. Ayrıca molekül yapısı hidrofobiktir (Yerlikaya, 2017).

DEP: Kozmetik alanda, ilaç firmalarında aspirin kapsüllenmesinde, diş tedavisi ürünlerinde, besin ve farmakolojik ambalajlarda yapıştırıcı, plastikleştirici veya yüzey kaydırıcı madde olarak tercih edilir. Alkol, eter, aseton ve benzen içerisinde çözünmektedir (Yerlikaya, 2017).

BBP: Besin paketlenmesinde, boyar maddelerde, deodorant, mobilya döşemeleri ve sentetik deri malzemelerinde bulunmaktadır. BBP'ye daha çok besin ve kontamine olmuş su ile maruz kalınmaktadır. Ayrıca solunum yoluyla da maruziyet olabilmektedir (Yerlikaya, 2017).

DiDP: En çok ev eşyaları ve okul malzemelerinde kullanılır. DiDP oyuncaklarda kullanılmaz. Gıdalarda ise eser miktarda bulunduğu yakın zamandaki çalışmalarda belirtilmiştir (Kamrin, 2009).

DiNP: Yapısında yan zincirinde 8 ile 10 karbon olan fitalatların karışımıdır. Kullanıldığı alanlar; ev eşyaları, besin paketlenmesi, oyuncaklar, tekstil ürünleri, boya vb. maddelerdir. Solunum yoluyla, gıdalarla ve deri teması ile vücuda girmektedir (Yerlikaya, 2017).

DEHP: Sentetik olarak üretilen doğaya fazlaca kontamine olmuştur. Bu yüzden en çok maruziyet DEHP üzerinedir. Plastiklere esneklik sağlamakta kullanılır (ATDSR, 1995). Toksikitesi tam olarak bilinmemektedir. Di (2-etilhekzil) fitalat, östrojenik hormon agonisti ve testosteron hormon antagonisti olarak görülmektedir (NTP-CERHR, 2000).

En fazla üretilen, kullanılan DEHP'dir. Bu yüzden en sık maruz kalınan fitalatın DEHP olması daha sık araştırılmasına neden olmuştur.

### **2.1.3. Fitalatların Sınıflandırılması**

1,2-benzenedikarboksilik asitin (o-ftalik asit) esterleridir. Fitalatlar bir benzen halkası üzerinde ardışık iki karbon ile bağlantılı iki ester fonksiyonel grubundan oluşurlar. Alkol ve fitalik anhidrit reaksiyonu ile oluşurlar. Metanol ve etanolden tridekanole kadar değişmekte olan farklı sayıda alkol türleri kullanılır (ECPI, 2014; Park ve ark., 2014).

Fitalatlar yüksek molekül ağırlıklı (YMA) ve düşük molekül ağırlıklı (DMA) olarak iki gruba ayrılır. YMA olan DEHP'in PVC plastikleştirici ve esneklik verici olarak yaygın kullanımı vardır. Biyoakümülyasyon özelliği düşüktür. Diğer YMA fitalatlar BBzP, DiNP, DnOP ve DiDP'dir. Yüksek biyoakümülyasyon faktörüne sahip olan DMA fitalatlar ise DBP, DEP, DiBP'dir. DMA'nın ısı toleransı yüksektir. Fakat YMA'nın sıcaklık toleransı diğerine kıyasla azdır. Her iki formül da sabit değildir (Johns ve ark., 2015; Mariana ve ark., 2016).

Vinil plastikleştiricisi olan YMA fitalatlar endüstride ürünün esneklik, kolay işlenebilirlik ve çeşitliliğini arttırmada yaygın olarak kullanılmaktadır (Staples, 2003). DMA fitalatlar ise selülozik maddeler, akrilik maddeler ve üretan maddeler gibi vinil madde olmayan kimyasal reçinelerde plastifiyan olarak kullanılmaktadır. (Matsumoto ve ark., 2007). Kağıt ve kağıt türevleri, kozmetik materyaller, deterjanlar, şampuan, sabun, otomotiv kimya sanayi, inşaat malzemeleri ve yapı malzemeleri, tıbbi amaçlı torba ve tüpler ve boyar madde üretimi gibi alanlarda yararlanılan fitalatlar düşük molekül ağırlıklı olanlardır. Yüksek uçuculuğu olan alkil bağı C<sub>6</sub>'dan küçük olan fitalatlardan tek başlarına plastikleştirici olarak faydanılamamaktadır (Staples ve ark., 1997).

DMF peroksitleri taşıma ve depolamada görevlidir. Seyrelti sağlama dengeleyicisi olarak tercih edilir. Dietil fitalat (DEF) ise kozmetik sanayiinde

parfümlerde ve diğer kokulu maddelerde sabitleştirici veya taşıyıcı madde olarak kullanılmaktadır (Staples, 2003).

#### 2.1.4. Fitalat Türlerinin Kullanım Alanları ve Denetlenmesi

**Tablo 2.** Fitalatların genel olarak kullanım alanları (Staples'den, 2003).

| Fitalat               | Kısaltma | Kullanımı                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dimetil fitalat       | DMP      | Repellent madde, plastikleştirici madde                                                                                                                                                                                                |
| Dietil fitalat        | DEP      | Kozmetik ürünlerde (şampuan, parfüm, sabun, losyon), endüstriyel çözücü madde, ilaç sanayisinde ise (tabletlerde kaplama, kapsüllerin üretimi)                                                                                         |
| Dibutil fitalat       | DBP      | Ev eşyalarında, kozmetik sanayide, endüstriyel çözer madde, ilaç sanayisinde (tabletlerde kaplama, kapsül üretimi), yapıştırıcı maddelerde                                                                                             |
| Diizobutil fitalat    | DIBP     | Ev eşyalarında, kozmetik sanayide,, endüstriyel çözer madde, yapıştırıcı madde                                                                                                                                                         |
| Butil benzil fitalat  | BBP      | Vinil yer kaplama malzemelerinde, ev temizlik ürünlerinde, endüstride çözücü madde olarak, mühür üretiminde                                                                                                                            |
| Disikloheksil fitalat | DCHP     | Kauçuk ve polimer üretiminde stabilizatör olarak kullanılır                                                                                                                                                                            |
| Di (2-etilheksil      | DEHP     | Sert olmayan plastiklerde esnekleştirici plastikleştirici madde (IV torbalar, oyuncaklar, ev eşyalarında, besin endüstrisinde besin ambalajlamasında, kağıt-karton sanayi, elektrik kapasitörleri olarak, boyar, tekstil materyalleri) |
| Dioktil fitalat       | DOP      | Yumuşak plastiklerde esneklik veren plastikleştirici madde olarak                                                                                                                                                                      |
| Diizononil fitalat    | DINP     | Yumuşak, plastiklerde esneklik veren plastikleştirici madde olarak DEHP yerine tercih edilebilir                                                                                                                                       |

**Tablo 3.** Dünya genelinde yaygın olarak kullanılan fitalatlar (Staples'den, 2003).

| Fitalat                   | Kısaltma | Kimyasal Yapı                             | CAS no:  |
|---------------------------|----------|-------------------------------------------|----------|
| Dimetil fitalat           | DMP      | $C_6H_4(COOCH_3)_2$                       | 131-11-3 |
| Dietil fitalat            | DEP      | $C_6H_4(COOC_2H_5)_2$                     | 84-66-2  |
| Dialil fitalat            | DAP      | $C_6H_4(COOCH_2CH=CH_2)_2$                | 131-17-9 |
| Di-n-propil fitalat       | DPP      | $C_6H_4[COO(CH_2)_2CH_3]_2$               | 131-16-8 |
| Di-n-butil fitalat        | DBP      | $C_6H_4[COO(CH_2)_3CH_3]_2$               | 84-74-2  |
| Diisobutil fitalat        | DIBP     | $C_6H_4[COOCH_2CH(CH_3)_2]_2$             | 84-69-5  |
| Di-n-pentil fitalat       | DNPP     | $C_6H_4[COO(CH_2)_4CH_3]_2$               | 131-18-0 |
| Disikloheksil fitalat     | DCP      | $C_6H_4[COOC_6H_{11}]_2$                  | 84-61-7  |
| Bütilbenzil fitalat       | BBP      | $CH_3(CH_2)_3OOC C_6H_4 COOCH_2C_6H_5$    | 85-68-7  |
| Di-n-heksil fitalat       | DNHP     | $C_6H_4[COO(CH_2)_5CH_3]_2$               | 84-75-3  |
| Butildesil fitalat        | BDP      | $CH_3(CH_2)_3OOC C_6H_4 COO(CH_2)_9H_3$   | 89-19-0  |
| Di(2- etilheksil) fitalat | DHP      | $C_6H_4[COOCH_2CH(C_2H_5)(CH_2)_3CH_3]_2$ | 117-81-7 |

Fitalatların endüstride kullanımı oldukça fazladır. Bu yüzden doğaya ve insan sağlığına olumsuz etkilerini kontrol edebilmek adına yasal düzenlemeler planlanmıştır. Bu düzenleme fitalatların üretimi, taşıma durumu, kullanımı, kullanım alanları ve yok edilmesini kapsamaktadır. Kimyasal aktivitesi düşük olan fitalatlar yapılarına katıldıkları polimer madde ile sıkı bir bağ yapmamakta bu da polimer atıklardan doğaya ve temiz su kaynaklarına fitalat kontaminasyonuna sebep olmaktadır. Fitalatların üretimi sonucu oluşan atık sularda doğaya karışmaktadır. Bu sularda da fitalat, alkol ve çeşitli organik bileşikler görülmektedir. Örneğin yüksek sıcaklıkta yapılan PVC üretimi sonucu oluşan atık suda fazla miktarda fitalat görülebilmektedir. Bundan dolayı oluşan bu atık suların doğaya karışımından önce arıtılmaları gereklidir. DEHP; Avrupa Birliğinde, Avrupa Kimyasal Bürosu tarafından kısırlaştırıcı toksik moleküller olarak sınıflandırılmıştır. Bunun yanında Avrupa Parlamentosu DEHP, DBP ve Benzil Bütil Fitalatın (BBP) oyuncaklarda ve çocuk bakım malzemelerinde kullanımını

yasaklamıştır. Ayrıca diizo nonil fitalat (DINP), diizo dekil fitalat (DIDP) ve di-n-oktil fitalatın (DNOP) ise çocukluk çağındaki bireylerin ağızlarına alabilecekleri oyun materyalleri ve bakım materyallerinde kullanılmasını yasaklanmıştır. Bunun yanında bazı fitalatların kullanımı için sınırlama getirilmiştir. Avrupa Birliği'nde fitalatlar için kabul edilebilir gün içindeki alım dozu 50 kg ağırlığındaki bir insan için hesaplandığında 1,8 mg olarak kabul görmüştür (İmren, 2011).

Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı tarafından fitalat ve fitalat esterlerini neden oldukları sağlık riskleri ve hastalıklar sebebiyle “endişe veren kimyasal maddeler” sınıfında kabul etmiştir (USEPA, 2007).

Avrupa Kimyasal Ajansı 10 fitalat diesteri kanser yapıcı olarak kabul etmiştir. Ayrıca mutajen ya da üreme faktörü için toksik olarak 1B sınıfında değerlendirilmiştir. Sınıflandırmada 4 ve 1 sayılarından sayısal değer verilmiştir. 1 en tehlikeli sınıf olarak belirlenmiştir. DEHP, DiBP, DnBP ve BBzP reprotoksik tehlikeli 1B grubunda bulunmaktadır (Cariou ve ark., 2016).

Bizim ülkemizde ise Bazı Tehlikeli Maddelerin, Müstahzarların ve Eşyaların Üretimine, Piyasaya Arzına Ve Kullanımına ilişkin Kısıtlamalar Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik 2010 yılında, 27687 sayılı resmi gazetede yayınlanmış ve kullanıma girmiştir. Türk Gıda Kodeksi fitalat esterlerinin besin ile temas eden materyallerde kullanımını belirli ölçülerle sınırlamıştır (İmren, 2011).

**Tablo 4.** Fitalat esterleri için kabul edilen günlük alım miktarı (EFSA' dan, 2005)

| Fitalat Esterleri | TDI (Tolerable Daily Intake) tolere edilen günlük alım miktarı $\mu\text{g/kg}$ vücut ağırlığı/gün | 60 kg birey için günlük tüketim sınırı |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| DEHP              | 50                                                                                                 | 3 mg                                   |
| DBP               | 10                                                                                                 | 0,6 mg                                 |
| BBP               | 500                                                                                                | 30 mg                                  |
| DINP              | 150                                                                                                | 9 mg                                   |
| DIDP              | 150                                                                                                | 9 mg                                   |

**Tablo 5.** Fitalat esterleri ile ilgili Türk Gıda Kodeksi'nde yer alan düzenlemeler (İmren' den, 2011)

| Fitalat Esterleri                                                | Kullanım Alanı                                                                                                                                                                                                                            | SML<br>(Spesifik Migrasyon Limiti) |
|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| DEHP                                                             | a) Tek kullanımlık olmayan ve yağı olmayan besinlerle temasta bulunan materyallerde plastikleştirici olarak,<br>(b) Son üründe % 0,1'e kadar teknik açıdan yardımcı olarak kullanılan madde olarak tercih edilir.                         | 1,5 mg/kg gıda benzeri             |
| DBP                                                              | (a) Tek kullanımlık olmayan ve yağı olmayan besinlerle temasta bulunan materyallerde plastikleştirici olarak,<br>(b) Son üründe poliolefinlerde % 0,05'e kadar olan düşük yoğunlukta teknik bakımdanyardımcı madde olarak tercih edilir.. | 0,3 mg/kg gıda benzeri             |
| BBP                                                              | a) Tek kullanımlık olmayan madde ve malzemelerde plastikleştirici olarak,                                                                                                                                                                 | 30 mg/kg gıda benzeri              |
| DiNP                                                             | (b) TGK-Bebek Formülaları, TGK-Devam Formülaları ve TGK Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdaları kullanımı                                                                                                                                        | 9 mg/kg gıda benzeri               |
| birincil doymuş dallanmış C8-C10 alkollerle, %60'dan fazla C9'lu | tebliğlerinde belirlenmiş olanlar hariç yağı olmayan besinlerle teması olan tek kullanımlık materyallerde                                                                                                                                 |                                    |
| DiDP birincil doymuş C9-C11 alkollerle, %90'dan fazla C10'lu     | esnek plastik yapan madde olarak,<br>(c) Son üründe % 0,1'e kadar teknik yardımcı madde olarak kullanılır.                                                                                                                                | 9 mg/kg gıda benzeri               |

### 2.1.5. Fitalat Kullanımının Taşıdığı Riskler

Yapılan çalışmalarda fitalatlar için risk değerleri belirlenmiştir. Fitalatlar endokrin sistemi bozan ya da hormon metabolizmasına zarar veren kimyasallar olarak değerlendirilmiştir (Heudorf ve ark., 2007).

Fitalatların laboratuvar hayvanlarında fetal ölüme, malformasyona, karaciğer harabiyetine, karaciğer yetmezliğine, antiandrojenik hormonal etkiye, testiküler sistemde hasara, sperm kalitesi düşüklüğüne, peroksizom proliferasyonuna ve üreme sisteminde toksisiteye sebep oldukları bildirilmiştir. Bazı fitalat esterlerinin kemirgenlerde kanserojen etkiye neden olduğu belirtilmiştir (Foresta ve ark. 2008).

Literatürlerde di-(2-etilhekzil) fitalatın canlı ağırlık artımını azalttığı, durdurduğu ya da yavaşlattığı rapor edilmiştir (Sobarzo ve ark. 2006).

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda ftalatın gelişimsel toksisite ve teratojen etki gösterdiğini bildirilmiştir. Ancak bu konuda insan verileri yetersizdir. Son zamanlarda ftalatın insanlar üzerinde de olumsuz etkileri olduğu düşünülmektedir. En çok erkek üreme gelişimi üzerine olumsuz etki gösterdiği rapor edilmiştir (Virtanen ve ark., 2005).

ABD’de Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) tarafından hazırlanan raporda gestasyonun 6-15. günlerinde gebe hayvanlara aşırı doz ftalat (BBP, DBP, DEHP ve DINP) uygulamasında nöral tüp defektleri, yarık damak ve iskelet sistemi anomalileri gözlenmiştir (NTP, 2003).

#### **2.1.6. Fitalatın Çevresel Etkileri ve Fitalata Maruz Kalma**

Sentetik ftalatlar ve 1,2-dikarboksilik asit–ftalik asit esterleri 1920’de ortaya çıkmıştır. 1933’de di-2-etilhekzil ftalatlar (DEHP) üretilmiştir. Böylelikle daha sık kullanım alanı edinen ftalatlar, endokrin sistemini bozucu etkisi olduğu kabul edilen kimyasal bileşiklerdir (Bajkın ark., 2014).

DEHP, PVC plastik yapan madde olarak yapı materyallerinde (duvar kaplama kâğıtları, zemin kaplama malzemeleri), otomotivlerde, kıyafetlerden (yağmurluk, yağmur çizmeleri), gıda paketlenme ürünlerine, bebek diş kaşıyıcılarından diğer çocuk oyuncaklarına ve emzik, biberon gibi farklı seçeneklerde tercih edilirler. ABD’de DEHP’e maruz kalmanın popülasyonda 3–30 µg/kg/gün düzeyinde olduğu kabul edilir. Bu kontaminasyonun çok önemli kısmı gıda maddeleri aracılığıyla olur. Bu durum tolere edilebilir düzeyin kontrol edilebilmesi konusunda uzmanları endişelendirmektedir. Bu sebeple ftalat maruziyetini en aza indirebilmek için bu konuda önlem almaya çalışılmaktadır (Latini, 2005).

Besin ambalajlanması, besinin saklanması ve taşınmasında en önemli element ftalattır. Besin ambalajları besini oksidasyondan, gaz kaybından, nemden, UV radyasyondan, yabancı aroma etkileşiminden, sıcaklık değişimlerinden, mikrobiyolojik aktivitelerden koruyarak kalite kaybını minimize eder. Ayrıca raf ömrünü geciktirir ve besinin kalitesini, güvenliğini de sağlar. Günümüzde metal ve cam ürünlerin yerini plastikler malzemeler almıştır. Esnek kimyasal yapısı vardır. Bunun sayesinde plastikler kolaylıkla tabakalar, kalıplar ve yapılar haline dönüştürülebilir. Bu sebeple diğer ambalajlardan daha çok tercih edilmektedirler. Plastik polimerleri son ürünün kalitesini geliştirir. Ürüne dayanıklılık, esneklik ve görünüm için gerekli olan; antioksidanlar,

plastifiyanlar ve renklendiriciler gibi çeşitli kimyasal maddeler eklenmektedir. Besin kontaminasyon nedenlerinden biri fitalatların, yağlı gıda matrislerine paketlerden geçmesidir (Nazarudin ve ark., 2014).

Plastifiyanlar son ürüne kopma direnci ve esneklik sağlarlar. Bu amaçla en çok tercih edilen DEHP gibi yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Özellikle renk ve koku tutucu olarak katılan di-n-bütil fitalat (DBP), bütil benzil fitalat (BBP) gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler de tercih edilebilmektedir (Sun ve Thom, 2010; Xu ve ark., 2010).

Plastifiyanlardan esneklik istenen vinil ürünlerde en çok tercih edilen madde DEHP'dir. Dünyadaki tüm fitalat üretiminin %65'ini ise yine DEHP oluşturmaktadır. Plastik maddeler %40 kadar DEHP içerebilirler (Durusoy ve Karababa, 2011).

DEHP üretim ve kullanım safhalarının tümünde insan sağlığı için zararlıdır. Yok edilmesi aşamasında ise bu kimyasal madde doğaya karışmaktadır. İnsan sağlığı üzerinde endokrin bozucu olarak bilinen DEHP'nin vücudumuza miktar olarak kontaminasyonu en fazla yediğimiz gıdalarla olmaktadır. Gıda kontaminasyonu kullanılan plastik ürünler ile üretim aşamasıyla başlar. Besinlerin ambalajlama ve depolama safhalarında da devam etmektedir. Yapılan incelemelerle pek çok gıda maddesinde DEHP varlığından bahsedilse de; zeytin, et, süt ürünleri, balık ve çiçek yağı gibi yağ oranı yüksek lipofilik özellikte besinlerdeki kontaminasyonu daha fazla gözlemlenmiştir (Durmaz ve Özmert, 2010).

Endüstride en çok üretilen plastifiyanlar olan fitalatlar her alanda kullanılmaktadır. Böyle olması çevresel yönden önem arz etmektedir. Fitalat içerikli ürünlerin taşınmaları, ticari ve evsel kullanımları esnasında doğaya yayılması söz konusudur (Gomez-Henz ve Aguilar-Caballos, 2003).

Fitalatların çevreye kontaminasyonu hidroliz, fotodegradasyon ve biyodegradasyon olarak 3 mekanizma yollarıyla gerçekleşmektedir (Matsumoto ve ark., 2007).

Fitalatların yavaş hidroliz tepkimeleri sonucunda oluşan ürünler alkol ve asittir. Fitalat esterlerin hidrolizi 2 adımda gerçekleşmektedir. İlk olarak, mono ester ve bir serbest alkol oluşur. Sonrasında fitalik asit ve ikinci bir alkol oluşur. Asit, baz, metaller, anyon ve organik moleküller fitalatların hidrolizinde katalizör görevi görürler (Gomez-Henz ve Aguilar-Caballos, 2003).

1960'lı yıllarda yapılan çalışmalarda PVC'den yapılan medikal amaçlı malzemelerde kullanılan DEHP'nin vücut sıvılarına geçtiği ve dokularda depolandığı belirtilmiştir. DEHP kana filtre olması, plastik ile temas eden ürün, ürünün sıcaklığı, ürünün depolanma süresi ve ürünlerdeki DEHP yüzdesi gibi birçok faktörden etkilenir (Tickner ve ark., 2001).

DEHP'in vücuda kontaminasyon olmasının öncelikli temel yolu besinler aracılığıyla olmaktadır. Bunun dışında solunum ve tıbbi tedavi sırasında kana ve dokulara bulaşarak da olabilmektedir (Durmaz ve Özmert, 2010). DEHP insanlara deri teması yoluyla da kontamine olabilmektedir (Sun ve Thom, 2010).

#### **2.1.7. Sağlık Üzerine Fitalatın Etkileri**

Toksisite düzeyi farklı fitalat esterlerinde değişkenlik gösterir. Etkin maddenin farklı bir toksik metabolite dönüşümü toksisitenin temel nedenidir. (Koch ve ark., 2005). Endokrin bozucu ajanlar olarak bilinen fitalat esterleri vücuda alındığında hedef moleküllere bağlanır ve hormonal fonksiyonlarda bozukluklara neden olabilir (Mariana ve ark., 2016).

Endokrin sistemde harabiyete neden olabilen DEHP aynı zamanda prematüre doğum ve astım gibi hastalıklara da neden olabilmektedir. Artan yüksek fitalat konsantrasyonu koroner kalp ve damar hastalıkları riskini de beraberinde getirmektedir (Olsen ve ark., 2012).

Çocuklarda fitalat maruziyeti ergenlik döneminde ileri dönem gelişim bozukluğu, genç yetişkinlerde üreme sisteminde bozukluklar ve nörolojik hasarlara neden olabilir ve bu durum obeziteyi tetikleyebilir. Çağımızın yaygın hastalıklarından biri olan allerjide ise ev tozlarında bulunan fitalatlar riski fazlasıyla yükseltmektedir (Ait Bamai ve ark., 2016).

Fitalatlar canlı vücudunda adipoz dokuda, böbrek ve akciğer gibi bazı organlarda birirmektedir. Venter (2006) tarafından yapılan bir çalışmada fitalat atıklarının suya karışması sebebiyle sulu ortamda yaşayan bitki ve su canlılarında daha kolay kalıntılaştığı gözlemlenmiştir. Düşük molekül ağırlıklı fitalat türleri boğaz, burun ve göz gibi hassas yerlerde tahrişe neden olabilir. Yüksek molekül ağırlıklı fitalat türlerinin insan sağlığı üzerinde en belirgin özelliği kanserojen olması ve yenilenebilir organların gelişimini engellemesidir (Gomez-Henz ve Aguilar-Caballeros, 2003).

Fitalatların sağlık üzerine toksik kanserojenik ve toksikolojik olmak üzere üç şekilde etki mekanizması vardır. Fitalatlar bazı enzim sistemlerini baskımlarken bazen de bu sistemleri harekete geçirmek gibi etkilere sebebiyet verebilir. Bilinen en önemli etki mekanizması endokrin bozucu olmalarıdır. Buna örnek olarak östrojen ve androjen hormonlarının metabolizmasını bozarak üreme sistemini negatif etkilemesi gösterilebilir. Yapılan çalışmalar bazı fitalat ve fitalat esterlerinin en fazla erkek üreme ve gelişme sistemini negatif etkilediği rapor edilmiştir (Venter, 2006).

Yapılan çalışmalarda fitalat ve fitalat esterlerinin dişilerde anovülasyon etki, prematüre doğum ve hamilelik süresinde istenmeyen olumsuz değişiklikler gibi etkilere neden olduğu bildirilmiştir. Alerji, alerjik astım, testis kanseri, karaciğer dokusunda ve böbrek dokusunda hasar, insülin direnci, obezite ve tiroid bozukluğu gibi nörokognitif gelişim üzerine de negatif etki göstereceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda DEHP'in kimyasal yapısı ile prostoglandin/ tromboksin ve interlökin-1'e bağlanarak gebelik süresinin kısalmasına neden olabileceği rapor edilmiştir (Bajkın ve ark., 2014).

Yapılan çalışmalarda DEHP'nin öncelikle karaciğer, böbrek, akciğer gibi organlarda ve üreme sisteminde hasara yol açabileceği belirtilmiştir. Buna ek olarak özellikle prenatal ve neonatal gelişimi tamamlanmamış erkek bebeklerde testiküler atrofiye neden olabileceği bildirilmiştir. Gelişim dönemindeki bozukluklardan özellikle testis, penis ve diğer erkek üreme sistemi parçalarının bozuklukları, yetişkin erkeklere kıyasla bebeklikte çok daha fazla olduğu belirtilmiştir (DiGangi ve ark., 2002).

En yaygın kullanılan fitalat türü olan Di(2-etilheksil) fitalat (DEHP) düşük konsantrasyon miktarlarında bile endokrin sistem bozucu toksik etki göstermektedir. DEHP'ye maruz kalınması canlılarda toksik etkiye neden olur. Bunlar arasında karaciğer kanserinin yanı sıra peroksizom ve mitokondri çoğalmasında yavaşlama, böbrek doku boyutunda anormal çoğalma gibi birçok olumsuz etkilere neden olabileceği yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir (NTP-CERHR, 2000).

Düşük molekül ağırlıklı fitalat türlerinin akut toksisisteye neden olduğu bilinmektedir. Akut toksisite için fitalat dozları 1- 30 g/kg/c.a. (LD50) olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda fitalatların doza bağlı uzun ve kısa dönemde karaciğer, böbrek, tiroid ve testislerde yan etkilere sahip olduğu görülmüştür (Heudorf ve ark., 2007).

**Tablo 6.** Fitalatlarda lethal doz 50 (LD<sub>50</sub>) değerleri (Staples' den, 2003)

| Fitalat Cinsi | Oral LD <sub>50</sub> (mg/kg vücut ağırlığı) | Dermal LD <sub>50</sub> (mg/kg vücut ağırlığı) |
|---------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------|
| DMP           | >5000                                        | >12000                                         |
| DEP           | >9000                                        | >20000                                         |
| DBP           | >8000                                        | >20000                                         |
| DiBP          | >15000                                       | >10000                                         |
| DEHP          | >30000                                       | >24500                                         |
| DINP          | >10000                                       | >3100                                          |
| DIDP          | >20000                                       | >3600                                          |
| DUP           | >15800                                       | >7900                                          |

Literatürde fitalatların çocukluk çağında alerjik hastalıklara ve astıma sebebiyet verdiği bildirilmektedir. Yetişkin bireylerde ise çoğunlukla cilt sorunlarına sebep olduğu rapor edilmiştir (Harder, 2004). Buna ek olarak fitalatların çeşitli organlara toksisiteye bağlı olarak zararlı etkide bulunduğu özellikle üreme sistemlerinde zarara neden olduğu da bildirilmiştir (Hoyer, 2001).

Çözüm olarak DEHP yerine kullanılabilecek alternatifler düşünülmüştür. Yüksek molekül ağırlıklı toksik fitalatlardan oluşan plastifiyanlar yerine, fitalat içermeyen sağlığa daha az zarar veren plastifiyanlar daha çok önem kazanmaktadır. Siklokarbon trikarboksilik asit triesterleri denilen bazı bitkisel yağlardan elde edilen yenilenebilir zararsız hammadde plastifiyanların kullanması planlanmaktadır. Bu yenilenebilir alternatif plastifiyanlar sikloheksan dikarboksilik asit esterleri, bütadien ve maleik anhidridin tepkimesi sonucu elde edilir. Hidrojenasyon ve esterifikasyona uğradıktan sonra oluşmaktadır ve toksikolojik olarak zararsız olduğu için özellikle hassas alanlarda faydalanmaktadır. Özellikle 1,2-sikloheksan dikarboksilik asit diizoonil ester (ticari adı Hekzamol DINCH); çocuk toksisite maruziyetini en aza indirmek için oyuncak üretiminde, hasta bireylerde toksisiteyi en aza indirebilmek için medikal sağlık ürünlerinde ve en çok kontamine sebebi olan gıda paketlenmesinde kullanılan plastiklerin üretiminde kullanılmaktadır. Ancak üretilen bu alternatif plastifiyanlar petrokimyasal fitalatlara oranla çok daha maliyetlidir (Biermann ve ark. 2012).

### 2.1.8. Fitalat ve Kanser Arasındaki İlişki

Kanserojenik toksik etki açısından fitalatlar genotoksik madde ve epigenetik maddeler olarak gruplandırılmaktadır. Fitalat DNA molekülü ile interaksyona girerse genotoksik madde olarak adlandırılır. Epigenetik etki daha zayıftır ve maruziyet sonrası kanser oluşumu ile meydana gelmektedir (Venter, 2006).

DEHP karaciğer kanserinin yanı sıra peroksizom ve mitokondri sayısının artmasında azalma, böbrek doku boyutunda anormal çoğalma gibi birçok negatif etkilere neden olabilmektedir (NTP-CERHR, 2000).

Fitalatların karsinojenik olmasının yanı sıra fetal ölüm sebebi, malformasyon, teratojenite ve laboratuvar hayvanlarında testiküler harabiyet ile üreme sistemi üzerinde toksik etki gösterdiği belirtilmiştir (Kai ve ark. 2005).

## 2.2. Serbest Radikaller

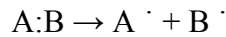
### 2.2.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Genel Özellikleri

Serbest radikaller kimyasal yapılarında bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron içeren molekül veya molekül parçacıklarıdır (Berger, 2005; Valko ve ark., 2006). Son derece reaktif formda olan kimyasal yapısında çiftlenmemiş elektron molekülü barındıran serbest radikaller stabil değildir. Yapısında çiftlenmemiş elektron bulunduran reaktif moleküller kararlı forma geçebilmek amacıyla diğer moleküllerden elektron kaparak kararlı hale geçerler. Elektronu koparılan moleküller kararsız hale geçerek serbest radikallere dönüşürler (Chauhan ve ark., 2006).

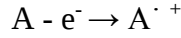
Serbest radikaller moleküller arası elektron alış verişiyle doğal metabolik yollar sonucu vücutta oluşur. Radikal parçalayan antioksidan özellikteki sistemlerle oluşan serbest radikaller ortadan kaldırıldığında, bu durumda bir sitotoksosite ortaya çıkmaz. Organizmada serbest radikal oluşumunun doğal yolları vardır. Bunların başlıcaları mitokondrial elektron transport sistemi, heksoz monofosfat tepkimesi yolu, ksenobiotiklerin metabolize tepkimesi, doğal uyaranlar ile fagositik hücrelerin aktive olması, biosentetik ve biokimyasal yıkım olaylarının tümüdür (Öğüt ve Atay, 2012).

Serbest radikaller 3 farklı şekilde oluşmaktadır; (Özcan ve ark., 2015)

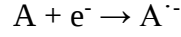
1. Negatif yüklü elektronlar bir moleküldeki homolitik parçalanmasıyla atomların üzerine yüklenir.



2. Radikal olmayan bir moleküldeki bağ ile heterolitik parçalanmasıyla ya da yalnızca bir elektron kaybı sonucu meydana gelir.



3. Radikal olmayan moleküle bir elektronun katılmasıyla meydana gelir.



Hücresinin süregelen metabolizması (endojen kaynaklı) sonucu serbest radikaller meydana gelebilir. Bunun dışında dış faktörlerin etkisiyle de oluşabilirler (Çakatay ve Kayalı, 2006). Biyomekanizmalarla oluşan serbest radikaller organik veya inorganik yapıda, elektriksel yönden pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötr yükte olabilirler (Akkuş, 1996). Serbest radikaller sağ üst köşelerine en dış orbitallerindeki eşleşmemiş elektron sayısı kadar nokta konularak gösterilir ( $R^{\cdot}$ ) (Gönenç, 1997; Simic ve Taylor, 1986).

**Tablo 7.** Serbest radikal kaynakları (Çavdar ve ark.' dan, 1997; Mercan' dan, 2004; Kabel' den, 2014)

| Endojen Kaynaklar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Ekzogen Kaynaklar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Elektron Transport Zinciri tepkimesi<br>Bağışıklık sisteminde hücre aktivasyonu<br>metabolizması<br>Oksidan Enzim molekülleri (Siklooksigenaz, Ksantin oksidaz, Monoamin oksidaz, İndolamin Dioksigenaz)<br>Mental Stres faktörü<br>Aşırı Egzersiz faktörü<br>İskemi/ Reperfüzyon bozulması<br>Enfeksiyon faktörü<br>Yaşlanma faktörü<br>Kanser faktörü<br>Enflamasyon toksik faktörü | Hava ve Su Kirliliği nedenleri<br>UV, Sıcak Şoku ve Stres Gibi Nedenler<br>Bazı ilaçlar (Doksorubisin, Bleomisin, Siklosporin, Takrolimus) faktörü<br>Radyasyon, UV, x ışınları toksisitesi<br>Sigara Dumanı<br>Alkol metabolizması<br>Ağır Metaller (Demir, Civa, Bakır, Krom, Nikel) faktörü<br>Kimyasal toksikler ( $CCl_4$ , CO, NO, $NO_2$ , $SO_2$ )<br>Pestisid moleküller faktörü<br>Alışkanlık Yapan Ksenobiotik Maddeler |

### 2.2.2. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri

Oksidatif canlıların yaşamını devam ettirebilmesi için oksijen temel gerekli elementtir. Enerji üretimi için metabolizmada kullanılan oksijen hem reaktif oksijen türlerinin hem de reaktif nitrojen türlerinin metabolize olmasına neden olmaktadır. Mitokondri oksijen kullanımı esnasında hücrede serbest radikal üretmektedir. Enerji üretimi sonucu oluşan hücredeki bu serbest radikaller lipidlerin, proteinlerin ve nükleik

Dış orbitallerinde bir veya birden daha fazla ortaklanmamış serbest elektron molekülü barındıran reaktif atom veya moleküllere serbest radikaller denir (Mercan, 2004). Ortaklaşmamış elektronlar molekülün üst kısımlarına konulan nokta sembolü ile gösterilirler (Akkuş, 1996). Serbest radikallerin reaktivitesi karşı spin yönünün bir elektron kazanma isteğinden dolayı meydana gelir (Deaton ve Marlin, 2003).

$$\begin{array}{c}
 \text{O}_2 \xrightarrow{\bar{e}} \dot{\text{O}}_2^- \xrightarrow[2\text{H}^+]{\bar{e}} \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\bar{e}} \text{HO}^\bullet + \text{HO}^- \\
 \downarrow 4\bar{e} \quad 4\text{H}^+ \\
 2\text{H}_2\text{O} \xleftarrow[\text{H}^+]{\bar{e}, \text{H}^+ (\text{H}^\bullet)}
 \end{array}$$

Oksidan moleküller reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNS), sülfür merkezli radikaller ve diğerleri olarak sınıflandırılır. Radikal olmayan reaktif türler pek çok durumda radikal gibi davranabilir. Bu reaktifler moleküllere oksidasyon yolu ile zararda bulunmaktadır. Tüm bu reaksiyonlar sonucunda oluşan oksidasyon ürünlerine radikal denir. Radikaller diğer reaksiyonların başlamasına sebep olmakta bu da daha büyük sorunlar meydana getirmektedirler (Abuja ve Albertini, 2001).

**Tablo 8.** Biyolojik sistemlerdeki oksidanların sınıflandırılması (Johansen ve ark.' dan, 2005)

|                                       | <b>Reaktif Oksijen Türleri (ROS)</b>         | <b>Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)</b>      |
|---------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>Serbest Radikal Olan Türler</b>    | Süperoksit ( $\text{O}_2^-$ )                | Nitrik Oksit ( $\text{NO}$ )               |
|                                       | Hidroksil Radikali ( $\text{OH}^\bullet$ )   |                                            |
|                                       | Peroksil ( $\text{RO}_2^\bullet$ )           | Nitrojen Dioksit ( $\text{NO}_2^\bullet$ ) |
|                                       | Hidroperoksil ( $\text{HRO}_2^\bullet$ )     |                                            |
| <b>Serbest Radikal Olmayan Türler</b> | Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) | Peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ )          |
|                                       | Hipokloröz Asit ( $\text{HOCl}$ )            | Nitröz Oksit ( $\text{HNO}_2$ )            |
|                                       |                                              | Alkil Peroksinitratlar ( $\text{RONOO}$ )  |

Serbest radikallerin kullanıldığı tepkimelerin sonucu oluşan ürünler, reaktif oksijen türlerinin oluşumunda potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılmaktadırlar (Kehrer ve Klotz, 2015).

**Tablo 9.** Serbest radikal reaksiyonlarının biyobelirteçleri (Kehrer ve Klotz' dan, 2015)

|                         |                                                                                                                                       |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Lipitler</b>         | Lipit peroksitleri veya metabolitleri (lipit hidroksi asitler ya da hidroperoksitler)                                                 |
|                         | İzoprostan molekülleri                                                                                                                |
|                         | MDA (çoğunlukla tiyobarbitürik asitle tepkimeye giren molekülleri)                                                                    |
|                         | Konjüge dienler molekülleri                                                                                                           |
|                         | Etan / pentan oluşumu tepkimesi                                                                                                       |
|                         | Yağ asiti analizi: lipit hidroperoksitlerin ve /veya lipit alkollerin meydana gelmesi, Çoklu doymamış yağ asitlerinin kaybı tepkimesi |
| <b>Proteinler</b>       | Protein oksidasyonu tepkimesi                                                                                                         |
|                         | Sülfür oksidasyonu (sistein disülfidler, S-tiyolasyonu Metiyonin sülfoksit, Karışık disülfidler molekülleri)                          |
|                         | Protein karboniller (yan zincir aldehitleri, ketonlar)molekülleri                                                                     |
|                         | Tirozin çapraz bağlantılar, klorlama, nitrozlama, hidroksilasyon                                                                      |
|                         | Triptofanil modifikasyonlar                                                                                                           |
|                         | Alifatik amino asitlerin Hidro(Pero)ksi türleri                                                                                       |
|                         | Kloraminler, deaminasyon                                                                                                              |
|                         | Aminoasit arası farklılaşmalar (örneğin; Histidinin asparagine, Prolinin hidroksi proline dönüşümü)                                   |
|                         | Çapraz bağlanmalar, agregasyon tepkime, peptid bağı yıkımı                                                                            |
| <b>DNA</b>              | Okside pürinler (8-hidroksideoksiguanin) ve pirimidinler molekülleri                                                                  |
| <b>Eklenme ürünleri</b> | Lipid peroksidasyon ürünleri (örneğin malondialdehit, akrolein)                                                                       |
|                         | Amino asit oksidasyon ürünleri (örneğin p-hidroksifenilasetaldehit);                                                                  |
|                         | Glikoksidasyon ürünü (örneğin; karboksimetillizin                                                                                     |
|                         | Lipidlere kovalent bağlanma tepkimesi                                                                                                 |

|                            |                                                                                |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Enzim Aktiviteleri</b>  | Antioksidan enzimlerin indüksiyonu aktivitesi                                  |
|                            | Oksidan duyarlı enzimlerin aktivite kaybı veya aktivitesinin artması tepkimesi |
| <b>Antioksidan içeriği</b> | Glutasyon kaybı metabolizması                                                  |
|                            | Glutasyon disülfid meydana gelmesi tepkimesi                                   |
|                            | Vitamin E molekülü                                                             |
|                            | Vitamin C molekülü                                                             |
|                            | $\beta$ -karoten molekülü                                                      |
| <b>Çeşitli</b>             | Miyogloblin oksidasyonu tepkimesi                                              |

### 2.2.3. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\bullet-}$ )

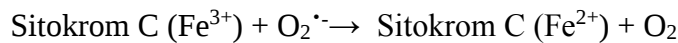
Oksijenli solunum yapan hücrelerde meydana gelir. Moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesiyle oluşur. Elektron yoğunluğu fazla olan iç mitokondri zarı ve ksantin oksidaz gibi flavoenzimler tarafından elde edilir. Tepkime endojendir (Özcan ve ark., 2015).

$O_2^-$ , sıkça anyon olarak tanımlanır. Ancak ortam pH'na bağlı olarak protonlanarak katyon halde bulunabilir. Protonlanan  $O_2^-$ 'ye perhidroksi radikali ( $HO_2^-$ ) denir (Memişoğulları, 2005).

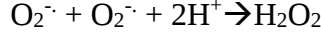
Memeli hücresinde temel ATP kaynağı mitokondriyal elektron transfer sistemidir. ATP yaşam için elzemdir. Enerji dönüşümü esnasında elektron kaçakları oluşabilir. Elektron kaçakları çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde rol oynayan oksijenin  $O_2^-$  serbest radikale değişimine sebep olur (Kovacic ve ark., 2005; Valko ve ark., 2004).

Submitokondriyel parçacıklarda oksijenin suyu oluşturması gereken tepkimelerde toplam elektronların ölçümler sonucu % 1-3'ü  $O_2^-$  oluşturmak üzere sızdığı tespit edilmiştir. Süperoksit radikali, elektron transport sisteminde hem kompleks I hem de kompleks III'te üretilir. Süperoksit radikali, anyonik forma dönüştüğünde mitokondrinin iç zarından kolaylıkla geçer. Kompleks I'e bağlı  $O_2^-$  özellikle matriksin içine bırakılır, sağlam mitokondriden herhangi bir kaçak meydana gelmez (Muller ve ark., 2004).

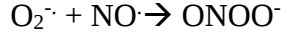
Süperoksit grubuna ( $O_2^-$ ) oksijenin indirgenmesi bazı demir-kükürt barındıran yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinler ile meydana gelir (Mercan, 2004).



İçeriğinde bakır metali de bulunduran bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığıyla süperoksit grubu, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve oksijene çevrilir (Mercan, 2004).



Her ikisi de serbest radikal olan süperoksit ile nitrik oksit tepkimeye katılarak peroksinitrit meydana getirirler (Akkuş, 1996)



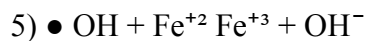
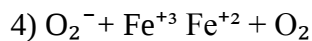
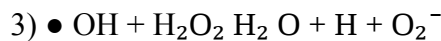
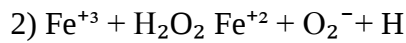
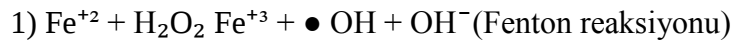
Metabolizmada süperoksit oluşturan kaynaklar vardır. Mitokondriyal solunum zinciri, katekolamin ve miyogloblin gibi birçok biyomoleküllerin otooksidasyonu, NADPH oksidazlar ve ksantin oksidaz gibi metabolizmada Süperoksit radikali oluşturan pek çok kaynak vardır (Virag ve ark., 2003).

#### 2.2.4. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Peroksit molekülü moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron koparmasıyla meydana gelir. Süperoksidin bir elektron almasıyla da meydana gelir. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oluşturur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membranlardan kolayca geçebilecek yapıdadır. Uzun ömürlü bir oksidandır (Markesbery, 1997).



Bakır (Cu), demir (Fe) gibi metal iyonları olduğunda hidroksil radikali öncül molekül gibi davranır. Böyle olduğunda hidrojen peroksit oksitleyici bir molekül olarak kabul edilir (Kurt, 2008).



Hidrojen peroksit ilk olarak proteinlerin hem grubunda bulunan demir molekülü ile reaksiyona girer. Bu tepkime yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril [Fe(IV)] ve perferril [Fe(V)] oluşumuna neden olur. Bunun sonucu olarak oluşan reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahiptir. Reaktif demir hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi kararlı tepkimeleri başlatabilir (Kurt, 2008). Süperoksit

radikalinden farkı yağda çözünmesidir. Hidrojen peroksit, oluştuğu yerden yakında olmayan ve Fe<sup>2+</sup> içeren hücresel membranlarda da hasar meydana getirebilir (Özcan ve ark., 2015).



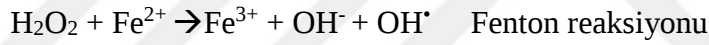
### 2.2.5. Hidroksil Radikali (OH<sup>•</sup>)

Bilinen en reaktif radikal türü olan hidroksil radikali aminoasitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi birçok biyokimyasal maddeyle tepkime oluşturabilir. Tek atom halinde anyon oksijen ile H<sup>+</sup> 'in tepkimesiyle meydana gelir (Memişoğulları, 2005).

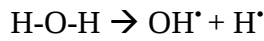
Süperoksit radikalinin hidrojen peroksiti Haber-Weiss Reaksiyonu adı verilen bir tepkimeyle indirgemesi sonucunda hidroksil radikali meydana gelir (Valko ve ark., 2006).



Yarılma zamanı çok fazla kısadır. Hidroksil radikali ortamda geçiş metalleri olduğunda fenton reaksiyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den meydana gelmektedir (Özcan ve ark., 2015).



Suyun radyasyon varlığında iyonun molekül hale getirilmesiyle hidroksil radikali meydana gelir (Akkuş, 1996).



Yüksek aktivitesi olan demir ve bakır iyonları fenton tepkimesini katalizleyebilir. Mangan ve kobalt da fenton tepkimesini katalizleme açısından aktiftir. Ancak mangan ve kobaltın vücut derişimleri çok az olduğu için ve Fe ve Cu ile kıyaslandıklarında etkinlikleri daha azdır. Demir; kimyasal tepkime metabolizmasında yalnız hareket etmez, metabolizmasının her aşamasında mutlaka ya bir kompleks proteine bağlanır ya da küçük organik moleküllerle (sitrat, ADP, ATP gibi) kompleks molekül yapısında bulunur. Hidroksil (OH<sup>•</sup>) sentezine engel olmanın en kuvvetli yöntemi metal iyonlarını proteinlere bağlanmış bir yapıda tutmaktır (Kenneth ve Bruce, 1998).

Aşırı derecede kararsız olan OH radikali oluştuğu yerden birkaç nanometre uzaklıktaki biyomoleküllere spesifik olmayan bir şekilde saldırır. Bu da hücrede

oksidatif hasara sebep olur. DNA, hücre zarı lipitleri ve yapısal proteinler gibi hücresel temel bileşenlere zarar verir ve hücreyi ölüme kadar götürebilir. Kalp damar hastalıklarına, nörodejenerasyona ve kanser gibi hastalıkların hücresel boyutta hasarlanmasına neden olabilmektedir (Ayala ve ark., 2014).

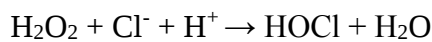
#### **2.2.6. Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )**

Eşleşmemiş elektronu bulunmayan singlet oksijen reaktif oksijenler arasında sayılmaktadır. Singlet  $O_2$  meydana getirebilmek için birkaç yolak vardır. Oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alıp dönüş yönünü tersi yönde yörüngeye değiştirmesiyle veya süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksit molekülünün hipoklorit polimeri ile reaksiyonu sonucunda meydana gelebilir. Gün ışığına sık maruz kalan deri ve gözdeki retina tabakası gibi bölgelerde yoğun olarak bulunduğu belirtilmiştir (Kretzschmar, 2019).

Sulu ortamda 4  $\mu s$ , nonpolar ortamda 100  $\mu s$  boyunca var olabilir. Aynı zamanda olduğu yerden yüzlerce nanometre uzağa diffüze olabilmektedir. Protein komplekslerini, doymamış yağ asitlerini ve DNA molekülünü direkt olarak oksitleyebilir. Deoksiguanozin ile seçici tepkime vererek nükleik asit modifikasyonlarına sebep olabilir.  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -tokoferol gibi antioksidan maddeler varlığında toksik etkisi azalmaktadır (Abouzari ve Fakheri, 2015).

#### **2.2.7. Hipokloröz Asit (HOCl)**

Oksijen nötrofillerde myeloperoksidaz enzimi kullanarak hidrojen peroksiti klorlayıp hipokloröz asiti meydana getirmektedir. Hipokloröz asit radikal molekül sınıfında olmadığı halde davranışıyla ROT arasında bulunmaktadır. Aktive olan nötrofiller, monosit ve makrofajlar, eozinofiller enzim molekülleri aracılığı ile yapılan tepkimelerle  $O_2^-$  molekülü üretirler. Özellikle nötrofiller sahip oldukları myeloperoksidaz enzim molekülü aracılığıyla  $O_2^-$ 'in dismutasyonu ile meydana gelen hidrojen peroksiti klorür iyonu ile tepkimeye sokarak güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür. Nötrofillerden ve monositlerden salıverilen myeloperoksidaz enziminin hidrojen peroksit üzerine etkisiyle oluşur. Miyeloperoksidaz inhibitörlerinin etkisiyle oluşum engellenebilir (Polat, 2011).



Artan metabolizma sonucu oluşan hidrojen peroksitin yaklaşık %40'ı hipokloröz asite dönüşür. Geriye kalan kısım ise hidroksil radikale dönüşür. Temizlik

maddelerinin aktif maddesi hipoklorit molekülüdür. Bu molekül milisaniye kadar kısa bir sürede tek hücrelilerde ve bakterilerde letal hasar oluşturabilecek güçte bir ajandır (Polat, 2011).

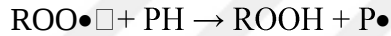
#### 2.2.8. Peroksil Radikali (ROO•)

Sıklıkla gıdalarda ve biyolojik materyallerde görülen peroksil radikali (ROO•) lipid oksidasyonunun zincir kırıcı reaksiyonları süresince meydana gelir (Magalhaes, 2008).

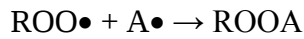
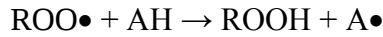
Yarılma ömrü çok uzun olmayan peroksil radikali •OH radikaline göre daha az reaktiftir (Kıbrıslıoğlu, 2013).

Peroksil radikalının hızı hedef molekülle olan reaksiyonu ve antioksidanlarla olan reaksiyonu ile kıyaslandığında daha hızlıdır. Bu sebepten reaksiyonda ortamda yer alan bütün antioksidan maddeler tüketilir. Daha sonra hedef molekül kompleksi ile kimyasal tepkimeye katılmaktadır (Magalhaes, 2008).

Peroksil radikalının hedef molekül (PH) ile kimyasal reaksiyonu aşağıdaki gibidir;



Peroksil radikalının antioksidan bileşiği (AH) ile kimyasal reaksiyonu;



Peroksil radikali lipid peroksidasyonu sonucu olur. Oluşan peroksil radikalının peroksidasyon için en çok tercihi fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitleridir (Kıbrıslıoğlu, 2013).

#### 2.2.9. Nitrik Oksit (NO•)

Kompleks canlılarda bulunan, yaşamsal açıdan önemli biyofonksiyonları yapan azot merkezli bir radikaldir. Tam radikal özellikte değildir. Bunun nedeni ortamda bulunan ortaklanmamış elektron azot atomuna ait olsa da, bu elektronun hem azot hem de oksijen atomu üzerinde lokalize olmasıdır. Böylelikle nitrik oksitin reaktivitesi baskılanır. Bilinen diğer radikallere kıyasla reaktivitesi daha uzun ömürlüdür (Kurt, 2008).

NO vücuda besinler yoluyla alınan nitro bileşiklerinin metabolize edilmesiyle oluşur. Diğer şekilde nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimleri tarafından endojen olarak da oluşturulur. NOS enzimiyle sentezinde yarı esansiyel amino asit olan L-argininden oksidatif deaminasyon ile sağlanır (Richard, 1994).

Nitrik oksit sentetaz nöronal (nNOS), endotel (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olarak üç farklı formda bulunur. Düşük konsantrasyonlarda eNOS ve nNOS enzimleri tarafından üretilen NO sinir sistemi ve düz kaslarda hücre içi ve hücreler arası haber taşıma molekülü olarak görev yapar. Sitoplazmik guanilat siklazı aktivasyonunda nitrik oksit haberci molekül olarak görev alır. Sitoplazmik guanilat siklazı aktive ederek cGMP konsantrasyonunu artırır. cGMP hücre içi kalsiyum değişiminin düzenlenmesinde rol oynar (Kurt, 2008).

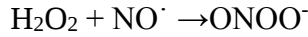
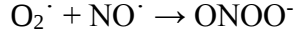
Toksik etki göstermemesi için hücre içi konsantrasyonunun fazlalaşması gerekmektedir. Toksik etkisi nöron ölümüne kadar sebebiyet verebilir. O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve geçiş metalleriyle tepkimeye girmeye yatkındır. Metal ve tiyol molekülü içeren protein kompleksleriyle tepkimeye girer. Bitmemiş devam etmekte olan tepkimelerin enzim aktivasyonunu zayıflatır ve böylece tepkimeyi yavaşlatır. Elektron transport zincirinde yer alan demir içeren kompleks moleküllere nitrik oksiti saldırır ve elektron transport zincirindeki enerji metabolizmasını bozar. Artan nitrik oksit miktarı sinir hücreleri harabiyetine neden olur (Çiçek, 2005).

NO• üretimi en çok enzimatik yolla olur. Ancak deride ve terde bulunan nitritin non-enzimatik redüksiyonu da NO• üretimine neden olur (Weller ve ark., 1996). NO'nin çok düşük konsantrasyonları katalaz ve sitokrom p-450 enzimlerini reversibl olarak inhibe edebilir. DNA sentezinden sorumlu tirozin içeren ribonükleotit redüktazı da reversibl inhibe edebilir, ancak NO konsantrasyonu iyice azaldığında bu inhibisyon ortadan kalkabilir (Pacher ve ark., 2007).

NO tüm omurgalı canlılarda kan akışını, tromboz ve nöral aktiviteyi düzenleyen intraselüler haberci olarak rol oynar. Nonspesifik konak savunması için faydalıdır. Ancak hücre içi patojenleri ve tümörleri doğrudan ortadan kaldıramaz. Yüksek dozda NO toksik etki gösterse de Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından düşük konsantrasyonlarda solunumu yeni doğanlarda persistent pulmoner hipertansiyon tedavisinde kabul edilmiştir (Pacher ve ark., 2007).

### 2.2.10. Peroksi nitrit (ONOO<sup>-</sup>)

Süperoksitin SOD ile olan reaksiyon hızından yaklaşık 3 kat daha hızlı NO-süperoksit tepkimesi ile peroksinitrit meydana gelir. Cu-Zn SOD'un hücre içi yoğunlukları süperoksitin intraselüler yoğunluğundan yaklaşık 1 milyon kat daha fazladır. Bu yüzden normal koşullarda çok az peroksinitrit oluşabilir (Demiryürek, 2004).



NO'in biyolojik konsantrasyonu SOD'dan daha azdır. İnflamasyon gibi patolojik durumlarda hücre içerisinde kalsiyum konsantrasyonunun artmasıyla NO ve süperoksitin aynı anda salınımına neden olur. Makrofajlar ve nötrofiller stimüle edildiklerinde NO ve süperoksiti salarak peroksinitrit oluşumuna sebep olabilirler (Demiryürek, 2004). Doz miktarına bağlı olarak peroksinitrit pulmoner epitel hücrelerinde lipid peroksidasyonu indükleyebilir (Ho ve ark. 2002).

Peroksinitritin de kompozisyonu sonucu nitrojen dioksit ve hidroksil radikali meydana gelir. Oluşan bu ürünler potansiyel oksidan özelliktedirler ve lipid peroksidasyona neden olurlar. Miyeloperoksidaz ve eozinofil peroksidaz, hidrojen peroksit ve nitritin substrat olarak kullanıldığı reaksiyonları katalizleyerek nitrojen dioksit oluşumuna neden olurlar. Nitrojen dioksit lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna ve aminlerin nitrasyonuna neden olurlar. Nitrojen dioksit, sıgır pulmoner arterlerinde NO aracılığıyla vazodilatasyon oluşturur (Demiryürek ve ark. 2004).

### 2.3. Serbest Radikallerin Etkileri ve Oluşturduğu Hasarlar

Hızlı sanayileşme XX. yüzyılın ilk yıllarında sanayi devrimi başlaması ile olmuştur. Bu durum yer altı ve yer üstü kaynaklarının kullanımını da beraberinde artırmış, fazla ve hatalı kullanımlar sonucunda da kaynaklar kirletilmiştir. Fabrikalardan salınan zararlı gazlar ozon tabakasının incelmeye neden olmuştur, incelen ozon tabakası güneşin zararlı ışınlarını daha geçirgen hale gelmiştir. Bu durum canlılar için tehdit oluşturmaktadır. Sanayi devrimiyle birlikte kimya sanayisi de gelişmeye başlamıştır. Çeşitli alanlarda kullanılan herbisit ve pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar gibi ürünler üretilmeye başlanmıştır. Bu kimyasalların atıkları da somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldıran ve insanlarda kanser, hızlı yaşlanma, kalp hastalıkları gibi

zararlı etkileri olan serbest radikallerin oluşumunu arttırmıştır. Sonucunda günümüzün en ciddi sağlık sorunlarını da beraberinde getirmiştir ( Temür, 2006).

Serbest radikallerin neden olduğu protein modifikasyonları, lipid peroksidasyonu ve DNA parçalanmaları beraberinde hücre ölümlerini getirmektedir. Antioksidan savunma sisteminden kaçan %1 kadar reaktif oksijen çeşitleri peroksidatif zararlanmalara dolayısıyla da bazı sistemik bozukluklara ve hızlı yaşlanmaya sebep olmaktadır. Gün içerisinde solunan oksijenin yaklaşık %1-2 kadarının serbest radikale dönüştüğünü düşünürsek 60 kg'lık bir yetişkinin (O<sub>2</sub> 'nin 6.4 L/kg gün tükettiği düşünülürse) yalnızca mitokondriyal etkinliği sonucu 160-320 mmol radikale maruz kalmaktadır (Ekici ve Sağdıç, 2008).

Organizmanın prooksidan ve antioksidan dengesinin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır. Radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücresel bileşenlerde geri dönüşümsüz hasar meydana getirebilir. Başta yaşlanma sürecininin hızlanması, kanser, yaşa bağlı bağışıklık yetersizliği ve hipertansiyon gibi hastalıklara da neden olmaktadır. Son çalışmalar ile neredeyse tüm hastalıklara oksidatif stresin etki ettiği kabul edilmektedir (Çakatay ve Kayalı, 2006). Canlıların sahip olduğu antioksidatif korunma sistemi serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak içindir (Tunalızer ve ark., 2002).

Antioksidanların varlığı serbest radikal varlığı ile başlar. Serbest radikaller kirli havalarda, sigara dumanında, radyasyonda, bitki koruma ilaçlarında, bozulmuş gıdalarda ve normal vücut metabolizmasında (metabolik süreçte) bulunurlar. Vücutta sağlıklı hücrelere saldırıp geri dönüşümü olmayan hasar oluşturular. Saldırının ilk aşamasında yeni bir serbest radikal oluşur. Bu durumda kontrol edilemez zincirleme bir süreç başlamış olur. Hücre membranındaki lipid moleküllerinden birine saldırmasıyla bu molekül farklılaşır. Yağların acıması mekanizması da böyle küçük bir değişimle başlar. Hücrede bulunan yağların değişimi zarın yapısını hasara uğratar, hücre geçirgenliği bozulur. Devam eden hasar yağların parçalanmasına neden olur. Bu da hücre zarının yırtılıp, bileşenlerinin dağılmasına neden olur. Hücre boyutunda gerçekleşen bu olay yağların oksidasyonu veya oksidatif zarar olarak adlandırılır. Doku boyutunda ise damar sertliği ve kalp hastalıklarına sebebiyet verdiği düşünülür (Ak, 2006; Çakatay ve Kayalı, 2006).

### **2.3.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerine Etkileri**

Hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asidi ile birlikte oksijen radikali, lipid hidroperoksitlerini meydana getirmek amacıyla tepkimeye girer. Lipidlerin doymamışlık derecesi, gerçekleşen peroksidasyon şiddeti ile paraleldir. Oksitlenen PUFA' lar yağ asidi radikali oluşturur. Buna oksijenin eklenmesi ile zincir reaksiyonunun taşıyıcısı lipid peroksi radikali oluşur. Bu zincir reaksiyonun E vitamini ve/veya erdostein gibi bir antioksidan varlığıyla komşu PUFA'lara etkisi önlenabilir (Aksoy, 2015).

### **2.3.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri**

Proteinlerin aminoasit kompozisyonu serbest radikal hasar etkisini belirlemektedir. Doymamış bağı olan ve sülfürlü moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi daha yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren protein kompleksleri serbest radikallerin zararlarından kolaylıkla etkilenmektedirler (Nordberg ve Arner, 2001; Netto ve ark., 2002).

Serbest radikaller, yapısal protein fonksiyonları ve enzim aktivitelerini engelleyerek protein oksidasyonu meydana getirmesiyle, protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler oluşur. Oksitlenmiş olan proteinlerin birçoğu, fonksiyonel olarak doğada inaktiftir ve çoğu hızlı bir şekilde uzaklaştırılır. Ancak zamanla birikerek ileri yaşlarda hastalıklara temel oluşturabilir (Devasagayam ve ark., 2004; Sarma ve ark., 2010).

### **2.3.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkileri**

Radyasyon sonucunda oluşan serbest radikaller, DNA'da kromozom değişikliğine neden olabilirler. Bu durum hücrede mutasyon ve hücre ölümlerine bu da kromozomlarda kalıcı değişikliklere neden olur. Hidroksil radikali bazlarla kolayca tepkimeye girer. Membranlardan difüzyonla kolaylıkla geçebilen hidrojen peroksit hücre çekirdeğinde bulunan DNA'yı etkileyerek hücre fonksiyonlarının bozulmasına hatta ölümüne neden olur (Agrawal ve Kale, 2001).

### **2.3.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri**

Serbest radikaller karbonhidrat molekülleri ile kimyasal tepkimeler verirler. Hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına sebep olabilirler. Zincir kırıcı etki hidroksil gibi serbest radikallerin, karbonhidratlar ile tepkimeye girmesi ve

karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomu çıkararak karbon merkezli radikal üretmesi sonucunda oluşmaktadır (Devasagayam ve ark., 2004).

Hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler sıklıkla monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşurlar. Bir okzoaldehit olan glikozilin, DNA ve RNA molekülleri arasında çapraz bağ yapabilme özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterir. Aynı zamanda süperoksit ve hidrojenperoksit in vitro olarak hyaluronik asidi parçaladıkları belirtilmiştir (Aksoy, 2016).

#### **2.4. Serbest Radikallerin Yararları**

Düşük yoğunluklarda bulunduklarında serbest radikallerin yararlı etkileri görülebilmektedir. Bu duruma örnek olarak; fagositoz aracılığıyla enfeksiyonlara karşı savunma, kanser hücrelerinin yakalanıp öldürülmesi ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu gibi savunma fonksiyonları sayılabilir. Bununla birlikte intrasellüler depolardan kalsiyum salınımı, tirozin amino asidini fosfatlama aktivasyonu ve büyüme faktörü sinyallerinin aktivasyonu gibi hücresel sinyalleri aktive etmeleri sayılabilir. Bunların dışında ROS; prostaglandin ve tiroksin gibi moleküllerin biyosentezinde yer alır. Katıldığı bu işlemlerin gelişimini uyarır. Bunlara ek olarak, nöronlar tarafından üretilen NO hücrede önemli bir transmitter maddedir. Bu yüzden nöral plastisite için kilit role sahiptir. Makrofajlar tarafından da NO üretilmektedir. Üretilen bu NO ise immun yanıt oluşturmak için kullanılır. Süperoksit ve  $H_2O_2$  molekülleri ikinci haberciler gibi hareket edebilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

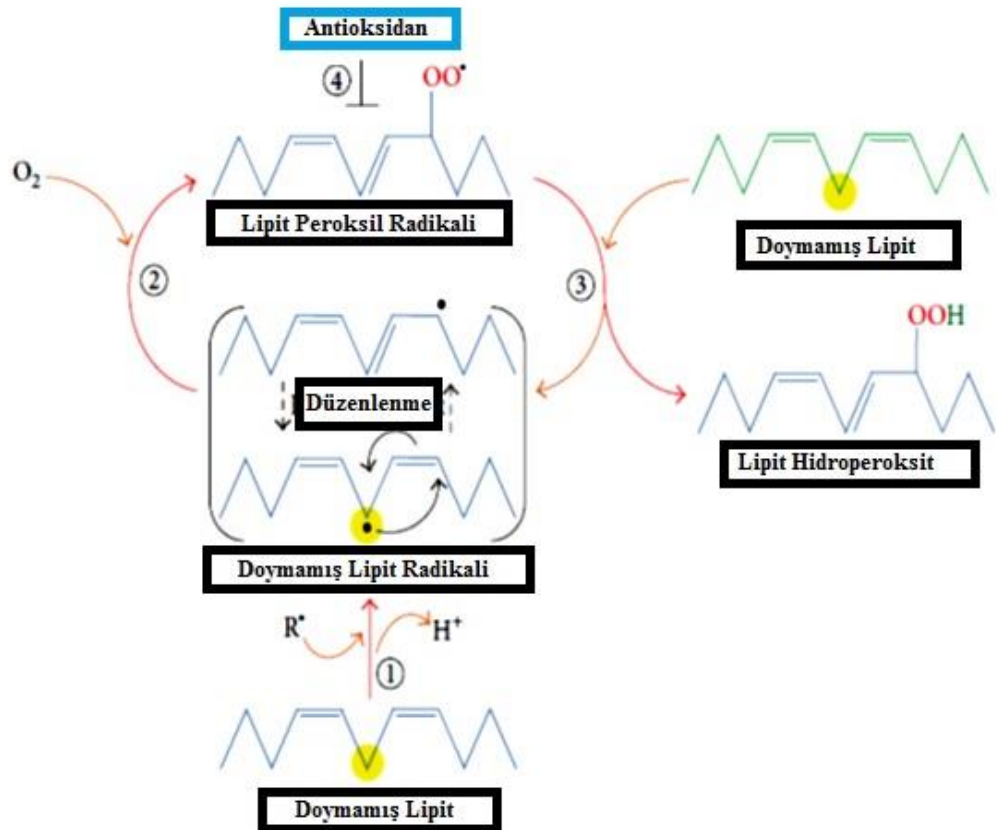
#### **2.5. Lipit Peroksidasyonu**

Membranlar yapısal olarak lipidler ve proteinlerden oluşmaktadır. Serbest radikallerden en çok etkilenen hücresel yapılar membran lipidlerdir. Biyolojik dokularda bulunan doymamış yağ asitleri ile serbest radikallerin tepkimesi lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılma tepkimesine lipit peroksidasyonu denir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu hücre membran geçirgenliğini ve yapısını bozar. Bu durum hücrenin dağılmasına ve hatta ölmesine neden olabilir (Nyska ve Kohen, 2002).

Serbest oksijen radikallerinin hücredeki poliansatüre yağ asitlerinin yan zincirindeki metilenik karbonlardan hidrojen iyonu çıkarması ile lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid peroksi radikalının hemen yakınındaki ansatüre lipid molekülündeki

hidrojen iyonu çıkarılır. Bunun sonucunda lipid hidroperoksit ve yeni bir lipid radikali oluşur. Lipid peroksidasyonu, oluşan iki lipid peroksit radikali ile birleştirilip siklik peroksit oluşumu ile sonlandırılabilir. Buna ek olarak indirgenmiş metal iyonları [demir ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ve bakır ( $\text{Cu}^+$ ) veya okside metal iyonları ( $\text{Fe}^{3+}$  ve  $\text{Cu}^{2+}$ )] ile tepkimeye girerek alkoller, ketonlar, aldehidler ve buna benzer birçok sitotoksik ürünlere dönüştürülmesi ile de sonuçlanabilir. Bunun sonucu oluşan bu radikaller de başka yağ asitlerinden hidrojen atomu koparır. Böylelikle lipid peroksidasyonu zincirini devam ettirebilirler (Polat, 2011).

Mekanizması var olan reaktif türlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olan lipid oksidasyonu mekanizması; serbest radikallerin oluşması (başlama), serbest radikal zincir reaksiyonları (ilerleme) ve radikal olmayan ürünlerin oluşması (sonlanma) olmak üzere üç farklı aşamada gerçekleşir (Schaich, 2005).



**Şekil 3.** Lipit Peroksidasyonu. Başlangıç olarak prooksidanlar karbon merkezli lipid radikali oluşturmak amacıyla alilik hidrojeni koparırlar. Karbon radikali bir konjüge dien meydana getirmek için moleküler tekrardan düzenleme ile stabilize olmaya yatkındırlar (1. Basamak). İlerleme safhasında lipid radikali hızlı bir şekilde oksijen ile tepkiyerek lipid peroksil radikalini meydana getirir (2. Basamak). Meydana gelen bu lipid peroksil radikali farklı bir doymamış yağ

kompleksinden hidrojen kopararak yeni bir lipit radikalının ve lipit hidroperoksinin oluşumuna neden olur (3. Basamak). Sonlanma basamağında antioksidanlar lipit peroksi radikal türlerine hidrojen vererek radikal olmayan ürünlerin meydana gelmesini sağlarlar (4. Basamak) (Ayala ve ark.' dan, 2014).

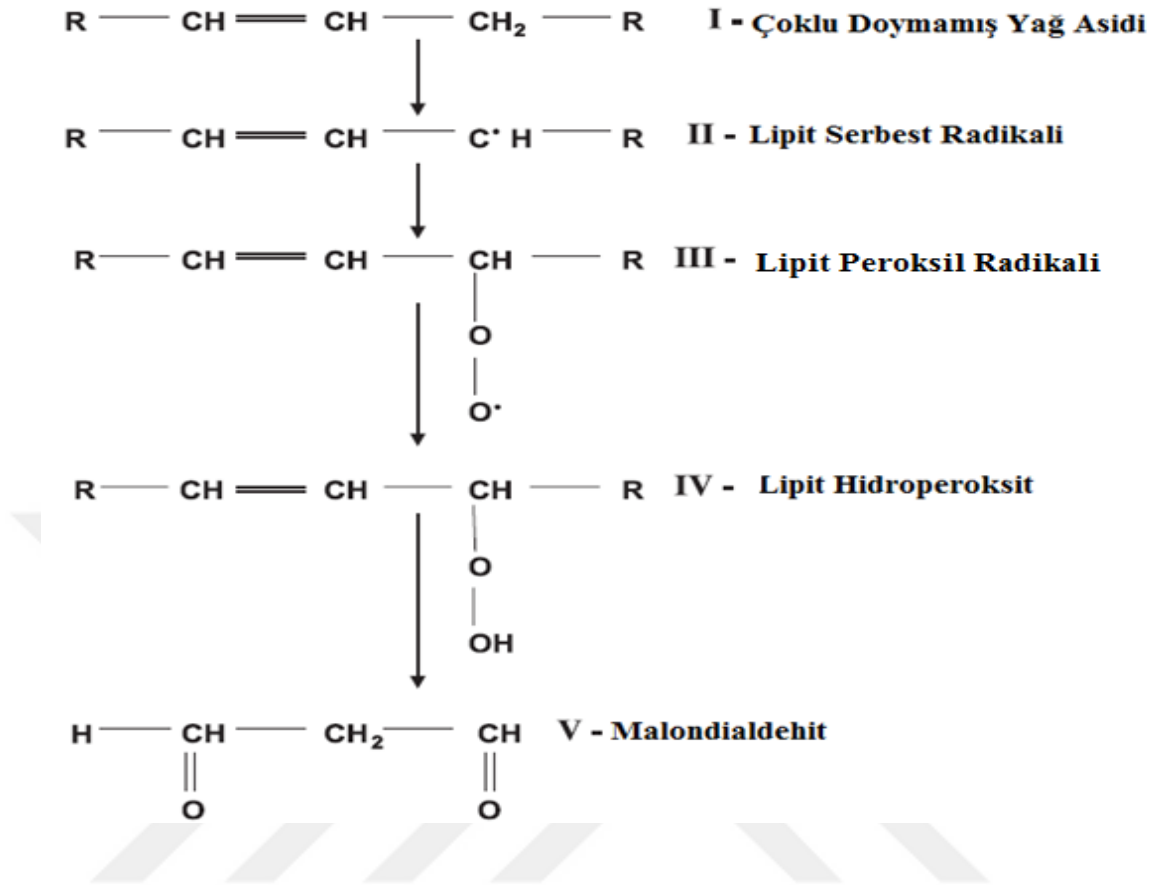
### **2.5.1. Malondialdehit**

Mitokondrial elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiotiklerin metabolizması, doğal uyaranla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biosentik ve biokimyasal yıkım tepkimeleri gibi doğal tepkimeler lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Serbest radikallerin hücre dışındaki etkileri, hücreler arası boşluk ve hücreler arası sıvılarda gözlemlenebilir (Öztürk ve ark., 2003). Hassas yapıdaki membranda çoklu doymamış yağ asitlerinin oksitlenmesiyle malondialdehit (MDA) ortaya çıkar. Oksidatif hasarın sistematik dolaşımında düzeyinin belirlenebilmesinin dolaylı yünden göstergesidir. MDA, oksidatif stresin bir indikatörü olarak kullanılmaktadır (Koca, 2007).

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak ortaya çıkan MDA dokuda zincir tepkimelerinin hızının göstergesinde ve ROS'nin seviyesinin belirlenmesinde kullanılır. MDA'nın plazmada görülmesi enzimatik olmayan oksidatif lipid peroksid parçalanmasının göstergesidir (Yarıktaş ve ark. 2003).

Çoklu doymamış yağ asitlerinde karbon-karbon çift bağı reaktif türlerin hedefidir (I). Bu çift bağı; karbon-hidrojen bağı zayıflatır. Hidrojen atomunun serbest radikaller tarafından kolayca çıkarılmasına neden olur. Serbest radikalın bir hidrojen atomunu koparmasıyla lipit serbest radikali meydana gelir (II.) Lipit serbest radikali bir peroksil radikali meydana getirmek için oksitlenir (III). Peroksil radikali diğer çoklu doymamış yağ asitleriyle tepkimeye girerek elektron koparır ve böylece lipit hidroperoksit ve diğer lipit serbest radikallerinin oluşmasına neden olur (IV). Bu süreç bir zincir reaksiyonu içerisinde devamlı olarak tekrarlanıp, çoğaltılabilir. Lipit hidroperoksit kararsız bir yapıdadır. Bu yüzden parçalanır ve malondialdehit (V) ve 4-hidroksi-2-nonenal gibi ürünler meydana gelir (Grotto ve ark., 2009).

Aşağıdaki şemada MDA oluşum basamakları şematize edilmiştir.



**Şekil 4.** Çoklu doymamış yağ asitlerinden MDA oluşumu (Grotto ve ark.' dan, 2009)

## 2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlılarda sürekli olarak serbest radikal üretilir. Zararlı etkilerini düşürmek için ise pek çok savunma mekanizması gelişmiştir. Savunma mekanizması ürünleri olan antioksidanlar; hücrelerdeki protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önlemek veya geciktirmek görevindedirler (Young ve Woodside, 2001).

Vücudun işlevlerini görebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi için serbest radikaller kullanılmaktadır. Ancak serbest radikallerin yüksek oranda birikimi organizma için tehlike oluşturur. Yararlı etkisinin gözetilmesi için hassas bir kontrol mekanizması vardır. Tüm antioksidanlar organizmada etkilerini başlıca dört farklı şekilde gerçekleştirmektedir:

- 1) Toplayıcı etki
- 2) Bastırıcı etki
- 3) Zincir kırıcı etki
- 4) Onarıcı etki

Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve doğal olmayan (eksojen kaynaklı) antioksidanlar olmak üzere iki ana grupta toplanabilir (Kurt, 2008).

### **2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar**

#### **Süperoksit Dismutaz (SOD)**

Süperoksit radikallerinin canlılarda üretildiği uzun yıllardır bilinmesine rağmen bu radikallerinin temizlenmesi ile ilgili herhangi bir enzimatik etkinlik 1968 yılına kadar bilinmiyordu. 1968 yılında Fridowich ve ark. tarafından, süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizleyen bir enzimin varlığı gösterildi. Bu enzim SOD olarak adlandırıldı (Tümay, 2010).

#### **Glutasyon Peroksidaz (GPx)**

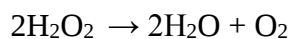
Glutasyon peroksidaz, peroksitlerin redüksiyonunu katalizler. Selenosistein şeklinde bir atom selenyum içeren, tetramer yapıda bir metalloproteindir. GPx, başta karaciğer olmak üzere, eritrositler, kalp, akciğer, böbrek, göz, beyin ve plasenta gibi hayati öneme sahip dokularda bulunmaktadır. Enzimin subsellüler olarak, en çok sitozolde ve mitokondriyal matrikste bulunduğu bilinmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Mitokondrilerde oluşan veya endoplazmik retikulumdan sitoplazmaya salgılanan ya da SOD gibi sitozolik enzimlerle açığa çıkan  $H_2O_2$ , GSH varlığında, GPx ile su molekülüne redüklenmektedir. Buna ek olarak steroid hidroperoksitler, yağ asidi hidroperoksitleri ve lipid peroksi radikalleri gibi diğer birçok organik hidroperoksidi (ROOH'yi) alkollere indirgeyerek hücreleri bu moleküllerin oksidatif hasarından korur (Kumaragrupan ve ark., 2002).



#### **Katalaz (CAT)**

Katalaz karaciğer dokusunda ve eritrositlerde yüksek miktarda beyin, kalp ve iskelet kaslarında düşük miktarlarda bulunmaktadır. Aşağıdaki tepkime katalazın  $H_2O_2$ 'i moleküler  $O_2$ 'ne indirgediğini göstermektedir. SOD aktivitesinin CAT aktivitesi artırmadan yükselmesi  $H_2O_2$  birikerek  $OH^\cdot$  radikallerinin oluşmasına sebep olmaktadır (Garewal, 1997).



## **2.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar**

### **Glutasyon (GSH)**

Birçok hücrede sentezlenen glutasyon hücre sıvısında yoğun olarak bulunan düşük molekül ağırlıklı, non-protein tiyol yapılı bir antioksidandır (Meister ve Anderson, 1983).

Hücredeki glutasyon üç büyük uygulamada kullanılır:

- 1-) Serbest radikal temizleyicisi antioksidan olarak,
- 2-) Detoksifikasyon esnasında GSH-S transferazlar için kofaktör olarak,
- 3-) Glutamini GSH'dan diğer aminoasitlere transfer eden gamaglutamil transpeptidazlar için substrat olarak kullanılır.

Glutasyon, toksik atıklarını uzaklaştırarak indirgenmiş formda hücrelerdeki sülfhidril grubunun devamlılığını sağlayarak hücrenin okside-redüksiyon dengesi için önemlidir (Liebman ve Greenberg, 1988).

### **A Vitamini ve Karotenoidler**

Retinoid sınıfı A vitaminine fonksiyonel olarak benzeyen yağda çözünebilen, sayıları 4000'den fazla olan moleküllerdir (Smith ve Saba, 2005). Bu moleküller üreme, embriyogenez, büyüme, farklılaşma, proliferasyon, apoptoz, görme, kemik oluşumu, metabolizma, hematopoiez ve immünolojik süreçlerde aktif rol almaktadırlar (Sun ve Lotan, 2002).

Bir bitki pigmenti olan  $\beta$ -karoten A vitamininin metabolik olarak öncü maddesidir. Serbest radikallerin zararlı etkisini inhibe eder (Akkuş, 1996).

A vitamini doğada farklı formlarda bulunan hayvansal dokularda depo edilebilen bir retinoidtir. Ayrıca provitamin A karotenoidler ise pek çok bitki tarafından sentezlenir. Bitkilere yeşil, turuncu ve sarı renklerini veren pigmenttir. Et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünlerde uzun zincirli yağ esterleri gibi çeşitli formlardadır. Koyu yeşil-sarı renkte bitkiler, karaciğer, yağlı balıklar gibi besinler A vitamini içerir (Solomons ve ark., 2006). Görme, büyüme, üreme ve embriyo gelişimi üzerine etkilidir. A vitamini stres ve hastalıklara karşı ihtiyaç duyulan düzeyde alınmalıdır (Brezezinska-Slebozinska ve ark., 1994).

Doğal kaynaklardan tanımlanmış olan yaklaşık 600 karotenoid bulunmaktadır (Olson, 1994). Hayvanlar karotenoid sentezleyemezler, bu yüzden besinlerle aldıkları

karotenoidleri modifiye ederek dokularında depolamaktadırlar (Rodriguez-Amaya, 2001).

Doğada çok çeşitli etkileri ile en önemli moleküllerden biri olan karotenoidler, meyve ve sebzelere sarı-kırmızı renkleri verir. Karotenoidler; bitkiler, bazı bakteri, alg ve funguslar tarafından sentezlenirler (Oliver ve Palou, 2000).

### **C Vitamini**

Organizmada pek çok hidroksilasyon tepkimesinde indirgeyici molekül olarak görev alır. Kollojen sentezinde, lizin ve prolinin hidroksilasyonunda görev alır (Padayatty ve ark., 2003).

Memelilerde karaciğerde sentezlenen vitamin C, kuş, kurbağa ve sürüngenlerde böbrekte sentezlenir. Çok çabuk okside olur. Bu sebeple besinlerin pişirme ve saklama aşamasında hasara uğrar (Mert ve ark., 1999).

Kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan ketolakton bir moleküldür. Emilimi ince barsakta gerçekleşir. Vitamin C, en çok taze sebze, meyve ve turunçgillerde bulunur. Plazma konsantrasyonu 0,5-1,5mg/dl'dir. Isıya dayanıksızdır (Akkuş, 1996). Tavsiye edilen günlük alım miktarı ise yaklaşık 70-90 mg'dır (Wu, 2012).

Tüm kimyasal tepkimelerde elektron verici indirgen molekül olarak görev alır. Askorbik asit 6 karbonlu yapısındaki 2. ve 3. karbonları arasındaki çift bağdan 2 elektron vererek oksitlenir. Ancak diğer moleküllerin oksitlenmesini engelleyerek antioksidan özellik gösterir (Padayatty ve ark., 2003). Besinlerde istenmeyen renk, tat ve kokudaki değişiklikleri engellemek amacıyla gıda endüstrisinde sık kullanılır (Zhang, 2009).

Askorbik asitin düşük konsantrasyonlarında proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye girerek hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ) oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürdüğü için oksidan etkisi gösterebilir. Bu yüzden vitamin C serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak ele alınır (Harris, 1996).

### **E Vitamini**

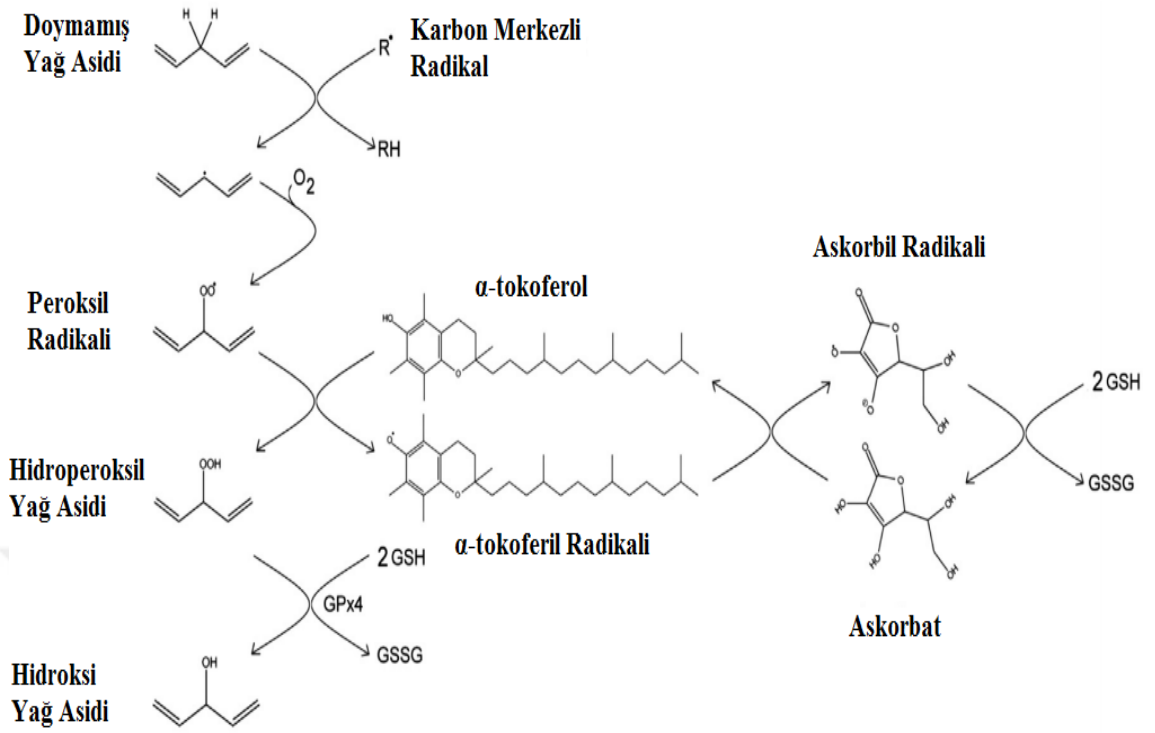
Evans ve Bishop tarafından ratlar üzerine yapılan bir çalışmayla bulunmuştur (McDowell, 2000). Evans ve Bishop farelerin üreme dönemlerinde, kızgınlık, çiftleşme ve gebeliğin tüm aşamalarının normal devam ettiğini ancak fetuslarda erken ölümlerin

oluşturduğunu erken ölümlerin farelerin yemlerine küçük miktarlarda buğday tohumu, kurutulmuş yonca yaprakları veya taze marul takviyesiyle azaldığını tespit etmişlerdir. Başlangıçta “X” faktörü olarak adlandırmışlardır. Daha sonra 1924 ve 1925 yıllarında Sure ve Evans tarafından alfabetik sıraya göre E vitamini olarak adlandırılmıştır. Fareler bu bileşiği aldıklarında üremeleri arttığından Evans bu bileşiği (tokos= doğurmak, phero= taşımak ve bileşiğin bir alkol olması nedeniyle “ol”) tokoferol olarak isimlendirmiştir (Traber, 2007).

İlk defa 1936 yılında, Evans ve Sure tarafından ayrı ayrı izole edilen E vitaminiyle ilişkili gama ( $\gamma$ ) ve delta ( $\delta$ ) tokoferol adlı iki bileşik daha izole edilmiştir (McDowell, 2000).

Reaktif oksijen türlerini ve nitrik oksiti temizleyerek moleküler ve hücrel zararlı etkilerini spesifik enzimler ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek ve onları düzenleyerek yok etmektir (Traber ve Atkinson, 2007; Zingg ve Azzi, 2004).

Yağda çözünen bir antioksidandır. Alfa-tokoferol, geniş bir antioksidan ağı ile birlikte hücrel membranları lipid peroksidasyonundan korumaktadır. Lipid peroksidasyonunun ilerleme safhasında karbon merkezli radikal( $R^\bullet$ ), komşu doymamış yağ asitinden bir alilik hidrojen alır. Moleküler oksijen yağ asidi radikali ile reaksiyona girer. Buna ek olarak peroksil radikalini oluşturur. A-tokoferol lipid peroksil radikallerini lipid hidroperoksitlerine indirger. Selenyum bağımlı GPx-4, GSH’yı harcayarak hidroperoksitleri daha az toksik olan lipid hidroksitlere dönüştürür. Askorbatda  $\alpha$ -tokoferol radikalini indirgeyerek, aktif  $\alpha$ -tokoferolü rejenere eder. Okside olan askorbil radikali de GSH aracılığıyla askorbata dönüşür. Antioksidan ağın sürekliliği, hücrel membranların radikal aracılı yıkımını önleme veya korunmada çok önemlidir (Lebold ve Traber, 2014).



Şekil 5. Lipit peroksidasyonu, E vitamini ve antioksidan ağ (Lebold ve Traber' den, 2014)

Yetersiz E vitamini alımı sonrası  $\alpha$ -Tokoferol, periferik dokularda tükenmiş olsa bile, beyindeki miktar değişmemektedir (Lebold ve Traber, 2014). Eksikliği sık görülmesine de aşırı kötü beslenme, vitamin absorpsiyon bozukluğunda kandaki düzeyi azalmaktadır (Food and Nutrition Board Institute of Medicine, 2000; Lebold ve Traber, 2014). E vitamini eksikliği hafif bir duyuşal nöropati ile başlamış olsa da ileri safhaları periferik nöropatiye, spino serebellar ataksiye ve ölüme kadar gidebilmektedir (Lebold ve Traber, 2014).

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde yürütüldü. Tez çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 14.01.2019 tarihli 68489742-604-E.2002 nolu yazı ile onaylandı.

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney Hayvanları

Yaptığımız çalışmanın materyalini 3-4 aylık, 250-300 gr canlı ağırlığa sahip 40 Wistar–Albino ırkı dişi rat oluşturdu. Ratların temini ve bakımı OMÜ DEHAM tarafından sağlandı.

##### 3.1.2. Deney Hayvanlarının Gruplara Ayrılması ve Yapılan Uygulamalar

Her grupta 8 rat olacak şekilde. 5 gruba ayrılan ratlar tel kafeslerde, 12 saat gündüz 12 saat gece periyotlarında,  $21\pm3^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta ve  $\%50\pm5$  nemde tutuldular.

Çalışma süresi 14 gün, ratlara uygulanacak olan fitalat dozları ise  $2.5\ \mu\text{l/g.c.a}$  mısır yağı içerisinde en düşük doz  $20\ \text{mg/kg/gün}$ , orta doz  $100\ \text{mg/kg/gün}$  ve yüksek doz  $500\ \text{mg/kg/gün}$  olarak belirlendi (Göktekin, 2016). Çalışma süresi boyunca ratların önünde devamlı yiyecek ve içme suyu bulunduruldu.

Ratların gruplara bölünmesi;

- 1. Grup: Kontrol Grubu:** Bu gruba herhangi bir ilave uygulama yapılmadı
- 2. Grup: Mısır Yağı Uygulanan Grup:** Bu gruptaki ratlara  $2.5\ \mu\text{l/g}$  canlı ağırlık olacak şekilde gastrik gavajla mısır yağı verildi.
- 3. Grup: 20 mg Fitalat Grubu:** Di (2-etilhekzil) fitalat bu gruptaki ratlara  $20\ \text{mg/kg/gün}$  dozunda (düşük doz)  $2.5\ \mu\text{l/g.c.a}$  mısır yağı içerisinde gastrik gavaj yöntemiyle verildi.
- 4. Grup: 100 mg Fitalat Grubu:** Di (2-etilhekzil) fitalat bu gruptaki ratlara  $100\ \text{mg/kg/gün}$  dozunda  $2.5\ \mu\text{l/g.c.a}$  mısır yağı içerisinde gastrik gavaj yöntemiyle verildi.
- 5. Grup: 500 mg Fitalat Grubu:** Di (2-etilhekzil) fitalat bu gruptaki ratlara  $500\ \text{mg/kg/gün}$  dozunda  $2.5\ \mu\text{l/g.c.a}$  mısır yağı içerisinde gastrik gavaj yöntemiyle verildi.

##### 3.1.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Analizler İçin Hazırlanması

14 gün süreli denemenin sonunda, etik kurallara uygun olarak, intraperitoneal yolla verilen anestezi  $[\%2$ 'lik Basilazin ( $2-5\ \text{mg/kg c.a.}$ ) ve  $\%10$ 'luk Ketazol ( $0,8-1,3\ \text{ml/kg c.a.}$ )] ile ratlar uyutuldu. Ratların kalplerinden EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinin  $3000\ \text{rpm/15 dak.}$  santrifüjleri yapılarak plazmaları çıkartıldı. Tüm analizler plazmalar dondurulmadan taze olarak çalışıldı.

### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Malondialdehit Tayini

Çözeltilerin hazırlanması;

1. Fosfat Tamponu: 8,1 g NaCl, 0,194 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 2,302 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, bir miktar distile suda çözündürüldü. Hacmi distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. pH'sı 7,4'e ayarlandı.
2. 0,1 M EDTA Çözeltisi: 37,224 g EDTA-Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O, bir miktar distile su ile çözündürüldü. Hacmi distile su ile 1 lt'ye tamamlandı.
3. %0,88'lik BHT Çözeltisi: 0,220 g BHT, bir miktar mutlak alkol ile çözündürüldü. Hacmi 25 ml'ye tamamlandı.
4. 0,05 N NaOH Çözeltisi: 2 g NaOH, bir miktar distile su ile çözündürüldü. Hacmi distile su ile 1 lt'ye tamamlandı.
5. %30'luk TCA Çözeltisi: 30 g TCA tartıldı, bir miktar distile su ile çözündürüldü. Hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
6. %1'lik TBA Çözeltisi: 1 g TBA tartıldı, bir miktar 0,05 N NaOH ile çözündürüldü. Hacmi 0,05 N NaOH ile 100 ml'ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı;

MDA tayini Sushil ve ark., (1989)'nın metoduna göre yapıldı. Deney tüplerine 200 µl'lik plazma örnekleri alındı, üzerine 800 µl fosfat tamponu, 25 µl BHT çözeltisi ve 500 µl %30'luk TCA çözeltisinden eklendi, tüpler iyice karıştırıldı. 2 saat buz içerisinde bekletildi, sonrasında tüpler 15 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüplerin üst kısmından 1'er ml süpernatant alındı, başka tüplere pipetlendi. Üzerine 75 µl 0,1 M EDTA-Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O ve 250 µl %1'lik TBA çözeltisi eklendi, tüpler karıştırıldı. Tüpler 15 dakika 90 °C'lik sıcak su banyosunda bekletildi. Oda sıcaklığına getirilen örneklerin 532 nm'de spektrofotometrede (Thermo-Scientific Genesys 10S UV-Vis) absorbansları okundu. Blank olarak; 200 µl süpernatant yerine 200 µl distile su kullanıldı ve aynı işlemler uygulandı.

Hesaplamalar;

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/g doku}) = (\text{OD}_{532} / \epsilon \cdot b) \times F$$

$$\text{OD}_{532} = 532 \text{ nm'deki absorbans}$$

F: Seyreltme Faktörü

$$\epsilon: \text{Ekstinksiyon Katsayısı} = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$b: \text{Işık yolu} = 1 \text{ cm}$$

### 3.2.2. Redükte Glutasyon (GSH) Tayini

Ayıracılar;

1. Çöktürücü Çözelti: 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA, 30 g NaCl 100 ml'ye distile suda eritilerek tamamlandı.
2. Fosfat çözeltisi: 0.3 M disodyum fosfat distile su ile hazırlandı.
3. DTNB (Ellman's ayıracı): 40 mg DTNB, % 1 sodyum sitrat, 100 ml'ye distile suyla tamamlandı.

Deneyin yapılışı;

EDTA'lı tüm kandan 200 µl alındı. Üzerine 1.8 ml distile su eklendi ve hemoliz yapıldı. Çöktürücü çözeltinin 3 ml'si ile hemolizat karıştırıldı. Beş dakika sonra karışım süzgeç kağıdından süzüldü. Örnek numuneden elde edilen süpernatantın 2 ml'si başka tüpe aktarıldı. Üzerine 8 ml fosfat çözeltisi, 1 ml DTNB ayıracı eklendi. Blank için 2 ml çöktürücü çözelti (3 kısım çöktürücü çözelti+ 2 kısım distile su), 8 ml fosfat çözeltisi ve 1 ml DTNB ayıracı hazırlandı. Standart için, 40 mg GSH çözeltisi taze olarak hazırlandı. Spektrofotometrik olarak 412 nm'de blanka karşı standart numunelerin optik dansiteleri okundu. Sonuçlar mg/dl olarak hesaplandı (Beutler ve ark., 1963).

### 3.2.3. Vitamin C Tayini

Kullanılan çözeltiler;

1. %10'luk TCA: 10 g TCA tartıldı. Hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
2. 2,4-dinitrofenilhidrazin ayıracı (DNPH): 3 g DNPH, 4 g tiyoüre, 50 mg bakır sülfat tartıldı. Hacmi 9 mol/L'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile 100 ml'ye tamamlandı.
3. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (9 mol/L): %98 saflıktaki H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'den 48,91 ml bir miktar distile suyun üzerine konuldu, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
4. %85'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: %98 saflıktaki H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'den 216 ml alınarak bir miktar distile suyun üzerine konuldu, distile su ile 250 ml'ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı;

C vitamini tayini Omaye ve ark. (1979)'nın bildirdiği metoda göre yapıldı. 1 ml plazma alındı üzerine 1 ml %10'luk TCA çözeltisi eklendi. İyice karıştırıldı, 4000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi, tüplerden 1'er ml süpernatant alındı. Süpernatantların üzerine 0,5 ml DNPH ayıracı eklendi ve 37°C'de 3 saat boyunca inkübe

edildi. İnkübasyon sonrası tüplere buzda bekletilmiş %85'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'den 2,5 ml konuldu. İyice karıştırılan tüpler oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi ve absorbanları 520 nm'de okundu. Standartı 10 µg/ml'lik saf askorbik asit ile hazırlandı (George, 2003).

Vitamin C ( mg/100g doku) : (OD numune/OD standart ) x F

### 3.2.4. Seruloplazmin Tayini

Seruloplazmin tayini modifiye Ravin metoduna göre yapıldı. Örnekler olan aktivite kaybına karşı aynı gün çalışıldı (Rawin, 1986).

Kullanılan çözeltiler;

1. 0.34 M'lık asetat tamponu (pH 5.6): 1.34 ml glasiyel asetik asit ve 26.44 g sodyum asetat distile suda eritilip, distile su ile 1 lt' ye tamamlandı.

2. 7.95 M'lık fenilendiamin substrat çözeltisi: 36 mg fenilendiamin dihidroklorür, 25 ml asetat tamponunda eritildi. 0.1 N NaOH ile pH 5.6'ya ayarlandı.

3. 460 mM'lık sodyum azid eriyiği: 3 g sodyum azid 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

| Deney                              | Deney Körü         |
|------------------------------------|--------------------|
| 5 ml fenilendiamin                 | 5 ml fenilendiamin |
| -----                              | 1 ml sodyum azid   |
| 0.1 ml serum                       | 0.1 ml serum       |
| Karıştırılır                       |                    |
| 37 OC de 15 dk bekletilir          |                    |
| 1 ml sodyum azid                   | -----              |
| 15 dk bekletilir                   |                    |
| 546 nm de optik dansiteleri okunur |                    |

Hesaplanması

Seruloplazmin (%mg) : (Deney-Deney Körü) x 237

### 3.2.5. Total Protein Tayini

Kullanılan çözeltiler;

1. 2,5 N Sodyum Hidroksit: 50 g NaOH bir miktar distile su ile çözündürüldü. 1 lt'ye tamamlandı.
2. Sodyum Sülfat: 20 g sodyum sülfat bir miktar distile suda çözündürüldü. Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
3. Biüret Ayracı: 2,5 g bakır sülfat ve 10 g Na-K tartarat bir miktar distile suda eritildi. 2,5 N NaOH'dan 350 ml eklendi. Distile su ile 1 litreye tamamlandı.
4. Sığır Serum Albumin (BSA) Standardı : 6g/100 ml olacak şekilde hazırlandı.

Deneyin yapılışı;

Aşağıdaki gösterilen işlem sırasına göre yapıldı (Tiftik, 1996).

|                                  | Blank | Standart | Numune |
|----------------------------------|-------|----------|--------|
| Süpernatant                      | -     | -        | 50µl   |
| BSA standardı                    | -     | 50µl     | -      |
| Distile Su                       | 50µl  | -        | -      |
| NaSO <sub>4</sub>                | 1 ml  | 1 ml     | 1 ml   |
| Karıştırıldı                     |       |          |        |
| Biüret Ayracı                    | 1 ml  | 1 ml     | 1ml    |
| Karıştırıldı, 5 dakika beklendi. |       |          |        |
| 505 nm'de absorpsanlar okundu.   |       |          |        |

Total protein aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

Total protein (% g) :  $(OD_{Numune} \times Standartın\ Konsantrasyonu) / (OD_{standart}) \times F$   
(seyreltme faktörü)

### 3.3. İstatiksel Analizler

Deneme gruplarında MDA, GSH, seruloplazmin, total protein ve vitamin C ortalamalarındaki farklılıkların analizi için tek yönlü varyans analizi, gruplar arasındaki farklılığın analizi için Duncan çoklu karşılaştırma testleri yapıldı (John, 1971).

#### 4. BULGULAR

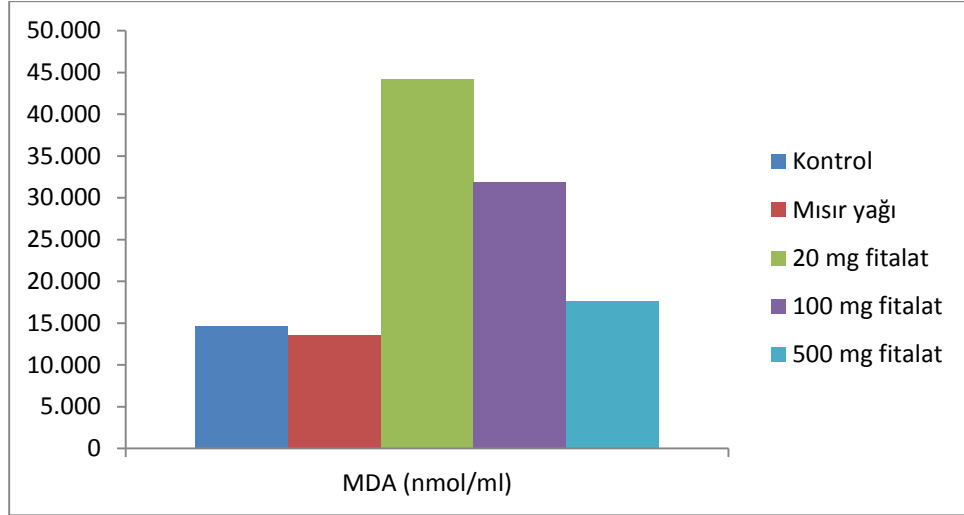
Kontrol grubu, mısır yağı uygulanan grup ve deneme grupları plazma malondialdehit, glutatyon, seruloplazmin, vitamin C ve total protein düzeyleri Tablo 10’ da sunulmuştur.

**Tablo 10.** Kontrol grubu, mısır yağı uygulanan grup ve deneme grupları plazma malondialdehit, glutatyon, sruloplazmin, vitamin C ve total protein düzeyleri

| Parametreler       | N | Kontrol grubu   | n | Mısır yağı uygulanan grup | n | Gruplar             |   |                      |   |                      |
|--------------------|---|-----------------|---|---------------------------|---|---------------------|---|----------------------|---|----------------------|
|                    |   |                 |   |                           |   | 20 mg fitalat grubu | n | 100 mg fitalat grubu | n | 500 mg fitalat grubu |
| MDA (nmol/ml)      | 8 | 14,594±7,732    | 8 | 13,574±3,751              | 6 | 44,243±19,261       | 8 | 31,936±17,713        | 7 | 17,643±5,985         |
| GSH (mg/dl)        | 8 | 135,101±19,231b | 8 | 139,393±4,325b            | 8 | 121,211±13,437ab    | 8 | 92,347±3,777a        | 7 | 104,501±11,845ab     |
| Seruloplazmn (%mg) | 8 | 17,126±4,477    | 8 | 21,744±2,361              | 7 | 21,074±2,579        | 8 | 23,937±5,220         | 7 | 21,770±3,198         |
| Vitamin C (mg/dl)  | 8 | 27,977±11,939   | 8 | 9,730±0,456               | 6 | 15,416±2,043        | 8 | 10,790±1,449         | 7 | 16,112±3,023         |
| Total Protein (%g) | 8 | 2,426±0,680     | 8 | 1,810±0,059               | 7 | 1,921±0,063         | 8 | 1,903±0,058          | 7 | 1,865±0,084          |

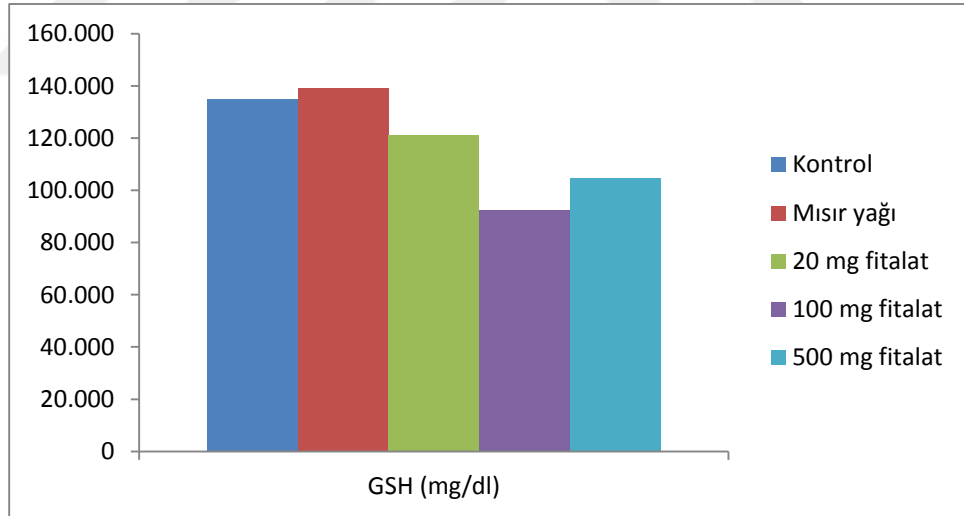
a,b; Aynı satırdaki aynı özellik için farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir (P<0,05)

Kontrol grubuna kıyasla mısır yağı uygulanan grupta malondialdehit düzeylerinde hesaplanan azalmalarda istatistik bir anlam gözlenmedi. 20 mg, 100 mg ve 200 mg fitalat uygulanan gruplarda MDA miktarlarında hissedilir düzeyde artışlar saptandı, bu artışlar istatistik olarak bir önem arzetmedi. Mısır yağı uygulanan gruba göre fitalat uygulama gruplarında MDA düzeylerinde benzer şekilde yükselmeler gözlemlendi. Yapılan analizlerde MDA düzeylerinde en fazla 20 mg fitalat grubunda artış saptandı (Şekil 6).



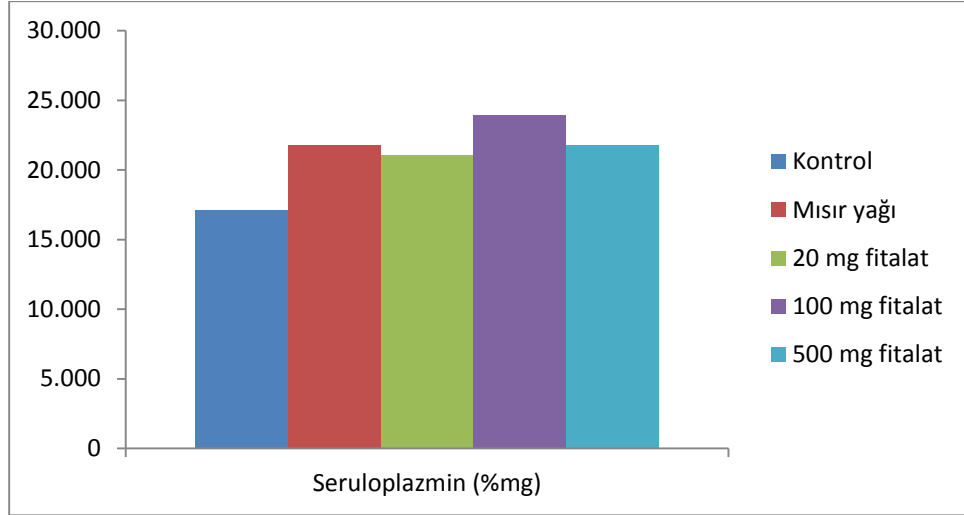
**Şekil 6.** Kontrol grubu, mısır yağı uygulanan grup ve deneme grupları plazma malondialdehit düzeyleri

GSH düzeylerine bakıldığında, kontrol grubu verilerine kıyasla karşılaştırıldığında deneme gruplarında hesaplanan azalmalar istatistik anlamda bir önem ifade etti ( $p < 0,05$ ). Yağ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında da aradaki farklar anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). GSH düzeylerinde gözlenen en fazla düşüş 100 mg fitalat grubunda saptandı (Şekil 7).



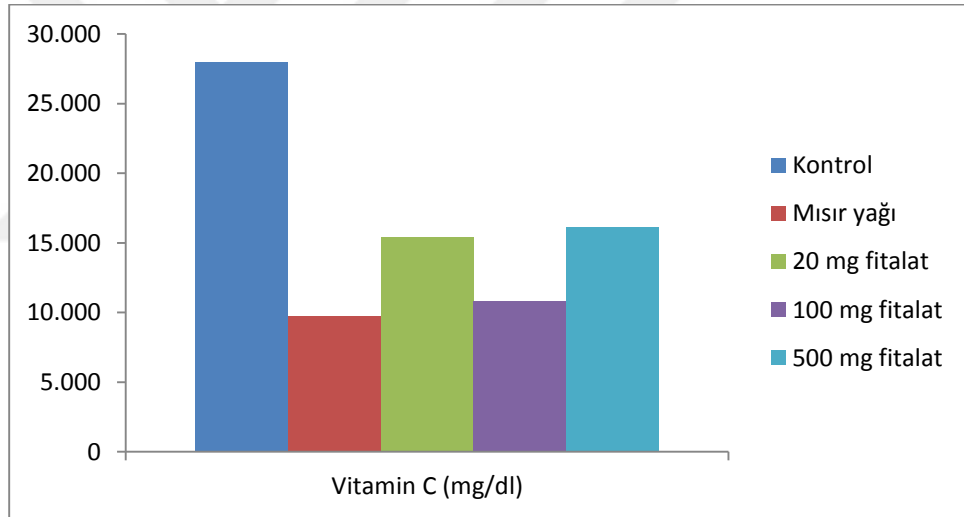
**Şekil 7.** Kontrol grubu, mısır yağı uygulanan grup ve deneme grupları plazma glutatyon düzeyleri

Kontrol gruplarına kıyasla seruloplazmin ölçümlerinde yükselmeler gözlemlendi. Bu yükselmeler en fazla 100 mg fitalat grubunda hesaplandı. Mısır yağı kontrol grubu verileriyle deneme grubu verileri karşılaştırıldığında da benzer şekilde deneme gruplarında artışlar gözlemlendi, bu artışlar istatistik anlamda bir önem ifade etmedi (Şekil 8).



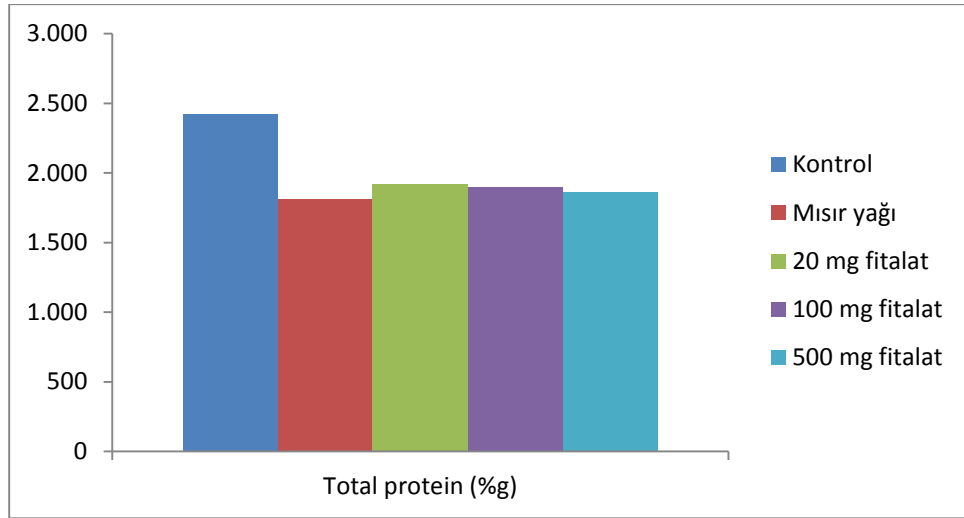
**Şekil 8.** Kontrol grubu, mısır yağı uygulanan grup ve deneme grupları plazma seruloplazmin düzeyleri

Vitamin C düzeylerinde yapılan hesaplamalarda kontrol grubu değerlerine göre tüm fitalat gruplarındaki ölçülen değerlerde azalmalar gözlemlendi, en fazla azalma 100 mg fitalat grubunda gözlemlendi, bu azalmalar istatistik açıdan bir anlam ifade etmedi (Şekil 9).

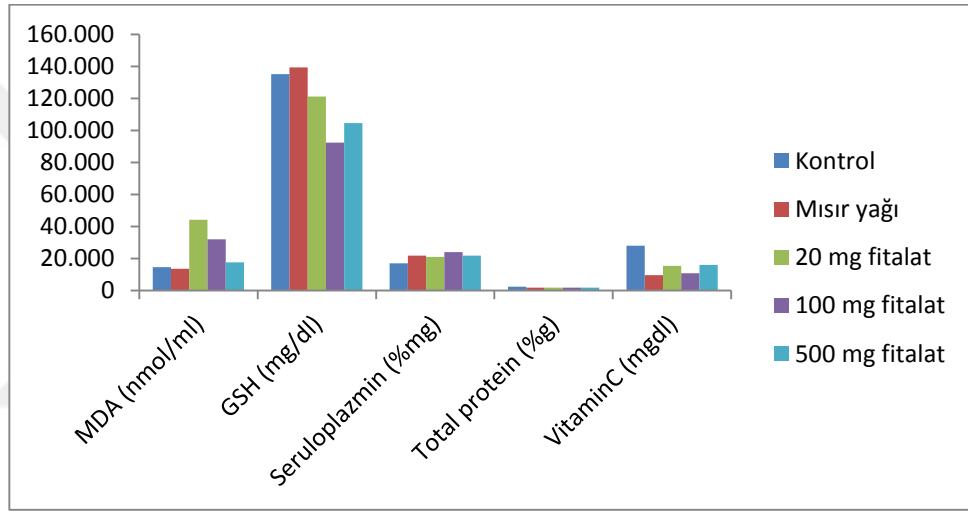


**Şekil 9.** Kontrol grubu, mısır yağı uygulanan grup ve deneme grupları plazma Vitamin C düzeyleri

Kontrol grubu total protein düzeyleri ile deneme grupları total protein düzeyleri karşılaştırıldığında, deneme gruplarının tümünde azalmalar saptandı, en yüksek düşüş 500 mg fitalat grubunda gözlemlendi, aradaki bu farklar istatistik olarak bir anlama göstermedi (Şekil 10).



Şekil 10. Kontrol grubu, mısır yağı uygulanan grup ve deneme grupları plazma total protein düzeyleri



Şekil 11. Kontrol grubu, mısır yağı grubu ve deneme grupları plazma malondialdehit, glutatyon, seruloplazmin, vitamin C ve total protein düzeyleri

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fitalatlar günümüzde polivinilklorür (PVC), poliviniliden klorür ve polivinil asetat gibi plastiklerin üretiminde kullanılan en yaygın organik yumuşatıcı bileşikler arasındadır. Piyasada bulunan otuz farklı fitalattan en yaygın kullanılanı di (2-etilheksil) fitalattır, tüketimin yaklaşık % 51'ini oluşturur. Kullanılan plastikleştirici, plastik bileşenden temas ettiği taşıyıcıya geçebilir. Bu bileşiklerin günlük kullanılan malzemelerin çeşitli yüzeylerinde bulunması nedeniyle, havanın ve gıda ürünlerinin içeri girme olasılığı oldukça yüksektir. Fitalik asit esterleri hem plastik üretilirken hem de kullanıldıklarında ve depolandıklarında çevreye ulaşırlar. Fitalatlar, endokrin bezlerinin çalışmasını bozan ve memelilerin üreme sistemi üzerinde toksik bir etkiye sahip olan endokrin bozucu grubuna aittir (Kida ve ark., 2020; Xu ve ark., 2019).

Endokrin bozucular, endokrin sisteme müdahale eden ve olumsuz gelişimsel, üreme, nörolojik ve immün etkiler üreten kimyasallar olarak tanımlanmaktadır (Monneret, 2017). Kimi çalışmalar, bazı fitalatların steroidojenezi bozabileceğini göstermiştir (Martinez-Arguelles, 2013; Zoeller, 2012 ).

Fitalat esterleri veya fitalatlar, çoğunlukla yiyecek kaplarında, çocuk oyuncaklarında, tıbbi ürünlerde, kozmetik ürünlerde, jelleştirici ajanlarda, dağıtıcılarda, yapıştırıcılarda, yağlayıcılarda, emülsifiye edici ajanlarda ve ayrıca birçok tüketim malında bulunan bir grup endüstriyel kimyasaldır. Bu nedenle, her yerde çevresel kirlenici olarak kabul edilir, ürünlerin yutulması veya solunması yoluyla fitalatlara maruz kalınabilir (Zarean ve ark., 2016).

DEHP, PVC'ye kovalent olarak bağlanmadığından, kronik insan maruziyetini indükleyen plastiklerden salınır (Koch, 2006). İnsan maruziyeti yaşam boyunca her yerde, özellikle oral yoldan, aynı zamanda inhalasyon ve dermal temas yoluyla her yerde bulunur (Johns, 2015). Bir kere alındığında, DEHP farklı bileşiklerde metabolize edilir; ana metabolitlerinden biri, mono (2-etilheksil) fitalat (MEHP) 'tır (Kessler, 2012). Bazı çalışmalarda DEHP'e maruz kalmanın kısırlık, erken puberte ve obezite gibi birçok sağlık sorunu ile ilişkilendirilebileceği bildirilmiştir (Kim ve ark., 2016; Rozati ve ark., 2002; Wang ve ark., 2016; Wolff ve ark., 2010). Bir grup kadında gözlenen en yüksek MEHP konsantrasyonlarının meme kanseri mortalitesiyle ilişkili olduğu literatürde gösterilmiştir (Paradave ark., 2018). Bununla birlikte, DEHP ve MEHP'nin meme bezi gelişimi ve kanserojenliği üzerindeki etkileri halen yeterince anlaşılamamıştır (Crobeddu ve ark., 2019). Hayvan çalışmaları, fitalat maruziyetinin üreme fizyolojisini ve östrojen duyarlı hedef dokuların gelişimini olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir

(Kay ve ark., 2013). Nitekim fetalatların plasenta bariyerini geçerek hamile kadınlarda doğrudan veya dolaylı olarak fetal büyüme ve gelişmeyi etkileyebileceği literatürde bildirilmiştir (Liu ve ark., 2014). Ayrıca, daha fazla sayıda yapılan epidemiyolojik çalışma, insanların fetalatlara maruz kalmasının birçok olumsuz etki yaratabileceğini göstermiştir. Bu olumsuz etkiler, bahsedilenlerle sınırlı olmamak üzere, çocuklarda artan solunum ve alerjik şikayetler (Buckley, 2018) ve ileri yaşlarda akciğer fonksiyonlarında azalma ve depresyon (Nam ve ark., 2018) erkeklerde karaciğer fonksiyonlarında azalma riski ve yine erkeklerde kardiyovasküler metabolizma (Milosevic ve ark., 2018) bozuklukları gibi etkiler olarak sayılabilir. Ayrıca DEHP veya polivinil klorür içeren ürünlerde mevcut olan kimyasallara maruz kalmanın pankreatik (Selenskas ve ark., 1995), testiküler (Hardell ve ark., 1997), solunum yolu (Hagmar ve ark., 1990) ve meme kanserleri (Carrillo ve ark., 2010), multipl miyelom (Heineman ve ark., 1992) ve pediatrik hepatoblastom (Reynolds ve ark., 2004) ile olası ilişkilerini gösteren çalışmalar da literatürde mevcuttur. Hayvan çalışmalarında DEHP'in erkek ve dişi farelerde ve sıçanlarda karaciğer kanserine neden olduğunu kesin olarak gösterilmiştir (David ve ark., 2000). Sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada, Leydig hücre tümörlerinin görülme sıklığı artmış ve erken başlangıçlı dozlarla ilişkili bulunmuştur (Voss ve ark., 2005). Son yıllarda, hayvan modellerinde üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle DEHP'nin insan sağlığı üzerindeki etkisi konusunda artan bir endişe vardır. Fitalatlar, özellikle DEHP, gebelikte azalmaya, spontan düşüklerde ve konjenital malformasyonlarda artışa neden olmaktadır (Swan ve Davis, 2003).

Tüm biyolojik sistemler redoks dengesinde bulunur, oksidatif dengeyi sağlar ve yaşam için uygun koşulları sağlamak için reaksiyonları azaltır. Redoks homeostazındaki bozulmalara, aşırı üretim veya hücrel indirgeme kabiliyetinin kaybı nedeniyle oksitleyici moleküllerin birikmesi neden olur. Her iki durumda, biriken oksitleyici maddeler, DNA, protein ve lipitleri oksitleyebilir, böylece yapılarını, etkinliklerini ve fiziksel özelliklerini değiştirebilirler. Bu tür yaygın oksidatif hasarın potansiyel ciddiyeti göz önüne alındığında, redoks dengesinin bozulması, potansiyel olarak hastalığa veya ölüme neden olan biyolojik homeostazın ciddi şekilde bozulmasına neden olabilir. Reaktif oksijen türleri (ROS) hücrelerdeki en yaygın oksidanlardan bazılarıdır. ROS, moleküler oksijenin süperoksit ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), lipit peroksitlere (ROOH) veya karşılık gelen hidroksil (HO) ve peroksil radikallerine (ROO) kısmi indirgenmesiyle oluşur. Büyüyen bir çalışma yapısı, lipid peroksitleri,

iltihaplanma, kanser, nörodejeneratif hastalık, ayrıca oküler ve böbrek dejenerasyonu dahil olmak üzere birçok patolojik durumun kilit araçları olarak içerir (Turini ve Dubois, 2002; Ricciotti ve Gerald, 2011).

Oksidatif stres, oksidanlar lehine oksidan ve antioksidan türler arasında bir dengesizlik olarak tanımlanmaktadır (Sies, 2015). Antioksidan moleküllerin azalması veya inaktivasyonu, reaktif oksijen türlerinin ve diğer oksidan moleküllerin artmasının yanı sıra otoksidasyon yapabilen endojen metabolitlerin artması sonucu ortaya çıkabilir (Lushchak, 2014). Oksitleyici türler arasında, ROS ve Reaktif Azot Türleri (RNS) (örneğin, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikal, nitrik oksit) ağırlıklı olarak moleküler oksijen ve azottan mitokondrilerde üretilir (Turrens, 2003). Diğer ROS kaynakları endoplazmik retikulum ve nükleer veya plazmatik zarların yanı sıra oksidaz enzimleridir (Lushchak, 2014). Genel olarak, oksidatif stres kanser (Gupta ve ark., 2014), solunum hastalıkları (Mishra ve ark., 2014) ve nörodejenerasyon (Dasuri ve ark., 2013) gibi kronik hastalıkların çoğunda rol oynar.

Oksidatif stres, proteinler, DNA veya lipidler gibi biyomoleküllerin oksidasyonuna neden olur. İkincisi son derece önemlidir, çünkü lipit peroksidasyonu, hücrel hasar ve yeni oksitleyici moleküller (Ayala ve ark., 2014) membran lipidlerini ve dolaşımdaki lipidleri ve ayrıca hücrel fonksiyonları değiştirir (Yin ve ark., 2011). Lipit peroksidasyon işlemi, üretilen radikallerin reseptörlerin yanı sıra membranların yapısını ve fonksiyonunu değiştirdiği 3 fazlı bir zincir reaksiyonundan (başlatma, çoğaltma, sonlandırma) oluşur (Zielinski ve Pratt, 2017). Lipid peroksitleri toksik etkilerini iki genel mekanizma ile uygularlar. Lipitler, hücrel membranların bütünlüğünün korunmasından sorumlu olduklarından, lipitlerin geniş peroksidasyonu, lipit membranların montajını, bileşimini, yapısını ve dinamiklerini değiştirir. Yüksek oranda reaktif bileşikler olarak, lipid peroksitleri ayrıca yeni nesil ROS'ları yayabilir veya DNA ve proteinleri çapraz bağlayabilen reaktif bileşiklere dönüşebilir. Son olarak, Lipid peroksitleri iki genel sınıfa ayrılabilir: lipit endoperoksitleri ve lipit hidroperoksitleri. Lipid endoperoksitler, prostaglandinlerin oluşumunda anahtar ara ürünlerdir ve inflamasyon ve hastalıktaki önemleri yoğun olarak gözden geçirilmiştir. Daha yakın zamanlarda, lipid hidroperoksitlerin ayrıca hücrel hastalık ve ölümün kilit araçları olarak kabul edilmiştir (Turini ve Dubois, 2002; Ricciotti ve Gerald, 2011).

Oksidatif stres sırasında artan reaktif oksijen türlerinin üretimi, özellikle PUFA'lar içeren fosfolipidleri etkileyen, lipit peroksidasyonu adı verilen bozulma adımlarının zincir reaksiyonunu başlatır. Bu, nihayetinde malondialdehit (MDA) veya

4-hidroksinonenal (4-HNE) (Gutteridge, 1995) gibi sekonder ürünlere ayrışabilen lipid peroksitlerin oluşumuyla sonuçlanır. MDA yaygın olarak biyolojik materyallerde oksidatif stresin bir ölçüsü olarak kullanılır ve DNA, lipitler veya proteinler gibi diğer biyomoleküllere kovalent olarak bağlanabilen reaktif bir aldehittir (Weismann ve Binder, 2012). Geliştirilmiş lipit peroksidasyon, kardiyovasküler, pulmoner, hepatik, retinal ve nörodejeneratif hastalıklarda lipit peroksidasyon son ürünlerinin tespiti ile kanıtlandığı gibi, enflamatuvar bir komponent ile birçok patolojiye eşlik eder ( Haberland ve ark., 1988). Birçok hastalık patogenezinde yer alan MDA, mutajenik, kanserojen ve sitotoksik olarak kabul edilir (Asgarabad ve Safiri, 2018; Chen ve ark., 2011; Mendes ve ark., 2009; Yonny ve ark., 2016).

Çalışmamızda yapılan analizlerde MDA düzeyleri kontrol grubuna kıyasla karşılaştırıldığında fitalat gruplarında artışlar saptandı. Bu artışların en fazlasının 20 mg fitalat grubunda olduğu gözlemlendi ( $44.243 \pm 19,261$  nmol/ml). Kontrol ve mısır yağı kontrol grubuna göre fitalat gruplarında hissedilir derecede artışlar olmasına rağmen istatistik açıdan bir anlam saptanmadı. Kontrol grubuna göre deneme gruplarında önemli miktarda artmış olan MDA düzeyleri, daha yüksek oranda oksidatif metabolik aktivite ve oksidasyona maruz kalmış membran çoklu doymamış yağ asitleri konsantrasyonuna bağlı olabilir. Lipit peroksidasyonuna maruz kalan grupta artmış olan MDA düzeyi, çeşitli reaktif oksijen türleri üzerine bir veya daha fazla faktörün sinerjik etkisine bağlı olarak, hücrel zarlara daha yüksek oranda bir serbest radikal hareketi olduğunu gösterebilir. Nitekim artan ROS üretiminin neden olduğu oksidan/antioksidan dengesizlik, hücrel yapıların ve moleküllerin oksidatif hasarındaki ana nedensel faktörlerdir. Özellikle, doymamış yağ asitleri açısından zengin biyolojik membranlar serbest radikal saldırısına maruz kalan hücrel yapılardır.

Bazı araştırmacılar tarafından yapılan in vitro çalışmalarda, fitalatlara maruz kalmanın, peroksizom proliferatör tarafından aktiveleştirilen reseptörlerin (PPAR'lar) aktivasyonu yoluyla reaktif oksijen türlerini ve birkaç oksidatif stresin biyolojik belirteçlerini indükleyebileceğini göstermiştir (Cho ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2017). PPAR'ların, lipid ve glukoz homeostazı ve insülin duyarlılığının da düzenleyicileri olduğu literatürlerde bildirilmiştir ( Sun ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2017). Bir kısım çalışmada idrar fitalat metabolitleri konsantrasyonları ile oksidatif stres biyobelirteçleri arasında pozitif ilişki olduğu bildirilmiştir. Önceki çalışmalarda MDA ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) en sık ölçülen oksidatif stres biyobelirteçleri olduğu rapor edilmiştir (Ferguson ve ark., 2011; Holland ve ark., 2016). Diğer bazı

epidemiyolojik çalışmalarda da fitalat maruziyeti ile MDA ve 8-OHdG konsantrasyonlarının yükselmiş seviyeleri arasındaki pozitif ilişkiler bildirilmiştir (Ferguson ve ark., 2011; Hoyer ve ark., 2018).

Glutasyon, redoks potansiyelinin korunmasında kritik bir rol oynayan ve hücre içi ortamı reaktif oksijen türlerine, ksenobiyotiklere, ağır metallere ve strese karşı koruyan en bol hücre içi antioksidandır (Kumar ve ark., 2011). Antioksidan aktivitesini oksidatif stres durumunda yapısında bulunan sülfidril grubunu ayırarak gerçekleştirir. Glutasyon, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) de dahil olmak üzere ROS'u nötrleştirmek için glutasyon kullanan glutasyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler için ortak bir faktör olarak hareket eder (Jamieson, 1998). Hücrede en uygun GSH/GSSG oranının sağlanması hücre canlılığının devamı ve korunması için önemlidir. Bu nedenle sağlıklı sistemlerde bu oran optimum değerlerde bulunur. GSH' da olası eksiklik hücreyi oksidatif hasara karşı risk altına sokar.  $H_2O_2$  ve  $O^{2\bullet-}$  gibi serbest radikallerin miktarında meydana gelen aşırı artışlar hücreler için oldukça toksiktir. Bu nedenle bu toksik bileşenleri metabolize ederek temizleyip ortamdaki uzaklaştıran sistemlerin fonksiyonları son derece önemlidir, bu sistem hücreler tarafından sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur. CAT, SOD ve GPx, serbest radikal ataklarından kaynaklı meydana gelebilecek muhtemel hasarlara karşı hücreyi korurlar. SOD, radikal niteliğindeki oksijeni hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirir, CAT ise hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek su ve moleküler oksijen meydana getirir (Kanat ve Akdemir, 2017). GSH, detoksifikasyon reaksiyonlarına katılan ve lipid peroksidasyonundan sorumlu olan bileşikleri ortadan kaldırarak serbest radikal aracılı hasarı dengeleyen önemli bir endojen antioksidandır. Kullanımdaki artışa bağlı olarak oksidatif stres ile GSH düzeyleri arasında ters bir ilişki vardır (Gill ve ark., 2015).

Sunulan çalışmada GSH düzeylerinde deneme gruplarında kontrol gruplarına göre düşmeler gözlemlendi, en fazla düşüş 100 mg fitalata grubunda gözlemlendi ( $92,347 \pm 3,777$  mg/dl). Gözlenen bu düşüşler istatistik anlamda bir önem ifade etti ( $p < 0,05$ ). Mısır yağı kontrol grubuna göre de deneme gruplarındaki glutasyon düzeyleri düşüktü. Deneme grubunda GSH düzeylerindeki düşüş GPx veya GST ile hücre içi antioksidan kullanımının artmasına bağlı olabilir. Ek olarak, bu düşüş, ya GSH'nin inhibe edilmiş sentezine bağlı olarak ya da toksik kaynaklı serbest radikallerin detoksifikasyonu için GSH'nin artan kullanımından dolayı da olabilir (Singh ve ark., 2001).

Bir kısım çalışmada, hastaların fitalatlara (DBP ve DEHP dahil) in vivo ve in vitro maruz bırakılmasının, oksidatif sistem ile ilgili bozukluklara bağlı olarak, özellikle süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon (GSH) gibi antioksidanların seviyelerinde azalmalara neden olduğu bildirilmiştir (Denoncourt ve ark., 2015; Sedha ve ark., 2015; Sobarzo ve ark., 2015; Udensi ve Tchounwou, 2016). DEHP, mono-(2-etilheksil) fitalat (MEHP) ve 2-etilheksanol(2EH) dahil aktif metabolitlere plazma veya doku esterazları ile metabolize edilir (Somasundaram ve ark., 2017). Aktif metabolitler, MEHP, ROS oluşumunu artırarak ve glutatyon, serbest tiyol ve askorbik asit seviyesini azaltarak doku oksidatif stresi indükler. MEHP tarafından indüklenen oksidatif stres, mitokondriyal hasara ve iç mitokondriyal zardan sitokrom c kaçışına katkıda bulunur (Kasahara ve ark., 2002).

Seruloplazmin ferrokksidaz (Osaki, 1966) kuproksidaz (Stoj ve Kosman, 2003), Süperoksit dismutaz (Vasilyev ve ark., 1988), glutatyona bağlı peroksidaz (Kim ve Park, 1988), ve NO-oksidaz (Shiva ve ark., 2006) aktivitelerinden dolayı serbest radikal oluşumunun ve kalıcılığın önlenmesinde önemli bir rol oynar. Parkinson hastalığı, otizm ve alzheimer gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda seruloplazminin antioksidan özelliğinin önemli etkilere sahip olabileceği literatürde bildirilmiştir (Chauhan, 2006). Seruloplazminin biyokimyasal aktiviteleri, bakır taşınımı, çeşitli aminlerin oksidasyonu, daha sonra transferrin ve ferritin tarafından kullanımı için  $Fe^{2+}$  ile  $Fe^{3+}$  'nın oksidasyonu ve lipit peroksidasyonuna karşı antioksidan aktivite dahil olmak üzere tarif edilmiştir (Ryden, 1984; Frieden, 1986). Seruloplazminin rapor edilen hücresel eylemleri hücre çoğalmasını (Alcain ve ark., 1991) ve anjiyogenezin (Alessandri ve ark., 1983) uyarılmasını da içerir. Seruloplazminin antioksidan özelliği pek çok çalışmada gözlemlenmiştir (Yamashoji ve Kajimoto, 1983; Samokyszyn ve ark., 1989; Lykens ve ark., 1992). Seruloplazminin antioksidan etkilerinin yanında inflamatuvar ve akut faz yanıtları sırasındaki fonksiyonları da önemli olarak görülmüştür (Dormandy, 1981). Seruloplazmin, diğer akut faz proteinlerine kıyasla orta şiddette bir tepkiye sahip olan bir akut faz proteinidir. Plazma konsantrasyonu, inflamasyon, hamilelikte ve cerrahi operasyon da dahil olmak üzere travmatik yaralanma sonrası iki ila üç kat artar (Gutteridge ve Stocks, 1981; Ryden, 1984). Seruloplazmin antioksidan aktivitesini süperoksit ve diğer reaktif oksijen türlerinin (Goldstein ve ark., 1979) temizlenmesi ve  $Fe^{2+}$ 'nin  $Fe^{3+}$ 'e dönüştürülmesiyle fenton reaksiyonunu inhibe etmek suretiyle gösterir (ferrokksidaz) (Samokyszyn, ve ark., 1989). Bu son mekanizma önemli miktarda kanıtla desteklenir, ancak seruloplazmin'in  $Cu^{2-}$  aracılı lipit oksidasyonunu bloke etme

kabiliyeti, alternatif antioksidan mekanizmalarının da geçerli olması gerektiğini gösterir (Gutteridge, 1983). Antioksidan olarak seruloplazminin protein (Staples ve Webster, 1993) ve DNA hasarını (Gutteridge ve ark., 1980) engellediğine ve serbest radikallerin başlattığı hücre hasarına ve lizisine karşı koruma sağladığına dair çalışmalar vardır (Lovstad, 1982).

Sunulan çalışmada seruloplazmin düzeyleri kontrol grubunda  $17,126 \pm 4,477$  %mg düzeylerinde hesaplanırken 20 mg fitalat grubunda  $21,074 \pm 2,579$  %mg, 100 mg fitalat grubunda  $23,937 \pm 5,220$  %mg ve 500 mg fitalat grubunda  $21,770 \pm 3,198$  %mg olarak hesaplandı. Hesaplanan düzeylerde gözlenen artışlar istatistik olarak bir anlam ifade etmedi. Hücre dışı bir antioksidan olan seruloplazmin süperoksit radikallerini nötralize ederken (Byung, 1994), aynı zamanda serbest oksijen radikallerini kendisine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici bir etkiye de sahiptir (Akkus, 1995). Serüloplazminin bu etkisini yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar da desteklemektedir. Artan lipid peroksidasyonuna karşı serüloplazminde de artışlar saptanmıştır.

Oksitleyici bileşikler (radikaller ve radikal olmayanlar) normal aerobik metabolizmanın bir sonucudur, canlı hücrelerde (iç ve dış mitokondriyal zarda) ve memeli hücrelerinde (mikrozomal elektron taşınması) çeşitli metabolik yollarda sürekli olarak üretilirler. Bu güçlü oksidanlar diğerlerinin yanı sıra proteinler, lipidler, DNA ve karbonhidratlar gibi biyomoleküller ile reaksiyona girerek hücre içi ve hücre dışı sinyal iletimi üzerinde olumsuz etkiye neden olarak hücrelerde hasara yol açabilirler (Barroso ve ark., 2011). Düşük lipid peroksidasyon oranlarında, hücreler antioksidan savunma sistemleri aracılığıyla hasarlarını onarır, ancak bunun aksine, orta veya yüksek lipid peroksidasyon oranları şekillendiğinde savunma sistemleri oksidatif hasardan kaynaklı hasarları tamir etmede zorlanır ve hücrelerin apoptozu tetiklenir (Ekkabut ve ark., 2007). Askorbik asidin iyi bir antioksidan (Frie ve ark., 1989), iyi bir radioprotektif ajan ve serbest radikal temizleyici (Rose ve Bode, 1993), gibi davrandığı bilinmektedir ve hücresel düzeyde, askorbik asidin, hücrelerin antioksidan enzim aktivitelerini arttırarak (Rojas ve ark., 1994; Öztürk ve ark., 2001) ve dolaylı olarak hem E vitamini hem de glutatyonun okside olmuş formlarını azaltarak dolaylı olarak reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini azalttığı literatürlerde bildirilmiştir (Chan, 1993).

Birçok biyokimyasal, klinik ve epidemiyolojik çalışma, C vitamininin kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve katarakt gibi kronik hastalıklarda, muhtemelen antioksidan mekanizmalar yoluyla yararlı olabileceğini göstermiştir (Carr ve Frei,

1999). Klinik çalışmalarda, C vitamini alımı yüksek olan bireylerde, kalp hastalığı, kanser, göz hastalıkları ve nörodejeneratif koşullar gibi bir dizi kronik hastalık riskinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (Jacob ve Sotoudeh, 2002). C Vitamini, kollajen, karnitin ve nörotransmitterlerin biyosentezinde yer alan birçok enzim için bir kofaktördür (Tsao, 1997). Ek olarak, C Vitamini, katekolamin biyosentezi, özellikle dopaminin, dopamin-monooksijenaz tarafından katalize edilen norepinefrine dönüşümü için bir kofaktör olarak kullanılır (Burri ve Jacob, 1997). Askorbik asitin redoks kapasitesinin, yaşlanmanın yol açtığı oksidatif stresi önleyebileceği, böylelikle beyne yeterli miktarda askorbik asit kaynağı verilmesinin, nörodejenerasyonun başlamasını geciktirebileceği literatürlerde bildirilmiştir (Moretti ve ark., 2017; Harrison ve ark., 2014; Han ve ark., 2018). Nötrofiller, makrofajlar, B ve T hücreleri gibi, enfeksiyon veya stresle azalmış olan çoğu immün hücrede, yüksek konsantrasyonda C vitamini konsantrasyonunun bulunması immün homeostazın sürdürülmesi yoluyla hücrelerin savunma mekanizmalarına etki edebileceği bildirilmiştir (Kim ve ark., 2012). Askorbat, oksidatif proseslerde, metal demirin varlığında hem antioksidan hem de prooksidan olarak görev yapabilir (Fromberg ve ark., 2011; Kim ve ark., 2011; Lee, 2009). Bir antioksidan olarak, hücreleri ve dokuları oksidatif strese karşı koruyup ve böylece hücre içi ROS seviyelerini azaltırken, diğer yandan, glikoliz için piruvat kullanımını önleyerek oksidatif metabolizmayı da hızlandırır. Bu şekilde tümör hücrelerinin proliferasyonunun inhibe edilmesine de yardımcı olur (Lee, 2009).

Çalışmamızda vitamin C düzeylerinde kontrol grubuna göre azalmalar saptanmıştır. Azalmalar kontrol grubuna göre ( $27,977 \pm 11,939$  mg/dl) en fazla 100 mg fitalat grubunda ( $10,790 \pm 1,449$  mg/dl) gözlemlendi, düşüşler istatistik olarak bir anlam ifade etmedi. Sunulan çalışmada, antioksidan bir vitamin olan Vitamin C’de gözlenen değişimler, olası serbest radikal ataklarından kaynaklanabilir. Bu da, serbest radikallerin antioksidan savunma mekanizmalarının koruyucu etkilerini aşacak şekilde fazla oluştuklarını göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada DEHP’nin kemirgenlerde karaciğer tümörlerine neden olabileceği bildirilmiştir (Lapinskas ve ark., 2005). Karaciğer, çok sayıda birikmiş DEHP ve metabolitleri için in vivo olarak en önemli detoksifikasyon organı olarak kabul edilir. Bir çalışmada DEHP’nin sıçanlarda karaciğer hasarına neden olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark., 2010). DEHP’nin ayrıca tiroid hormonu homeostazisini bozabileceği ve hepatik enzimleri indükleyerek karaciğer ödemeine neden olabileceği rapor edilmiştir (Ye ve ark., 2017). Son araştırmalar, DEHP’in antioksidan dengesi

bozduğunu ve ardından karaciğerde oksidatif stresi arttırdığını ve bunun da hepatotoksositeye neden olduğunu göstermiştir (Erkekoğlu ve ark., 2014). Önceki bir başka çalışma, karaciğerin DEHP için önemli bir hedef organ olduğunu ve karaciğer karsinogenezinin oluşumuna katkıda bulunduğunu göstermiştir (Rusyn ve ark., 2006). Yine bazı başka çalışmalar, DEHP maruziyetinin olgunlaşmamış sıçan yavrularının beynindeki nörotoksiteyi ve sıçanların karaciğerindeki hiperplaziyi indüklediğini göstermiştir (Liu ve ark., 2015; Takashima ve ark., 2008).

Yapılan çalışmada total protein miktarlarında kontrol gruplarına göre azalmalar saptandı. Bu azalma en fazla 500 mg fitalat grubunda gözlemlendi ( $1,865 \pm 0,085$  %g). Bu azalmalar, yukarıda literatürlerde de verildiği gibi fitalat kaynaklı hepatositlerde meydana gelen olası hasarlardan dolayı olabilir.

Serbest radikaller pek çok hastalığın patogeneğinde önemli rol oynarlar. Çoğu hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı gösterilmiştir (Yagi, 1994; Draper, 1994).

Bu bağlamda sunulan araştırmada, 20 mg, 100 mg ve 500 mg fitalat uygulanan deneme gruplarında malondialdehit, glutatyon, seruloplazmin, vitamin C ve total protein düzeylerinde gözlenen değişimler, hücrelerde oksidatif stres ile ilgili hasarın şekillenmiş olabileceğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- Abouzari A, Fakheri Ba. Reactive oxygen species: generation, oxidative damage, and signal transduction. *International Journal of Life Sciences* 2015; 9(5):3-17.
- Abuja P, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306:1-17.
- Agrawal A, Kale RK. Radiation induced peroxidative damage mechanism and significance. *Indian Journal Experimental Biology* 2001; 39:291.
- Ait Bamai, Y Araki, A Kawai, T Tsuboi, T Yoshioka, E Kanazawa, A Cong, S Kishi. Comparisons of urinary phthalate metabolites and daily phthalate intakes among Japanese families. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2015; 218:461-470.
- Ak T. Curcuminin antioksidan ve antiradikal özelliklerinin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Yüksek Lisans Tezi, 2016; 67-96.
- Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı, Konya, Kuzucular Ofset, Mimoza Yayınları, 1996; 1-157.
- Aksoy A. Beyin iskemi reperfüzyon rat modelinde serbest radikallerin oluşturduğu hasarın önlenmesinde ya da azaltılmasında çeşitli anestezi maddelerinin (ketamin, tiyopental, propofol) etkinliğinin karşılaştırılması. Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Yüksek Lisans Tezi, 2015; 86:5-10.
- Alcain F, Ldw H, Crane FL. Ceruloplasmin stimulates thymidine incorporation by ccl-39 cells in the absence of serum or growth factors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991; 180:790-796.
- Alessandri G, Raju K, Gullino PM. Mobilization of capillary endothelium in vitro induced by effectors of angiogenesis in vivo. *Cancer Res.* 1983; 43:1790-1797.
- Alves A, Covaci A, Voorspoels S. Are nails a valuable noninvasive alternative for estimating human exposure to phthalate esters?. *Environmental Research.* 2016; 151:184-194.
- Asgarabad A. ve Safiri DRS. Comment to the letter by drs. safiri and ashrafi-asgarabad. Germany, Springer Verlag Gmbh, 2018; 297:1333.
- ATDSR Toxicological profile for diethylphthalate. department of health and human services, Public Health Service, Atlanta, Usa, Agency For Toxic Substances And Disease Registry 1995.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelle S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2014; 1-31.

- Babu B. ve Wu JT. Production of phthalate esters by nuisance freshwater algae and cyanobacteria. *Science of The Total Environment* 2010; 408:69-497.
- Bajkín I, Bjelica A, Icin T, Dobric V, Kovacev Z, Stojanosk M. Effects of phthalic acid esters on fetal health. *Med Pregl* 2014; 5-6:172-175.
- Bamai A, Araki A, Kawai T, Tsuboi T, Saito I, Yoshioka E, Cong S, Kishi R. Exposure to phthalates in house dust and associated allergies in children aged 6–12 years. *Environment International* 2016; 96:16-23.
- Barroso MF, Álvarez S, Castañón MJ, Ordieres M, Matos D, Oliveira P, Blanco T. DNA based biosensor for the electrocatalytic determination of antioxidant capacity in beverages, biosens. *Bioelectron.* 2011; 26:2396–2401.
- Berger M. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition* 2005; 24:172-183.
- Beutler E, Duran O, Kelly, BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med* 1963;61:882-888.
- Bi X, Pan X, Shoujun Y, Wang Q. Plasticizer contamination in edible vegetable oil in u.s. retail market. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013; 61:9502-9509.
- Biermann U, Jungbauer A, Metzger JO. Esters of maleinized fatty compounds as plasticizers. *European Journal of Lipid Science And Technology*, 2012;114:49-54.
- Bradbury J. UK panics over phthalates in babymilk formulae. *Lancet* 1996;347:1541.
- Brezezinska E, Miller JK, Quigley JD and Moore JR. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin e and selenium. *J. Dairy Sci.* 1994;77:087–3095.
- Buckley JP, Quirós L, Alcalá S, Teitelbaum A, Calafat M, Wolff S, Engel M. Association of prenatal environmental phenol and phthalate biomarkers with respiratory and allergic diseases among children aged 6 and 7 years, *Environ International* 2018; 115:79-88.
- Burri BJ, Jacob RA. Packer L, Fuchs J. (Eds.), Human metabolism and the requirement for vitamin C. In: vitamin c in health and disease. New York, Marcel Dekker Inc, 1997; 341–366.
- Byung PY. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiol. Rev.*, 1994; 74: 139-172.
- Cariou R, Larvor F, Monteau F, Marchand P, Bichon E, Dervilly G, Antignac J, Le Bizec B. Measurement of phthalates diesters in food using gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry* 2016; 196:211-219.

- Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin c based on antioxidant and health effects in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 69(6):1086–1107.
- Carrillo LL, Ramirez RUH, Calafat AM, Sanchez LT, Portillo G, Needham LL, Ramos R, Cebrian ME. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico, *Environ. Health Perspect.* 2010; 118:539–544.
- Chan AC. Partners in defense. vitamin e and vitamin c. *Can J Physiol Pharmacol* 1993; 71:725–31.
- Chauhan C. Oxidative stress in autism. *Pathophysiology* 2006; 13(3):171–81.
- Chauhan V, Chauhan A. Oxidative stress in alzheimer’s disease. *Pathophysiology* 2006; 13:195-208.
- Chen Y, Aon MA, Hsu Y, Soane L, Teng X, Mccaffery M, Cheng WC, Qi B. Bcl-xl regulates mitochondrial energetics by stabilizing the inner membrane potential. *Journal of Cell Biology* 2011; 195(2):263-276.
- Cho YJ Park SB, Han M. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces oxidative stress in human endometrial stromal cells in vitro. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015; 407:9–17.
- Crobeddu B, Ferraris E, Kolasa E, Plante I. Di (2-ethylhexyl) phthalate (dehp) increases proliferation of epithelial breast cancer cells through progesterone receptor dysregulation. *Environmental Research* 2019; 165–173.
- Cross, C. Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Medicine* 1987; 107:526-545.
- Çakatay U, Kayalı R. Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2006;37:162-167.
- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz Ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4:92-95.
- Çiçek E. Nükleer tıp uygulamalarının hastalardaki serbest radikaller üzerine etkileri, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Burdur, Yüksek Lisans Tezi, 2005; 98:13-14.
- Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis, *Free Radic. Biol. Med.* 2013; 62:170–185.
- David RM, Moore MR, Finney DC, Guest D. Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in mice, *Toxicol. Sci.* 2000; 58:377–385.
- Deeaton CM, Marlin DJ. Exercise-associated oxidative stress, clin. tech. *Equine Pract* 2003; 2(3):278-291.
- Del Pup at all. Carcinogenetic mechanisms of endocrine disruptors in female cancers (review). *Oncol. Rep.* 2016;36:603–612.

- Demiryürek, K. Dünya ve Türkiye’de organik tarım. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2004; 8(3/4):63-71
- Denoncourt M, Wallace J, Solla SJ, Langlois SR.. Plasticizer endocrine disruption: highlighting developmental and reproductive effects in mammals and non-mammalian aquatic species. Gen. Comp. Endocrinol. 2015; 219:74–88.
- Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. J Assoc Physicians India 2004; 52:794-804.
- Digangi J, Schettler T, Cobbing M, Rossi M. Aggregate exposures to phthalates in humans. Report Published By Health Care Without Harm. 2002; 54-62.
- Dormandy TL. Caeruloplasmin: acute-phase antioxidant. Agents Actions. 1981; 8:185-197.
- Draper, H.H., Bettger, W.J.: Role of nutrients in the cause and prevention of oxygen radical pathology, free radicals in the diagnostic medicine. pp.: 269-289, Edit: D. Armstrong, Plenum Press, New York, 1994.
- Durmaz E. ve Özmert EN. Fitalatlar ve çocuk sağlığı. Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Dergisi 2010; 53:305-317.
- Durusoy R. ve Karababa AO. Plastik gıda ambalajları ve sağlık. TAF Preventive Medicine Bulletin, 2011; 10(1):87-96.
- ECPI, European council for plasticizers and intermediates. The Plasticizers Information Centre, 2014.
- EFSA. Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the commission related to bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) for use in food contact materials, 2005; 243:1–20.
- Ekici L, Sağdıç O. Serbest radikaller ve antioksidann gıdalarla inhibisyonu, Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Derleme, 2008; 33(5):251-260.
- Ekkabut JW, Xu Z, Triampo W, Tang IM, Tieleman DP, Monticelli L. Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study, Biophys. J. 2007; 93:4225–4236.
- Erkekoglu P, Zeybek ND, Giray BK, Rachidi W, Kizilgun, Hininger I, Et Al. The effects of di(2-ethylhexyl)phthalate on rat liver in relation to selenium status. Int. J. Exp. Pathol. 2014;95:64–77.
- Erna M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y. Developmental toxicity of mono-n-benzyl phthalate, one of the major metabolites of the plasticizer n-butyl benzyl phthalate in rats. Toxicology Letters 1996; 86:19-25.

- Ferguson KK, Loch R, Meeker JD. Urinary phthalate metabolites in relation to biomarkers of inflammation and oxidative stress: NHANES 1999–2006. *Environ. Res.* 2011; 111(5):718–726.
- Food and nutrition board institute of medicine. dietary reference intakes for vitamin c, vitamin e, selenium, and carotenoids, Washington, DC, National Academy Press 2000; 529:25-32.
- Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, Pizzol D, Moretti A, Barzon L, Palù G, Fertility ve sterility. genç yetişkin erkeklerin sperm kafasında bulunan insan papilloma virüsü ilerleyici motiliteyi etkiler. *Bereketli Steril Doi 10.1016 / J.Fertnstert.2008.10.050. EPUB 2008 Aralık 18. 2008.*
- Frie B, England L, Ames BN. Ascorbic acid is an outstanding antioxidant in human plasma. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86:6377–81.
- Frieden E. Perspectives on copper biochemistry. *Clin. Physiol. Biochem.* 1986; 4:11-19.
- Fromberg A, Gutsch D, Schulze D, Vollbracht C, Weiss G, Czubyko F, Aigner A. Ascorbate exerts anti-proliferative effects through cell cycle inhibition and sensitizes tumor cells towards cytostatic drugs, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2011; 67(5):1157–1166.
- Garewal HS. Antioxidants and disease prevention. CRC Press LLC 1997; 3-19.
- George J. Ascorbic acid concentrations in dimethylnitrosamine induced hepatic fibrosis in rats. *Clinica Chimica Acta.* 2003; 335:39–47.
- Gill KK, Sandhu HS, Kaur R. Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant antioxidant status on fenvalerate, nitrate and their co-exposure in bubalus bubalis. *Pestic Biochem Physiol* 2015; 123:19-23.
- Goldstein IM, Kaplan HB, Edelson HS, Weissmann G. Ceruloplasmin a scavenger of superoxide anion radicals. *J. Biol. Chem.* 1979; 254:4040-4045.
- Gomez-Henz, A, Aguilar-Caballos, MP. Social and economic interest in the control of phthalic acid esters, *Trends. Anal. Chem.* 2003; 22: 847-857.
- Göktekin E. Prenatal dönemde diheksil fitalat ve disikloheksil fitalata maruziyetin erkek ve dişi sıçanların bazı endokrin dokuları üzerindeki etkilerinin incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora Tezi, 2016.
- Gönenç S. Egzersiz ve oksidan stres. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 1997; 10(3):26-38.
- Grotto D, Maria LS, Valentini J, Paniz C, Garcia G, Pomblum VJ, Rocha JBT, Farina M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *quim. Nova* 2009; 32(1):169-174.
- Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK. U.K. Jha, U.C. Yadav, P.K. Gupta, U. Pakuwal. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review, *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014; 15:4405–4409.

- Gutteridge JM ve Stocks J. Caeruloplasmin physiological and pathological perspectives. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1981; 14:257-329.
- Gutteridge JMC, Richmond R, Halliwell B. Oxygen freeradicals and lipid peroxidation: inhibition by the protein caeruloplasmin. *FEBS (Fed. Eur. Biochem. Soc.) Lett.* 1980; 112:269-272.
- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clin. Chem.* 1995; 41:1819–1828.
- Gutteridge, JMC. Antioxidant properties of caeruloplasmin towards iron- and copper-dependent oxygen radical formation. *FEBS (Fed. Eur. Biochem. Soc.) Lett.* 1983; 157:37-40.
- Haberland ME, Fong D, Cheng L. Malondialdehyde-altered protein occurs in atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits, *Science*, 1988; 241(4862):215–218.
- Hagmar L, Akesson B, Nielsen J, Andersson C, Linden K, Attewell R, Moller T. Mortality and cancer morbidity in workers exposed to low levels of vinyl chloride monomer at a polyvinyl chloride processing plant, *Am. J. Ind. Med.* 1990; 17:553–565.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 3. Basım, Oxford Science Publications, Oxford 1999.
- Han QQ, Shen TT, Wang F, Wu PF, Chen JG. Preventive and therapeutic potential of vitamin c in mental disorders, *Curr. Med. Sci.* 2018; 38:1–10.
- Hardell L, Ohlson CG, Fredrikson M. Occupational exposure to polyvinyl chloride as a risk factor for testicular cancer evaluated in a case control study, *Int. J. Cancer* 1997; 73:828–830.
- Harder B. Phthalate exposure from drugs? *Science News* 2004; 27(4):165-221.
- Harris R. Ascorbic acid, subcellular biochemistry. Springer 1996; 25:12-15.
- Harrison FE, Bowman GL, Polidori MC. Ascorbic acid and the brain rationale for the use against cognitive decline, *Nutrients* 2014; 6:1752–1781.
- Heineman EF, Olsen JH, Pottern LM, Gomez M, Raffn E, Blair A. Occupational risk factors for multiple myeloma among danish men, *Cancer Causes Control* 1992; 3:555–568.
- Heudorf, U, Mersch V, Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2007; 210:623–634.
- Ho YS, Liou HB, Lin JK, Jeng JH, Pan MH, Lin YP. Lipid peroxidation and cell death mechanisms in pulmonary epithelial cells induced by peroxynitrite and nitric oxide. *Arch Toxicol.* 2002; 76:484-93.

- Holadová K, Prokúpková G, Hajšlová J, Poustka J. Headspace solid-phase microextraction of phthalic acid esters from vegetable oil employing solvent based matrix modification, *Analytica Chimica Acta*. 2007; 582:24-33.
- Holland, N., Huen, K., Tran, V., Street, K., Nguyen, B., Bradman, A., Eskenazi, B. Urinary phthalate metabolites and biomarkers of oxidative stress in a Mexican American cohort: variability in early and late pregnancy. *Toxics* 2016; 4(1):23-42.
- Hoyer BB, Lenters V, Giwercman A, Jonsson BAG, Toft G, Hougaard KS, Bonde JPE, Specht IO. Impact of di-2-ethylhexyl phthalate metabolites on male reproductive function: a systematic review of human evidence. *Curr. Environ. Health Rep.* 2018; 5:20–33.
- Hoyer PB. Reproductive toxicology: current and future. *Directions, Biochem Pharmacol*, 2001; 62:1557–1564.
- İmren C. Endokrin bozucu dimetil ftalatın sülfat radikali bazlı fotokimyasal ileri oksidasyon süreçleri ile gideriminin araştırılması, *İtü Dergisi* 2011; 150:26.
- Jacob RA, Sotoudeh G. Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutr. Clin. Care* 2002; 5:66–74.
- Jamieson DJ. Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Yeast* 1998; 14:1511–1527.
- Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes. *Cardiovas Diabetol* 2005; 4:1-11.
- Johns LE, Cooper GS, Galizia A, Meeker JD. Exposure assessment issues in epidemiology studies of phthalates. *Environmental International* 2015; 85:27-39.
- John PWM. Statistical design and analysis of experiments. Editor, John PWM, New York, Macmillan, USA, p:5-14. 1971.
- Kabel AM. Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. *World Journal Of Nutrition And Health* 2014; 2(3):35-38.
- Kai H, Shono T, Tajiri T, Suita S. Long-Term Effects Of Intrauterine Exposure To Mono-N-Butyl Phthalate On The Reproductive Function Of Postnatal Rats. *J Pediatr Surg*. 2005; 40:429-33.
- Kamrin MA. Fitalat riskleri, fitalat düzenlemesi ve halk sağlığı: bir gözden geçirme. *J Toxicol* 2019; 12(2):74-157.
- Kanat N. ve Akdemir S. Bakterilerde glutatyon ve önemi. *SAÜ Fen Bil Der* 2017; 18(2):111-117.
- Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg. 2016; 4(1):0-59.

- Kasahara E, Sato EF, Miyoshi M, Konaka R, Hiramoto K, Sasaki J, Tokuda M, Nakano Y, Inoue M. Role of oxidative stress in germ cell apoptosis induced by di (2-ethylhexyl) phthalate, *Biochem. J.* 2002; 365(3):849.
- Kay VR, Chambers C, Foster WG. Reproductive and developmental effects of phthalate diesters in females. *Crit. Rev. Toxicol.* 2013; 43(3):200-219.
- Kehrer JP, Klotz LO. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health. *Critical Reviews In Toxicology.* 2015; 45(9):765–798.
- Kenneth BB, Bruce NA. The free radical theory of aging matures. *physiol reviews,* 1998; 78(2):547-581.
- Kessler W. Kinetics of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and mono(2-ethylhexyl) phthalate in blood and of dehp metabolites in urine of male volunteers after single ingestion of ring-deuterated DEHP. *Toxicol. App. Pharmacol* 2012; 264:284–291.
- Kıbrışhoğlu G. Biyolojik örneklerde peroksil radikali süpürme etkinliği ölçümü için spektrofotometrik yöntem geliştirilmesi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Yüksek Lisans Tezi, 2013; 63:7-10.
- Kida M, Ziembowicz S, Koszelnik P. Study on the suitability of using low frequency ultrasonic field for removing di(2-ethylhexyl) phthalate from bottom sediments, *Separation And Purification Technology* 2020; 233:16-22.
- Kim HN, Kim H, Kong JM, Bae S, Kim YS, Lee N, Lee WC. Vitamin C down-regulates vegf production in B16F10 murine melanoma cells via the suppression of P42/44 MAPK activation, *J. Cell. Biochem.* 2011; 112(3):894–901,
- Kim HW, Cho SI, Bae S, Kim H, Kim Y, Hwang YI, Lee WC. Vitamin C up-regulates expression of cd80, CD86 and MHC class II on dendritic cell line, DC-1 Via The Activation Of P38 MAPK, *Immune Netw* 2012; 12(6):277–283.
- Kim IG and Park SY. Requirement of intact human ceruloplasmin for the glutathione-linked peroxidase activity, *FEBS Lett.* 1988; 437:293-296.
- Kim JH. Et Al. Association of diethylhexyl phthalate with obesity-related markers and body mass change from birth to 3 months of age. *J. Epidemiol. Community Health* 2016; 70:466–472.
- Kim NY, Kim TH, Lee E, Patra N, Lee J, Shin MO, Et Al. Functional role of phospholipase d (pld) in di(2-ethylhexyl) phthalate-induced hepatotoxicity in sprague-dawley rats. *J. Toxicol. Environ. Health* 2010; 73:1560–1569.
- Koca HB. Koroner arter hastalarında lipit ve protein oksidasyonu ile selenyum içeren antioksidanların düzeyi, Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, Yüksek Lisans Tezi, 2007.

- Koch Hm, Angerer J, Drexle, H, Eckstein R, Weisbach V. Di(2- ethylhexyl) phthalate (dehp) exposure of voluntary plasma and platelet donors, *International Journal of Hygiene And Environmental Health* 2005;208:489-498.
- Koch Hm, Et Al. Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure an update and latest results. *Int. J. Androl.* 2006;29:155–165.
- Kovacic P, Pozos Rs, Somanathan R, Et Al. Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: focus on electron transfer, *Free Radicals And Structure-Activity Relationships.* *Curr Med Chem.* 2005;12(22):2601-2623.
- Kretzschmar FK, Doner M, Krawczyk HE, Scholz P, Scmitt K, Valerius O, Braus G, Mullen RT, Ischebeck T. Identification of low-abundant lipid droplet proteins in seeds and seedlings. *Plant Physiol* DOI:10.1104/pp.19.01255.
- Kumar C, Igbaria A, Autreaux B, Planson AG, Junot C, Godat E, Bachhawat AK, Delaunay A, Toledano MB. Glutathione revisited: a vital function in iron metabolism and ancillary role in thiol-redox control, *EMBO J.* 2011;30:2044–2056.
- Kumaragrupan R, Subapriya R, Viswanathon P. Tissue lipid peroxidation and antioxidant status in patients with adenocarcinoma of the breast. *Clin. Chim. Acta.* 2002; 325:165-170.
- Kurt N. yaşa bağlı olarak antioksidan enzimlerinin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktivitelerinin ve malondialdehit (MDA) seviyelerinin incelenmesi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Yüksek Lisasn Tezi, 2008.
- Latini G. Monitoring phthalate exposure in humans, *Clinical Chimica Acta* 2005; 361:20–29.
- Lapinskas PJ, Brown S, Leesnitzer LM, Blanchard S, Swanson C, Cattley RC, Et Al. Role of pparalpha in mediating the effects of phthalates and metabolites in the liver. *Toxicology* 2005; 207:149–163.
- Lebold KM and Traber MG. Interactions between  $\alpha$ -tocopherol, polyunsaturated fatty acids, and lipoxygenases during embryogenesis. *Free Radical Biology And Medicine* 2014; 66:13–19.
- Lee WJ. The prospects of vitamin c in cancer therapy, *Immune Netw.* 2009; 9(5):147–152.
- Liebman Jf, Greenberg A. Mechanistic principles of enzyme activity. New York: Vch Publishers 1988.
- Liu C, Xu X, Huo X. Anogenital distance and its application in environmental health research. *Environ. Sci. Pollut* 2014; 21(8):5457-5464.
- Liu C, Zhao L, Wei L, Li L. DEHP reduces thyroid hormones via interacting with hormone synthesis-related proteins, deiodinases, transthyretin, receptors, and hepatic enzymes in rats. *environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2015; 22:12711-12719.

- Liu H, Cui K, Zeng F, Chen L, Cheng Y, Li H, Li S, Zhou X, Zhu F, Ouyang G, Luan T, Zeng Z. Occurrence and distribution of phthalate esters in riverine sediments from the pearl river delta region, South China. *Marine Pollution Bulletin* 2014; 83(1):358–365.
- Lovstad RA. The protective action of ceruloplasmin on copper ion stimulated lysis of rat erythrocytes. *Int. J. Biochem* 1982; 14:585-589.
- Lushchak V. Free. *Chemico-Biological Interactions* 2014; radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification 224: 164–175.
- Lykens MG, Davis WB, Pacht ER. Antioxidant activity of bronchoalveolar lavage fluid in the adult respiratory distress syndrome. *Am. J. Physiol.* 1992; 262:169-175.
- Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lgma JLFC. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*. 2008; 613:1-19.
- Mariana M, Feiteiro J, Verde I, Cairrao E. The effects of phthalates in the cardiovascular and reproductive systems: a review. *Environment International* 2016; 94:758-776.
- Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in alzheimer's disease. *Free Radical Biology And Medicine* 1997; 23(1):134-147.
- Martinez-Arguelles DB, Et Al. Fetal origin of endocrine dysfunction in the adult: the phthalate model. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2013; 137:5–17.
- Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Ema M. Adsorptive removal of phthalate ester (di-ethyl phthalate) from aqueous phase by activated carbon: a kinetic study, *Journal Of Hazardous Materials*, 2007; 146:278-282.
- Mcdowell LR. *Animal and human nutrition*, 2. Basım, Iowa State University Press / Ames, 2000.
- Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem.* 1983; 52:711–760.
- Memişoğulları R. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 3:30-39.
- Mendes, R, Carlos Cardoso, Carla Pestana, Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test, *Food Chemistry*, 2009; 112:1038-1045.
- Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg.* 2004; 15(1-2):91-96.
- Mert N, Bildik A, Ertekin A, Dede S. Van piyasasında tüketime sunulan hamburger ve piliçburgerlerde nitrat nitrit düzeyleri üzerine araştırma, *YYU Vet Fak Derg.* 1999;10(1-2):14-16.

- Milosevic N, Milic ZD, Bosic I, Bajkin I, Percia L, Abenavoli MM. Potential influence of the phthalates on normal liver function and cardiovascular metabolic risk in males, *Environ. Monit. Assess.* 2018;190:17.
- Mishra V, Banga J, Silveyra P. Oxidative stress and cellular pathways of asthma and inflammation: therapeutic strategies and pharmacological targets, *Pharmacol. Ther.* 2018; 181:169–182.
- Monneret C. What is an endocrine disruptor? *C R Biol*, 2017; 340:403–405.
- Moretti M, Fraga DB, Rodrigues ALS. Preventive and therapeutic potential of ascorbic acid in neurodegenerative disease, *CNS Neurosci. Ther.* 2017; 23:921–929.
- Muller FL, Liu Y, Van Remmen H. Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *J Biol Chem.* 2004; 279(47):49064–49073.
- Nam K, Ri K, Hyeong L, Eun C, Hong L. Association between phthalate exposure and lower lung function in an urban elderly population: a repeated-measures longitudinal study, *Environ. Int.*, 2018; 113:177–183.
- Nazarudin I, Rozita O, Azmuis A, Norashikin S. Determination of phthalate plasticisers in palm oil using online solid phase extraction-liquid chromatography (spe-lc). *Journal of Chemistry*, Vol 2014, Article Id 682975, 9 P.
- Net S, Sempéré R, Delmont A, Paluselli A, Ouddane B. Occurrence, Fate, Behavior and ecotoxicological state of phthalates in different environmental matrices. *Environmental Science And Technology* 2015; 49(7):4019–4035.
- Netto L, Kowaltowski AJ, Castilho RF, Vercesi AE. Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Methods Enzymol* 2002; 348:260–270.
- Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biol. Med.* 2001;31:1287–1312.
- NTP (National Toxicology Program), NTP-CERHR Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of butyl benzyl phthalate (BBP), NIH Pub. 2003;03:4487.
- NTP-CERHR, NTP-CERHR Expert panel report on di(2-ethylhexyl) phthalate. NTP-CERHR-Dehp, 2000.
- Nyska A, Kohen R. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, Antioxidants, Redox Reactions And Methods For Their Quantification. *Toxicol Pathol.* 2002; 30:620–650.
- Oliver J, Palou A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. *Journal Of Chromatography A.* 2000; 881:543–555.
- Olsen L, Lind L, Lind PM. Associations between circulating levels of bisphenol A and phthalate metabolites and coronary risk in the elderly. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 2012; 80:179–183.

- Olson JA. Absorption, Transport, and metabolism of carotenoids in humans. *Pure And Applied Chemistry* 1994; 66:1011–1016.
- Omaye St, Turnbull Jd, Sauberlich He. Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, Tissues And Fluids. In: McCormick Db, Wright Ld, Editors. *Methods In Enzymology*, New York: Academic 1979; 62:3-11.
- Osaki S. Kinetic studies of ferrous ion oxidation with crystalline human ferroxidase (ceruloplasmin), *J. Biol. Chem.* 1966; 241:5053-5059.
- Öğüt S. Atay E. Yaşlılık ve oksidatif stres. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 2012; 19(2):68-74.
- Özcan O, Erdal H, Çakırcal G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve dna yapıları üzerine etkileri. *Journal Of Clinical And Experimental Investigations.* 2015; 6(3):331-336.
- Öztürk R, Bozkaya LA, Tarhan L. The effects of some antioxidant vitamin- and trace element-supplemented diets on activities of SOD, CAT, GSH-Px and LPO concentrations in chicken tissues. *Cell Biochem Funct* 2001; 19:125–32.
- Öztürk A, Baltacı Ak, Mogulkoç R, Öztekin A, Sivrikaya A, Kurtoglu E, Kul A. Effects of zinc deficiency and supplementation on malondialdehyde and glutathione levels in blood and tissue of rats performing swimming exercise. *Biological Trace Element Research* 2003; 94:157-166.
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.* 2007; 87(1):315–424.
- Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee J. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention, *J Am Coll Nutr.* 2003; 22(1):18–35.
- Parada JR ve Et Al. Urinary phthalate metabolite concentrations and breast cancer incidence and survival following breast cancer: the long island breast cancer study project. *Environ. Health Perspect.* 2018; 126(4):12-38..
- Park S, Kim BN, Cho SC, Kim Y, Kim JW, Lee JY, Hong SB, Shin MS, Yoo H, Im H, Cheong J, Han D. Association between urine phthalate levels and poor attentional performance in children with attention deficit hyperactivity disorder with evidence of dopamine gene-phthalate interaction. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014; 11(7):6743–6756.
- Polat M. Toxoplazma gondii pozitif hastalarda oksidatif stres ve protein oksidasyon ürünlerinin değerlendirilmesi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Yüksek Lisans Tezi, 2011; 82:10-15.
- Rawin HA, Lancet, 1956, 1: 726. Alındı: Yenson, M.:Klinik Biyokimya Ders Notları. Beta Yayın Ltd. Şti. İstanbul, 1986.
- Reynolds P, Urayama KY, Behren JV, Feusner J. Birth characteristics and hepatoblastoma risk in young children, *Cancer*, 2004; 100:1070–1076.

- Ricciotti E, Gerald GA. Prostaglandins and inflammation, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011; 31:58-74.
- Richard K. Nitric oxide synthases. *The Biochemist*, 1994; 16(5):3-6.
- Rodriguez-Amaya PH, Delia B. A guide to carotenoid analysis in foods, 2001. [Http://Www.İlsi.Org/Publications](http://www.ils.org/Publications). Erişim Tarihi: 28.02.2005.
- Rojas C, Cadenas S, Perez-Campo R, Lopez-Torres M, Barja G. Effect of vitamin C on antioxidants, lipid peroxidation, and gsh system in the normal guinea pig heart. *J Nutr Sci Vitaminol* 1994; 40:20–411.
- Rose RC, Bode AM. Biology of free radical scavengers, an evaluation of ascorbate. *FASEB J* 1993; 7:1135–42.
- Rozati R, Et Al. Role of environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility. *Fertil. Steril.* 2002; 78:1187–1194.
- Rusyn I, Peters JM, Cunningham ML. Modes of action and species-specific effects of di-(2-ethylhexyl)phthalate in the liver. *Crit. Rev. Toxicol.* 2006; 36:459–479.
- Ryden L. Ceruloplasmin. R. Lontie, editor. In copper proteins and copper enzymes,. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1984; 3:37-100.
- Samokyszyn VM, Miller DM, Reif DW, Aust SD. Inhibition of superoxide and ferritin-dependent lipid peroxidation by ceruloplasmin. *J. Biol. Chem.* 1989; 264:21-26.
- Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Int J Pharm Sci Res.* 2010; 1(3):185-192.
- Schaich KM. Lipid oxidation in fats and oils: Theoretical aspects. *Baileys industrial fats and oils*, 6. Basım, Ed. Sahahidi F. New York, Uve Niaber, 2005; 2:2681-2667.
- Schettler T. Human exposure to phthalates via consumer products. *Ind J Androl* 2006; 29(1):9-134.
- Sedha S, Kumar S, Shukla S. Role of oxidative stress in male reproductive dysfunctions with reference to phthalate compounds. *Urol. J.* 2015; 12:2304–2316.
- Selenskas S, Teta MJ, Vitale JN. Pancreatic cancer among workers processing synthetic resins, *Am. J. Ind. Med.* 1995; 28:385–398.
- Shinde A, Ganu J, Naik P. Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: a review. *J Dental Allied Sciences.* 2012; 1(2):63-66.
- Shiva S, Wang X, Ringwood LA, et al. Ceruloplasmin is a NO oxidase and nitrite synthase that determines endocrine NO homeostasis, *Nat. Chem. Biol.* 2006; 2:486-493.
- Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine, *Redox Biol.* 2015; 4:180–183.

- Simic MG, Taylor KA. Introduction to peroxidation and antioxidation mechanisms. in: oxygen radicals in biology and medicine. Newyork: Plenum Press. 1986; 2(4):813-847.
- Singh SP, Coronella JA, Beneš H, Cochrane BJ, Zimniak P. Catalytic function of *Drosophila melanogaster* glutathione S-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation end products. *Eur J Biochem* 2001; 268(10):2912-23.
- Sirivithayapakorn S, Thuyviang K. Dispersion and ecological risk assessment of di-(2-ethylhexyl) phthalate (dehp) in the surface waters of thailand. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 2010; 84:503-506.
- Smith W, Saba N. Retinoids as chemoprevention for head and neck cancer: where do we go from here?. *Critical Reviews In Oncology/ Hematology*, 2005; 55:143–152.
- Sobarzo CM, Lusting L, Ponzio R, Denduchis B. Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on ncadherin and catenin protein expression in rat testis. *Reproductive Toxicology* 2006; 22:77-86.
- Sobarzo CM, Rosana N, Livia M, Berta L, Schteingart D. Mono-(2- ethylhexyl) phthalate (MEHP) affects intercellular junctions of sertoli cell: a potential role of oxidative stress. *Reprod. Toxicol.* 2015; 58:203–212.
- Solomons NW, Bulux J. Present knowledge in nutrition.in: bowman, B.A. Russel, R.M. (Eds.), *The Vitamin, Vitamin A*, 9. Basım, Washington, DC, ILSI Press, 2006; 157–183.
- Somasundaram D, Manokaran K, Selvanesan B, Bhaskaran R. Impact of di-(2-ethylhexyl) phthalate on the uterus of adult wistar rats, *Hum. Exp. Toxicol.* 2017; 36(6):565–572.
- Staples CA, Peterso nDR, Parkerton TF, Adams WJ. The environmental fate of phthalate esters: A Literature Review, *Chemosphere*, 1997; 35:667-749.
- Staples CA. Phthalte esters, *The Handbook Of Environmental Chemistry*, 1. Basım, Germany, Springer-Verlag Heidelberg, 2003; 4:1-347.
- Staples JA ve Webster RO. Ceruloplasmin inhibits carbonyl formation in endogenous cell proteins. *Free Radical Biol. Med.* 1993; 14:115-125.
- Stoj C ve Kosman DJ. Cuprous oxidase activity of yeast Fet and human ceruloplasmin: implication for function, *FEBS Lett.* 2003; 554:422-426.
- Sun H,Yang Y, Li H, Zhang J,Sun N. Development of multiresidue analysis for twenty phthalate esters in edible vegetable oils by microwaveassisted extraction - gel permeation chromatography, solid phase extraction, gas chromatography, tandem mass spectrometry. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 2012; 60:5532-5539.

- Sun Q, Cornelis MC, Townsend MK, Tobias DK, Eliassen AH, Franke AA, Hauser R, Hu FB. Association of urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites with risk of type 2 diabetes: a prospective investigation in the Nurses' Health Study (NHS) and NHSII cohorts. *Environ. Health Perspect.* 2014; 122(6):616–623.
- Sun SY ve Lotan R. Retinoids and their receptors in cancer development and chemoprevention. *Critical Reviews In Oncology/ Hematology* 2002; 41:41–55.
- Sun T, Thom R. The effect of epoxidized safflower oil on the properties of polyvinyl chloride films. *Journal of Elastomers And Plastics*, 2010; 42:129-137.
- Sushil JK, Mcvie R, Duett J, Herbst JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*. 1989;38:1539-1543.
- Swan TL ve Davis BJ. Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system, *Environ. Health Perspect.* 2003; 111(2):139.
- Takashima K, Ito Y, GonzalezFJ, Nakajima T. different mechanisms of dehp-induced hepatocellular adenoma tumorigenesis in wild-type and ppar alpha-null mice. *J. Occup. Health* 2008; 50:169-180.
- Temür N. Çam, kavak, söğüt ve armut ağaçları üzerinde yetişen ökse otu (*viscum album*) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Veterinerli Fakültesi, Tokat, Yüksek Lisans Tezi 2006.
- Tickner JA, Schettler T, Guidotti T, Mccally M, Rossi M. Health risks posed by use of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in pvc medical devices: a critical review. *American Journal Of Industrial Medicine* 2001; 39:100-11.
- Tiftik AM. Biüret metoduyla total protein tayini, *Klinik Biyokimya*, Konya, Mimoza Yayınları, 1996; 291-292.
- Traber GM. Vitamin E, Zemleni, J., Rucker, R.B., McCormick, D.B., Suttie, J.W Eds., *Handbook Of Vitamins*, 4. Basım, USA, CRC Press, 2007; 608:153-174.
- Traber MG ve Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 2007; 43(1):4-15.
- Tsao CS. An overview of ascorbic acid chemistry and biochemistry. In: Packer L, Fuchs J, (Eds.) *Vitamin C in health and disease*. New York: Marcel Dekker Inc, 1997; 25–58.
- Tunalizer Z, Öztürk N, Koşar M, Başer KHC, Duman H, Kırimer N. Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi, *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Ankara, 2002; 78.
- Turini ME, Dubois RN. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target, *Annu. Rev. Med.* 2002; 53:2-11.

- Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species, *J. Physiol.* 2003; 552:335–344.
- Tümay M. Retinitis pigmentasyonda serbest radikallerin rolü, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Ankara, Yüksek Lisans Tezi, 2010; 131:80-82.
- Udensi UK, Tchounwou PB. Oxidative stress in prostate hyperplasia and carcinogenesis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2016; 35:139.
- USEPA Phthalates, TEACH Chemical Summary 2007 Environmental Protection Agency. Washington, DC, 2007; 25:1-25.
- Valko M, Izakovic M, Mazur M, ve Ark. Role of oxygen radicals in dna damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem.* 2004; 266(1-2):37-56.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free Radicals, Metals and antioxidants in oxidative stresinduced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 2006; 160:1-40.
- Vasilyev VB, Kachurin AM, Soroka NV. Dismutation of superoxide radicals by ceruloplasmin details of the mechanism, *Biokhimiya* 1988; 53:2051-2058.
- Venter KS. Analysis of phthalate esters in household dust and significance of particle size fraction, Central Missouri State University, Warrensburg, A Thesis Of Master, 2006; 145:40-53.
- Virag L, Szabo E, Gergely P, Szabo C. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicology Letters.* 2003; 140-141:113-124.
- Virtanen HE, Rajpert D, Meyts E, Main KM, Skakkebaek NE, Toppari J. Testicular dysgenesis syndrome and the development and occurrence of male reproductive disorders, *Toxicology And Applied Pharmacology* 2005; 207:501-505.
- Voss C, Zerban H, Bannasch P, Berger MR. Lifelong exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of sprague-dawley rats, *Toxicology* 2005; 206: 359–371.
- Wang R, Et Al. Effects of early pubertal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate on social behavior of mice. *Horm. Behav.* 2016; 80:117–124.
- Weismann D ve Binder CJ. The innate immune response to products of phospholipid peroxidation, *Biochim. Biophys. Acta* 2012; 1818(10):2465–2475.
- Weller R, Pattullo S, Smith L, Golden M, Ormerod A, Benjamin N. Nitric Oxide is generated on the skin surface by reduction of sweat nitrate. *J. Invest. Dermatol.* 1996; 107:327-331.
- Wittassek M, Koch HM, Angerer J, Bruning T. Assessing exposure to phthalates-the human biomonitoring approach. *Molecular Nutrition And Food Research* 2011; 55:7-31.

- Wolff MS, Et Al. Investigation of relationships between urinary biomarkers of phytoestrogens, phthalates, and phenols and pubertal stages in girls. *environ. Health Perspect.* 2010; 118:1039–1046.
- Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stres, and free radical damage. *Alcohol Res Health* 2003; 27(4):277-284.
- Wu G. An electrochemical ascorbic acid sensor based on palladium nanoparticles supported on graphene oxide, *Analytica Chimica Acta* 2012; 745:33–37.
- Xu Q, Yin X, Wang M, Wang H, Zhang N, Shen Y, Xu S, Zhang L, Gu Z. Analyses of phthalate migration from plastic containers to packaged cooking oil and mineral water, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 2010; 58:11311-11317.
- Xu C, NG McDowell, RA Fisher, L Wei, S Sevanto, BO Christoffersen, E Weng ve RS Middleton. Increasing impacts of extreme droughts on vegetation productivity under climate change, *Nature Clim. Change*, 2019; 12: 948-953,
- Yagi K.: Lipid Peroxidase and related radicals in clinical medicine, free radicals in diagnostic medicine. Ed.: D. Armstrong, Plenum Press, pp: 17-27, New York, 1994.
- Yamashoji S. ve Kajimoto G. Antioxidant effect of caeruloplasmin on microsomal lipid peroxidation. *FEBS (Fed. Eur. Biochem. Soc.) Lett.* 1983; 152:168-170.
- Yarıktaş M, Döner F, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N. Baş-boyun malign tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2003; 10: 65-67.
- Ye H, Ha M, Yang M, Yue P, Xie Z, Liu C. 2017. Di 2-ethylhexyl phthalate disrupts thyroid hormone homeostasis through activating the ras/akt/trhr pathway and inducing hepatic enzymes. *Sci. Rep.* 2017; 7:40153.
- Yerlikaya P. Fitalat esterleri ve su ürünleri tüketimindeki yeri, *Journal Of Food And Health Science, Derleme Makalesi*, 2017; 3(2):59-66.
- Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis, *chem. Rev.* 2011; 111:5944–5972.
- Yonny ME, Elisa M. García, Agustín López, José I. Arroquy, Mónica A. Nazareno Measurement of malondialdehyde as oxidative stress biomarker in goat plasma by HPLC-DAD, *Microchemical Journal*, 2016; 129:281-285.
- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 2001; 54:176- 186.
- Yuan S, Liu C, Liao CS, Chang BV. Occurrence and microbial degradation of phthalate esters in taiwan river sediments. *Chemosphere* 2002; 49:1295-1299.

- Zarean M, Keikha M, Poursafa P, Khalighinejad P, Amin M, Kelishadi RA. Systematic review on the adverse health effects of di-2-ethylhexyl phthalate. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* 2016; 23(24):24642-24693.
- Zhang R, Gen J, Chen D, Hu XY. Simultaneous electrochemical determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid using poly (acid chrome bluek) modified glassy carbon electrode, *Sensors And Actuators B* 2009; 138:174–181.
- Zhang W, Shen X, Zhang W, Chen H, Xu W, Wei W. Di-(2-ethylhexyl) phthalate could disrupt the insulin signaling pathway in liver of SD rats and L02 cells via PPAR $\gamma$ . *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2017; 316:17–26.
- Zielinski Z, Pratt DA. Lipid peroxidation: kinetics, mechanisms, and products, *J. Org. Chem.* 2017; 82:2817–2825.
- Zingg JM, Azzi A. Non-antioxidant activities of vitamin E. *Current Medicinal Chemistry.* 2004; 11:1113-1133.
- Zoeller Y, et all. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the endocrine society. *Endocrinology* 2012; 153:4097–4110.

## ÖZ GEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Merve ESKİCİ KAYMAK

**Doğum Yeri:** Sivas/ Merkez

**Doğum Tarihi:** 03.06.1993

**Medeni Hali:** Evli

**Bildiği Yabancı Diller:** İngilizce

**Mezun Olduğu Üniversite:** Kastamonu Üniversitesi Fazıl Boyner Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü (Lisans-2016)

**Çalıştığı Kurum:**

**İletişim Bilgileri:**

**Eposta:** mrvEskici93@hotmail.com