

T.C  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

2,3,7,8-TCDD (TETRAKLORODİBENZO-*P*-DİOKSİN)'NİN  
RATLARDA OLUŞTURDUĞU OKSİDATİF STRES ÜZERİNE  
QUERCETİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

OĞUZ ÇAKIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA

2011

Tezin Başlığı: **2,3,7,8-TCDD (tetraklorodibenzo-*p*-dioksin)'nin ratlarda oluşturduğu oksidatif stres üzerine quercetin'in koruyucu etkisinin araştırılması**

Tezi Hazırlayan: Oğuz ÇAKIR

Sınav Tarihi: 11.07.2011

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmet YILMAZ

Yrd. Doç. Dr. İlknur ÖZDEMİR (Danışman)

Doç. Dr. Burhan ATEŐ

Prof. Dr. Asım KÜNKÜL

Enstitü Müdür

## ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “2,3,7,8-TCDD (tetraklorodibenzo-*p*-dioksin)’nin ratlarda oluşturduğu oksidatif stres üzerine quercetin’in koruyucu etkisinin araştırılması” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dūřecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Oğuz ÇAKIR

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### 2,3,7,8-TCDD (TETRAKLORODİBENZO-*P*-DİOKSİN)'NİN RATLARDA OLUŞTURDUĞU OKSİDATİF STRES ÜZERİNE QUERCETİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Oğuz ÇAKIR

İnönü Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

xiv + 63 sayfa

2011

Danışman: Yrd. Doç. Dr. İlknur ÖZDEMİR

İlerleyen teknoloji ve yeni üretim teknikleri biyokimyasal kirlenmeyi de beraberinde getirmiştir. Birçok toksik maddenin çevre ve canlı organizmalar üzerine etkileri tespit edilmekle birlikte, bu maddeler içerisinde dioksin ve dioksin benzeri maddeler en çok karşılaşılan ve yüksek toksisiteye sahip olanlar arasındadır. Bu çalışmada, farklı dozlarda subkronik TCDD uygulamalarının ratlarda oksidan-antioksidan sistemler üzerine etkileri ve bu etkiler üzerine quercetin'in koruyucu rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada 250-350 g ağırlığında toplam 28 adet Wistar Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Deney süresi 8 hafta olarak belirlendi. Çalışma periyodu boyunca grup 1 kontrol grubu olarak belirlendi ve

0,5 mL mısır yağı gavajla uygulandı. Grup 2'ye 2 µg/kg dozunda 2,3,7,8-TCDD (tetraklorodibenzo-*p*-dioksin), Grup 3'e 20 mg /kg Quercetin ve Grup 4'e Quercetin + TCDD uygulandı. Sekiz hafta sonunda ratlar sakrifiye edilerek biyokimyasal analizler için kalp ve damar dokuları alındı.

Kalp dokusu SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri ve GSH düzeylerinin Grup 2'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi. Bu enzim aktivitelerinin Grup 3'de istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı belirlenirken, GSH düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişme olmadığı gözlemlendi. SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri ve GSH düzeylerinin Grup 4'de Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi.

Damar dokusu SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri ve GSH düzeylerinin Grup 2'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı; SOD ve GSH-Px aktivitelerinin Grup 3'de ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı belirlendi. CAT aktivitesi ve GSH düzeyinde ise bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değişimler gözlenmedi. GSH-Px aktivitesinin Grup 4'de Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmasına karşın SOD ve CAT enzim aktivitelerinde ve GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişme olmadığı belirlendi.

Kalp ve damar dokularında MDA düzeylerinin Grup 2'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. Grup 3'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişimler gözlenmedi. MDA düzeylerinde Grup 4'de Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmalar olduğu belirlendi.

Sonuç olarak; quercetin, kalp-damar sisteminde TCDD'nin neden olduğu lipid peroksidasyonu azalttığı, antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı ortaya konulmuştur. Quercetin bu yararlı etkileri göz önüne alındığında, TCDD ve diğer çevresel kirlenmelerin neden olduğu veya olacağı toksisite tedavisi amaçlı kullanılabilir.

**ANAHTAR KELİMELER:** TCDD, quercetin, oksidatif stres, kalp-damar sistemi, lipid peroksidasyonu, antioksidan enzimler.

## **ABSTRACT**

MSc Thesis

### THE INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECT OF QUERCETIN ON OXIDATIVE STRESS INDUCED IN RATS OF 2,3,7,8-TCDD (TETRACHLORODIBENZO-P-DIOXIN)

Oğuz ÇAKIR

İnönü University

Graduate School of Natural and Applied Science

Chemistry Department

xiv + 63 pages

2011

Supervisor: Assist.Prof. Dr. İlknur ÖZDEMİR

Advancing technology and new production techniques have brought biochemical pollution with them. Although the effects of many toxic substances have been found on the environment and living organisms, dioxin and dioxin-like substances are among the most commonly encountered and have the highest toxicity. The aim of this study was to investigate the effects of sub-chronic TCDD applications at different dosages on oxidant-antioxidant systems in rats, and the protective role of quercetin in this respect.

A total of 28 male Wistar Albino rats weighing between 250-350 g were used in the present study. Rats were divided into four groups each of which including seven rats. The experiment period was planned as 8 weeks. During the study period, Group 1 was the control group and 0.5 mL of corn oil was applied with gavage. Group 2 was

applied 2 mg / kg 2,3,7,8-TCDD (tetrachlo-p-dioxin), Group 3 was applied 20 mg/kg of quercetin and Group 4 was applied quercetin + TCDD. At the end of the eighth week, the rats were sacrificed and their heart and vascular tissues were taken for biochemical analysis.

It was observed that hearth tissue SOD, CAT and GSH-Px activities and GSH levels have significantly reduced in Group 2 compared to control group. Although the increase in these enzyme activities is statistically significant in Group 3, no significant change has been observed in their GSH levels. It was observed that the increase in SOD, CAT and GSH-Px levels in Group 4 is statistically significant than Group 2.

It was observed that the decrease in vascular tissues SOD, CAT and GSH-Px activities and GSH levels in Group 2 was statistically significant; the increase in SOD and GSH-Px activities in Group 3 was statistically significant. But in terms of CAT activities and GSH levels no statistically significant change was observed between these two groups. While the increase in GSH-Px activities in Group 4 was statistically significant than Group 2, no significant change has been observed between these groups.

It was determined that the increase in MDA levels in hearth and vascular tissues in Group 2 was statistically significant than control group. But no statistically significant change was observed in Group 3 than control group. It was determined that the decrease in MDA levels in Group 4 was statistically significant than Group 2.

In conclusion, the results of the study in cardiovascular system showed that quercetin decreased TCDD-induced lipid peroxidation, and supported antioxidant activity. Therefore, it can be suggested that quercetin has the potential for the treatment against the toxicity caused by TCDD and/or other environmental contaminants.

**KEYWORDS:** TCDD, quercetin, oxidative stress, cardiovascular system, lipid peroxidation, antioxidant enzymes.

## TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın tez konusu olarak seilmesinde, planlanmasında ve yurütulmesinde bana yön veren, her konuda destek ve ilgisini esirgemeyen, bilgi ve hoşgörüsünden yararlandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. İlknur ÖZDEMİR'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca devamlı olarak bilgilerinden yararlandığım ve özellikle laboratuvar çalışmalarında deneyim kazanmamda değerli bilgilerini benden esirgemeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Osman ÇİFTÇİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelene kadar hayatımın her aşamasında çok büyük emekleri olan, sürekli olarak destek vererek beni teşvik eden değerli aileme teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bu çalıőmayı gerçekleőtirmemde 2010/23 nolu ve "2,3,7,8-TCDD (tetraklorodibenzo-*p*-dioksin)'nin ratlarda oluőturdugu oksidatif stres üzerine quercetinin koruyucu etkisinin araştırılması" başlıklı proje ile finansal destek sunan, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ VE KURAMSAL TEMELLER.....	1
1.1 Dioksin ve Benzeri Bileşikler.....	1
1.1.1. Toksik Eşdeğer Faktörler ve Toksik Eşdeğerlikler.....	2
1.1.2. Dioksin Kaynakları ve Oluşumu.....	4
1.1.3. Dioksin Etki Mekanizması.....	4
1.1.4. Dioksin Toksikokinetikleri.....	6
1.1.4.1. Dioksin Emilim ve Dağılımı.....	6
1.1.4.2. Dioksin Metabolizma ve Atılımı.....	7
1.1.5. Dioksin Zehirlilikleri.....	8
1.1.5.1. TCDD'nin Akut Toksisitesi.....	8
1.1.5.2. TCDD'nin Subkronik ve Kronik Toksisitesi.....	9
1.1.6. Tolere Edilebilir Doz.....	9
1.1.7. Toksitite Durumunda Tedavi.....	9
1.1.8. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	10
1.1.8.1. Serbest Radikallerin Makromoleküller Üzerine Etkisi.....	12
1.1.8.2. Başlıca Reaktif Oksijen Radikalleri.....	14
1.1.8.3. TCDD'nin Oksidatif strese etkisi.....	15
1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	16
1.2.1. Flavonoidler.....	18
1.2.1.1. Quercetin.....	18
1.2.1.1.1. Quercetin Gıdalar ile Alımı ve Emilimi.....	19

1.2.1.1.2.	Quercetin'in Antioksidan Etkileri.....	20
1.3.	Çalışmanın Amacı.....	23
2.	GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	24
2.1.	Gereç.....	24
2.1.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	24
2.1.2.	Kullanılan Cihazlar.....	25
2.1.3.	Deney Hayvanları.....	26
2.1.3.1.	Deney Grupları.....	26
1.1.4.	Örneklerin Alınması ve Hazırlanması.....	26
1.1.4.1.	Homojenatların Hazırlanması.....	26
2.2.	Yöntemler.....	27
2.2.1.	Protein Miktarının Tayini.....	27
2.2.2.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü.....	28
2.2.3.	Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü.....	29
2.2.4.	Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivite Ölçümü.....	30
2.2.5.	Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü.....	32
2.2.6.	Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü.....	33
2.2.7.	İstatistiksel Analizler.....	34
3.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	35
3.1.	Biyokimyasal Parametreler.....	35
3.1.1.	Dokulardaki SOD Aktiviteleri.....	35
3.1.1.1.	Kalp Dokusu SOD Aktivitesi.....	35
3.1.1.2.	Damar Dokusu SOD Aktivitesi.....	36
3.1.2.	Dokulardaki CAT Aktiviteleri.....	37
3.1.2.1.	Kalp Dokusu CAT Aktivitesi.....	37
3.1.2.2.	Damar Dokusu CAT Aktivitesi.....	38
3.1.3.	Dokulardaki GSH-Px Aktiviteleri.....	39
3.1.3.1.	Kalp Dokusu GSH-Px Aktivitesi.....	39
3.1.3.2.	Damar Dokusu GSH-Px Aktivitesi.....	40
3.1.4.	Dokulardaki GSH Düzeyleri.....	41
3.1.4.1.	Kalp Dokusu GSH Düzeyleri.....	41
3.1.4.2.	Damar Dokusu GSH Düzeyleri.....	42
3.1.5.	Dokulardaki MDA Düzeyleri.....	43
3.1.5.1.	Kalp Dokusu MDA Düzeyleri.....	43

3.1.5.2.	Damar Dokusu MDA Düzeyleri.....	44
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ .....	45
5.	KAYNAKLAR.....	52
	ÖZGEÇMİŞ	

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Dioksinli bileşiklerin genel yapısı.....	1
Şekil 1.2.	2,3,7,8-Tetraklorodibenzo- <i>p</i> -dioksin'in kimyasal yapısı.....	2
Şekil 1.3.	Hücrede dioksinlerin etkisinin sematik bir modeli.....	6
Şekil 1.4.	ROT oluşumu ve antioksidan savunma mekanizması.....	12
Şekil 1.5.	Lipid peroksidasyonu kimyasal yolu.....	13
Şekil 1.6.	Quercetin'in kimyasal yapısı.....	19
Şekil 3.1.	Kalp dokusu SOD aktiviteleri.....	35
Şekil 3.2.	Damar dokusu SOD aktiviteleri.....	36
Şekil 3.3.	Kalp dokusu CAT aktiviteleri.....	37
Şekil 3.4.	Damar dokusu CAT aktiviteleri.....	38
Şekil 3.5.	Kalp dokusu GSH-Px aktiviteleri.....	39
Şekil 3.6.	Damar dokusu GSH-Px aktiviteleri.....	40
Şekil 3.7.	Kalp dokusu GSH düzeyleri.....	41
Şekil 3.8.	Damar dokusu GSH düzeyleri.....	42
Şekil 3.9.	Kalp dokusu MDA düzeyleri.....	43
Şekil 3.10.	Damar dokusu MDA düzeyleri.....	44

## TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1.	Dioksinlerin DSÖ'ye göre TEF değerleri.....	3
------------	---	---

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Oksijen ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türler.....	11
--	----

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AhR	: Aril hidrokarbon Reseptörü
ARNT	: Aril Nükleer Translokatorü
ACII	: Angiotensin Converting Enzim II
AHRE	: Dioksin Cevap Elementi
BSA	: Bovine Serum Albumin
<sup>0</sup> C	: Santigrat Derece
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DRE	: Dioksin Cevap Elementi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	: 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit]
EDTA	: Etilendiamintetra Asetik Asit
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutasyon
GST	: Glutasyon-S-transferaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
iNOS	: İndükleyebilen Nitrik-oksit Sentaz
L <sup>·</sup>	: Lipid Radikali
LDL	: Düşük yoğunluklu Lipoprotein
LOO <sup>·</sup>	: Lipid Peroksil Radikali
LOOH	: Lipid Hidroperoksit
MDA	: Malondialdehid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
NO	: Nitrik Oksit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Süperoksit Anyon Radikali
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	: Singlet Oksijen
OH <sup>·</sup>	: Hidroksil Radikali
8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin
<i>p</i> -	: Para

PCB	: Poliklorlu Bifenil
PCDD	: Poliklorludibenzo Dioksin
PCDF	: Poliklorludibenzo Furan
PCDD/F	: Poliklorludibenzo- <i>p</i> -dioksin/furan
PKC	: Protein Kinaz C
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBARs	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Sübstansları
TCA	: Triklorasetik Asit
TCDD	: 2,3,7,8-Tetraklorodibenzo- <i>p</i> -dioksin
TEF	: Toksik Eşdeğerlik Faktörü
TEQ	: Toksik Eşdeğerlik Konsantrasyon
TNF- $\alpha$	: Tümör Nekroz Faktörü



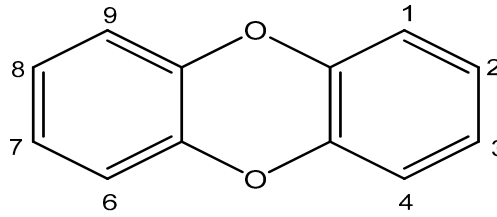
# 1. GİRİŞ VE KURAMSAL TEMELLER

## 1.1. Dioksin ve Benzeri Bileşikler

Benzer kimyasal yapıya ve canlılar üzerinde benzer etkilere sahip olduklarından bu bileşikler dioksinli veya dioksin ve benzeri bileşikler olarak isimlendirilirler. Poliklorodibenzo-*para*-dioksinler (PCDD), poliklorodibenzo furanlar (PCDF) ve poliklorlu bifeniller (PCB) suda çok az çözündüklerinden metabolik ve çevresel yıkımlara dayanıklı ve doğada kararlı durumda bulunan yüksek derecede zehirli, geniş yayılım alanına sahip çevresel kirleticilerdir [1]. 75 PCDD, 135 PCDF ve 209 PCB günümüze kadar tanımlanmıştır. Bu bileşikler toprak, su, hava ve canlıların özellikle yağ dokularında birikim gösterirler [2].

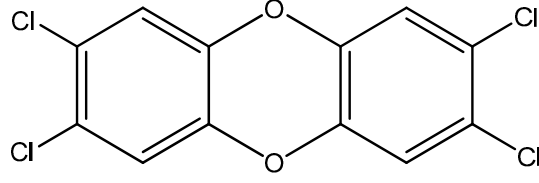
Endüstrinin gelişmesiyle beraber çevreye yayılan dioksin miktarlarındaki artışa bağlı olarak insan sağlığı açısından neden oldukları kardiyovasküler hastalıklar, hormon ve üreme sistemi fonksiyon bozuklukları, kanser, immun sistem bozuklukları ve kloroakne gibi birçok toksik etkilerde de artış olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle dioksinli bileşiklerin kaynakları, etki mekanizmaları, toksikokinetik özellikleri, günlük alım miktarları ve oluşturduğu sağlık risklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir [3].

Dioksin bileşikleri, yapılarında hidrojen, karbon, oksijen atomları bulunduran ve yapılarındaki karbon atomlarının klorlanmasıyla şekillenen, sıvı haldeyken renksiz ve kristalize görünümlü kimyasallardır [4]. Dioksinli bileşiklerin genel yapısı Şekil 1.1.'de verilmiştir.



Şekil 1.1. Dioksinli bileşiklerin genel yapısı [2].

Bu bileşiklerin toksik etkileri, klor gruplarının molekülde bağlandıkları karbon atomlarına göre değişiklik gösterir. Örneğin 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD bileşiğinin Toksik Eşdeğer Faktör (TEF) değeri 0.01 iken 1,2,3,4,7,8-HxCDD'nin TEF değeri 0.1 olup bu bileşik 1,2,3,4,5,7,8-HpCDD bileşiğinden 100 kat daha zehirlidir [5]. Bu bileşikler içinde en zehirli olanı 2,3,7,8-TCDD olup renksiz, kokusuz ve sıvı haldeyken kristalize görünümlü bir bileşiktir [2]. 2,3,7,8-TCDD'nin kimyasal yapısı Şekil 1.2.'de sunulmuştur.



Şekil 1.2. 2,3,7,8-TCDD (Tetraklorodibenzo-*p*-dioksin)'in kimyasal yapısı [2].

PCB'ler kimyasal olarak PCDD/F'lere çok benzediğinden “dioksin benzeri” bileşikler olarak adlandırılmaktadırlar ve tek klorlu üyelerden tamamen klorlanmış 9 klorlu üyelerine kadar 209 üye içermektedir [6]. PCB'lerinde biyolojik ve toksik etkileri PCDD/F'ler gibi hem klor sayılarına hem de aromatik çekirdek etrafındaki klor pozisyonlarına bağlı olarak değişebilmektedir [7].

### 1.1.1. Toksik eşdeğer faktörleri ve toksik eşdeğerlikler

Toksik Eşdeğerlik Faktörleri (TEF); Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından dioksin ve benzeri bileşiklerin zehirliliklerini belirlemek amacıyla, bu bileşiklerden 2,3,7,8-TCDD temel alınarak her bir dioksin bileşiğine verilen ortalama zehirlilik faktörü olarak tanımlanmaktadır. TEF değeri; bileşiğe uzun-kısa süreli maruz kalma durumu, *in vivo* ve *in vitro* biyokimyasal reaksiyonlar göz önünde bulundurularak belirlenmektedir [8].

Çevre ortamında PCDD, PCDF ve PCB ler kompleks karışımlar olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durum dioksinler için çevre ve insan sağlığı risklerinin değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle toksik eşdeğer faktör konjenerlerin kompleks bir karışımının toplam zehirliliğinin tek bir sayısal değer veya “Toksik Eşdeğer Konsantrasyon (TEQ)” aracılığıyla gösterilmesine izin vermesidir. Her bir konjenerin TEQ katkısı, o konjenerin TEF değeri ile her bir bileşiğin miktarının çarpılmasıyla hesaplanmaktadır. Bu yaklaşım bu karışımlara maruziyetin düzenli kontrolü ve risk değerlendirmesini kolaylaştırmaktadır [6,9].

Dioksin ve benzeri bileşikler içinde 2,3,7,8-TCDD en zehirli bileşik olup; bu bakımdan, TEF faktörü toksisite sıralamasında 1,0 değerine sahiptir. Diğer bileşiklere ise 2,3,7,8-TCDD'nin TEF değeri baz alınarak daha düşük TEF değerleri verilmiştir. Dolayısıyla, herhangi bir PCDD/F karışımının 2,3,7,8-TCDD'ye göre zehirliliği, karışımda bulunan 2,3,7,8- konumlu konjenerlerin konsantrasyonlarının bu bileşiklere ait TEF değeriyle çarpılması yoluyla bulunabilmektedir. Elde edilen sonuçlar Toksik

Eşdeğerlik Konsantrasyon (TEQ) olarak adlandırılır. Karışımın toplam TEQ değeri ise tekil TEQ'lerin toplanması ile elde edilmektedir. Uluslararası kabulde dioksin ve benzeri bileşiklerin zehirli dozları ağırlık (g, mg, ng, pg)/TEQ olarak ifade edilmektedir [6,9].

Periyodik olarak bu TEF değerleri yeni toksikolojik verilere bağlı olarak tekrar düzenlenmektedir. DSÖ tarafından PCDD/F'ler için 1998'de kabul edilen TEF değerleri Tablo 1.1.'de verilmiştir [9].

**Tablo 1.1.** Dioksinlerin DSÖ'ye göre TEF degerleri [9].

Grup	Üye	TEF Değeri
PCDD	2,3,7,8-TCDD	1
	1,2,3,7,8-PeCDD	1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01
	OCDD	0,001
	PCDF	2,3,7,8-TCDF
1,2,3,7,8-PeCDF		0,05
2,3,4,7,8-PeCDF		0,5
1,2,3,4,7,8-HxCDF		0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF		0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF		0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF		0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF		0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF		0,01
OCDF		0,0001
PCB	3,4,4',5'-TCB	0,0001
	3,3',4,4'-TCB	0,0001
	3,3',4,4',5'-PeCB	0,1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	0,01
	2,3,3',4,4'-PeCB	0,0001
	2,3,4,4',5'-PeCB	0,0005
	2,3',4,4',5'-PeCB	0,0001
	2',3,4,4',5'-PeCB	0,0001
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0,0005
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	0,0001
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	0,00001
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	0,0001

### 1.1.2. Dioksin kaynakları ve oluşumu

Dioksinli bileşikler, laboratuvarlardaki kimyasal analizlerde kullanılmak üzere üretilmeleri haricinde hiçbir zaman kullanım amaçlı olarak sentezlenmemiştir. Tabiatta bulunan dioksinli bileşikler kimyasal olaylara ve yüksek ısıya bağlı olarak oluşurlar. Doğada çeşitli amaçlarla kullanılan kimyasal maddelerin bir yan ürünü olarak dioksin şekillenmesi kimyasal süreç olarak tanımlanır. Genellikle klorlu yapıya sahip kimyasal maddelerin ve organik bileşiklerin alkali ortamda 150-250 °C sıcaklıklarda reaksiyonları sonucu dioksinli bileşikler açığa çıkar [10]. Zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan 2,4,5 –triklorofenolden elde edilen hexaklorofen ve pentaklorofenin kullanımı sırasında çok miktarda dioksin türevinin açığa çıktığı bildirilmektedir [11].

Dioksinler yüksek derecede sıcaklığa (250-450 °C) bağlı olarak, bazı doğa olayları ve endüstriyel işlemler sırasında da açığa çıkması termal süreç olarak tanımlanır [10]. Bu süreçte dioksin oluşumuna neden olan kaynaklar arasında çeşitli atıkların yakılması, bazı metallerin eritilmesi, volkanik patlamalar, orman yangınları, fosil yakıtların kullanımı, asfalt üretimi, kâğıt ve PVC endüstrisi sayılabilir [8,12].

Kimyasal ve termal süreçler sırasında açığa çıkan dioksinli bileşikler su, toprak, hayvansal dokular ve bitkilerde birikirler. Bu bileşiklerin yağda çözünürlük oranları fazla olduğundan özellikle organik maddeler, toprak ve bitkilerde daha yoğun olarak birirmektedir [13]. Doğada bulunan dioksinli bileşikler özellikle bitkiler yolu ile hayvanlar tarafından alınır ve hayvanların yağ dokularında birikerek kararlı durumda bulunurlar. İnsanlar, dioksin bileşiklerini hayvansal ve bitkisel gıdalar yoluyla alarak dioksine maruz kalırlar. İnsanlardaki dioksin zehirlenmelerinin % 90'ının besin zinciri yoluyla olduğu bildirilmektedir [5].

### 1.1.3. Dioksinin etki mekanizması

Dioksin ve benzeri bileşiklerin toksik ve biyokimyasal etkilerinin tamamı olmasa da bir çoğunu, onları yüksek ilgiyle bağlayan aril hidrokarbon reseptörleri (AhR) olarak bilinen spesifik reseptör ailesi vasıtasıyla gerçekleştirdiği bilinmektedir [14].

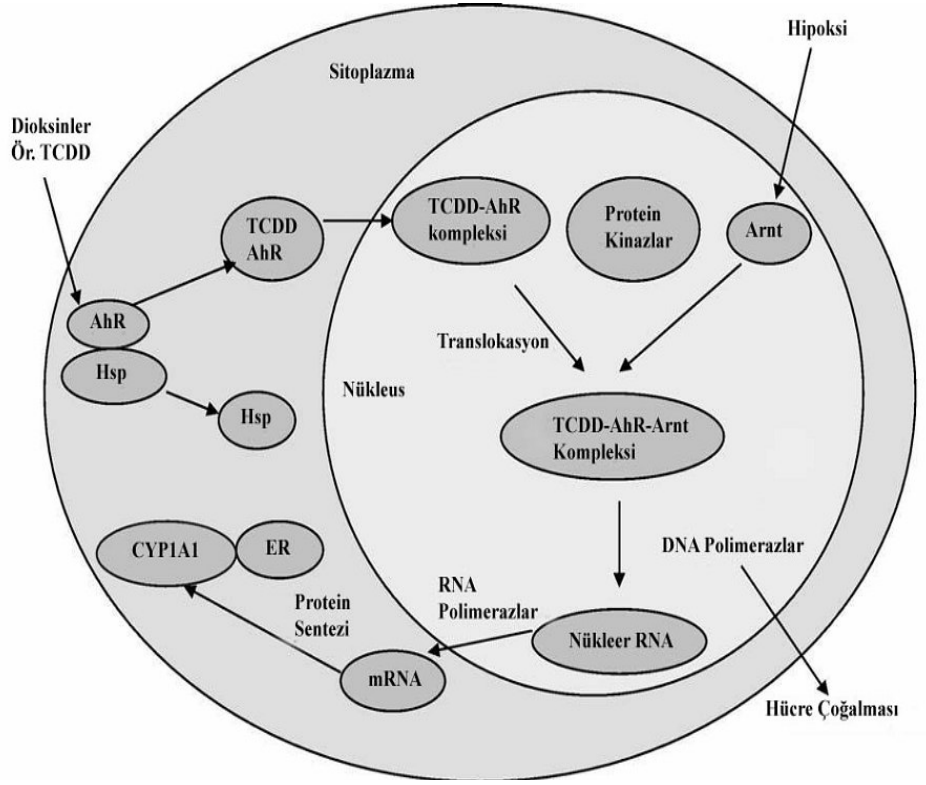
AhR reseptörleri, bHLH-PAS süperfamilyasından DNA transkripsiyon faktörlerinden olup, steroid reseptörler gibi hücre sitoplazmasında bulunan ve vücutta 100 den fazla genin sentezlenmesine aracılık eden nükleer reseptörlerdir [15]. Reseptörün fizyolojik rolü henüz tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen hücre fizyolojisinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. AhR'ler normal şartlarda aktive

edildiklerinde hücrede iki önemli olaya aracılık ederler. Etkin reseptörler, sitoplâzmadan çekirdeğe geçerek DNA'nın ilgili kısmına bağlanır ve gen transkripsiyonunu sağlarlar, Ayrıca bu reseptörler aracılığıyla tirozin kinazın erken uyarılması gerçekleşir [5].

Dioksinli bileşikler; AhR reseptörlerine, sitoplâzmadaki HSP 90 geni aracılığında bağlanarak reseptörün uyarılmasına neden olurlar [16]. Bu şekilde oluşan dioxin reseptör-dimer yapısı çekirdeğe geçer ve hücre çekirdeğinde aril nükleer translokaz (ARNT) ile bağlanarak heterodimer bir yapı oluşturur. Bu heterodimer yapı DNA üzerindeki cevap elementine [(dioksin cevap elementi (DRE)), (AHRE)] bağlanır ve uyarılma sonucunda DNA'daki gen sentezini değiştirir [17]. Dioksinli bileşiklerin AhR reseptörlerini uarması ile pek çok gen sentezinde artış olurken, bazı genlerin sentezinde ise baskılanma olabilir [18].

Dioksinlerin neden olduğu gen sentezindeki değişimler sonucunda; bu bileşiklerin neden olduğu zehirli etkiler ortaya çıkar. Bunun yanı sıra dioksinlerin neden olduğu bazı zehirlenme olaylarının AhR reseptörleri aracılığında oluşmadığı ve bu etkilerin açığa çıkması için bileşiklere daha yüksek dozda maruz kalınması gerektiği bildirilmektedir [19].

Genel olarak dioksinli bileşiklerin toksik etkileri, yoğun olarak karaciğerde sentezlenen CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 ve diğer CYP genlerinin sentezlenmesindeki artışa bağlı olarak oluşan; gelişme bozuklukları, timus atrofisi, epitelyal bozuklar, karaciğer hasarı, bağışıklık yetmezliği ve kanser şeklinde ortaya çıkabilir. CYP genlerinin vücuttaki birincil fonksiyonu ilaçların biyotransformasyonlarında görevli olan faz 1 (sitokrom p-450 enzimleri) ve faz 2 (Glutasyon-s-transferaz ve UDP glukronil transferaz) enzimlerinin sentezlenmesidir. Biyotransformasyonda görevli olan bu enzimler; ilaçlar ile bazı kimyasalların (ksenobiyotikler) detoksifikasyonunda rol oynamalarının yanı sıra poliaromatik hidrokarbonların metabolik aktivasyonuna da neden olurlar [17,20]. Hücrelerde dioksinlerin etki mekanizmasının şematik bir modeli Şekil 1.3.'de verilmiştir.



Şekil 1.3. Hücrede dioksinlerin etkisinin şematik bir modeli [21].

#### 1.1.4. Dioksinlerin toksikokinetikleri

##### 1.1.4.1. Emilim ve dağılımı

Dioksinler; sindirim, deri ve solunum yolu ile vücuda alınan ve emilim oranı, bileşiğin türüne, emilim yoluna ve ortama bağlı olarak değişen bileşiklerdir. Bu bileşiklerdeki klor iyonu sayısı ve bağlanma şekli, zehirliliklerinde olduğu gibi emilimlerinde de oldukça etkilidir. Klor iyonları, bileşiğe lateral olarak bağlanırsa, Örneğin; 2,3,7 ve 8. karbon atomlarına bağlı olduklarında, bileşiğin yağda çözünürlüğü ve dolayısı ile emilim oranı artar [22]. Dioksin zehirlenmelerinde bulaşma %90 oranında ağız yoluyla olmakla birlikte; fabrika patlamaları, orman yangınları gibi durumlarda her üç yoldan da bulaşma olabilir. Dioksin bileşikleri yağda iyi çözündüklerinden ortamdaki yağ oranı ile emilim arasında pozitif yönde bir ilişki vardır. TCDD ağız yolu ile bitkisel yağda çözdürülerek verildiğinde %90 oranında emilirken diyetle karıştırıldığında bu oran %50-60'a kadar düşmektedir. Hayvan türleri arasında sindirim kanalındaki emilim oranları açısından çok büyük farklılıklar yoktur [23].

Dioksinler vücuda alındıktan sonra temel olarak kan, kaslar, karaciğer ve yağ dokuda dağılırlar. Ancak, bu bileşikler özellikle karaciğer ve yağ dokuda birikme

özelliği gösterirler. Yapılan bir çalışmada [24] deneysel olarak ratlara, damar içi yolla verilen 2,3,7,8-TCDD'nin 24 saat içinde doku dağılımlarının tamamlandığı ve bu süre sonunda yağ dokuda birikimin en fazla olduğu tespit edilmiştir. Dioksinli bileşikler, karaciğerde AhR reseptörleri aracılığında aktive ettikleri hepatik bağlayıcı proteinlere bağlı olarak bulunur ve non-linear doza bağımlı doku dağılımına sebep olurlar [25]. Karaciğer ve yağ dokuda bulunan depo edilmiş bu bileşiklerin yeniden dağılıma uğrayarak akciğer, dalak, timus ve vücudun diğer organlarına ulaştığı bildirilmektedir [24]. Dioksinli bileşiklerin vücutta dağılımları bileşiğe maruz kalma miktarı ve hayvan türüne göre farklılık gösterir. 2,3,7,8-TCDD'nin yağ doku ve karaciğerde türlere göre farklı oranda dağıldığı belirtilmesine rağmen diğer bileşikler için bu durum bildirilmemiştir [26]. Dağılım sırasında serumdaki dioksin konsantrasyonu ile yağ doku ve diğer vücut kısımlarındaki konsantrasyon arasında ters bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir [27].

#### **1.1.4.2. Dioksinin metabolizması ve atılımı**

Dioksinli bileşikler karaciğer mikrozomlarında bulunan ve ilaçların metabolizmasında görevli sitokrom p-450 enzimleri tarafından polar maddelere olduğu yavaş metabolize edilirler [28]. Bu bileşiklerin metabolizmaları da emilim ve dağılımlarında olduğu gibi bileşiğ ve canlının türüne göre olduğu önemli farklılıklar gösterir. Metabolizma sırasında hidroksil metabolitler ile sülfür taşıyan metabolitler tespit edilmiş ve açığa çıkan metabolitlerin konjuge edilerek idrar veya safrayla atıldığı bildirilmiştir [29]. Yapılan bir çalışmada [30] 2,3,7,8- TCDD veya metabolitleri ile proteinler veya nükleik asitler arasında kırılması olduğu güç olan ve yüksek enerji gerektiren kovalent bağla bağlanmanın hemen hemen hiç olmadığı tespit edilmiştir. Dioksinlerin temel atılımı dışkı yoluyla olup, idrarla atılan oran dışkıdakine göre olduğu düşüktür. Klorlanmanın artması ile dışkı ile atılım artarken süt ve yağ dokuda depolanma azalır [31].

Dioksinli bileşiklerin yarı ömürleri bileşiğ çeşidine ve canlı türüne göre farklılık gösterir. Örneğin; TCDD' nin yetişkin insanlardaki yarı ömrü, ortalama 2840 gün iken ratlarda 19 gün civarındadır. Ayrıca, obezite ve tip 2 diyabet gibi çeşitli hastalıklar, dioksinin yarılanma ömrünü arttırarak vücutta kalış sürelerini ve zehirliliklerini arttırmaktadır. Genel olarak bu bileşiklerin ratlardaki yarı ömrü 12-24, maymunlarda 365 gün ve insanlarda 5.8-9.8 yıl olduğu belirlenmiştir. [32]. İnsanlarda bazı dioksin

türevlerinin yarılanma ömürleri ise, 1,2,3,7,8-PeCDD için 12.6 yıl, 1,2,3,4,7,8-HxCDD için 26-45 yıl, 1,2,3,4,6,7,8- HpCDD için 80-102 yıldır [31].

Dioksinlerin bir başka atılım yolu da anne sütü ile olmasına rağmen bu yolla atılım anneden yavruya nakil olduğu için atılım olarak değerlendirilmemektedir. Süt ile atılımda yavrunun dioksine maruz kalma oranının anneden daha yüksek olduğu bulgusuna rastlanılmamasına rağmen; yeni doğanlarda anne sütünden kaynaklı zehirlenmelerin olduğu bildirilmektedir [31].

### **1.1.5. Dioksinlerin zehirlilikleri**

Dioksinlerin hayvanlarda toksik etkileri ile ilgili yapılan çok sayıda çalışmada başta karaciğer, mide-bağırsak, kan, deri, canlı ağırlık, endokrin sistem, bağışıklık sistemi, sinir sistemi, üreme sistemi ve gelişme üzerine etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır [14]. Hayvanlarda gözlemlenen toksik etkiler oldukça çeşitlidir. Dioksinlerin spesifik olarak wasting sendromu, hepatotoksisite, klorakne, enzim indüksiyonu, iç salgı dengesizlikleri, karaciğerde vitamin A depolarının azalması, lipid peroksidasyon, nörotoksisite gibi toksik etkilere neden olduğu gösterilmiştir [7]. Buna karşılık insanlarda görülen toksik etkilerin sınırlı olduğu ve konu ile ilgili detaylı veriler bulunmadığı bilinmektedir. İnsanlarda dioksin toksisitesi ile ilgili veriler daha çok endüstriyel kaynaklı kazasal zehirlenmeler ve bulaşma olaylarını takiben yüksek düzeylerde zehire maruz kalan topluluklarda görülmektedir. Bunlarda ise ortaya çıkan en belirgin belirti bir çeşit deri hastalığı olan kloraknedir. Daha düşük dozlarda dioksine maruz kalma ile ilgili çalışmalar ise maruz kalma ile ilgili yetersiz bilgiler, diğer zehirlerin olaya karışması ve meydana gelen olaylardaki vaka sayılarının azlığından dolayı sınırlı kalmıştır [33,34].

#### **1.1.5.1. TCDD'nin akut toksisitesi**

Hayvanlarda TCDD'nin öldürücü dozu cinsiyet, uygulama yolu ve hayvanların yaşlarına göre değişkenlik gösterdiğinden hem türler hem de ırklar arasında geniş ölçüde farklılar göstermektedir. TCDD'nin neden olduğu zehirlenmenin tipik özelliklerinden biri akut zehirlenmeye maruz kalma sonrasında ölümün geç (7-50 gün sonra) görülmesidir. Ölümler genellikle TCDD'nin glikoneogenezisi inhibe etmesi ve iştahın baskılanmasını takiben canlı ağırlık kaybına (wasting sendromu) bağlı olarak meydana gelmektedir. Maruz kalmadan sonra ilk hafta içindeki ölümler kobay, tavşan ve Suriye altın hamsterlerinde gözlenmiştir [7]. Ratlarda dioksin kaynaklı ölümler;



wasting sendromu, hemoraji ve anemi olarak baslıca üç sebepten oluşmaktadır. Ratlarda wasting sendromu için vücut ağırlığı kaybının minimum eşik değerinin %25 olduğu bildirilmiştir [7,33].

TCDD'nin akut toksisitesindeki cinsiyet farklılıkları ile ilgili çelişkiler olmakla birlikte dişilerde erkeklerden daha zehirli olabildikleri bu durumun da dioksinlerin dişilerin dokularında daha fazla birikmesi ve yarı ömürlerinin daha uzun olmasından kaynaklandığı bildirilmektedir [7].

#### **1.1.5.2. TCDD'nin subkronik ve kronik toksisitesi**

Subkronik dozların karşılaştırılmasıyla ilgili yapılmış herhangi bir çalışma mevcut değildir. Yapılan çalışmalarda toksik etki göstermeyen subkronik dozları ratlarda 1 ng, farelerde 100 ng ve kobaylarda 0,6 ng TCDD/kg/gün olduğu bildirilmiştir. TCDD üzerine yapılan farklı uzun dönem çalışmalar sonucunda ratlarda belirti göstermeyen kronik seviyesi ortalama 1 ng/kg/gün olarak hesap edilmiştir [7].

#### **1.1.6. Tolere edilebilir doz**

DSÖ'nün dioksinlere ilişkin kabul ettiği "Tolere Edilebilir Doz" değeri 10 pg-TEQ/kg/gün'dür. Ancak sonradan DSÖ bu değeri, hayvanlarda yapılan çalışmalarla elde edilen "gözlenen en küçük etki düzeyi" değerinin 10 belirsizlik faktörüne bölünmesiyle bulunan "hiçbir kötü etkinin gözlenmediği düzey" olarak, 1-4 pg/kg/gün seviyelerine çekmiştir [5,8].

#### **1.1.7. Toksikite durumunda tedavi**

Dioksinlerin vücutta birikme özelliği göstermesinden dolayı dioksin zehirlenmelerinde daha çok vücutta birikiminin önlenmesi ve atılımını hızlandırarak uzun olan yarı-ömrünü düşürmeye yönelik yaklaşımlar denenmiştir. Dioksin zehirlenmeleri sonucu oluşan klorakne için normal akne tedavisi uygulanmaktadır [35].

Dioksinlerin atılımını hızlandırmak için daha çok hayvan çalışmalarında bitkisel gıdalar denenmiştir. Yapılan çalışmalar pirinç kepeği [36,37], chitosan [38], deniz yosunu [39] gibi bitkisel diyet maddelerinin dioksin atılımını artırdığını göstermiştir. Ayrıca; klorella gibi klorofil bakımından zengin gıda maddelerinin de böyle bir etkisi olduğu bildirilmiştir [39,40]. Bunlara ilave olarak alifatik doymuş bir hidrokarbon olan skualan [35] ve yağ yerine kullanılan sindirimi güç bir madde olan olestra'nın [41] da TCDD'lerin atılımını hızlandığı ortaya konulmuştur.

Kolesterol düşürücü bir ajan olan kolesitraminin dioksinlerin vücut yükünü azaltıcı etkileri ispatlanmıştır. Aktif kömürle rodentlerde yapılan çalışmalarda ise PCB'lerin bağırsaklarda emilimini azalttığı bildirilmiştir [35].

Antioksidan tedavisi TCDD'nin toksik etkilerinin çoğuna karşı koruyucu etki yapmaktadır [39]. Örneğin; suda çözünebilir bir antioksidan olan butillenmiş hidroksiaanisol'ün ratlara uygulanması TCDD'nin lethal bir dozundan kısmi koruma sağladığı ve lipid peroksidasyonu baskıladığı tespit edilmiştir [42,43]. Vitamin A, karatenoidler ve doğal bitkisel bir fenolik bileşik olan ellagik asitin de TCDD'nin oksidatif etkilerine karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir [44].

### **1.1.8. Oksidatif stres ve Serbest radikaller**

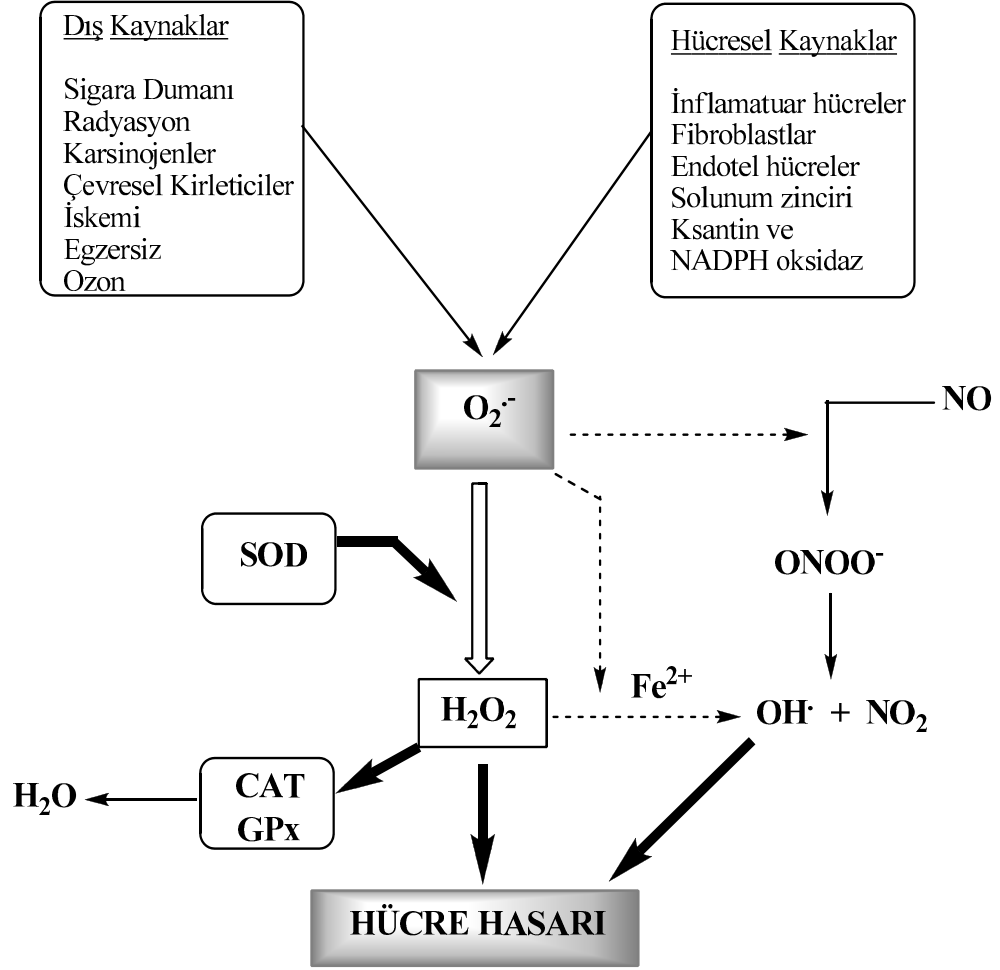
Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. "Oksidatif stres" olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır [45].

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunduran atom veya moleküllerdir. Elektronlar, dış yörüngelerinde çiftler halinde bulduklarında o bileşik daha kararlı ve sabit bir yapıya sahip olur. Eksik elektronlu moleküller ise kararlı değildirler. Kolaylıkla elektron alıp vererek, herhangi bir molekül ile reaksiyona girebilirler. Serbest radikallerinin yarı ömürleri çok kısa olmasına rağmen genel olarak çok reaktiftirler. Çoğu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanın bir parçasıdır ve birçok ksenobiyotinin toksisitesi de serbest radikal üretimi ile ilgilidir [46].

**Çizelge 1.1.** Oksijen ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türler [47].

	<b>Tür Adı</b>		<b>Tür Adı</b>
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen	$\text{HO}_2^\cdot$	Hidroperoksil radikali
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Süperoksit	$\text{NO}^\cdot$	Nitrik oksit radikali
$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen peroksit	$\text{NO}_2$	Nitrojen dioksit
$^\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali	$\text{NO}_2^+$	Nitril katyonu
$\text{ROO}^\cdot$	Peroksil radikali	$\text{ONOO}^-$	Peroksinitrit
$\text{ROOOH}$	Hidroperoksit	$\text{N}_2\text{O}_3$	Dinitrojen trioksit
$\text{RO}^\cdot$	Alkoksil radikali		

Serbest radikaller; farklı şekillerde ifade edilebilirse de, bu radikaller arasında hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ), süperoksit ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), nitrik oksit ( $\text{NO}^\cdot$ ) radikallerinin ve hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )'in özel türleri vardır. Aranan dengede, radikaller başka bir elektron elde etmek için yakınındaki moleküllere hücum ederek bu molekülün yapısını ve fonksiyonunu hasara uğratar.

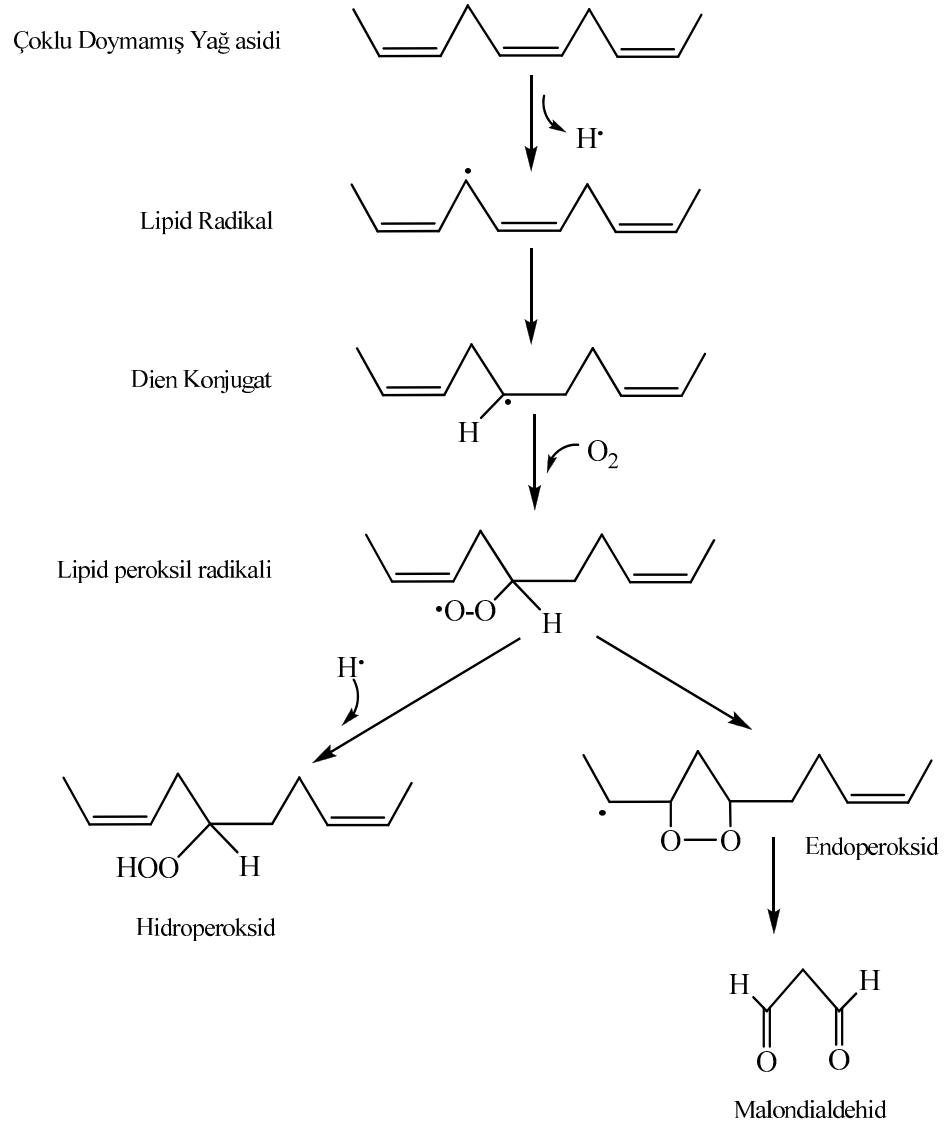


Şekil 1.4. ROT (reaktif oksijen türleri) oluşumu ve antioksidan savunma mekanizması [45].

Hücrede ROT'nin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. Serbest radikaller inaktive edilmemişse, onların kimyasal reaktiviteleri proteinleri, karbonhidratları, lipidleri ve nükleik asitleri içine alan bütün hüresel makromoleküllere zarar verebilir.

#### 1.1.8.1. Serbest radikallerin makromoleküller üzerine etkisi

Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar.



Şekil 1.5. Lipid peroksidasyonu kimyasal yolu [48].

Lipid peroksidasyonu membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan  $\text{OH}^\cdot$  Radikalinin membran fosfolipidlerinin yağ asidi yağ zincirlerine saldırmasıyla oluşur. Oluşan lipid radikali ( $\text{L}^\cdot$ ) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar molekül içi çift bağları pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil ( $\text{LOO}^\cdot$ ) radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine ( $\text{LOOH}$ ) dönüşürler [49,50].

Lipid hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonları bozulur hücre hasar görür. Ayrıca lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizi ile yıkıldığında çoğu zararlı olan aldehitler oluşur ki bunlardan en iyi bilineni MDA'dır. MDA ölçümü ile lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi yapılabilmektedir [50].

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin ROT ile etkileşimleri yüksektir. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyel DNA okside olur. Aynı zamanda bu radikaller genotoksik etkileriyle DNA'nın yapısını değiştirerek kanser olaylarını da başlatabilirler [46]. Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozomal mutasyonlar ve sitotoksosite ile sonuçlanır [51,52].

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Serbest radikallerin etkisiyle, monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit ve süperoksit oluşur. Bu da protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agrega olmalarına, bazal membran kalınlaşması sonucu katarakta sebep olduğu bildirilmektedir. Ayrıca diyabet, kronik kalp hastalığı, hipertansiyon, beşçet hastalığı, kanser ve yaşlılık gibi olaylarda etkili oldukları bildirilmektedir [52,53].

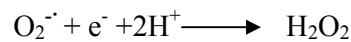
### **1.1.8.2. Başlıca reaktif oksijen radikalleri**

#### **Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)**

Serbest oksijen radikallerinin ilk oluşumu süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) radikalidir. Süperoksit genellikle instabildir ve hidrojen peroksit ve oksijene dönüşür. Ancak daha ciddi hasara neden olan oksijen radikallerinin öncüsü olması nedeni ile önemlidir. Fagositoz görevi yapan makrofaj, nötrofil ve monositler tarafından enzimatik olarak üretilirler [54].

#### **Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

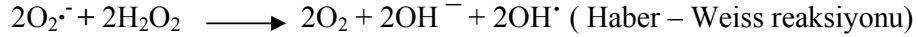
Süperoksit bir elektron eklenmesiyle oluşur.



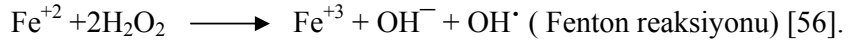
Hidrojen peroksit hücre membranlarından kolaylıkla geçebilen, endotelial hücreleri hasarlayabilen güçlü bir sitokindir. Serbest radikal olmadığı halde birçok reaktifin oluşum reaksiyonlarına katıldığı için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de toksik metabolitler içinde yer

alır. Toksik özellik gösterebilmesi için hidroksil radikaline dönüşmek zorunda olabilir. Hidrojen peroksit zayıf ve yavaş bir oksidandır. Katalaz enzimi ile H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'ye yıkılır. Ancak reperfüzyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksit radikali ile Haber-Weiss reaksiyonuna girer [55].

Haber-Weiss reaksiyonu, demirin (Fe) katalizörlüğünde gerçekleşen, süperoksit radikali ve hidrojen peroksitin Fe eşliğinde reaksiyona girip, sonuçta hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>), hidroksil kökü (OH<sup>-</sup>) ve oksijenin olduğu bir reaksiyondur.

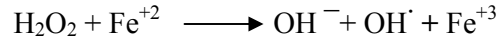


Normal şartlarda bu reaksiyon fizyolojik önemi olmayacak kadar yavaştır. Ancak hemoproteinler ve metal şelatların varlığında Fenton reaksiyonu denen reaksiyonla daha hızlı olarak meydana gelir.



### **Hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>)**

Fe ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin birleşmesi ile oluşur.



Hidroksil radikali, bilinen serbest radikaller içinde en güçlü olan ve doku hasarında sorumlu ana radikaldir [57]. Çok kısa ömürlü ve reaktif olan bu radikal, protein, polisakkarit, nükleik asit ve ansatüre yağ asitleri gibi birçok biyolojik madde ile reaksiyona girer. Bu radikalın en önemli özelliği, hidrojen atomlarını hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinden ayırmasıdır. Lipid peroksidasyonunu başlatarak hücre membranında çözülme ve buna bağlı hücre ölümü olur [45].

### **1.1.8.3. TCDD'nin oksidatif strese etkisi**

Yapılan birçok çalışmada, TCDD'nin uzun dönem toksisitesinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir [58,59]. TCDD'ye maruz kalınmasını takiben oksidatif stres oluşumu ile sonuçlanan mekanizma henüz tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen, oksidatif stres göstergelerinden lipid peroksidasyonunu artırdığı, indirgenmiş glutatyon (GSH) içeriğini azalttığı, 8- hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) miktarını artırdığı, karaciğer membran akışkanlığını azalttığı, DNA hasarını arttırdığı, süperoksit oluşumunu artırdığı ve protein olmayan sülfhidril içeriğini azalttığı rapor edilmiştir [60,61].

Shertzer ve ark. [62]'ları tarafından yapılan bir çalışmada, TCDD'nin dişi farelerde 3 gün 5 µg/kg dozunda TCDD uygulamasını takiben 8 hafta kadar devam eden

güçlü bir oksidatif stres cevabına neden olduğu bildirilmiştir. Yine, son zamanlarda yapılan bir çalışmada, günlük 0,45 ng/kg dozunda TCDD verilen hayvanlarda beyinde oksidatif stresin tetiklendiği rapor edilmiştir. Ancak düşük doz subkronik TCDD kaynaklı oksidatif stres, tamamen karakteristik değildir ve TCDD doku konsantrasyonlarıyla bununla ilgili oksidatif stres cevabı arasındaki ilişki açık bir biçimde tanımlanamamıştır [63].

Dioksin uygulanmasından sonra oluşan oksidatif strese Ah reseptörlerinin aracılık ettiği bildirilmiştir [58]. TCDD kaynaklı ROT oluşumunun olası bir mekanizmasında sitokrom p-450 enzimlerinin gerektiği ileri sürülmektedir [64] ve Ah gen dizisindeki üyelerinden CYP 1A1 ve CYP 1A2'nin TCDD kaynaklı oksidatif stres ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür [65]. Dioksin tarafından CYP 1A1, CYP 1A2 ve CYP 1B1'in indüksiyonu, serbest radikallerin oluşumunu ve lipid peroksidasyonun artması ile sonuçlanmaktadır [66,67]. İleri sürülen bir diğer mekanizma da TCDD kaynaklı sitokrom p-450 enzimleri yoluyla östrojenin metabolik aktivasyonudur. Normal enzim fonksiyonu süresince ROT üretiminde sitokrom p-450'nin ilişkisi uzun zamandır bilinmektedir ve östrojen de TCDD'nin neden olduğu bu ROT'a katkıda bulunduğu belirtilmiştir [68]. Sitokrom p-450 katalitik siklusunda su ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) serbest radikalleri açığa çıkılmaktadır. Ancak bu fizyolojik olay tam olarak aydınlatılamamıştır [69].

Ksenobiyotik kaynaklı oksidatif stresin temel ve direk bir indikatörü olan peritonel lavaj hücreleri başta olmak üzere fagositik hücrelerde ROT üretiminin arttığı bildirilmiştir. Fagositik hücreler TCDD'nin akut toksisitesine karşı ve TCDD'ye oluşan cevapta makrofaj infiltrasyonu meydana gelmektedir. Aynı zamanda, TCDD uygulanmış rat ve farelerin karaciğerlerinde çoğunlukla lenfositler ve polimorfonükleer lökositler başta olmak üzere yangı hücreleri infiltrasyonu görüldüğü bildirilmiştir. Araştırmacılar, TCDD'nin akut toksisitesinde tümör nekroz faktörü (TNF- $\alpha$ )'nın varlığını göstermişlerdir. Tümör nekroz faktörü, ROT salgılamak için bu hücreleri indükleyen ajanlara karşı fagositik hücreleri duyarlı hale getirmektedir. [60,66].

## **1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Serbest radikallerin oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek, ayrıca bunların uzaklaştırılmasını sağlamak için normal fizyolojik şartlarda çeşitli "antioksidan savunma sistemleri" gelişmiştir. "Antioksidanlar" olarak da adlandırılan bu sistemdeki moleküller, serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında ve dolayısıyla



oksidatif hasarın önlenmesinde birinci derecede rol alırlar [70,71]. Antioksidan terimi kısaca, hedef bir moleküldeki oksidatif hasarı geciktiren veya inhibe eden herhangi bir madde olarak tanımlanmaktadır [35].

Antioksidanlar elektronları vererek serbest radikalleri etkisizleştirmek için yeterli derecede kararlı yapıya sahiptirler. Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler;

1- Serbest radikal oluşumunun engellenmesi

i- Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırarak

ii- Oksijeni uzaklaştırarak veya konsantrasyonunu azaltarak

iii- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak

2- Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

i- Toplayıcı etki: ROT lerini etkileyerek onları tutmaya ve daha az reaktif başka moleküllere çevirmeye yönelik etki (enzimler).

ii- Bastırıcı etki: ROT leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olan etki (flavinoidler, vitaminler).

iii- Onarıcı etki

iv- Zincir kırıcı etki: ROT lerini ve zincirleme reaksiyon başlatacak olan diğer maddeleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (hemoglobin, seroplazmin, mineraller, vitaminler) [72,73].

Günümüzde çok sayıda bileşiğin antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak sınıflandırılmaktadır. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde birincil olanı antioksidan enzimlerdir. Bunların arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve Glutatyon-S transferaz (GST) bulunmaktadır. Bu enzimatik sistem serbest radikallerin hasarına karşı savunmanın ana unsurlarıdır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise, indirgenmiş GSH, N-asetilsistein ve tiyoller gibi protein olmayan sülfhidriller, karotenoidler, A, C, E vitaminleri, taurin, melatonin, ürik asit ve daha başka molekülleri kapsamaktadır [35,71].

Vücut; vitamin E, vitamin C ve vitamin A prekürsörü olan  $\beta$ -karoten gibi antioksidan vitaminlerin havuzlarını korumaktadır. Birinci savunma sistemi olan enzimatik sistem bütün serbest radikalleri kontrol altında tutmayı dener. Ancak, oksidatif stres sistemin kapasitesinden daha büyükse savunmanın ikinci hattı (vitaminler) devreye girer. Vitaminler, serbest radikalleri süpürür ve baskılar. Bu süreçte onları okside ve inaktive eder. Bu antioksidan gıdaların her biri spesifik

aktivitelere sahip olup vücudun genel antioksidan kapasitesini güçlendirmek için sinerjik olarak iş görürler [35].

### **1.2.1. Flavonoidler**

Flavonoidler, genellikle meyve ve sebzelerden elde edilen ve bazı gıdalarda bulunan doğal bir antioksidandır. Önemli antioksidan aktivitelerinin yanı sıra metallerle kelat oluşturma ve serbest radikallerin uzaklaştırma yeteneğine sahiptir [74]. Doğada 4000'den fazla flavonoid tanımlanmış olup halka yapılarına göre bunlar; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler, antosiyaninler ve izoflavonoidler gibi isimler almaktadır [75]. Flavonoidler, meyve ve sebzeler kadar tahıllarda da yaygın olarak bulunmaktadır. Hayvan ve hücre sistemlerinde antikarsinojenik aktiviteye sahiptirler [76]. Bitkilerin yaprak, çiçek ve polenlerinde bulunan flavonoidler; serbest radikal yok edici, güçlü antioksidan ve iltihaplanmayı önleyici etkiye sahiptir. Ayrıca, tümör oluşumuyla yakından ilgili olan prostoglandin sentaz, lipoksigenaz ve siklooksigenaz enzimlerini de inhibe etmektedir. Flavonoidlerin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri, peroksi radikalleriyle reaksiyona girmeleri sonucunda elektron transferi yoluyla hidroksil ve süperoksit radikallerini yakalamalarıyla ilişkilidir [74,76,77].

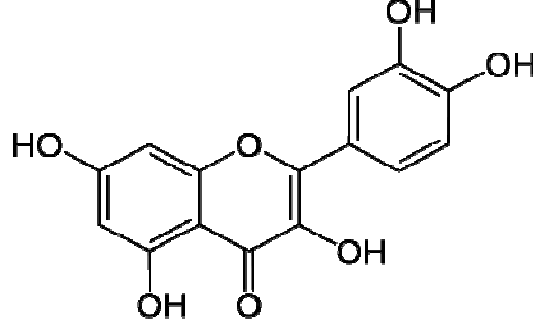
Flavonoidlerin, serbest radikallerin indüklediği kanser, kalp-damar hastalıkları, mide mukozası hastalıkları gibi çeşitli hastalıkları önlemede etkin rol aldığı çok sayıda çalışma ile kanıtlanmıştır. LDL'nin oksidasyonu kalp-damar hastalıklarının oluşmasında önemli bir risk taşıdığından oksidasyondan korunması atarosklerozisin başlaması ve ilerlemesinde oldukça önemlidir [78].

Flavonollar denilen flavonoidlerin bir alt parçası olan Quercetin, lipid peroksidasyonunu önleyerek birçok dejeneratif hastalıklara karşı koyduğu bilinmektedir [79].

#### **1.2.1.1. Quercetin**

Flavonoidlerin flavon grubundan olan quercetin (3,3',4',5,7-pentahidroksflavon), hemen hemen tüm şifalı bitki, meyve ve sebzelerde bulunan, güçlü anti-inflamatuar ve antioksidan etkiye sahip bir bileşiktir. Metabolizmayı hızlandırarak vücut yağlarını yakmakta ve toksinlerden arınmayı sağlamaktadır. Genellikle birçok bitkinin kök, gövde ve çiçeklerinde farklı flavonoidlerle birlikte bulunur. Özellikle kırmızı şarap, greyfurt, soğan, elma, siyah çay, az miktarlarda yapraklı yeşil sebzelerde ve fasulyede bol miktarda bulunur [80,81].

Quercetin; biyokimya, gıda kimyası, tıp, boya endüstrisi ve kozmetik alanlarında kullanılmaktadır [82].



Şekil 1.6. Quercetin'in kimyasal yapısı [83].

#### 1.2.1.1.1. Quercetin'in gıdalar ile alımı ve emilimi

Quercetin'in gıda yoluyla alım miktarlarının belirlenmesinde çeşitli zorluklar vardır. Bu zorluklardan biri bitkide flavonoid oluşumunu etkileyen çok sayıda faktörün varlığı ile ilişkilidir. Örneğin bu faktörler ışık, bitki genetiği, çevresel koşullar, çimlenme, olgunluk derecesi, işleme ve depolama olarak sıralanabilir. Diğer taraftan, farklı polifenollerin analizi için referans metotların olmaması ve buna bağlı olarak bitkisel gıdalardaki flavonoid miktarı konusundaki bilgilerin yetersiz ve çelişkili olması da durumu zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, quercetin'in gıda yoluyla alımının tahminlenmesi ve epidemiyolojik çalışmalarda sağlık üzerindeki etkilerinin tespiti güçleşmektedir [84,85].

Flavonoidlerin gıda yoluyla alımına ilişkin çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde günlük flavonoid alımı mevsime bağlı olarak 1.0-1.1 g/gün aralığında değişmektedir [86].

Birçok *in vitro* çalışmada quercetin'in farklı biyolojik etkileri açıklanmıştır. Bunlar; apoptozis indüksiyonu, antimitogenez, protein kinaz C (PKC) inhibisyonu, hücre siklus modülasyonu, angiogenez inhibisyonu, angiotensin converting enzim II (ACEII) inhibisyonunu içerir. Flavonoidlerin fenolik hidroksil grupları elektron donörleri olarak hareket ederler ve serbest radikal toplayıcı aktivite göstermeleri için gereklidir. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi onların kelat özelliği ile açıklanabilir. Çünkü demir iyonu gibi geçiş metal iyonları ROT üretiminde Fenton-tipi reaksiyonu ile çok önemli bir rol oynar. Birçok çalışmada quercetin'in lipid peroksidasyonunu serbest

radikal toplama veya geçiş metal iyonlarının kelatlaşma ile etkili olarak inhibe ettiği gösterilmiştir [87,88].

Quercetin aglikonu, glikozidlerinin biyoyararlanımlığı ve *in vivo* olarak onların antioksidan aktivitelerinin tespit etmek için alternatif faktördür. Son yıllarda yapılan çalışmalar quercetin ve diğer flavonoidlerin karaciğer ve dolaşıma geçmeden bağırsak epitel hücrelerinde emilimi boyunca metabolik dönüşüme neden olabileceğini göstermişlerdir [85,87].

#### 1.2.1.1.2. Quercetin'in antioksidan etkileri

Quercetin'in en iyi tanımlanan özelliği antioksidan kapasiteleridir. Vücut hücreleri ve dokuları serbest radikallerin ve ROT'un neden olduğu hasara sürekli maruz kalırlar. Serbest radikallerin hücresel fonksiyonları nasıl etkilediği tam bilinmemekle beraber en önemli sebeplerden biri hücre membran hasarı ile sonuçlanan lipid peroksidasyonudur. Bu hücresel hasar hücrenin dengesinde bozulmaya, osmotik basınç değişikliğine, hücre şişmesine ve sonuçta hücrenin ölmesine neden olurlar. Serbest radikaller genel inflamatuvar cevap ve doku hasarına neden olan inflamatuvar mediatörleri arttırır. Yaşayan organizmalar ROT'dan korunmak için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Vücudun antioksidan savunma mekanizmasını içeren SOD, CAT, GSH-Px, gibi enzimler, GSH, Vit C ve  $\alpha$ -tokoferol gibi nonenzimatik antioksidanlar mevcuttur. ROT'un hasar esnasında artmış üretimi endojen süpürücü bileşikler ile aditif etkiye sahiptir. Flavonoidler serbest radikal üretimini engelleyebilir ve endojen antioksidanların fonksiyonunu arttırabilirler [85,88].

Quercetin serbest radikallerin neden olduğu hasarları çeşitli yollarla önler:

Direkt serbest radikal süpürücüsü olarak quercetin ROT bileşikleri ile reaksiyona girerek onları stabilize eder. Quercetin'deki hidroksil grubunun yüksek reaktivitesinden dolayı radikaller aşağıdaki reaksiyona göre inaktive olurlar [85,88].



Quercetin içeren çeşitli flavonoidler iskemi reperfüzyon hasarını indükleyebilen nitrik-oksit sentaz (iNOS) aktivitesine müdahale ederek azaltırlar. NO endotelial hücre ve makrofajları da içeren çeşitli hücrelerde üretilir. NO salınımı kan damarlarındaki genişlemenin devamı için gereklidir. Yüksek konsantrasyonda NO üretimi oksidatif hasar sonucu makrofajlardaki indüklenebilen NO sentazın etkisi ile olur. Aktive

makrofajlarda eşzamanlı olarak hem NO hem de süperoksit anyonu artar. NO serbest radikallerle reaksiyona girer ve oldukça hasar verici peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit LDL'yi direk okside eder ve hücre membranında irreversible hasar oluşur. Flavonoidler antioksidan olarak kullanıldığında serbest radikaller temizlenir ve bundan dolayı NO ile reaksiyona giremezler ve daha az hasar oluşur. İlginç olarak NO kendi başına radikal olarak davranır ve NO moleküllerinin flavonoidler tarafından direk olarak temizlendiği rapor edilmiştir [89].

Ksantin oksidaz yolu oksidatif yolda özellikle iskemi reperfüzyon hasarında önemlidir. Hem ksantin dehidrogenaz hemde ksantin oksidaz ksantini ürik aside çevirir. Enzimin fizyolojik durumlardaki formu ksantin dehidrogenaz, iskemi durumundaki formu ise ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz ROT'un kaynağıdır. Reperfüzyon fazında ksantin oksidaz moleküler oksijenle reaksiyon verir ve süperoksit radikali oluşur. Quercetin, ksantin oksidaz aktivitesini inhibe eder ve oksidatif hasarı azaltır [88].

Quercetin, toksik veya mutajenik özellikleri mevcuttur. Yakın zamanda flavonoidlerin mutajenik etkileri ile yapılan çalışmalar, *in vivo* antimutajenik özelliklerini göstermiştir [85,88].

Antioksidan özelliğinden dolayı quercetin vasküler sistemde de önemli etkileri mevcuttur. Oksijen radikalleri okside LDL oluşumuna neden olur ve bu endotelial duvarda hasara neden olarak arterosklerotik değişiklikleri başlatır. Flavonoid alımının koroner arter hastalığına karşı koruyucu (antiaterojen) etkisini içeren çalışmalar azdır [85,87].

Siklooksijenaz ve lipooksijenaz inflamatuvar mediatörler olarak rol oynar. Bunlar genel inflamatuvar cevabı başlatan araziidonik asitin salınımına neden olurlar. Lipooksijenazı içeren nötrofiller araziidonik asitten kemotaktik bileşiklerin oluşumuna neden olurlar, aynı zamanda sitokin salınımını sağlarlar. Quercetin hem siklooksijenazı hem de lipooksijenazı inhibe eder (antiinflamatuvar etki). Bu nedenle inflamatuvar metabolitlerin oluşumunu azaltır. Flavonoidlerin bir diğer inflamatuvar etkisi eikasonoid biyosentezini inhibe etmesidir [85,88].

Reaktif oksijen türleri DNA'ya zarar verebilir ve mutasyona neden olabilirler. Eğer değişiklikler onkogen veya tümör süpresör gen gibi kritik genlerde ortaya çıkarsa başlangıç veya progresyonla sonuçlanır. ROT direkt hücre iletimini ve büyümesini etkiler. Reaktif oksijen ürünlerinin sebep olduğu hücresel hasar mitozu indükleyebilir ve hasarlı DNA da mutasyona neden olabilirler [86,89]. Quercetin, melanoma büyümesini inhibe etmekte ve farelerde potansiyel metastetik ve antitümör etki göstermiştir [86,89].

Quercetin, kaempferol ve myricetin gibi bazı flavonoidlerin köpekler ve maymunlarda platelet agregasyonunun da etkili inhibitör olduğunu (antitrombojenik etki) gösterilmiştir [86,87,89].

Serbest radikal hasarının neden olduğu kanser, inflamasyon, artrit, alerjiler ve gut gibi hastalıklarda quercetin'in etkisini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır [89,90].

Quercetin kanserli hücelere besin ve oksijen akışını engelleyerek etkili bir şekilde kanseri önlemeye yardımcı olur. Laboratuvar çalışmaları quercetin'in % 50'ye kadar meme kanseri hücrelerinin büyüme hızını azalttığını göstermiştir. Buna ek olarak, quercetin kolon, prostat, meme ve akciğer kanseri hücrelerinin büyümesini engellediği hayvan çalışmalarda gösterilmiştir [91,92].

Quercetin, arterlerde makrofajların birikimi önleyerek kalp hastalığı riskini azaltmaya yardımcı olur. Makrofajlar plak içinde sertleşmeye ve damarların tıkanmasına yol açan büyük miktarda kolesterol içerir. Buna ek olarak quercetin, vücutta kılcalları güçlendirerek dolaşımını artırır ve katarakt, diyabetik retinopati gibi gözlere iletilen kanın zayıflatılmasıyla ortaya çıkan rahatsızlıkların tedavisinde de kullanılır [93].

### 1.3. Çalışmanın Amacı

İlerleyen teknoloji ve yeni üretim teknikleri biyokimyasal kirlenmeyi de beraberinde getirmiştir. Birçok toksik maddenin çevre ve canlı organizmalar üzerine etkileri tespit edilmekle birlikte bu maddeler içerisinde dioksin ve dioksin benzeri maddeler en çok karşılaşılan ve yüksek toksisiteye sahip olanlar arasındadır. Değişik sebeplerle çevreye yayılan dioksin bileşiklerinin, oksidatif stresi artırarak DNA'daki hasar sonucunda kanser oluşturmaları nedeniyle, gelişmiş ülkeler çevresel ve gıda kökenli dioksin düzeyini tolare edilebilir günlük alım miktarında tutmaya ve dioksin zehirlenmelerine karşı tedavi yöntemleri geliştirmeye çalışmaktadırlar.

Çalışmamızda, deneysel dioksin zehirlenmelerinde model olarak kullanılan 2,3,7,8-TCDD'nin ratlarda kalp ve damar dokularında neden olduğu oksidatif stres düzeyinin belirlenmesi ve bu hasarın flavonoid yapılı quercetin ile engellenebilirliği araştırılacaktır. Oksidan-antioksidan sistemin ne yönde etkilendiğinin değerlendirilmesi amacıyla TCDD uygulanan, quercetin uygulanan ve TCDD ile eşzamanlı quercetin uygulanan ratların kalp ve damar dokularında SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan enzim aktiviteleri, GSH düzeyleri ve lipid peroksidasyonun göstergesi olarak da MDA düzeyleri ölçülecektir.

Bütün bu değerlendirmelerin ışığında çalışmamız; çeşitli oksidatif stres modellerinde yararlı olduğu gösterilen quercetin TCDD toksisitesine karşı kalp-damar sisteminde tedavi amaçlı kullanılabilirliği konusunda bir fikir verecektir.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Amonyum sülfat	Merck A596217
Bakır-2-klorür	Fluka 61174
Bakır sülfat penta hidrat	Sigma 12849
Disodyum hidrojen fosfat-2-hidrat	Carlo Erba 480137
5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit	AppliChem 69-78-3
Etanol	Carlo Erba 64-17-5
EDTA	Sigma E5134
Folin&ciocalteus-phenol Reaktifi	Sigma F9252
Glutasyon redüktaz	Sigma-Aldrich 64251
Hidrojen peroksit (%35)	Merck 1.08600
Hidroklorik asit (%37)	Merck 1.00314
İndirgenmiş glutasyon	Sigma-Aldrich G4251
Ksantin oksidaz	Sigma X4376
Kloroform	Merck 2431
Nitroblu tetrazolyum klorür	Sigma 014K5310
NADPH	Applichem 8N00698
Quercetin	Sigma Q0125
Sığır serum albumini	Acros Organics 268130100
Sodyum azid	Sigma-Aldrich 58032
Sodyum hidroksit	Sigma-Aldrich 8295A
Sodyum karbonat	Sigma-Aldrich 13418
Sodyum potasyum tartarat	Fluka 60412
Sodyum sitrat	Sigma S1804
2,3,7,8-Tetraklorodibenzo- <i>p</i> -dioksin	Accu standtard D404N
Trikloroasetik asit	Sigma-Aldrich 27242
Tiyobarbitürik asit	Merck L55063680 731
Tris	Merck TD641819



### 2.1.2. Kullanılan cihazlar

Hassas terazi	Ohaus corp. Pine brook, NJ-USA
Homojenizatör	Bunsen-Overhead Stirren AGV-10
Sonifikatör	Vibra cell
Manyetik karıştırıcı-ısıtıcı	Wisestir MSH-20D
pH metre	Cyberscan-1000
Soğutmalı santrifüj (Ependorf)	Hettich Zentrifugen Mikro-22R
Soğutmalı santrifüj (Vidalı Tüp)	Hettich Zentrifugen EBA-21
-80°C soğutucu	Nuare
Spektrofotometre	T80 UV/VIS
Spektrofotometre küveti	(normal ve kuvarz)
Su banyosu	Memmert
Vorteks	Velp Scientifica 10.0176

### 2.1.3. Deney hayvanları

Bu çalışmada İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nden temin edilen 3-4 aylık, 250-350 g. ağırlığında 28 adet Wistar-albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar standart şartlarda (sabit ısı ve havalandırılmalı odalarda; 12 saat gün ışığı ve 12 saat karanlık olmak üzere) 7'şerli 4 eşit gruplar halinde özel kafeslerde bekletildi. Ratlara taze su ve yem *ad libitum* olarak verildi.

Deney hayvanlarının seçimi ve yapılan uygulamalar sırasında İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu onayı alınarak; çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı.

#### 2.1.3.1. Deney grupları

Her grupta 7 hayvan olacak şekilde ratlar 4 gruba ayrıldı;

**Grup 1;** 8 hafta süreyle hayvanlara günlük olarak 0,5 mL mısır yağı gavajla uygulandı.

**Grup 2;** 8 hafta süreyle hayvanlara günlük olarak mısır yağı içerisinde TCDD 2 µg/kg/hafta dozunda intraperitoneal olarak uygulandı.

**Grup 3;** 8 hafta süreyle hayvanlara günlük olarak mısır yağı içerisinde Quercetin 20 mg/kg dozunda gavajla uygulandı

**Grup 4;** 8 hafta süreyle hayvanlara günlük olarak mısır yağı içerisinde Quercetin 20 mg/kg gavajla ve TCDD 2 µg/kg/hafta dozunda intraperiyonal olarak uygulandı.

### 2.1.4. Örneklerin alınması ve hazırlanması

Sekiz hafta sonunda ratlar sakrifiye edilerek alınan doku örneklerinde (kalp-damar) SOD, CAT, GSH-Px enzim aktiviteleri, protein, GSH ve MDA düzeyleri ölçümleri yapılmaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

#### 2.1.4.1. Homojenatların hazırlanması

Derin dondurucudan alınan dokular yaklaşık 1g olacak şekilde tartılarak cam tüplere konuldu. Üzerine 1/10 (g/h) oranında dilüsyon olacak şekilde Tris-HCl tamponu (pH=7.4) ilave edildikten sonra soğuklukları muhafaza edilerek cam-teflon homojenizatörde 16.000 devir/dakika hızda 3 dakika homojenize edildi. Hazırlanan bu homojenatlarda doku MDA tayini yapıldı. Geri kalan homojenatlar +4°C'de 45 dakika süreyle 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Bu süpernatantlarda GSH-Px, GSH ve CAT enzim aktiviteleri ölçüldü. Geri kalan süpernatant kısmına

kloroform/etanol (3/5, h/h) karışımından oluşan ayıraç 1/1 (h/h) oranında ilave edildi. Daha sonra +4°C'de 45 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Üstte kalan kloroform/etanol fazında SOD enzim aktivitesi ve protein ölçümleri yapıldı.

## 2.2. Yöntemler

### 2.2.1. Protein miktarının tayini

Homojenat ve süpernatantlardaki protein miktarları Lowry [94] metoduna göre tayin edildi.

**Prensip:** Alkali bakır ayırıcındaki  $Cu^{++}$  peptid bağları ile kompleks yapmaktadır. Her 7 veya 8 aminoasit artığı 1 atom bakır bağlamaktadır. Folin-Fenol ayırıcı, bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mor-mavi bir renk şekillenir. Oluşan bu renk 700 nm'de okunur.

#### **Kullanılan çözeltiler:**

**Çözelti A:** [% 2  $Na_2CO_3$  (0.1 N NaOH içinde)] : 2 g  $Na_2CO_3$  alındı ve 0.1 N NaOH içinde toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**Çözelti B1:** (% 1  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ): 1 g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**Çözelti B2:** (% 2 Na-K-tartarat): 2 g Na-K-tartarat alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**Çözelti C:** 50 hacim çözelti A, 1 hacim 1/1 oranındaki çözelti B1 ve B2 karışımı ile karıştırıldı.

**Folin-ciocalteu çözeltisi:** Kullanılmadan önce 1/1.5 oranında distile saf su ile seyreltildi.

#### **Yöntem:**

---

---

	<b><u>Kör</u></b>	<b><u>Standart</u></b>	<b><u>Numune</u></b>
Saf su (mL)	0.010	----	----
Standart (mL)	----	0.010	----
Örnek (mL)	----	----	0.010
Çözelti C (mL)	2.5	2.5	2.5
	Karıştırıldı ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi		
Folin-ciocalteu (mL)	0.25	0.25	0.25

---

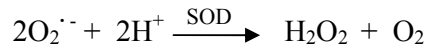
**Hesaplama:** 700 nm’de okunan örnek absorpsanları (OD), standart değerleri kullanarak aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi:

$$y = 0,0857x + 0,0719 \quad (R^2=0,9894)$$

### 2.2.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin ( $O_2^{\cdot-}$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Dokulardaki SOD enzim aktiviteleri Sun [95] metoduna göre tayin edildi.

**Prensip:** Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Oluşan süperoksit radikallerinin NBT’yi indirgemesi ile oluşan renkli formazon spektrofotometrik olarak ölçülür. Bu kompleks 560 nm’de maksimum absorpsan verir. Enzimin olmadığı ortamlarda indirgenme meydana gelerek mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD bulunduğunda ise indirgenme olmayıp mavi-mor renk oluşmaz ve enzim aktivitesine bağlı olarak daha açık bir renk oluşur.



#### **Kullanılan çözeltiler:**

**Ksantin çözeltisi (0,3 mM):** 9.13 mg ksantin alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 200 mL olacak şekilde çözüldü.

**EDTA (0.6 mM):** 22.3 mg EDTA ( $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_{22}H_2O$ ) alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**NBT (150 µg/l):** 12.3 mg NBT alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**$Na_2CO_3$  (400 mM):** 4.24 g  $Na_2CO_3$  alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**BSA (1 g/l):** 25 mg BSA alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 25 mL olacak şekilde çözüldü.

**Reaktif çözeltisi:** 20 mL ksantin çözeltisi, 10 mL EDTA çözeltisi, 10 mL NBT çözeltisi, 6 mL  $Na_2CO_3$  çözeltisi ve 3 mL BSA çözeltisi alındı ve karıştırıldı.

**Ksantin oksidaz:** 48 µl alındı, 3 mL (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de çözüldü.

**2M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:** 2.643 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 10 mL olacak şekilde çözüldü.

**CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (0.8 mM):** 13,6 mg CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

### **Yöntem:**

---

	<b><u>Kör</u></b>	<b><u>Numune</u></b>
Reaktif (mL)	1,425	1,425
Örnek (mL)	-----	0,05
Ksantin oksidaz (mL)	0,025	0,025
	Karıştırıldı ve oda sıcaklığında 20 dk bekletildi	
CuCl <sub>2</sub> (mL)	0,05	0,05
Distile Su (mL)	0,05	-----

---

**Hesaplama:** 560 nm'de okunan örnek absorbanları (OD), standart değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi:

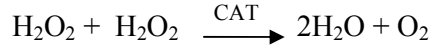
$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = [\text{Absorbans Kör (K)} - \text{Absorbans Örnek (Ö)}] / \text{K} \times 100$$

Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

### **2.2.3. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin ölçümü**

Katalaz, katalitik aktivitesiyle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi dekompoze ederek su ve oksijene dönüştürmektedir. Dokulardaki CAT enzim aktiviteleri Aebi [96] metoduna göre tayin edildi.

**Prensip:** Hidrojen peroksit, 240 nm dalga boyunda maksimum absorban göstermektedir. Deney ortamına ilave edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin CAT enzimi tarafından parçalanması, ultraviyole spektrumda bir absorban azalması olarak takip edilir. Absorbansta görülen bu azalma enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır.



**Kullanılan çözeltiler:**

**Fosfat tamponu (50 mM):** 3.9 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 17.9 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> distile suda çözüldükten sonra pH 7'ye ayarlandı ve son hacim bidistile su ile 1 litrede çözüldü.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 mM):** % 30 luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> den 0.34 mL alındı ve çözelti fosfat tamponu ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**Yöntem:**

---

---

	<b><u>Kör</u></b>	<b><u>Numune</u></b>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mL)	0,01	0,01
Fosfat tamponu (mL)	2.99	2.99
Örnek (mL)	-----	0,010
Distile Su (mL)	0,010	-----

---

**Hesaplama:** 240 nm'de okunan örnek absorbansları (OD), standart değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi:

$$k/\text{sec} = k \times \text{sec}^{-1} = \frac{2.31 \log \text{OD}_1/\text{OD}_2}{30 \text{ sn}}$$

$$k/\text{mg protein} = \frac{k \times \text{sec}^{-1}}{\text{mg protein}}$$

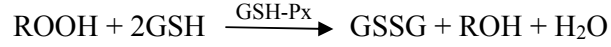
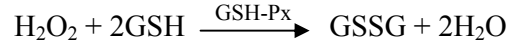
Dokular için sonuçlar k/mg protein olarak hesaplandı.

**2.2.4. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivite ölçümü**

GSH-Px, redükte glutatyonu kullanarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. GSH-Px aktivitesi Paglia de Valentine [97] metoduna göre yapıldı.

**Prensip:** GSH-Px, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) dönüşmesini katalize eder. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımıyla tekrar GSH'a dönüştürülür. GSH-Px aktivitesi, deney ortamındaki NADPH'nin NADP<sup>+</sup>ya çevrilmesi

ile optik dansitede meydana gelen absorpsiyon farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hesaplanır.



### **Kullanılan çözeltiler:**

**EDTA'lı Fosfat Tamponu (pH=7):** 3.9 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> alındı, distile su ile 500 mL'de çözüldü. 17.9 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> alındı, distile su ile 1000 mL'de çözüldü.

**Redükte Glutasyon (GSH):** 92 mg GSH alındı, 2 mL EDTA'lı Fosfat tamponunda çözüldü.

**NADPH:** 16.68 mg NADPH alındı, 2 mL EDTA'lı Fosfat tamponunda çözüldü.

**Sodyum Azid (NaN<sub>3</sub>):** 65 mg sodyum azid alındı, 1 mL EDTA'lı Fosfat tamponunda çözüldü.

**GSH Redüktaz:** 0.04 mL GSH redüktaz alındı, 0.06 mL 3,2M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'de çözüldü.

**Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** 0.015 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alındı, 5 mL EDTA'lı Fosfat tamponunda çözüldü.

**Amonyum Sülfat [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]:** 4.22 g alındı, 10 mL distile su ile çözüldü.

### **Yöntem:**

---

---

	<b><u>Kör</u></b>	<b><u>Numune</u></b>
EDTA'lı Fosfat Tamponu (mL)	2,67	2,65
Örnek (mL)	-----	0,02
Redükte GSH (mL)	0,10	0,10
NADPH (mL)	0,10	0,10
GSH Redüktaz (mL)	0,01	0,01
NaN <sub>3</sub> (mL)	0,01	0,01
Distile Su (mL)	0,02	-----
	Karıştırılır ve oda sıcaklığında 30 dk bekletildi	
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mL)	0,10	0,10

---

---

**Hesaplama:** 340 nm’de okunan örnek absorbanları (OD), standart değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi:

$$U/L \text{ (mikromol/min/L)} = \frac{\Delta A/t \times V_t \times 10^6}{E \times V_s \times t}$$

E : NADP’nin ekstinksiyon sabiti ( $6.22 \times 10^3$ )

V<sub>t</sub> : Total reaksiyon hacmi (mL)

V<sub>s</sub> : Total hacim içindeki numune hacmi (mL)

t: Küvet çapı (1 cm)

$\Delta A/t$  : Dakikadaki absorban değisimi

$10^6$  : Molü mikromole çevirim faktörü

$$U/L = \frac{\Delta A/t \times 3 \times 10^6}{6.22 \times 10^3 \times 0.02 \times 1} = \frac{\Delta A/5 \text{ dk} \times 3 \times 10^6}{124.44}$$

Elde edilen Ünite değeri proteine bölünerek spesifik aktivitesi elde edildi.

$$U/\text{mg protein} = \frac{U/L}{\text{protein (mg/dl)}}$$

### 2.2.5. Redükte glutatyon (GSH) düzeylerinin ölçümü

Doku GSH düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Sedlak and Lindsay [98] metoduna göre yapıldı.

**Prensip:** Dokuların bütün nonprotein sülfidril grupları GSH şeklinde bulunur. 5,5’-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturur. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH aktivitesi saptanır.



### **Kullanılan çözeltiler:**

**Triklorasetik Asit (TCA):** % 10'luk TCA; 10 g TCA çözeltisi alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB):** 39.6 mg DTNB alındı, 10 mL etanolde çözüldü.

**Tris-EDTA Tamponu (pH= 8.9):** 2.42 g tris alındı 100 mL distile su da çözüldü. 7.44 g EDTA alındı 100 mL distile su da çözüldü.

### **Yöntem:**

---

	<b><u>Kör</u></b>	<b><u>Numune</u></b>
TCA (mL)	0,5	0,5
Örnek (mL)	-----	0,5
Tris-EDTA Tamponu (mL)	2	2
DTNB (mL)	0,1	0,1
Distile Su (mL)	0,5	-----

---

**Hesaplama:** 412 nm'de okunan örnek absorbanları (OD), standart değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi:

$$E1 = \frac{D1}{D2}$$

D1 = 1 cm'lik küvette, dar bir aralığı olan spektrofotometredeki okuma değeri.

D2 = Aynı örneğin kalibrasyonu önceden yapılmış bir sistemdeki okuma değeri.

*Glutasyon derisimi:*

$$C (\mu\text{mol/mg protein}) = \frac{(\text{OD2-OD1}) \times E1 \times 10}{\text{protein (mg/dl)}}$$

### **2.2.6. Malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü**

Doku MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Yagi [99] metoduna göre yapıldı.

**Prensip:** Doku MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH 3.5'te, doku homojenatının kaynar su banyosunda 60 dakika inkubasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın TBA ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

**Kullanılan çözeltiler:**

**Triklorasetik Asit (TCA):** % 10'luk TCA; 10 g TCA çözeltisi alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 100 mL olacak şekilde çözüldü.

**Tribarbitirik Asit (TBA):** % 0,675'lik TBA; 0,3375 g TBA alındı ve çözelti distile saf su ile toplam hacim 50 mL olacak şekilde çözüldü.

**Yöntem:**

---

---

	<b><u>Kör</u></b>	<b><u>Numune</u></b>
TCA (mL)	2.5	2.5
Örnek (mL)	-----	0,5
Distile Su (mL)	0,5	-----
TBA (mL)	1	1

95 °C'de su banyosunda 60 dk inkübasyon yapıldı

---

**Hesaplama:** 532 nm'de okunan örnek absorbanları (OD), standart değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi:

$$\text{MDA (nmol/g doku)} = \frac{\text{Örnek O.D} \times \text{Std. Konsantrasyonu}}{\text{Std. O.D}}$$

**2.2.7. İstatistiksel Analizler**

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS 10.0 programı ile One-Way ANOVA testi kullanılarak belirlendi. Parametreler arasındaki korelasyonun saptanmasında Pearson's korelasyon analizinden yararlanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi ve p < 0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

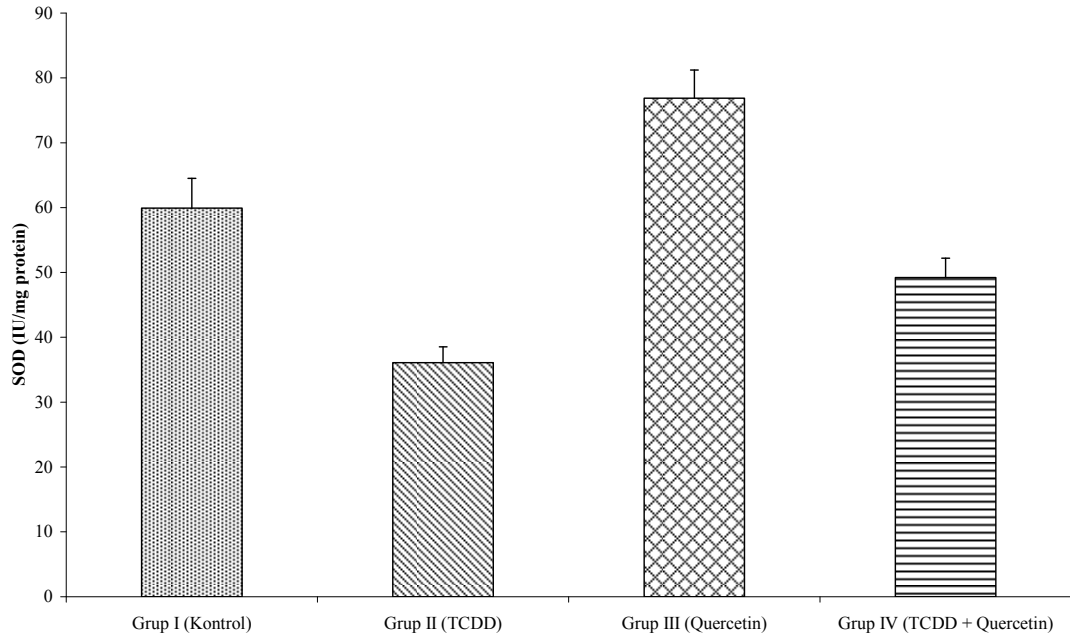
#### 3.1. Biyokimyasal Parametreler

##### 3.1.1. Dokulardaki SOD aktiviteleri

###### 3.1.1.1. Kalp dokusu SOD aktivitesi

Kalp dokusu SOD aktivitesi Grup 2’de ( $36,07 \pm 2,47$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $59,92 \pm 4,58$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ). SOD aktivitesi Grup 3’de ( $76,86 \pm 4,37$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $59,92 \pm 4,58$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ). SOD aktivitesi Grup 4’de ( $49,21 \pm 2,98$  IU/mg protein) ise Grup 2’ye ( $36,07 \pm 2,47$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ).

Gruplara ait SOD aktiviteleri Şekil 3.1.’de verilmiştir.



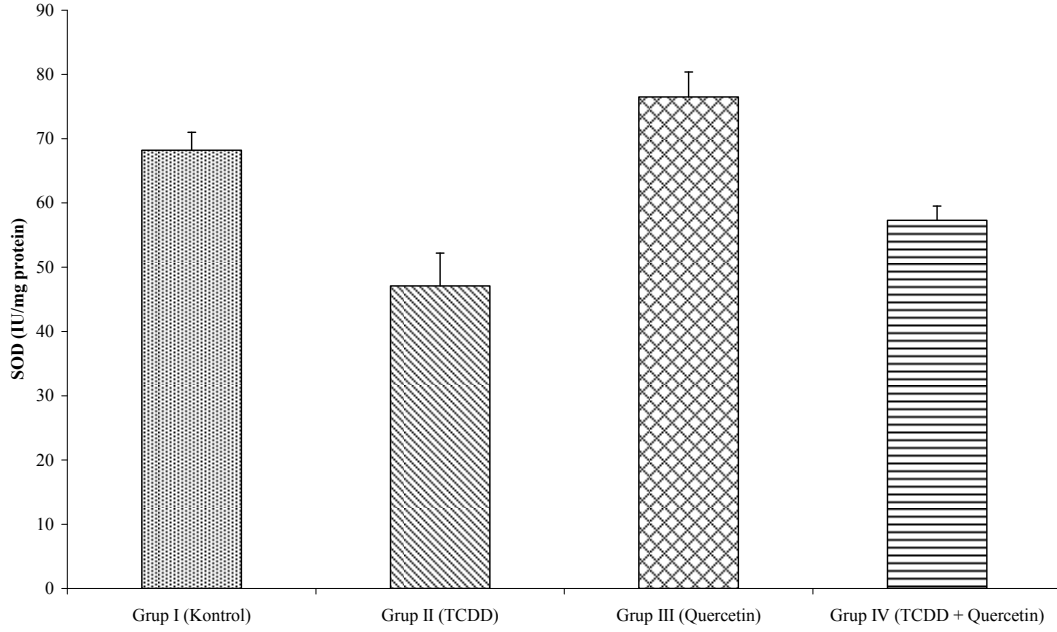
Şekil 3.1. Kalp dokusu SOD aktiviteleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 1, Grup 3 ile Grup 1 ve Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

### 3.1.1.2. Damar dokusu SOD aktivitesi

Damar dokusu SOD aktivitesi Grup 2’de ( $47,09 \pm 5,10$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $68,21 \pm 2,78$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ). SOD aktivitesi Grup 3’de ( $76,50 \pm 3,87$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $68,21 \pm 2,78$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ). SOD aktivitesi Grup 4 ( $57,32 \pm 2,20$  IU/mg protein) ve Grup 2 ( $47,09 \pm 5,10$  IU/mg protein) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ( $P \geq 0.001$ ).

Gruplara ait SOD aktiviteleri Şekil 3.2.’de verilmiştir.



Şekil 3.2. Damar dokusu SOD aktiviteleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 1 ve Grup 3 ile Grup 1 karşılaştırıldığında.

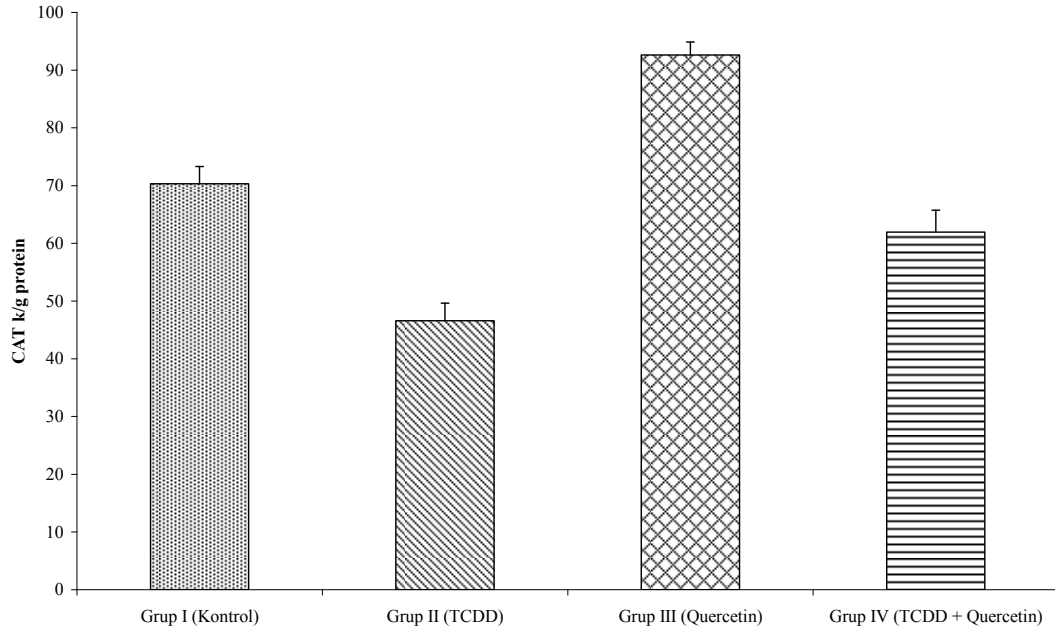
$P \geq 0.001$  Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

### 3.1.2. Dokulardaki CAT aktiviteleri

#### 3.1.2.1. Kalp dokusu CAT aktivitesi

Kalp dokusu CAT aktivitesi Grup 2’de ( $46,59 \pm 3,04$  k/g protein); Grup 1’e ( $70,33 \pm 2,96$  k/g protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ). CAT aktivitesi Grup 3’de ( $92,65 \pm 2,22$  k/g protein); Grup 1’e ( $70,33 \pm 2,96$  k/g protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ). CAT aktivitesi Grup 4’de ( $61,95 \pm 3,79$  k/g protein) ise Grup 2’ye ( $46,59 \pm 3,04$  k/g protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ).

Gruplara ait CAT aktiviteleri Şekil 3.3.’de verilmiştir.



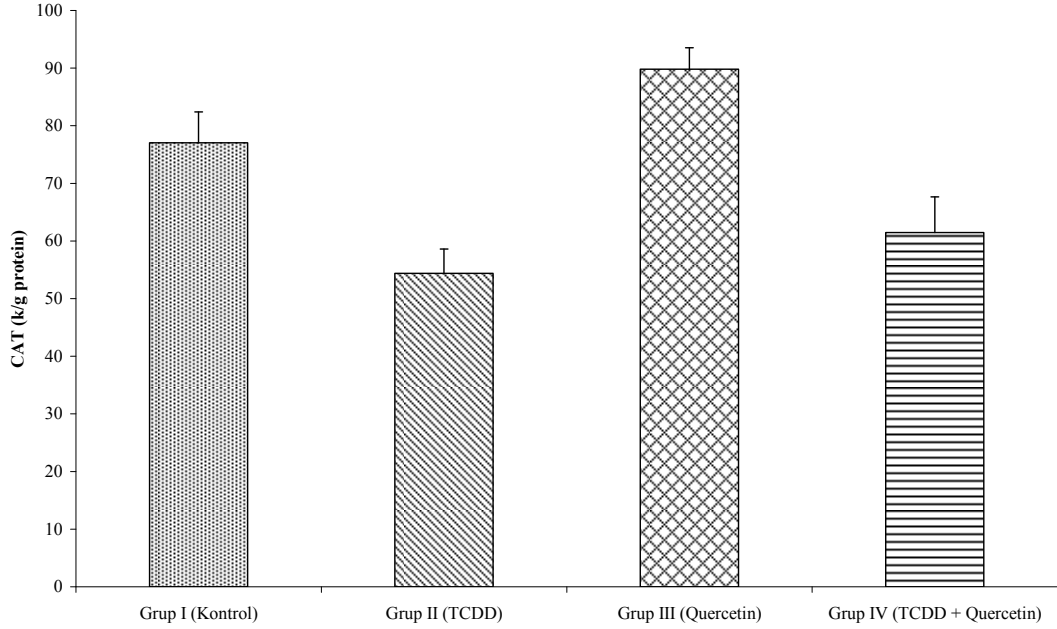
Şekil 3.3. Kalp dokusu CAT aktiviteleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 1, Grup 3 ile Grup 1 ve Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

### 3.1.2.2. Damar dokusu CAT aktivitesi

Damar dokusu CAT aktivitesi Grup 2’de ( $54,38 \pm 4,22$  k/g protein); Grup 1’e ( $77,05 \pm 5,33$  k/g protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ). CAT aktivitesi Grup 3 ( $89,83 \pm 3,70$  k/g protein) ile Grup 1 ( $77,05 \pm 5,33$  k/g protein) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ( $P \geq 0.001$ ). CAT aktivitesi Grup 4 ( $64,49 \pm 6,19$  k/g protein) ile Grup 2 ( $54,38 \pm 4,22$  k/g protein) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ( $P \geq 0.001$ ).

Gruplara ait CAT aktiviteleri Şekil 3.4.’de verilmiştir.



**Şekil 3.4.** Damar dokusu CAT aktiviteleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 1 karşılaştırıldığında.

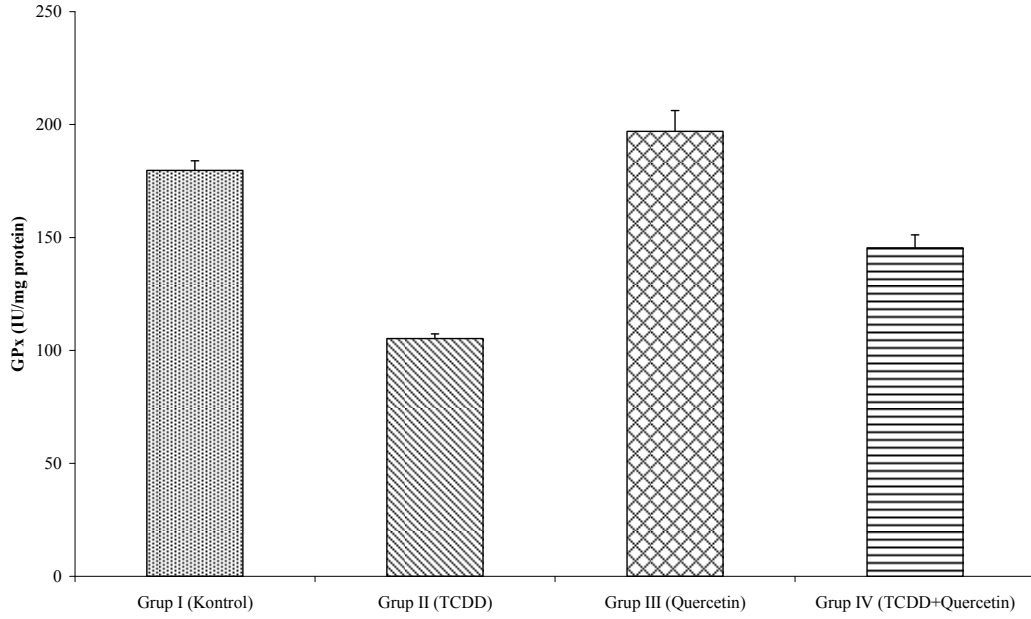
$P \geq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 4 ve Grup 3 ile Grup 4 karşılaştırıldığında.

### 3.1.3. Dokulardaki GSH-Px aktiviteleri

#### 3.1.3.1. Kalp dokusu GSH-Px aktivitesi

Kalp dokusu GSH-Px aktivitesi Grup 2’de ( $105,3 \pm 1,99$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $179,7 \pm 4,23$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ). GSH-Px aktivitesi Grup 3’de ( $197,0 \pm 9,23$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $179,7 \pm 4,23$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ). GSH-Px aktivitesi Grup 4’de ( $145,4 \pm 5,75$  IU/mg protein) ise Grup 2’ye ( $105,3 \pm 1,99$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ).

Gruplara ait GSH-Px aktiviteleri Şekil 3.5.’de verilmiştir.



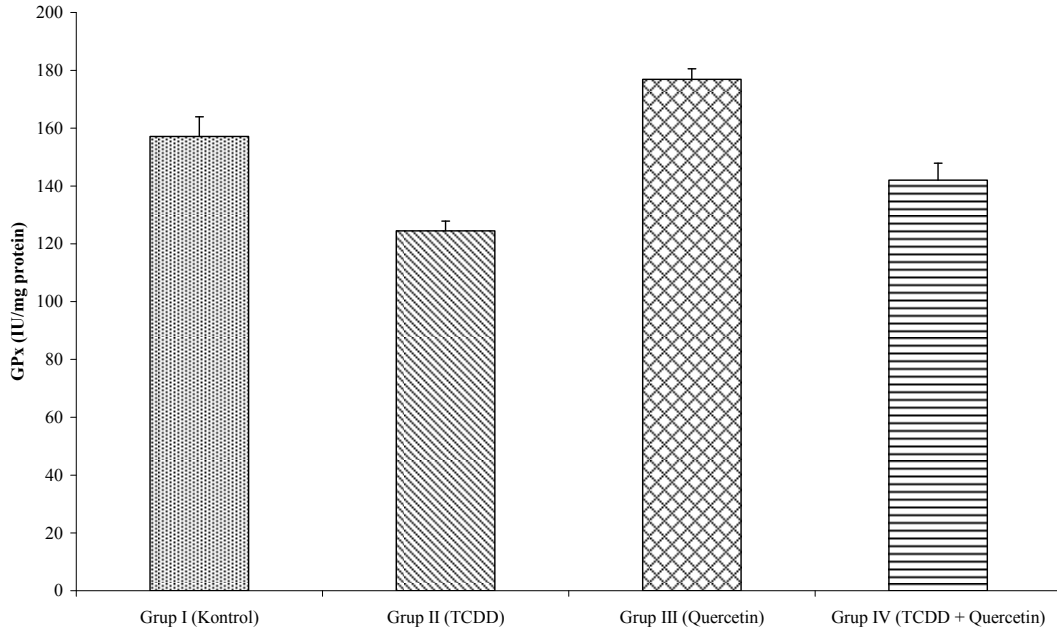
Şekil 3.5. Kalp dokusu GSH-Px aktiviteleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 1, Grup 3 ile Grup 1 ve Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

### 3.1.3.2. Damar dokusu GSH-Px aktivitesi

Damar dokusu GSH-Px aktivitesi Grup 2’de ( $124,5 \pm 3,32$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $157,1 \pm 6,85$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ). GSH-Px aktivitesi Grup 3’de ( $176,9 \pm 3,65$  IU/mg protein); Grup 1’e ( $157,1 \pm 6,85$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ). GSH-Px aktivitesi Grup 4’de ( $142,0 \pm 5,91$  IU/mg protein); Grup 2’ye ( $124,5 \pm 3,32$  IU/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ).

Gruplara ait GSH-Px aktiviteleri Şekil 3.6.’de verilmiştir.



Şekil 3.6. Damar dokusu GSH-Px aktiviteleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 1, Grup 3 ile Grup 1 ve Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

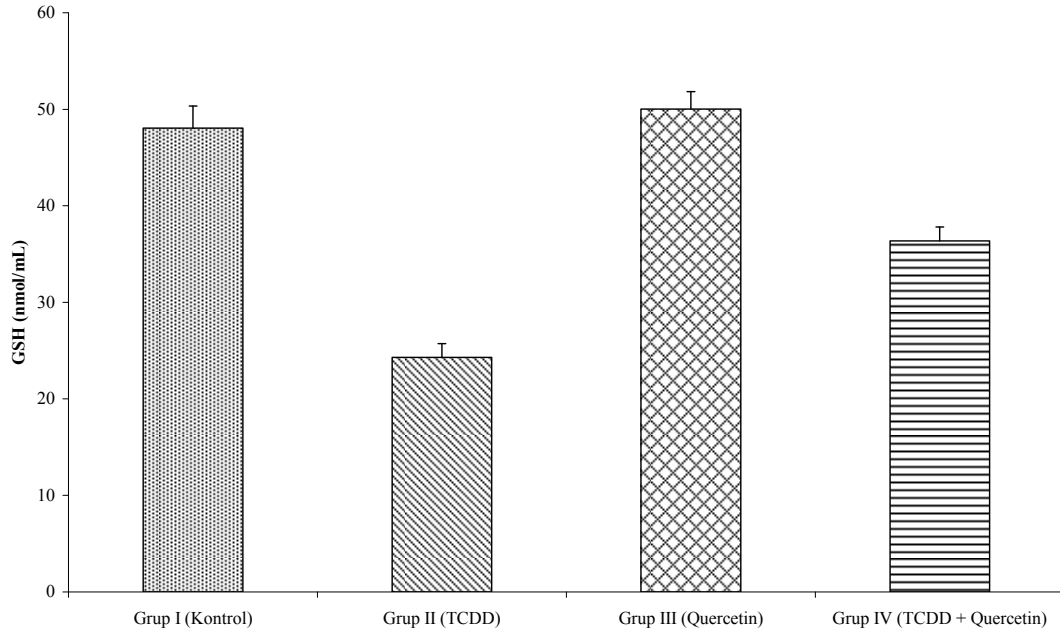


### 3.1.4. Dokulardaki GSH düzeyleri

#### 3.1.4.1. Kalp dokusu GSH düzeyleri

Kalp dokusu GSH düzeyleri Grup 2'de ( $24,30 \pm 1,42$  nmol/mL); Grup 1'e ( $48,04 \pm 2,29$  nmol/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ). GSH düzeyleri Grup 3 ( $50,02 \pm 1,81$  nmol/mL) ve Grup 1 ( $48,04 \pm 2,29$  nmol/mL) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme görülmedi ( $P \geq 0.001$ ). GSH düzeyleri Grup 4'de ( $36,36 \pm 1,43$  nmol/mL) ise Grup 2'ye ( $24,30 \pm 1,42$  nmol/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ).

Gruplara ait GSH düzeyleri Şekil 3.7.'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Kalp dokusu GSH düzeyleri.

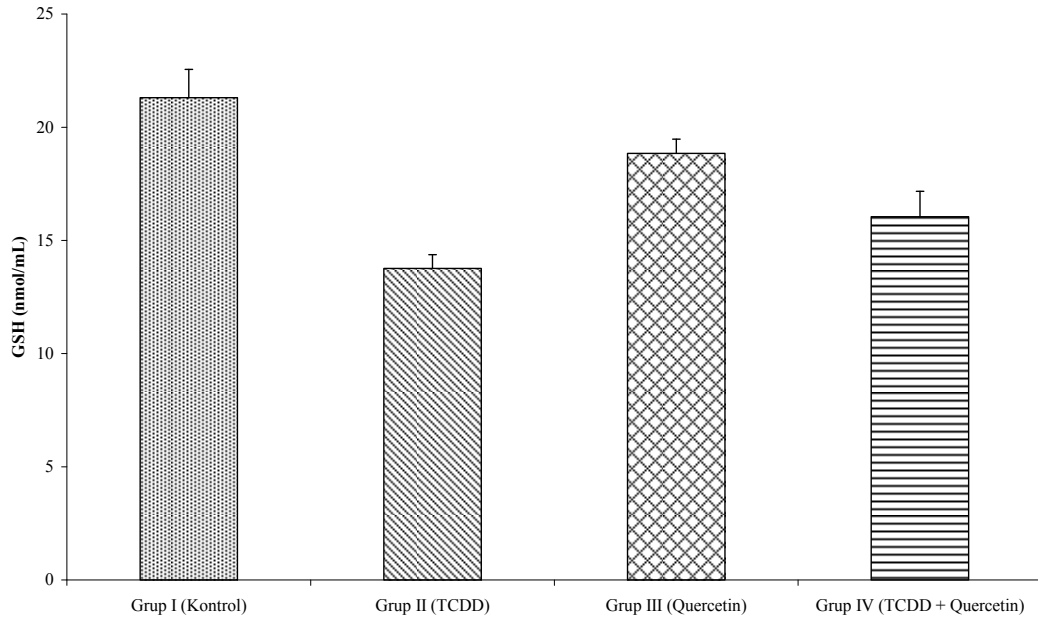
$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ile Grup 1 ve Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

$P \geq 0.001$ ; Grup 3 ile Grup 1 karşılaştırıldığında.

### 3.1.4.2. Damar dokusu GSH düzeyleri

Damar dokusu GSH düzeyleri Grup 2’de ( $13,76 \pm 0,61$  nmol/mL); Grup 1’e ( $21,30 \pm 1,25$  nmol/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0,001$ ). GSH düzeyleri Grup 3 ( $18,85 \pm 0,62$  nmol/mL) ve Grup 1 ( $21,30 \pm 1,25$  nmol/mL) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme görülmedi ( $P \geq 0,001$ ). GSH düzeyleri Grup 4 ( $16,05 \pm 1,12$  nmol/mL) ile Grup 2 ( $13,76 \pm 0,61$  nmol/mL) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme görülmedi ( $P \geq 0,001$ ).

Gruplara ait GSH düzeyleri Şekil 3.8.’de verilmiştir.



Şekil 3.8. Damar dokusu GSH düzeyleri.

$P \leq 0,001$ ; Grup 2 ile Grup 1 karşılaştırıldığında.

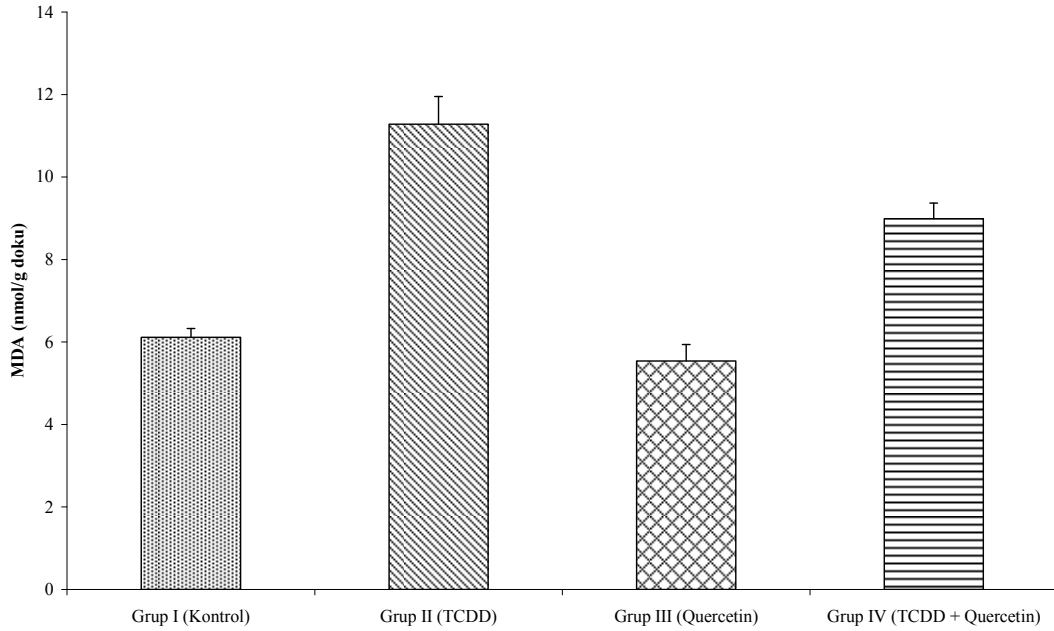
$P \geq 0,001$ ; Grup 3 ile Grup 1 ve Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

### 3.1.5. Dokulardaki MDA düzeyleri

#### 3.1.5.1. Kalp dokusu MDA düzeyleri

Kalp dokusu MDA düzeyleri Grup 2’de ( $11,28 \pm 0,67$  nmol/g doku); Grup 1’e ( $6,11 \pm 0,22$  nmol/g doku) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ). MDA düzeyleri Grup 3 ( $5,54 \pm 0,40$  nmol/g doku) ve Grup 1 ( $6,11 \pm 0,22$  nmol/g doku) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme görülmedi ( $P \geq 0.001$ ). MDA düzeyleri Grup 4’de ( $8,99 \pm 0,38$  nmol/g doku) ise Grup 2’ye ( $11,28 \pm 0,67$  nmol/g doku) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ).

Gruplara ait MDA düzeyleri Şekil 3.9.’de verilmiştir.



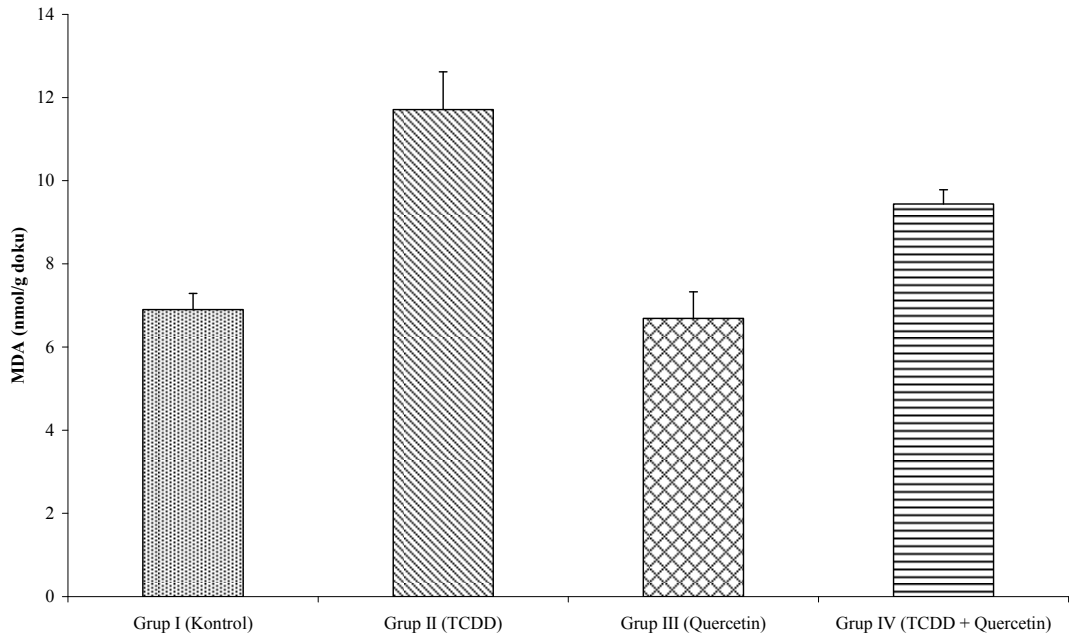
**Şekil 3.9.** Kalp dokusu MDA düzeyleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ve Grup 1, Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.  
 $P \geq 0.001$ ; Grup 3 ile Grup 1 karşılaştırıldığında.

### 3.1.5.2. Damar dokusu MDA düzeyleri

Damar dokusu MDA düzeyleri Grup 2’de ( $11,71 \pm 0,91$  nmol/g doku); Grup 1’e ( $6,90 \pm 0,39$  nmol/g doku) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $P \leq 0.001$ ). MDA düzeyleri Grup 3 ( $6,69 \pm 0,64$  nmol/g doku) ve Grup 1 ( $6,90 \pm 0,39$  nmol/g doku) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme görülmedi ( $P \geq 0.001$ ). MDA düzeyleri Grup 4’de ( $9,44 \pm 0,34$  nmol/g doku) ise Grup 2’ye ( $11,71 \pm 0,91$  nmol/g doku) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük bulundu ( $P \leq 0.001$ ).

Gruplara ait MDA düzeyleri Şekil 3.10.’de verilmiştir.



Şekil 3.10. Damar dokusu MDA düzeyleri.

$P \leq 0.001$ ; Grup 2 ve Grup 1, Grup 4 ile Grup 2 karşılaştırıldığında.

$P \geq 0.001$ ; Grup 3 ile Grup 1 karşılaştırıldığında.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde, gelişen sanayi ve teknolojiye bağlı olarak çevresel kirleticilerin doğada bulunmaları ve bunların canlılar üzerine olan etkileri ciddi sorunlar meydana getirmektedir. Bugün; basta kanser olmak üzere birçok kronik hastalığın temelinde bu çevresel kirleticilerin neden olduğu toksisitenin rol oynadığı iyi bilinmektedir.

Dioksin ve benzeri bileşikler ekosistemin hemen her bölümünde eser miktarlarda bulunabilen, güçlü zehirli etkiye sahip çevresel kirleticilerdir. Toksikolojik açıdan dioksin ve benzeri bileşiklerin insan ve hayvanlar tarafından alınmasına bağlı olarak birçok olumsuzluk oluşmakta ve en kötüsü de bu olumsuzlukların giderek artan bir şekilde devam etme potansiyeline sahip olmasıdır. Çünkü bu bileşiklerin doğaya salıverilmelerinin günden güne artmasıyla zehirlenme vakalarının çok daha ciddi problemlere yol açması kaçınılmaz hale gelmektedir [100].

Bugüne kadar dioksinin insanlarda çevresel maruz kalma ve kazasal zehirlenmelerine ilişkin bilgiler sınırlı kalmıştır. TCDD ve diğer konjenerleri ile olan zehirlenme vakalarında doğrudan ölüm oranlarının arttığına dair bilgiler tam olarak ortaya konulamamasına karşın bu bileşiklerin neden olabilecekleri birçok hastalığa (kanser, kalp-damar hastalıkları gibi) bağlı olarak gelişen ölüm vakalarının ise ciddi bir şekilde arttığı bilinen bir gerçektir [100].

Dioksin ve benzeri bileşikler ile ilgili olarak en önemli konu bu bileşiklerin çevrede uzun yıllar kalıcı olmalarından dolayı insan ve hayvanlarda daha çok kronik tipte zehirlenmelere neden olmalarıdır. Genel olarak insan ve hayvanlardaki zehirlenme semptomları benzer olduğundan daha çok hayvanlarda dioksin zehirlenme modelleri oluşturulmakta ve bu modeller insanlara uyarlanmaktadır. Uzun süre ve düşük dozlarda dioksine maruz bırakılan hayvanlarda görülen en önemli semptomlar gıda alımının düşmesi, istahsızlık ve sonuçta ölüme kadar giden kilo kayıplarıdır [101].

Hayvanlarda dioksin zehirlenmelerinin bilinen en önemli belirtilerden olan canlı ağırlık azalması yağ ve kas dokunun kaybına bağlı olarak görülmektedir. Wasting sendromu olarak bilinen bu durumda kilo kayıpları ölüme kadar yavaş yavaş gelişir ve ölüm anında yaklaşık %50 düzeyinde ağırlık kayıpları söz konusudur. Ancak ölümlerin nedeni olarak tek başına gıda ve su alımının azalması gösterilemeyeceği, aynı zamanda sindirim kanalından gıdaların emiliminin bozulması ve diğer birçok faktöründe etkili olabileceği gösterilmiştir [14].

TCDD'nin farklı yönlerdeki birçok etkisini araştırmak için çeşitli çalışmalarda intraperitoneal yolla TCDD uygulanarak ratlarda deneysel modeller oluşturulmuştur.

Yapılan çeşitli çalışmalarda TCDD'nin antioksidan enzim aktivitesini azalttığı ve lipid peroksidasyonunu artırdığı farklı şekillerde ortaya konulmuştur.

Çiftci ve arkadaşları, kalıcı bir evre kirleticisi olan 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioksin (TCDD)'nin, curcumin,  $\beta$ -(myrcene) ve 1,8 (sineol) antioksidan savunma sistemi üzerinde etkinliğini enzim düzeyinde incelemişlerdir. TCDD uygulamasıyla karaciğer SOD, CAT, GSH-Px enzim aktivitesini ve GSH düzeylerinde önemli düzeyde azalma gözlenirken, kontrol ve diğer gruplara göre MDA düzeylerinde anlamlı artışlar gözlenmiştir. Curcumin, myrcene ve sineol uygulaması ile genel olarak MDA seviyeleri azalırken; SOD, CAT, GSH-Pxenim aktivitesini ve GSH düzeyleri artmaktadır. Bu maddeler TCDD ile birlikte uygulandığı zaman SOD, CAT, GSH-Px aktivitesini, GSH ve MDA düzeylerinin kontrol grubuna yakın düzeye getirildiği grlmştir [102].

Antioksidan enzim aktivitesinin lldğ başka bir çalışmada, karaciğer, böbrek, kalp ve beyin SOD aktivitesinin TCDD uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre genellikle dozlara göre azaldığı ancak istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir. TCDD uygulanan gruplara ait CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre karaciğer, böbrek ve beyin dokularında doza bağımlı olarak anlamlı azalmalar gözlenirken, kalp dokusunda ise CAT aktivitesinin TCDD uygulamasından pek etkilenmediği belirlendi. GSH-Px aktivitesinde ise tek başına TCDD uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı azalmalar olduğu tespit edilmiştir [103].

Lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesinin lldğ diğer bir çalışmada, TCDD'nin rat karaciğerinde oluşturduğu oksidatif stres üzerine quercetin ve chrysinin koruyucu etkisi araştırılmış olup, TCDD uygulaması ile SOD, CAT, GSH-Px ve GSH düzeylerinde azalma olduğu fakat MDA düzeylerinde artışlar olduğu gözlenmiştir [104].

TCDD'nin kalp-damar sistemi üzerinde oluşturduğu hasarlar değişik çalışmalarla farklı şekillerde incelenmiştir.

Allen ve arkadaşları, maymunlara düşük dozlarda düzenli olarak verilen TCDD'nin organlarda morfolojik değişikliklere neden olduğu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada dioksinlere maruz kaldıktan sonra ölen maymunların epikardiyum, endokardiyum ve miyokardiyumunda kanamaların olduğunu tespit etmişlerdir [25]. Kelling ve arkadaşları çalışmalarında, ratların kalp dokusundaki mekanik fonksiyonlar

üzerine TCDD'nin etkisini incelemişler, dioksinlere maruz kalan ratların kalp fonksiyonlarında, kalp atım oranında ve kan basıncında azalmaların olduğunu, ancak miyokardiyal peroksidaz aktivitesinde artış olduğu gözlemlenmiştir [26].

Bazı çalışmalarda, dioksin ve benzeri bileşiklere maruz kalan işçilerde kalp ritim bozuklukları, hipertansiyon ve anormal periferik arteriyel kan akışı riskinin yüksek olduğu ve iskemik kalp rahatsızlığından ölümlerin önemli derecede arttığını ileri sürmüşlerdir [27-29]. Scott ve arkadaşları ise, Dioksin ve benzeri bileşiklerin zebra balıklarının embriyolarındaki etkilerini incelediklerinde ilk olarak perikardiyal ödem, ardından azalan kan akış hızı, kardiyak jel tabakasında azalma, kardiyovasküler ve iskelet sistemi fonksiyon bozukluğu gibi anormalliler gözlemlenmiştir [32].

Kuvvetli bir antioksidan olan quercetin özellikle peroksi nitril ve hidroksil radikali başta olmak üzere süperoksit radikali, lipid peroksil radikali ve nitrik oksit radikalini kapsayan çeşitli radikallere karşı antioksidan olarak rol oynadığı, ayrıca singlet oksijen ve hidrojen peroksit ile de etkileşime girdiği bilinmektedir [105-107].

Çeşitli çalışmalarla quercetin antioksidan savunma sistemi enzimlerini artırdığı ve lipid peroksidasyonunu azalttığı farklı şekillerde ortaya konulmuştur.

Ratlarda etanolün mide lezyonları üzerine etkisinin, quercetin antioksidan ve anti-ülserojen etkisinin araştırılmasında, quercetin mide mukoza hasarı ve etanol ile indüklenen ülserojenesis tedavisinde kullanılabilir olması ve etanol tüketiminden sonra elde edilen morfolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikleri önlemesi nedeniyle, doku MDA ve serum NO konsantrasyonu SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olduğu gözlenmiştir. Quercetin tedavisi ile MDA ve NO düzeylerinde azalmalar elde edilmiş olup bu durum ise quercetin antioksidan özelliğinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Sonuç olarak, quercetin antioksidan enzim aktivitesini artırıp oksidatif stresi azaltarak etanol ile oluşturulan mide ülserine karşı koruyucu etkisi olduğu ifade edilmektedir [108].

Birbirine paralel olarak yapılan iki ayrı çalışmada quercetin, ratlarda oluşturulan nefrotoksisite ve kardiotoksisiteye karşı koruyucu etki gösterdiği ve artmış lipid peroksidasyonunu önemli düzeyde azalttığı belirtilmiştir [82]. Hertog çalışmasında, yüksek dozda quercetin alımının ileri yaştaki erkeklerde kardiyovasküler riski azalttığını ileri sürmüştür. Bu koruyucu etkinin de LDL oksidasyon inhibisyonu,

nitrik oksit inhibisyonu, trombosit agregasyonu, anti-inflamatuar etki gibi çeşitli etkilerinden kaynaklandığını belirtmiştir [109].

Quercetin kalp-damar sistemi üzerinde oluşturduğu antioksidan etkiler birçok çalışmada farklı şekillerde ortaya konulmuştur.

Lipid peroksidasyon derecesini yansıtmak için quercetin düzeylerinin ölçüldüğü çalışmada, sıçan kalplerine kronik tedavi ve akut infüzyon olarak verilen quercetin iskemi-perfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, quercetin antioksidan etkinliği ile oksidatif strese bağlı doku hasarını azaltarak global iskemi sonrası perfüzyonda miyokardiyal iyileşmeyi artırdığını ve bu koruyucu etkinin de özellikle kronik tedavi uygulanan kalplerde belirgin olarak izlendiğini ileri sürmüşlerdir [110]. Arivazhagan çalışmasında yaşlanma ile artan lipid peroksidasyon düzeylerini farklı organlarda değerlendirmiş; quercetin kalp ve damar bölgelerinde MDA düzeylerini azalttığı, lipid peroksidasyon ve protein oksidasyonunu önlediğini ortaya koymuştur [111].

Oksidan moleküller organizmada sürekli bir oluşum ve antioksidanlar tarafından sürekli bir etkisizleştirilme süreci içindedirler. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasındaki hassas denge korunamadığı takdirde hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır [35]. Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzimleri serbest oksijen radikallerinin hasarına karşı en önemli savunma mekanizmalarını oluştururlar. SOD enzimi, toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırarak, potansiyel zararlı etkilere karşı savunmada çok önemli bir rol oynar. Normal koşullarda hücrelerde bulunan hidrojen peroksit ve diğer peroksitlerin yıkımını katalize eden GSH-Px, lipid peroksidasyonunun başlaması ve gelişmesini engelleyen önemli bir enzimdir. Ancak yüksek konsantrasyonlardaki hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu esas olarak CAT üstlenmektedir [35,112].

Biz de, çalışmamızda ratlarda deneysel olarak subkronik modeli oluşturarak, oksidan-antioksidan sistem, lipid parametreleri ile kalp-damar yapısı üzerine etkilerini bir antioksidan olan quercetin bu etkileri ne yönde değiştireceğini araştırmayı amaçladık.



Çalışmamızda, kalp dokusu TCDD grubundaki SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan enzim aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD, CAT ve GSH P-x aktivitelerinin TCDD ile anlamlı şekilde azaldığı ( $P \leq 0.001$ ) ve eşzamanlı quercetin uygulanmasının bu azalışı engellediği gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ) (Şekil 3.1, 3.3 ve 3.5).

Fatih ve arkadaşları tarafından yapılan farklı dozlarda TCDD uygulamasıyla antioksidan enzim aktivitelerinin ölçüldüğü bir çalışmada; karaciğer, böbrek, kalp ve beyin SOD aktivitelerinin TCDD uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre genellikle doza bağımlı azaldığı ancak istatistiksel olarak önemli olmadığı ifade edilmektedir. TCDD uygulanan gruplara ait CAT aktivitelerinde kontrol grubuna göre karaciğer, böbrek ve beyin dokularında doza bağımlı olarak anlamlı azalmalar gözlenirken, kalp dokusunda ise CAT aktivitelerinin TCDD uygulamasından etkilenmediği belirlendi. GSH-Px aktivitelerinde ise tek başına TCDD uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı azalmalar olduğu tespit edilmiştir [103].

Antioksidan enzim aktivitelerinin ölçüldüğü diğer bir çalışmada TCDD'nin rat karaciğerinde oluşturduğu oksidatif stres üzerine quercetin ve chrysinin koruyucu etkisi araştırılmış olup; TCDD tarafından uyarılan oksidatif stresin SOD, CAT, GSH-Px enzim aktivitelerinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Rat karaciğerinde TCDD'nin oluşturduğu oksidatif stres üzerine quercetin ve chrysinin koruyucu etki yarattığı belirtilmiştir [104].

Çalışmamızda, damar dokusu TCDD grubundaki SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan enzim aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD, CAT ve GSH P-x aktivitelerinin TCDD ile anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ). Eşzamanlı quercetin uygulanmasıyla GSH-Px enzim aktivitesinde anlamlı artış gözlenirken ( $P \leq 0.001$ ) SOD, CAT enzim aktivitelerindeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p \geq 0,001$ ) (Şekil 3.2, 3.4 ve 3.6).

TCDD ile eşzamanlı quercetin uygulandıktan sonra SOD ve CAT enzim aktivitelerinde, sadece TCDD uygulanan gruba göre artışlar gözlenmesine rağmen bu artışlar istatistiksel olarak anlam içermemektedir.

Normal hücrelerde enzimatik savunma sistemi dışında birçok non-enzimatik savunma sistemi de bulunmaktadır. Önemli bir endojen ve non-enzimatik antioksidan olan redükte glutatyon (GSH) serbest radikaller ve peroksinitritlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korur. Ayrıca protein yapısındaki sülfhidril gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller [103].

Çalışmamızda, kalp dokusu TCDD grubundaki GSH düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeylerinin TCDD ile anlamlı şekilde azaldığı ( $P \leq 0.001$ ) ve eşzamanlı quercetin uygulanmasının bu azalışı engellediği gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ) (Şekil 3.7).

Çalışmamızda, damar dokusu TCDD grubundaki GSH düzeyleri kontrol grubu karşılaştırıldığında GSH düzeylerinin TCDD ile anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ). Eşzamanlı quercetin uygulanmasıyla GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ) (Şekil 3.8).

Serbest radikaller yüksek reaktivitelerinden dolayı membran çoklu doymamış yağ asitleri ile etkileşerek peroksidasyonu başlatmaktadırlar. Bu şekilde oluşan lipid peroksitleri kolaylıkla yıkılarak başta MDA olmak üzere farklı sekonder ürünleri meydana getirmektedir [108].

Çalışmamızda kalp dokusunda TCDD uygulanan gruptaki MDA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeylerinin TCDD uygulanması ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ( $P \leq 0.001$ ) ve eşzamanlı quercetin uygulanmasının bu artışı engellediği gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ) (Şekil 3.9).

TCDD'nin rat karaciğerinde oluşturduğu oksidatif stres üzerine quercetin ve chrysinin koruyucu etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada lipid peroksidasyonunun TCDD tarafından uyarılan oksidatif stres ile arttığı, quercetin ve chrysin uygulaması ile MDA düzeylerini azalttığı belirtilmiştir. [104].

Çalışmamızda, damar dokusunda TCDD uygulanan gruptaki MDA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeylerinin TCDD uygulanması ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ). Eşzamanlı quercetin uygulanmasıyla MDA düzeylerinde anlamlı azalmalar gözlemlendi ( $P \leq 0.001$ ) (Şekil 3.10).

Arivazhagan'ın yapmış olduğu çalışmada, yaşlanma ile artan lipid peroksidasyon düzeyleri farklı organlarda değerlendirilmiş; quercetin kalp ve damar bölgelerinde MDA düzeylerini azalttığı, lipid peroksidasyon ve protein oksidasyonunu önlediğini göstermiştir [111].

Vücuttaki her bölge, her doku, her organ farklı nitelikte ve enzimleri de bu ortamların şartlarına uyacak özelliktedir. Her dokunun metabolizmasının yüklenmiş olduğu enzim miktarı da farklıdır. Yani dokudaki enzim miktarı ne kadar fazla ve ne kadar fonksiyonel ise o dokudaki antioksidan savunma da o kadar aktiftir [102,103].

Damar dokusundaki enzim aktivitelerinin kalp dokusuna göre genel anlamda düşük bulunuşunun nedeni bu bağlamda açıklayabiliriz.

Çalışmamız sonucunda; TCDD'nin oluşturduğu oksidatif stres ile kalp ve damar dokularında lipid peroksidasyonunu artırdığı, antioksidan enzim aktivitelerini ise azaltıcı yönde etki gösterdiği görülmüştür. Quercetin'in kalp-damar sistemi üzerinde TCDD'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunu azalttığı, antioksidan enzim aktivitelerini genellikle artırdığı gözlemlendi. Quercetin'in bu yararlı etkileri göz önüne alındığında, TCDD ve diğer çevresel kirleticilerin neden olduğu toksisitelerde kalp-damar sisteminde tedavi amaçlı kullanılabileceği kanaatine varılabilir.

## 5. KAYNAKLAR

- [1] F. Koç and F. Kısa, *Dioksinler*, **Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi**, 16, (2005) 1-2
- [2] O. ÇİFTÇİ, *Dioksinli Bileşiklerin Etki Mekanizması, Kimyasal Yapısı ve Toksikokinetik Özelliklerinin İncelenmesi*, **İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, 17, (2010) 413-422.
- [3] E.D. Lavric, A.A. Konnov and J.D. Ruyck, *Surrogate Compounds for Dioxins in Incineration*, **Rev. Waste Management**, 25, (2005) 755-765.
- [4] A. Beukens, H. Huang and L. Stieglitz, *Dioxins from the sintering process. 1. particle charecteristation and SEM/ wet analysis of samples*, **Organohalogen Comp.**, 41, (1999) 109-112.
- [5] F.X. Van Leeuwen, M. Feeley, D. Schrenk, J.C. Larsen, W. Farland and M. Younes, *Dioxins: WHO's tolerable daily intake (TDI) revisited*. **Chemosphere**, 40, (2000) 1095-1101.
- [6] United States Environmental Protection Agency (USEPA), Exposure and Human Health Reassessment of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) and Related Compounds National Academy Sciences (NAS) Review Draft. Part I: Estimating Exposure to Dioxin-Like Compounds. Volume 2: Properties, Environmental Levels, and Background Exposures, Chapter 2: Physical and Chemical Properties and Fate. Exposure Assessment and Risk Characterization Group National Center for Environmental Assessment–Washington Office Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC, (2003).
- [7] A.H. Smith and P. Lopipero, Evaluation of the toxicity of dioxins and dioxin-like PCBs: A health risk appraisal for the New Zealand population, Final report released by the Ministry for the Environment, (2001).
- [8] World Health Organization (WHO), Executive Summary Report of ‘Assessment of health risks of dioxins; re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI), (1998).
- [9] K. Srogi, *Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in environmental and human samples: a review*. **Environ. Chem. Lett.**, 6, (2008) 1-28.
- [10] A. Papadopoulos, I. Vassiliadou, D. Costopoulos, C. Papanicolaou, L. Leondiadis, *Levels of dioxins and dioxin like PCBs in food simples on the greek market*, **Chemosphere**, 57: 5 (2003) 413-419.

- [11] European Commission meeting at Brussels July. Fact Sheet on dioxin in feed and food. Published on, (2001).
- [12] IARC (ed) IARC Working Group on the evaluation carcinogenic risks to humans: Polychlorinated dibenzo-para- dioxins and dibenzofurans. Lyon, France, 4-11 IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum., 69, (1997).
- [13] R. Pohjanvirta, J. Tuomisto, *Short-term toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in laboratory animals: effects, mechanisms and animal models*, **Pharmacol. Rev.**, 46, (1994) 483-549.
- [14] P.I. Mitrou, G. Dimitriadis, S.A. Raptis, *Toxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related compounds*. **Eur. J. Intern. Med.**, 12, (2001) 406-411.
- [15] A.B. Okey, M.A. Franc, I.D. Moffat, N. Tijet, P.C. Boutros, M. Korkalainen, J. Tuomisto, R. Pohjanvirta, *Toxicological implications of polymorphisms in receptors for xenobiotic chemicals: The case aryl hydrocarbon receptor*, **Toxicol. and App. Pharmacol.**, 207, (2005) 43-51.
- [16] J. Mimura, K. Yamashita, K. Nakamura, M. Morita, T.N. Takagi, K. Nakao, M. Ema, K. Sogawa, M. Yasuda, M. Katsuki, Y. Fuji-Kuriyama, *Loss of teratogenic response to 2,3,7,8-TCDD in mice lacking the Ah receptor*, **Genes to Cells**, 2, (1997) 645-654.
- [17] J. Jonosek, K. Hilscherova, L. Blaha, I. Holoubek, *Environmental xenobiotics and nuclear receptors- Interactions, effects and in vitro assessment*, **Toxicology in vitro**, (2005).
- [18] D.S. Riddick, C. Lee, A. Bhatena, Y.E. Timsit, P.Y. Cheng, E.T. Morgan, R.A. Prough, S.L. Ripp, K.K. Miller, A. Jahan, JY. Chiang, *Transcriptional suppression of cytochrome P-450 genes by endogenous and exogenous chemicals*, **Drug Metab. Dispos**, 32, (2004) 367-375.
- [19] A. Hossain, S. Tsuchiya, M. Minegishi, M. Osada, S. Ikawa, F.A. Tezuka, M. Kaji, T. Konno, M. Watanabe, H. Kikuchi, *The Ah receptor is not involved in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- p-dioxin-mediated apoptosis in human leukemic T cell lines*, **J. Biol. Chem.**, 273, (1998) 19853-19858.
- [20] W. Parzefall, *Risk assessment of dioxins contamination in human food*, **Food and Chemical Tech.**, 40, (2002) 1185-1189.

- [21] F. Sakin, *Farklı dozlarda 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin tarafından ratlarda beyin, karaciğer, böbrek ve kalp gibi dokularda oluşturulan oksidatif stres üzerine likopenin koruyuculuğu*. Doktora tezi, Fırat University Turkey, 2008.
- [22] D.J. Hoffman, B.A. Rattner, C.M. Bunck, A. Krynitsky, H. M. Ohlendorf, R.W. Lowe, *Association between PCBS and lower embryonic weight in black-crowned night herons in San Francisco bay* 19, (1986) 383-391.
- [23] B. Pier Alberto, Z. Carlo, C. Angela, Pesatori, G. Stefano, S. Maurizio and R. Laura, *Ten-year mortality study of the population involved in the seveso incident in 1976*, **Am. J. Epidemiol.**, 129, (1989) 1187-1200.
- [24] A.C. Pesatori, C. Zocchetti, S. Guercilena, D. Consonni, D. Turrini, P.A. Bertazzi, *Dioxin exposure and non-malignant health effects: a mortality study*; **Occup. Environ. Med.**, 55, (1998) 126-131.
- [25] J.R. Allen, D.A. Barsotti, J.P. Van Miller, L.J. Abrahamson, J.J. Lalich, *Morphological changes in monkeys consuming a diet containing low levels of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin*, **Food Cosmet. Toxicol.**, 15, (1977) 401-410.
- [26] C.K. Kelling, L.A. Menahan, R.E. Peterson, *Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin treatment on mechanical function of the rat heart*, **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 91, (1987) 497-501.
- [27] M. Flesch, Y. Ko, C. Seul, R. Düsing, H. Feltkamp, H. Vetter, A. Sachinidis, *Effects of TCV-116 and CV-11974 on angiotensin II-induced responses in vascular smooth muscle cells*, **Eur. J. Pharmacol.**, 28: 289 (1995) 399-402.
- [28] J. Vena, P. Boffetta, H. Becher, T. Benn, H.B. Bueno-de-Mesquita, D. Coggon, D. Colin, D. Flesch-Janys, L. Green, T. Kauppinen, M. Littorin, E. Lynge, J.D. Mathews, M. Neuberger, N. Pearce, A.C. Pesatori, R. Saracci, K. Steenland, M. Kogevinas, *Exposure to dioxin and nonneoplastic mortality in the expanded IARC international cohort study of phenoxy herbicide and chlorophenol production workers and sprayers*, **Environ. Health Perspect**, 106: 2 (1998) 645-653.
- [29] G.M. Calvert, D.K. Wall, M.H. Sweeney, M.A. Fingerhut, *Evaluation of cardiovascular outcomes among U.S. workers exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin*, **Environ. Health Perspect**, 106: 2 (1998) 635-643.
- [30] H. Vural, *Gıda Kirliliği Açısından Dioksin ve Furan İzomerleri*. **Ekoloji Çevre Dergisi**, 15, (1995) 45-49.

- [31] S. Aslan, M. Korucu, K.A. Karademir, E. Durmuşoğlu, *Kocaeli'nde Yerel Olarak Üretilen Yumurtalarda Dioksin ve Furan (PCDD/F) Seviyelerinin Belirlenmesi*. 7. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, Yaşam Çevre Teknoloji, İzmir, (2007).
- [32] J.A. Scott, J.P. Incardona, K. Pelkki, S. Shepardson, P.V. Hodson, *AhR2-mediated, CYP1A-independent cardiovascular toxicity in zebrafish (Danio rerio) embryos exposed to retene*. **Aquat. Toxicol.**, 17, 101 (2011) 165-174.
- [33] United States Environmental Protection Agency (USEPA), Polychlorinated Dibenzop- dioxins and related compounds update: Impact on fish advisories. Office of Water, EPA- 823-F-99-015, (1999).
- [34] A. Schecter, L. Birnbaum, J.J. Ryan, J.D. Constable, *Dioxins: An overview*, **Environ. Res.**, 101, (2006) 419-428.
- [35] Y. Mochida, H. Fukata, Y. Matsuno, C. Mori, *Reduction of dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human body*. **Fukuoka Acta Med.**, 98, (2007) 106-113.
- [36] K. Morita, H. Hirakawa, T. Matsueda, T. Iida, H. Tokiwa, *Stimulating effect of dietary fiber on fecal excretion of polychlorinated dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated dibenzo-pdioxins (PCDD) in rats*. **Fukuoka Igaku Zasshi**, 84, (1993) 273-281.
- [37] S. Takenaka, K. Moria, K. Takahashi, *Stimulation of the fecal excretion of polychlorinated biphenyls (KC-600) by diets containing rice bran fiber and cholestyramine*. **Fukuoka Igaku Zasshi**, 82, (1991) 310-316.
- [38] Y. Kimura, Y. Nagata, R.K. Buddington, *Some dietary fibers increase elimination of orally administered polychlorinated biphenyls but not that of retinol in mice*. **J. Nutr.**, 34 (2004) 135-142.
- [39] K. Morita, M. Ogata, T. Hasegawa, *Chlorophyll derived from Chlorella inhibits dioxin absorption from the gastrointestinal tract and accelerates dioxin excretion in rats*. **Environ. Health Perspect**, 109, (2001) 289-294.
- [40] H. Takekoshi, G. Suzuki, H. Chubachi, M. Nakano, *Effect of Chlorella pyrenoidosa on fecal excretion and liver accumulation of polychlorinated dibenzo-p-dioxin in mice*. **Chemosphere**, 59, (2005) 297-304.
- [41] G.A. Moser and M.S. McLachlan, *A non-absorbable dietary fat substitute enhances elimination of persistent lipophilic contaminants in humans*. **Chemosphere**, 39, (1999) 1513-1521.

- [42] E.A. Hassoun, M. Al-Ghafri, A. Abushaban, *The role of antioxidant enzymes in TCDD-induced oxidative stress in various brain regions of rats after subchronic exposure*. **Free Radic. Biol. Med.**, 35, (2003) 1028-1036.
- [43] M.Q. Hassan, S.J. Stohs, W.J. Murray, *Effects of vitamins E and A on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced lipid peroxidation and other biochemical changes in the rat*. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 14, (1985) 437-442.
- [44] E.A. Hassoun, J. Vodhanel, A. Abushaban, *The modulatory effects of ellagic acid and vitamin E succinate on TCDD-Induced oxidative stress in different brain regions of rats after subchronic exposure*, **J. Biochem. Molecular Toxicology**, 18, (2004) 196-203.
- [45] M. Serafini, D. Del Rio, *Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool*, **Redox Report**, 9, (2004) 145-152.
- [46] M. Abdollahi, A. Ranjbar, S. Shadnia, S. Nikfar, A. Rezaie, *Pesticides and oxidative stress: a review*. **Med. Sci. Monit.**, 10, (2004) 141-147.
- [47] H. Sies, *Role Of Reactive Oxygen Species In Biological Processes*, **Klin. Wochenscht**, 69, (1991) 965-968.
- [48] R.K. Murray, D.K. Granner, R.A. Mayes, V.W. Rodwell, *fizyolojik öneme sahip lipidler*, N. Dikmen, T. Özgüven, Harper'in biyokimyası, yirmi dördüncü baskı, Barış kitabevi, İstanbul, 1996.
- [49] J.M. Gutteridge, *lipid peroxidation and antioxidant as biomarkers of tissue damage*, **Clin. Chem.**, 41, (1995) 1819-1828.
- [50] İ. Dikici, *Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması*, Selçuk Üni. Tıp Fakültesi, Biyokimya anabilim dalı, uzmanlık tezi, Konya, 1999.
- [51] B. Halliwell, J.M. Gutteridge, *lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy*, **Lancet**, 23, (1984) 1396-1397.
- [52] B. Halliwell, *free radicals antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence?* **Lancet**, 10, (1994) 721-724.
- [53] S.R. Maxwell, *Prospect fort he use of antioxidant therapies*, **Drugs**, 49, (1995) 345-361.
- [54] R.S. Sohal, U.T. Brunk, *Mitochondrial production of pro-oxidants and cellular senescence*, **Mutat Res.**, 275, (1992) 295-304.



- [55] P.M. Reilly, H.J. Schiller, G.B. Bulkley, *Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites*, **Am. J. Surg.**, 161, (1991) 488-503.
- [56] K. Kılınç, *Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri*, **Biyokimya Dergisi**, 2, (1985) 60-89.
- [57] G.S. Oostenbrug, R.P. Mensink, M.R. Hardeman, T. De Vries, F. Brouns, G. Hornstra, *Exercise performance, red blood cell deformability, and lipid peroxidation: effects of fish oil and vitamin E*, **J. Appl. Physiol.**, 83, (1997) 746-752.
- [58] E.A. Hassoun, F. Li, A. Abushaban, S.J. Stohs, *The relative abilities of TCDD and its congeners to induce oxidative stress in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure*. **Toxicol.** 145 (2000) 103-113.
- [59] N.Z. Alsharif, W.J. Schlueter, S.J. Stohs, *Stimulation of NADPH-dependent reactive oxygen species formation and DNA damage by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin*. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 26, (1994) 392-397.
- [60] N.Z. Alsharif and E.A. Hassoun, *Protective effects of Vitamin A and Vitamin E succinate against 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-Induced bodywasting, hepatomegaly, thymic atrophy, production of reactive oxygen species and DNA damage in C57BL/6J mice*. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.**, 95 (2004) 131-138.
- [61] C.Y.Y. Chan, C.P. Kim, L.M. Winn, *TCDD-induced homologous recombination: The role of the Ah receptor versus oxidative DNA damage*, **Mutat Res.**, 563, (2004) 71-79.
- [62] H.G. Shertzer, D.W. Nebert, A. Puga, M. Ary, D. Sonntag, K. Dixon, L.J. Robinson, E. Cianciolo, T.P. Dalton, *Dioxin causes a sustained oxidative stress response in the mouse*, **Biochem. Biophys Res. Commun.**, 253, (1998) 44-48.
- [63] E.A. Hassoun, S.C. Wilt, M.J. DeVito, A. Van Birgelen, N.Z. Alsharif, L.S. Birnbaum, S.J. Stohs, *Induction of oxidative stress in brain tissues of mice after subchronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin*. **Toxicol. Sci.**, 42, (1998) 23-27.
- [64] J.Y. Park, M.K. Shigenaga, B.N. Ames, *Induction of cytochrome P-4501A1 by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin or indolo(3,2-b)-carbazole is associated with oxidative DNA damage*. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 93, (1996) 2322-2327.

- [65] D.W. Nebert, A. Puga, V. Vasiliou, *Role of the Ah receptor and the dioxin-inducible [Ah] gene battery in toxicity, cancer, and signal transduction*. **Ann. NY. Acad. Sci.** 685, (1993) 624-640.
- [66] P.A. Kern, R.B. Fishman, W. Song, A. Brown, V. Fonseca, *The effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on oxidative enzymes in adipocytes and liver*. **Toxicol.**, 171, (2002) 117-125.
- [67] C. Latchoumycandane, P.P. Mathur, *Effects of vitamin E on reactive oxygen species mediated 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity in rat testis*. **J. Appl. Toxicol.**, 22, (2002) 345-351.
- [68] B.P. Slezak, G.E. Hatch, M.J. DeVito, J.J. Diliberto, R. Slade, K. Crissman, E. Hassoun, L.S. Birnbaum, *Oxidative stress in female B6C3F1 mice following acute and subchronic exposure to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)*. **Toxicol. Sci.**, 54, (2000) 390-398.
- [69] B.P. Slezak, J.T. Hamm, J. Reyna, C.H. Hurst, L.S. Birnbaum, *TCDD-Mediated oxidative stress in male rat pups following perinatal exposure*. **J. Biochem. Mol. Toxicol.**, 16, (2002) 49-52.
- [70] M.L. Urso and P.M. Clarkson, *Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation*. **Toxicol.**, 189, (2003) 41-54.
- [71] A. Aydın, A. Sayal, A. İsimer, Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ayın Kitabı, 2001.
- [72] G.W. Winston, *Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals*, **Comp. Biochem. Physiol.**, 100, (1991) 173–176.
- [73] M. Hermes-Lima, J.M. Storey, K.B. Storey, *Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress*. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), *Cell and Molecular Responses to Stress*, **Elsevier Press, Amsterdam**, (2001) 263-287.
- [74] K.E. Heim, A.R. Tagliaterro and D.J. Bolibya, *Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationship*, **J. Nutr. Biochem**, 13, (2002) 572-584.
- [75] P.C.H. Hollman, M.G.L. Hertog and M.B. Katan, *Analysis and health effects of flavonoids*, **Food Chem.**, 57, (1996) 43-46.
- [76] J. Zhishen, T. Mengcheng and W. Jianming, *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals*, **Food Chem.**, 64, (1999) 555-559.

- [77] R. Hirano, W. Sasamoto, A. Matsumoto, H. Itakura, O. Igarashi and K. Kondo, *Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation*, **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, 47, (1996) 357-362.
- [78] E. Miller and P. Schreier, **Food Chem.**, 17, 143 (1985).
- [79] R. Karadag and H. Böhmer, “**Dyes in History and Archaeology**”, 16, 106 (2001).
- [80] I. Erlund, T. Kosonen, G. Alfthan et al, *Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers*. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, 56, (2000) 545–553.
- [81] E. Emre Tugrul, *Quercetin'in bakır (II) ve çinko (II) komplekslerinin karalılık sabitlerinin tayini*, Marmara Üniversitesi, İstanbul, 2006.
- [82] “The Merck Index”, Thirteenth Edition, Merck & Co Inc., White House Station, New Jersey, 737 (2001) 123.
- [83] J.A. Ross, C.M. Kasum, *Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety*, **Annu. Rev. Nutrition.**, 22, (2002) 19–34.
- [84] P. Mullie, P. Clarys, P. Deriemaeker, M. Hebbelinck, *Estimation of daily human intake of food flavonoids*. **Int. J. Food Sci. Technol.**, 59, (2008) 291-298.
- [85] J. Kuhna, *The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition*. **World Rev. Nutr. Diet**, 24, (1976) 117–191.
- [86] A. Kahraman, *Ultraviyole A(UVA) Işığının Oluşturduğu Oksidatif Stres Üzerindeki Quercetin'in rolü*, Doktora Tezi, (1998).
- [87] A. Kahraman, M. Serteser, T. Köken, *Flavonoidler*. **KocatepeTıp Dergisi**, 3, (2002) 01-08.
- [88] J. Terao, K. Murota et al, *Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism*, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 417, (2003) 12-17.
- [89] M. Jr. Elliott, K. Chithan et al, *Free radical scavenging and antioxidant of plant flavonoids*. **Plenum Pres. New York**, (1994).
- [90] J.N. Robert, N. Els, E.C.H. Danny, G.B. Petra, N. Klaske, A.M.P. Leeuwen et al, *Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications*. **Am. J. Clin. Nutr.**, 74, (2001) 418-443.
- [91] M. Richter, R. Ebermann, B. Marian, *Quercetin induced apoptosis in colorectal tumor cells: possible role of EGF receptor signaling*. **Nutr. Cancer.**, 34, (1999) 88–99.

- [92] I. Murtaza, G. Marra, R. Schlapbach et al, *A preliminary investigation demonstrating the effect of quercetin on the expression of genes related to cellcycle arrest, apoptosis and xenobiotic metabolism in human CO115 colon-adenocarcinoma cells using DNA microarray*. **Biotechnol. Appl. Biochem.**, 45, (2006) 29–36.
- [93] N. Xing, Y. Chen, S.H. Mitchell, C.Y. Young, *Quercetin inhibits the expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells*. **Carcinogenesis**, 22, (2001) 409–414.
- [94] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, *Protein measurement with pholin phenol reagent*, **J. Biol. Chem.**, 193, (1951) 265-275.
- [95] Y. Sun, L.W. Oberley, Y. Li, *A simple method for clinical assay of superoxide dismutase*, **Clin. Chem.**, 34, (1988) 497-500.
- [96] H. Aebi, *Catalase in vitro assay methods*, **Methods Enzymol.** 105, (1984) 121-126.
- [97] W. Paglia De Valentine, *Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase*, **J. Lab. Clin. Med.**, 70, (1967) 158-159.
- [98] J. Sedlak and R.H. Lindsay, *Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent*, **Anal. Biochem.**, 24; 25 (1968) 192-205.
- [99] K. Yagi, *Assay of lipid peroxidation in blood plasma or serum*, **Methods Enzymol.**, 105, (1984) 328-331.
- [100] United States Environmental Protection Agency (USEPA), *Exposure and Human Health Reassessment of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) and Related Compounds*. **National Academy Sciences (NAS) Review Draft**, Part I: Estimating Exposure to Dioxin-Like Compounds, Volume 1: Sources of Dioxin-Like Compounds in the United States, Washington, D.C., National Center for Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency, 2004.
- [101] L.S. Birnbaum, J. Tuomisto, *Non-carcinogenic effects of TCDD in animals*, **Food Addit Contam Part. A.**, 17, (2000) 275-288. M.S. Seefeld, S.W. Corbett, R.E. Keeseey, R.E. Peterson, *Characterization of the wasting syndrome in rats treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin*, **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 73, (1984) 311-322.

- [102] O. Ciftci, I. Ozdemir, S. Tanyıldızı, S. Sildiz, H. Oguzturk, *Antioxidative effects of curcumin,  $\beta$ -myrcene and 1,8-cineole against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver*, **Toxicol. Ind. Health**, 2011, 0748233710388452.
- [103] S. Fatih, *Farklı dozlarda 2,3,7,8-Tetraklorodibenzo-p-dioksin tarafından ratlarda beyin, karaciğer, böbrek ve kalp gibi dokularda oluşturulan oksidatif stres üzerine likopenin koruyuculuğu*, Doktora Tezi, Farmakoloji ve Toksikoloji ABD, Elazığ, 2008.
- [104] O. Ciftci, N. Vardı, I. Ozdemir, *Effects of quercetin and chrysin on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced hepatotoxicity in rats*, **Environmental Toxicology**, 2011, DOI: 10.1002/tox.20707.
- [105] G.P. Biewenga, G.R.M.M. Haenen, A. Bast, *The pharmacology of the antioxidant lipoic acid*, **Gen Pharmac.**, 29, (1997) 315-331.
- [106] Y. Li, Y. Zhao, W. Yu, S. Jiang, *Scavenging ability on ROT of alpha-lipoic acid*, **Food Chemistry**, 84, (2004) 563-567.
- [107] L. Packer, K. Kraemer, G. Rimbach, *Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications*, **Nutrition**, 17, (2001) 888-895.
- [108] Ö. Coşkun, M. Kanter, F. Armutçu, K. Çetin, B. Kaybolmaz, Ö. Yazgan, *Protective effects of quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanol-induced acute gastric ulcer*, **Eur. J. Gen. Med.**, 1, (2004) 37-42.
- [109] M.G. Hertog, E.J. Feskens, P.C. Hollman, *Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study*, **Lancet**, 342, (1993) 1007-1011.
- [110] M. İkizler, N. Erkasap, S. Dernek, T. Kural, Z. Kaygısız, *İzole sıçan kalplerine uygulanan iskemi-perfüzyon hasarında quercetinin koruyucu etkisi: kronik kullanımda artmış antioksidan etkinliği*, Orijinal Araştırma, Antalya, 2006.
- [111] P. Arivazhagan, S.R. Panneerselvam, C.J. Panneerselvam, A. Gerontol, *Effect of DL-alpha-lipoic acid on the status of lipid peroxidation and lipids in aged rats*, **Biol. Sci. Med.**, 58, (2003) 788-791.
- [112] A. Seven, G. Candan, *Antioksidan defense systems*, **Cerrahpasa J. Med.**, 27, (1996) 41-50.
- [113] F. Gülcü, *Kronik Hiperhomosisteinemi Olusturulan Ratlarda Alfa-Lipoik Asidin Plazma ve Çeşitli Dokularda Oksidan Antioksidan Sistem Üzerine Etkilerinin*

*Arastırılması*, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, 2006.

## ÖZGEÇMİŞ

Oğuz Çakır, 1984 yılında Malatya'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Malatya'da tamamladı. 2004-2005 öğretim yılında Kahramanmaraş Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünü kazandı. 2007-2008 öğretim yılında bu bölümden mezun oldu. 2009 yılında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya anabilim dalında yüksek lisansa başladı.