

AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NONİLFENOL TOKSİKASYONUNA MARUZ BIRAKILAN
RATLARDA TAURİNİN MALONDİALDEHİT, GLUTATYON,
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ ve NİTRİK OKSİT ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasemin SUNUCU KARAFAKİOĞLU

**VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN
Prof. Dr. Recep ASLAN

Bu tez Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 06.VF.07 Proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2007-005

AFYONKARAHİSAR

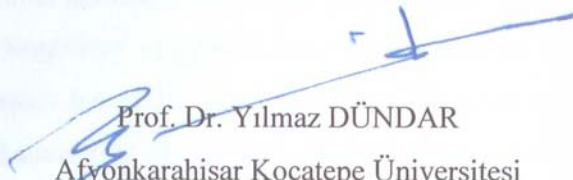
2007

KABUL ve ONAY

Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Biyokimya Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

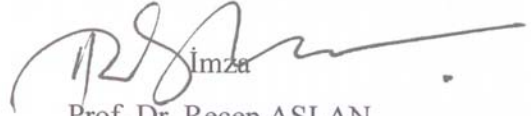
Tez Savunması Tarihi: 13 /06 / 2007

İmza


Prof. Dr. Yılmaz DÜNDAR
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi


İmza

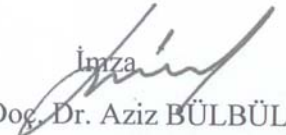
Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi


İmza

Prof. Dr. Recep ASLAN
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi

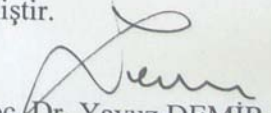
İmza 

Yrd. Doç. Dr. Mustafa YALÇIN
Uşak Üniversitesi Uşak Eğitim Fakültesi

İmza 

Yrd. Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL
Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi

Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi Yasemin SUNUCU KARAFAKIOĞLU'nun "Nonilfenol Toksikasyonuna Maruz Bırakılan Ratlarda Taurinin Malondialdehit, Glutasyon, Süperoksit Dismutaz ve Nitrik Oksit Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 13./06./2007 günü saat 14.00'de Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Yavuz DEMİR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmalarımda büyük desteklerini gördüğüm değerli hocalarım, Prof. Dr. Nihat BAYŞU' ya, Prof. Dr. Yılmaz DÜNDAR'a, Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR'e; beni en iyi şekilde yetiştirmek için desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Recep ASLAN'a; tez çalışmamda büyük bir özveri ile yardım ve destek veren arkadaşım Dr. Fatih FİDAN'a ve Biyokimya A.B.D.'nin değerli öğretim elemanlarına; Nonilfenol uygulamamıza destek veren Sn. Doç. Dr. Cevdet UĞUZ'a; doktora eğitimim boyunca her türlü anlayış ve kolaylığı gösteren, destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dekanım Prof. Dr. Adnan ŞİŞMAN'a ve Dekan Yardımcım Yrd. Doç.Dr. Mustafa YALÇIN hocalarıma; tezime bilimsel ve ekonomik katkı sağlayan AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığına; ayrıca çalışmalarımda bana destek olan eşim, ailem ve tüm mesai arkadaşlarıma içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Kabul ve Onay.....	II
Önsöz.....	III
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VII
Şekiller.....	X
Tablolar.....	XI
Grafikler.....	XII
ÖZET.....	XIII
SUMMARY.....	XV
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANLAR.....	3
2.1.1. Serbest Radikaller.....	3
2.1.1.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri.....	4
2.1.1.2. Serbest Radikal Oluşumu ve Radikallerin Kaynakları.....	7
Oksidatif Fosforilasyon:.....	8
Solunum Patlaması:.....	8
Araşidonik Asit Yolu:.....	9
Pürinlerin İki Basamaklı Katalizlenmesi:.....	9
Demir İle Katalizlenen Reaksiyonlar:.....	9
Ekzojen Ajanlar:.....	10
2.1.1.3. Çevredeki Radikal Türleri.....	10
2.1.1.4. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılara Etkileri.....	12
2.1.2. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ.....	14
2.1.2.1. Antoksidanların Sınıflandırması.....	15
Selüler Antioksidan Enzimler.....	18
Membran Antioksidanları.....	19
Ekstraselüler Antioksidanlar.....	20
2.1.2.2. Oksidan-Antioksidan Denge.....	22
2.1.2.3. Oksidan-Antioksidan Dengenin Bozulması.....	23
2.1.2.4. Tiol İçeren Antioksidan Etkili Bazı Bileşikler.....	25
2.1.2.5. Tiol içerikli Maddeler ve Etki Mekanizmaları.....	25
Sistein.....	25
Metionin.....	26

Glutasyon	26
Lipoik asit (tioktik)	26
N-Asetil sistein	27
MPG (Merkaptopropionilglisin)	27
Taurin	27
2.1.2.6. TAURİN	29
Taurin ve Yapısı	29
Taurin Miktarları	31
Taurin Biyosentezi	32
Taurinin Etkileri	36
Taurinin Antioksidan Etkinliği	39
2.2. Çevresel Kimyasallar	45
2.3. Alkilfenol Etoksilatlar	48
2.3.1. Nonilfenol Etoksilatlar	48
2.3.1.1. Nonilfenolün Çevresel Kaynakları	49
2.3.1.2. Nonilfenol Etoksilatların Kullanım Alanları	50
2.4. Nonilfenoller	51
2.4.1. Nonilfenollerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	51
2.4.2. Nonilfenolün Birikimi ve Metabolizması	51
2.4.3. Nonilfenolün Etkileri	55
Nonilfenolün Toksik Etkileri	55
Nonilfenolün Östrojenik Etkileri	57
Nonilfenolün Kanserojenik Etkileri	58
3. MATERYAL ve METOD	59
3.1. Araç ve Gereçler	59
3.2. Kimyasal Maddeler	59
3.3. Deney Hayvanları	60
3.4. Deney Grupları ve Deney Protokolü	61
3.5. Kan Örneklerinin Alınması	62
3.6. Malondialdehit Tayini	62
3.7. Glutasyon Tayini	63
3.8. Süperoksit Dismutaz Enzim Tayini	64
3.9. Nitrik Oksit Ölçümü	65
3.10. İstatistiksel Analizler	67
4. BULGULAR	68
4.1. Plazma Malondialdehit Düzeyleri	69
4.2. Glutasyon Düzeyleri	70

4.3.	Süper Oksit Dismutaz Düzeyleri.....	71
4.4.	Nitrik Oksit Düzeyleri.....	72
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	73
6.	KAYNAKLAR	87

SİMGELER ve KISALTMALAR

A Grubu	: Alkol Grubu
AFE	: Alkilfenol Etoksilat
AIDS	: Edinsel İmmun Yetmezlik Sendromu
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BF	: Butil Fenol
cGMP	: 3,5 Siklik Guanozin Monofosfat
cAMP	: Siklik 3,5 Adenozin Monofosfat
CCl ₄	:Karbon tetra klorür
Cr ⁺⁶	:Krom-6-iyonu
CsA	: Cylosporine A
CSAD	: Sistein Sülfirik Asit Dekarboksilaz
DADS	: Dialildisülfid
DAS	: Dialiltrisülfid
DDT	: Diklordifenil trikloreten
DES	: Dietilstilbestrol
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DHLA	: Dihidrolipoik Asit
DTNB	: Ditionitrobenzoik Asit
DTNB	: 5,5'-(2-ditiobis nitrobenzoik asit)
e NOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç komitesi
Fe ⁺³	: Demir-3-iyonu
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GPT	: Glutamat Transaminaz
GSH	: Glutasyon
GSH-P _x	: Glutasyon Peroksidaz
GSSF	: Glutatyondisülfid
GSSG	: Okside Glutasyon
H•	: Hidrojen radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HAM	: Hormonal Aktif Maddeler
HBK	: Hormon Benzeri Etki Eden Kimyasallar

VIII

HO ₂ ·	: Perhidroksi radikal
HOCl	: Hipoklorik asit
INT	: İnositol
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
K Grubu	: Kontrol Grubu
LA	: Lipoik Asit
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LP	: Lipit Peroksit
LPO	: Lipit Peroksidasyonu
MCF-7	: İnsanda Meme Kanseri Hücre Çizgisi
MDA	: Malondialdehit
MMP-13	: Kanserde Matriks Metalloproteinazlar
MPG	: Merkaptopropionilglisin
MPO	: Myeloperoksidaz
MTX	: Metatreksat
n NOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NAC	: N Asetil Sistein
NADPH	: β-nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NEDD	: N (1-naphtyl) ethylenediamin
NF Grubu	: Nonilfenol Grubu
NF	: Nonilfenol
NFE	: Nonilfenol Etoksilat
NFT Grubu	: Nonilfenol+ Taurin Grubu
NO ₂ Cl	: Nitril Klorür
NO	: Nitrik Oksit
NO ₂	: Nitrojen dioksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NOx	: Nitrik Oksit metabolitleri
O ₂	: Singlet oksijen
O ₂ ·	: Süperoksit radikali
OCl ⁻	: Hipoklorit Anyonu
OF	: Oktil Fenol
OH•	: Hidroksil Radikali
ONOOH	: Peroksinitrit
PCB	: Poliklorbifenil

PCO	: Protein karbonil
PKC	: Protein kinaz C
PMN	: Polimorfonükleer
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
PTZ	: Peylenetetrazol
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
RO•	: Alkoksil
ROO-	: Peroksil radikal
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RS•	: Tiyonil radikali
SOD	: Süperoksit dismutaz
Stkrm oksdz	: Sitokrom oksidaz
T Grubu	: Taurin Grubu
TBA	: Tiobarbitürik asit
TIMP-I	: Doku İnhibitör Düzeyleri
TİK�	: Tıbbi İlaçlar ve Kozmetik �r�nleri
VCl ₃	: Vanadium-3-klorür
VLDL	: Düşük dansiteli lipoprotein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Radikal Üretimi, Hedef Yapılar ve Riskler.....	7
Şekil 2.2. Çevresel Etkilerin Araşidonik Asit Salınımı İle Radikal Oluşturmaları.....	11
Şekil 2.3. Geçiş Metallerinin Katalizi ile Radikal Üretimi ve Lipit Peroksidasyonu	13
Şekil 2.4. Taurin	29
Şekil 2.5. Taurinin Safra Asitleri ile Konjügasyonu	30
Şekil 2.6. Taurinin Vücuttan Atılım Ürünü.....	30
Şekil 2.7. Taurin biyosentezinin yolları	32
Şekil 2.8. Kükürtlü aminoasitlerin taurin oluşum metabolizmaları	34
Şekil 2.9. Biyokimyasal AFE Ürünleri	52
Şekil 2.10. NF'nin metabolizması ve atılımı.....	53
Şekil 3.11 Sodyum Nitrat Kalibrasyon Eğrisi.....	67

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1.	Sık Karşılaşılan Radikaller, Simgeler ve Kimlikleri	6
Tablo 2.2.	Bilinen Endojen Antioksidanlar ve Etkinlikleri	16
Tablo 2.3.	Başlıca Ekzojen (Farmakolojik) Antioksidanlar ve Özellikleri	17
Tablo 2.4.	Intrasellüler Antioksidanlar ve Reaksiyonları.....	18
Tablo 2.5.	Membran Antioksidanları ve Etkileri.....	20
Tablo 2.6.	Ekstrasellüler Antioksidanlar ve Özellikleri	22
Tablo 2.7.	Serbest Radikallerin Radikal Olmayanlarla Başka Radikaller Oluşturmak Üzere Girebilecekleri Reaksiyonlar ve Bazı Örnekler	24
Tablo 2.8.	Çeşitli Organların Taurin Miktarı (mM/kg doku)	31
Tablo 2.9.	Taurinin Bazı Organ ve Sistemlerdeki Etkileri	36
Tablo 2.10.	Çevrede Bulunan Östrojen Benzeri Kimyasalların Listesi.	46
Tablo 3.1.	Deney Gruplarındaki Taurin ve Nonilfenol Uygulamaları	61
Tablo 4.1.	Araştırmada Ölçülen Parametrelere Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri	68

GRAFİKLER DİZİNİ**Sayfa No**

Grafik 4.1. MDA Düzeyleri	69
Grafik 4.2. Gruplardaki GSH Düzeyleri.....	70
Grafik 4.3. Deney Gruplarındaki SOD Düzeyleri	71
Grafik 4.4. Gruplardaki NO _x Düzeyleri	72

ÖZET**Nonilfenol Toksikasyonuna Maruz Bırakılan Ratlarda Taurinin MDA, GSH, SOD ve NO Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Yasemin SUNUCU KARAFKIOĞLU

Günümüz yaşamı toksik etkili pek çok çevresel kimyasal maddenin tehditi altındadır. Bu maddelerden biri de endüstride yaygın olarak kullanılan, yüzey gerilimini azaltıcı etkili nonilfenol (NF)'dir. Toksik faktörlere karşı korunmada antioksidanların rolünün anlaşılması ile birlikte hangi antioksidanın hangi dozda ve hangi olgularda daha etkili olduğunun saptanması önemli hale gelmiştir. Bu çalışma ile güçlü bir antioksidan olan taurinin nonilfenole bağlı oksidatif stresten korunmadaki rolünün kan örneklerinde araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, ağırlıkları 175-250 g arasında değişen 3-4 aylık 40 adet erkek "Wistar-albino" rat kullanılmıştır. Deney grupları her birinde 8 hayvan bulunacak şekilde, Kontrol Grubu, Taurin Grubu, Nonilfenol Grubu, Nonilfenol+Taurin Grubu ve NF'nin alkol içersinde çözülerek uygulanmasından oluşan Alkol Grubu (A) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Deneme için 1 µl'sinde 1µg nonilfenol içeren nonilfenol stok solüsyonu, alkol içinde hazırlanmış, 50 µg/kg nonilfenol içeren bu çözelti NF ve NFT Gruplarında ratların diyetlerine püskürtme tarzında ilave edilmiştir. Alkol Grubunun diyetlerine ise sadece 50 µl alkol püskürtme tarzında ilave edilmiştir. Ayrıca T ve NFT Grubu içme sularına % 3 (v/w) oranında taurin ilave edilmiştir. Lipit peroksidasyonu göstergelerinden MDA'nın, tüm deney gruplarında Kontrol Grubuna oranla anlamlı olarak arttığı ($P<0.05$) ancak sadece taurin uygulanan ve NF ile birlikte taurin verilen hayvanlardaki MDA düzeylerinin, yalnızca NF ve yine tek başına alkol verilen hayvanlardaki MDA seviyesinden, istatistiksel olarak düşük olduğu dikkat çekmektedir ($P<0.05$). GSH sonuçları; NF, NFT ve A Gruplarındaki GSH düzeyinin, Kontrol Grubuna göre anlamlı olarak azalmış olduğunu ($P<0.001$), T Grubunda ise Kontrol Grubu düzeylerinin üzerine çıktığını ($P<0.001$) göstermektedir. SOD düzeylerine ait sonuçlar karşılaştırıldığında, NF, NFT ve A Gruplarında SOD düzeyinin, Kontrol Grubuna göre anlamlı olarak azalmış olduğu ($P<0.01$), sadece taurin verilen grupta ise, SOD düzeyinin anlamlı olarak arttığı ($P<0.01$) görülmektedir. NOx seviyeleri, nonilfenol verilen ratlarda azalmıştır ($P<0.01$). NF yanı sıra taurin verilen NFT Grubunun, sadece alkol ve yine yalnızca

taurin verilen gruplardaki NO_x miktarlarının, Kontrol Grubundan yüksek olduğu dikkat çekmiştir (P<0.01).

Sonuç olarak, nonilfenol gibi endüstriyel kimyasallar tarafından indüklenebilecek oksidatif stresi önlemede antioksidan savunma duvarını güçlendirmek için taurin gibi antioksidanların verilmesinin önemli olduğu; diğ er yandan verilen antioksidan maddenin en etkin dozunun belirlenebilmesi için ise başka çalışmalara gereksinim duyulduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Oksidatif Stres, Taurin, Nonilfenol, Toksikasyon, Çevre, Serbest Radikaller, Antioksidanlar.

SUMMARY**AN INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TAURINE ON MDA, GSH, SOD and NO_x LEVELS OF THE RATS EXPOSED TO NONYLPHENOL TOXICATION**

Yasemin SUNUCU KARAFKIOĞLU

Today's life is under threat of various toxic-influential environmental and chemical substances. Nonylphenol (NP), surface tension reductive chemical, is considered to be one of those substances and is widely used in the industry. As a consequence of understanding antioxidants' role in preventing against toxic factors, it has become quite significant to determine which antioxidant is effectual and safely at what dose on which events. Investigating the role of taurine, a powerful antioxidant, in preventing nonylphenol bound oxidative stress in the blood samples was aimed in this study. 40 "Wistar-albino" male rats weighed between 175 and 250 g and aged between 3 and 4 months were used in the study. Experimental rats were equally distributed amongst five groups provided that each has 8 of them: Control Group, Taurine Group, Nonylphenol Group, Nonylphenol + Taurine Group, and Alcohol Group since nonylphenol was treated and dissolved in the alcohol. As for piloting, nonylphenol stock solution including 1 µg nonylphenol in 1µl was prepared in the alcohol and the solution which has 50 µg/kg nonylphenol was added through spraying into the diets of the rats placed in the Nonylphenol and Nonylphenol+Taurine Groups. Only 50 µl alcohol was added through spraying into the diets of the Alcohol Group. Besides, taurine at the rate of 3 % (v/w) was added to the drinking water of the Taurine and Nonylphenol+Taurine Group. MDA as a marker of lipid peroxidation appeared to increase ($P<0.05$) in all the experiment groups in proportion to the controls. However, the MDA levels in the rats treated only with taurine and treated with taurine in addition to nonylphenol appeared to be lower statistically than the MDA levels in the rats treated only with nonylphenol and treated merely with alcohol ($P<0.05$). GSH results indicated that GSH levels in the Nonylphenol, Nonylphenol+Taurine and Alcohol Groups decreased meaningfully ($P<0.001$) compared with that of the Control Group. Whereas, GSH levels in the Taurine Group appeared to be higher than that of the controls ($P<0.001$). When the results for the SOD levels are taken into consideration, the SOD level for the Nonylphenol, Nonylphenol+Taurine and Alcohol Groups appeared to decrease meaningfully in comparison to that of the Control Group ($P<0.01$). Nevertheless, the SOD level seemed to rise meaningfully in the group treated merely with taurine ($P<0.01$). The NO_x levels were

reduced amongst the rats treated with nonylphenol ($P<0.01$). The NO_x levels within the groups treated only with alcohol and taurine and in the Nonylphenol Group along with taurine given Nonylphenol+Taurine Group appeared to be higher than that of the Control Group ($P<0.01$).

As for conclusion, it has become apparent to apply antioxidants such as taurine in order to strengthen the antioxidant defense wall while preventing oxidative stress induced by industrial chemicals such as nonylphenol. Moreover, it became clear that further studies to be conducted in this area in order to determine the most influential antioxidant substance and its safely doses.

Keywords : Oxidative Stress, Taurine, Nonylphenol, Toxication, Environment, Free Radicals, Antioxidants.

1. GİRİŞ

Toksik etkili maddelerin serbest radikal oluşumuna yol açtıkları, serbest radikallerinde pek çok hastalıkta rolü olduğu bilinmektedir (1).

Çevreye insanlar tarafından bırakılan pek çok kimyasalın, biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri bozarak, insan sağlığı ve canlı türleri üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu konusunda bilimsel bulgular giderek artmaktadır (2-4).

Son yıllarda, kimyasal maddelerin kullanımı artmıştır. Bunlar içinde oldukça önemli yer tutan ve hormon gibi etki oluşturmaları nedeniyle “endokrin madde” olarak tanımlanan kimyasallar, insan, hayvan, bitki gibi canlılarda hücresel hatta kalıtsal bazı bozulmalara sebep olmaktadır. Bu maddeler, sular ve atıkların arıtılması sırasında da tamamen yok edilememekte ve ekosistemde birikmektedir (5). Yaygın kullanımları nedeniyle, bu maddelerin kar ve yağmur sularında bile bulunduğu bildirilmiştir (6,7).

Çevresel endokrin maddelerin çoğunluğunu dietilstilbestrol, diklordifeniltrikloreten (DDT), poliklorbifeniller (PCB’ler) ve alkilfenoletoksilatlar (AFE’ler) oluşturmaktadır (8). Alkilfenoletoksilat bileşiklerinden olan ve üzerinde yoğun olarak çalışılan nonilfenoller (NF), ksenoöstrojen grubunda yer alan östrojenik, karsinojenik ve toksik etkilere sahip kimyasallardır (9-18). AFE bileşikleri; deterjanların, ot ve böcek ilaçlarının, boyaların, kozmetik ve plastik eşyaların, yüzey aktif maddelerin, gaz yağı ve uçak benzini içeriğinde yer alan ve endüstride yaygın olarak kullanılan, organizma için toksik etkiye sahip maddelerdir (9).

Nonilfenol, diğer toksik maddeler gibi bir oksidatif stres kaynağı olarak kabul edilmektedir (19,20). Nonilfenol, gerçekte in vitro bir antioksidan olmasına rağmen alınma düzeyi ve vücutta akümüle olma kabiliyeti, onu prooksidan haline getirmektedir (9,21). Prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkan oksidatif stres, vücutta lipitler, proteinler ve DNA yapısının hasar görmesi, hücresel reaksiyonlar ve oluşumların bozulmasına yol açar

(22). Oksidatif stresle mücadelede, radikallerle oldukça ivedi reaksiyonlara girerek otooksidasyon ve peroksidasyonun ilerlemesini önleyen, antioksidan olarak tanımlanan maddeler rol alır (22,23). Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre haraplanmasının onarılması, radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması gibi mekanizmalarla çalışır (24,25).

Antioksidan bir madde olan taurin, (2-aminoetan sülfonik asit) organizmada sisteinden sentez edilen, sistein ve metionin metabolizmaları sırasında açığa çıkan ve birçok biyokimyasal reaksiyon ve fizyolojik fonksiyonda yer alan esansiyel olmayan bir aminoasittir. Son yıllarda taurinin, serum lipitlerini azaltıcı, ateroskleroza ve karaciğer hücre hasarını önleyici etkilere sahip olduğu gösterilmiş, bu özelliklerinin, taurinin antioksidan karakterinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (26-31).

Hayvan ve insan sağlığını tehdit eden NF gibi kimyasal maddelerle mücadelede, fitokimyasallar ve antioksidan maddelerin kullanılmasına yönelik araştırmalar artarak devam etse de NF'nin, serbest radikal oluşumu ve antioksidanlarla etkileşimine ilişkin yayınların çok az olduğu dikkat çekmekte, NF toksikasyonunda, taurinin etkinliğine yönelik çalışmalara rastlanılamamaktadır.

Oksidatif stresle mücadelede, antioksidanların rolü çok önemlidir. Kendisi de bir in vitro antioksidan olmasına karşın, rutin olarak kullanılması ve rezidu oluşturması nedeniyle çevresel maruziyetle alınan miktarları toksik olabilen, NF'ye bağlı olarak gelişebilecek oksidatif stresin giderilmesinde antioksidanların kullanılmaları, NF gibi maddelerin zararlı etkilerine karşı organizmanın korunmasında etkili olabilir.

Bu nedenle, tezimizde NF kaynaklı oksidatif hasarın izlenmesi, güçlü bir antioksidan olan taurinin, nonilfenole bağlı oksidatif stresten korunmadaki rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Tez çalışması sonucu elde edilecek bulgular bir referans değer ve yeni bakış açılarının oluşmasına yol açabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

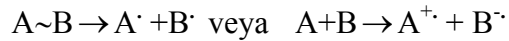
2.1. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANLAR

2.1.1. Serbest Radikaller

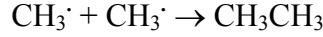
Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan serbest radikaller, kısa ömürlü, reaktif atom veya moleküllerdir. Oksijen metabolizması ara ürünleri olan oksijen türleri, halojen atomlar, Na^+ , K^+ gibi alkali metal atomları, bir orbitalinde tek elektron bulunduran NO , NO_2 gibi bileşikler, Cl veya Br gibi tek atomlu yapılar radikaller olarak sınıflandırılmaktadır. Dış yörüngelerinde birer elektron taşıyan geçiş metalleri ise serbest radikal kabul edilmezler. Radikaller; pozitif, negatif ya da nötr olabilirler. Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller, elektron konfigürasyonlarının yanında, lokal kinetik reaktiviteleri ve termodinamik yapıları göz önünde bulundurularak da değerlendirilirler (32-34).

Atomlarda elektron dağılımı incelendiğinde elektronların kabuklarda olduğu görülür. Kabuklar alt kabuklardan, alt kabuklarda elektron içeren orbitallerden oluşur. Orbitallerde, her biri diğerinin fizikokimyasal reaksiyonlara girmesini engelleyen, zıt spinlerde ($\downarrow\uparrow$) hareket eden elektron çiftleri vardır (35).

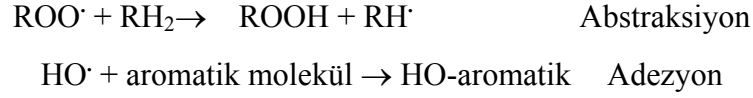
Bir elektronun bir molekülden diğerine transferi ve homolitik bağ ayrılması gibi mekanizmalar serbest radikal oluşumuna neden olurlar (32,36).



Serbest radikalde bulunan eşleşmemiş elektron, kimyasal bağ içinde bir başka elektronla spin paylaşmadığından, ekstra elektronları başka atomlara lokalize oluncaya ya da elektron alıncaya dek oldukça reaktiftir. Aşırı reaktif bu maddeler, diğer atom ve moleküllerin kimyasal yapılarını birkaç farklı mekanizma yoluyla değiştirerek, onları kararsız formda yapılar haline getirirler (32).



Radikallerle, diğer nötral atom ya da moleküllerin reaksiyonlarında görülen en yaygın yol, bir atomun alınması ya da eklenmesidir (32,36).



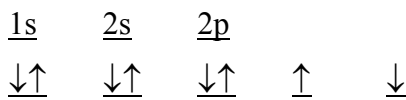
Dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunan serbest radikaller, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemek eğiliminde olduklarından oldukça kararsız yapıdadırlar (32,35-37).

2.1.1.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

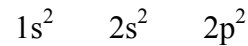
Aerobik organizmalar yaşamlarını sürdürebilmek için oksijenin toksik metabolik ürünleri ile birlikte yaşamak zorundadır (38).

Aerobik canlılardaki oksidasyon reaksiyonları, besin kaynağı konumundaki maddelerde temel element olması, solunumda rol alması, canlı organizmaları oluşturan moleküllerin yapısına girmesi, oksijeni yapısal ve fonksiyonel açıdan önemli yapmaktadır (38,39). Serbest radikal reaksiyonlarında, oksijenin moleküler formu, hidrojen peroksit, süperoksit, geçiş metali iyonları, hidroksil radikali önemli yapılarıdır (32,33,37). Bazı literatürlerde “diradikal” veya “dioksijen” şeklinde ifade edilen oksijen atomu eşlenmemiş iki elektron taşımaktadır (32).

Oksijen Orbital Diyagramı



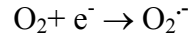
Elektronik Sembolü



Serbest radikal türleri ile kolayca kimyasal tepkime verebilen oksijen atomunun nonradikal yapılarla reaksiyona girmesi oldukça zordur (33). O₂ molekülü aerobik metabolizma esnasında, 4 elektron alarak suya indirgenir. Metabolik reaksiyonlarda

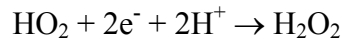
tam olarak indirgendiğinde son ürün olarak suya dönüşen oksijen, redüksiyonun ara basamaklarında metabolit olarak reaktif oksijen türlerini açığa çıkarır (40,41). O₂ molekülünün iki elektronu birden almasını, O₂ molekülünün dış yörüngesindeki elektronların paralel spinlerde olması (↑↑) engellemektedir. Oksijenin, kimyasal bağ oluşturabilmesi için, elektronlarının zıt spinlerde olması gerekir. Spin değişimi uzun süre ve oldukça yoğun enerji gerektirdiğinden, oksijen molekülü çift yerine tek elektron almayı benimsemektedir (32).

Oksijen atomunun bir elektron alarak indirgenmesi ile süperoksit radikali (O₂^{•-}) açığa çıkar (38,39,42,43). Aerobik canlıların hemen tümünde oluşan süperoksit, solunum zincirinde NADPH'a bağlı dehidrogenazdan, oksijenin taşınması sırasında hemoglobinden ve mitokondri elektron transport zincirinde elektron sızması şeklinde rutin olarak oluşmaktadır (32,44).

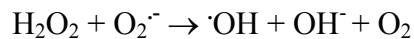


Süperoksit anyonu, metal kompleksleri, Cu⁺² gibi geçiş metalleri ve serbest radikallerle hızlı bir reaksiyon verir. Süperoksit, hızlı bir şekilde hidrojen peroksit ve oksijene dönüşür. Geçiş metali iyonlarını indirgemesi, endotel gevşetici olarak bilinen NO ile peroksinitriti veren reaksiyonda yer alması, H₂O₂ kaynağı olması gibi nedenler süperoksit radikalini fizyolojik açıdan önemli hale getirmektedir (32,34,40).

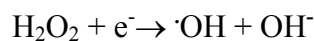
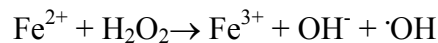
Oksijen molekülüne iki elektron eklenmesi ile oluşan, serbest radikal olmayan hidrojen peroksit, reaktif bir oksijen türü olarak, zararlı oksijen radikallerine dönüşebilmesi nedeniyle önemlidir (32,37).



Süperoksitle reaksiyona giren hidrojen peroksit, Haber-Weis reaksiyonu adı verilen tepkime ile, hücre için oldukça toksik olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere parçalanır (34,40).



Reaksiyon katalizörsüz olarak oldukça yavaş ilerlemesine karşın, Fenton tepkimesinde (demirle katalizlendiğinde) ortalama 4000 kat hızlanmaktadır (33).



Bu reaksiyonlar, vücut sıvılarının iyonize edici radyasyonla karşı karşıya kaldığı durumlarda sıkça görülmektedir (43).

Eşlenmemiş elektronu olmayan singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) reaktif yapısı nedeniyle dikkat çeken bir diğer oksijen türüdür. Singlet oksijen, serbest radikal reaksiyonları esnasında, oksijenin elektronlarından birinin, kendi spinine zıt spinli olarak bir başka orbitale yerleşmesi ile oluşur (33,40,44).

Radikal türlerinin reaktivitesi, bu yapıların reaktif karakterinin bilinmesinde ve in vivo radikal ölçüm çalışmalarında önemli bir etkidir. Radikalın yarılanma ömrü ne kadar kısa ise, reaktivitesi o oranda yüksektir, bu da radikalın sabit konsantrasyonunu düşürür. Reaktif türlere ve atomlara göre farklılık gösteren yarılanma ömrü, radikallerin toksititesi ile doğru orantılı olduğundan, radikalın potansiyel gücü açısından önemlidir (37). Bilinen başlıca radikal türler Tablo 2.1’de gösterilmiştir (45).

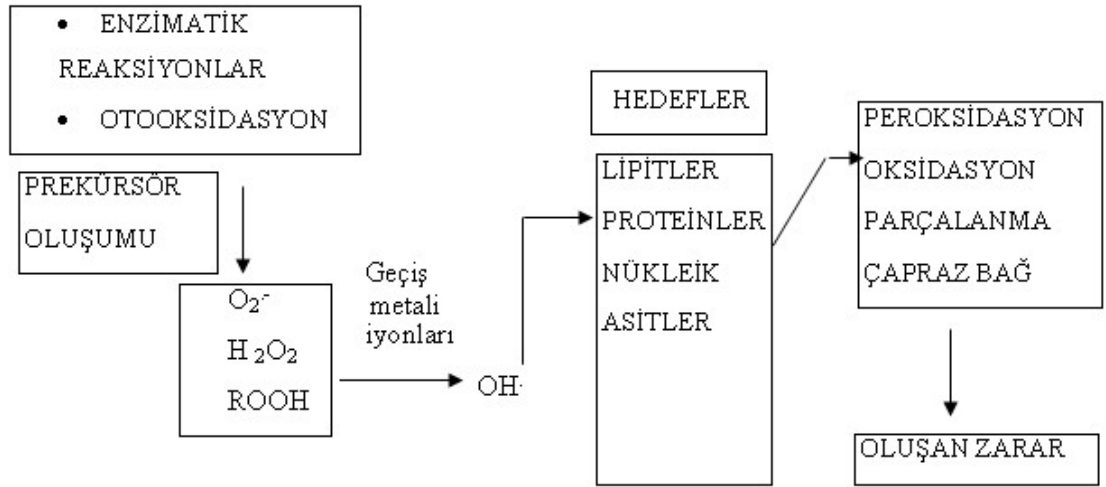
Tablo 2.1. Sık Karşılaşılan Radikaller, Simgeler ve Kimlikleri (45)

Radikal	Simge	Tanımlama
Hidrojen	$\text{H}^\bullet$	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	$\text{O}_2^{\bullet-}$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	$\text{OH}^\bullet$	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O_2^-	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	$\text{HO}_2^\bullet$	Lipitlerde hızlı çözünerek lipit peroksidasyonunu artırır
Peroksil radikal	$\text{ROO}^\bullet$	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipitlere lokalize olur
Triklorometil	CCl_3	CCl_4 metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyonil radikali	$\text{RS}^\bullet$	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	$\text{RO}^\bullet$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO	L- arjinin amino asitinden in vivo üretilir
Nitrojen dioksit	NO_2	NO ’in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

2.1.1.2. Serbest Radikal Oluşumu ve Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller, aerobik metabolizma sırasında boyaların kuruması, plastik maddelerin işlenmesi ve organik maddelerin çürümesi gibi endüstriyel işlemlerde, oksijenin kısmi redüksiyonu ve oksijen türlerinin reaksiyonları ile oluşabilmektedir (32,33,37,43). Şekil 2.1. reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ilişkin radikal üretimini göstermektedir (32).

Serbest radikaller başlıca, moleküler oksijenin, normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkmaktadır (37). Bu radikaller kopma ve yapışma reaksiyonları ile yeni radikallerin üretilmesine yol açarlar. Yeni yeni radikallerin açığa çıkarıldığı reaksiyon basamakları, serbest radikal zincir reaksiyonları olarak adlandırılır (32).



Şekil 2.1. Radikal Üretimi, Hedef Yapılar ve Riskler (32)

Normal metabolizma dışında iyonize edici radyasyon, fotokimyasal hava kirleri, iskemi, hipoksi, intoksikasyon, inflamasyon, ısı, yoğun egzersiz, travma gibi durumlar radikal oluşumunu tetikleyen faktörler olarak bildirilmektedir (34,43).

Oksijeni, klinik uygulamalarda kullanılan bir çok kemoterapötik, özellikle antineoplastik maddeler, anestetik maddeler, pestisitler, geçiş metallerine afinitesi

bulunan antibiyotikler, çözücü gibi kimyasallar, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi türlere dönüştürerek radikal üretimine katkıda bulunurlar. Halojenli hidrokarbon metabolizmasının ürünü olarak oluşan radikal reaksiyonlarında sürekli olarak süperoksit anyonu oluşumuna neden oldukları gösterilmiştir (33,37,44).

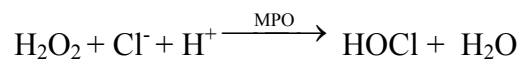
Oksidatif Fosforilasyon:

Oksidatif fosforilasyonla mitokondride ATP oluşurken, su moleküler oksijenin tetravalen reaksiyonu ile oluşmaktadır. Oksijenin yaklaşık % 1-5'lik kısmı sitokromla katalizlenen yoldan dışarı sızarak suya indirgenir ve nonkatalitik univalan indirgenmeye uğrar. Ara ürün olarak süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit ve hidroksil radikali ($OH^\cdot$) salınır. Bu reaktif oksijen metabolitlerinin, oluşturacağı doku yaralanmasını önlemek için endojen koruyucu mekanizmalarla detoksifiye edilmesi gerekir (46-49).

Solunum Patlaması:

Nötrofiller, makrofajlar, monositler ve eozinofiller çeşitli uyarılar ile sensitize olarak süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve hipoklorik asit (HOCl) salınımına neden olurlar. Nötrofillerin hücre membranındaki NADPH bağımlı oksidaz sistemi, süperoksit radikali oluşturan önemli bir kaynaktır. Oksidaz enzimi bakteri, immun kompleksler, mitojen, kompleman, opsonize partiküller, araşidonik asit metabolizma ürünleri, formillenmiş peptitler, lektinler gibi etkenlerle aktive olur ve oksijeni hidrojen peroksit ve süperoksit radikale katalizler. Bu fenomene solunum patlaması denir (46,48-54).

Nötrofillerdeki primer granüllerde bol bulunan myeloperoksidaz (MPO) enzimi ile hidrojen peroksit ve klor iyonlarından hipoklorik asit oluşumu katalizlenir (51,53-55).



Hemoprotein olan myeloperoksidaz enzimi, polimorfonükleer lökositlerde (PMNL) bol miktarda bulunur. Enflamatuvar veya toksik uyarım sonucu PMN lökosit gibi fagositik hücrelerden salınır ve doku hasarını arttırır. Birçok araştırmada enflamasyon miktarının tespiti için MPO enzimi düzeyleri kullanılmıştır (53).

Hipokloroz asit ve bu asidin endojen aminlerle oluşan reaksiyon ürünleri ($R'RNCl$) kuvvetli oksidan maddeleridir ve nötrofil toksisitesinin çoğundan sorumludur. Bu reaksiyonlar hücre membranında oluşur. Toksik maddeler fagozom içinde salınıp tahrip etme özelliğine sahiptir. Süperoksit radikali, fagositik öldürmenin yanında nötrofil kemotaksisine de yardımcı olur (41,48,52-54).

Araşidonik Asit Yolu:

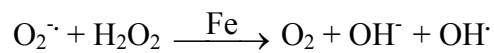
Oksijen radikali kaynağından biri olan araşidonik asit yolunda, ara peroksi bileşikleri ve hidroksi radikalleri meydana gelir. Bu lipid peroksidasyonunun ilk ürünleri olan hidro ve endo peroksitler ve daha sonra yeni zincirleme reaksiyonları başlatabilecek radikal ürünleri meydana getirebilir (47,48,56).

Pürinlerin İki Basamaklı Katalizlenmesi:

Hipoksantinden ksantin yolu ile ürat oluşurken dehidrogenaz enziminin O-formu olan oksidaz kullanıldığında süperoksit radikali oluşur. Oksidaz, iskemi reperfüzyon ve muhtemelen diğer doku yaralanmalarında anahtar rol oynar (46-48,55).

Demir İle Katalizlenen Reaksiyonlar:

Fenton reaksiyonu veya Haber-Weis reaksiyonu ile çok toksik ve çok reaktif olan hidroksil radikali salınabilir. Haber-Weis reaksiyonunda süperoksit anyonu ile hidrojen peroksit, demirle katalizlenerek direkt reaksiyona girer. Ancak birçok fizyolojik durumda bu reaksiyon çok yavaş olur (47,48,57-59).



Hidrojen peroksitin intrasellüler konsantrasyonu yeterli olduğu zaman Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikali meydana gelir.



Ferritine bağlı demir 3 (Fe^{+3}), süperoksit radikali varlığında demir 2 (Fe^{+2}) olarak salınır. Birçok doku yaralanması modelinde, süperoksit radikali veya hidrojen peroksitten çok hidroksil radikallerinin bu sekonder salınımı sorumlu tutulur (47,48).

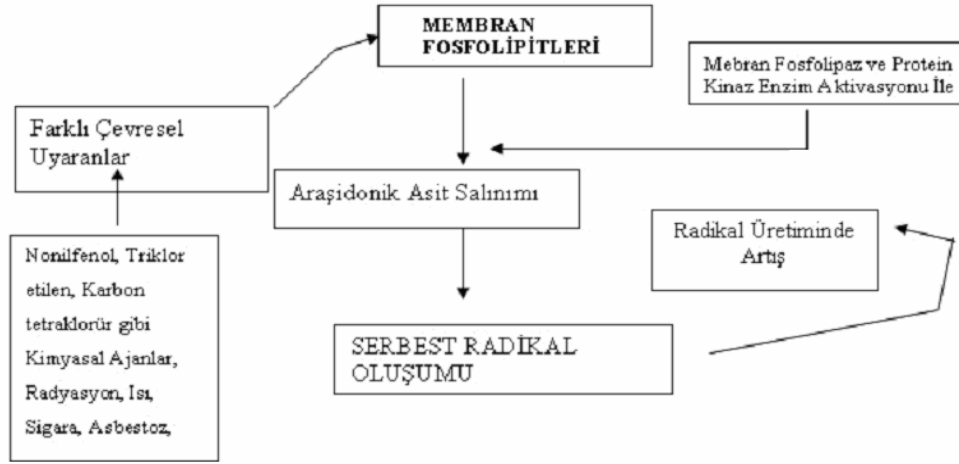
Ekzojen Ajanlar:

Birçok ekzojen madde biyolojik sistemlerde serbest radikal üretimine yol açabilir. Bazı kimyasal toksinler metabolik olarak aktive edilirler ve bu yolla toksik etkiye bulunurlar. Gama ışınları, X ışınları gibi iyonize radyasyona maruz kalan hücrelerde su moleküllerinin direkt homolitik fizyonu ile hidroksil radikali oluşur. Hidroksil radikali, hücre tarafından onarılamayacak şekilde çift zincir kırıklarına yol açabilir (47,48).

2.1.1.3. Çevredeki Radikal Türleri

Hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi çevresel kimyasal etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde radikallerin çoğaldığı bildirilmiştir (Şekil 2.2) (32).

Araşidonik asit metabolizmasının, NO_2 ile karşı karşıya kalması durumunda NO_2 konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği, düşük konsantrasyondaki NO_2 'nin araşidonik asit metabolizması artışına yol açtığı ve çift bağlara girerek otooksidasyonu başlatan stabil hidrojen atomlarını ayrıştırdığı gösterilmiştir (32).



Şekil 2.2. Çevresel Etkilerin Araşidonik Asit Salınımı İle Radikal Oluşturmaları (32)

Kimyasal maddelerin yanması ile açığa çıkan özel maddelerin, radikallerin olası kaynakları ve taşıyıcıları olduğu ileri sürülmüştür (20,60).

Çevresel kimyasal ajanlara maruziyet, hücrelerdeki oksidatif indeksi değiştirerek, oksidatif strese yol açmakta, ayrıca hücrede proteinleri, DNA'yı ve membran lipidlerini etkileyerek hücrenin fonksiyonlarının ve bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır (23,61).

Çevresel endokrin maddeler içerisinde yer alan bir alkilfenoletoksilat ürünü olan nonilfenol yaygın olarak kullanılmakta ve endokrin sistemi bozucu, östrojenik, karsinojenik ve toksik etkileriyle dikkat çekmektedir. Nonilfenolün sitotoksik etkilerini reaktif oksijen bileşiklerini arttırarak oluşturduğu sanılmaktadır (20,62).

Akciğerlere alınan başlıca yanmış organik materyal olan sigara dumanının, gaz fazının in vitro PUFA otooksidasyonunu başlattığı gösterilmiştir. Sigara dumanındaki NO₂'nin ilk formu olan azotdioksit, hemoglobinin hem demiri ile oldukça hızlı reaksiyon verir. Bu arada eritrositlerde artan methemoglobin

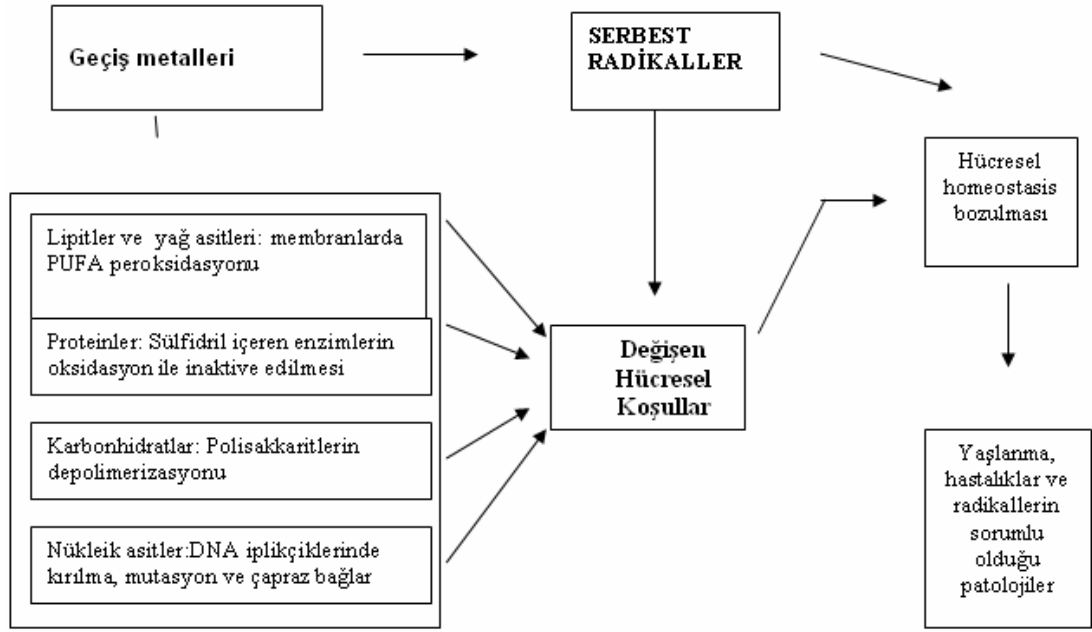
konsantrasyonu, bu kan hücrelerini oksidasyona predispoze hale getirir. Azotdioksit aynı zamanda, süperoksitle reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturur (32).

Halojenli hidrokarbonlar, birçok değişik kaynaktan çevreye girerler. Bu tip bileşiklerin en toksik olanı karbontetraklorür (CCl_4)'dür. Karbontetraklorür metabolizması, kloroform ve sitokrom P-450 gibi ilaç metabolize edici enzimlerle CO_2 oluşumundan sorumludur (32,37).

Ozon, çevresel radikal kaynağı olarak kuvvetli bir oksidan olmasına karşın radikal değildir. Ozonun PUFA ile reaksiyonu ozonoidler denilen polioksijen içeren bileşiklerin bir karışımını verir. Bununla beraber düşük konsantrasyonlarda ozonun, metilinoalat film ve emülsiyonlarının peroksidasyonunu başlattığı bildirilmiştir (32,43).

2.1.1.4. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılara Etkileri

Serbest radikaller intersellüler ortamda oluşur ve intrasellüler komponentlerle reaksiyona girebilmek için membranı geçmek zorundadır (37). Serbest radikaller hücrede lipit, protein, DNA ve karbonhidrat gibi önemli hücresel yapı ve bileşiklere etkilidir. Membranı oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler gibi doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri radikaller için oldukça çekici hedeflerdir (Şekil 2.3) (37). Radikaller yoğun olarak üretildiklerinde, aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozar, hücresel potasyum kaybını ve kapiller trombosit agregasyonunu hızlandırır (43,62).



Şekil 2.3. Geçiş Metallerinin Katalizi ile Radikal Üretimi ve Lipit Peroksidasyonu (37)

Tüm biyomoleküller serbest radikallerin etki alanında olsalar da lipitler bu riske en duyarlı yapılardır. Membranlarda, kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini açığa çıkarır. Böylece lipit peroksidasyon zincirinde PUFA'lar suda çözünebilen ürünlere dönüşür ve membran bütünlüğü bozulur (32,37).

Radikaller, polisakkaritlerin depolimerizasyonu ile karbonhidrat dejenerasyonunu, sülfidril içeren yapıların oksidasyonuna yol açarak da enzim ve proteinlerin deformabilitesi ve inaktivasyonunu tetiklemektedirler (62-64). Öte yandan, nükleik asit baz modifikasyonları ve kromozom değişiklikleri ile DNA'yı etkileyerek mutasyon ve hücre ölümüne yol açarlar (43).

2.1.2. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ

Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Radikallerle oldukça ivedi reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır (23). Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücresel yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir (65). Zincir kırma reaksiyonlarının her basamağında kesinlikle az da olsa hidroperoksit oluşması, ortamdaki ürünler ve haraplanmanın sıfırlanamaması nedeniyle oksidasyon reaksiyonları ve radikaller tamamen yok edilemez (25,32).

Antioksidan maddeler, organizmanın oksidan-antioksidan dengesini korumada rol oynayan beş mekanizmanın en az biri üzerinden etkilidirler. Bu mekanizmalar lipid, protein ve DNA moleküllerinde oluşan hasarın onarılması; oluşan serbest radikallerin etki alanlarından toplanarak temizlenmesi; hücresel kinaz kayıplarının önlenmesi; serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonların durdurulması ya da reaksiyon hızının baskılanması; organizmada SOD gibi endojen antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezinin artırılması şeklinde sıralanabilir (25,70-74). Bazı otörler, antioksidan savunmayı, komponentlerin enzimsel olup olmamasına bakarak, katalaz, SOD ve GSH-Px'in rol aldığı antioksidan aktiviteleri "enzimatik antioksidan savunma", glutatyon, ürik asit, glikoz, tokoferol, askorbat gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini "nonenzimatik savunma" olarak tanımlar (65).

Hücresel homeostatik dengenin korunması, organizmanın canlı ve sağlıklı kalabilmesi için gereklidir. Normal fizyolojik şartlarda iç ve dış kaynaklı stresörler hücresel dengeyi sürekli değiştirmektedir. Bu stresörlere karşı korunma, antioksidan savunma olarak adlandırılan komponentlerle gerçekleştirilmektedir. Bu işlemler, yok edici enzimler ve membran nötralizanı gibi bir çok faktörün harekete geçirilmesi ve spesifik savunma komponentlerinin fonksiyonel integrasyonunu içermekte ve komponentler hücresel iç karışıklıkları yok edip ya da azaltıp eksternal ve internal

stresörlerin etkilerini yok ederek hücrenin uygun formda kalması için çalışmaktadırlar (25,65).

Reaktif oksijen ortamlar ve oksijen metabolizması ürünleri olarak üretilen reaktif türler, selüler homeostasis için başlıca tehdit olarak sayılabilir. Bu reaktif ürünler hücre için olmazsa olmaz temel fizyolojik ve metabolik işlemlerde üretilmektedir (66). Serbest radikal üretimindeki artış, hücresel komponentler ve fonksiyonlara toksik etkili görülmektedir. Antioksidan sistemi oluşturan maddelerin görevi bu toksik etkilere karşı organizmayı ve reaktif moleküllerin oksidatif yıpratmasına karşı hücresel homeostasisi korumaktır (34,37). Koruma işlemi; toksik etkili oksidan metabolit üretiminin engelenmesi, sekonder oksidan üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması, ortamdaki radikallerin temizlenmesi, endojen antioksidan kapasitenin artırılması ve inflamatuvar mediatörlerin blokajı gibi yollarla oluşturulmaktadır (66-68).

2.1.2.1. Antoksidanların Sınıflandırması

Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre sınıflandırılabilir (69).

1. Yapılarına göre:
 - a. Enzimsel
 - b. Enzim olmayan proteinler
2. Kaynaklarına göre:
 - a. Organizmaya ait olanlar (Endojen) (SOD, Katalaz, α tokoferol)
 - b. Dışardan alınanlar (Ekzojen) (Adenozin, Allopurinol, Glutasyon)
3. Çözünürlüklerine göre:
 - a. Suda çözünenler (Glutasyon, Vit C, Ürik asit, Glukoz, Sistein)
 - b. Lipitlerde çözünenler (Vit E, β -karoten, Bilirubin, Flavonidler)
4. Yerleşimlerine göre:
 - a. İntraselüler olanlar (SOD, Katalaz, Glutasyon peroksidaz)
 - b. Ekstraselüler olanlar (Askorbik asit, Transferin, Albumin)

Günlük yaşamın rutin ilerleyişi sırasında karşılaşılan oksidatif stres faktörlerinin giderilmesi ve fizyolojik işleyişin devamında endojen olarak bilinen antioksidanlar önemlidir. Hücresel enzimler ve nonenzimatik yapılardan oluşan endojen antioksidanlar ve özellikleri Tablo 2.2'de listelenmiştir (37,65,75).

Tablo 2.2. Bilinen Endojen Antioksidanlar ve Etkinlikleri (37,65,75)

Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	İşlevi
Stkrm oksdz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksit nötralizanı
SOD	Cu, Zn, Mn SOD	Mitokondri, serum,	Süperoksiti H_2O_2 'e çevirir
Katalaz	hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı
GSH-Px	Selenoprotein	Sitosol, mitokondri	L P ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Citool, mitokondri	Disülfidleri indirger
α -tokoferol	Yağda çözünen vit.	Membranlar,eks.sel. ortam	Peroksidasyonu azaltır
B-karoten	Vit A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptid	İntraselüler ortam, alveoller	GSH redoks substratı
Askorbik asit	Suda çözünen vit.	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, vit C korur
Sistein	Amino asit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşiklerini indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikalleri giderir
Bilirubin	Hemoprotein ürünü	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksiti H_2O_2 'e çevirir
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı

Öte yandan akut fiziksel aktiviteler ve gebelik gibi fizyolojik durumlar ile pek çok patolojide lokal ve genel antioksidan kapasite aşılabilmekte ve antioksidan savunma sistemi yetersiz kalmaktadır. Bu gelişmeler karşısında antioksidan kapasitenin güçlendirilmesi amacıyla, bir çoğu Tablo 2.3'te gösterilen ekzojen antioksidan maddelerin alımı gündeme gelmiştir (37,67).

Tablo 2.3. Başlıca Ekzojen (Farmakolojik) Antioksidanlar ve Özellikleri (37,67)

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz inhibitörleri	Allopurinol	Ksantiz oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Oksipurinol	Ksantiz oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Pterin aldehit	Ksantiz oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Tungsten	Ksantiz oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
Proteaz inhibitörleri	Soya tripsin inhibitörü	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Serin proteaz inhibitörleri	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Fenilmetilsülfonil (PMSF)	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
NADPH oksidaz inhibitörleri	Adenozin	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Lokal anestezikler	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Kalsiyum kanal blokerleri	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Nonsteroid antünflamatuvarlar	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Cetiedil	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
Süperoksit dismutaz	Doğal SOD	Süperokstten hidrojenperoksit dismutasyonunu katalizler
	IgA bağımlı SOD	Süperokstten hidrojenperoksit dismutasyonunu katalizler
	Polietilen glikol SOD	Süperokstten hidrojenperoksit dismutasyonunu katalizler
	Ginkgo Biloba (Egb 761)	SOD ile benzer fonksiyon
Katalazlar	Doğal katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi ve nötralizasyonu
	PEG-katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi ve nötralizasyonu
	Lipzom kapsüllü katalaz	H ₂ O ₂ 'ni O ₂ ve H ₂ O'ya çevirir
Nonenzimatik toplayıcılar	Mannitol	Hidroksil radikal giderici
	Albumin	Geniş çaplı oksidan toplayıcı
	Dimetil sulfoksid	Fe, süperoksit, hidroksil toplayıcı
	17-aminosteroid lazaroidler	H ₂ O ₂ ve hidroksil giderici
	Glutasyon	Süperoksit giderici
	Ürik asit	Süperoksit ve hidroksil giderici
	Spin tuzakları	Tüm radikalleri toplar
	Bilirubin	Peroksidasyon zincirini bozar
Demir redoks zinciri inhibitörleri	Deferoksamin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
	Apotransferrin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
	Seruloplazmin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
Endojen savunmayı artıran ajanlar	Antinötrofil serumu	Hücrel glutasyon peroksitaz enzimi aktivitesini artırır
	Monoklonal antibodiler	Nötrofillerin endotele adezyonu inhibe eder
	Platelet aktive edici faktör	Nötrofillerin adezyonunu inhibe eder

Antioksidan maddeler, hücre içi ve dışında antioksidan savunmada rol alan SOD, GSH-Px, Katalaz, ürik asit, Vitamin A,C,E,K,Q, bilirubin, mukus gibi endojen elemanlar ve ksantin oksidaz inhibitörleri, proteaz inhibitörleri, spin tutucular gibi bir

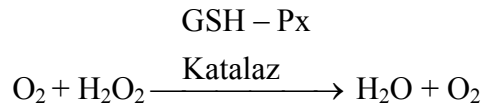
çok farmakolojik ajandan oluşmaktadır. Antioksidanlara daha spesifik rollerin yüklendiği çalışmalarda, antioksidan savunma; selüler, membransel ve ekstraselüler olarak sınıflandırıldığı görülmektedir (61).

Selüler Antioksidan Enzimler

Reaktif oksijen metabolitleri, SOD, GSH-Px, katalaz ve sitokrom oksidaz gibi selüler antioksidan enzimlerce indirgenir. Hücresel antioksidan enzimler ve nitelikleri Tablo 2.4'te sunulmuştur. Dismutasyon işlemi süperoksiti, SOD katalizörlüğünde H_2O_2 'e ve oksijene dönüştürür (23).



Hidrojen peroksit ise GSH-Px ve katalaz katalizörlüğünde aynı reaksiyonlarla indirgenir (36).



Aerobik canlılardaki süperoksit ve hidrojen peroksit varlığı, radikallerin yüksek konsantrasyonlarının hücresel yaşam için risk olduğunu göstermesi açısından önemlidir. Diğer selüler antioksidan enzim sitokrom oksidaz, mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen reaktif oksijen metabolitlerini mitokondri aktif merkezinde bloke ederek salınımını engeller (34). Bunu yaparken demir, bakır gibi oksidan metal iyonlarını oluşturduğu bir havuzcukta toplar. Örneğin, bir antioksidan olarak GSH-Px, paraquat ve diquatın toksik etkisini gidermede etkilidir. Antioksidan enzimlerden GSH-Px aktivitesi selenyum ile, SOD aktivitesi ise bakır, çinko ve mangan elementleri ile ilişkilidir (23,65).

Tablo 2.4. Intraselüler Antioksidanlar ve Reaksiyonları (23)

Antioksidan	Reaksiyonu
Süperoksit dismutaz	Süperoksidin giderilmesi reaksiyonlarında katalizör
Katalaz	H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarının giderilmesini katalizler
Glutasyon peroksidaz	H_2O_2 'nin düşük konsantrasyonlarının giderilmesinde kullanılır
Sitokrom oksidaz	Oksijen indirgenmesi basamaklarında reaktif tür oluşmasını önler

Membran Antioksidanları

Membranların hidrofobik lipit yüzünde, intraselüler ortamdan farklı olarak lipitlerde çözünen ve hücrel enzimlerle yok edilemeyen radikaller üretilir. Başta α -tokoferol (vit E) olmak üzere, ubiquinol bileşikler, β -karoten ve koenzim Q temel membran antioksidanlarıdır. Düşük densiteli lipoproteinlerde mikro düzeylerde bulunan ve onların otooksidasyonunu önleyen ubiquinolün kaliteli bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. β -karoten oldukça aktif bir radikal toplayıcıdır ve aktivitesi ortam oksijen konsantrasyonuna bağlıdır (25). Yağda çözünen bir vitamin olan α -tokoferol membranlar dışındaki ortamlarda oldukça zayıf bir antioksidan iken, membran lipit tabakaları arasında oldukça etkilidir (76). α -tokoferol gibi fenolik antioksidanların membranlardaki etkileri birkaç faktöre bağlıdır (77). Viskoz olmayan nonpolar solüsyonlarda PUFA peroksidasyonunu artıran OH $\cdot$, α -tokoferol ile PUFA'dan 5×10^4 kat daha hızlı reaksiyon oluşturabilir ve PUFA oksidasyonunun inhibisyonunda etkilidir (76).

β -karoten, antioksidan aktivitesini oksidasyon ara ürünlerinden singlet oksijen üretiminin engellenmesi üzerinden serbest radikallerin oluşumunu önleyerek ve ortamdaki radikalleri toplayarak gösterir. β -karotenin bu antioksidan aktivitesi, bulunduğu ortamın oksijen konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (65,78).

Sadece zarlarda aktif bir antioksidan olan vitamin E (25), lipit peroksidasyonunun erken aşamasında serbest radikal türlerini yok ederek ya da oluşumlarını engelleyerek zar fosfolipitlerindeki poliansature yağ asitlerini oksidanların zararlı etkilerinden koruyarak oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur (32,71).

Vitamin E serbest radikalleri stabile ederek peroksidasyon zincirini kırar ve bu olgu singlet oksijenin çoğunlukla hidroksil radikaline ya da süperoksit radikaline indirgenmesi ile gerçekleştirilir (71). Vitamin E, radikallerin yok edilmesi, zincirin kırılması, baskılama, bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamını kullanarak antioksidan görevini yerine

getirdiğinden antioksidan kapasitesi çok geniştir (32,43,65,70,72). Alveoler zarlar ve eritrosit zarlarında olduğu gibi vitamin E'nin antioksidan rolü, oldukça yüksek moleküler oksijen konsantrasyonlarında bile etkili olabilmektedir (32,34,71,74).

Vitamin E'nin hücre zarında gösterdiği antioksidan etkiyi, hücre içerisinde genelde glutatyon peroksidaz (GSH-Px) üzerine alır. GSH-Px metalloenziminin aktivasyonu için selenyum elementi gereklidir (43,79-81). Bilinen membran antioksidanları ve bazı özellikleri Tablo 2.5'te verilmiştir (22).

Tablo 2.5. Membran Antioksidanları ve Etkileri (22)

Antioksidan	Etkileri
Vitamin E	Membran lipitlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar
Koenzim Q	Mitokondriyel enerji metabolizmasında bir antioksidan olarak rol alır
β karoten	Radikal türleri toplar, ayrıca singlet oksijen oluşumunu inhibe eder

Ekstraselüler Antioksidanlar

Antioksidan enzimler, vücut sıvıları ve organik ürünlerde bulunmaz. Bu nedenle glikozillenmiş serum proteinleri olarak tanımlanan SOD ve GSH-Px'in ekstraselüler ortam ve organik materyallerde antioksidan olarak önemi yoktur (82). Transferrin, albumin, laktoferrin, ürik asit, haptogloblinler, bilirubin, seruloplazmin, glikoz gibi proteinler temel ekstraselüler antioksidanlardır (83).

Ekstraselüler antioksidan savunmanın temel yolu, hücreler arası ortamda üretilen serbest radikal metabolitlerin, demir ve bakır gibi katalizör metal iyonları ile karşılaşmalarını engellemektir (65). Örneğin, demir taşıyıcı protein transferrin bire üç demir bağlayarak plazma serbest demir konsantrasyonunu düşürür. Böylelikle bağlı demir ve bakır iyonları serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyemez ve tepkime sayısı azaltılmış olur (84). Myoglobin, hemoglobin, hemopeksin, laktoferrin, ve albumin hemen hemen aynı işlevselliktedir. Laktoferrinin nötrofillerde radikal oluşumunu önleyen bir ajan olduğu gösterilmiştir (25). Seruloplazmin bakırı bağlarken, glikoz, urat ve bilirubin ortamdaki radikalleri temizleme uğraşındadır (65). Bilirubinin antioksidan kapasitesi, β -karotene benzer şekilde oksijen

konsantrasyonuna bağılı olarak değişmektedir (85). Ekstraselüler ortamlar ve organik ürünlerin korunmasında, dimetil sülfoksit, mannitol gibi kimyasal antioksidanlardan da yararlanılmaktadır (86). Tablo 2.6 bazı ekstraselüler antioksidanları göstermektedir (22).

Plazmadaki total antioksidan kapasiteyse, özellikle vitamin C olmak üzere ürik asit ve bazı büyük molekülü proteinlerin aktivitelerinden oluşmaktadır (87). Su bazlı ortamlarda geniş antioksidan kapasitesi ile vitamin C, lipit ortamların güçlü antioksidanı olan vitamin E'nin antioksidan etkisini andıran bir rol üstlenerek kan ve diğer vücut sıvılarının primer antioksidan savunmasını gerçekleştirir (88). Vitamin C'nin singlet oksijen, süperoksit, hidroksil, hidroperoksit, lipit peroksit ve lipit alkoksil radikallerini ortamdan temizleyerek antioksidan etkisini gösterebileceği bildirilmektedir (89-91). Lipit moleküllerinin oksidasyonu ile oluşturduğu lipit peroksitlerinin, sulu ortamlarda çözülmesinin de vitamin C'nin antioksidan etkisiyle olduğu ileri sürülmektedir (88).

Bazı biyolojik sistemlerde, lipozomal metil linoat misellerinin oksidasyonunu baskılayan antioksidan aktivitenin de, vitamin C'den olduğu söylenmektedir (92-94).

Ayrıca vitamin C, tokoferol radikali haline gelmiş ve antioksidan özelliğini yitirmiş vitamin E'nin tekrar aktif hale dönüştürülmesinde de rol oynar (95-97).

Vitamin C, sayılan bu antioksidan görevlerinin yanı sıra Fe^{+3} 'ü, lipit peroksidasyonunu arttıran, Fe^{+2} 'ye dönüştüren oksidan bir davranış da göstermektedir (88).

Tablo 2.6. Ekstraselüler Antioksidanlar ve Özellikleri (22)

Antioksidan	Etkileri
Askorbit Asit	Hidroksil radikal giderici ve tokoferolü indirgeyici antioksidan vitamin
Transferrin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder
Laktoferrin	Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar
Haptoglobinler	Hemoglobin bağlayarak “hem”in salınmasını önler
Hemopeksin	Ortamdaki serbest hem proteinlerini bağlayarak oksidasyonu inhibe eder
Albumin	HOCL radikalini toplar, hem proteini ve bakır metal iyonlarını bağlar
Serüloplazmin	Süperoksit radikalini nötralize eder, bakır iyonlarını bağlar
Bilirubin	Önemli bir peroksit radikali toplayıcısıdır
Mukus	Hidroksil radikali toplayıcı olarak işlev yapar
Ürik Asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleri de toplar
Glikoz	Hidroksil radikali giderici antioksidan moleküldür

2.1.2.2. Oksidan-Antioksidan Denge

Soluduğumuz havada bulunan oksijen, ilk kez 1770’li yıllarda Priestley, Lavoisier ve Scheele tarafından moleküler oksijen olarak tanımlanmıştır (98). Aerobik yaşamın temel esasını, canlının su ya da havadan alınan oksijen yardımıyla, karbon ve hidrojen içeren besin maddelerinin organizma içinde bol miktarda yakılmasıyla elde edilen, kimyasal ve termal enerji oluşturur (25,75). Yaşam için önemi bulunan bu kimyasal tepkimelerin bazı basamaklarında oksijen indirgenir ve reaktif oksijen türleri olarak tanımlanan ara ürünler oluşur. Reaktif karakterli bu tür metabolitlerin oluşumuna yol açan faktörlerin tamamına “prooksidan veya oksidan madde”, bu maddelerin organizmadaki “pool”leri ise “oksidasyon kapasitesi” olarak tanımlanmaktadır (75,99). Reaktif karakterli ürünler aslında mitokondrial oksidasyon, sitokrom P-450 aktivitesi, prostaglandin sentezi ve akışı ile inflamatuvar süreç, oksijenin hemoglobinlerce taşınımı, gibi aerobik yaşamın vazgeçilmez fizyolojik olaylarında, hücresel homeostazisin sağlanmasının doğal bir sonucudur (25,43,75).

Vücut sıvılarında ve hücre membranlarında bulunan ve “antioksidan” olarak isimlendirilen bazı faktörler, reaktif madde miktarındaki artıştan olumsuz etkilenen hücresel homeostazisi önleyebilir. Antioksidanlar reaktif maddeleri ve reaksiyonlarını bir dengede tutabilmek üzere sürekli aktivite gösterirler (65). Sonuç olarak organizma doğuştan kazandığı bir donanım sayesinde, fizyolojik aktivitenin doğal sonucu olan serbest radikal nitelikli biyokimyasal ürünleri, “oksidan-antioksidan denge” olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmayı başarır. Tehlikeli olan durum, radikallerin varlığından daha çok oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin herhangi biri lehine bozulmasıdır (75,78).

2.1.2.3. Oksidan-Antioksidan Dengenin Bozulması

Çevresel kimyasal maddelere maruz kalma, hücrelerde radikal oluşumu ve reaksiyonlarını arttırarak oksidatif strese yol açmaktadır (32,61). Hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, organik yanık madde alımı (yanmış gıdalar, sigara dumanı gibi) ve iyonize edici radyasyon başlıca ekzojen radikal kaynaklarıdır (32,61,100,101). Örneğin, herbisitler, paraquat ve diquatın uygulandığı hayvanlarda, malondialdehit (MDA), etan, pentan gibi peroksidasyon ürünlerinin artması, bu maddelerin redoks devrine girerek süperoksit oluşturduğu ve lipid peroksidasyonunda rol aldığını göstermektedir (102). Oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizmanın maruz kaldığı “oksidatif stres”, sonuçta bozulan hücresel metabolizma, moleküler yıkımlanma ve doku hasarını getirir (46-48,56).

Prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasından endojen faktör olarak mitokondrial oksijen hareketleri sorumludur (43). Organizmaya ani ve aşırı miktarda oksijen girişi; nonilfenol gibi kimyasal çevre kirleticilerinin yoğun olduğu ortamlardan uzun süre etkilenim; yoğun stres, sigara ve alkol kullanımı, laktik asit, laktat dehidrogenaz, diyetle doymamış ve kolay peroksitlenebilen yağların fazla miktarda bulunması; kreatin fosfokinaz gibi litik enzim aktivitelerinin yükselmesi; epinefrin ve diğer katekolaminlerin artışı; egzersiz, gebelik, yaşlılık gibi fizyolojik haller; antioksidan savunma sistemi yetmezlikleri veya savunma duvarının aşılması gibi durumlarda hassas olan oksidan-antioksidan denge, oksidanlar lehinde bozulabilir. Bu olgu serbest radikallerin oluşumunun artışından ya da antioksidan

aktivitesinin yetersizliğinden ileri gelebilir (75,103). Yaşadığımız atmosferdeki elektromanyetik alanlar, ozon ve kısmi oksijen basıncı, UV, X ve güneş ışınları gibi faktörlerle de oksidan-antioksidan dengenin radikaller lehine bozulabileceği gösterilmiştir (70,78,104,105). Bir çok hastalık ve patolojik olgular da oksidan-antioksidan dengeyi olumsuz etkilemektedir (43,99). Ancak tüm araştırmacıların birleştikleri konu herhangi bir nedenle oksidan-antioksidan dengenin bozulmasıyla oluşan radikallerin öncelikle zar lipidleri olmak üzere proteinler ve DNA gibi tüm biyomoleküller için bir risk faktörü oluşturduğudur (32).

Oksidan-antioksidan dengenin radikaller lehine bozulması bir dizi zincirleme reaksiyonlarla mümkündür. Söz konusu zincirleme reaksiyonları başlatmak, serbest radikallerin radikal olmayan maddelerle yeni radikaller oluşturmak üzere girdikleri reaksiyon tipleri Tablo 2.7’de gösterilmiştir (34).

Tablo 2.7. Serbest Radikallerin Radikal Olmayanlarla Başka Radikaller Oluşturmak Üzere Girebilecekleri Reaksiyonlar ve Bazı Örnekler (34)

Reaksiyon Tipi	Genel Gösterim	Örnek
Eklenme	$x + y \rightarrow [x-y]$	DNA guaninine OH ⁻ eklenmesiyle 8-hidroksiguanin radikali oluşması
İndirgeme (radikalin elektron vermesi)	$x + y \rightarrow y^{\cdot-} + x^+$	Paraquat radikalinin O ₂ ’ni süperoksit radikale indirgemesi
Yükseltgeme (radikalin elektron alması)	$x + y \rightarrow x^{\cdot+} + y^-$	O ₂ ⁻ + H ⁺ → askorbat + H ₂ O ₂ askorbik asitin gösterimindeki gibi yükseltgenmesi
Yükseltgenme (radikalin H atomu alması)	$x + y-H \rightarrow x-H + y^{\cdot}$	Lipit peroksil radikali ile α-tokferolün reaksiyonu αTH + LOO → LOOH + αT

İnterselüler antioksidan enzimlerin artışı, bilirubin, transferrin, glikoz, ürik asit ve albumin gibi ekstraselüler antioksidan düzeylerinin yükselmesi, hipervitaminozis gibi olgularda oksidan-antioksidan denge antioksidanlar lehine bozulmakta ve gerçekte bir “antioksidatif stres” tablosu oluşmaktadır (32,88).

Vücut çok hassas bir oksidan-antioksidan dengeye sahiptir. Bir antioksidanın düzensiz dozlarda alınımı bu dengeyi bozarak olumsuz etkiler oluşturabilir. Antioksidatif stres kavramı aşırı ve düzensiz antioksidan kullanımında ortaya

çıkmaktadır. Tehlikeli olan bu radikallerin aşırı artışıdır. Bu zararın giderilmesi amacıyla kullanılan antioksidan maddeler sanıldığı kadar saf değildir (106).

Herbert (1993), vitamin C ve β karotenin psikolojik seviyelerde antioksidan olarak davrandığını fakat farmakolojik seviyelerde de prooksidan etkilerinin arttığını vurgulamıştır (107).

Antioksidan kullanımında önemli olan, bir antioksidanın prooksidan olabileceğini de bilmektir. (84,85)

2.1.2.4. Tiol İçeren Antioksidan Etkili Bazı Bileşikler

Tiol içerikli maddelerin tanımı

Tiol terimi kükürt içeren bileşikleri ifade eder. Kükürt, aminoasit, protein, enzim, vitamin ve diğer biyomoleküllerin biyolojik yapıları için gerekli olan önemli bir inorganik elementtir. İnsan ve tek mideli hayvanların aksine, bitkiler inorganik sülfürü kullanabilir, metionin ve sistein gibi tiol (sülfür) içeren aminoasitleri sentezleyebilir. Tiol içeren aminoasitler; Sistein, metionin, taurin, glutatyon (GSH), lipoik asit (LA), N-Asetil Sistein (NAC), merkaptopropinilglisin (MPG) ve sarımsak yağında bulunan dialilsülfid (DAS), dialildisülfid (DADS) ve dialiltrisülfid (DATS) 'dir. Tiol içeren bu bileşikler çeşitli oksidanları indirgeyerek ve temizleyerek biyolojik sistemleri oksidatif strese karşı korurlar (108).

2.1.2.5. Tiol içerikli Maddeler ve Etki Mekanizmaları

Sistein

Tiol içeren aminoasitlerden biri olan sistein, GSH sentezinde temel rol oynar. Sistein, GSH sentezi için hız belirleyici bir enzim olan gama-glutamat sistein ligaz enzimini onarır. Sistein, protein sentezi için kritik bir substrat, GSH ve taurin sentezi için hız belirleyici bir aminoasittir. Sisteinin antioksidan işlevinin yanında, nörotransmitterler için karakteristik olan bazı işlevlere sahiptir (108-111).

Metionin

Metionin, önemli bir metil vericisi olup, proteinlerin sentezi için gereklidir ve vücuttaki sülfürün temel kaynaklarından biridir. Metionin hayvanlar tarafından sentezlenemez. Metionin, toksik olan asetaldehitin düzeyini düşürerek alkolün zararlı etkilerini azaltabilir. Ayrıca metaboliti olan S-adenozil metioninin, etanolle beslenen maymunlarda (babunlar), GSH düzeyindeki düşüşü önlediği ve mitokondrial enzimleri normale çevirdiği gösterilmiştir. Metionin, peroksinitritle oluşan DNA nitrasyonunu önlemede pek etkili değildir. Moleküldeki primer amino grubu sayesinde metioninden daha etkin bir antioksidan olan N-asetil –L-metionin bu olayda daha etkindir (108,109,112,113).

Glutatyon

Glutatyon, sistein içeren bir tripeptid olup glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Hücrelerde en çok bulunan glutatyon, protein dışı endojen tioldür. Doku GSH düzeyi sadece senteze katılan enzimler tarafından düzenlenmez, tiol içeren aminoasitlerin yeterince olması da çok önemlidir. İn vivo sentezlenebilen ve ince barsaktan kısmen emilebilen GSH, endojen ve ekzojen bir antioksidandır. Glutatyonun oksidasyonu ile GSH-radikali (GS-) oluşur. GS diğer bir GS ile birleşir ve okside GSH (GSSG) oluşur, bu da NADPH bağımlı GSH-redüktazla GSH'ya indirgenir. Glutatyon, GSH-transferaz ve peroksidazlar için substrat olup ksenobiyotik ve reaktif oksijen türevlerinin detoksifikasyonuna katılır. Ayrıca, antioksidan etkili C ve E vitaminleri üzerinde orta düzeyde koruyucu etkiye sahiptir (108,109,113,114).

Lipoik asit (tioktik)

Lipoik asit (tioktik), tiol içeren bir kofaktördür, antioksidan ve metal şelatör etkiye sahiptir. Hem LA hem de redükte formu dihidrolipoik asidin (DHLA) her molekülünde iki tiol grubu bulunur. Lipoik asit insanlarda denovo sentezlenebilir ve normal bir diyetle yeterince alınabilir. Lipoik asit barsaklardan hızla emildikten sonra başta karaciğer olmak üzere çeşitli dokularda metabolize olur ve daha sonra atılır. Lipoik asit çeşitli dokuların hücrelerinde DHLA'ya indirgenir. Bu olayda NADH veya NADPH'ın yanı sıra, dihidrolipoil dehidrogenaz ve GSH-redüktaz enzim aktivitesi de önemlidir. Lipoik asit, radikali ve hipokloröz asidi temizler; ancak

süperoksit ve peroksil radikaline pek etkili değildir. Dihidrolipoik asit ise, peroksil ve hidroksil radikallerini temizleyerek lipit peroksidasyonunu önler. Hem LA hem de DHLA, H_2O_2 ve singlet oksijene de etki eder. Orta düzeyde bir antioksidan olarak kabul edilen LA ve en iyi antioksidan olarak kabul edilen DHLA, mangan, bakır, çinko ve kurşun gibi geçişli (transition) metallere stabil kompleksler yaparak biyolojik sistemlerdeki ağır metalleri yok ederler. Lipoik asit/DHLA redoks çifti iyi bir antioksidan olarak kabul edilir (108,115-120).

N-Asetil sistein

Sisteinin türevi olan N-asetil sistein (NAC), sisteinin GSH'ya çevrilmesinde bir ara üründür. Endojen olarak yapılabilen ve besinlerde bulunan NAC, serbest radikalleri temizleyebilen sülfidril gruplarına sahiptir. Ayrıca hücresel redükte GSH konsantrasyonunu arttırarak doğal antioksidan savunmayı güçlendirir. Bu nedenle, NAC plazma GSH düzeyinin yüksek, ama T-hücre GSH düzeyinin düşük olduğu Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromu (AIDS) tedavisinde kullanılabilir (108,121,122).

MPG (Merkaptopropionilglisin)

Tiolaktik asit ve glisinden oluşan bir detoksikan olan merkaptopropionilglisin (MPG), vücutta sülfür gruplarını serbestleştirir, radyasyon hasarında koruyucudur ve kardiyoprotektif özellikler gösterir. Merkaptopropionilglisinin izole reperfüze sıçan kalbinde reperfüzyon sırasında mitokondrial oksidatif fosforilasyonu düzelterek yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin artışına neden olduğu bildirilmiştir. Düşük ve toksik olmayan konsantrasyonlarda, akciğer iskemi perfüzyon hasarı ile ilişkili olan doku sülfidrillerinin eriyebilir protein ve lipidlerin oksidasyonunu belirgin biçimde inhibe edebilir, iskemik akciğerlerde MPG tedavisi sülfidril düzeyini normal seviyede tutabilir (108,120,123-125).

Taurin

Taurin, vücuttaki serbest aminoasitlerden en bol bulunanıdır, çeşitli biyolojik olaylarda önemli rol oynar. B₆ vitamini varlığında, in vivo metionin ve sistein metabolizmasından elde edilen taurin, besinlerden kolayca emilebilir. Taurin, özellikle polimorfonükleer lökositler ve retina başta olmak üzere birçok dokuda

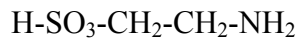
yoğun olarak bulunur. Safra asidi konjugasyonu, detoksifikasyon, membran stabilizasyonu, osmoregulator ve nörotransmitter işlevlerinin yanında vücuttaki birçok dokuda antioksidan işlevi vardır. Epilepsi ve diğer konvulsiv bozukluklar kardiyovasküler hastalıklar, maküler dejenerasyon, hiperkolesterolemi ve alkolizm gibi değişik sorunların tedavisinde kullanılır. Retina ve diğer membranlı dokularda milimolar yoğunlukta bulunan taurinin hipokloröz asitle doğrudan reaksiyonu sonucu oluşan klorotaurin, taurinle birlikte hipokloröz asidi nötralize ederek antioksidan etki gösterir (108,113,126-128).

2.1.2.6. TAURİN

Taurin ve Yapısı

Taurin, yaklaşık 150 yıl önce sığır safrasından izole edilişinden bu yana bilinen bir maddedir. Özellikle Hayes ve arkadaşlarınca, taurin üzerine 1975 yılında yapılan yayından sonra, bu kimyasal maddeye biyokimyasal, biyolojik ve medikal ilgi artmıştır (129).

β Aminoetan sülfonik asit olan taurin, birçok dokuda bol miktarda bulunan bir β aminoasittir. Taurin, renksiz, suda çözünebilen, molekül ağırlığı 125 olan, protein yapısına katılmayan ve serbest olarak bulunabilen bir maddedir (129). Endojen sentezi, başlıca sistein sülfonik asit dekarboksilaz (CSAD) tarafından katalizlenen bir reaksiyonla, metionin ve sisteinden, beyin ve karaciğerde gerçekleştirilir. Taurin, safranın birleşmesi hariç, uzun süre fizyolojik rolü olmayan sülfür amino asit metabolizmasının önemsiz bir son ürünü olarak kabul edilmiştir fakat hücrede fonksiyonu olmayan bir molekülün bu kadar yüksek miktarda bulunması, araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Daha sonra taurinin, antioksidasyon, osmoregülasyon, detoksifikasyon, membran stabilizasyonu, nöromodilasyon sağlayan yapıya sahip olduğu, retinal ve kardiyak fonksiyonu, beyin gelişimini içeren pek çok fizyolojik olayda temel bir rol oynadığı tespit edilmiştir (130-132).



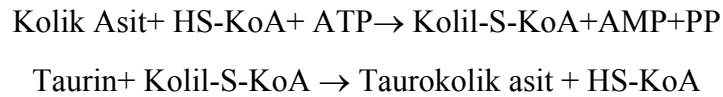
Şekil 2.4. Taurin (133)

Şekil 2.4’de de görüldüğü üzere; amino grubu ikinci veya β karbonunda bulunduğu için taurin bir β -amino asittir (133). Memelilerde, sülfür metabolizmasının son ürünüdür. Taurin biyosentezi, metioninden sistein oluşumuna kadar bir dizi basamak içerir. Organizmadaki taurin havuzunu, diyetle alınan kükürtlü aminoasitlerin endojen metabolizması belirler. Dolayısıyla taurin düzeyi, öncü amino asitlerin diyetle alımına ve sentezlenen taurin miktarına bağlıdır (133).

Taurinin sülfonat grubu nedeniyle güçlü asidik özellikte olduğu gösterilmiştir. Taurinin pKa değeri de 1.5 olarak hesaplanmıştır. Bu madde, fizyolojik pH'larda zwitterionik yapıdadır (134,135).

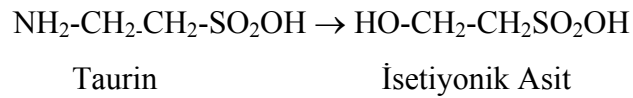
Taurin, bitkisel besin kaynakları ve inek sütü dışında tüm hayvansal gıdalarda bol miktarda bulunur. İnek sütünde, diğer memelilerin sütlerine göre gebeliğin uzun süreli olmasına bağlı olarak, taurin düzeyi eser miktardadır (136).

Günümüzde taurinin en iyi bilinen fonksiyonu, safra asitleri ile konjuge olmasıdır. Bu aminoasit, karaciğerde kolil-KoA ile konjuge olarak taurokolik asidi meydana getirir (Şekil 2.5) (136).



Şekil 2.5. Taurinin Safra Asitleri ile Konjügasyonu (136)

Taurin, hayvanlarda hem barsaklarda bakteriler tarafından hem de kaslarda deaminasyon sonucu isetiyonik aside (2-hidroksietansülfonik asit) çevrilir ve vücuttan idrar yolu ile atılır (Şekil 2.6) (137).



Şekil 2.6. Taurinin Vücuttan Atılım Ürünü (136)

Vücut taurin dengesi böbreklerle ayarlanır (133). Böbreklerden taurin geri emilim kapasitesi düşük olduğu için idrarda fazla bulunan bir aminoasittir (136). Böbreklerden, safra tuzları ile konjuge olmuş taurin yeterli miktarda emilir (138). Böbreklerin maturasyonu ile taurin geçirgenliği arasında ilişki vardır (136). Diyetteki taurinin düşük miktarda olması halinde, beyin taurin konsantrasyonunu sabit tutmak amacı ile böbrekler uyum gösterir (139,140).

Taurin Miktarları

Toplam vücut taurini 12-18 g'dır. Bunun 15-66 mg'ı plazmada bulunur (135). Beyin, kalp kası, dalak, böbrek ve vücut kas hücrelerinde taurin konsantrasyonu oldukça yüksektir (Tablo 2.8) (141).

Beyinde de sadece serbest glutamik asit miktarı taurinden fazladır. Hücrelerdeki taurin, protein ve peptitlere bağlı olarak bulunmadığı için proteinlerin yıkımlanması, taurinin hücre içi konsantrasyonunu değiştirmez. Taurinin hücre içi konsantrasyonunun değişmesi için hücre duvarının travma veya radyasyona bağlı olarak harap olması gerekir (136). Beyinde, pineal pitüiter bezlerde ve retinada, beynin diğer bölümlerine oranla taurin konsantrasyonu daha yüksektir (136).

Tablo 2.8. Çeşitli Organların Taurin Miktarları (mM/kg doku) (141)

Organ	Taurin Miktarı (mM/kg doku)
Kalp	30
Frontal korteks	6
Pons	4
Orta Beyin	3
Serebellum	3
M. Spinalis	4
Timus	11
Akciğer	13
Karaciğer	2
Böbrek	11
Dalak	16
Mide	9
İnce Barsak	15
Kalın Barsak	12
Kaslar	15

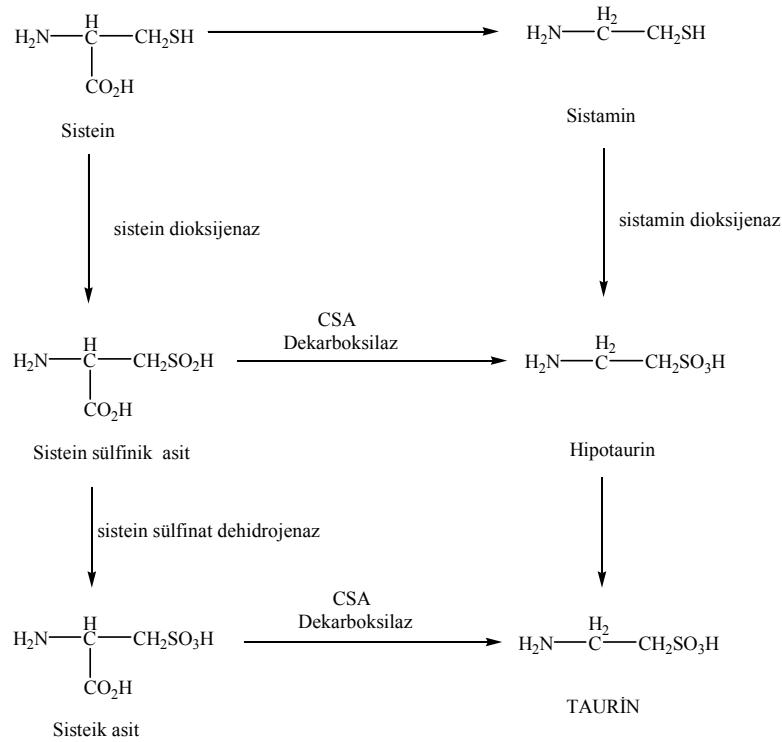
Taurin, santral sinir sisteminde hem nöronlarda hem de glial hücrelerde farklı yoğunluklarda bulunur. Serebral korteks, serebellum olfaktör kabartılar ve

striatumdaki konsantrasyonu, pons, medulla ve m. spinalisdekine göre daha yüksektir (129). Diğer organların aksine eksiklik durumlarında beyin taurin konsantrasyonu sabit tutulur.

Yapılan çalışmalar, taurinin sinir sisteminin gelişmesinde, önemli etkileri olduğunu ve hücre göçünde rol oynadığını ortaya koymuştur (141). Ayrıca serebellar fonksiyon ve sinirsel uyarılabilirliğin sağlanması, hormon salınımı ayarlayıcı ve antikonvülzan etkilerinin olduğuna ilişkin yayınlar da vardır (129). Etanol ile oluşturulan uyku süresini taurinin arttırdığı, santral sinir sisteminde depresan rolü olduğu bildirilmiştir (142).

İskelet ve kalp kasında hücre içinde en fazla miktarda bulunan serbest amino asittir. (136). Adrenal bezlerde ve pankreasta da göreceli olarak yüksek konsantrasyonlarda bulunur (143,144).

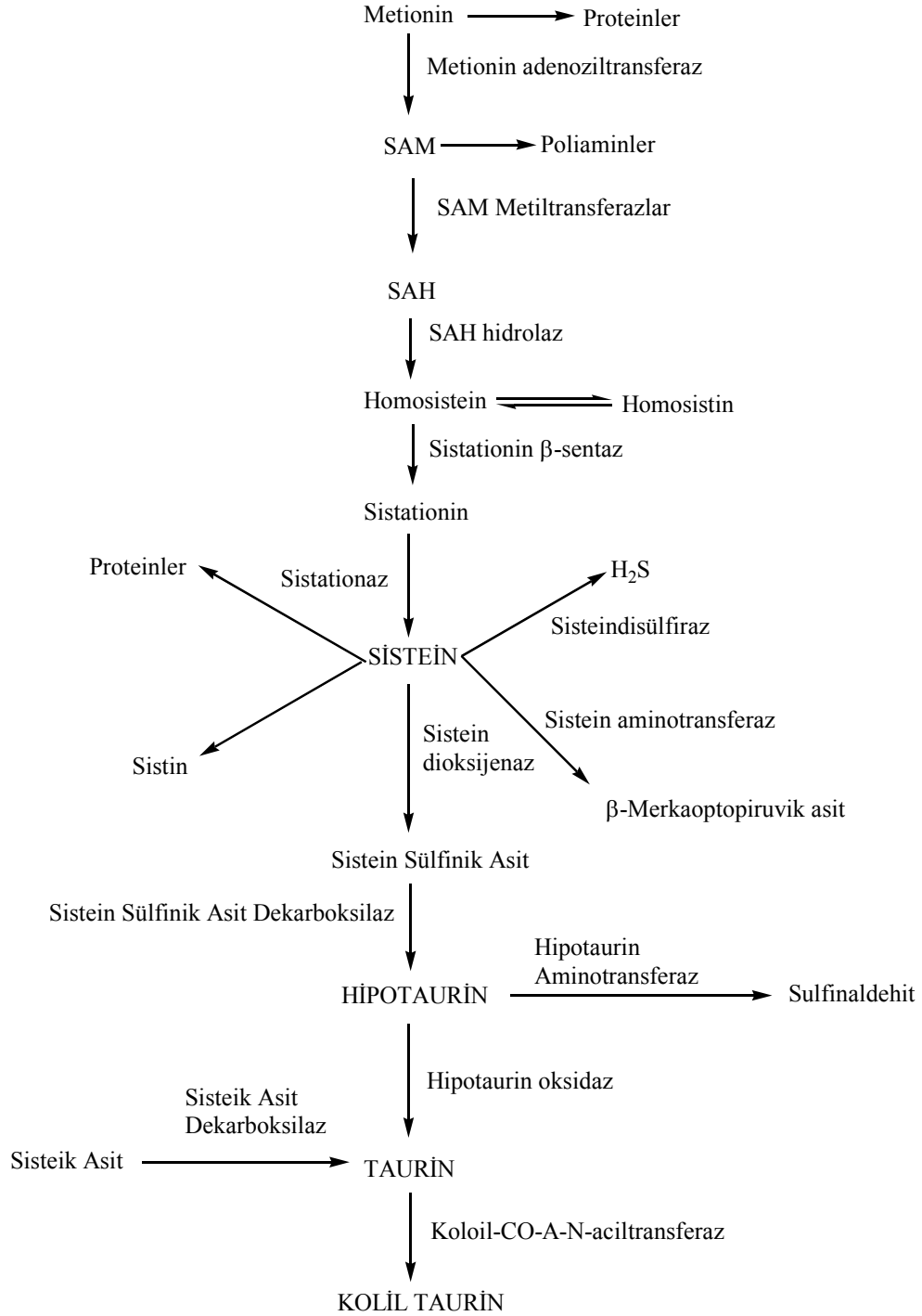
Taurin Biyosentezi



Şekil 2.7. Taurin biyosentezinin yolları (136)

Taurin sentezi, en yoğun olarak karaciğer ve beyinde oluşur (Şekil 2.7) (136). Taurin (2-Aminoetan sülfonik asit), esansiyel bir aminoasit olan metionin ve nonesansiyel bir aminoasit olan sisteinden sentezlenir (129,145-147). Bu sentezde sistein öncelikle sistein sülfonik aside oksitlenir, daha sonra dekarboksilasyona uğrayarak hipotaurine dönüşür. En son basamakta hipotaurin büyük bir olasılıkla bir dehidrojenaz etkisi ile taurine dönüşmektedir. Sistein sülfonik asit dekarboksilaz enzimi (CSAD) bu sentez yolunda hız sınırlayıcı basamak olarak kabul edilmektedir (145-147).

Sistein sülfonik asit dekarboksilaz enzim (CSAD) aktivitesinin, doku taurin kapasitesini yansıttığına ilişkin genel bir kanı vardır (148). CSAD kapasitelerine göre, insanların ratlara göre karaciğer taurin sentez kapasiteleri düşüktür (149). CSAD, bu transsülfürasyon sürecinde B₆ vitaminini koenzim olarak kullanır. B₆, metionin (150) ve total protein (135) alımındaki azalmalar taurin biyosentezinde eksikliğe neden olur.



Şekil 2.8. Kükürtlü aminoasitlerin taurin oluşum metabolizmaları (136)

Taurin, beyin ve karaciğer dokusu dışında, diğer hücrelerde de kükürt içeren tüm aminoasitlerden az da olsa sentezlenir (Şekil 2.8) (136).

Süt çocuklarında, CSAD aktivitesinin az olmasına bağılı olarak taurin sentezleyebilme kapasitesi de düşüktür. Bu nedenle, 1984 yılında A.B.D.'de formül mamalara 50 mg/l taurin ekleme zorunluğı getirilmiştir. Taurinin, bitkisel gıdalarda bulunmadığı için malnütrisyonu bağılı olarak eksikliği oluşabilir. Normal bir beslenme rejiminde taurin miktarı 40-400 mg/24 h'dir (129).

Hücreler arası sıkı bir şekilde kontrol edilmesine rağmen taurin eksikliğinde, homeostasis bozulmaktadır. Homeostasis, taurinin intestinal emilimi, biyosentezi, katabolizması ve renal atılımı arasındaki denge ile sağlanır. Organizmalara göre taurin metabolizması değişir. Kedide, endojen taurin sentezi yetersizdir ve katabolizma taurinle safra tuzlarının birleşmesinin bir sonucu olarak artar. Bu metabolik özelliğinden dolayı taurin, kedide gerekli bir aminoasittir. Yokluğu myokardial yetmezlik, retinal bozulma, üreme sıkıntılarına neden olur. İnsanlarda, taurin eksikliği ile ilgili çalışmalar daha çok bebekler üzerinde, özellikle de taurinin metabolik işleyişinin gelişimdeki rolünün tam olarak anlaşılamadığı doğum öncesinde yoğunlaştırılmıştır. Merkezi sinir sistemi ve kas gelişimi için kritik özellik taşımasından dolayı, gelişim boyunca taurin ihtiyacı yüksektir. Ayrıca renal düzeyde, taurinin yeniden emilimi tam olarak tespit edilememiştir. Bebeklik döneminde, taurin ihtiyacını karşılamak için taurinin diyetel kaynakları yani anne sütü yeterince alınmalıdır. Uzun süre dışarıdan beslenen bebeklerde, taurini çok az miktarlarda almalarından dolayı, bazı yan etkiler görölmektedir. Böyle bebeklerde taurinin plazma düzeyi azalmakta dolayısıyla bu anormal retinogramlara ve bozuk vitamin D emilimine neden olur. Düşük plazma taurini, neonatal kolestazda bir faktör olarak bulunmuştur. Taurin, neonatal dönem için temeldir ve tüm sentetik bebek mamalarına taurin ilave edilmesi tavsiye edilmektedir (151-153).

Taurin biyosentezi, sistationaz veya sistein oksidaz enzim aktivitelerinin sınırlı olmasından dolayı, gençlerde, erişkinlere göre daha düşüktür (136).

Taurin biyosentezinin tam olarak gerçekleştiğı yetişkinlerde, taurin ihtiyacı yeni doğanlardaki kadar fazla değildir. Ancak ameliyat stresi, travma, kronik hastalıklar

gibi tablolar, yetişkinde taurin konsantrasyonunu azaltır. Bu karışıklık, böbreklerde taurinin artan kaybindan kaynaklanmaktadır (154-156).

Beyindeki hücre içi taurin havuzunu oluşturan glutaurin, aynı zamanda taurinin hücre içi depo formudur. Litoralon da denilen glutaurin, paratiroid ve beyinden izole edilmiştir. Glutaurin, makrofaj reaksiyonlarının desteklenmesi ve X ışınlarından korunmada, vitamin A'nın antioksidan etkinliğinin güçlendirilmesinde, taurin benzeri etki yapar (129,136).

Taurinin Etkileri

Taurin, Tablo 2.9'da görüldüğü gibi, organizmada bir çok biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonun sürdürülmesinde rol oynamaktadır (137).

Tablo 2.9. Taurinin Bazı Organ ve Sistemlerdeki Etkileri (137)

<u>Kardiyovasküler</u>	Antiaritmi
<u>Sistem:</u>	Düşük Ca^{+2} düzeyinde pozitif inotropi, yüksek Ca^{+2} düzeyinde negatif inotropi, Hipotansif etki Kalsiyum yüklemeli kardiyomiyopatideki lezyon gelişimini baskılama
<u>Bevin:</u>	Antikonvülzan Nöronal uyarılabilmede modülatör
<u>Göz:</u>	Tapetum lucidum Dış segmentler ve foto-reseptörlerin yapı ve fonksiyonlarının sürdürülmesi Retina fonksiyonlarının düzenlenmesi
<u>Karaciğer:</u>	Safra tuzlarının sentezi Safra asitleri konjugasyonu
<u>Üreme Sistemi:</u>	Spermatozoon hareketliliği
<u>Kaslar:</u>	Kas hücre membranlarında stabilizatör
<u>Genel olarak:</u>	Reaktif karbonik bileşiklerinin toplanması Fetüs ve yeni doğan gelişimi Nörotransmitter ve hormon salınım modülasyonu Osmoregülasyon Glikoliz ve glikojenezis stimülasyonu Hiperkolesteroleminin azaltılmasında, hücre proliferasyonunda, iyon transportu

Taurin, kalp kasındaki serbest amino asitlerin % 60'ını oluşturur. Kalp dokusunda taurin sentezlendiği halde, myokard taurininin büyük kısmı plazmadan sağlanır

(129,157-159). Taurinin kalp kontraksiyonuna katkısı araştırmalarında, taurin ile Ca arasındaki ilişkinin çok zayıf olduğu ancak sarkolemmaya Ca bağlanması taurinin arttırdığı gözlenmiştir. Bu etkinin, taurinin aksiyon potansiyeli sırasında hücre içi Ca miktarını arttırmasına bağlı olduğu ileri sürülmektedir (158).

Yağların ve yağda çözünen vitaminlerin emiliminde önemli görevleri olan safra tuzlarının, fizyolojik pH da zne bilmeleri için glisin ve taurinle bağlanmaları gerekir. Taurin ile bağlanma, glisine oranla kolesterol çözünürlüğünde ve sekresyon hızında daha fazla artış yapar. Litokolik asit ile oluşturulan kolestazisin, taurin ile önlendiği gösterilmiştir (160).

Taurinin, epinefrin veya digoksin ile indüklenmiş aritmide antiaritmik, sarkoplazmik retikulumda membran stabilize edici, deneysel olarak geliştirilmiş nöbetlerde antiepileptik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (143).

Safra tuzları sentezindeki bilinen fonksiyonu yanı sıra, osmoregülasyon, Ca akışındaki ayarlama, detoksifikasyon, sinirsel uyarılabilme regülasyonu, membran stabilizasyonu gibi önemli olaylarda rol aldığı ileri sürülmektedir (129,161).

Taurinin, karbonhidrat metabolizmasını etkilediğine dair bulguların ilki 1942 yılında McCallum ve Sivertz tarafından rapor edilmiş, bu çalışmada taurinin hipoglisemik etkili olduğu ortaya konulmuştur. Donadio ve Formageot da, taurinin sıçanların diafram hücrelerinde glikoz kullanımını arttırdığını bildirmişlerdir (162). Ayrıca Tokunaga ve arkadaşları, streptozotosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda (143), Nakagawa ve arkadaşları ise, soğuk ve immobilizasyon stresi uyguladıkları hayvanlarda oluşan hiperglisemi nedeniyle taurinin hipoglisemik etkilerini araştırmışlardır (144). Taurin, karbonhidrat metabolizmasında yalnızca insülinin etkilerini taklit etmekle kalmayıp, hücreye amino asit alımını da arttırmaktadır. Bu sonuçlar, taurinin potent bir insülin agonisti olduğunu ve etkilerini, insülin reseptörüne bağlanarak gösterdiğini akla getirmektedir (163).

Taurinin, izole ve perfüze sıçan kalbinde insülinin etkilerini potansiyalize ettiği gösterilmiştir (164). Kulakowski ve Maturo, bolus glikoz enjeksiyonu ile hiperglisemi oluşturulmuş sıçanlarda, taurinin kan şekerini düşürdüğünü, karaciğer ve kas dokusuna 3-0 metil glikoz alımını ve karaciğer glikojen sentezini arttırdığını göstermişlerdir. Bu çalışmada, insülin düzeylerinde değişiklik görülmemiştir (162).

Travmatize hastalarda, serum taurin düzeyinde azalma da tespit edilmiştir (154-156). Taurinin intestinal emiliminde, β amino asit taşıyıcıları, taurin taşıyıcıları, imino asit taşıyıcıları olmak üzere 3 taşıyıcı protein rol almaktadır (130,131,165). Taurin, bir immüno düzenleyici ve önemli antioksidan olduğundan travma ve ameliyat gibi stresörlerin taurin düzeyi üzerine baskılayıcı etkileri, defans mekanizmalarını zayıflatabilir. Ancak operasyon veya diğer streslerin taurin düzeyini azaltıcı etkileri hakkında hala çok az bilgi mevcuttur (131,165,166).

Taurin, hücrel homeostasisin sağlanması ve sürdürülmesi gibi yaşamsal önemde fonksiyonlarda da rol oynamaktadır (131,165,166).

Taurinin yağda çözünürlük özelliğinin zayıf olması, hücre içi taurin konsantrasyonlarının, hücre dışına göre yüksek bir oranda tutulmasına yol açmaktadır. Beyin hücreleri için bu oran 300-500:1, kültüre edilmiş Ehrlich ascites hücreleri için 2000:1 ve HeLa hücreleri için de 7000:1 olduğu gösterilmiştir. Hücre içindeki yüksek taurin konsantrasyonu tablosunda, yağlarda zayıf çözünme özelliği yanı sıra, hücre içinde düşük ve dışında yüksek bir çapraz dağılıma sahip olan Ca^{+2} iyonları da etkilidir (134,167).

Taurinin etkileri, büyük oranda biyolojik membranlar üzerindedir (134,135,167). Son yıllarda, taurin ile fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin gibi nötral membran fosfolipitleri arasında iyonik, sterik ve elektronik benzerlik ve ilişkiler olduğu ileri sürülmüştür (135,168,169). Çift katlı lipid yapısındaki membranlarda asidik fosfolipitler, Ca^{+2} için önemli bağlama bölgeleridir. Burada taurinin olası rolünün, asidik fosfolipitlerin katyon bağlama özelliklerini değiştirerek, membranın çevreye uyumunu sağlamak olduğu düşünülmektedir. Fosfolipitlerin baş gruplarının sulu

faza doğru meyilli olduğu ve taurinin iyon çifti oluşturarak bu grupların arasına girdiği gösterilmiştir. Taurinin bağlanması ile serbest enerji ve membran konformasyonunda değişiklik meydana gelmekte, dolaylı olarak da katyon bağlama bölgelerinin sayısı ve affinitesi değişmektedir (134,135,167).

Birçok çalışmada, taurinin dayanıklı ve yaygın etkiye sahip bir osmotik düzenleyici olduğu bildirilmektedir. Tek hücreli organizmalardan, memeli kalbi ve beyine kadar geniş bir dağılım yelpazesi gösteren taurin, yüksek konsantrasyonda bulunan, osmotik olarak aktif etkili bir madde olarak karşımıza çıkmaktadır. Osmotik strese yanıt olayında, hücre içindeki osmolar ekivalanlar içinde en yüksek yer değiştirme taurin tarafından yapılır. Aynı durum, memeli organlarının ve denizde yaşayan organizmaların ortamdaki tuz düzeyi değişimine tepkisinde de gözlenir. Osmotik strese karşı adaptasyonun hızlı olması ve hücrenin hayatta kalması için aranan şart, hücre duvarının dayanıklı olmasıdır. Taurin bu amaç için uygundur çünkü bu aminoasit zayıf bir şekilde yağda çözünmektedir. Bu özellik de, bu maddenin ancak çok yavaş bir şekilde hücreden sızdığını ve metabolik olarak da inert olduğunu göstermektedir. Taurin için yüksek afiniteli taşıyım sistemleri, osmolaritedeki değişimleri içeren çeşitli sinyallere ve cAMP konsantrasyonundaki değişikliklere duyarlı bir şekilde cevap verir. Hücrede osmotik düzenleyici olarak, sitoplazmada çözünmüş ve metabolize olmayan bir maddenin kullanımı bazı avantajlar taşımaktadır. Bu avantajlardan biri, taşıyımın düzenlenmesiyle osmotik strese karşı daha hızlı adaptasyona olanak sağlamasıdır. Bir diğer avantaj ise, hücre dışındaki olaylardan tamamen izole ederek korumasıdır (134,167,170-173).

Taurinin Antioksidan Etkinliği

Taurin, özellikle polimorfonükleer lökositler ve retina başta olmak üzere birçok dokuda yoğun olarak bulunur; safra asidi konjugasyonu, detoksifikasyon, membran stabilizasyonu, osmoregülasyon ve nörotransmisyon işlevlerinde antioksidan özelliğinin etkili olduğu; epilepsi ve diğer konvulsiv bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar, maküler dejenerasyon, hiperkolesterolemi, yara iyileşmesi ve alkolizm gibi oksidatif hasar oluşturan durumlarda iyileştirici rolünün bulunduğu bildirilmiştir (174-176).

Taurinin hipokloröz asitle doğrudan reaksiyonu ile klorotaurin oluşur. Hem taurin hem de klorotaurinin, hipokloröz asidi nötralize ederek antioksidan etki gösterdikleri düşünülmektedir. Ayrıca klorotaurin, hem iNOS hem de tümör nekrozis faktör ekspresyonunu, transkripsiyonel ve translasyonel düzeylerde etkileyerek NO'yu ve tümör nekrozis faktörü azaltmakta ve iNOS'u da direkt olarak inhibe etmektedir (176,177).

Tiol içeren bazı bileşiklerin, antioksidatif aktivitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, bu bileşiklerin nitril kloridin (NO_2Cl) neden olduğu DNA nitrasyonu üzerindeki etkileri incelenmiş ve daha fazla redükte olan bileşiklerin daha güçlü antioksidanlar olduğu ileri sürülmüştür. Nitril klorid ile oluşan DNA nitrasyonunun önlenmesinde, en etkili olanın iki sülfidril grubu yani ditiol içeren DHLA olduğu, bunu sırasıyla NAC ve folik asidin izlediği bildirilmiştir (178,179). Sülfür atomlarının oksidasyon durumu, tiol içeren bileşiklerin antioksidatif kapasitelerindeki farklılıklara neden olur. Bir primer aminosülfonik asit olan taurin, NO_2Cl bağımlı DNA nitrasyonunun önlenmesinde, tiol içeren bileşikler arasında en zayıf olanıdır. Sonuç olarak, tiol içeren antioksidan etkili bileşiklerin antioksidatif aktivitesinde, hem moleküldeki tiol sayısı hem de moleküldeki sülfür atomlarının oksidasyon durumu etkili olmaktadır (108).

Taurin, eritrositlerde yapılan bazı in vitro deneylerde H_2O_2 , 2,2'-azobis (2-amidinopropan) ve hipoklorik asit gibi oksidan bileşikler nedeniyle artmış olan hemolizi önlemiştir (180-182). Bu etkiyi, antioksidan veya zar stabilizatörü olarak etki ederek yaptığı bildirilmiştir (180-182). Bununla birlikte, taurinin H_2O_2 kaynaklı lipid peroksidasyonunu ve buna bağlı hemolizi önleyemediğini ileri süren çalışmalar da mevcuttur (183). Taurinin, tip II diyabet hastalarında, komplikasyonları önlediği ve bu nedenle tedavide yardımcı bir ajan olarak kullanabileceği ileri sürülmüştür (146). Bu çalışmalarda, taurinin, insülin reseptörlerini uyararak, insülinin etkisini güçlendirdiği saptanmıştır (146).

Taurinin, lipid peroksit düzeyleri üzerine azaltıcı yönde etkisi bakır, kadmiyum ve oksitlenmiş balık yağı uygulanan deney hayvanlarında da saptanmıştır (184-186).

Taurinin antioksidan etkinliğinde, radikal toplayıcı özelliğinin de rol oynadığı düşünülmektedir (147). Bununla birlikte, bazı araştırmacılar aslında taurinin değil, hipotaurinin bu özellikte antioksidan etkiye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir (147).

Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda, taurinin özellikle kardiyovasküler sistem ve karaciğer üzerinde bazı olumlu etkileri dikkat çekmiştir (145-147).

Yapılan deneysel çalışmalarda, kolesterol içeriği yüksek diyetle beslenen deney hayvanlarında, taurin uygulamasının, plazma ve dokularda kolesterol ve trigliserit düzeylerini düşürdüğü, plazmadaki aterojenik indeksi düzelttiği ve arterlerde aterosklerotik lezyonların oluşumunu baskıladığı bildirilmiştir (187-190). Taurinin kolesterol düzeylerini düşürücü etkisinde, karaciğerde kolesterol 7 α -hidroksilaz aktivitesini arttırması ve organizmadan kolesterol atılımını hızlandırması etkili olmaktadır (187,188). Trigliserit düzeylerini düşürücü etkisinde ise, karaciğerde trigliserit sentezinde anahtar enzim olan diaçilgliserol:açıl-KoA açıl transferaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisi rol oynamaktadır (187,188).

Taurinin antiaterojen etkisinde, antilipidemik etkisinin yanı sıra antioksidan etkinliğinin de önemli katkısı olduğu bildirilmiştir (187,188).

Taurin uygulamasının, hiperkolesterolemik tavşanların aortunda aterom plakları oluşumunu engellediği, bu olayın plazma, VLDL+LDL fraksiyonu, karaciğer ve aortda artmış olan lipit ve lipit peroksit düzeylerinde azalma ile birlikte olduğu bulunmuştur (187).

Ayrıca apo E'si eksik olan farelerde, yükselmiş serum lipit peroksit düzeylerinin, taurin uygulamasından sonra azaldığı bulunmuştur (188). Gerçekten yapılan bazı in vitro ve in vivo çalışmalarda, taurinin antioksidan bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (147,191,192).

Öte yandan, yapılan bazı çalışmalarda, taurinin, karaciğer hasarı üzerinde de iyileştirici etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Sıçanlarda, kronik alkol uygulamasına bağlı olarak gelişen karaciğer yağlanması (193,194), akut tiyoasetamit (195), CCl₄ (196) ve parasetamol (197) uygulaması ile oluşan karaciğer nekrozunda, kronik CCl₄ (198) ve tiyoasetamit (154) uygulaması ile oluşan karaciğer sirozunda, taurinin, karaciğer hasarını azaltıcı bir etki yarattığı bulunmuştur. Taurinin bu etkisini, karaciğerde uyarılan oksidatif stresi baskılayarak yaptığı ileri sürülmüştür. Ayrıca taurinin, endotoksemiye bağlı karaciğer hasarını azalttığı (199), bu etkisini Kupffer hücre aktivasyonunu engelleyerek yaptığı ileri sürülmüştür (199,200). Ayrıca taurinin, organizmada NO tutucusu olarak da fonksiyon gördüğü ileri sürülmüştür (201).

Taurin, göz içi dokularında yüksek oranda bulunmakla birlikte, etkisi uzun yıllar anlaşılamamıştı. Taurinin etkisini inceleyen araştırmacılar, çoğunlukla retina hücreleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Retinanın rod hücrelerinde iki değişik ajan ile lipid peroksidasyonu (LPO) başlatılmış ve taurinin LPO'yu önleyip önleyemediği incelenmiştir. Yoğun ve uzun süreli ışığa maruz bırakılan retina rod hücrelerinde, serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Bu serbest oksijen radikalleri, hücre hasarını başlatır. Bu hasar, retina su oranlarının artmasına neden olarak, su dolu veziküllerin oluşumuna neden olur. Ancak ortama 5-25 mM konsantrasyonda eklenen taurin, ışığın bu in vitro etkilerini önlemiştir. Taurinin bu etkisini açıklamaya çalışan araştırmacılar, bu aminoasidin hücre membranlarındaki lipidlerin oksidasyonunu önlediğini bildirmişlerdir. Hücre içinde fizyolojik antioksidanlar olarak bilinen vitamin E ve glutatyon gibi maddelerin kaybı ve taurin kaybı sonucu görülen hücresel hasarlar benzerlik göstermektedir. Taurin, hücre içinde aşırı iyon birikimi sonucu oluşan su birikimini önleyerek, hücre yapısının korunmasına yardım eder (161).

Taurin, lökositlerde myeloperoksidaz aktivitesi ve antimikrobiyal fonksiyonunun düzenlenmesini sağlamanın yanı sıra antioksidan yeteneği sayesinde de immün ve inflamatuvar cevaplarda etkilidir (151-153).

Taurinin kullanımı, hücreye iki bölgede avantaj sağlamaktadır. Taurin, özellikle Ca^{+2} için membran fonksiyonlarının düzenlenmesine izin verir. Bunun için nötral membran fosfolipitlerinin özelliklerini bünyesinde taşır. Taurinin alınımı, membran çevresinin iyonik bileşenlerinden özellikle sodyum konsantrasyonunda değişikliklerle kontrol edilir. Bu düzenleme, cAMP tarafından da başarılmaktadır. Taurin, çevreden gelecek osmotik strese karşı daha emin ve daha dayanıklı bir duvar yapısına neden olur (134,161,167,168,170,173).

İn vivo ve in vitro şartlarda yapılan birçok çalışmada, taurinin antioksidan özelliği gösterilmiştir. İlk olarak, inflamasyon bölgesinde güçlü bir oksidan olarak ortaya çıkan serbest radikallerin, taurin ile reaksiyona girmesi sonucu, taurinin antioksidan özelliği ortaya atılmıştır. Taurin, özellikle hipoklorit anyonu ($\text{HOCl} \rightarrow \text{Cl}^- + \text{OCl}^-$) tutucusu olarak hareket eder ve hipokloriti daha az reaktif metaboliti olan N-klorotaurine dönüştürür (202). Taurinin metabolik öncüleri olan hipotaurin, sisteamin, sistein sülfonik asit ve sisteik asitin de beyinde antioksidan olarak görev aldıkları bildirilmiştir (203). Daha sonra tavşan spermli üzerinde, taurinin, hipoklorit (HOCl) molekülü ve hidroksil (OH) radikalleri için güçlü, hidrojen peroksit molekülü ve süperoksit radikalleri için orta derecede antioksidan bir etkiye sahip olduğu öne sürülmüştür (161). Aslında hipoklorit ve hidrojen peroksit bir radikal değildir ancak parçalanarak oksijen radikallerinin bir kaynağını oluşturmaktadırlar (203). Ayrıca bir çalışmada, taurin kloraminin, akciğerlerdeki pneumosit hücre sitoplazmalarında bulunan nitrik oksit (NO) sentatazi, irreversibl bir şekilde inhibe ettiği de gösterilmiştir (204).

Asidik yapıya ve antioksidan özelliğe sahip olan taurinin yara iyileşmesini hızlandırdığı, taurinin bu antioksidan etkisini, yaralı dokuda hücrel onarım için zemin hazırlanmasını destekleyerek gösterdiği bulunmuştur (205).

Taurin tedavisinin, metotreksat (MTX) ile karaciğer, ince barsak ve böbrekte gözlenen oksidan hasarı baskıladığı ve bu antioksidan etkide, taurinin, kan hücreleri üzerindeki koruyucu etkisinin ve dokuya nötrofil göçünün engellenmesinin yer aldığı ortaya kondu. MTX 'a bağlı görülen yan etkilerin, taurin ile hafifletilebileceğinin

ortaya konduğu bu çalışma, taurinin daha etkin bir kemoterapi için umut vaat ettiğini düşündürmektedir (206).

Endüstride yaygın olarak kullanılan hegzavalan krom [Cr (VI)] bileşikleri, insanlarda ve hayvanlarda toksik, karsinojenik ve mutajenik etkiler ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (207-209). Hekzavalan kromun sitotoksik etkilerinden, reaktif oksijen bileşikleri oluşturması sorumlu tutulmaktadır. Cr (VI)'nın hücre içinde indirgenmesi sırasında Cr (V), Cr (IV), hidroksil radikali, süperoksit radikali, hidrojen peroksit, karbon merkezli radikaller, nitrik oksit ve tıyonil radikalleri oluştuğu belirlenmiştir (210-219). Kromun indirgenme ara ürünlerinin, hidrojen peroksit ile reaksiyonu sonucu meydana gelen hidroksil radikali, hücrede proteinleri, DNA'yı ve membran lipidlerini etkileyerek, hücrenin fonksiyonlarının ve bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır (220). Sonuç olarak, Cr (VI) tarafından, fare beyin dokusunda indüklenen oksidatif stres üzerinde, taurinin koruyucu ve antidotal etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Hekzavalan krom, fare beyin dokusunda, lipid peroksidasyonu indükleyici ve antioksidan savunma sistemini zayıflatıcı özellikte bir etki meydana getirmektedir. Taurinin, antidotal ve koruyucu amaçla uygulanmasının, Cr (VI) tarafından indüklenmiş oksidatif stresin azaltılmasında etkili olabileceğı sonucuna varılmıştır. Taurinin koruyucu amaçla uygulanmasının, antioksidan savunma sistemini güçlendirmeye yönelik olarak önem taşıdığı görüşü ortaya çıkmıştır (221).

2.2. Çevresel Kimyasallar

Nimrod ve Benson, endüstriyel olarak üretilen sentetik kimyasal bileşiklerin bazılarının, hormon benzeri aktiviteye sahip olduğunu, bu tip bileşiklerin çevresel endokrin bozucular olarak adlandırılabilceğini, bu bileşiklerin yüksek miktarlarına sürekli maruz kalmanın, insanlarda ve hayvanlarda akut ve kronik sağlık problemlerini ortaya çıkarabileceğini bildirmişlerdir (9).

Ekzojen bileşikler olarak da adlandırılan bu kimyasallar; homeostasis ve gelişim işlevlerinden sorumlu hormonların üretimi, salınımı, taşınımı ve eliminasyonu ile regülasyonunu ve buna bağlı olarak metabolizmayı olumsuz etkilemektedir (222).

Bu bileşikler; genel hatlarıyla hormon benzeri etki eden kimyasallar (HBK), tıbbi ilaçlar ve kozmetik ürünler (TİKÜ), hormonal aktif maddeler (HAM) ve antibiyotikler olarak sıralanabilir (223-227). Sayılan kimyasal maddeler, etkilerini kendilerine özgü yada nonspesifik birçok mekanizma ile gösterirler (227).

Sentetik olarak üretilen bu maddeler, evsel ve endüstriyel atıklarla, sulara ve toprağa karışmakta, konvansiyonel atık su arıtma tesislerinde giderilemeyip, alıcı canlı ortamlara deşarj edilmekte ve doğal sular, içme suyu kaynakları yoluyla, beslenme zincirlerine girmektedir. Bu kompleks organikler, sentetik ve inhibe edici özelliklerinden dolayı, doğal mikroorganizmalar tarafından parçalanamamakta ya da kısmen parçalsalar bile oluşan metabolitler, kimyasal kararlılıklarından dolayı doğada yıllarca değişik fazlarda yer almaktadır (224,225,228).

Özellikle HBK'lerin, son yıllarda gelişmiş ülkelerde gündeme gelmesinin en büyük nedeni, ürkütücü sonuçlar ortaya koyan bazı bilimsel çalışmalardır (225-227,229). HBK'lerin, doğadaki birçok hayvan türünde cinsiyet bozuklukları, cinsiyetsiz doğumlar, sperm sayılarında azalmalar, erkek organizmalarda dişilik, dişi organizmalarda da erkeklik özelliklerini arttırdığına yönelik bulgular tespit edilmiştir (225-227,229). Bu bilimsel veriler toplumları harekete geçirmiş ve HBK, TİKÜ, HAM ve antibiyotikler gibi kimyasalların, hangi doğal sularda ve içme suyu

kaynaklarında, hangi miktarlarda bulunduğunun tespiti için detaylı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (225-227,229). Ayrıca bu kimyasalların organizmaya alınmasıyla ortaya çıkan kronik veya akut etkilerinin toksikoloji, ekoloji, biyokimya gibi değişik sağlık ve çevre disiplinlerince yoğun olarak çalışılmaya başlandığı görülmektedir.

Genel hatlarıyla çevresel ortamlarda bulanabilen hormon benzeri kimyasallar, Tablo 2.10' da ki gibi özetlenebilir (230).

Tablo 2.10. Çevrede Bulunan Östrojen Benzeri Kimyasalların Listesi (230)

Tarımsal ve endüstriyel hormon kaynaklı kimyasallar	Pestisitler: Kepone (klordekon), metoksiklor, DDE, DDT, endosülfan, toxaphene, dieldrin, dicofol, 1-hidroksiklorden
	Poliklorlanmış endüstri ürünleri: Bazı klorlanmış bifeniller (PCB), poliklorlanmış dibenzodioxinler ve kloroflorokarbon
	Alkilfenoller: Nonilfenol, 6bromnaftol-2, 4oktilfenol, 4 nonilfenoksikarboksilik asit, bisfenol A
	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar: 3,9-dihidroksibenzantracene
İlaçlar	Cimetidine, digitalis, dietilstilbestrol
Oral kontraseptifler	17 α ethynilestradiol, equilenin, mestranol
Doğal ve Sentetik Mikotoksinler	Zeranol, zearalenone
Mikrobiyel bağırsak faunası	Enterolactone
Bitki östrojenleri	Equol, diadzein, formononetin, biochanin agenistein, coumesterol, giberillic acid.

Büyük ve organik yapıları, çok kararlı ve kalıcı bileşikler olmaları nedeniyle çoğu HBK ve HAM, çevresel ortamlara verildikten sonra biyolojik yaşam zincirinde birikmekte, bu ortamlarda yaşayan organizmalar üzerinde olumsuz etki yapabilmektedir (224,225). Beslenme zincirinde bir üst seviyede yer alan tüketiciler de, bünyelerinde HBK'ler olan besin kaynaklarından beslendiklerinde, HBK'lere maruz kalmaktadırlar. İnsanların HBK'lere maruz kalmaları daha çok poliklorbifenil (PCB) veya DDT bulaşmış bir besin maddesinin tüketilmesi; HBK'ler içeren arıtılamamış suların içilmesi; kullanılan temizlik maddeleri ve deterjanlar,

kozmetikler, bazı ilaçlar, pestisitler ve gıda katkı maddeleri gibi sentetik ürünler yoluyla (4,226,228).

Doğal sularda ve içme suyu kaynaklarında bulunabilen bir diğer kimyasal kirleticisi grubu ise insanlar ve özellikle de evcil hayvanlar için kullanılan ilaçlar ve kozmetik/bakım ürünleri (TİKÜ)'dir. TİKÜ'lerin östrojenik etkileriyle organizmalarda başta endokrin sistemi olmak üzere, biyokimyasal mekanizmayı bozabileceği öngörülmektedir (223,231-234). Bu kirleticiler, HBK'lerde olduğu gibi doğal sulara, genellikle endüstriyel kaynaklardan yada atık su arıtma tesislerinden gelmektedir. Evsel kullanımdan sonra kanalizasyona giren TİKÜ'ler, parçalanmaları zor olduğu için arıtma tesislerinde giderilememekte ve alıcı ortamlara ulaştırılmak üzere doğal sular ve su kaynaklarında birikmektedir. Bu maddeler, çevresel ortamlarda kimyasal reaksiyonlarla, orjinal bileşikten daha tehlikeli olabilen yan ürünler ve metabolitlere dönüşebilmektedir (223,231-233,235,236). Zararlı çevresel kimyasalların, yaşamda en yoğun olarak karşımıza çıkan grubunu dietilstilbestrol (DES), diklordifeniltrikloretan (DDT), poliklorbifeniller (PCB) ve alkilfenol-polietoksilatlar (AFE) oluşturmaktadır (8).

Bu kimyasallardan alkilfenol etoksilat bileşikler (AFE), iyonik olmayan yüzey aktif maddeler olarak deterjanların, pestisitlerin, herbisitlerin, emülsiyonlaştırıcıların, boyaların, kozmetiklerin ve plastik eşyaların üretimi sırasında yaygın olarak kullanılan maddelerdir (237). Birikim yapması ve sürekli alınması halinde, dokularda rezidü oluşturduğu için toksik etkilidirler (10,12).

AFE grubu bileşikler içinde ise, en yaygın kullanılan kimyasallar, nonilfenol etoksilatları (NFE)'dir. Polimerik yüzey aktif maddeleri olan NFE'ler, sodyum stearat, polietilen oksitler gibi iyonik olmayan yüzey aktif maddelerin, endüstriyel üretiminde kullanılan kimyasallar olarak sıkça karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmada, toksik faktör olarak kullandığımız nonilfenol etoksilatlarından biyolojik bozunma ile oluşan nonilfenol (NF), dişi cinsiyet hormonlarının etkilerini taklit etme yeteneği ve yıkımlayıcı etkileriyle dikkat çekmektedir (238). NF'nin, NFE'lere göre

yaklaşık 10 kat daha toksik olduğu bildirilmektedir. Bir biobozunum ürünü olan NF, kalıcı ve birikicidir. Ksenoöstrojenlerden biri olan NF, östrojen reseptör yolunu etkileme kapasitesi yanı sıra, lipolitik etkili bir ajan olması nedeniyle insanlar ve hayvanlardaki toksik etkilerini daha da arttırmaktadır (230,239). Bundan dolayı hayvansal organizmalarda, NF ve benzeri kimyasalların etkilerinin öncelikle ele alınması önemlidir.

2.3. Alkilfenol Etoksilatlar

Çevremizde bulunan hormon benzeri etki eden kimyasallar (HBK) diğer bir tanımlamayla endokrin bozucular, endojen hormonların etkilerini baskılayarak metabolizmayı bozmaktadırlar. Güncel bazı çalışmalara göre, çevremizdeki HBK'lara maruz kalma, insan ve hayvanlarda fertilite ve gonadların gelişimini etkilemektedir (240).

Endüstriyel, ticari ve evsel ortamlarda yaygın olarak kullanıldıklarından çevreye atık sular yoluyla yayılan AFE'ler, sulu solüsyonlarda kullanıldıklarından suyu kirleten maddeler olarak adlandırılırlar (9). Dünyada yıllık 500.000 ton kadar AFE üretilmekte (241) ve bunun % 60'ı nonilfenol, oktilfenol gibi metabolitler olarak ırmak, göl ve haliçlere bırakılmaktadır (12,242,243).

Çevredeki AFE'nin temel kaynakları; lağım suları ile muamele edilmiş bitkiler, yün, yapağı ve et ürünleri gibi hayvansal üretim işlem atıklarıdır (244). Diğer taraftan sütlerin işlenmesi sürecinde kullanılan PVC borulardan da, AFE metabolitlerinden olan NF'nin filtre edildiği gösterilmiştir (245).

Çeşitli endüstri dallarında, imalat işlemleri sırasında kullanılan NFE'ler, bu kapsamda üretilen kimyasal maddelerin yaklaşık % 80'ini oluştururlar (246-248).

2.3.1. Nonilfenol Etoksilatlar

NFE molekülü, hidrofobik kısım ve 1-100 kez arası tekrarlanan hidrofilik polietilen oksit zinciri olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (247). NFE molekülünün nonilfenol bölümü, bir fenole bağlanan 9 karbon atomlu bir hidrokarbon zinciri

içermektedir. Bu bölüm, NFE'ye suda çözünememe, diğer maddelerde ve yağlarda çözünme yeteneğini verir (249).

NFE'nin etoksilat kısmı, oksijen atomları tarafından 2 C üniteleriyle bağlanmış uzun zincir şeklindedir. Bu yapı, NFE'nin suda çözünebilir olmasını sağlar, kiri ve grease yağını kirlenmiş yüzeylerden suyun içine taşımaya yardımcı olur.

2.3.1.1. Nonilfenolün Çevresel Kaynakları

NFE'ler, daha çok atık sular ile sulanmış bitkilerden yada doldurulmuş arazi çiftlik veya otlaklardan çevreye yayılır (246,250). NF, anerobik olarak stabilize edilmiş atık suda yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen (0.45-2,53g/kg), nehir suyundaki konsantrasyonu, sedimanlarda ve çamur-bulaşmış topraklarda azalma göstermiştir. NF'nin dağılımı yaklaşık olarak suda % 25, sedimanlarda > % 60, toprakta > % 10'dur (247). Clar ve ark., (251) hem NFE'lerin hem de onların karboksilik asit türevlerinin, içilen suda bulunduğunu rapor etmişlerdir. Konsantrasyonlarının, nanogram ile mg/L arasında dağılım gösterdiği rapor edilmiştir. NF, İngiltere, Amerika, İsveç, Kanada gibi birçok ülkenin nehir ve gölünde ölçülmüştür (252-254). Lağım atık maddelerinde, şimdiye kadar en yüksek NF'nin 6,300 µg/L olduğunu ve Amerika ırmaklarında 70,00 µg/kg sediman olduğunu ortaya çıkarmışlardır (255). Uğuz ve arkadaşları da (256), Değirmendere ve Sakarya ırmaklarında sediman ve balıklar üzerine yaptıkları çalışmada, nonilfenole rastlamıştır.

NF; alg, yumuşakçalar ve balıkları içeren akuatik hayatta genişçe yer alır. Geçmiş çalışmalar, NF'nin, sedimanlardan alınarak gökkuşağı alabalığı dokularında biriktiğini, kas ve karaciğeri içeren birçok dokuda yüksek biyoyılma faktörüne sahip olduğunu göstermiştir (257-259).

İnsanlar, NFE ve parçalanma ürünlerine, kirlenmiş içme suyunun içilmesiyle, lağım/çamurunun gübre olarak kullanılmasıyla, akuatik flora ve faunanın besin olarak kullanılmasıyla maruz kalmaktadırlar. Kontaminasyon; şampuanlar,

deterjanlar, kozmetikler ve spermatisit kayganlaştırıcılardan deri ve mukozalardan emilim yoluyla, pestisit spreylere ise oral yada inhalasyon yolu ile kontamine olmaktadır. NFE'li çamurların tarlalara yayılması, besin kaynaklarının NFE ile bulaşmasına yol açmaktadır (9).

2.3.1.2. Nonilfenol Etoksilatların Kullanım Alanları

NFE'ler; 1970'li yıllardan beri deterjanlarda, herbisit, pestisit ve boyalarda, emülsiyonlaştırıcılarda, evsel ürünlerde, ıslatma ajanlarında, tarımsal ve endüstriyel uygulamalarda, plastiklerin yapımında, kozmetiklerde, gres yağlarında ve yakıtlarda, metallerde, petrol, tekstil ve deri prosesinde, inşaat materyallerinde, kağıt ve selüloz yapımında kullanılmaktadır. NFE'ler, plastik endüstrisinde; NFE'ler yumuşatıcı ve dayanıklılığı arttırıcı olarak; UV filtrelerinde ise sarı renk oluşumunu önleyici olarak (260); gebeliğin önlenmesinde spermisit amaçlı olarak (9) ve çok amaçlı yapıştırıcı yapımında kullanılırlar (222). Amerikan Gıda ve İlaç Komitesi (FDA) tarafından, NFE'lerin, gıda paketlenmesinde kullanılması uygun görüldüğünden ambalaj malzemelerinin yapımında da kullanılmaktadır (9,230,261).

Toplam AFE üretiminin % 55'i, plastikler, elastomerler, tekstil, tarımsal kimyasallar ve kağıt üretimi gibi endüstriyel uygulamalar için, % 30'u da kurumsal temizleme ürünleri için kullanılmaktadır. Geri kalan % 15'i ev ve kişisel temizleme ürünlerinde kullanılmaktadır (237,244,262).

Bernabei ve ark. (263), tarafından alkilfenolik bileşiklerin, havacılık endüstrisinde, jet yakıtlarında antioksidan olarak kullanıldığı rapor edilmiştir.

2.4. Nonilfenoller

2.4.1. Nonilfenollerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Nonilfenol, mat sarı visköz zayıf fenolik kokulu bir sıvıdır. Bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ise aşağıdaki gibidir.

Saflık: % 90 w/w'dir.

Erime Noktası: Bu tip yağlı maddeler net bir erime noktasına sahip değildir. Alkil zinciri yapısındaki farklılıklardan dolayı -10°C , -8°C , 10°C ve $<20^{\circ}\text{C}$ gibi çeşitli değerler rapor edilmiştir.

Kaynama Noktası: $290-310^{\circ}\text{C}$ 'dir. Ama bazı termik ayrışmalar muhtemelen bu sıcaklığa ulaşmadan oluşmaktadır.

Yoğunluk: 20°C 'de $0,95\text{ g/ml}$ 'de yoğunlaşmaktadır.

Buhar Basıncı: 20°C 'de 0.0023 mmHg (0.3 Pa)'dır.

Kendi Kendini Yıkımlama Isısı: 370°C 'dir.

Çözünürlük : Suda gerçekte çözünmez ancak 20°C 'de $6\text{mg}/100\text{ ml}$ 'de çözünür.

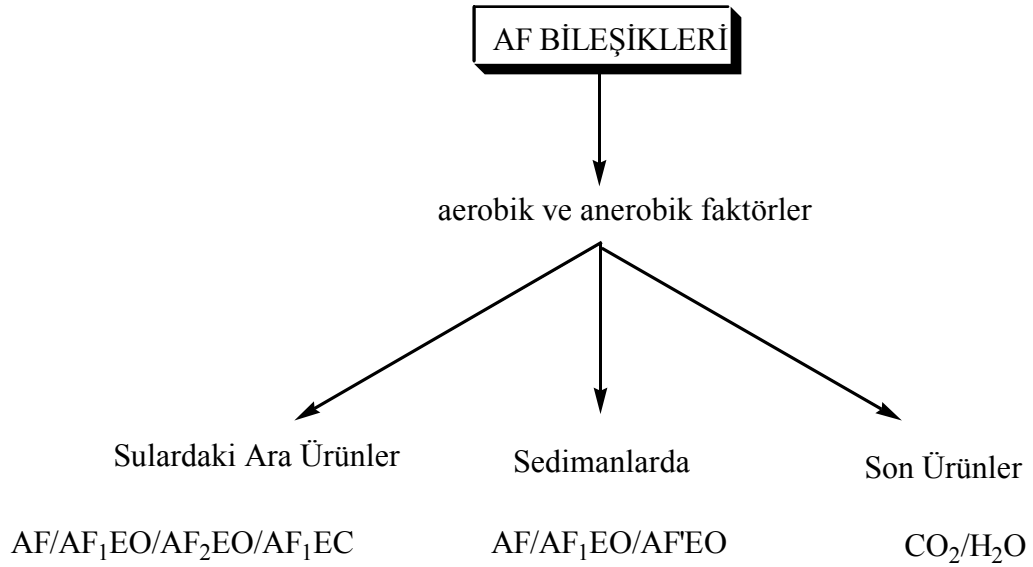
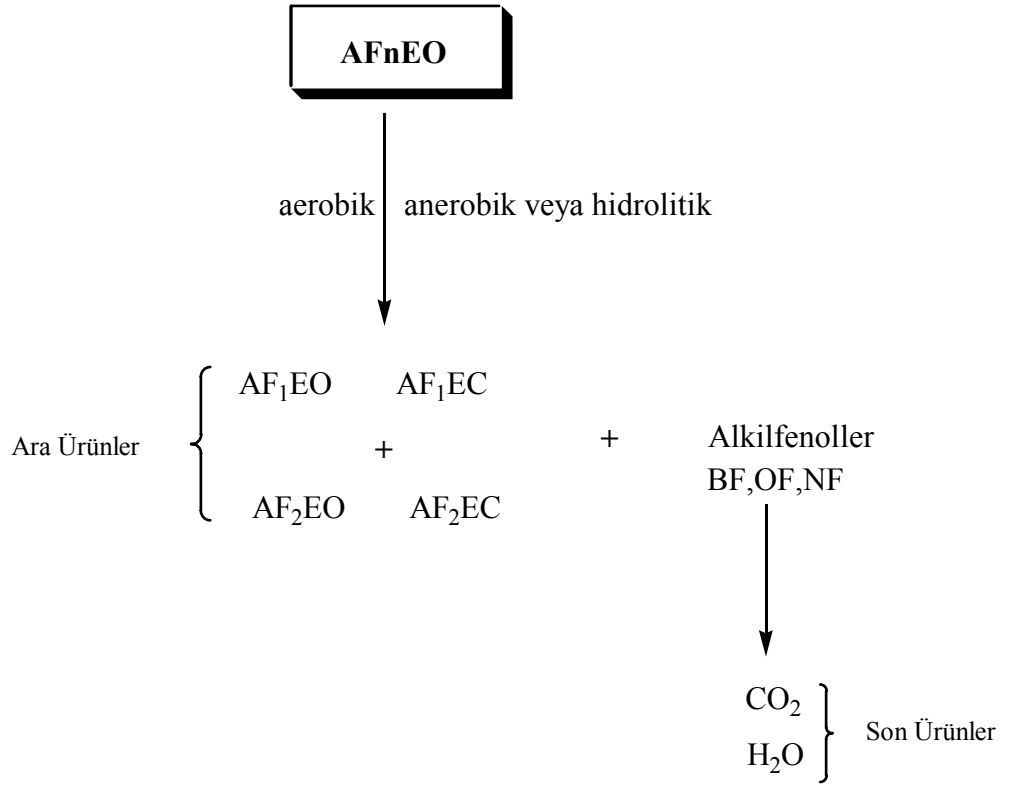
Henry Sabiti: $1.02\text{ Pa m}^3/\text{mol}$ 'dür.

pKa değeri: Tahmini değer 10.25 'dir ($244,264,265$).

2.4.2. Nonilfenolün Birikimi ve Metabolizması

Alkil grubu genellikle dallanmış nonil, oktil ve bütül zincirdir. AFE'lerin temel biyokimyasal yıkımlanması, nonilfenol (NF), oktilfenol (OF) ve bütülfenol (BF) gibi ürünleri vermek için etoksilat gruplarının hidrolitik uzaklaştırılmasıdır (9). Şekil 2.9'da biyokimyasal AFE ürünleri görülmektedir (9).

AFE Bileşiklerinin Biodegradasyonu

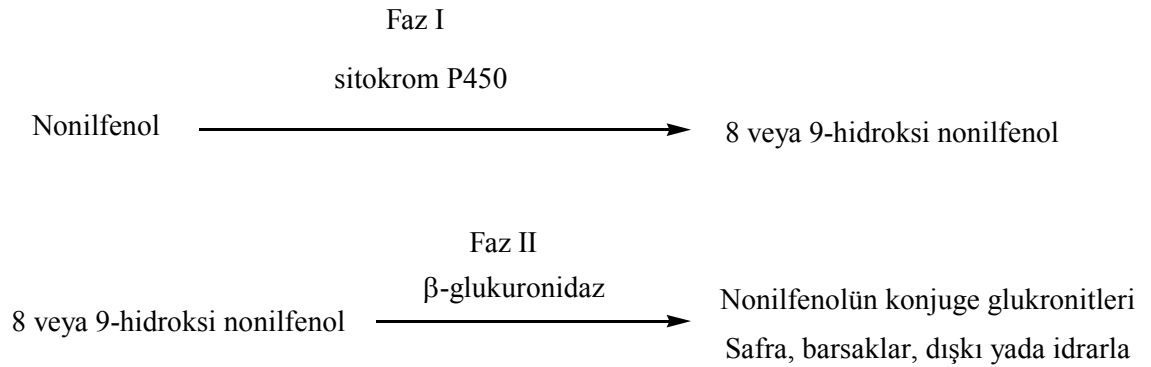


Şekil 2.9. Biyokimyasal AFE Ürünleri (9)

Şekil 2.9’da da görüldüğü gibi alkilfenolik bileşiklerin son bozunma ürünleri CO₂ ve H₂O olsa da AFE’ler su ile karşılaştıklarında biyobozunmaya maruz kalırlar ve 4 tert.

alkilfenol, 4 tert. butilfenol (BF), 4 tert-oktilfenol (OF) ve 4 nonilfenol (NF) gibi ara metabolitleri verirler (9).

NF, kalıcı, toksik, lipofilik, suda az çözünen, diğer AF'lere nazaran organizmalarda akümüle olan ve ana bileşiklerden daha yıkımlayıcı olan bir kimyasaldır (242,243,250,266). Şekil 2.10'da NF'nin metabolizması ve atılımı gösterilmiştir (226,227).



Şekil 2.10. NF'nin metabolizması ve atılımı (226,227)

AFE'ler, ortam ısısının 20°C'nin üzerine çıkmasıyla hızla parçalanmaya başlarlar (267). NF'nin mikrobial bozunması yanında Ahel ve ark. (268), NF'nin fotokimyasal bozunma için de hassas olduğunu rapor etmişlerdir.

NF'nin yarı ömrünün, sıcak havalarda yaklaşık 10-15 saat olduğu saptanmıştır. Amerikan Çevre Dairesi, NF'nin sudaki yarılanma ömrünü, yaklaşık 150 gün olarak tahmin etmiştir (269).

Hormon benzeri etki eden ajanlar, lipofilik özellikleri ve yarılanma ömürlerinin uzun olması nedeniyle, organizmalarda önemli düzeyde birikime yol açmaktadır (9,270,271).

Araştırmacılar, 4 nonilfenolün, gökkuşağı alabalığı tarafından sudan alındığını göstermişler, karaciğer dokuları ve kasta 40-100 biobirikim faktörüyle depolandığını

ispatlamışlardır (272). Canlılardaki nonilfenol konsantrasyonunun, suda ölçülenden 50 kat daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir (258,259,273).

AF'nin etki mekanizmasını anlamak için, organizmalarda AF'nin metabolik işleyişini anlamak çok önemlidir. AF'ler ya H_2O ve CO_2 'ye metabolize olurlar yada canlı organizmalar tarafından tutulurlar (9).

Karaciğerin, toksik maddelerin detoksifikasyonundaki rolü, toksik bileşiklerin kimyasal yapılarının değiştirilmesini sağlayan enzimlerden kaynaklanmaktadır. Ne zaman toksik bir bileşik karaciğer hücrelerine gelse, bu bileşiği metabolize eden sitokrom P-450 enzimleri gibi enzimler sentezlenerek detoksifikasyon süreci başlatılmaktadır (257).

Arukwe ve ark. (274), NF'nin, ksenobiotiklerin metabolize olmasından sorumlu olan hepatik sitokrom P-450'nin izoformlarında değişime neden olduğunu göstermişlerdir. Coldham ve ark. (257), gökkuşağı alabalığı safrasında, bazı NF metabolitlerini tanımlamıştır. Bu buluş, NF'nin karaciğerde detoksifiye edildiğini ispatlamaktadır. Diğer bir çalışma da ise, erkeklerde, karaciğer hasarı göstergelerinden plazma glutamat transaminaz (GPT) enzim aktivitesinin, önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, karaciğerde detoksifiye edilen NF'lerin önemli miktarının safra ile birlikte barsaklara açıldığını ve dışkı ile birlikte atıldığını ileri sürmektedir (275).

Nonil zincirin, C8, C9 pozisyonunda, katekoller ve konjue katekoller formu olan 8 veya 9 hidroksi nonilfenol yapısına dönüştürülür. Bu dönüşüm, sitokrom P-450 ve monooksijenaz enzimlerinin katalizörlüğünde gerçekleştirilir (276,277).

4 NF'nin etkili metabolitleri, safrada konjuge glukronatlar olarak bulunmaktadır (257,278). Diğer metabolitleri, hidroksillenmiş 4 NF'nin halka veya yan zincir glikuronik eşleniklerini içermektedir.

Oldukça hızlı metabolizmaya ve atılıma rağmen, özellikle kas dokusunda NF varlığı ve kalıntıları bildirilmiştir (257).

2.4.3. Nonilfenolün Etkileri

Alkilfenol bileşiklerinin organizmalarda östrojenik (10-12), kanserojenik (16,279), toksik (18) ve oksidatif stres oluşturunca (19,20) etkilerinin olduğu gösterilmiştir.

Östrojenik aktivitelerin incelenmesi açısından, alabalıkların tümör çalışmaları için uygun model olduğu görülmüştür. Östrojenlerin, alabalık karaciğer tümörlerini geliştirici etkili olduğu, insan ve alabalık östrojen reseptörlerinin, östrojenleri bağlamada benzer özelliklere sahip olduğu ileri sürülmüştür (280).

Soto ve ark.'a (262) göre, insan popülasyonları sürekli olarak alkilfenollere maruz kalmaktadır. Bu nedenle, çevrede bulunan hormon benzeri kimyasalların hücresel seviyede etkilerini anlamak önemlidir.

Östrojenik etkili NF, erkek balıkların dişileşmesine ve insanlarda meme kanseri hücrelerinin proliferasyonuna neden olan MCF-7 hücrelerinin gelişmesine yol açar (262).

Nonilfenolün Toksik Etkileri

Argese ve ark. (281), alkilfenollerin hidrofobik alkil bakiyelerinden dolayı hayvan, bitki ve mikroorganizmaların hücre membranlarında toksik etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Alkilfenollerin, mitokondrial membranlarda enerji üretimini sabote ettiği bilinmektedir.

Büyük hidrofobik bir molekül olmasından dolayı NF'nin, membran geçirgenliğini arttırdığı ve hücresel iyonların kaybına neden olduğu görülmüştür. NF-10 etoksilattan dolayı solungaç epitel hücrelerinden sodyumun akması ve artmış iyon geçirgenliği, gökkuşağı alabalığı için rapor edilmiştir (282). Kalsiyum, NF'yi etkilemede önemli rol oynar. NF, sıçanların sarkoplazmik retikulumunda, CaMgATP-az enzim affinitesinin düşmesini önlemektedir. Hughes ve arkadaşları

(18), alkilfenollerin, testis endoplazmik retikulum Ca^{+2} pompalarını engelleyerek hücre ölümüne neden olduğunu kanıtladılar. Benzer mekanizmalar ile nonilfenol içeren çeşitli alkilfenollerin, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} pompalarını engelleyerek, iskelet kasında da hücre ölümüne neden oldukları gösterilmiştir (282). NF, sıçanların vasküler düz kas hücrelerinde, L tipi Ca geçitinin işlemlerini önlemektedir. Brogadin ve ark.'da (282-284), NF'nin, ATP sentezini azalttığını, önlediğini ve mitokondrial membranın potasyum geçirgenliğini arttırdığını rapor etmişlerdir.

Schwaiger ve ark. (285), NF'ye maruz kalmış sazan balığında, hematolojik parametrelerin etkilendiğini, NF'nin eritrosit membran tahribatına ve anemiye neden olduğunu bildirmişlerdir.

AF'ler, sıçan primer germinatif hücreler ve sertoli hücre kültürlerinde apoptosise neden olmaktadır (18,230,286,287).

17 β östradiol hücre ölümüne engel olmazken, alkilfenollerin hücre ölümü üzerine etkileri, östrojenik etkilerinden bağımsızdır (18). NF'nin etoksi üniteleri, hücre duvarında eritici aktiviteye sahiptir ve mitokondriyel oksidatif fosforilasyonu inhibe eder (283).

Aslında, AFE'nin akut toksisitesi, memelilerde çok düşüktür. Örneğin fareler ve sıçanlar için oral LD_{50} dozu 2 ile 4 g/kg arasındadır. Ancak dermal iritasyon düşük dozlarda (500mg/kg) ve şiddetli göz iritasyonu ise 5 mg/kg dozda gözlenmiştir (9).

9 etilen oksit ünitesi içeren nonoksinolün, sıçanlarda vajina içine verilmesinden sonra hızla emilmesi nedeniyle yüzey aktif madde olan nonoksinol-9, vajina içinde spermatosit olarak kullanılmaktadır (288,289).

Alkilfenolün en dirençli metaboliti olan NF, yüksek lipofilik yapısı nedeniyle akümülyasyon eğilimindedir (290).

Nonilfenolün Östrojenik Etkileri

Çevresel östrojene maruz kalma, akuatik çevrede çift cinsiyetli balıklara, erkekte ve kadında meme kanserlerine yol açmaktadır (291-293).

Ekzojen östrojen bileşikleri ile östradiolün yapısının benzer olmasından dolayı ekzojen östrojen bileşikleri, organizmalarda kadın spesifik hormonu olan 17 β östradiolün endojen etkisini taklit ederler (269).

İşleyişin moleküler temeli, bu kimyasalların veya metabolitlerinin östrojen reseptörleriyle temas kurmaları ve kompleks oluşturmalarına dayanır (11).

Nonilfenolün östrojenik etkisinin, bir pestisit olan DDT'den 3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (12).

Nonilfenol, östrojenik etkisi ile organizmada morfolojik değişimlere de neden olmaktadır. Örneğin, yetişkin erkek gökkuşağı alabalığındaki spermatogenezin inhibisyonu (12), germdeki ve erkek yılanbalığındaki sertoli hücrelerindeki sitolojik değişimler (294) ve genç gökkuşağı alabalığında ovosomatik indekste artış gözlenmiştir (295).

Genellikle balıkta östrojen hormonu dişileşmeye, androjen hormonu da erkekleşmeye neden olmaktadır (296,297). Ekzojen hormon uygulanması, balıkta, cinsiyetin tersine çevrilmesine neden olabilir. Çevresel endokrin bozucularına maruz kalma, cinsiyetin tersine çevrilmesinde önemli olasılıktır.

Nonilfenolün Kanserojenik Etkileri

AF'lerin, hayvansal organizmalar üzerine çeşitli kanser türlerini başlatıcı etkisi vardır. NF'nin meme (298,299), testis ve ovaryum kanserine (16) neden olduğu gösterilmiştir.

İnsanlarda meme kanseri hücre çizgisi (MCF-7)'nin, hücre proliferasyonuna sebep olması ile ilgili mekanizmayı anlamak için, östrojen ve östrojen benzeri maddeler araştırılmış (11,300); bu kimyasalların hücre proliferasyonunu arttırarak hücre siklusunda düzensizliklere yol açtığı gösterilmiştir.

Artmış hücresel proliferasyon ve hücre siklus değişimleri, genetik bozunumların fark edilmesinde önemli faktörler olarak kabul edilmektedir. Örneğin, hücre proliferasyonu, mitozla bağlı rekombinasyon oluşumuna ve daha ağır mutasyonlara yol açabilmektedir. DNA sentezi sırasında, uygun olmayan nükleotit birleşimleri, DNA hasarına yol açmaktadır. Bu hasar, hücre siklusunun G1 fazında tamir edilmektedir. Bu fazların değişmesi, DNA hasarının kalıcı olmasına yol açabilmektedir (301).

Çoğu kanser hücreleri, telomerik birleşmeleri sergilemektedir. Telomerik birleşimler, genomdaki değişime katıldığını göstermektedir. Telomer, kromozomlardaki dengeyi sağlar ve kurallara aykırı rekombinasyondan korur. Bulgular, NF'ye maruz kalan hücrelerin, potansiyel olarak genom değişmelerine, telomer kısalmasına ve telomerik birleşme vasıtasıyla da yıkımlandıklarını göstermektedir (230).

Ekzojen östrojenlerin, bayanlarda göğüs kanseri gelişimine neden olduğu rapor edilmiştir (302,303). Bulgular, çevresel östrojenlerin, kadınlarda göğüs kanseri gelişimine katkıda bulunduğunu, erkek ve dişi fertilitelerini azalttığını ortaya koymaktadır (292,304-306). Özellikle gelişmiş ülkelerde son 50 yılda testis kanserleri sıklık oranının 3-4 kat arttığı rapor edilmiş (307), NF gibi maddelerin, testiküler kanserlere neden olduğu gösterilmiştir (16).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Araç ve Gereçler

Tez çalışmamız da Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ve Fizyoloji Anabilim Dallarında bulunan aşağıdaki laboratuvar araç ve gereçlerden yararlanılmıştır.

- Spektrofotometre (Shimadzu. UV-1201)
- Kültür plağı okuyucusu (Multiscan Spectrum. Thermo Labsystem.)
- Buz Dolabı/Derin Dondurucu (Siemens)
- Soğutmalı santrifüj (Nüve. NF 1000 R.)
- Vorteks (Nüve. NM 110)
- Hassas terazi (Precisa. 205 ASC. 0,0001 g'a duyarlı)
- Su banyosu (Nüve. BM 402)
- Isıtıcı tabla (Nüve. HP 221)
- Shaker (Nüve. SC 350)
- Dijital pH metre (Inolab)
- Değişik hacimlerde otomatik pipet (Ependorf, Scorex)
- Farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (Isolab)
- Ependorf tüpü (0,5-1,5 ve 2 ml'lik, Roth)
- Mikro Playte (96 kuyucuklu, Roth)
- Cerrahi makas, pens, doku tutucular
- Cerrahi eldiven
- Polietilen enjektör (2,5, 5, 10 ml, Ayset)
- İnsulin enjektörü
- Lityum-Heparinli tüp

3.2. Kimyasal Maddeler

1. Malondialdehit Tayini için:

- Thiobarbitüric asit (TBA) (Merck)

- Trichloroacetic asit (TCA) (Merck)
- 2. GSH için:
 - Metafosforik asit (Merck)
 - EDTA (Merck)
 - NaCl (Merck)
 - Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)
 - DTNB (Elman's)
 - Sodyum Sitrat (Merck)
 - GSH (Merck)
- 3. Nitrik Oksit için;
 - Vanadium-3-klorür (VCl_3 , Merck)
 - Sülfanilamit (Merck)
 - N-(1-naphthyl)ethylenediamin (NEDD) (Merck)
- 4. Süper Oksit Dismutaz için:
 - SOD Kiti (Randox)
- 5. Nonilfenol (Sigma Aldrich)

3.3. Deney Hayvanları

Deney hayvanlarına uygulanan işlemler, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulunun 08-07 referans no ve 064 sayılı kararına uygun prosedürde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada, ağırlıkları 175-250 g arasında değişen 3-4 aylık 40 adet erkek “*Wistar-albino*” rat kullanılmıştır. Aynı üretim biriminden temin edilen, daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış hayvanların, araştırmadan 10 gün önce bakım altına alınarak, deney ortamına adaptasyonları sağlanmıştır.

Denekler 12 saat karanlık, 12 saat aydınlıkta kalacak şekilde ve her bir kafeste aynı gruptan 8 rat olmak üzere ayrılmışlardır. Çalışma süresince, tüm denekler eşit çevresel koşullar altında, $22\pm 2^\circ\text{C}$ 'lik oda ısısında tutulmuşlardır. Deneklere, çalışma süresince standart rat yemi ve ad libitum olarak su verilmiş, yemleme gün içinde saat 09.00 ve 19.00'da olmak üzere iki kez yapılmıştır.

3.4. Deney Grupları ve Deney Protokolü

Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması: Deney düzeneği ve uygulamalar Uşak'ta, hayvanlardan alınan kan örneklerinin analizleri ise Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesinde gerçekleştirilmiştir.

Deney hayvanları, Kontrol Grubu (K) (n=8); Taurin Grubu (T) (n=8); Nonilfenol Grubu (NF) (n=8); Nonilfenol +Taurin Grubu (NFT) (n=8); ve NF'nin alkol içersinde çözülerek uygulanmasından oluşan Alkol Grubu (A) (n=8) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Deney gruplarına uygulanan taurin ve nonilfenol dozları, Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Deney Gruplarındaki Taurin ve Nonilfenol Uygulamaları

Grup	n	Uygulama
1. Kontrol Grubu (K)	8	Standart Rat Yemi
2. Taurin Grubu (T)	8	Standart Rat Yemi + %3 Taurin (v/w) içme suyuna
3. Nonilfenol Grubu (NF)	8	Standart Rat Yemi +50 µg/kg yem Nonilfenol
4. Nonilfenol +Taurin Grubu (NFT)	8	Standart Rat Yemi +50 µg/kg yem Nonilfenol + %3 Taurin (v/w) içme suyuna
5. Alkol Grubu (A)	8	Standart Rat Yemi +50 µl/kg yem Alkol

Çalışmamızda 1 µl'sinde 1 µg nonilfenol içeren nonilfenol stok solüsyonu, alkol içinde hazırlanmış, 50 µg/kg nonilfenol içeren bu çözelti, NF ve NFT Gruplarında, ratların diyetlerine, püskürtme tarzında ilave edilmiştir. Bu miktar, ortalama çevresel nonilfenol maruziyet düzeyi göstergesi olarak kabul edilen doz olması nedeniyle seçilmiştir (9). A Grubunun diyetlerine ise sadece 50 µl/kg alkol püskürtme tarzında ilave edilmiştir. Ayrıca T ve NFT Grubu içme sularına % 3 (v/w) oranında taurin ilave edilmiştir.

3.5. Kan Örneklerinin Alınması

Deney gruplarındaki ratlar, 30 günlük çalışma süresi sonunda, sabah açlığında 10 mg/kg Xylazine HCl ve 50 mg/kg Ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alınmış, daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri açılmıştır. Çalışır durumda kalpten, 5ml'lik heparinli enjektörlerle, ortalama 6-9 ml kan alınarak heparinli tüplere aktarılmış ve tüpler soğuk zincir altında laboratuara getirilmiştir.

Alınan kan örneklerinin 5 ml'si MDA, GSH ve SOD tayininde kullanılmak üzere ayrılmış, geriye kalan kan örnekleri soğutmalı ortamda 3500 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Plazmalar, 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınarak, nitrik oksit metabolitlerinin ölçümü amacıyla derin dondurucuda -30° C'de 1 hafta korunmuştur.

3.6. Malondialdehit Tayini

Prensip

Serbest radikallerin oluşturduğu peroksidasyon reaksiyonu ürünlerinden MDA tayini, Draper ve Hadley'in (308) çift kaynatma yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Metot, yağ asitlerinin peroksidasyonunda bir son ürün olan MDA'nın, TBA ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbans vermesi prensibine dayanmaktadır.

Reaktifler

- % 10'luk TCA çözeltisi: 10 g TCA distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır.
- % 67'lik TBA çözeltisi: 100 ml 0.05 N NaOH çözeltisinde 0.67 g TBA çözündürülerek hazırlanır.

Yöntemin uygulanışı

Tam kan örneklerinden alınan 0.5 ml numune, 2.5 ml % 10'luk TCA ile temiz vida kapaklı deney tüpünde karıştırılarak 95 °C'de 15 dk kaynatılmıştır. Daha sonra

hemen soğutularak 4 °C'de 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatandan 1 ml alınmış ve üzerine % 67'lik TBA'dan 0.5 ml eklenerek 15 dk kaynatılmış ve hemen soğutulmuştur. Soğutmayı takiben en geç 45 dk içerisinde, Shimadzu UV-1601 marka spektrofotometrede, 532 nm dalga boyunda distile suya karşı absorbans değeri okunarak, elde edilen değerler dilusyon katsayısı ile çarpılmış ve nanomol/ml biriminde MDA miktarı belirlenmiştir.

3.7. Glutasyon Tayini

GSH analizi: Beutler ve ark.'nın (309) bildirdiği yönteme göre yapılmıştır. Bu yöntemde heparinli kanın distile su ile hazırlanan hemolizatında, -SH taşımayan tüm proteinler çöktürülmektedir. Elde edilen berrak sıvıda, -SH gruplarının DTNB ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçülmektedir.

Eritrosit GSH konsantrasyonu, Beutler'in klasik DTNB metodu (309) doğrultusunda 5'5'-dinitrobenzoik asit ile renk oluşturularak ölçüldü.

Analizlerde Shimadzu UV 1601 spektrofotometre kullanıldı.

ÇÖZELTİLER:

1) Çöktürücü (3 hafta dayanıklı)

1.67 g Metafosforik asit + 0.2 g EDTA + 30 g NaCl 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

2) Fosfat Çözeltisi (süresiz dayanıklı)

26.7 g Disodyum fosfat (Na_2HPO_4) 500 ml'ye distile suyla tamamlanır.

3) DTNB (Elman's) (13 hafta dayanıklı)

40 mg DTNB %1 Sodyum Sitrat çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlanır.

4) GSH Standardı (taze hazırlanır)

40 mg GSH 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

YAPILIŞI:

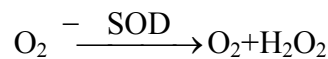
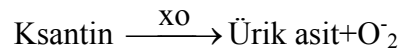
- 1) K r: 2 ml distile su + 3 ml çöktürücü
- 2) Standart: 0.2 ml GSH Standardı + 1.8 ml distile su + 3 ml.çöktürücü iyice karıştırılır, 5 dk beklenir. Daha sonra adi süzgeç kağıdından süzülür ve 1 ml süpernatant alınarak başka bir tüpe konur. Bu tüpe 4 ml fosfat çözeltisi ve 0.5 ml DTNB ayıracı katılır ve iyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 412 nm dalga boyunda 10 dk içinde okunur.
- 3) Numune 0.2 ml EDTA'lı tam kan alınır. 1.8 ml distile su katılır ve karıştırılır 3 ml çöktürücü katılır, karıştırılır ve 5 dk beklenir. Bundan sonraki işlemler standarttaki gibidir.

HESAPLAMA:

$$\text{GSH düzeyi (\% mg)} = \frac{\text{Num. Absorbansı} \times 40 \text{ mg}}{\text{mg/dl kan} \times \text{St. Absorbansı}}$$

3. 8. Süperoksit Dismutaz Enzim Tayini

Aşağıdaki reaksiyonda g r ld ğı gibi, ksantin oksidazın katalizlediğı reaksiyonla ksantinden ürik asit ve süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikali, INT (inositol) ile muamele edildiğinde ise kırmızı renkli farmazon bileşiğı oluşturur. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür (310,311).



1. Deneyin Yapılışı:

Kit prospektüsü doğrultusunda gerçekleştirilen ölçümler, UV 1201 marka spektrofotometrede gerçekleştirildi

S₁ hazırlama = Ransod sample diluent 0.05 ml

Mixed substrat 1.7 ml

S₂-S₆ hazırlama = Standart 0.05 ml

Mixed substrat 1.7ml

Örnek hazırlama: 300 kat sulandırılmış 0.05 ml numune ile 1.7 ml mixed substrat iyice karıştırıldı. 505 nm’de havaya karşı okuma gerçekleştirildi. Okumadan önce tüm standartlar ve örneklerin her birine, okumadan hemen önce 0.25 ml Ksantin oksidaz eklendi. 30 sn içinde birinci okuma gerçekleştirildi. Birinci okumadan 3 dakika sonra ikinci okuma gerçekleştirildi.

Hesaplama:

A₁: Birinci okuma sonunda elde edilen absorbens değeri

A₂: İkinci okunma sonunda elde edilen absorbens değeri

$$\frac{A_2 - A_1}{3} = \Delta A \text{ (Ortalama Absorbans)} = \text{Absorbans değerini verir.}$$

Her standartın ve numunenin ΔA ’sı hesaplanır.

$$\text{Standartların \% inhibisyon hesabı: } 100 - \frac{(\text{Ölçülen Standardın } \Delta A' \text{ sı} \times 100)}{\Delta A_{S_1}}$$

$$\text{Numunelerin \%inhibisyon hesabı: } 100 - \frac{(\text{Numunenin} \Delta A' \text{ sı} \times 100)}{\Delta A_{S_1}}$$

Standartların konsantrasyon ve % inhibisyonları ile semilogaritmik ortama çizdirilen körv (eğri) de % inhibisyonu verilen numunenin konsantrasyonu bulundu.

SOD miktarı: Unite(U)/ tam kan (ml)

3.9. Nitrik Oksit Ölçümü

Nitrik oksit (azot monoksit), yarı ömrü çok kısa olan bir madde olup oksidasyon ile stabil metabolitleri olan nitrat ve nitrite dönüşür. Bu mekanizma, NO seviyesinin dolaylı olarak ölçülmesine imkan sağlar ve genellikle bu metabolitlerin tespiti ile NO

düzeyi değerlendirilir (312). Bu bağlamda nitrik oksit miktarı Miranda ve ark.'nın "Vanadium-3-klorür-Gries Reaksiyonu" yöntemi ile belirlenmiştir (313,314).

Prensip

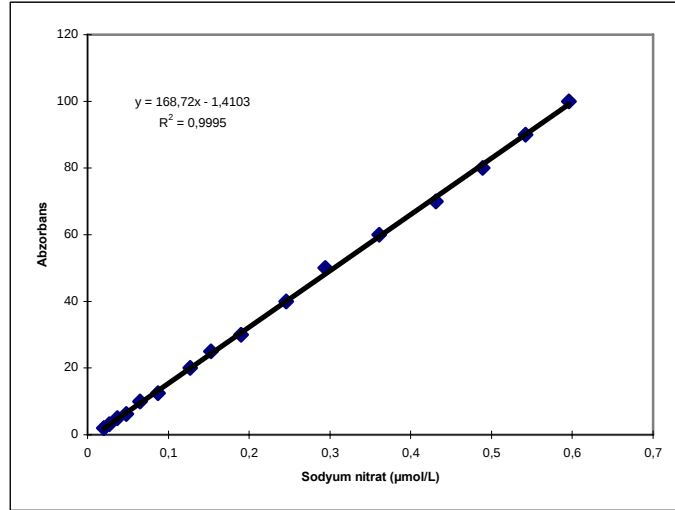
Ölçüm, Vanadium klorür'ün, 37°C'lik ortamda nitrati nitrite dönüştürmesi ve Gries Reaksiyonu olarak tanımlanan, nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamit ile diazotizasyonu ve N-(1-naphthyl) ethylenediamin (NEDD) ile renkli bir azo türevi oluşturması esasına dayanır.

Reaktifler

- Vanadium klorür (VCl_3) çözeltisi: 50 ml Hidroklorik asitte, 400 mg Vanadium klorür çözündürülmesiyle hazırlanır.
- Sülfanilamit çözeltisi: 2 g Sülfanilamitin, % 2'lik Hidroklorik asit ile 100 ml'ye tamamlanması ile hazırlanır.
- NEDD çözeltisi: Distile su ile hazırlanmış % 0.1'lik NEDD çözeltisidir.

Yöntemin uygulanışı

Plazmadan alınan 100 µl örnek üzerine, 100 µl Vanadium klorür çözeltisinden eklenmiş, bunun üzerine seri halde 50 µl sülfanilamit ve 50 µl NEDD çözeltileri ilave edilmiştir. Örnekler, 37°C'de 30 dk inkübe edildikten sonra Multiscan Spectrum (Thermo) kültür plağı okuyucusuna yerleştirilerek, 550 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Sonuçlar, Şekil 3.11.'de görülen daha önce değişik konsantrasyonlardaki sodyum nitratin absorbans değerlerine göre hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisi kullanılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.11 Sodyum Nitrat Kalibrasyon Eğrisi

3.10. İstatistiksel Analizler

Elde edilen bulgular, SPSS 13,0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin normallik testleri yapılmış ve ortalamaları $\pm$ standart hatalarıyla ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel farkları saptamak için, ANOVA testi, post-test olarak ise Duncan testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$, 0,01 ve 0,001 değerleri üç farklı kriter olarak seçilmiştir (315).

4. BULGULAR

Çalışmamızda oluşturulan Kontrol, Taurin, Nonilfenol, Nonilfenol+Taurin ve Alkol gruplarından 30 günlük araştırma süresi sonunda alınan kan örneklerinden elde edilen Malondialdehit, Glutasyon, Süperoksit Dismutaz ve Nitrik Oksit metabolitlerine (NO_x) ait bulgular ve bu bulguların istatistiksel değerlendirmelerine ait sonuçlar Tablo 4.1.'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Araştırmada Ölçülen Parametrelere Ait Bulguların Aritmetik Ortalama, Standart Hata ve Anlamlılık Düzeyleri

	K Grubu $\bar{X} \pm \text{SE}$	T Grubu $\bar{X} \pm \text{SE}$	NF Grubu $\bar{X} \pm \text{SE}$	NFT Grubu $\bar{X} \pm \text{SE}$	A Grubu $\bar{X} \pm \text{SE}$
MDA (nmol/ml)	13,75 $\pm$ 0,27 ^{***b}	14,23 $\pm$ 0,25 ^{***ab}	14,84 $\pm$ 0,29 ^{***a}	14,39 $\pm$ 0,21 ^{***ab}	14,98 $\pm$ 0,25 ^{***a}
GSH mg/dl kan	41,34 $\pm$ 3,22 ^{*ab}	46,75 $\pm$ 2,50 ^{*a}	30,27 $\pm$ 1,30 ^{*c}	36,64 $\pm$ 1,42 ^{*bc}	35,03 $\pm$ 1,40 ^{*bc}
SOD (U/mlkan)	130,69 $\pm$ 6,48 ^{**a}	135,51 $\pm$ 7,98 ^{**a}	110,22 $\pm$ 2,5 ^{**b}	125,88 $\pm$ 3,03 ^{**a}	104,20 $\pm$ 3,99 ^{**b}
NO ($\mu\text{mol/l}$)	31,48 $\pm$ 2,24 ^{**bc}	35,83 $\pm$ 2,80 ^{**ab}	26,69 $\pm$ 1,99 ^{**c}	40,33 $\pm$ 3,02 ^{**a}	35,73 $\pm$ 2,29 ^{**ab}

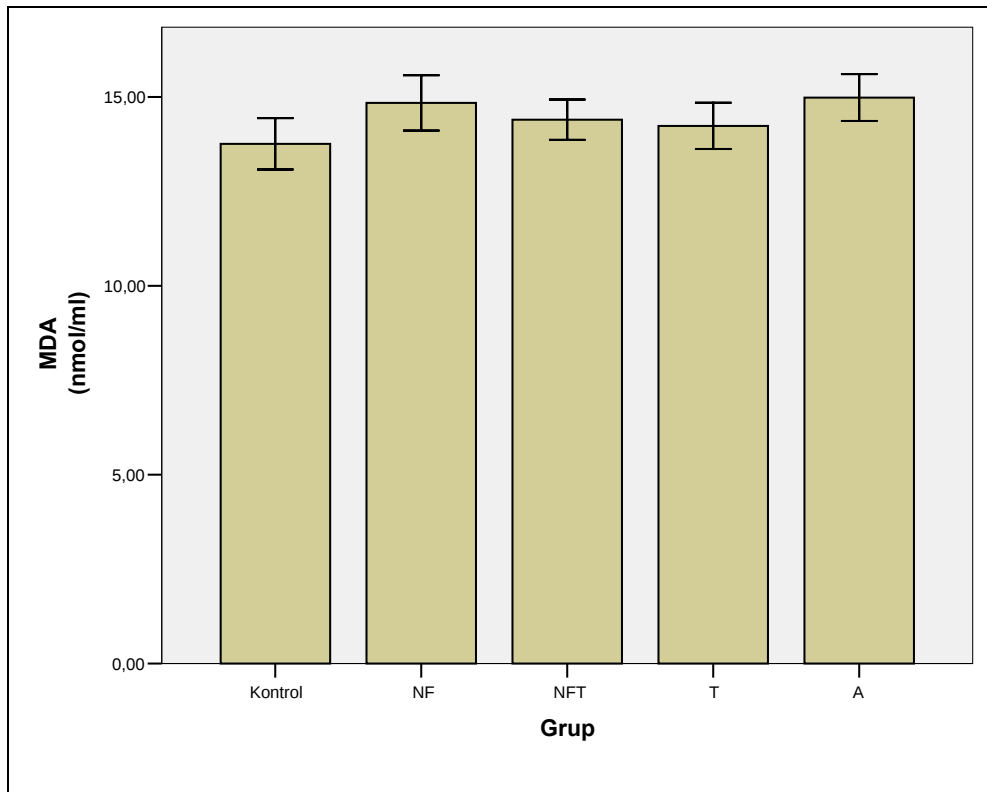
a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.

: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$*

4.1. Plazma Malondialdehit Düzeyleri

Malondialdehit seviyesi Kontrol Grubunda $13,75 \pm 0,27$ nmol/ml, Nonilfenol Grubunda $14,84 \pm 0,29$ nmol/ml, Nonilfenol+Taurin Grubunda $14,39 \pm 0,21$ nmol/ml, Taurin Grubunda $14,23 \pm 0,25$ nmol/ml, Alkol Grubunda $14,98 \pm 0,25$ nmol/ml olarak ölçülmüştür.

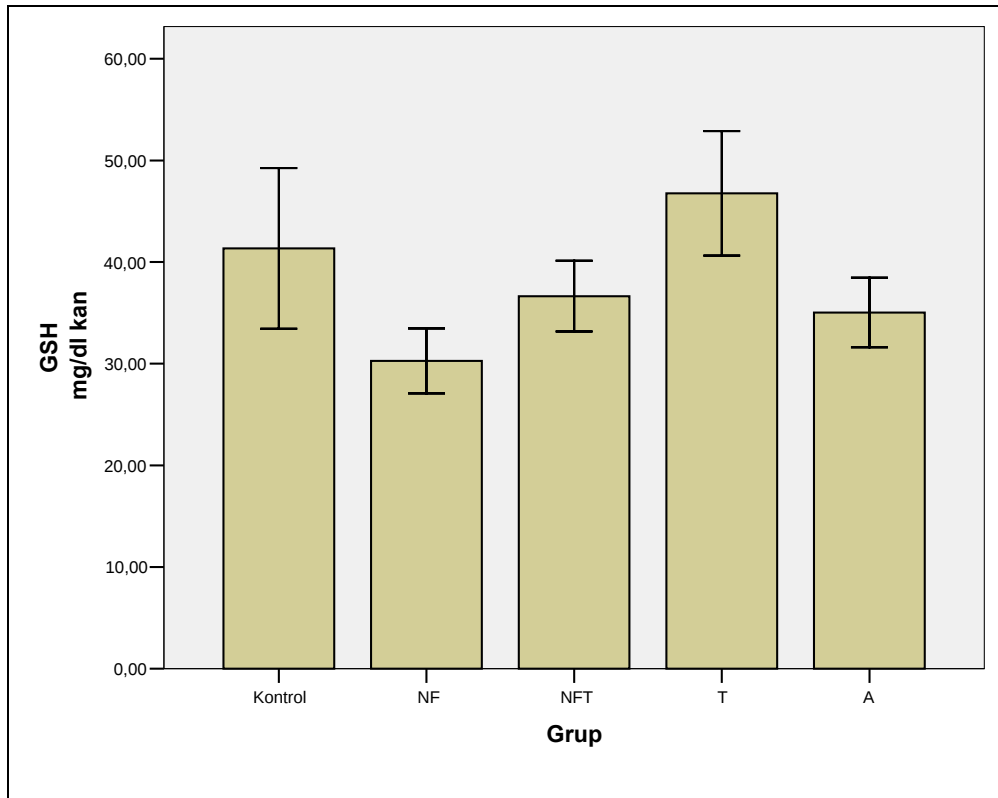
Lipit peroksidasyonu göstergelerinden MDA'nın, tüm deney gruplarında Kontrol Grubuna oranla anlamlı olarak ($P < 0.05$) arttığı görülmektedir (Grafik 4.1) (Tablo 4.1). Ancak, sadece taurin uygulanan ve NF ile birlikte taurin verilen hayvanlardaki MDA düzeylerinin, yalnızca NF ve yine tek başına alkol verilen hayvanlardaki MDA seviyesinden istatistiksel olarak düşük olduğu dikkat çekmektedir ($P < 0.05$).



Grafik 4.1. MDA Düzeyleri

4.2. Glutasyon Düzeyleri

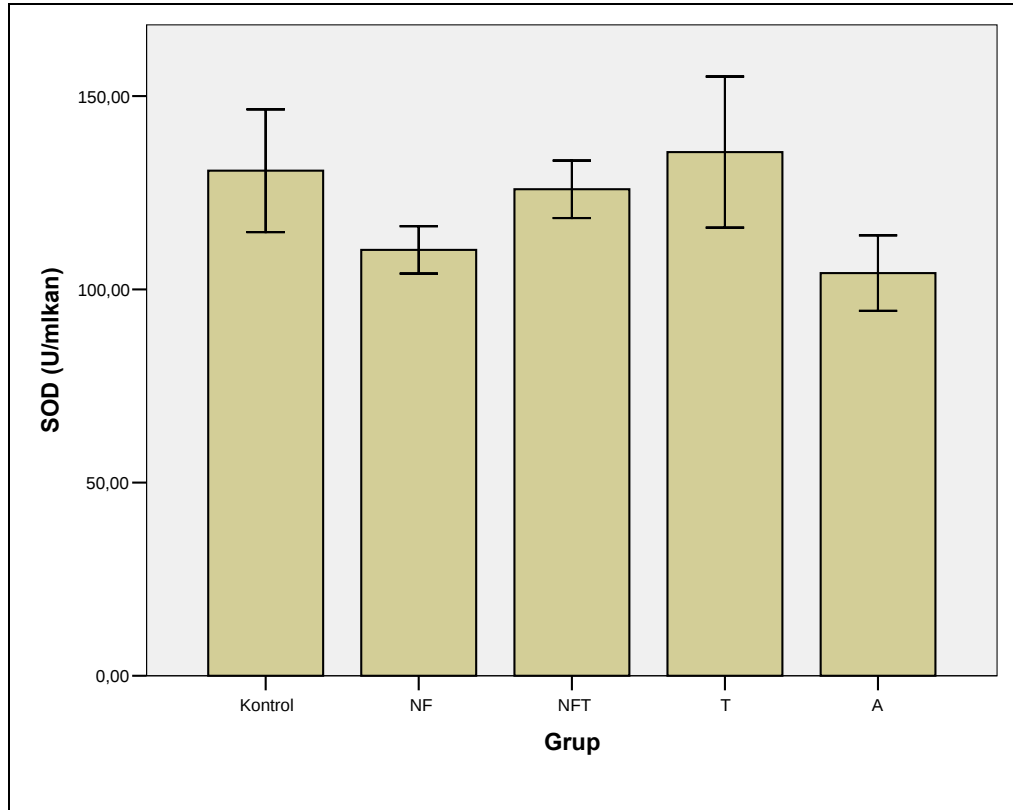
Kan GSH seviyesi Kontrol Grubunda $41,34 \pm 3,22$ mg/dlkan, Nonilfenol Grubunda $30,27 \pm 1,30$ mg/dlkan, Nonilfenol+Taurin Grubunda $36,64 \pm 1,42$ mg/dlkan, Taurin Grubunda $46,75 \pm 2,50$ mg/dlkan, Alkol Grubunda $35,03 \pm 1,40$ mg/dlkan düzeylerinde saptanmıştır. GSH ölçüm sonuçları, NF, NFT ve A gruplarındaki GSH düzeyinin, Kontrol Grubuna göre anlamlı olarak azalmış olduğunu ($P < 0.001$), T Grubunda ise Kontrol Grubu düzeylerinin üzerine çıktığını ($P < 0.001$) göstermektedir (Grafik 4.2), (Tablo 4.1).



Grafik 4.2. Gruplardaki GSH Düzeyleri

4.3. Süper Oksit Dismutaz Düzeyleri

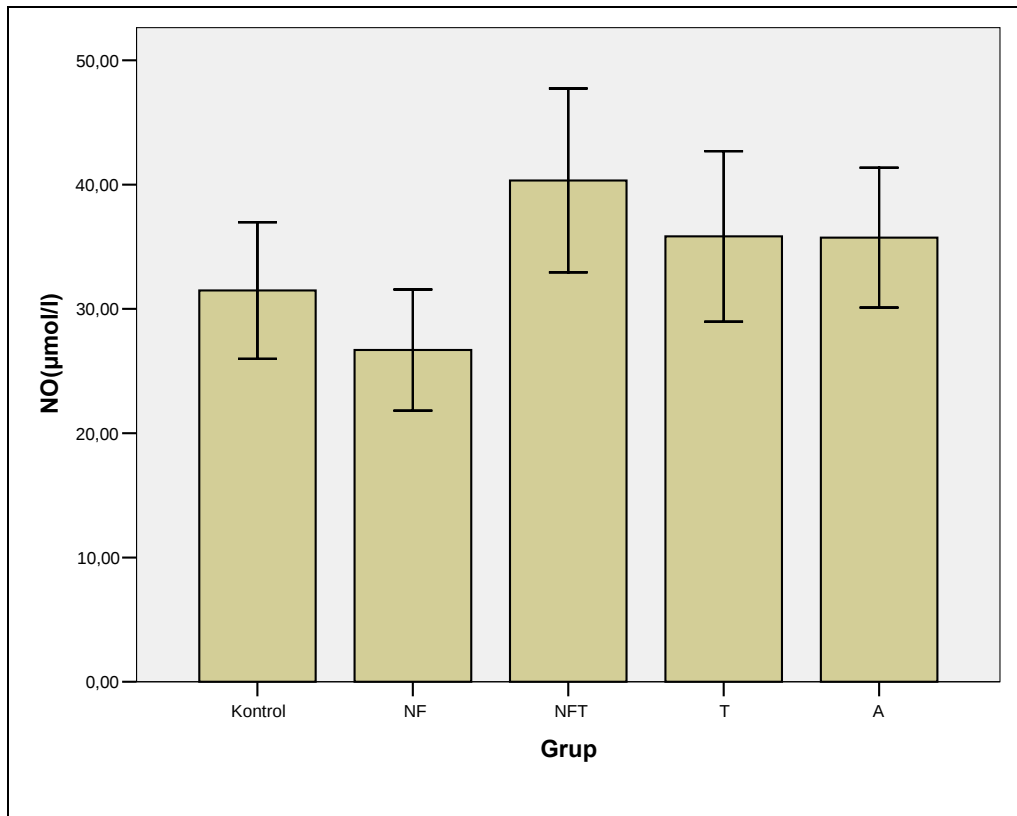
Yapılan ölçümlerde, Kontrol Grubu SOD seviyesi $130,69 \pm 6,48$ U/mlkan, Nonilfenol Grubunda $110,22 \pm 2,5$ U/mlkan, Nonilfenol+Taurin Grubunda $125,88 \pm 3,03$ U/mlkan, Taurin Grubunda $135,51 \pm 7,98$ U/mlkan, Alkol Grubunda $104,20 \pm 3,99$ U/mlkan olarak bulunmuştur. SOD düzeylerine ait sonuçlar karşılaştırıldığında, NF, NFT ve A Gruplarında SOD düzeyinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış olduğu ($P < 0.01$), sadece taurin verilen grupta ise SOD düzeyinin anlamlı olarak arttığı ($P < 0.01$) görülmektedir (Grafik 4.3), (Tablo 4.1).



Grafik 4.3. Deney Gruplarındaki SOD Düzeyleri

4.4. Nitrik Oksit Düzeyleri

Nitrik Oksit metabolitleri en düşük NF Grubunda $26,69 \pm 1,99$ $\mu\text{mol/l}$, daha sonra sırasıyla K Grubunda $31,48 \pm 2,24$ $\mu\text{mol/l}$, Alkol Grubunda $35,73 \pm 2,29$ $\mu\text{mol/l}$, T Grubunda $35,83 \pm 2,80$ $\mu\text{mol/l}$, NFT Grubunda $40,33 \pm 3,02$ $\mu\text{mol/l}$ olarak ölçülmüştür. Nonilfenol verilen ratlardaki NO_x seviyeleri azalmıştır ($P < 0.01$). NF yanı sıra taurin verilen NFT Grubu, sadece alkol ve yine yalnızca taurin verilen gruplarda ki NO_x miktarlarının, Kontrol Grubundan yüksek olduğu ($P < 0.01$) dikkat çekmiştir, (Grafik 4.4), (Tablo 4.1).



Grafik 4.4. Gruplardaki NO_x Düzeyleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

A) TARTIŞMA

Bir antioksidan olan taurinin, nonilfenol toksikasyonuna maruz bırakılan ratların oksidatif göstergelerine etkisini izleyebilmek için Malondialdehit, Glutasyon, Süperoksit Dismutaz ve Nitrik Oksit metabolitlerine ait sonuçlar ölçülmüş, bulgular Tablo 4.1’de sunulmuştur. Nonilfenol toksikasyonu, çevremizde yoğun olarak karşılaştığımız toksik, karsinogenik ve östrojenik etkili kimyasalların yol açtığı harabiyetlerden kaynaklanır. Taurin gibi antioksidan madde desteklerinin, deneysel nonilfenol toksikasyonuna bağlı oksidatif tabloyu önleyici/iyileştirici bir etkisi olup olmadığını incelemek; endokrin sistemi bozucu etkiye sahip olan boyalarda, deterjanlarda, ot ve böcek ilaçlarında, kozmetik ve plastik eşyalarda, yüzey aktif maddeleri olarak yaygın olarak kullanılan bu bileşiklerden korunmada önemlidir (9). Kendisi de bir in vitro antioksidan olan nonilfenolle yapılan çalışmaların pek çoğunda, nonilfenolik bileşiklerin toksisitesinin, insan ve hayvan sağlığı için tehlike yaratabilecek nitelikte olduğu gösterilmiştir (258,259). Alkilfenol bileşiklerinin organizmalardaki östrojenik (10-12), kanserojenik (16,299), toksik (18) ve spermisit (316) etkileri uzun süredir kesin olarak bilinmesine karşın oksidatif stres oluşturunca etkilerine ilişkin çalışmalar oldukça azdır (19,20).

Oksidatif stres, organizmadaki birçok patolojik süreçte rol almakta, oluşumu artan serbest radikaller antioksidan sistem tarafından etkisizleştirilerek bir denge oluşturulmakta, oluşturulan bu dengenin korunamaması durumunda ise, doku hasarı gibi yapısal bozulmalar ortaya çıkmaktadır (43,47,48,56). Serbest oksijen radikallerinin tepkimeleri ile oluşan lipid peroksidasyonu esnasında meydana gelen oldukça reaktif olan metabolik ürünlerinden bir tanesi malondialdehittir (47,48). Plazma MDA düzeyinin belirlenebilmesi, dokulardaki lipid peroksidasyonunun ve dolayısıyla oksidatif stresin hassas göstergelerinden birisidir (47,48).

Çalışmamızdaki gruplar içinde, nonilfenol uygulanan NF ve NFT Gruplarındaki ratların kanlarında, lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilen MDA düzeyleri, Kontrol Grubuna oranla anlamlı olarak artmıştır. Diğer yandan taurin verilen NFT Grubunda MDA düzeylerinin, NF Grubuna göre azaldığı, hala yüksek olmakla birlikte Kontrol Grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir. Bu bulgular, taurinin, NF'nin çevresel bulunma miktarına karşı yeterli düzeyde olmasa da antioksidan etkinlik gösterdiğini, deneysel modelimizde uygulanan taurin dozunun, maruz bırakılan nonilfenol toksikasyonuna bağlı oksidatif devinimi azaltmasına rağmen istatistiksel önemde bir düşüş sağlayamadığını göstermektedir. Sadece taurin verilen hayvanlarda, MDA düzeyinin Kontrol Grubuna göre artmış olduğu fark edilmiştir.

Avcı ve ark. (317), 10, 100, 500, 1000 ve 5000 µg/kg nonilfenole maruz kalan bıldırcınlarda malondialdehit, antioksidan kapasite, β karoten, vitamin A ve C düzeylerini incelemişlerdir. Çalışmamızdaki NF miktarına yakın gruplar olan 10 µg/kg ve 100 µg/kg NF verilen gruplarda, tam kan MDA ile serum antioksidan kapasite düzeylerinin, kontrol grubuna göre önemli bir değişim göstermediği görülmektedir. Chitra ve ark.'nın (318) çalışmasında, maksimal NF dozu olan 100 µg/kg vücut ağırlığının oksidatif strese yol açtığı; Avcı ve ark.'nın (317) çalışmasında ise 10 µg/kg yemden 5000 µg/kg yeme kadar uygulanan dozlarda malondialdehit düzeylerinin anlamlı bir değişim göstermediği bildirilmiştir. Çalışmamızda hiçbir antioksidan destek uygulanmayan sadece çevresel NF bulunma miktarı olan 50 µg/kg yem düzeyinde NF uygulanan hayvanlarda, MDA düzeyleri Kontrol Grubuna göre istatistiksel önemde artış göstermiştir ($p < 0.05$). Öte yandan çalışmamızda uygulanan taurin miktarı, normal koşullarda günlük NF maruziyetinden kaynaklanan oksidatif reaksiyonları baskılamada kısmen başarılı olmuş, ancak deneysel modelimizde uygulanan taurin dozu, nonilfenol toksikasyonuna bağlı oksidatif devinimi azaltmasına rağmen istatistiksel önemde bir düşüş sağlayamamıştır.

Uğuz ve ark., 5 farklı gruba sırasıyla 0,10,100,500,1000 µg/kg nonilfenol içeren yem vererek grupları 20,40,60,130 günde örneklemiştir. NF'ye maruziyetten sonra

bıdırcınlardan doku, kan ve kemik iliği örneği alınmıştır. Kontrol Grubu dışındaki tüm gruplarda, karaciğer hücrelerinde nekroz, yağlanma ve hücre çekirdeğinin bir tarafa itilmesi gibi bozukluklar, böbreklerde ise tübüler dejenerasyonun olduğu görülmüştür. Nonilfenole maruz bırakılan gruplardaki hayvanların kromozomlarında telomer kısalması meydana gelmiştir. Araştırmacılar; karaciğer ve böbrek hücreleri ile kromozomlarda meydana gelen bozuklukların, dozdan çok zamana bağlı olarak meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Nonilfenolün, bıdırcınlarda hem histopatolojik hem de moleküler düzeyde gözlenebilen bozukluklara neden olduğunu ortaya koymuşlardır (319).

Sıçanlarda farklı toksik maddeler ile gerçekleştirilen çalışmalardan kimisinde, kronik alkol uygulamasına bağlı olarak gelişen karaciğer yağlanması, akut tiyoasetamit, CCl_4 ve parasetamol uygulaması ile oluşan karaciğer nekrozu tablosu, kronik CCl_4 ve tiyoasetamit uygulaması ile oluşan karaciğer sirozu olguları araştırılmış, toksikasyon faktörleri farklı olsa bile taurinin, karaciğer hasarını azaltıcı bir etkiye sahip olduğu, bu etkisini karaciğerde oksidatif stresi baskılayarak gerçekleştirebileceği ileri sürülmüştür (154,193-198). Bir başka çalışmada, taurinin endotoksemilere bağlı karaciğer hasarını azaltmasının, Kupffer hücre aktivasyonunu engellemesine dayanabileceği bildirilmiştir (199,200).

Yukarıda bahsedilen çalışmalarında Balkan ve ark. (154), 3 ay süreyle % 0.3 g tiyoasetamit içeren içme suyu vererek karaciğer sirozu oluşturdıkları sıçanlarda, yemlerine % 2 oranında uygulanan taurinin siroz oluşumunu önlediğini, bu iyileşmede karaciğer lipit peroksidasyonundaki azalmanın etkili olabileceğini savunmuşlardır.

Balkan ve ark. (187), taurinli ve taurinsiz gruplar oluşturdıkları tavşanlar üzerine, yüksek kolesterolli diyetin oksidatif stres oluşturuıcı etkilerini belirleyebilmek için karaciğer ve aort dokusunda oksidatif stres kaynaklı lipit seviyelerini araştırdıkları çalışmalarında ise taurinin, ateroskleroz oluşumunda koruyucu bir nitelik gösterdiğini, yüksek kolesterolle beslenen tavşanlarda, trigliserit ve kolesterol seviyelerini azalttığını bildirmişlerdir. Taurin verilen yüksek kolesterol diyeti,

sadece yüksek kolesterollü diyetle kıyaslandığında, tavşanlarda peroksidasyon göstergelerinden plazma konjuge dien seviyeleri ile karaciğer ve aort dokusu MDA seviyelerini düşürmüştür. Sadece yüksek kolesterol diyeti ile beslenen, taurin uygulanmayan tavşanların karaciğerindeki antioksidan kapasite değişmemiştir. Taurinin, oksidatif stres üzerine iyileştirici etkisi hem doku hem de plazmaya ait peroksidasyon göstergelerinde görülmüştür. Ancak çalışmamızda izlediğimiz tam kan peroksidasyon göstergeleri, NF ve NFT Grupları arasında anlamlı olmayan bir iyileşmeyi işaret etmesine karşın, uyguladığımız miktar ve sürede taurinin oksidan-antioksidan parametreleri kanda istatistiksel anlamda azaltmadığı, bu nedenle taurinin antioksidan etkinliğinin araştırılmasında karaciğer doku örneklerinin belkide daha spesifik bir panel olabileceğini akla getirmektedir.

Okai ve ark.'na (20) göre, NF maruziyeti, insanlarda nötrofillerde serbest oksijen türlerini aşırı derecede arttırmakta, serbest radikalleri baskılayan enzimlerden katalaz, süperoksit dismutaz, α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidan ajanlar, nonilfenolün yol açtığı serbest radikalleri ve etkilerini baskılayıcı özelliklere sahiptirler. Araştırmacılara göre, izlenen NF kaynaklı serbest radikal artışı, hücrelerdeki NADPH molekülleriyle ilişkili oksidaz, difenil iodin klorit ve myeloperoksidaz enzim inhibitörleri çalıştırılmak suretiyle baskılanmıştır.

Bu verilere karşın bazı araştırmacılar, taurinin, tavşan eritrosit hücrelerinde H_2O_2 artışından kaynaklanan lipit peroksidasyonunu önleyemediğini bildirmişlerdir (193). Taurinin, lipit peroksit düzeylerini azaltıcı yönde etkilerini gündeme getiren çalışmaların hemen tamamı, karaciğer oksidatif stresini azaltmada önemli bir etkinliğinin olduğunu bildirmektedir. Ancak her zaman bu antioksidatif tabloyu doku hasarını giderici bir etkinin tamamlamadığı bildirilmiştir (320). Erman ve ark. (320), çalışmalarında alkol+CCl₄ uygulaması ile siroz oluşturulan sıçanlarda taurin ve betainin siroz oluşumuna ve oksidan antioksidan göstergelere etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, plazmada transaminaz aktiviteleri, karaciğerde histopatolojik incelemeler ve lipit peroksit, glutatyon, vit E ve vit C düzeyleri ile süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon transferaz aktivitelerini incelemişler; sirozlu sıçanların karaciğerlerinde lipit peroksit düzeylerinin arttığını, antioksidan sistemin baskılandığını, bu olayda endotoksemiye bağlı olarak gelişen

oksidatif ve nitrozatif stresin sorumlu tutulabileceğini; taurin ve betain uygulamasının ise siroz oluşumunu önlediği ve lipid peroksid düzeylerini azalttığını ancak karaciğer hasarı üzerinde olumlu bir etki oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, NF Grubu LP ürünlerindeki artış, Kontrol Grubuna göre hemen hemen tüm çalışmalarda aynı niteliktedir. NFT Grubunda, MDA düzeylerinin NF Grubu'na göre azaldığı ancak bu düşüşün istatistiksel anlamda olmadığı görülmektedir. Uygulanan taurin dozunun, literatürde önerilen antioksidan miktarlarda olduğu, 30 günlük deneme süresinin bir çok çalışmada uygulanan süreden uzun olduğu göz önüne alındığında, taurinin oksidasyon reaksiyonlarının yıkımlayıcı etkilerine karşı koruyucu etki sağladığı ancak, çalışılan numunenin diğer ifade ile kan dokusunun bu işlev için uygun bir panel olmayabileceği görülmektedir. Bir diğer yaklaşım ise, taurinin normal koşullarda yani oksidatif bir provakasyonun olmadığı durumlarda fazla alımının prooksidatif etki gösterebileceğidir.

Karafakıoğlu ve ark. (321), sıçanlara % 3 (v/w) seviyesinde taurin vererek, böbrek ve testis dokusu lipid peroksidasyonunu izlemişler, bu miktarın böbreklerde NF kaynaklı MDA oluşumunu önleyemediğini, testis dokusunda ise nonilfenol tarafından indüklenen oksidatif stresin azaltılmasında etkili olduğunu göstermişlerdir. Taurin ve nonilfenolün testislerdeki metabolizması ve böbreklerdeki aktivitelerinin birbirinden farklı olabileceğini gösteren bu bulgular, aynı zamanda taurinin dokuya spesifik bir antioksidan etkinlik gösterebileceğini de akla getirmektedir.

Çakmak ve ark. (322), nonilfenole maruz bırakılan gökkuşağı alabalığı karaciğerinin, kontrolle karşılaştırıldığında düşük protein konsantrasyonu ve yüksek lipid düzeyi ve yükselmiş trigliserit seviyelerine işaret etmektedir. Cox (323), NF ve ilgili diğer kimyasalları derlediği çalışmasında, nonilfenolün kas hücrelerine enerji sağlayan ATPaz enzimi aktivitesini engellediğini belirten çalışmalara yer vermiştir.

White ve ark. (11), 90 gün boyunca nonilfenol okzalatlari ile beslenen köpeklerin kalp kası dokularında,  l  alanların ve beneklenmelerin meydana geldiğini görmüştür.

Glutasyon ( -glutamilsistein glisin), organizmada tiyol grubu içeren, düşük molekül ağırlıklı, tripeptit yapısında önemli bir antioksidandır (324,325). DNA ve protein sentezleri, enzim aktivitelerinin düzenlenmesi, hücre içi ve d  ı transportlar gibi hücresel fonksiyonları dışında başlıca antioksidan olarak hücre savunmasında da önemli rolü vardır (324,326,327). İndirgenmiş glutasyon (GSH), i erdiğı tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasarlara karşı korur. Glutasyon peroksidaz (GPx) isimli enzimin kofakt rl   n  yaparak, hidrojen peroksiti metabolize eder (324,325,327,328). Serbest radikallerin etkisini azaltabilen enzimlerden birisi olan glutasyon peroksidaz; redükte glutasyonun (GSH) -SH grubundan, su oluşturmak için hidrosil radikali ya da hidrojen peroksitle birleşmek üzere hidrojen çıkartmasını sağlayarak işlev görmektedir. GSH, tüm memeli hücrelerinde bol miktarda (0.5-10 mM) sentezlenir. GSH, negatif feed-back ile glutamilsistein oluşum hızını ve böylelikle kendi sentezini de denetler. Bu sentezde, bir molekül GSH için 2 molekül ATP'nin hidrolizi gerekir (329,330). GSH sürekli olarak hücreler tarafından kullanıldığından, sentezinin inhibisyonu hızlı tükenmesine yol açabilir (324,326,327).

Oksidan stres ve artmış ROS oluşumunun, hücre hasarlarındaki etkileri bilinmektedir. Bu  r nlerin detoksifikasyonu, glutasyonun indirgenmiş formu olan GSH ve oksitlenmiş dimer formu GSSG'ye dönüşümü ile sağlanmaktadır. Glutasyon peroksidazın (GPx) katalizlediğı bu reaksiyonda, GSH'ın enzim aktivitesi için gerekli olduğu açıktır. Okdidasyon sonucunda oluşan GSSF (Glutasyon disülfid) ise glutasyon redüktaz isimli enzim aracılığıyla geri dönen bir siklusla GSH'a rejenere olmaktadır (328,329). Hücreler, serbest radikal ataklarına maruz kaldığında, GSSG oluşumu metabolik sınırını açmakta ve oksidatif stres oluşmaktadır. Ayrıca GSSG'nin kendisi de, proteinlerin sülfidril gruplarıyla (-SH) tepkimeye girerek kalıcı hasara yol açabilmektedir (328,331).

Çalışmamızın GSH verilerine bakıldığında; taurin verilen hayvanlarda, kontrollere göre anlamlı olmasa da bir artış yaşandığı, NF verilen ratlardaki GSH seviyelerinin ise, Kontrol Grubundaki hayvanlara göre anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Taurinle desteklenen NF maruziyetinde ise, NF'ye göre artış kaydedilmiş ancak bu artışın istatistiksel önemde olmadığı görülmüştür. Alkol uygulamasının, antioksidan kapasite azaltıcı etkiye sahip olduğu görülmektedir. NF vererek, epididimisteki spermatozoonlarda antioksidan göstergeleri araştıran Chitra ve ark. (318), erkek ratlara 45 gün boyunca 1, 10 ve 100 µg/kg vücut ağırlığına oral yolla nonilfenol verilmesinin tüm NF gruplarında GSH, GPx, GPRd ve Katalaz enzimlerinden oluşan antioksidan savunmanın aşılmasına yol açan bir lipit peroksidasyonu artışı olduğunu ileri sürmüşlerdir.

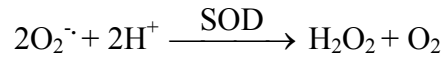
Balkan ve ark.'nın (187), tek başına kolesterol (%1 w/w) ve kolesterolle birlikte 2 ay boyunca taurin (% 2.5 w/w) uygulanan tavşanlarda aterom plak oluşumu, lipit düzeyleri ve oksidatif stresi inceledikleri araştırmada, hiperkolesterolemik tavşanlarda plazma, apo-B içeren lipoproteinler (VLDL+LDL), karaciğer ve aortda lipit ve lipit peroksit düzeyleri ölçülmüş, karaciğerde glutatyon (GSH), vitamin E ve vitamin C düzeyleri ile süperoksit dismutaz, GSH-peroksidaz ve GSH-transferaz aktiviteleri incelenmiştir. Sonuçlar, taurin uygulamasının, hiperkolesterolemik tavşanların aortunda aterom plakları oluşumunu engellediğini, plazma, VLDL+LDL fraksiyonu, karaciğer ve aortda artmış olan lipit ve lipit peroksit düzeylerini azalttığını, karaciğerde antioksidan sistemde ise belirgin bir değişiklik oluşturmadığını göstermiştir. Sonuç olarak, taurinin antiaterojen etkisinde, antilipidemik etkisi yanında antioksidan etkinliğinin de rol oynadığını belirtmişlerdir.

Boşgelmez ve arkadaşlarının araştırmasında, endüstride yaygın olarak kullanılan hekzevalan bileşikler Cr (VI) tarafından fare beyin dokusunda indüklenen oksidatif stres üzerinde, maruziyetten önce ve sonra taurin uygulanmasının etkisi incelenmiştir. Swiss Albino ırkı farelere, Cr (VI) bileşiği olarak 20 mg Cr/kg potasyum dikromat intraperitoneal yolla verilmiştir. Cr (VI)'nın, beyin dokusu MDA düzeylerinde, Kontrol Grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak önemli artışa neden olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). GSH düzeylerinin ise, anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($p<0.001$). Cr (VI) maruziyetinde uygulanan 1 g/kg taurinin, MDA

düzeylerinde anlamlı bir azalma meydana getirdiği ($p<0.05$); maruziyetten önce başlatılan uygulamanın ise daha etkili bir antioksidatif faktör olduğu görülmüştür ($p<0.005$). Araştırmacılar, Cr (VI) tarafından fare beyin dokusunda indüklenen oksidatif stres üzerinde taurinin koruyucu, antioksidan ve antidotal etkiye sahip olduğu kanaatine varmışlardır. Bu nedenle Cr (VI), NF, karbontetraklorür ve trikloretilen gibi endüstriyel kimyasallar tarafından indüklenebilecek oksidatif stresi önlemek ve antioksidan savunma duvarını güçlendirmek için, taurin gibi antioksidanların kullanılmasının, bu konuda potansiyel bir strateji olabileceği akla gelmektedir (221).

Konyalıoğlu (332), yaptığı çalışmanın GSH ve lipid peroksidasyonu sonuçlarına göre, taurinin, lens membran lipidlerini oksidatif hasara karşı koruduğu aynı zamanda taurinin, antikataraktojenik bir madde olduğunu savunmuştur.

Bir selüler antioksidan olan SOD, reaktif oksijen metabolitlerini indirger. Süperoksit, SOD katalizörlüğünde H_2O_2 'e ve oksijene dönüşür (23).



Aerobik canlılardaki süperoksit ve hidrojen peroksit varlığı, radikallerin yüksek konsantrasyonlarının hücresel yaşam için risk olduğunu göstermesi açısından önemlidir. Antioksidan enzimlerden SOD aktivitesi, özellikle bakır, çinko ve mangan elementleri ile ilişkilidir (23,65). Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, dimerik yapıda olup siyanidle inhibe edilir. Mitokondride bulunan Mn SOD ise tetrametrik yapıda olup siyanidle inhibe olmaz (23).

Araştırmamızda ölçülen SOD bulgularına göre; içme suyuna % 3 (v/w) oranında katılan taurinin, SOD düzeyini istatistiksel önemde olmasa da yükselttiği, NF maruziyetinin, SOD seviyesini anlamlı biçimde azalttığı ($p<0.01$), NF uygulanan sıçanlarda taurinin, istatistiksel önemde ($P<0.01$) bir antioksidan destek sağlayarak, SOD seviyesi artışına yol açtığı görülmüştür. Sadece alkol uygulamasının, SOD

açısından, NF uygulamasına göre daha fazla enzim kaybına yol açtığı fark edilmiştir.

Mas ve ark. (333), deneysel karaciğer fibrozisi oluşturdıkları sıçanlarda taurinin eritrosit, karaciğer MDA seviyeleri, SOD aktivitesi, GSHPx düzeyi, serum ve karaciğer TIMP-I ve MMP-13 seviyelerine etkilerini araştırmışlar, taurinin histopatolojik hasarı ve oksidatif stres parametrelerini anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir. Taurinsiz gruptaki hepatik siroz sayısının yüksek olduğunu, serum ve doku MMP-13 seviyelerinin anlamlı olarak yüksek olduğunu, TIMP-1 seviyelerinin ise taurinli grupta yükselmiş olduğunu bulmuşlar, taurinin, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemede önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Abbasoğlu ve ark. (195), sıçanlarda tiyoasetamit hepatoksitesine karşı taurinin koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Hepatik hasar sonunda, sıçan karaciğer MDA, dien konjugatlarında, GSH ve SOD'da yükselme, Vit E, Vit C ve GSH-Px'de düşüş meydana gelmiştir. Taurinin uygulanması, serum transaminaz aktivitelerinin ve hepatik lipid peroksidasyonunun düşmesine neden olur. Yapılan histopatolojik değerlendirmeler sonunda taurinin, tiyoasetamitin neden olduğu nekrozu iyileştirme etkisinin bulunduğunu savunmuşlardır. Taurinin radikal toplayıcı etkisiyle oksidatif stres ve karaciğer hasarını azalttığını vurgulamışlardır (195).

Tek bir azot ve oksijen atomunun kombinasyonu sonucu oluşan inorganik, renksiz, oksijen yokluğunda suda çözünebilen bir gaz olan NO diğer radikallerden farklı olarak düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol oynamaktadır. Ancak yüksek miktarda NO'da diğer reaktif ürünler gibi, hücreler üzerine zararlı etkiler göstermekte bazı kaynaklarda NO kaynaklı oksidatif stres "nitrozatif stres" olarak adlandırılmaktadır (334). Nitrik oksitin serbest radikal özelliği yanı sıra sahip olduğu vazodilatör etkisi bu konuda son zamanlarda çok sayıda çalışma yapılmasına neden olmuştur (335-337). Son zamanlarda nitratların, iskemiye bağlı miyokard hasarının engellenmesi için profilaktik olarak kullanılabileceği de ileri sürülmüştür (338). Bu olumlu etkilerine karşılık, nitrik oksitin vazodilatör etkisi kalp yetmezliği olan hastalarda kalbin iş yükünü daha da arttırabilmekte, serbest radikal bir metabolit

olması nedeniyle NO kardiyomiyopatili hastalarda sık karşılaşılan fatal aritmilerle ilişkilendirilmektedir. Öte yandan, nitrik oksitin kalp üzerinde kontraksiyon zamanını kısalttığı ve negatif inotropik etkisinin olabileceği bilinmektedir (339). Bugün için NO'nun vücutta bilinen birçok etkisinden birisi de migren patogenezinde yer almasıdır (340,341).

Vücudumuzda oluşabilen radikallerin sayısı “yüzlerce farklı tür” şeklinde ifade edilse de süperoksit ve nitrik oksitin devamlı olarak üretilen radikaller olması sebebiyle temel radikaller olarak sayılabilir. Ayrıca bu iki radikal, biyolojik sistemlerde tanıdığımız diğer bütün önemli radikaller ile radikal yapıda olmayan reaktif türlerin oluşumunu başlatabilecek özelliktedirler. Nitrik oksit, oksijen radikalleri ile tepkimeye girerek veya oksijenli ortamda oksitlenerek, kendisinden çok daha reaktif türlerin oluşumuna neden olur. Bu bakımdan, oksidatif hasar, süperoksitten kaynaklanan radikaller ile nitrik oksitin reaktif türlerinin neden olduğu hasarların bir toplamıdır (334).

Diğer yandan NO, metal içeren ortamlar ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girerek ciddi bir antioksidan etki de gösterebilmektedir. Örneğin NO, hücre zarında özellikle lipit peroksitlerle tepkimeye girerek bir antioksidan gibi davranır. Bu noktada NO'nun kimi zaman bir radikal kimi zaman bir antioksidan gibi davranıyor olması tartışmaları oldukça zorlaştırmakta, artmış olmasının mı yoksa azalmış olmasının mı bir kazanım olduğu göreselleşmektedir. Fizyolojik koşullarda düşük derişimde üretilen NO esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksiti ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim bilinmemektedir (334).

Hagar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma, taurinin antioksidan olarak Cylosporine A'nın (CsA) neden olduğu oksidatif stres ve hepatoksiteyi önlediğidir. Hepatoksisite sonucunda toplam protein seviyesi azalırken, gama glutamil transferaz (GGT) seviyeleri ve alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransaminaz (AST) seviyeleri artmıştır. CsA muamelesi, lipit peroksidasyonunu artırırken, GSH'ı düşürür, sıçan karaciğerinde katalaz ve glutatyon peroksidazı düşürür. Taurin

uygulanmasıyla, karaciğer fonksiyonları gelişir, transaminazın ve GGT seviyelerinin düşmesine ve toplam proteininin yükselmesine neden olur. Araştırmacılar, taurinin, CsA hepatoksisitesinde koruyucu rolünün olduğu ve reaktif oksijen türleri sonucunda hücrel hasara yol açan toksinlere karşı klinik uygulamalarda kullanılabileceği sonucuna varmışlardır (342). Aynı zamanda CsA, hipertansiyon ve böbrek toksikasyonuna da neden olmaktadır. Cylosporine A, kan basıncını arttıran, NO seviyesini azaltan ve böbrek fonksiyonlarının kötüye gitmesine yol açan bir ajandır. Aynı zamanda oksidatif strese neden olur. Böbreklerde glutatyon, glutatyon peroksidaz ve SOD konsantrasyonlarını azaltıcı etkili olduğu bildirilmiştir. Taurinin yükselmiş kan basıncını düşürmesi (343), NO'nun vazodilatatör etkisi ile paralellik arz etmektedir. Tez çalışmamızda taurin verilen ratlarda NO düzeylerinin artmış olması, genel olarak kabul gören ve daha çok doku çalışmalarına dayanan bir kanı olan taurinin, NO'yu azalttığı yönündeki verilerle çelişmektedir. Taurin uygulamasının, diğer hücrel antioksidanlar olan SOD ve GSH düzeylerini arttırmış olması, hücre membranları için antioksidan bir mekanizmada rol aldığı gösterilen NO'nun (334), da bu bağlamda arttırılmış olabileceğini düşündürmektedir.

El Abhar ve ark. (344), Peylenetetrazol toksikasyonuna maruz bırakılmış farelerin korteksinde NO sentaz (NOS), intraselüler Ca^{+2} ve glutamat üzerine çalışmışlardır. Sonuçlar, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; PTZ'ye maruz kalmış farelerde Ca^{+2} seviyesi, MDA, NOS ve Laktat dehidrojenaz seviyeleri yükselirken, GSH ve SOD seviyeleri düşmekte, taurin ilavesi, Ca^{+2} , NOS, LDH, GSH ve SOD seviyelerini azaltmakta, artmış oksidatif stres markeri olan MDA'yı düzeltememektedir.

Redmond ve ark. (201), hepatoksik hasara bağlı reaktif oksijen ürünlerinden nitrik oksiti baskılayıp baskılamadığını anlamak için hepatoksik nekroz oluşturmuşlardır. Serbest radikal ve peroksinitrit inhibisyonuyla ilişkili olan hepatoksiti, taurinin lipopolisakkaritten salınan hepatoselüler enzim ve hepatoksik nekrozla anlamlı olarak azaltmaya çalıştığını bildirmişlerdir. Fakat taurin, sodyum nitroprusitten kaynaklanan hepatoksit ve nekrozu önleyemez. Taurin hem NO düzeyini hem de reaktif oksijen ara ürünlerini baskılayarak hepatoksik apoptosisi ve nekrozu azaltır. Taurinin NO üzerine antioksidan etkileri m RNA seviyesinde oluşur. Redmond ve

ark., sistemik iltihaplı cevap sendromu süresince taurinin, profilaktik ve terapötik olarak davrandığını göstermişlerdir.

Araştırmaların pek çoğunda, taurinin organizmada NO tutucusu olarak da fonksiyon gördüğü ileri sürülmüş olmasına karşın (201), verilerimiz, taurinin NO metabolitlerini tutamadığını göstermektedir. El-Abhar ve ark.'nın (344), taurinin, artmış kortikal MDA düzeyini düzeltmediğini bildirdiği çalışma ile benzer sonuçlar tezimizde kan dokusunda da elde edilmiş ancak çalışmamızda taurin istatistiksel olmasa da MDA düzeylerini iyileştirmiştir. Literatür taramalarındaki çalışmalarda daha çok taurinin doku üzerine koruyucu etkisinin çalışıldığı, sonuçlarımızdaki farklılığın materyal olarak kan örneklerinin kullanılmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Diğer yandan Gries yöntemi ile nitrit/nitrat düzeylerinin basit, duyarlı ve spesifik bir şekilde ölçülebilmesi yanında bazı noktalara da dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu yöntemin bir dezavantajı, ortamda KCl, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, NH_4Cl , MgSO_4 ve CuSO_4 gibi maddelerin 10^{-4} M'den daha düşük konsantrasyonlarda bulunması durumunda $\pm$ % 0.2 kadar hatalı sonuçlar verebilmesidir (345). Ayrıca sistein, glutatyon, askorbik asit, NADH ve NADPH gibi indirgeyici maddeler (346) ve L arginin analogları (347,348) ile etkileşme olduğu bildirilmiştir. Bu doğrultuda sistein metabolizması ile ilişkili bir ürün olan taurinin, Gries yöntemi ile çalışılması beklenmeyen sonuçlar verebilir. Ancak çalışmamızda uygulanan ölçüm tekniği olan Vanadium-3-klorür–Gries Reaksiyonu yönteminin, bir interferens oluşturup oluşturmadığı ise bilinmemektedir. Eğer NO deney koşullarımızda bir antioksidan gibi davranmamışsa, bu verilerde yaygın olarak kullanılan ve güvenli kabul edilen Vanadium-3-klorür–Gries Reaksiyonu yönteminin bir interferens faktörü olabileceği düşünülebilir.

B) SONUÇ

Sonuç olarak, ülkemizde hemen hemen hiçbir koruyucu önlem alınmadan kullanılan alkilfenol etoksilatların, besin zinciri ve çevresel kontaminasyon yoluyla vücutta serbest radikallerin oluşumuna yol açarak, antioksidan sistem aktivitesini azalttığı ve hücrelerde peroksidasyona yol açarak, selüler yıkımlanmaya sebebiyet verdiği düşünülebilir.

Bulgularımız, taurinin kan dokusunda, NF'nin çevresel bulunma miktarına karşı yeterli düzeyde olmasa da antioksidan etkinlik gösterdiğini, deneysel modelimizde uygulanan taurin dozunun, maruz bırakılan nonilfenol toksikasyonuna bağlı oksidatif devinimi azaltmasına rağmen istatistiksel önemde bir düşüş sağlayamadığını göstermektedir. Sadece taurin verilen hayvanlarda, açıklanamayan bir nedenle, MDA düzeyinin, Kontrol Grubuna göre artmış olduğu fark edilmiştir. Bu tablo, taurinin aşırı oksidatif bir sürecin olmadığı normal koşullarda fazla alımı halinde “antioksidatif strese” yol açabileceğini akla getirmektedir.

Öte yandan, çalışmamızda uygulanan taurin miktarı, günlük NF maruziyetinden kaynaklanan oksidatif reaksiyonları baskılamada kısmen başarılı olmuş, ancak deneysel modelimizde uygulanan taurin dozunun, kanda nonilfenol toksikasyonu uygulamasına bağlı oksidatif devinimi azaltmasına rağmen istatistiksel önemde bir düşüş sağlayamadığı görülmüştür.

İzlediğimiz tam kan peroksidasyon göstergeleri, NF ve NFT Grupları arasında anlamlı olmayan bir iyileşmeyi işaret etmesine karşın, uyguladığımız miktar ve sürede, taurinin oksidan-antioksidan parametreleri kanda istatistiksel anlamda azaltmadığı, bu nedenle taurinin, antioksidan etkinliğinin araştırılmasında karaciğer ve diğer doku örneklerinin belki de daha spesifik bir panel olabileceğini akla getirmektedir. Uyguladığımız taurin dozunun literatürde önerilen antioksidan miktarlarda olması ve 30 günlük deneme süresinin bir çok çalışmada uygulanan süreden uzun olarak tasarlanmış olduğu düşünüldüğünde, taurinin oksidasyon reaksiyonlarının yıkımlayıcı etkilerine karşı sağladığı koruyucu etkinin daha iyi

anlaşılabilmesi için diğer dokuların tercih edilerek çalışmadaki verilerle karşılaştırılması sağlanabilir.

Araştırmamızda birincil bir amaç oluşturmamakla birlikte, NF uygulamasında çözücü olarak alkol kullanılmış olması nedeniyle oluşturduğumuz Alkol Grubu verileri, alkol uygulamasının, SOD ve GSH gibi enzimlerde antioksidan kapasite azaltıcı etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Örnek olarak, yalnız alkol verilmesi halinde, deneklerde NF uygulamasına göre daha fazla SOD enzimi kaybı fark edilmiştir. Bir vazodilatör olan NO bu noktada bir antioksidan gibi davranmamış ve artmıştır.

Taurin uygulaması diğer hücresel antioksidanlar olan SOD ve GSH düzeylerini arttırmıştır. Hücre membranları için antioksidan bir rol alabilen NO bu bağlamda arttırılmış olabilir.

Taurinin, organizmada NO tutucusu olarak da fonksiyon gördüğü ileri sürülmüş olmasına karşın, verilerimiz taurinin NO metabolitlerini azaltmadığını göstermektedir. Çalışmamızdaki sonuçların, kan örneklerinin kullanımından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Diğer yandan sistein metabolizması ile ilişkili bir ürün olan taurinin, Gries yöntemi ile çalışılması beklenmeyen sonuçlar verebilir. Ancak çalışmamızda uygulanan ölçüm tekniği olan Vanadium-3-klorür–Gries Reaksiyonu yönteminin, bir interferens oluşturup oluşturmadığı ise bilinmemektedir. Eğer NO deney koşullarımızda bir antioksidan gibi davranmamışsa, bu verilerde yaygın olarak kullanılan ve güvenli kabul edilen Vanadium-3-klorür-Gries Reaksiyonu yönteminin, bir interferens faktörü olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak, nonilfenol gibi endüstriyel kimyasallar tarafından indüklenebilecek oksidatif stresi önlemede antioksidan savunma duvarını güçlendirmek için, taurin gibi antioksidanların uygulanmasının önemli olduğu; diğer yandan en etkin antioksidan madde ve dozunun belirlenebilmesi için ise başkaca çalışmalara gereksinim duyulduğu görülmüştür.

6. KAYNAKLAR

1. Mercan U. (2004) Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet Fak Derg* **15** (1-2),91-96.
2. İkizoğlu E., Haskök S., Tehlikeli kimyasalların çevresel etkileri için risk değerlendirme örneği: endokrin sistemini bozan kimyasallar. [http://www. cevremuhendisleri.com/articles](http://www.cevremuhendisleri.com/articles). Erişim tarihi: 16.03.2006.
3. Committee on environment and natural resources national science and technology council, "The health and ecological effects of endocrine disrupting chemicals-a framework for planning", November 22, 1996.
4. U.S. environmental protection agency (USEPA), (1997) special report on environmental endocrine disruption: an effect assessment and analysis, office of research and development, risk assessment forum, Washington, D.C.
5. Erdin E., Alten A., Hagemann W., Emiralioğlu A., (2004) Endokrin maddeler ve çevresel etkileri. *1. Ulusal Çevre Kongresi*. 13-15 Ekim. Sivas.
6. Elke Fries E., Puttmannb W. (2004) Occurrence of 4-Nonylphenol in rain and snow. *Atmospheric Environment* **38**,2013-2016.
7. Vethaak A.A., Lahr J., Schrap S.M., et al. (2005) An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of the Netherlands. *Chemosphere* **59**,511-524.
8. MacLachlan J. A., Newbold R. R., Nelson K.G., Korach K.S. (1992) *Control of uterine epithelial growth and differentiation. Implications for estrogen-associated neoplasm*. In: Li J.J., Nandi S. (eds) *Hormonal Carcinogenesis* pp.43-50. New York: Springer-Verlag.
9. Nimrod A.C., Benson W. H. (1996) Environmental estrogenic effects of alkylphenol etoxylates. *Crit Rev Toxicol* **26** (3),335-364.
10. Jobling S., Sumpter J.P. (1993) Detergent components in sewage are weakly oestrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicol* **27**,361-372.
11. White R., Jobling S., Hoare S. A., Sumpter J. P., Parker M.G. (1994) Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology* **135** (1),175-182.
12. Jobling S., Sheahan D., Osborne J.A., Matthissen P., Sumpter J.P. (1996) Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ Toxicol Chem* **15**,194-202.
13. Giesy J.P., Pierens S.L., Snyder E.M., et al. (2000) Effects of 4-nonylphenol on fecundity and biomarkers of estrogenicity in fathead minnows (*Pimphales promelas*). *Environ Toxicol Chem* **19** (5),1368-1377.
14. Metcalfe C.D., Metcalfe T.L., Kiparissis Y., et al. (2001) Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ Toxicol Chem* **20** (2),297-308.
15. Tapiero H., Ba G. N., Tew K.D. (2002) Estrogens and environmental estrogens. *Biomed Pharmacother* **56** (1):36-44.
16. Skakkebaek N.E., Meyts E.R.D., Jorgensen N., et al. (1998) Germ cell cancer and disorders of spermatogenesis: an environmental connection?. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica* (APMIS) **106** (1),3-11.
17. Veeramachaneni D.N.R. (2000) Deteriorating trends in male reproduction: idiopathic or environmental? *Anim Reprod Sci* **2**,121-130.

18. Hughes P.J., McLellan H., Lowes D.A., et al. (2000) Estrogenic alkylphenols induce cell death by inhibiting testis endoplasmic reticulum Ca^{2+} pumps. *Biochem Biophys Res Commun* **277**,568-574.
19. Kehrer J.P. (1993) Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* **23**,21-48.
20. Okai Y., Sato E. F., Higashi-Okai K., Inoue M. (2004) Enhancing effect of the endocrine disruptor para-nonylphenol on the generation of reactive oxygen species in human blood neutrophils. *Environmental Health Perspectives* **112**,553-556.
21. Dündar Y., Aslan R. (1999) Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* **9** (1-2), 32-39.
22. Dündar Y., Aslan R. (1999) Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi İnsizyon* **2**(2),134-142.
23. Aslan R., Şekeroğlu M.R., Bayiroğlu F. (1995) Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücresele antioksidan savunma. *Sağlık Bil. Derg* **2**,137-142.
24. Aslan R., Dündar Y. (2000) Kan viskozitesi ve oksidan stres. *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi İnsizyon* **3** (3),135-141.
25. Gutteridge J.M. (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* **41** (12),1819-1828.
26. Hansen S.H. (2001) The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev* **17**,330-346.
27. Niittynen L., Nurminen M.L., Korpela R., et al. (1999) Role of arginine, taurine and homocysteine in cardiovascular diseases. *Ann Med* **31**,318-326.
28. Murakami S., Kondo Y., Tomisawa K., et al. (1999) Prevention of atherosclerotic lesion development in mice by taurine. *Drug Exp Clin Res* **25**,227-234.
29. Park T., Kyungshi L., Youngsook U. (1998) Dietary taurine supplementation reduces plasma and liver cholesterol and triglyceride concentrations in rats fed a highcholesterol diet. *Nutr Res* **18**,1559-1571.
30. Yokogoshi H., Mochizuki H., Nanami K., et al (1999) Dietary taurine enhances cholesterol degradation and reduces serum and liver cholesterol concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *J Nutr* **129**,1705-1712.
31. Petty MA., Kintz J., Di Francesco GF. (1990) The effects of taurine on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Eur J Pharmacol* **180**,119-127.
32. Thomas M. J. (1995) The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working? *Critical Rew Food Sci And Nutrit* **35** (1-2), 21-39.
33. Cheeseman K.H., Slater T.F. (1993) An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* **49**(3),479-481.
34. Halliwell B., Murcia M.A., Chirico S., Aruoma O.I. (1995) Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *Critical Rew Food Sci And Nutrit* **35** (1-2),7-20.
35. Erenel G., Erbaş D., Arıcıoğlu A. (1992) Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* **3**,243-250.
36. Akkuş İ. (1995) *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Mimoza Yayınları, Konya.
37. Pal Yu B. (1994) Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews* **74** (1),139-162.

38. Lehninger A. (1982) Principles of biochemistry. *Worth Publishers Inc.*, New York. **46**-220.
39. Mccord J.M., Keele B.B., Fridowich I. (1981) An enzyme based theory of obligate anaerobiosis: The physiological function of superoxide dismutase. *Proc Nat Acad Sci* **68**,1024-1027.
40. Klebanoff S.J. (1980) Oxygen metabolism and toxic properties of phagocytes. *Ann Int Med* **93**,480-489.
41. Bast A., Haenen G.R.M., Doelman C.J.A., (1991) Oxidants and antioxidants. *State of Art Am J Med* **91** (3),31-38.
42. Sies H. (1991) Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* **91** (3),31-38.
43. Freeman B.A., Crapo J.D. (1982) Biology of disease: free radicals and tissue damage. *Laboratory Investigation* **4** (47),412-426.
44. Halliwell B., Gutteridge J.M., (1990) Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* **186**,1-8.
45. Dündar Y., Aslan R., (1999) Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi İnsizyon* **2** (2),134-142.
46. Deby C., Pincemail J. (1988) Oxygen toxicity, free radicals, and defense mechanism. in rökan ginkgo biloba. In: Fünfgeld E.W.(ed) recent results in pharmacology and clinic. *Springer& Verlag*. **57**-70.
47. Kılınç K. (1985) Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi* **10** (2),60-89.
48. Reilly P.M., Schiller I.I.J., Bulkley G.B., (1991) Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* **161**,488-503.
49. Bulkley G.B. (1994) Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: aberrant triggering of reticulo endothelial function. *Lancet* **344**, 934-936.
50. Fantone J.C., Ward P. A., (1982) Role of oxygen derived free radicals and metabolites leukocytes dependent iflammatory reactions. *Am J Pathol* **107**,397-418.
51. Kozar R.A., MC. Keone B.J., Pownall H.J. (1994) Free radical-induced alterations in endothelial cell function. *J Surg Res* **56**,32-36.
52. Lee C., Kerrigan C.L. (1992) Neutrophil localization following reperfusion of ischemic skin flaps. *Plast Reconstr Surg* **89**,910-915.
53. Punch J., Shaheen K., Cashmer B., et al. (1993) The stress response in skin: the role of neutrophil products in preconditioning. *Plast Reconstr Surg* **92**,110-118.
54. Welbeurn C.R.B., Goldman G., Paterson I.S., et al. (1991) Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: Central Role Of The Neutrophil. *Br J Surg* **78**,651-655.
55. Parks D.A., Granger D.N. (1983) Ischemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. *Am J Physiol* **245**,285-289.
56. Özdemir G. (1993) Reaktif oksijen partikülleri (rop) (oksidan moleküller, serbest radikaller). *Roche Bilimsel Eserler Serisi*.
57. Ambrosio G., Zweier J.L., Jacobus W.E., et al. (1987) Improvement of postischemic myocardial function and metabolism induced by administration of deferoxamine at the time of reflow: the role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. *Circulation* **74**,906-915.
58. Lelli J.L., Pradhan S., Cobb L.M. (1993) Prevention of the postischemic ijury in immature intestine by deferoxamine. *J Surg Res* **54**, 34-38.

59. Powell S.R., Tortolani A.J. (1992) Recent advances in the role of reactive oxygen intermediates in ischemic injury. I. evidence demonstrating presence of reactive oxygen intermediates; II. role of metals in site-specific formation of radicals. *J Surg Res* **53**,417-429.
60. Churc D.F., Pryor W.A. (1985) Free radical chemistry of cigarette and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* **64**,111-117.
61. Aslan R., Şekeroğlu MR., Gültekin F., Bayıroğlu F. (1997) Blood lipo-peroxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals relation to age, sex, habits, life style and environment. *J Environmental Sci And Health A* **32** (8),2101-2109.
62. Halliwell B., Gutteridge J.M. (1984) Lipit peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *The Lancet* **23**,1396-1398.
63. Andrews V.R., Winyard P.G., Morris C.J., Blake D.R. (1993) Free radicals in inflammation. *Br Med Bull* **49** (3),506-522.
64. Valenzuela A. (1990) The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Scien* **48**, 301-309.
65. Byung P.Y. (1994) Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews* **74** (1),139-172.
66. Sinclair A.J., Bamet A.H., Lunec J. (1980) Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Brish Hosp Med* **43**, 32.
67. Clarkson MP. (1995) Antioxidants and physical performance. *Crit Rev Food Sci Nutr* **35**,131-41.
68. Hollan S. (1995) Free radicals in health and disease. *Heamatological* 77-89.
69. Baykal A. (1998) Serbest radikaller. Seminer notları III. 1998-1999 Öğretim Yılı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yay. Kars.
70. Evelson P., Ordonez C.P., Liesuy S., Boveris A. (1997) Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in mouse skin exposed to UVA radiation. *J-Photochem-Photobiol-B* **38** (2-3),215-9.
71. Jialal I., Fuller C.J. (1993) Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol* **16**,16-19.
72. Van-Der-Meulen J.H., McArdle A., Jackson M.J., Faulkner J.A. (1997) Contraction-induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats: the role of vitamin E. *J. Appl Physiol* **83** (3),817-23.
73. Packer L. (1991) Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* **53**,1050-55.
74. Stratton S.P., Liebler D.C. (1997) Determination of singlet oxygen-specific versus radical-mediated lipit peroxidation in photosensitized oxidation of lipit bilayers: effect of beta-carotene and alpha-tocopherol. *Biochemistry* **21**,36(42),12911-20.
75. Karlsson J., Ronneberg R., Semb B. (1997) Vitamins Q and E, extracorporal circulation and hemolysis. *Mol Cell Biochem* **173** (1-2), 33-41.
76. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1995) The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Rad Biol Med* **18**,125-6.
77. Gutteridge J.M.C., Halliwell B. (1988) *The antioxidant problems of extracellular fluids. cellular antioxidant defense mechanisms*. In: Chow C. K., Boca Raton F.I. (eds) Crc Press.
78. Aalt B., Haenen R.M., Doelman J.A. (1991) Oxidants and antioxidants: State of the art. *The American Journal of Medicine*. **91** (3),3-13.
79. Hoekstra G.W. (1975) Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Federation Proc* **34** (11), 2083-89.

80. Packer L. (1991) Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* **53**,1050-5.
81. Vallyathan V., Leonard S., Kuppusamy P., Pack D., Chzhnan M., Sanders SP. (1997) Oxidative stress in silicosis: evidence for the enhanced clearance of free radicals from whole lungs. *Mol Cell Biochem* **168** (1-2),125-32.
82. Marklund S.L., Holme E., Hellner L. (1982) Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chem Acta* **125**,41-51.
83. Maddipati K.R., Marnet L.J. (1987) Characterization of the major hydroperoxide reducing activity of human plasma: purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *J Biol Chem* **262**,17398-403.
84. Gutteridge J.M.C., Peterson S.K., Segal A.W., Halliwell B. (1981) Inhibition of lipid peroxidation by the iron binding protein lactoferrin. *Biochem J* **199**,259-61.
85. Stocks J., Gutteridge J.M.C., Sharp R.J., Dormandly T.L. (1974) The inhibition of lipid autoxidation by human serum and its relationship to serum proteins and alphatochopherol. *Clin Sci Mol Med* **47**,223-33.
86. Aslan R. (1999) Homeostatik mekanizmanın korunması ve sağaltımda antioksidanlar. *İlaç Tedavi Derg* **8** (12),475-481.
87. Bendich A., Machlin L.J., Scandurra O., Burton G.W., Wayner D.M. (1986) The antioxidant role of vitamin C. *Adv. Free Radical Biol Med* **2**, 419-444.
88. Niki E. (1991) Vitamin C as an antioxidant. *World Rev Nutr Diet* **64**, 3-30.
89. Niki E., Kawakami A., Yamamoto Y., Kamiya Y. (1985) Oxidation of lipids. VIII. Synergistic inhibition of oxidation of vitamin E and vitamin C. *Bull Chem Soc Japan* **58**,1971-78.
90. Tanaka K., Hashimoto T., Tokumaru S., Iguchi H., Kojo S. (1997) Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. *J Nutr* **127** (10),2060-4.
91. Clemens M.R., Waller H.D. (1987) Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids* **45**,251-268.
92. Collis C.S., Yang M., Diplock A.T., Hallinan T., Rice CA. (1997) Effects of co-supplementation of iron with ascorbic acid on antioxidant-prooxidant balance in the guinea pig. *Free Radic. Res* **27** (1),113-21.
93. Oostenbrug G.S., Mensink R., Hardeman M.R., De-Vries T., Brouns F. (1997) Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E. *J Appl Physiol* **83** (3), 746-52.
94. Stahl W., Sies H., (1997) Antioxidant defense: vitamins E, C and carotenoids. *Diabetes* **46** (2),14-8.
95. Levine M. (1997) New concepts in biology and biochemistry of ascorbic acid. *New Engl J Med* **314**,892-901
96. Levine M., Morita K. (1987) Ascorbic acid in endocrine systems. *Vitamins and Hormones* **42**,2-63.
97. Tolbert B.M. (1985) Metabolism and function of ascorbic acids and metabolites. *Int J Vitam Nutr Res* **27**,122-138.
98. Halliwell B. (1989) Free radicals, reactive oxygen species, and human disease: A critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol* **70**, 737-757.
99. Mecoci P., Beal M.F., Polidori M.C., Cherubini A., Chiosne F. (1997) Mitochondrial membrane fluidity and oxidative damage to mitochondrial DNA in aged human brain. *Mol Chem Neuropathol* **31** (1),53-64.

100. Aslan S., Şekeroğlu M. R., Aslan R., Bayıroğlu F. (1996) Pentoklorofenolün tavşanlarda bazı antioksidan enzimler ile laktik asit dehidrogenaz ve kreatin kinaz düzeylerine etkisi. *Yü Vet Fak Derg* **7** (1-2),99-101.
101. Şekeroğlu M. R., Aslan R., Tarakçıoğlu M., Algün E., Kara M. (1997) Sigara kullananlarda lipit peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. *Tüber Toraks Der* **45** (2),105-108.
102. Chow K. C. (1982) Dietary vitamin E and cellular susceptibility to cigarette smoking. *Ann N Y Acad Sci* **393**,426-31.
103. Augustin W., Wiswedel I., Noac H., Reinheckel T., Reichel O. (1997) Role of endogenous and exogenous antioxidants in the defence against functional damage and lipit peroxidation in rat liver mitochondria. *Mol Cell Biochem* **174** (1-2),199-205.
104. Steiner M. (1993) Vitamin E: more than antioxidant. *Clin Cardiol* **16**, 16-18.
105. Thiele J., Traber M.G., Tsang K., Cross C.E., Packer L. (1997) In vivo exposure to ozone depletes vitamins C and E and induces lipit peroxidation in epidermal layers of murine skin. *Free Radic Biol Med* **23** (3),385-91.
106. Dündar Y., Aslan R. (2000) Antioxidative stress. *Eastern Journal Of Medicine* **1**(2).
107. Herbert V. (1993) Viewpoint does mega-C do more good than harm, or more harm than good? *Nutrition Today* **28**,126-33.
108. Atmaca G. (2003) Sarımsağın ve tiol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* **20**, 1-3.
109. Kim Y.G., Kim S.K., Kwon J.W., Park O.J., Kim S.G., Kim Y.C. (2003) Effects of cysteine on amino acid concentrations and transsulfuration enzyme activities in rat liver with protein-calorie malnutrition. *Life Sci* **72**,1171-81.
110. Varela-Moreiras G. (2001) Nutritional regulation of homo-cysteine:effects of drugs. *Biomed Pharmacother* **5** (5),448-53.
111. Puka-Sundvall M., Sandberg M., Hagberg H. (1998) Brain injury after neonatal hypoxia-ischemia in rats: a role of cysteine? *Brain Res* **797**,328-32.
112. Alvarez B., Ferrer-Sueta G., Freeman BA., Radi R. (1999) Kinetics of peroxynitrite reaction with amino acids and serum albumin. *J Biol Chem* **274**, 842-8.
113. Parcell S. (2002) Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev* **7**,22-44.
114. Fang Y.Z., Yang S., Wu G. (2002) Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* **18**,872-9.
115. Navari-Izzo F., Quartacci M.F., Sgherri C. (2002) Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *Plant Physiol Biochem* **40**,463-70.
116. Marangon K., Devaraj S., Tirosh O., Packer L., Jialal I. (1999) Comparison of the effect of alpha-lipoic acid and alpha-tocopherol supplementation on measures of oxidative stress. *Free Radic Biol Med* **27**,1114-21.
117. Buettner GR. (1993) The pecking order of free radicals and antioxidants: lipit peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch Biochem Biophys* **300**,535-43.
118. Garcia-Estrada J., Gonzalez-Perez O., Gonzalez-Castaneda R.E., Martinez-Contreras A., Luquin S., dela Mora P.G. (2003) An alpha-lipoic acid-vitamin E mixture reduces post-embolism lipit peroxidation, cerebral infarction, and neurological deficit in rats. *Neurosci Res* **47**,219-24.
119. Bustamante J., Lodge J.K., Marcocci L., Tritschler H.J., Packer L., Rihn BH. (1998) Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Med* **24**,1023-39.

120. Fuchs J., Zimmer G., (1986) ³¹P-NMR spectroscopic investigations and mitochondrial studies on the cardio protective efficiency of 2-mercaptopropionylglycine. *Biochem Pharmacol* **35**,4381-5.
121. Failli P., Palmieri L., D'Alfonso C., Giovannelli L., Generini S., Rosso AD., (2002) Effect of n-acetyl-l-cysteine on peroxynitrite and superoxide anion production of lung alveolar macrophages in systemic scler-osis. *Nitric Oxide* **7**,277-82.
122. Han D., Sen C.K., Roy S., Kobayashi M.S., Tritschler H.J., Packer L. (1997) Protection against glutamate-induced cytotoxicity in C6 glial cells by thiol antioxidants. *Am J Physiol* **273**,1771-8.
123. Abdo E.E., Cunha J.E., Deluca P., Coelho A.M., Bacchella T., Machado MC. (2003) Protective effect of N2-mercapto-propionylglycine on rats and dogs liver during ischemia/reperfusion process. *Arq Gastroenterol* **40**,177-80.
124. Tanonaka K., Iwai T., Motegi K., Takeo S. (2003) Effects of N-(2-mercaptopropionyl)-glycine on mitochondrial function in ischemic-reperfused heart. *Cardiovasc Res* **57**,416-25.
125. Ayene I.S., Al-Mehdi A.B., Fisher A.B. (1993) Inhibition of lung tissue oxidation during ischemia/reperfusion by 2-mercaptopropionylglycine. *Arch Biochem Biophys* **303**,307-12.
126. Lourenco R., Camilo M.E. (2002) Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr Hosp* **17**,262-70.
127. Aerts L., Van Assche F.A. (2002) Taurine and taurine-deficiency in the perinatal period. *J Perinat Med* **30**,281-6.
128. Neal R., Cooper K., Kellogg G., Gurer H., Ercal N. (1999) Effects of some sulfur-containing antioxidants on lead-exposed lenses. *Free Radic Biol Med* **26**,239-43.
129. Kendler BS. (1989) Taurine: An overview of its role in preventive medicine. *Prevent Medicine* **18**,79.
130. Moyer M.S., Goodrich A.L., Rolfers M., Suchy F.J. (1988) Ontogenesis of intestinal taurine transport; evidence for a β -carrier in developing rat jejunum. *American Physiological Society* **254** (17),870-877.
131. O' Flaherty L., Stapleton P.P., Redmond H.P. (1997) Bouchier-Hayes DJ. Intestinal taurine transport. *European Journal Of Clinical Investigation* **27**,873-880.
132. Eppler B., Dawson R. (1998) *The effects of aging on taurine content and biosynthesis in different strains of rats*. In: Lombardini J.B., Schaffer S., Huxtable R.J.Jr. (Eds). *Taurine* 3. Plenum, New York.55-61.
133. Jacobsen JG., Smith LH., (1968) Biochemistry and physiology of taurine derivatives. *Physiol. Rev* **48**, 424.
134. Huxtable R.J., Sebring L.A. (1986) Towards a unifying theory for the actions of taurine. *TIPS* **198**,481-485.
135. Sturman J.A., Hepner G.H., Hofmann A.F., Thomas P.J. (1975) Metabolism of S³⁵ taurine in man. *J Nutr* **105**,1206-1214.
136. Chesney R.W. (1985) Taurine: Its biological role and clinical implications. *Adv Pediatr* **32**,1.
137. Hayes K.C. (1976) A review on the biological function of taurine. *Nutr Rew* **34**,161-165.
138. Barnes S., Galan G.L., Billing B.H. (1977) The role of tubular reabsorption in the renal excretion of bile acids. *Biochem J* **166**,65.
139. Chesney R.W., Lippincott S., Gusowski N., Padilla M., Zelikovic I. (1986) Studies on renal adaptation to altered dietary ammino acid intake: tissue taurine responses in nursing and adult rats. *J Nutr* **116**, 1965.

140. Friedman A.L., Albright P.W., Gusowski N., Padilla M., Chesney R. (1983) Renal adaptation to alteration in dietary amino acid intake. *Am J Physiol* **245**,232.
141. Sturman JA. (1988) Taurine in development *J.Nutr* **118**,1169.
142. Mattucci-Schiavone L., Ferko A.P. (1985) Acute effects of taurine and a taurine antagonist on ethanol-induced central nervous system depression. *European J Pharmacol* **113**,375.
143. Tokunaga H., Yoneda Y., Kuriyama K. (1979) Protective actions of taurine against streptozotocin induced hyperglycemia. *Biochem Pharmacol* **28**,2807.
144. Nakagawa K., Kuriyama K. (1975) Effect of taurine on alteration in adrenal functions induced by stres. *Japan J Pharmacol* **25**,737.
145. Corte L.D., Crichton R.R., Duburs G., et al. (2002) The use of taurine analogues to investigate taurine functions and their potential therapeutic applications. *Amino Acids* **23**,367-379.
146. Hansen S.H. (2001)The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev* **17**, 330-346.
147. Niittynen L., Nurminen M.L., Korpela R., Vapaatalo H. (1999) Role of arginine, taurine and homocysteine in cardiovascular diseases. *Ann Med* **31**,318-326.
148. Hayes K.C. (1985) Taurine requiremets in primates. *Nutr Rev* **43**,65.
149. Worden J.A., Stipanuk M.A., (1985) A comparision by species in liver and brain of animals. *Comp Biochem Physiol (b)* **82**,233.
150. Shin H.K., Linkswiller H.M. (1974) Tryptophan and methionine metabolism of adult females as affected by vit. B6 defficiency. *J Nutr* **105**,1206.
151. Gaull G.E., Rassin D.K., (1979) *Taurine and brain development: human and animal correlates* In: Meisami E., Braziers M.A.B. (eds) *Developmental Neurobiology*, New York, Raven Pres, 461-77.
152. Wright C.E., Talan H.H., Lin, Y.Y. (1986) Taurine: biological update. *Annu Rev Biochem* **55**,427-53.
153. Angelini E., Teixeira M., Aran J.M., Ferrary E. (1998) Taurine entery into perilymph of the guinea pig. *Eur Arch Otorhinolaryngol* **255** (7),331-3.
154. Balkan J., Doğru-Abbasoğlu S., Kanbağlı Ö., Çevikbaş U., Aykaç-Toker G., Uysal M. (2001) Taurine has a protective effect against thioacetamide-induced liver cirrhosis by decreasing oxidative stres. *Human&Experimental Toxicology* **20**,251-254.
155. Oz E., Erbas D., Gelir E., Arıcıoğlu A. (1999) Taurine and calcium interaction in protection of myocardium exposed to ischemic reperfusion injury. *Gen Pharmacol* **33** (2),137-41.
156. Russell W., Chesney R.A., Helms C.M., Andrea M., Budreau H.X., John A., Sturman (1977) The role of taurine in infant nutrition. *Plenum Press* New York 1688-1744.
157. Takihara K., Azum J., Awata N., et al. (1985) Taurine's possible protective role in age-dependent response to calcium paradox. *Life Sciences* **37**,1705.
158. Yamamoto J., Akabene S., Yoshimi H., Nakai M. (1985) Effects of taurine on stress-evoked hemodynamic and plasma catecholamine changes in spontaneously hypertansive rats. *Hypertension* **7**,913.
159. Kramer J.H., Chovan J.P., Schaffer S.W. (1981) Effect of taurine on calcium paradox and ischemic heart failure. *Am J Physiol* **240**,238.
160. Dorvil N.P., Yousef I.M., Tuchweber B., Roy C. (1983) Taurine prevents cholestasis induced acid sulfate in guinea pigs. *The American Journal of Clinical Nutrition* **37**,221.

161. Pasantes-Morales H., Wright C.E., Gaull G.E. (1985) Taurine protection of lymphoblastoid cells from iron ascorbate induced damage. *Biochem Pharmacol* **34**, 2205.
162. Kulakowski E.C., Maturo J. (1984) Hypoglycemic properties of taurine not mediated by enhanced insulin release. *Biochem Pharmacol* **33**, 2835.
163. Maturo J., Kulakowski E.C. (1987) Insulin like activity of taurine. *Advance in Med and Biol* **42**, 217.
164. Lampson W.G., Kramer J.H., Schaffer S.W. (1983) Potentiation of the actions of insulin by taurine. *Can J Physiol Pharmacol* **61**, 457.
165. Franconi F., Bennardini F., Mattana A. et al., (1995) Plasma and platelet taurine are reduced in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus: effects of taurine supplementation. *American Journal Clin Nutr* **61** (5), 1115-9.
166. Barnard J.A., Thaxter S., Kikuchi K., Ghistan F.K. (1988) Taurine transport by rat intestine. *American Physiological Society* **254** (17), 334-338.
167. Trachtman H., Del Pizzo R., Sturman J.A., Huxtable R.J., Finberg L. (1988). Taurine and osmoregulation. *AJDC* **142**, 1194-1198.
168. Gupta K., Mathur, R.L. (1983) Distribution of taurine in the crystalline lens of vertebrate species and in cataractogenesis. *Exp Eyer Res* **37**, 379-384.
169. Sturmman JA. (1993) Taurine in development. *Physiolog Rev* **73**, 119-147.
170. Trachtman H., Barbour R., Sturman J.A., Finberg L. (1988) Taurine and osmoregulation: taurine is a cerebral osmoprotective molecule in chronic hypernatremic dehydration. *Pediatr Res* **23**, 35-39.
171. Trachtman H., Futterweit S., Pizzo R. (1992) Taurine and osmoregulation. IV. cerebral taurine transport is increased in rats with hypernatremic dehydration. *Pediatr Res* **32**, 118-124.
172. Trayhurn P., Van Heyningen R. (1973) Metabolism of aminoacids in the bovine lens. Their oxidation as a source of energy. *Biochem J* **136** (1), 67-75.
173. Yokoyama T., Lin L., Chakrapani B., Reddy V.N. (1993) Hypertonic stress increases $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase, taurine and myoinositol in human lens and retinal pigment epithelial cultures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **34**, 2512-2517.
174. Parcell S. (2002) Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev* **7**, 22-44.
175. Lourenco R., Camilo M.E. (2002) Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr Hosp* **17**, 262-70.
176. Neal R., Cooper K., Kellogg G., Gurer H., Ercal N. (1999) Effects of some sulfur-containing antioxidants on lead-exposed lenses. *Free Radic Biol Med* **26**, 239-43.
177. Cunningham C., Tipton K.F., Dixon H.B. (1998) Conversion of taurine into N-chlorotaurine (taurine chloramine) and sulphoacetaldehyde in response to oxidative stress. *Biochem J* **330**, 939-45.
178. Chen H.J, Wu S.B, Chang C.M. (2003) Biological and dietary antioxidants protect against DNA nitration induced by reaction of hypochlorous acid with nitrite. *Arch Biochem Biophys* **415**, 109-16.
179. Trujillo M., Radi R. (2002) Peroxynitrite reaction with the reduced and the oxidized forms of lipoic acid: new insights into the reaction of peroxynitrite with thiols. *Arch Biochem Biophys* **397**, 91-8.
180. Nakamori K., Koyama I., Nakamura T., Yoshida T., Umeda M., Inoue K. (1990) Effectiveness of taurine in protecting biomembrane against oxidant. *Chem Pharm Bull* **38**, 3116-3119.

181. Nakamura T., Ogasawara M., Koyama I., Nemoto N., Yoshida T. (1993) The protective effect of taurine on the biomembrane against damage produced by oxygen radicals. *Biol Pharm Bull* **16**,970-972.
182. Pokhrel P.K., Lau-Cam C.A., (2000) Protection by taurine and structurally related sulfur containing compounds against erythrocyte membrane damage by hydrogen peroxide. *Adv Exp Med Biol* **483**,411-429.
183. Balkan J., Öztercan S., Aykaç-Toker G., Uysal M. (2002) Effects of added dietary taurine on erythrocyte lipids and oxidative stress in rabbits fed a high cholesterol diet. *Biosci Biotechnol Biochem.* **66**,2701-2705.
184. Hwang D.F., Hour J.L., Cheng H.M. (2000) Effect of taurine on toxicity of oxidated fish oil in rats. *Food Chem Toxicol* **38**,585-591.
185. Hwang D.F., Wang L.C., Cheng H.M. (1998) Effect of taurine on toxicity of copper in rats. *Food Chem Toxicol* **36**,239-244.
186. Hwang D.F., Wang L.C. (2001) Effect of taurine on toxicity of cadmium in rats. *Food Chem Toxicol* **167**,173-180.
187. Balkan J., Kanbağlı Ö., Hatipoğlu A., ve ark. (2002) Improving effect of dietary taurine supplementation on the oxidative stress and lipid levels in the plasma, liver and aorta of rabbits fed on a high-cholesterol diet. *Biosci Biotechnol Biochem* **66**,1755-1758.
188. Murakami S., Kondo Y., Tomisawa K., Nagate T. (1999) Prevention of atherosclerotic lesion development in mice by taurine. *Drug Exp Clin Res* **25**,227-234.
189. Park T., Kyungshi L., Youngsook U. (1998) Dietary taurine supplementation reduces plasma and liver cholesterol and triglyceride concentrations in rats fed a high cholesterol and triglyceride concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *Nutr Res* **18**,1559-1571.
190. Yokogoshi H., Mochizuki H., Nanami K., Hida Y., Miyachi F., Oda H. (1999) Dietary taurine enhances cholesterol degradation and reduces serum and liver cholesterol concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *J Nutr* **129**,1705-1712.
191. Alvarez J.G., Storey B.T. (1983) Taurine, hypotaurine, epinefrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biol Reprod* **29**,548-555.
192. Timbrell J.A., Seabra V., Waterfield C.J. (1995) The in vivo and in vitro protective properties of taurine. *Gen Pharmacol* **26**,453-462.
193. Balkan J., Kanbağlı Ö., Aytaç-Toker G., Uysal M. (2002) Taurine treatment reduces hepatic lipids and oxidative stress in chronically ethanol treated rats. *Biol Pharm Bull* **25**,1231-1233.
194. Kerai M.D.J., Waterfield C.J., Kenyon S., Asker D.S., Timbrell J.A. (1988) Taurine: protective properties against ethanol-induced hepatic steatosis and lipid peroxidation during chronic ethanol consumption in rats. *Amino Acids* **15**,53-76.
195. Doğru-Abbasoğlu S., Kanbağlı Ö., Balkan J., Çevikbaş U., Aykaç-Toker G., Uysal M. (2001) The protective effect of taurine against thioacetamide hepatotoxicity of rats. *Human Exp Toxicol* **20**,23-27.
196. Dinçer S., Özenirler S., Öz E., Akyol G., Özoğul C. (2002) The protective effect of taurine pretreatment on carbon tetrachloride-induced hepatic damage. A light and electron microscopic study. *Amino Acids* **22**,417-426.
197. Waters E., Wang J.H., Redmond H.P., Wu Q., Kay E., Hayes D.B. (2001) Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat. *J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **280**,1272-1279.
198. Chen Y., Li S., Zhang X. (1999) Taurine inhibits deposition of extracellular matrix in experimental liver fibrosis in rats. *Zhonghua Gan ZangBing Za Zhi* **7**,165-167.

199. Kim S.K., Kim Y.C. (2002) Attenuation of bacterial lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity by betaine or taurine in rats. *Food Chem Toxicol* **40**,545-549.
200. Warskulat U., Zhang F., Haussinger D. (1997) Taurine is an osmolyte in rat liver macrophages (Kupffer cells). *J Hepatol* **26**,1340-1347.
201. Redmond H.P., Wang J.H., Hayes D.B. (1996) Taurine attenuates nitric oxide-and reactive oxygen intermediate-dependent hepatocyte injury. *Arch Surg* **131**,1280-1288.
202. Schuller-Levis G., Quinn M.R., Wright C., Park E. (1994) Taurine protects against oxidant-induced lung injury: Possible mechanism(s) of action *Adv Exp Med Biol* **359**,31-39.
203. Aruoma O.I., Halliwell B., Hoey B.M., Butler J. (1988) The antioxidant action of taurine, hypotaurine and their metabolic precursors. *Biochem J* **256**, 251-255.
204. Park E., Quinn M.R., Wright C.E., Schuller Levis G. (1993) Taurine chloramine inhibits the synthesis of nitric oxide and the release of tumor necrosis factor in activated raw 264.7 cells. *J Leukoc Biol* **54** (2),119-124.
205. Özmeriç N., Haytaç CM., Özcan G., Alaadinoğlu E., Sargon Mİ., Çelik H. (2000) Periodantitisden etkilenmiş insan kök sement yüzeylerine antioksidan bir ajanın uygulanması-tarayıcı elektron mikroskopik bir çalışma. *Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* **27** (3),347-352.
206. Çetiner M., Şener G., Şehirli Ö., ve ark., (2004) Sıçanlarda Metatreksata Bağlı Oluşan Doku Hasarında Taurinin Koruyucu Rolü. *Turkish Journal Of Haematology* volume **21** Number 3.
207. Laborda R., Diaz-Mayans J., Nunez A. (1986) Nephrotoxic and hepatotoxic effects of chromium compounds in rats. *Bull Environ Contam Toxicol* **36**,332-336.
208. Rungby J., Ernst E. (1992) Experimentally induced lipid peroxidation after exposure to chromium, mercury or silver: Interactions with carbon tetrachloride. *Pharmacol Toxicol* **70**,205-207.
209. Huang Y.L., Chen C.Y., Sheu J.Y., et al. (1999) Lipid peroxidation in workers exposed to hexavalent chromium. *J Toxicol Environ Health Part A* **56**,235-247.
210. Shi X., Dalal N.S. (1992) The role of superoxide radical in chromium (VI)-generated hydroxyl radical: The cr (VI) haber-weiss cycle. *Arch Biochem Biophys* **292** (1),323-327.
211. Liu K.J., Shi X. (2001) In vivo reduction of chromium (VI) and its related free radical generation. *Mol Cell Biochem* **222**,41-47.
212. Aiyar J., Borges K.M., Floyd R.A., Wetterhahn K.E. (1989) Role of chromium (V), glutathione thyl radical and hydroxyl radical intermediates in chromium (VI)-induced DNA damage. *Toxicol Environ Chem* **22**,135-148.
213. Coudray C., Faure P., Rachidi S. et al. (1992) Hydroxyl radical formation and lipid peroxidation enhancement by chromium. In vitro study. *Biol Trace Elem Res* **32**,161-170.
214. Liebross R.H., Wetterhahn K.E. (1992) In vivo formation of chromium (V) in chick embryo liver and red blood cells. *Carcinogenesis* **13** (11), 2113-2120.
215. Kadiiska M.B., Xiang Q.H., Mason R.P. (1994) In vivo free radical generation by chromium (VI): An electron spin resonance spin-trapping investigation. *Chem Res Toxicol* **7** (6),800-805.
216. Chiu A., Chiu N., Shi X.L., et al. (1998) Activation of procarcinogen by reduction: $\text{Cr}^{+6} > \text{Cr}^{+5} > \text{Cr}^{+4} > \text{Cr}^{+3}$ a case study by electron spin resonance (ESR/PMR) *Environ Carcinogenesis Ecotoxicol Rev-Part C* **16** (2),135-148.
217. Hojo Y., Nishiguchi K., Kawazoe S., et al. (1999) Comparison of susceptibility of liver and kidney to lipid peroxidation induction by Cr (IV), Cr (V) and Cr (VI) compound. *J Health Sci* **45** (6),329-332.

218. Hojo Y., Nishiguchi K., Kawazoe S., et al. (2000) Enhancement of lipid peroxidation by chromium (IV) and chromium (V) is remarkable compared to that by chromium (VI) and is effectively suppressed by scavengers of reactive oxygen species. *J Health Sci* **46** (2),75-80.
219. Hojo Y., Okado A., Kawazoe S., et al. (2000) Direct evidence for in vivo hydroxyl radical generation in blood of mice after acute chromium (VI) intake. Electron spin resonance spin-trapping investigation. *Biol Trace Elem Res* **76**,75-84.
220. Bagchi D., Vuchetich P.J., Bagchi M., et al. (1997) Induction of oxidative stress by chronic administration of sodium dichromate (chromium VI) and cadmium chloride (cadmium II) to rats. *Free Radic Biol Med* **22** (3),471-478.
221. Boşgelmez İ., Güvendik G., Söylemezoğlu T. (2004) Hekzavalan kromun fare beyin dokusunda indüklediği oksidatif stres üzerinde taurinin koruyucu ve antidotal etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* **5**,63-67.
222. Ferguson S.A., Scallet A.C., Flynn K.M., Meredith J.M., Schwetz B.A. (2000). Developmental neurotoxicity of endocrine disrupters: Focus on Estrogens. *Neurotoxicology* **21** (6),947-956.
223. Daughton C.G., Ternes T.A. (1999) Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives* **107** (6), 907-938.
224. Roefer P., Synder S., Zegers R.E., Rexing D.J., Fronk J.L. (2000) Endocrine-disrupting chemicals in a source water. *Journal of AWWA* **92** (8),52-58.
225. U.S. environmental protection agency (USEPA) (1998) Endocrine disrupter screening and testing advisory committee. (EDSTAC) Final Report.
226. U.S. environmental protection agency (USEPA) (2001) National risk management research laboratory: Endocrine disrupting chemicals, www.epa.gov, Washington, D.C.
227. U.S. environmental protection agency (USEPA) (2001) Welcome to the global endocrine disruptor research inventory. www.epa.gov, Washington, D.C.
228. Center for bioenvironmental research (CBR) (2001) Environmental estrogens and other hormones, www.som.tulane.edu/ecme, Tulane and Xavier University, New Orleans.
229. National research council (NRC) (2000) Hormonally active agents in the environment, National Academy Press, Washington, D.C.
230. Roy D., Palangat M., Chen C., et al., (1997) Biochemical and molecular changes at the cellular level in response to exposure to environmental estrogen-like chemicals. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **50**,1-29.
231. Daughton C.G. (2003) Pharmaceuticals and personal care products as ubiquitous from personal use and activities *Office of Research and Development Environmental Chemistry Branch USEPA*.
232. Raloff J. (1998) Drugged waters: Does it matter that pharmaceuticals are turning up in water supplies? *Science News*, 153,187.
233. Buxton H. (2000) Pharmaceuticals, hormones, and other wastewater related compounds in U.S. streams, endocrine disruptors and pharmaceutical active compounds in drinking water. *Workshop*, ABD.
234. Heberer T. (2002) Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data. *Toxicology Letters* **131**, 5-17.
235. Kolphin D.W. et al., (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: *A National Reconnaissance, Environmental Science and Technology*, **36** (6), 1202-1211

236. Daughton C.G., Jones-Lepp T.L., (2002) Pharmaceuticals and personal care products in the environment. *Scientific and Regulatory Issues, US. Environmental Protection Agency*.
237. Department of the environment, (1993) "Uses, fate and entry to the environment of NP ethoxylates"; Final report.
238. Thibaut R., Debreuwer L., Rao D., Cravedi JP. (1999) Urinary metabolites of 4 nonylphenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Sci Tot Environ* **233**,193-200.
239. Kloas W., Lutz I., Einspainer R. (1999) Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. estrogenic activity of environmentally chemicals in vitro and in vivo. The science of the total environment. **225**,59-68.
240. Colborn T., Clement C. (1992) Chemically-induced alterations in sexual and functional development. *The Wildlife/Human Connection*. Princeton Scientific Publishing Co Princeton p:113.
241. Renner R. (1997) European bans on surfactant trigger transatlantic debate. *Environ Sci Tech* **31**,316-320.
242. Ahel M., Giger W., Koch M. (1994) Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment. 1. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Res* **28**,1131-1142.
243. Ahel M., Giger W., Schaffner C., (1994) Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactant in the aquatic environment. 2. Occurrence and transformation in rivers *Water Res* **28**,1143-1152.
244. Talmage S.S. (1994) Environmental and human safety of major surfactants: alcohol ethoxylates and alkylphenol ethoxylates. *The Soap and Detergent Association*. Lewis Publishers Boca Raton Ann Arbor London, Tokyo.
245. Junk G.A., Svec H.J., Vick R.D., Avery M.J. (1974) Contamination of water by synthetic polymer tubes. *Environ Sci Technol* **8**,1100-1106.
246. Mann M.R., Body M.R. (2000) Biodegradation of a nonylphenol ethoxylate by the autochthonous microflora in lake water with observations on the influence of light. *Chemosphere* **41**(9),1361-1369.
247. Pedersen S.N., Christiansen K.L., Pedersen B., Korsgaard B. (1999) In vivo estrogenic activity of branched and linear alkylphenols in rainbow trout (*onchorhynchus mykiss*). *The Science Of The Total Environment*. **233**,89-96.
248. Miles-Richardson S.R., Pierens S.L., Nichols K.M., et al. (1999) Effects of waterborne exposure to 4 nonylphenol and nonylphenol ethoxylate on secondary sex characteristics and gonads of fathead minnows (*Pimephales Promoles*). *Environmental Research Section A*. **80**,122-137.
249. Hao C., Croley T.C., March R.E., Koenig B.G., Metcalfe C.D. (2000) Mass spectrometric study of persistent acid metabolites of nonylphenol ethoxylate surfactants. *J Mass Spectrum* **35**,818-830.
250. Bennie D.T. (1999) Environmental occurrence of AP's and APE's. *Water Quality Research Journal of Canada*. **34** (1),79-122.
251. Clark LB., Rosen RT., Hartman TG., et al. (1992) Determination of alkylphenol ethoxylates and their acetic acid derivatives in drinking water by practical beam liquid chromatography/mass spectrometry. *J Environ Anal Chem* **47**,167-180.
252. Blackburn M.A., Waldock M.J. (1995) Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales *Water Res no.7* (29),1623-1629.
253. Ahel M., Giger W., Koch M. (1994) Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Wat Res* **28** (5),1131-1142.

254. O'Halloran S.L., Liber K., Gangl J.A., Knuth M.L. (1999) Effects of repeated exposure ton on the zooplankton community in littoral enclosures. *Environ Toxic Chem* **18**,386-393.
255. Hale R.C., Smith C.L., De Fur P.O., et al. (2000) NP's in sedimans and effluents associated with diverse wastewater outfalls. *Environ Toxicol Chem* **19**,946-952.
256. Uguz C., Togan I., Eroglu Y., Tabak I., Zengin M., Iscan M. (2003) Alkylphenol concentrations in two rivers of Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **14**,87-88.
257. Coldham N.G., Sivapathasundaram S., Dave M., et al. (1998) Biotransformation, tissue distribution and persistence of 4-nonylphenol residues in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Drug Metab Dispos* **26**,347-354.
258. Uğuz C. (2001) Alkylphenols in two rivers of Turkey and assessment of nonylphenol bioaccumulation leading to histological and biochemical changes in the liver of rainbow trout. *ODTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*.
259. Çakmak G. (2001) Spectroscopic analysis of the livers in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) exposed to nonylphenol. *ODTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*.
260. Herrero-Martinez J.M., Marti-Fernandez M., Simo-Alfonso E., Ramis-Ramos G. (2001) Determination of alkylphenol ethoxylates by micellar electrokinetic chromatography with bile salts. *Electrophoresis* **22**,526-534.
261. Gilbert J., Shepherd M.J., Statin J.R., Wallwork M.A. (1982) Identification by gas chromatography-mass spectrophotmetry of vinyl chloride oligomers and other low-molecular-weight components in poly (vinyl chloride) resins for food packing applications. *J Chromatogr* **237**,249-261.
262. Soto A.M., Justicia H., Wray J.W., Sonnenschein, C. (1991) P-nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environ Health Perspect* **92**,167-173.
263. Bernabei M., Bocchinfuso G., Carrozzo P., De Angelis C. (2000) Determination of phenolic antioxidants in aviation. *J Chromat* **871**,235-241.
264. Groves M.J., Mustafa R.M., Carless J.E. (1972) Some properties of a water soluble phosphated nonylphenol ethoxylate. *J Pharm Pharmacol* **24**,104-110.
265. Miyamoto J., Klein W. (1998) Natural and anthropogenic environmental estrogens: The scientific basis for risk assesment. *Pure & Appl Chem* **70**(9),1829-1845.
266. Tyler C.R., Jobling S., Sumpter J.P. (1998) Endocrine disruption in wildlife: A critical review of the evidence. *Crit Rev Toxicol* **28**, 319-361.
267. Marcomini A., Pojana G., Sfriso A., Quiroga A., J-M. (2000) Behavior of anionic surfactants and their persistent metabolites in the Venice Lagoon, Italy. *Environ Toxicol Chem* **19**,2000-2007.
268. Ahel M., Scully F.E., Hoigne J., Giger W. (1994) Photochemical degradation of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates in natural waters. *Chemosphere* **28**,1361-1368.
269. Warhurst A.M. (1995) An environmental assessment of alkylphenol ethoxylates and alkylphenols. *Ph D Friends Earth* 1-15.
270. Daston G.P., Gooch J.W., Breslin W.J., et al. (1997) Environmental estrogens and reproductive health: a discussion of the human, environmental data. *Reprod Toxicol Rev* **11**,465-481.
271. Ahel M., Giger W. (1993) Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates. *Chemosphere* **26**,1471-1478.
272. Lewis SK., Lech J.J. (1996) Uptake, disposition, and persistence of nonylphenol from water in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Xenobiotica* **26**,813-819.

273. Blackburn M.A., Kirby S.J., Waldock M.J. (1999) Concentrations of alkylphenol polyethoxylates entering UK estuaries. *Mar Pollut Bull* **38**,109-118.
274. Aruckwe A., Forlin L., Gosqyr A. (1997) Xenobiotic and steroid biotransformation enzymes in Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) liver treated with an estrogenic compound, 4 nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16** (12),2576-2583.
275. Christensen L.J., Korsgaard B., Bjerregaard P. (1999) The effect of p nonylphenol on the synthesis of vitellogenin in the flounder *platichthys flesus*. *Aquatic Toxicology* **46**,211-219.
276. Pederson RT., Hill EM. (2000) Identification of novel metabolites of the xenoestrogen 4 tert-octylphenol in primary rat hepatocytes. *Chem. Biol Interact* **128**,189-209.
277. Arukwe A., Goksoyr A., Thibaut R., Cravedi J.P. (2000) Metabolism and organ distribution of nonylphenol in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Marine Environ Res* **50** (1-5),141-145.
278. Ferreria-Leach A.M.R., Hill E.M. (2001) Bioconcentration and distribution of 4 tert-octylphenol residues in tissues of the rainbow trout (*Onchoryncus mykiss*). *Mar Environ Res* **51** (1),75-89.
279. Legler J. (1999) Development of a stably transfected estrogen receptor mediated luciferase reporter gene assaying the human T47D breast cancer cell line. *Toxicol Sci* **48**,55-56.
280. Oganessian A., Hendricks J. D., Pereira C. B., Orner G. A., Bailey G. S., Williams D. E. (1999) Potency of dietary indole-3-carbinol as a promoter of aflatoxin B1-initiated hepatocarcinogenesis: Results from a 9000 animal tumor study. *Carcinogenesis* **20**,453-458.
281. Argese E., Marcomini A., Miana P., Bettiol C., Perin G., (1994) Submitochondrial particle response to linear alkylbenzen sulfonates, nonylphenol polyethoxylates and their biodegradation derivatives. *Environ Toxicol Chem* **13**,737-742.
282. Michelangeli F., Orłowski S., Champeil P., East J. M., Lee A. G. (1990) Mechanism of inhibition of the $(Ca^{+2}-Mg^{+2})$ -ATPase by nonylphenol. *Biochemistry* **29**,3091-3101.
283. Bragadin M., Perin G., Iero A., Manente S., Rizzoli V., Scutari G., (1999) An in vitro study on the toxic effects of nonylphenols in mitochondria. *Chemosphere* **38** (9),1997-2001.
284. Burkhardt-Holm P., Wahli T., Meier W. (2000) Nonylphenol affects the granulation pattern of epidermal mucous cells in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ecotoxicol Environ* **46**, 34-40.
285. Schwaiger J., Spieser OH., Bauer C., et al. (2000) Chronic toxicity on nonylphenol and ethinylestradiol: Haematological and histopathological effects in juvenile common carp (*cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology* **51**,69-78.
286. Christensen L.J., Korsgaard B., Bjerregaard P. (1999) The effect of p-nonylphenol on the synthesis of vitellogenin in the flounder *Platichthys flesus*. *Aquatic Toxicology* **46**,211-219.
287. Raychouldhury S.S., Blake C.A., Milette C.F. (1999) Toxic effects of octylphenol on cultured rat spermatogenic cells and sertoli cells. *Toxic App Pharmac* **157**,192-202.
288. Chvapil M., Eskelson C.D., Stiffel V., Owen J.A., Droegmuller W., (1980) Studies of nonoxynol 9 II. Intravaginal absorption, distribution, metabolism and excretion in rats and rabbits. *Contraception* **22**,325-331.
289. Buttar H.S., Swierenga S.H.H., Matula T.L. (1986) Evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of the spermicides nonoxynol-9 and octoxynol-9. *Toxicol Lett* **31**,65-73.
290. Arukwe A., Thibaut I.K., Celius T., Goksoyr A., Cravedi J.P. (1999) In vivo and in vitro metabolism and organ distribution of nonylphenol in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Toxicol* **49**,289-304.
291. Sheahan D., Harries J. (1992) Effects of trace organic in fish a joint study between the directorate of fisheries research of the ministry of agriculture, fisheries and food. *Brunel University and the Water Reassert Center*.

292. Sharpe R.M., Skakkebaek N.E. (1993) Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract. *Lancet* **341**,1392-1395.
293. Wolf M.S., Toniolo P., Lee E.W., Rivera M., Dubin N. (1993) Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* **85**,648-52.
294. Christiansen T., Korsgaard B., Jerpersen A. (1998) Effects of nonylphenol and 17 β -estradiol on vitellogenin synthesis, testicular structure and cytology in male eel pot *Zoarces viviparus*. *J Exp Biol* **201**,179-182.
295. Ashfield L.A., Pottinger T.G., Sumpter J.P. (1998) Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomatic index *Environ Toxicol Chem* **17**,679-686.
296. Shreck C.B. (1974) Hormonal treatment and sex manipulation in fishes; Control of sex in fishes. *Virginia Polytechnic Institute and State University Sea Grant Extension Division*, Blacksburg, Virginia. 84-106.
297. Hunter G.A., Donaldson E.M. (1983) Hormonal sex control and its application to fish culture. *In Fish Physiology Academic press New York*. **9B**,223-303
298. Bloom A., Ekman E., Johannisson A., Norrgren L., Pesonen M. (1998) Effects of xenoestrogenic environmental pollutants on the proliferation of a human breast cancer cell line. *Arch Environ Contam Toxicol* **34** (3),306-310.
299. Legler J., Van den Brink C.E., Brouwer A., et al. (1999) Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase receptor gene assaying the human T47D breast cancer cell line. *Toxicol Sci* **48** (1),55-56.
300. Soto A.M., Lin T., Justica H., Silvia R.M., Sonnenschein C. (1992) *An in culture bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (E-screen) in chemically/induced alterations in sexual and functional development: The Wildlife/Human Connection*, In: Colburn T., Clement C., (eds), Princeton Scientific Publishing, Princeton, NJ.295.
301. Malins D.C., Gunselman S.J. (1994) Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Gas Chromatography-mass spectrometry reveal a remarkable degree of structural damage in the DNA of wild fish exposed to toxic chemicals. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**,13038-13041.
302. Henderson B.E., Ross R.R., Pike M. (1993) Hormonal chemo prevention of cancer in women. *Science* **259**,633-638.
303. Safe S., Connor K., Gaido K. (1998) Methods for xenoestrogen testing. *Toxicol Lett* **102-103**.
304. Colborn T., Vom Saal F.S., Soto A.M. (1993) Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* **101**,378-384.
305. Davis D.L., Bradlow H.L., Wolf M., Woodruff T., Hoel D.G. Anton Culver H. (1993) Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ Health Perspect* **101**,372-377.
306. Safe S.H. (1995) Environmental and dietary estrogens in human health:is there a problem?. *Environ Health Perspect* **103**,346-351.
307. Gilliland F.D., Key C.R. (1995) Male genital cancers. *Cancer* **75** (1),295-315.
308. Draper H.H., Hadley M. (1990) Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* **186**,421-30.
309. Beuter E. (1975) Glutathione in: red cell metabolism a manual of biochemical methods. (Second Edition) *Grune and Stratton*, Newyork..112-114.
310. Flohe L., Otting, F. (1984) Superoxide Dismutase Assays. *Methods Enzymol* **105**, 93-104.

311. Marklund S.L. (1990) Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. *Methods Enzymol* **186** (25), 260-265.
312. İnan Ü.Ü., Serteser M., Ermiş S.S., Demir S., Öztürk F., (2005) Diabetes mellituslu hastalarda serum leptin, VEGF, NO ve ET- 1 düzeyleri ile retinopati derecesi ve tedavisi şekli arasındaki ilişki. *AKÜ BAP 01.TIP.05 No'lu Araştırma Projesi Kesin Raporu. Afyonkarahisar.*
313. Miranda K.M., Espey M.G., Wink, A.D., (2001) A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* **5** (1),62-71.
314. Bülbül A. (2003) Mastitisli inek sütlerinde nitrik oksit düzeyi ile somatik hücre sayısı arasındaki ilişki. *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.Doktora Tezi Ankara.*
315. Özdamar K.(ed) (2003) *SPSS ile Biyoistatistik. 5.Baskı* Kaan Kitap Evi, Eskişehir. s:120.
316. Kitis M., Yiğit N.Ö., Civelekoğlu G., Kaplan Ş.Ş. (eds) (2004) Doğal sularda ve içme suyu kaynaklarında canlılarda endokrin-üreme sistemini bozabilecek kimyasallar. *I. Ulusal Çevre Kongresi, Cumhuriyet Üniv., Müh. Fakültesi, Çevre Müh., Ekim 13-15, Sivas*
317. Avcı G., Uğuz C., Küçükkurt İ., Özdemir M., Erdoğan M., Lenger Ö.F. (eds) (2003) Nonilfenole maruz bırakılan bıldırcınlarda malondialdehit, antioksidan kapasite, β karoten, vitamin A ve C düzeyleri. *II. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 9-11 Eylül, Elazığ. Kongre Özet Kitabı s:86.*
318. Chiatra K.C., Latchoumycandane C., Mathur P.P. (2002) Effect of nonylphenol on the antioxidant system in epididymal sperm of rats. *Arch Toxicol* **6** (9),45-551.
319. Uğuz C., Erdoğan M., Sevimli A., ve ark. (2004) Nonilfenolün bıldırcınlarda histopatolojik ve moleküler düzeydeki etkileri. *18. Ulusal Biyokimya Kongresi. Turk J. Biochem* **29** (1),159.
320. Erman F. (2003) Betain ve taurin uygulamalarının endotoksin ve alkole bağlı karaciğer hasarı ve oksidatif stres üzerine etkileri. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Tezi.*
321. Karafakıoğlu Y.S., Fidan A.F., Cigerci İ.H., Dündar Y., Aslan R. (2007) Nonilfenolün rat böbrek ve testis dokusunda indüklediği oksidatif stres üzerine taurinin koruyucu etkisi. *Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* (Baskıda).
322. Çakmak G., Uguz C., Togan I., Severcan F. (eds) (2001) Nonilfenole maruz bırakılmış gökkuşağı alabalığı karaciğerinin spektroskopik analizi. *13. Ulusal Biyofizik Kongresi Bildiri Kitabı, sayfa 9, Eskişehir, Turkey.*
323. Cox C. (1996) Nonyl phenol and related chemicals. *Journal of Pesticide Reform* **16**,15-20.
324. Meister A., Anderson M.E. (1983) Glutathione. *Ann Rev Biochem* **52**,711-760.
325. Meister A. (1994) Glutathione, ascorbate and cellular protection. *Cancer Res Suppl* **954**,1969-1975.
326. Deneke S.M., Fanburg B.L. (1989) Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol* **257**,163-173.
327. Meister A. (1983) Selective modification of glutathione metabolism. *Science* **220**,472-477.
328. Ambrosio G., Santoro G., Tritto I. et al. (1992) Effects of ischemia and reperfusion on cardiac tolerance to oxidative stress. *Am J Physiol* **262**, 23-30.
329. Mutoh H., Hiraishi H., Ota S., et al. (1990) Protective role of intracellular glutathione against ethanol-induced damage in cultured rat gastric mucosal cells. *Gastroenterology* **98**,1452-1459.
330. Cochrane C.G. (1991) Cellular injury by oxidants. *Am J Med* **91**,23-29.

331. Scherer N.M., Deamer D.W. (1986) Oxidative stress impairs the function of the sarcoplasmic reticulum by oxidation of sulphhydryl groups in the Ca^{++} -ATPase. *Arch Biochem Biophys* **246**,589-601.
332. Konyalıoğlu S. (2001) In vitro glukoz kataraktı oluşturulmuş tavşan lenslerindeki glutatyon ve lipid peroksidasyon düzeylerine taurinin etkisi. *Ege Tıp Dergisi* **40** (1), 1-4.
333. Refik Mas M., Comert B., Oncu K., ve ark. (2004) The effect of taurine treatment on oxidative stress in experimental liver fibrosis. *Hepatol Res* **28** (4),207-215.
334. Kılınç K., Kılınç A. (2002) Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* **33** (2),110-118.
335. Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S., Byrns R.E., Chaudhuri G. (1987) Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci* **84**, 9265-9.
336. Anggard E. (1994) Nitric oxide: mediatör, murderer and medicine. *Lancet* **343**,1199-206.
337. Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. (1994) Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Int Med* **120**,227-37.
338. Johnson G., Tsao PS., Mulloy P., Lefer AM. (1990) Cardioprotective effects of acidified sodium nitrite in myocardial ischemia with reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* **252**,35-41.
339. De Belder A. (1995) Cardiomyopathy: a role for NO. *Int J Cardiol* **50**, 263-268.
340. Gartwaite J. (1993) Nitric oxide signalling in the nervous system. *Neurosciences* **5**, 171-180.
341. Wei EP., Moskowitz MA., Bacalini P., Kontos, H.A. (1992) Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside induced vazodilation in feline cerebral arterioles. *Circ Res* **70**,1313-1390.
342. Hagar H.H., El Eter E., Arafa M. (2006) Taurine attenuates hypertension and renal dysfunction induced by cyclosporine A in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **33** (3),189-196.
343. Hagar H.H. (2004) The protective effect of taurine against cyclosporine-A. induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Toxicol Lett* **151**, 335-43.
344. El-Abhar H.S., El-Gaward H.M. (2003) Modulation of cortical nitric oxide synthase, glutamate, and redox state by nifedipine and taurine in PTZ-kindled mice. *Epilepsia* **44** (3),276-81.
345. Karayannis M.I., Piperaki E.A., Maniadaki M.M. (1968) Kinetic determination of nitrite based on the Gries reaction and stopped flow technique. *Anal Lett* **19** (1&2),13-23.
346. Davidson W., Woof C. (1978) Comparison of different forms of cadmium as reducing agents for the batch determination of nitrate. *Analyst* **1003**,403-406.
347. Greenberg S.S., Xie J., Spitzer J.J., et al. (1995) Nitro containing L-arginine analogs interfere with assays for nitrate and nitrite. *Life Sci* **57**,1949-1961.
348. Nithipatikam K., Pratt P.F., Campbell W.B. (1996) Nitro-L-arginine interferes with the cadmium reduction of nitrate/Gries reaction method of measuring nitric oxide production. *Eur Clin Chem Clin Biochem* **34**,133-137.