

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BİSFENOL A'YA MARUZ KALAN RAT DOKULARINA SİYAH HAVUÇ
EKSTRAKTININ ETKİSİ**

YUNUS ŞAHİN

KİMYA ANABİLİM DALI

ADYAMAN, 2019

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİSFENOLA'YA MARUZ KALAN RAT DOKULARINA SİYAH HAVUÇ
EKSTRAKTININ ETKİSİ**

Yunus ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Bu tez 25/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA
Danışman

Prof. Dr. Erol ASİLTÜRK
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hasan KARADAĞ
Üye

Prof. Dr. Murat KOCA
Enstitü Müdürü V.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİSFENOL A'YA MARUZ KALAN RAT DOKULARINA SİYAH HAVUÇ EKSTRAKTININ ETKİSİ

Yunus ŞAHİN

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA
Yıl: 2019, Sayfa sayısı: VIII+23

Jüri : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA
Prof. Dr. Erol ASILTÜRK
Dr. Öğr. Üyesi Hasan KARADAĞ

Siyah havuç suyunda antioksidan özellik gösteren birçok molekül vardır. Bisfenol A'nın (BFA) insanlara zararı bilinmektedir. Bu çalışmada ratlarda BFA ile oluşturulan oksitadif strese karşı siyah havuç suyunun etkileri araştırıldı. Deneyde kontrol grubu (K), BFA grubu (B), Siyah havuç suyu grubu (S), BFA+Siyah havuç suyu (BS) grupları oluşturuldu. Ratların beyin, karaciğer ve testis dokularında MDA ve GSH düzeyleri, Asetilkolinesteraz (AChE), Karboksilesteraz (CaE) ve glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri ölçüldü. B grubu MDA düzeyi her üç dokuda arttı ($p<0.01$, $p<0.001$). BS grubu MDA düzeyi her üç dokuda B grubuna göre azaldığı belirlendi. Testis dokusunda, CaE enzim aktivite düzeyi B grubunda azaldı ($p<0.001$). Testis dokusunda, BS grubu CaE enzim aktivitesi B grubuna göre arttı ($p<0.001$). Karaciğer dokusu CaE enzim aktivite düzeyi B, S ve BS gruplarında K grubuna göre azaldığı tespit edildi. B grubu GST düzeyi K grubuna göre karaciğer dokusunda azaldı ($p<0.05$). Karaciğerde, BS grubu GST düzeyi B grubuna göre arttı ($p<0.05$). B grubu AChE enzim aktivite düzeyi K grubuna göre beyin dokusunda arttı ($p<0.001$). Beyinde, BS grubu AChE enzim aktivite düzeyi B grubuna göre azaldı ($p<0.05$).

Sonuçlarımıza göre BFA'nın oluşturduğu oksitadif stresi siyah havuç suyu azaltmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A; Siyah havuç suyu; MDA; Enzim aktivitesi

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECT OF BLACK CARROT EXTRACT TO RAT TISSUES INDUCED BİSFENOL A

Yunus ŞAHİN

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Year: 2019, Number of pages: VIII+23

Jury : Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Prof. Dr. Erol ASILTÜRK
Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ

Black carrot juice has many molecules that show antioxidant properties. Bisphenol A (BFA) is known to cause harm to humans. In this study, the effects of black carrot juice against oxidative stress induced by BFA in rats were investigated. In the experiment, control group (K), BFA group (B), Black carrot juice group (S), BFA + Black carrot juice (BS) group were formed. MDA and GSH levels, Acetylcholinesterase (AChE), Carboxylesterase (CaE) and glutathione-S-transferase (GST) enzyme activities were measured in the brain, liver and testis tissues of rats. B group MDA levels increased in all three tissues ($p < 0.01$, $p < 0.001$). It was determined that BS group MDA level decreased in all three tissues compared to B group. In testis tissue, CaE enzyme activity level decreased in group B ($p < 0.001$). In testis tissue, BS group CaE enzyme activity increased compared to B group ($p < 0.001$). Liver tissue CaE enzyme activity level was decreased in B, S and BS groups compared to group K. B group GST level decreased in liver tissue compared to group K ($p < 0.05$). In the liver, BS group GST level increased compared to B group ($p < 0.05$). B group AChE enzyme activity level increased in brain tissue compared to K group ($p < 0.001$). In the brain, BS group AChE enzyme activity level decreased compared to B group ($p < 0.05$).

According to our results, the oxidative stress caused by BFA reduced black carrot juice.

Key Words: Bisphenol A; Black carrot juice; MDA; Enzyme activity

BEYAN

“Bisfenol A’ya Maruz Kalan Rat Dokularına Siyah Havuç Ekstraktının Etkisi” başlıklı tezimde çalışmaların tamamen akademik kurallara ve etik değerlere sadık kalınarak yürütüldüğünü ve yazımda yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ayrıca alıntılardan bilimsel etiğe uygun atıf yaparak yararlanmış olduğumu beyan ederim.

Yunus şAHİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim esnasında engin bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen ve çalışmalarım boyunca desteğinden ve gösterdiği yakın ilgiden dolayı Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA' ya, deneysel çalışmalarına katkılar sağlayan Dr.Öğr.Üyesi Ertan YOLOĞLU ve Dr.Öğr.Üyesi Miraç UÇKUN Hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca benden maddi ve manevi yardımını esirgemeyen değerli eşim Cansu BAKIR ŞAHİN'e ve tüm Kimya Bölümü Hocalarına da teşekkür ederim.

Yunus ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Bisfenol A	2
2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	4
2.3. Siyah Havucun Yapısal ve Biyokimyasal Özellikleri.....	4
2.4. Enzimler	5
2.5. GSH.....	5
2.6. Çalışmanın Amacı.....	5
3. MATERYAL ve METOD.....	7
3.1. Deney Hayvanları.....	7
3.2. Kimyasal Maddeler	7
3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar	8
3.4. Homojenizasyon ve Santrifüj İşlemleri.....	8
3.5. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	8
3.6. Glutasyon S-transferaz Aktivitesi.....	8
3.7. Karboksilesteraz Aktivitesi	9
3.8. Asetilkolinesteraz Aktivitesi	9
3.9. Malondialdehit Tayini	9
3.10. Redükte Glutasyon Tayini	10
3.11. Toplam Protein Miktarı Tayini	10
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	11
5. BULGULAR	12
6. TARTIŞMA	15
KAYNAKLAR	18
KİŞİSEL BİLGİLER	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 5.1 Karaciğer dokusu biyokimyasal parametreler.....	12
Çizelge 5.2 Beyin dokusu biyokimyasal parametreler.....	13
Çizelge 5.3 Testis dokusu biyokimyasal parametreler.....	14



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Bisfenol A kimyasal yapısı.....	2
Şekil 2.2 Glutatyonun genel formülü.....	5



SİMGELER VE KISALTMALAR

AChE	: Asetilkolin esteraz
ACTI	: Asetilkolin iodid
BFA	: Bisfenol A
CDNB	: 1-kloro-2,4-dinitrobenzen
CaE	: Karboksilesteraz
CAT	: Katalaz
DTNB	: 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoik
FÜTDAM	: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneyisel Araştırma Merkezi
GSH	: Glutasyon
GSH-P _x	: Glutasyon Peroksidz
GSSG	: Okside Glutasyon
GR	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon-s-transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
H ₂ SO ₄	: Sülfürik asit
MDA	: Malondialdehit
PNPA	: p-nitrofenil asetat
ROT	: Reaktif Oksije Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Trikloro Asetik Asit
TCA	: Thiobarbiturik Asit

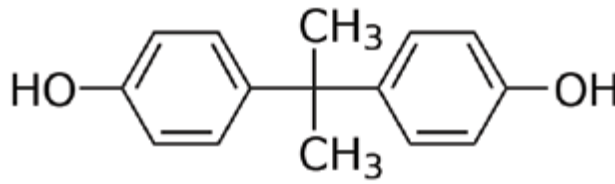
1. GİRİŞ

Bisfenol A'nın (BFA) özellikle polikarbonat plastiklerin içeriğinde, bazı medikal malzemelerde, metal kapların iç kaplamasında ve birçok plastik çeşitlerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Endüstride ve günlük hayatımızda kullanılan birçok malzemenin içeriğinde BFA bulunmaktadır. Ayrıca konserve kutuların iç kısımlarında ve pet şişelerin yapısında bulunan BFA, insanları ve çevreyi tehlikeye düşürebilecek tarzda kimyasal bir maddedir [1-3]. Günümüzde çocukların beslenmesinde biberonlar yaygın olarak kullanılır ve biberon yapısında bulunan BFA bebeğin metabolizmasına geçer [4-9]. Siyah havuç (*Daucus carrot L.*) günümüzde yaygın olarak tüketilen bir besindir. Turuncu ve siyah renkleri olan havuçun yapısında birçok kimyasal molekül mevcuttur. Özellikle siyah havuç içeriğinde antosiyaninler gibi flavonoid türevli moleküller vardır. Siyah havuç içeriğinde bulunan polifenol türevli bu moleküllerin antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal gibi etkiler bulunmaktadır [10].

Bu tez çalışmasında BFA verilen rat karaciğer, beyin ve testis dokularında siyah havuç suyunun bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER**2.1. Bisfenol A**

BFA'nın kimyasal açık formülü (2,2-bis-4-hidroksifenil propan) dır. Bileşiğin molekül ağırlığı 228,19 g/mol, kaynama noktası 220 °C, erime noktası 156 °C dir. Bu bileşiğin yapısında iki fenol grubu, iki metil grubu ve hidroksil grupları mevcuttur.



Şekil 2.1 Bisfenol A kimyasal yapısı

BFA 1891 yılında keşfinden sonra 20. yüzyılın ortalarında endüstride aşırı bir kullanımı olmuştur. Günlük hayatımıza giren plastiklerin yapısında en yaygın olarak BFA bulunmaktadır. Bu molekül plastik yapılarına özellikle polikarbonata katılarak dayanıklılık sağlamaktadır. Birçok kullanım alanlarına sahip olan BFA, metal konserve kutularının iç yüzeylerinde, biberon, diş dolgu malzemeleri içeriğinde, inşaat malzemelerinde, CD-ROM, tıbbi cihazlarda, saklama kaplarda, plastik şişeler, tabaklar, bardaklar ve mikrodalga fırın kaplarında kullanılmaktadır [11]. Genel olarak sanayide plastik yapımında polikarbonat reçine ve epoksi reçine yapımlarında kullanılmaktadır [12-14].

İnsanlar BFA'ya su, hava, toprak ve yiyecekler yoluyla maruz kalmaktadır [15]. Özellikle yiyecek ve içecek kaplarından geçen BFA, kapların bulunduğu ortamdaki şartlara göre yiyeceklere geçme oranlarının arttığı belirtilmiştir. Plastik su şişelerinde oda sıcaklığında 5 gün bekletildikten sonra yapılan ölçümlerde (0.234 ng/ml-1nM) BFA saptanmıştır. Su şişelerinde ölçülen bu miktarın ısının etkisiyle artabileceği belirtilmiştir [16].

Ayrıca bu durum gıda kutularında görülmektedir. Kanada'da üretilen konserve gıda ürünlerinde yapılan araştırmalarında BFA tespit edilmiştir. Özellikle konserve ton balık ürünlerinde yüksek düzeyde BFA tespiti yapılmıştır [17].

BFA'nın metabolizmada birçok zararları vardır. BFA'nın meme kanseri için potansiyel bir risk faktörü olarak bildirilmiştir. Ayrıca BFA'nın meme tümör oluşumunu ve metastazını hızlandığı rapor edilmiştir [18-19].

Dünyada kronik hastalıklar arasında astım hastalığı da mevcuttur. Özellikle çocuklarda bu oran her geçen yıl artmaktadır [5]. Son yıllarda yapılan bir çalışmada, astım rahatsızlığı olan çocuklarda BFA konsantrasyonları arasında pozitif korolasyon olduğu rapor edilmiştir [20].

Oksidatif stres sonucunda hücrede reaktif oksijen türleri artmaktadır. Reaktif oksijen türleride hücrede lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerin yapılarını bozmaktadır. Oksidatif stres yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet ve kanser gibi birçok patojenik hastalığa neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda BFA'nın neden olduğu hasarların oksidatif stres ile ilişkilerini ortaya koymuştur [21-22]. Bisfenolün oluşturduğu oksidatif stres parametreleri karaciğer ve beyin dokularında tespiti yapılmıştır [23-24].

BFA'nın günümüzde en yaygın hastalıklarından olan obezite ile ilişkileri olduğu tespit edilmiştir. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada obez kişilerin idrarlarındaki BFA ölçümleri yapılmış ve yüksek çıktığı tespit edilmiştir [25]. Ayrıca ratlarda yapılan çalışmada BFA uygulaması ile ratların kilolarında artışlar tespit edilmiştir. Bu durum BFA'nın zayıf östrojenik özellik göstermesinden kaynaklandığı rapor edilmiştir [7].

BFA'nın en önemli zararlarından biride fetal dönemde plesentaya geçmesiyle oluşturduğu zarardır. Özellikle BFA'nın bu dönemde oluşturduğu tahribat sonucunda nöral gelişim ve bağışıklık sistemi olumsuz etkilenir. Hayvan çalışmalarında BFA'nın fetüse geçtiği rapor edilmiştir [26]. Anne sütü ile beslenmeyen bebekler, biberon içerisine konulan mamalarla beslenmektedir. Biberonların yapısında bulunan BFA, ısınmada etkisiyle eser oranda mamaya karışmaktadır. Bu yolla BFA bebeğin metabolizmasına geçmektedir. Bu nedenlerden dolayı Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri, BFA içerikli biberonların kullanımını yasaklamıştır [27].

BFA'nın metabolizmada diğer zararlı etkilerinden bir taneside üreme sistemleri üzerine olan olumsuz etkilerdir. BFA, testosteron sistemini inhibe ettiği

rapor edilmiştir. Ratlarda yapılan çalışmalarda bu madde spermatojenezi durumunu olumsuz etkilediği bildirilmiştir [28].

2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücrenin reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ile ortaya çıkmaktadır. Bu esnada hücrenin antioksidan sisteminde istenilmeyen değişimler söz konusudur. Hücrenin prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik artarak hücrenin biyokimyasal yapısı bozulmaya başlar. Özellikle hücrede lipitler, DNA, proteinler ve karbonhidrat yapılarına saldıran radikaller oksidatif stresi artırır. Oksidatif stres sonucunda birçok hastalık durumu söz konusudur. Özellikle, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, diyabet, karaciğer sirozu, AIDS, Down sendromu, mide ülseri gibi birçok hastalıkla oksidatif stresin pozitif ilişkisi vardır. Hücre oksidatif strese karşı kendini endojen ve ekzojen kaynaklarla savunmaktadır. Hücre içinde üretilen enzimler ve bazı moleküller ile dışarıdan alınan besin kaynakları hücrenin korunmasında önemli rol oynar. Süperoksit dismutaz (SOD) , katalaz (CAT) , glutatyon peroksidaz (GSH-Px) , glutatyon redüktaz (GR) , glutatyon (GSH), proteinler, mineraller gibi birçok etken hücrenin savunmasında rol oynar [29-32].

2.3. Siyah Havucun Yapısal ve Biyokimyasal Özellikleri

Havuç bitkisinin içeriğinde antosiyaninler, vitaminler, fenolik asitler ve birçok mineraller mevcuttur. Siyah havuç yapısında bulunan antosiyaninlerden rengini alırken, kırmızı havuç likopenden, turuncu havuç ise yapısındaki karotenden alır.

Siyah havuç içeriğinde minerallerden demir, potasyum, fosfor, kalsiyum ve sodyum mineralleri bulunmaktadır. Siyah havucun yapısında polifenolik yapıda antosiyaninler, flavonollar, sinamik asit gibi birçok molekül vardır. Siyah havuç ile yapılan birçok çalışmada metabolizmaya etkileri açıklanmıştır. Bu etkiler diyabet bozukluklarına, antikanserojen, antioksidan, damar tıkanıklığı, nörodejeneratif ve antienflamatuar gibi pozitif etkilerdir. Siyah havuç yapısındaki en etkili moleküller

antosiyeninlerdir. Bu moleküllerin metabolizmada antitoksit, antikanserojen, radikal süpürme ve antioksidan etkileri rapor edilmiştir [33-43].

2.4. Enzimler

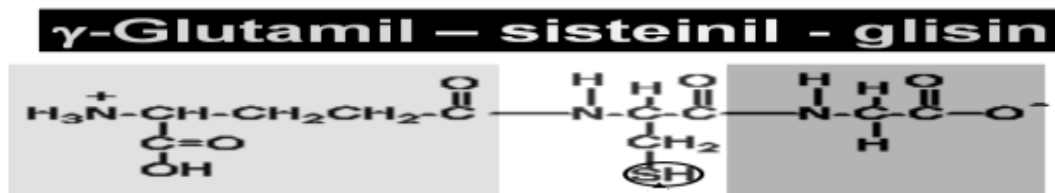
Asetilkolinesteraz (AChE) (E.C. 3.1.1.7), asetilkolin bağımlı nörotransmisyonunda rol oynayan özgül bir esterazdır [44-45].

Glutatyon-S-Transferaz (GST) (E.C. 2.5.1.18), tripeptid glutatyonun tiyol grubu ile reaktif bir elektrofilik merkeze sahip, organik moleküllerin konjugasyonunu katalizleyen sitozolik bir enzim grubudur [46]. Karboksilesteraz (CaE) (E.C. 3. 1. 1. 1) esterlerin, amidlerin ve tioesterlerin hidrolizini katalizleyen esterazların serin hidrolazlar süper ailesinin üyesidirler [47-48].

2.5. GSH

Glutatyon (GSH), hücrede radikallerin oluşturduğu hasarı engelleyen önemli bir antioksidan moleküldür.

En önemli görevi hücrede radikallerin saldırdığı protein tiyollerini korumaktır. GSH' ın yapısında glisin, glutamin ve sistein yapısı mevcuttur [49-53].



Şekil 2.2 Glutatyonun genel formülü [53].

2.6. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada BFA verilen rat dokuları üzerine siyah havuç suyunun bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırıldı. BFA, hayvan metabolizmasında serbest radikal oluşumunu artırmaktadır. Bunun sonucunda hücrede lipid

peroksidasyon oluşumu artarak hücrede birçok olumsuz durumlar ortaya çıkmaktadır. Siyah havuç suyu halk arasında gerek suyu gerekse değişik ürünleri kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda siyah havuç suyu içeriğinde yüksek düzeyde antosiyaninler, flavonlar gibi birçok polifenol türevli maddeler bulunmaktadır. Bu çalışmada, siyah havuç suyunun BFA'nın oluşturduğu oksidatif strese karşı koruyucu etkileri araştırıldı. Çalışmada rat dokularında MDA ve GSH düzeyi ile GST, CaE ve AChE enzim düzeylerine bakılmıştır.



3. MATERİYAL ve METOD**3.1. Deney Hayvanları**

Deneyde Wistar *albino* cinsi erkek ratlar kullanıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜTDAM) kurumundan temin edildi. Etik kurul kararı FÜTDAM'dan alındı. Deneyde dört grup oluşturuldu. Ratların ortalama ağırlığı 230 gr (230 ± 20 gr) dır. Kontrol grubu (K), BFA grubu (B), Siyah Havuç Suyu grubu (S) ve BFA + Siyah Havuç Suyu grubu (BS) olarak gruplar oluşturuldu. Her grupta 7 rat vardır. Deneysel süreç 60 gündür. Gruplar;

1. Kontrol grubu (K)
2. BFA grubu (B)
3. Siyah Havuç Suyu grubu (S)
4. BFA + Siyah Havuç Suyu grubu (BS)

Siyah havuçlar önce yıkanıp, temizlendi. Daha sonra katı meyve sıkacağından geçirildi ve elde edilen siyah havuç suyu 4 ml/kg dozda ratlara oragastrik olarak verildi. Siyah havuç suyu uygulama öncesi taze olarak hazırlandı [54]. Bindhumol ve arkadaşları [55] 30 gün süresince oral olarak uygulanan BFA'nın 0.2, 2 ve 20 µg/kg dozlarda oksidatif strese yol açtığını rapor etmişlerdir. Bütün bu veriler göz önüne alınarak, oragastrik sonda ile 20 µg/kg dozda iki ay süresince gūnaşırı olarak BFA verildi.

Deneyler tamamlanınca hayvanların beyin, karaciğer ve testis dokuları çıkarıldı ve analizler için -50°C'de saklandı.

3.2. Kimyasal Maddeler

1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoik asit (DTNB), p-nitrofenil asetat (PNPA), asetilthiokolin iyodid, redükte glutatyon, bovine serum albumin (BSA) , Bradford ayırıcı, fizyolojik su, H₂SO₄, potasyum bikarbonat, etil alkol, izopropil alkol, n-hekzan, metanol ve sodyum klorür.

3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar

Homojenizatör, santrifüj cihazı, mikrolaka okuyucu spektrofotometre cihazı, derin dondurucu (-50 °C), deney tüpleri, su banyosu, gaz kromatografisi (GC), cam tüpler, vorteks ve otomatik pipetler.

3.4. Homojenizasyon ve Santrifüj İşlemleri

Önce, homojenizasyon tamponu (0.1 M, pH 7.4 potasyum fosfat tamponu içinde; 1 mM DTT, 0.15 M KCl, 1 mM EDTA) soğuk olarak hazırlandı. Doku ağırlığının 4 katı hacminde (w/v) tampon içinde homojenizasyon işlemi yapıldı. Homojenizatörde dokular, 3000 rpm'de 30 saniye süreyle parçalandı. Elde edilen homojenatlar ependorf tüplerine alındı. Homojenatların santrifüj işlemleri, 16,000 $\times g$ devirde 4°C'de 20 dakikada tamamlandı. Santrifüj işlemi bittikten sonra süpernatant kısmı alınarak enzim aktivitelerinin ölçümleri yapıldı.

3.5. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Dokuların enzim aktiviteleri ve toplam protein miktarını mikrolaka okuyucu sistemi (Thermo™ Varioskan Flash) kullanılarak gerçekleştirildi.

Her enzimin aktivitesi ve toplam protein miktarı ölçümleri, üç tekrarlı absorbans okuması yapılarak gerçekleştirildi. Her enzimin aktivitesi ve toplam protein düzeyleri ölçüldükten sonra spesifik aktivite (nmol/dk/mg protein) olarak belirtildi.

3.6. Glutasyon S-transferaz Aktivitesi

Spektrofotometrik yöntemde, mikrolaka okuyucu sistemde GST aktivitesi okundu. Habig ve arkadaşları (1974) tarafından kullanılan yöntemde göre işlemler gerçekleştirildi [56]. Reaksiyonda %96'lık etanolde, substrat olarak CNBD, kofaktör olarak redükte glutasyon kullanıldı. 10 μ L süpernatant, 0.1 M, pH 6.5 100 μ L fosfat tamponu, 0.002 M 100 μ L GSH karışımı, 10 μ L CDNB mikrolaka okuyuculara

pipetlendi. Karışım 15 sn karıştırıldı, 2 dakika süre ile 25 °C’de 344 nm’de absorbans değişimi kaydedildi.

3.7. Karboksilesteraz Aktivitesi

CaE aktivitesi, spektrofotometrik yöntemle mikrolaka okuyucu sistemde ölçüldü. CaE aktivitesi, 2 dakika süreyle 405 nm’de absorbans değerleri okundu [57-58] . Substrat, 26 mM %96’lık etanol içinde hazırlanan PNPA kullanıldı. Reaksiyon çözeltisinde, 5 µL örnek ve 250 µL, 0.05 M trizma pH 7.4 tamponu içermektedir. Karışım 3 dakika 25°C’de bekletilmeye bırakılarak, son konsantrasyon 0.5 mM olacak şekilde 5 µL PNPA ilave edilir. Sonra absorbans değişimleri kaydedildi.

3.8. Asetilkolinesteraz Aktivitesi

AChE aktivitesi tayini, Ellman tarafından prensipleri belirtilen ve Özmen vd. tarafından modifiye edilmiş, mikrolaka okuyucu sisteminde gerçekleştirildi. Substrat olarak asetilkolin iodid (ACTI) kullanıldı. 10 µl süpernatant mikrolaka okuyucularına pipetlendi. Süpernatantın üzerine, 0.701 mM ACTI, 0.136 mM DTNB, 0.1 M trizma pH 8.0 tamponu içerisinde hazırlanmış karışımdan 200 µl eklendi. Karışım mikrolaka okuyucuya yerleştirildi ve 10 saniye çalkalandı. Sonra 25°C’de, 1 dakika 412 nm de absorbans değişimi okunarak kaydedildi [59-60] .

3.9. Malondialdehit Tayini

MDA, lipid peroksidasyon ürünüdür. Çok önemli bir biyokimyasal parametredir. MDA düzeyi Placer (1966) tarafından belirtilen metota göre yapıldı. Yöntemde mikrolaka okuyucu sistemi kullanıldı. Reaktifler 0,25 N HCl içerisinde %0.375 tiobarbiturik asit (TBA) ve %15 trikloroasetik (TCA) asit kullanıldı. Örnekler 532 nm’de absorbans değerleri okundu. MDA miktarı birimi nmol/mg protein doku olarak belirtildi [61].

3.10. Redükte Glutasyon Tayini

1979 yılında Moron tarafından geliştirilen yöntemle göre redükte glutasyon miktarı bulundu. Mikroplaka okuyucu sisteminde redükte glutasyon ölçümleri alındı. 5 µl süpernatant üzerine 120 µl 0.5 mM pH 6.8 DTNB çözeltisi eklendi. Reaksiyon karışımı 25°C’de renk değişimine bağlı olarak 412 nm dalga boyunda absorbanans değeri okundu. GSH miktarı nmol/mg protein doku olarak belirtildi [62].

3.11. Toplam Protein Miktarı Tayini

Bradford (1976) tarafından geliştirilen yöntemle göre doku homojenatlarının toplam protein miktarları belirlendi. Okumada mikroplaka okuyucu sistemi kullanıldı. Süpernatant örnekleri 1:4 oranında sulandırılır ve 5 µl alınarak üzerine 250 µl Bradford ayracı eklenir. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında ve 15 dakika inkübe edildi. Sonra, 595 nm dalga boyunda absorbanans değerleri ölçüldü [63].

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Deneyisel çalışma sonucunda elde edilen bulguların İstatistiksel değerlendirmesi SPSS 20,0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar karşılaştırılmasında Varyans analizi olarak ANOVA’da yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Tukey testi uygulanarak sonuçlar elde edildi. Standart sapma olarak standart error alındı.



5. BULGULAR

Çizelge 5.1 Karaciğer dokusu biyokimyasal parametreler

Gruplar	MDA (nmol/mg protein)	GST (nmol/dk/mg protein)	CaE (nmol/dk/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)
K	0,174 ± 0,01	33 ± 2,17	1595 ± 75	117 ± 7
B	0,257 ± 0,019 ^b	27 ± 2,13 ^a	1316 ± 80 ^a	103 ± 2 ^a
S	0,159 ± 0,018 ^z	37 ± 0,94 ^y	1351 ± 88 ^a	119 ± 4 ^x
BS	0,103 ± 0,05 ^{az}	36 ± 0,49 ^y	1266 ± 48 ^a	106 ± 3

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

B grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Karaciğer dokusu MDA düzeyi incelendiğinde B grubu MDA düzeyi diğer gruplara göre yüksek çıktığı gözlemlendi. (p<0.01, p<0.001). K ve S grupları MDA düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlenirken (p>0.05), BS grubu MDA düzeyi B grubuna göre oldukça düşük çıktığı saptandı (p<0.001). K, S ve BS grupları GST enzim aktivite düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı saptanırken (p>0.05), B grubu GST enzim aktivite düzeyinin K grubuna göre azaldığı tespit edildi (p<0.05). BS ve S grubu GST enzim aktivite düzeyi B grubuna göre yüksek çıktığı gözlemlendi (p<0.01). K grubu CaE enzim aktivite düzeyi diğer gruplara göre yüksek çıktığı tespit edildi (p<0.05). B grubu GSH düzeyi K grubuna göre azaldığı gözlemlendi (p<0.05). S grubu GSH düzeyi B grubuna göre yüksek çıktığı tespit edildi (p<0.05).

Çizelge 5.2 Beyin dokusu biyokimyasal parametreler

Gruplar	MDA (nmol/mg protein)	AChE (nmol/dk/mg protein)	GST (nmol/dk/mg protein)	CaE (nmol/dk/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)
K	0,104 ± 0,004	110 ± 4,36	21 ± 1,15	238 ± 5,77	84 ± 3
B	0,424 ± 0,023 ^c	159 ± 11,1 ^c	33 ± 3,12 ^c	328 ± 34,87 ^a	107 ± 4 ^b
S	0,200 ± 0,022 ^{bz}	114 ± 7,84 ^z	23 ± 1,06 ^y	227 ± 14,56 ^y	99 ± 5
BS	0,256 ± 0,013 ^{cz}	127 ± 2,71 ^x	22 ± 0,69 ^y	210 ± 5,95 ^y	78 ± 3 ^z

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

B grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Beyin dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde; B grubu MDA düzeyinin K grubuna göre arttığı tespit edildi (p<0.001). B grubu MDA düzeyine göre S ve BS gruplarında azalma gözlemlendi (p<0.001). K grubu AChE düzeyine göre B grubunda artma saptandı (p<0.001). S ve BS grupları AChE düzeyleri B grubuna göre azaldığı tespit edildi (p<0.05, p<0.001). K, S ve BS grupları GST düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edilirken (p>0.05), B grubu GST düzeyinin K gruplarına göre arttığı gözlemlendi (p<0.001). Beyin dokusu CaE enzim aktivite düzeyi incelendiğinde, B grubu CaE enzim aktivite düzeyi K grubuna göre yüksek çıktığı saptandı (p<0.05). B grubu GSH düzeyi K ve BS gruplarına göre yüksek çıktığı gözlemlendi (p<0.01, p<0.001).

Çizelge 5.3 Testis dokusu biyokimyasal parametreler

Gruplar	MDA (nmol/mg protein)	GST (nmol/dk/mg protein)	CaE (nmol/dk/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)
K	0,294 ± 0,012	68 ± 2,72	1430 ± 32	67 ± 3
B	0,605 ± 0,015 ^c	56 ± 2,50 ^a	812 ± 75 ^c	73 ± 4
S	0,243 ± 0,038 ^z	88 ± 7,30 ^{cz}	1661 ± 75 ^z	93 ± 4 ^{ax}
BS	0,233 ± 0,045 ^z	83 ± 3,41 ^{cz}	1573 ± 91 ^z	95 ± 5 ^{ax}

K grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001

B grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Testis dokusu MDA düzeyi incelendiğinde, B grubu MDA düzeyi K grubuna göre arttığı tespit edildi (p<0.001). BS ve S grupları MDA düzeyi B grubuna göre azaldığı gözlemlendi (p<0.001). B grubu GST düzeyi K grubuna göre azaldığı gözlenirken (p<0.05), S ve BS grupları GST düzeyleri K grubuna göre arttı (p<0.001). B grubu CaE düzeyi K grubuna göre önemli düzeyde azaldığı saptandı (p<0.001). K, S ve BS grupları CaE düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı tespit edildi (p>0.05). K ve B grupları GSH düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı gözlenirken (p>0.05), S ve BS grupları GSH düzeyleri K ve B gruplarına göre arttığı tespit edildi (p<0.05).

6. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, BFA verilen rat karaciğer, testis ve beyin dokuları üzerine siyah havuç suyunun MDA, AChE, CaE, GST ve GSH biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışmada, karaciğer, beyin ve testis dokuları MDA düzeyleri BFA verilen ratlarda önemli düzeyde arttığı gözlemlendi. MDA lipid peroksidasyon ürünü olarak bilinmektedir. Siyah havuç suyu uygulaması yaptığımız gruplarda ise BFA uygulaması ile artan MDA düzeylerini azalttığı tespit edildi. Yüksek dozlarda BFA'nın karaciğer yapısal özelliklerini değiştirdiği rapor edilmiştir [64]. BFA böbrekte toksik etkilerinden dolayı nefrotoksik ajan olarak nitelendirilmektedir [65]. BFA reaktif oksijen türlerinin oluşumunu hızlandırarak karaciğer, böbrek ve diğer dokularda tahribata neden olur [66]. Ayrıca, düşük dozlarda uygulanan BFA, lipid peroksidasyonunu arttırdığı ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini azalttığı rapor edilmiştir [67].

Çalışmada BFA'nın karaciğer dokusu antioksidan enzim sistemine olumsuz etkilerini açıkça görmekteyiz. BFA uygulanan bireysel grubun GSH düzeyinin ve GST ile CaE enzim aktivitelerinden kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi. BFA verilen ratların karaciğer dokularında birçok biyokimyasal parametre düzeyleri incelenmiştir. Ratlara oral yolla BFA 0.2, 2 ve 20 µg/kg olarak hergün bir ay süresince oral yolla verilmiştir. BFA'nın ratlara verilen konsantrasyona göre CAT, GR, GSH-Px ve SOD enzim aktivite düzeyleri önemli düzeyde azaldığı rapor edilmiştir. BFA'nın rat uygulamasında konsantrasyonu arttıkça bu enzim aktivitelerinin azaldığını anlamaktayız. Ayrıca bu konsantrasyon çalışmasında lipid peroksidasyon düzeyinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. Raporda belirtilen uygulamada 20 µg/kg dozajını bu çalışmada uygulandı ve bakılan parametrelerde uygunluk gözlemlendi [55].

BFA ile yapılan başka bir çalışmada, BFA'nın rat plasma, karaciğer ve böbrek dokularındaki bazı biyokimyasal parametrelere etkileri araştırılmıştır. BFA uygulanan rat plazmalarında AST, ACT, üre ve kreatin düzeylerini arttırdığı rapor edilmiştir.

Karaciğer ve böbrek dokularında lipid peroksidasyon düzeyi TBARS'ın önemli düzeyde BFA grubunda arttığı ve GSH düzeyi ile SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinin önemli düzeyde azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca BFA'nın bu dokularda CAT ve GST enzim aktivitelerini önemli düzeyde bozduğu belirtilmiştir [68]. Ayrıca belirtilen bu çalışmada BFA'ya karşı uygulanan Ginlego biloba ekstraktı ve melatonin'in yukarıda belirtilen parametreleri olumlu yönde düzeltici etkisi olduğu rapor edilmiştir.

Dişi ratlarda uygulanan BFA'nın karaciğer dokusu üzerine etkileri araştırılmıştır. 0.5 ve 50 µg/kg uygulanan BFA'nın rat karaciğerleri üzerine olumsuz etkileri araştırmasında bu maddenin MDA ve NO konsantrasyon düzeylerini arttırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca antioksidan enzimlerden SOD, CAT, GSH-Px enzim aktivite düzeylerinin önemli oranda azaldığı açıklanmıştır [69]. Yapılan başka bir çalışmada BFA'ya karşı *Asparagus officinalis* ekstraktı uygulama çalışması yapılmıştır. Belirtilen çalışmada BFA'nın serum AST, ALT, ALP, bilibürin, üre ve keratin seviyelerini arttırdığı açıklanmıştır. BFA'nın karaciğer dokusunda MDA düzeyini arttırırken, GSH ve total antioksidan kapasite düzeyini azalttığı bildirilmiştir. *Asparagus officinalis* ekstraktının BFA'nın oluşturduğu toksiteyi azalttığı rapor edilmiştir [70].

Çalışmamızın önemli bulgularından biride beyin dokusu AChE aktivite düzeyinin BFA grubunda yüksek çıkmasıdır. Çalışmada uygulanan BFA 20 µg/kg dozda iki ayda, gün aşırı ve orogastrik olarak uygulaması ratlara yapıldı. Ayrıca beyin dokusu BFA grubu, GST, CaE ve AChE enzim aktivite düzeylerinin BFA grubunda artması, BFA'nın oluşturduğu oksidatif strese karşı bu enzimlerin aktivitelerini arttırdığını düşünmekteyiz.

Yapılan başka bir çalışmada, BFA (14 gün, tek doz BFA 50 µg/kg) uygulaması yapılan ratların beyin ve testis dokuları üzerine etkileri çalışmasıdır. BFA'nın beyin dokusu AChE aktivitelerini önemli düzeyde azalttığı rapor edilmiştir. Ayrıca beyin dokusu MDA düzeyini BFA arttırırken, SOD ve CAT enzim aktivitelerini önemli düzeyde azalttığı belirtilmiştir. Testis dokusu üzerine ise BFA'nın, testosteron düzeyini, sperm sayısını, günlük sperm üretimini, sperm hareketliliğini azalttığı rapor edilmiştir [71].

Çalıştığımız üç dokudada, siyah havuç suyu uygulanan ratların doku MDA düzeyleri BFA grubuna göre azalttığını tespit ettik. Testis dokusu siyah havuç suyu verilen grupların GSH, CaE ve GST enzim aktivite düzeylerini arttırdığı gözlemlendi. Beyin dokusunda ise BFA'nın arttırdığı GSH, AChE, GST ve Cae enzim aktivitelerini siyah havuç suyu verilen gruplarda kontrol grubu seviyesine indirildiğini tespit ettik. Karaciğer dokusunda ise GSH ve GST düzeylerinde siyah havuç suyu gruplarında artışlar gözlemledik. Siyah havuç suyu içeriğinde birçok polifenol türevli moleküller bulunmaktadır. Siyah havuç içeriğinde minerallerden demir, potasyum, fosfor, kalsiyum ve sodyum mineralleri bulunmaktadır. Siyah havucun yapısında polifenolik yapıda antosiyaninler, flavonollar, sinamik asit gibi birçok molekül vardır. Siyah havuç ile yapılan birçok çalışmada metabolizmaya etkileri açıklanmıştır. Bu etkiler diabet bozukluklarına, antikanserojen, antioksidan, damar tıkanıklığı, nörodejeneratif ve antienflamatuar gibi pozitif etkilerdir. Siyah havuç yapısındaki en etkili moleküller antosiyaninlerdir. Bu moleküllerin metabolizmada antitoksit, antikanserojen, radikal süpürme ve antioksidan etkiler rapor edilmiştir [33-43].

Sonuç olarak siyah havuç suyunun BFA'nın oluşturduğu oksidatif stresi azaltıcı yönde etkileri olduğunu düşünmekteyiz. Yapılacak ileriki çalışmalarda sonuçlarımızın ışık tutacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1] J.H. Kang, D. Asai, Y. Katayama, “Bisphenol A in the aquatic environmental and its endocrine-disruptive effects on aquatic organisms”, *Crit Rev Toxicol* 37, 607-625, 2007.
- [2] D.J. Brunelle, “Advances in polycarbonates: An overview”, *American Chemical Society Symposium* 898: 1-5. Series, 2005.
- [3] R.U. Halden, “Plastics and health risks”, *Annu Rev Public Health* 31, 179-194, 2010.
- [4] R. Smith-Bindman, “Environmental causes of breast cancer and radiation from medical imaging: findings from the Institute of Medicine report”. *Arch Intern Med*, 172: 1023–7, 2012.
- [5] B. Bloom, R.A. Cohen, G. Freeman, “Summary Health Statistics for U.S. Children: National Health Interview Survey”, *Vital Health Stat* 10 2010:1–82, 2009.
- [6] S.Anjum, S. Rahman, K. Kaur, F. Ahmad, H. Rashid, R.A. Ansari, “ Melatonin ameliorates bisphenol A-induced biochemical toxicity in testicular mitochondria of Mouse”. *Food Chem Toxicol*, 49: 2849–54, 2011.
- [7] F.S. Vom Saal, S.C. Nagel, B.L. Coe, B.M. Angle, J.A. Taylor, “ The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity”. *Mol Cell Endocrinol*, 354: 74–84, 2012.
- [8] T. Corbel, V. Gayrard, C. Viguie, S. Puel, M.Z. Lacroix, P.L. Toutain, N. Picard-Hagen, ”Bisphenol A Disposition in the Sheep Maternal-Placental-Fetal Unit: Mechanisms Determining Fetal Internal Exposure”. *Biol Reprod*, 89 (1): 1–9, 2013.
- [9] F.S. Vom Saal, C.A. VandeVoort, J.A.W. Taylor, W.V. Welshonsd, P.L. Toutaine, P.A. Hunt, “Bisphenol A (BPA) pharmacokinetics with dailyoral bolus orcontinuous exposure via silasticcapsules in pregnant rhesusmonkeys: Relevancefor human exposures”. *Reprod Toxicol* 45: 105-116, 2014.
- [10] A.V. Rao, L.G. Rao, “Carotenoids and human health”. *Pharmaceutical Research*, 55, 207-216, 2007.
- [11] T. Geens, L. Goeyens, A. Covaci, “Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked” *Int J Hyg Environ Health* 2011;214:339–47, 2011.
- [12] A. Quitmeyer, R. Roberts, “Babies, Bottles, and Bisphenol A: The Story of a Scientist-Mother”. *PLoS Biol*, 5(7): e200, 2007.
- [13] J. Michalowicz, “Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation”. *Environ Toxicol Pharmacol*, 37: 738–58, 2014.
- [14] A. Careghini, A.F. Mastorgio, S. Saponaro, E. Sezenna, “Bisphenol a, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surfacewater, sediments, and food: a review”. *Environ SciPollut Res*, 22: 5711–41, 2015.
- [15] J.H. Kang, F. Kondo, Y. Katayama, “Human exposure to bisphenol A”. *Toxicology*, 226:79–89, 2006.

- [16] J.E. Cooper, E.L. Kendig, S.M. Belcher, "Assessment of bisphenol A released from reusable plastic, aluminium and stainless steel water bottles". *Chemosphere*, 85: 943–7, 2011.
- [17] X-L. Cao, J. Corriveau, S. Popovic, "Bisphenol A in canned food products from Canadian markets. *J Food Prot*, 73: 1085–9, 2010.
- [18] R. Smith-Bindman, "Environmental causes of breast cancer and radiation from medical imaging: findings from the Institute of Medicine report. *Arch Intern Med*, 172: 1023–7, 2012.
- [19] S.H. Dairkee, J. Seok, S. Champion, A. Sayeed, M. Mindrinos, W. Xiao, "Bisphenol A induces a profile of tumor aggressiveness in high-risk cells from breast cancer patients". *Cancer Res*, 68: 2076–2080, 2008.
- [20] K.M. Donohue, R.L. Miller, M.S. Perzanowski, A.C. Just, L.A. Hoepner, S. Arunajadai, "Prenatal and postnatal bisphenol A exposure and asthma development among inner-city children". *J Allergy Clin Immunol*, 131: 736–742, 2013.
- [21] S. Anjum, S. Rahman, M. Kaur, F. Ahmad, H. Rashid, R.A. Ansari, "Melatonin ameliorates bisphenol A-induced biochemical toxicity in testicular mitochondria of mouse". *Food Chem Toxicol*, 49: 2849–54, 2011.
- [22] D. Tiwari, J. Kamble, S. Chilgunde, P. Patil, G. Maru, D. Kawle, "Clastogenic and mutagenic effects of bisphenol A: an endocrine disruptor". *Mutat Res*, 743: 83–90, 2012.
- [23] V. Bindhumol, K.C. Chitra, P.P. Mathur, "Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats". *Toxicology*, 188: 117–24, 2003.
- [24] M. Aydoğan, A. Korkmaz, N. Barlas, D. Kolankaya, "The effect of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced brain damages of male rats". *Toxicology*, 249: 35–9, 2008.
- [25] J.L. Carwile, K.B. Michels, "Urinary bisphenol A and obesity": NHANES 2003–2006. *Environ Res*, 111: 825–30, 2011.
- [26] T. Corbel, V. Gayraud, C. Viguie, S. Puel, M.Z. Lacroix, P.L. Toutain, N. Picard-Hagen, "N. Bisphenol A Disposition in the Sheep Maternal-Placental-Fetal Unit: Mechanisms Determining Fetal Internal Exposure". *Biol Reprod*, 89(1): 1–9, 2013.
- [27] F.S. Vom Saal, C.A. VandeVoort, J.A. Taylor, W.V. Welshons, P.L. Toutain, P.A. Hunt, P.A. "Bisphenol A (BPA) pharmacokinetics with daily oral bolus or continuous exposure via silastic capsules in pregnant rhesus monkeys: Relevance for human exposures". *Reprod Toxicol*, 45: 105–16, 2014.
- [28] P. Wisniewski, R.M. Romano, M.M.L. Kizys, K.C. Oliveira, T. Kasamatsu, G. Giannocco, M.I. Chiamolera, M.R. Dias-da-Silva, M.A. Romano, "Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic–pituitary–testicular axis". *Toxicology*, 329: 1–9, 2015.
- [29] K. Sowndhararajan, J.M. Joseph, S. Manian, "Antioxidant and free radical scavenging activities of Indian acacias: *Acacia Leucophloea* (Roxb.) Willd., *Acacia Ferruginea* Dc., *Acacia Dealbata* Link. and *Acacia Pennata* (L.) Willd.", *International Journal of Food Properties*, 16: 1717–1729, 2013.

- [30] N.J.N. Brito, J.A. Lopez, M.A.D. Nascimento, J.B.M. Macedo, "Antioxidant activity and protective effect of *Turnera ulmifolia* Linn. var. *Elegans* against carbon tetrachloride-induced oxidative damage in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50: 4340–4347, 2012.
- [31] A. Somogyi, K. Rosta, P. Pusztai, "Antioxidant measurements", *Physiol Meas*, 28: 41-15, 2007.
- [32] F. Petitpasa, F. Sichelb, B. Hébertb, S. Lagadub, M. Beljeand, D. Pottier, M. Laurentiea, V. Prevostb, "Effects of alcohol consumption on biomarkers of oxidative damage to DNA and lipids in ethanol-fed pigs", *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 263– 269, 2013.
- [33] B.T. Metzger, D.M. Barnes, J.M. Reed, "Purple carrot (*Daucus carota* L.) polyacetylenes decrease lipopolysaccharide- induced expression of inflammatory proteins in macrophage and endothelial cells", *J Agric Food Chem* 56, 3554–3560, 2008.
- [34] T. Sun, P.W. Simon, S.A. Tanumihardjo, "Antioxidant phytochemicals and antioxidant capacity of biofortified carrots (*Daucus carota* L.) of various colors", *J Agric Food Chem*, 57, p. 4142–4147, 2009.
- [35] H. Poudyal, S. Panchal, L. Brown, "Comparison of purple carrot juice and b-carotene in a high carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome, *British Journal of Nutrition*, 104, 1322–1332, 2010.
- [36] C.S. Charron, A.C. Kurilich, B.A. Clevidence, "Bioavailability of anthocyanins from purple carrot juice: effects of acylation and plant matrix, *J Agric Food Chem*, 57, p. 1226–1230, 2009.
- [37] A. Deryaoğlu, "Şalgam Suyu Üretimi ve Bileşimi Üzerinde Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, 1990.
- [38] H. Tangüler, "Şalgam Suyu Üretiminde Etkili Olan Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi Ve Şalgam Suyu Üretim Tekniğinin Geliştirilmesi", Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, 2010.
- [39] D. Kammerer, R. Carle, A. Schieber, "Characterization of phenolic acids in black carrots (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18, p. 1331– 1340, 2004.
- [40] M.M. Giusti, R.E. Wrolstad, "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems", *Biochemical Engineering Journal*, 14, p. 217–225, 2003.
- [41] Y. Liu, N. Murakami, L. Wang, S. Zhang, "Preparative High- Performance Liquid Chromatography for the Purification of Natural Acylated Anthocyanins from Red Radish (*Raphanus sativus* L.)", *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 46, 2008.
- [42] L. Wang, G.D. Stoner, "Anthocyanins and their role in cancer prevention", *Cancer Letters Natural Products Special Issue*, 269 (2), p. 281– 290, 2008.
- [43] M.Gajewski, P. Szymczak, K. Elknier, A. Dabrowska, A. Kret, H. Danilcenko, "Some aspects of nutritive and biological value of carrot cultivars with orange, yellow, and purple colored roots", *Veg Crop Res Bull*, 67, p. 149–61, 2007.

- [44] B. Bukowska, K. Hutnik, "2, 4-D and MCPA and their derivatives: effect on the activity of membrane erythrocytes acetylcholinesterase (in vitro)", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85(3): 174-180, 2006.
- [45] M.R. Senger, D.B. Rosemberg, E.P. Rico, M. de Bem Arizi, R.D. Dias, M.R. Bogo, C.D. Bonan, "In vitro effect of zinc and cadmium on acetylcholinesterase and ectonucleotidase activities in zebrafish (*Danio rerio*) brain", *Toxicology in Vitro*, 20(6): 954-958, 2006.
- [46] R. Van der Oost, J. Beyer, N.P. Vermeulen, "Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review", *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2): 57-149, 2003.
- [47] M.K. Ross, A. Borazjani, C.C. Edwards, P.M. Potter, "Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases", *Biochemical pharmacology*, 71(5): 657-669, 2006.
- [48] T. Satoh, "Toxicological implications of esterases—from molecular structures to functions", *Toxicology and applied pharmacology*, 207(2): 11-18, 2005.
- [49] M.A. Moutaerya, H.A. Rayesb, R.AL. Swailamb, I. Elfaki, H.A. Khand, M. Arshaduddinc, M. Tariqc, "Protective effect of a cysteine prodrug and antioxidant, L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate, against ethanol-induced gastric lesions in rats", *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 233– 237, 2012.
- [50] M. Maes, P. Galecki, Y.S. Chang, M. Berk, "A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness", *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 35: 676–692, 2011.
- [51] T. Yan, L.H. Tee, Y.M. Sin, "Effect of Mercury and Lead on Tissue Glutathione of the Green Mussel", *Perna viridis L., Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58, 845-850, 1997.
- [52] J.L. Forney, A.C. Reddy, M. Tien, T.S. Aust, "The Involment of Hidroxy Radical Derived From Hydrogen Peroxide Lignin Deratation by the White Rot Fungus Phanerochaete chrysosporium", *J. Biol. Chem*, 257: 19, 11455-11462, 1982.
- [53] D.L Nelson, M.M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry (3rd ed)*, New York ,Worth Publishers, 2000.
- [54] P. Balasubramaniam, L. Pari, P. Venugopal "Protective Effect of Carrot (*Daucus carota* L.) Against Lindane - induced Hepatotoxicity in Rats", *Phytotherapy Research*, vol. 12, 434–436, 1998.
- [55] V. Bindhumol, K.C. Chitra, P.P. Mathur, "Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. *Toxicology*, 188: 117–124, 2003.
- [56] W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jakoby, "Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation", *Journal of biological Chemistry*, 249 (22): 7130-7139, 1974.
- [57] U. Nousiainen, R. Törrönen, "Differentiation of microsomal and cytosolic carboxylesterases in the rat liver by in vivo and in vitro inhibition", *General Pharmacology; The Vascular System*, 15(3): 223-227, 1984.
- [58] P. Santhoshkumar, T. Shivanandappa, "In vitro sequestration of two organophosphorus homologs by the rat liver, *Chemico-biological interactions*, 119: 277-282, 1999.

- [59] G.L. Ellman, K.D. Courtney, V. Andres, R.M. Featherstone, "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity", *Biochemical pharmacology*, 7: 88-95, 1961.
- [60] M. Özmen, S.E. Dominguez, A. Fairbrother, "Effects of dietary azinphos methyl on selected plasma and tissue biomarkers of the gray-tailed vole", *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 60 (2): 194-201, 1998.
- [61] Z.A. Placer, L.L. Cushman, B.C. Johnson, "Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems". *Anal Biochem.*, 16(2), 359–364, 1966.
- [62] M.S. Moron, J.W. Depierre, B. Mannervik, "Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 582 (1): 67-78, 1979.
- [63] M.M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical biochemistry*, 72 (1-2): 248-254, 1976.
- [64] M.K. Moon, M.J. Kim, I.K., Jung, Y.D. Koo, H.Y. Ann, K.J. Lee, "Bisphenol A impairs mitochondrial function in the liver at doses below the no observed adverse effect level". *J Korean Med Sci*, 27: 644–52, 2012
- [65] N.P. Sangai, R.J. Verma, M.H. Trivedi, "Testing the efficacy of quercetin in mitigating Bisphenol A toxicity in liver and kidney of mice". *Toxicol Ind Health*, 30:581–97, 2012.
- [66] H. Kabuto, S. Hasuike, N. Minagawa, T. Shishibori, "Effects of Bisphenol A on the metabolisms of active oxygen species in mouse tissues". *Environ Res*, 93: 31–5, 2004.
- [67] V. Bindhumol, K.C. Chitra, P.P. Mathur, "Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats". *Toxicology* 188:117–24, 2003.
- [68] M.W. Mayssaa, M.A. Zaynab, M.A. Heba, I.Y. Mokhtar, A.N. Al-Sayeda, "Mitigating potential of Ginkgo biloba extract and melatonin against hepatic and nephrotoxicity induced by Bisphenol A in male rats". *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 350–357, 2017.
- [69] J.I. Eid, S.M. Eissa, A.E.G. Akmal, "Bisphenol A induces oxidative stress and DNA damage in hepatic tissue of female rat offspring". *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 71: 10–19, 2015.
- [70] S.M. Poormoosavi, H. Najafzadehvarzi, M.A. Behmanesha "Amirgholami R. Protective effects of Asparagus officinalis extract against Bisphenol A induced toxicity in Wistar rats". *Toxicology Reports*, 427–433, 2018.
- [71] J.K. Akintunde, A.A. Farouk, O. Mogbojuri, "Metabolic treatment of syndrome linked with Parkinson's disease anhypothalamus pituitary gonadal hormones by turmeric curcumin in Bisphenol-A induced neuro-testicular dysfunction of wistar rat". *Biochemistry and Biophysics Reports* 17:97–107, 2019.

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yunus ŞAHİN
Doğum Yeri : Merkez / Adıyaman
Doğum Tarihi : 26.06.1987
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ynsshn49@gmail.com

Eğitim Durumu

Derece	Alan	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kimya	Adıyaman	2015
Lise	Fen/Fen Bilimleri	Özel Açık Koleji	2005