

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Di (2-Etilhekzil) Fitalatın Ratlarda Doku Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi

The Effect of Di (2-Ethylhexyl) Phthalate on Lipid Peroxidation and Antioxidant Levels on Rat Tissues

Ozan GÜLBOY¹, Emine ALTIN^{1*}, Ali ERTEKİN¹

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya A.D. Samsun, TÜRKİYE.

* Sorumlu yazar: Emine ALTIN; E-mail: emine.altin@omu.edu.tr.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, ratlarda di (2-etilhekzil) fitalatın (DEHP) karaciğer, böbrek ve uterus dokularında lipid peroksidasyonu ve antioksidan düzeyleri üzerine etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmada 3-4 aylık, 250-300 gr ağırlığında 40 Wistar-Albino dişi rat kullanıldı. Ratlar 5 gruba ayrıldı (1. grup: kontrol, 2. grup: yağ kontrol, 3. grup: 20 mg fitalat, 4. grup: 100 mg fitalat, 5. grup: 500 mg fitalat grubu). Fitalat ve mısır yağı karışımı gastrik gavaj ile verildi. Deneme süresi 14 gün olarak belirlendi. Çalışmanın sonunda alınan karaciğer, böbrek ve uterus doku örneklerinde vitamin C, redükte glutatyon (GSH), katalaz (CAT), malondialdehit (MDA) ve total protein düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Karaciğer dokusu C vitamini miktarı kontrol grubuna göre tüm gruplarda azaldı ($p<0.001$). GSH seviyeleri 20 mg ve 100 mg fitalat gruplarında arttı, 500 mg fitalat grubunda azaldı ($p<0.05$). Total protein miktarı kontrol grubuna göre tüm gruplarda azaldı. CAT ve MDA düzeylerinde ise arttı ($p<0.05$). Böbrek dokusu C vitamini miktarı kontrol grubuna göre tüm gruplarda azalırken; GSH, CAT ve total protein düzeyleri tüm gruplarda arttı ($p<0.001$). MDA düzeyi kontrol grubuna göre tüm gruplarda artarken, mısır yağı kontrol grubunda azaldı ($p<0.001$). Uterus dokusu C vitamini miktarı tüm gruplarda azaldı ($p<0.01$). GSH, CAT, MDA ve total protein düzeyleri 100 mg ve 500 mg fitalat gruplarında arttı ($p<0.001$). Total protein miktarı 20 mg fitalat grubunda azaldı.

Sonuç: Vitamin C, GSH, CAT, MDA ve total protein düzeylerinde gözlenen değişiklikler, oksidatif stres nedeniyle hücrelerde olası hasarın meydana gelmiş olabileceğini göstermektedir. Maruz kaldığımız birçok kimyasalın zararlı etkilerinden korunmak için bu konularda yapılan çalışmaların öne çıkarılması, epidemiyolojik çalışmalarla sonuçların detaylı olarak araştırılması ve sonuçların kamuoyu ile paylaşılması gerekmektedir. Bu sebeple vücutta oksidatif strese neden olabilecek DEHP içeren plastik ürünlerin kullanımından mümkün olduğunca kaçınılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Böbrek, Fitalat, Karaciğer, Lipit Peroksidasyonu, Uterus.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to investigate the effect of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on lipid peroxidation and antioxidant levels in liver, kidney and uterine tissues in rats.

Material and Method: Forty Wistar-Albino female rats, 3-4 months old, weighing 250-300 g, were used in the study. Rats were divided into 5 groups. (1st group: control, 2nd group: oil control, 3rd group: 20 mg phthalate, 4th group: 100 mg phthalate, 5th group: 500 mg phthalate group). The mixture of phthalate and corn oil was given by gastric gavage. The trial period was planned as 14 days. At the end of the study, liver, kidney and uterus tissue samples were taken and Vitamin C, reduced glutathione (GSH), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA) and total protein levels were measured in these tissues.

Results: Liver tissue vitamin C levels decreased in all groups compared to the control group ($p<0.001$). GSH levels increased in 20 mg and 100 mg phthalate groups and decreased in 500 mg phthalate group ($p<0.05$). Total protein amount decreased in all groups compared to the control group. CAT and MDA levels increased ($p<0.05$). Kidney tissue vitamin C levels decreased in all groups compared to the control group, while GSH, CAT and total protein levels increased in all groups ($p<0.001$). While MDA level increased in all groups compared to the control group, it decreased in the corn oil control group ($p<0.001$). Uterine tissue vitamin C levels decreased in all groups ($p<0.01$). GSH, CAT, MDA and total protein levels increased in 100 mg and 500 mg phthalate groups ($p<0.001$). Total protein amount decreased in 20 mg phthalate group.

Conclusion: The observed changes in the levels of vitamin C, GSH, CAT, MDA and total protein indicate that possible damage to cells may have occurred due to oxidative stress. In order to protect ourselves from the harmful effects of many chemicals we are exposed to, studies on these issues should be highlighted, the results should be investigated in detail with epidemiological studies, and should be shared with the public. For this reason, the use of plastic products containing DEHP, which can cause oxidative stress in the body, should be avoided as much as possible.

Keywords: Antioxidant, kidney, lipid peroxidation, liver, phthalate, uterus.

Atf Yapmak İçi: Gülboy O, Altın E, Ertekin A. Di (2-Etilhekzil) fitalatın ratlarda doku lipid peroksidasyonu ve antioksidan düzeylerine etkisi. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15,(3) 301-311. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.1134285>.

Geliş Zamanı: 22/06/2022

Kabul Zamanı: 18/10/2022

Basılama Zamanı: 30/12/2022

GİRİŞ

Fitalatlar (PAE) renksiz, düşük uçuculukta, suda az çözünür sentetik organik bileşiklerdir. PAE'ler malzemelerin şeffaflığını, sağlamlığını, plastisitesini ve dayanıklılığını artırabildiğinden, genellikle plastikler, gübreler, böcek ilaçları, oyuncaklar, kozmetikler ve diğer endüstrilerde yaygın olarak kullanılırlar. Her yıl dünya çapında farklı endüstriyel şirketlerde 3 milyon m³ tondan fazla PAE türevi kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2021). PAE'lerin hormon metabolizmasına ve endokrin sisteme zarar verdiği bildirilmiştir (Heudorf ve ark., 2007). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar ayrıca Di (2-Etilheksil) Fitalat (DEHP) kontaminasyonunu kanser, diyabet, alerji ve astım gibi çeşitli patolojik durumlarla ilişkilendirmiştir (Wang ve ark., 2019). Karaciğer, böbrek, testis gibi farklı vücut organlarında ve serum, idrar ve süt gibi vücut sıvılarında ölçülebilir miktarlarda DEHP saptandığı görülmüştür (Sircar ve ark., 2008; Wang ve ark., 2019). Ayrıca DEHP'in üreme, nörolojik, solunum ve bağışıklık fonksiyonları için zararlı olduğu görülmüştür (Wang ve ark., 2016a; Wang ve ark., 2016b). Tekrarlanan DEHP maruziyetinin DNA hasarına, apoptoza ve hücre proliferasyonuna neden olabileceği de başka bir çalışmada bildirilmiştir (Caldwell, 2012).

PAE'ler plastik ürünlerden salınır ve endokrin sistemi modüle etme yetenekleri nedeniyle "endokrin bozucu bileşikler" olarak da bilinir. Endokrin bozucu bileşikler canlı organizmaların fizyolojisine müdahale etme potansiyelleri nedeniyle endişe kaynağıdır. Yetişkinler bu bileşikleri organizmadan etkili bir şekilde temizleyebilse de, fetüste ve plasentada maruziyetten koruyacak enzimatik mekanizmalar bulunmamaktadır (Basak ve ark., 2020).

Her molekül, kendi redoks durumunu oluşturan belirli bir elektron konsantrasyonu ile karakterize edilir. Spesifik koşullar oluştuğunda, redoks durumu daha düşük veya daha yüksek seviyelere değiştirilebilir ve böylece serbest radikaller (FR) oluşur. FR'ler, hücresel işlev bozukluğuna ve hasara neden olan kendi kendine çoğalan zincir reaksiyonlarını

başlatabilen yüksek oranda reaktif maddelerdir ve bu yayılmaya karşı koymak için birçok antioksidan enzim mevcuttur (Perrone ve ark., 2018). Lipid peroksidasyonu, lipidlerin oksidatif bozulması ve çeşitli yıkım ürünlerinin üretimi ile ilişkili karmaşık bir süreçtir. Lipid hidroperoksitler ve konjugedienler veya trienler, kararsızlıkları nedeniyle parçalanmış ve aralarında aldehitler, ketonlar, hidrokarbonlar, alkoller ve diğeri olan ikincil oksidasyon ürünleri oluşturan birincil oksidasyon ürünleri olarak kabul edilir. İnsan vücudunda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi, nörodejeneratif hastalıklar, kalp ve kardiyovasküler sistem rahatsızlıkları, inflamatuvar bağışıklık yaralanmaları ve diğerleri dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar ve sağlık koşulları ile ilişkilendirilen oksidatif stresin bir sonucudur (Sadzak ve ark., 2020).

Sunulan çalışmada DEHP'in ratlarda karaciğer, böbrek ve uterus dokusu lipid peroksidasyonu ve antioksidan düzeylerine olan olası etkisini irdelemek amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi HADYEK tarafından 07/03/2019 tarihli 68489742-604.01.03-E.5620 nolu yazı ile onaylanmıştır.

Çalışmada 3-4 aylık, 250-300 gr canlı ağırlığa sahip 40 Wistar-Albino ırkı dişi rat kullanıldı. Ratların temini ve bakımı OMÜ DEHAM tarafından yapıldı.

Deney Hayvanlarının Gruplandırılması ve Uygulamalar

Ratlar, 12 saat karanlık/aydınlatma uygulanmış, sıcaklığı 21±3°C ve nemi %50±5 olarak ayarlanmış odalarda önlerinde sürekli olarak yem ve taze su bulunan kafeslerde barındırıldı. 14 gün boyunca ratlara uygulanan PAE miktarları 2.5 µl/g/ canlı ağırlık (c.a.) mısır yağı içerisinde en düşük doz 20 mg/kg/gün, orta doz 100 mg/kg/gün ve yüksek doz 500 mg/kg/gün olarak belirlendi (Göktekin, 2016).

Ratlar her deney grubunda 8 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı:

1. Grup: (Kontrol grubu): Bu gruba uygulama yapılmadı.

2. Grup: (Mısır yağı uygulanan grup): Gastrik gavaj ile ratlara 2.5 µl/g/canlı ağırlık mısır yağı verildi.

3. Grup: (20 mg fitalat grubu): 20 mg/kg/gün fitalat, 2.5 µl/g/c.a mısır yağı içerisinde gastrik gavaj ile verildi.

4. Grup: (100 mg fitalat grubu):100 mg/kg/gün fitalat, 2.5 µl/g/c.a mısır yağı içerisinde gastrik gavaj ile verildi.

5. Grup: (500 mg fitalat grubu): 500 mg/kg/gün fitalat, 2.5 µl/g/c.a mısır yağı içerisinde gastrik gavaj ile verildi.

Doku Örneklerinin Alınması ve Analizlere Hazırlanması

14 günün sonunda, etik kurallara uygun olarak i.p. yolla %2'lik Basilazin (2-5 mg/kg/c.a.) ve %10'luk Ketazol (0,8-1,3 ml/kg/c.a.) verilen ratlar uyutuldu. Karaciğer, uterus ve böbrek dokuları alındı, dokular soğuk serum fizyolojik ile yıkandı. Yıkanan doku örnekleri, 1/10 sulandırılan Tris-HCl (Tris-HCl Tamponu: 0,2 M Tris'den 24,23 g distile su ile 1 l'ye tamamlandı. 0,1 N HCl'den 8,3 ml alındı, pH'sı 7'ye ayarlandı ve distile su ile 1 l'ye tamamlandı.) ile PRO 200 homojenizatörde homojenize edildi. Homojenizatlar 4000 rpm/30 dk. santrifüj edildi.

MDA düzeyi Jain ve ark., (1989)'nın metoduna göre analiz edilirken, GSH ölçümünde değiştirilmiş Ellman yöntemi (Yüzüak ve ark., 2014), C Vitamini analizinde DNPH kullanılan kolorimetrik yöntemine göre (Omaye ve ark., 1979), katalaz H₂O₂'nin yıkım hızının 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına göre (Aebi, 1984) ve total protein ise alkali ortamda peptid bağlarının bakır ile komplekste oluşan

rengin 540 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanan biüret yöntemi (Tiftik, 1996) ile yapıldı.

İstatistiksel analizler

Farklı seviyelerdeki PAE uygulamasının farklı organlardaki (karaciğer, böbrek ve uterus) C vitamini, GSH, CAT, MDA ve total protein ortalamalarındaki farklılıklarının tespiti için tek yönlü varyans analizi, gruplar arasındaki farklılığın analizi için Tukey çoklu karşılaştırma testleri yapıldı. İstatistiksel analizlerin yapılmasında SPSS 21 paket programı kullanıldı. (IBM-SPSS21) (John, 1971).

BULGULAR

Gruplara ait karaciğer dokusu C vitamini, GSH, CAT, MDA ve total protein düzeyleri Tablo 1'de, böbrek dokusu düzeyleri Tablo 2'de ve uterus dokusu düzeyleri ise Tablo 3'de sunulmuştur.

Karaciğer dokusu C vitamini kontrol grubuna göre tüm gruplarda azaldı (p<0.001). GSH 20 mg ve 100 mg PAE verilen gruplarda arttı, 500 mg PAE verilen grupta azaldı (p<0.05). Total protein tüm gruplarda azaldı. CAT ve MDA (p<0.05) düzeylerinde artış saptandı (Tablo 1).

Böbrek dokusu C vitamini düzeyi kontrol grubuna göre tüm gruplarda azaldı. GSH, CAT ve total protein düzeyleri ise tüm gruplarda arttı (p<0.001). MDA düzeyi kontrol grubuna göre tüm gruplarda artarken, mısır yağı kontrol grubunda azaldı (p<0.001) (Tablo 2).

Uterus dokusu C vitamini seviyesi kontrol grubuna göre tüm gruplarda azaldı (p<0.01). GSH, CAT, MDA (p<0.001) ve total protein 100 ve 500 mg PAE grubunda arttı, total protein 20 mg PAE grubunda azaldı (Tablo 3).

Tablo 1. Karaciğer dokusu kontrol, mısır yağı kontrol, 20 mg PAE, 100 mg PAE ve 500 mg PAE gruplarına ait C vitamini, GSH, CAT, MDA ve total protein düzeyleri.

Gruplar	n	C vitamini	n	GSH	n	Katalaz	n	MDA	n	Total protein
Kontrol	8	1422.70±66.11c	8	0.345±0.010ab	8	1.082±0.162	8	43.63±1.976a	8	0.172±0.013
Mısır yağı kontrol	6	1313±56.5bc	8	0.352±0.009abc	8	1.082±0.276	6	45.55±3.071a	8	0.151±0.007
20 mg PAE	8	1159.75±51.15ab	8	0.387±0.021bc	8	1.164±0.118	5	49.99±2.303a	7	0.160±0.017
100 mg PAE	8	1013.25±41.10a	8	0.395±0.008c	8	1.210±0.166	7	67.81±3.524b	8	0.149±0.004
500 mg PAE	7	1030.28±61.95a	7	0.338±0.020a	7	1.374±0.183	7	77.62±2.956b	7	0.165±0.011
		***		*		-		*		-

-. önemsiz, *: P<0.05, ***: P<0.001. a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir.

Tablo 2. Böbrek dokusu kontrol, mısır yağı kontrol, 20 mg PAE, 100 mg PAE ve 500 mg PAE gruplarına ait C vitamini, GSH, CAT, MDA ve total protein düzeyleri.

Gruplar	n	C vitamini	n	GSH	n	Katalaz	n	MDA	n	Total protein
Kontrol	8	628.50±19.20	8	0.248±0.008a	8	1.050±0.172a	5	41.96±3.214ab	8	0.190±0.014a
Mısır yağı kontrol	8	609.00±48.38	8	0.351±0.014c	8	1.701±0.246ab	8	40.39±2.444a	8	0.239±0.010a
20 mg PAE	8	593.25±38.80	8	0.337±0.005bc	8	2.407±0.233bc	5	52.45±3.051bc	8	0.223±0.013a
100 mg PAE	8	603.75±18.93	8	0.299±0.013b	8	2.675±0.152c	5	42.35±2.833ab	6	0.218±0.016a
500 mg PAE	7	604.28±17.98	7	0.296±0.017ab	7	1.969±0.214bc	5	60.10±1.909c	7	0.293±0.009b
		-		***		***		***		***

-. önemsiz, ***: P<0.001. a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir.

Tablo 3. Uterus dokusu kontrol, mısır yağı kontrol, 20 mg PAE, 100 mg PAE ve 500 mg PAE gruplarına ait C vitamini, GSH, CAT, MDA ve total protein düzeyleri.

Gruplar	n	C vitamini	n	GSH	n	Katalaz	n	MDA	n	Total protein
Kontrol	8	211.82±19.70b	7	0.090±0.007	7	0.804±0.124	6	9.714±0.388a	8	0.539±0.003
Mısır yağı kontrol	8	157.72±6.08a	8	0.084±0.009	8	0.852±0.134	8	9.690±0.413a	8	0.503±0.002
20 mg PAE	8	177.75±9.89ab	8	0.102±0.006	6	0.852±0.053	5	11.307±0.457a	8	0.503±0.002
100 mg PAE	8	154.12±4.67a	7	0.112±0.007	7	0.833±0.143	6	13.373±0.652b	8	0.565±0.003
500 mg PAE	7	171.77±7.33ab	7	0.105±0.005	6	0.895±0.122	5	16.475±0.459c	7	0.560±0.002
		**		-		-		***		-

-. önemsiz, **: P<0.01, ***: P<0.001. a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir.

TARTIŞMA

DEHP ve diisononil fitalat (DNP) gibi yüksek moleküler ağırlıklı PAE'ler, temel olarak yapı malzemeleri ve gıda ambalajlarında bulunan vinil plastik uygulamalarında plastikleştirici olarak kullanılır. İnsanlar, dermal maruziyet, kirli havanın solunması ve kontamine yiyecek ve suyun yutulması yoluyla geniş çapta PAE'lere maruz kalır ve günlük PAE alımı

70 µg/kg/gün'e ulaşabilir. İnsanların gerçek hayatta tek bir kirletici yerine kirletici karışımlarına maruz kalmaktadır (Yu, ve ark., 2021). Maruziyetin bozulmuş üreme ve gelişme, kanser, değişmiş metabolizma, nörolojik ve davranışsal bozukluklar gibi insan sağlığı üzerinde çeşitli olumsuz etkilere sebep olabileceği yapılan bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Goldstone ve ark., 2015; Gore ve ark., 2015; Benjamin ve ark., 2017). Bir çalışmanın sonucuna göre,

genç kadınlarda PAE seviyeleri daha yüksek bulunmuştur, bu durum onların PAE'ye güzellik ve kozmetik ürünleri vasıtasıyla potansiyel olarak maruz kaldıklarını düşündürmüştür (Li ve ark., 2016a).

Yapılan çalışmalarda, idrar, kan, anne sütü, sperm, yumurtalık foliküler sıvısı ve tükürük dahil olmak üzere farklı insan matrislerinde PAE'ler saptanmıştır (Latini, ve ark., 2004; Silva ve ark., 2005; Krotz, ve ark., 2012; Du ve ark., 2016). PAE metabolitleri anne sütü ve kordon kanında, plasenta dokularında ve amniyotik sıvıda bulunmuş olup, bunların toksikolojik etkilerini ve hamilelik ve fetal gelişim sırasında sağlıklı ilgili endişelerini haklı çıkarmaktadır (Warner ve ark., 2021). DEHP erken doğum ve astım gibi hastalıkları tetikleyebilir. Yüksek PAE maruziyeti koroner kalp ve damar hastalıkları riskini artırmaktadır (Olsen ve ark., 2012). PAE'lere maruz kalma ile oksidatif stres, diyabet, alerjik rinokonjonktivit ve atopik dermatit gibi olumsuz etkiler arasındaki ilişkiler de gösterilmiştir (Callesen ve ark., 2014; Smereri ve ark., 2015; Piecha ve ark., 2016; Campbell ve ark., 2018; Choi, ve ark., 2019;).

Memelilerde anestrojenik, anti androjenik endokrin bozucu olarak işlev gören DEHP'in, ratlarda Leydig hücre hiperplazisine neden olarak ve sistemik fizyolojiyi etkileyerek üreme hormonu düzenlemesini değiştirdiği bildirilmiştir (Akingbemi ve ark., 2004). Dişi CD-1 farelerde çevresel olarak bir fitalat karışımına maruz kalmanın, antral folikül büyümesini azalttığı, oosit parçalanmasını indüklediği ve hücre döngüsü düzenleyicilerinin, apoptotik faktörlerin, steroidojenik enzimlerin ve reseptörlerin ekspresyonunu olumsuz yönde etkileyerek hormon üretimini azalttığı gösterilmiştir (Zhou ve Flaws, 2017). Ayrıca, DEHP'nin erkek CD-1 farelerinde testosteron üretimini bozarak, sperm kalitesini düşürerek ve doğurganlığı azaltarak erken üreme yaşlanmasına neden olduğu bildirilmiştir (Barakat ve ark., 2017). Erkeklerde, DEHP metabolitlerine maruziyet ile sperm hareketliliği arasında negatif bir ilişki bulunmaktadır (Axelsson ve ark., 2015). PAE maruziyetinin tiroid sistemi üzerine de olumsuz etkileri bulunmaktadır. Meeker ve ark.'nın (2007) yaptıkları bir çalışmada

DEHP'in metabolitlerinden biri olan monoetil heksilfitalatın idrar konsantrasyonunun serbest tiroksin ve toplam triiyodotironin seviyeleri ile negatif ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Oksidatif stres, kanser, vasküler hastalıklar ve inflammatuar hastalıklar gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde yer almaktadır (Baudin, 2020). Reaktif oksijen türleri (ROS) bağ dokudaki nükleik asitler, serbest amino asitler, proteinler, lipidler, karbonhidratlar, lipoproteinler ve makromoleküllerde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz hasara neden olur. ROS birikimi dokularda oksidatif strese neden olabilmektedir. (Safarpour ve ark., 2021)

Yapılan bazı çalışmalardan elde edilen kanıtlar, PAE'lere maruz kalmanın aşırı ROS türlerinin üretimini indükleyerek ve/veya antioksidan savunmaları bozarak oksidatif strese neden olabileceğini düşündürmektedir (Erkekoglu ve ark., 2010; Li ve ark., 2016b; Zhou ve ark., 2013). Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA, proteinlerin ve DNA'nın imino (=NH) ve sülfidril (-SH) grupları ile reaksiyona girerek hücrelerdeki makromolekülleri oksidatif olarak modifiye eden oldukça toksik bir bileşiktir. MDA, özellikle hücre zarlarına dahil olan lipid oksidatif hasarının bir biyobelirteci olarak kabul edilir (Lymperaki ve ark., 2015; Ayala ve ark., 2014).

Yaptığımız çalışmada MDA düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karaciğer, böbrek ve uterus dokuları için PAE verilen grupların tamamında arttı. Kontrol grubuna göre uygulama grupları doku örneklerinde önemli miktarda artan MDA, yüksek oranda oksidatif metabolik aktivite ve oksidasyona maruz kalmış membran çoklu doymamış yağ asitleri konsantrasyonuna bağlı olabilir. Lipit peroksidasyonuna maruz kalan grupta yükselen MDA, çeşitli ROS üzerine bir veya daha fazla faktörün sinerjik etkisine bağlı olarak, hücresel zarlara daha yüksek oranda bir FR hareketi olduğunu gösterebilir. Nitekim artan ROS üretiminin neden olduğu oksidan/antioksidan dengesizlik, hücresel yapıların ve moleküllerin oksidatif hasarındaki ana nedensel faktörlerdir. Özellikle, doymamış yağ asitleri açısından zengin biyolojik

membranlar FR saldırısına maruz kalan hücreler yapılıdır.

Spesifik olarak, ROS, yaşlanma fizyolojisine katkıda bulunan lipidlere, DNA, RNA ve proteinlere zarar verebilen hidrojen peroksit (H₂O₂), süperoksit anyon radikalleri, singlet oksijen ve hidroksil radikallerini içerir. CAT, H₂O₂'i O₂ ve H₂O'ya ayrıştıran anahtar antioksidan enzimdir. SOD'lar, oldukça reaktif süperoksit anyonunun O₂'e ve daha az reaktif olan H₂O₂ türüne dismutasyonunda yer alır. GPX'ler ve peroksidoksin (PRDX)'ler, düşük konsantrasyonlarda H₂O₂'nin bozunmasından sorumludur, CAT ise yüksek H₂O₂ konsantrasyonlarının giderilmesinde rol oynar. Ayrıca, bir ferrihem enzimi olarak CAT'ın, birçok patolojik olayda yer alan nitrik oksit ile O₂• arasındaki reaksiyon tarafından üretilen güçlü bir oksitleyici ve nitratlayıcı ajan olan peroksinitriti katalitik olarak temizleyebilmesi dikkat çekicidir. Ayrıca CAT, nitrit içindeki nitrik oksidin hidrojen peroksit mevcudiyetinde oksidasyon yoluyla da peroksinitrit oluşumunu engeller. Genel olarak, bu katalitik özellikler, hücrelerin CAT aracılı antioksidan savunma sistemlerini daha da geliştirir (Galasso ve ark., 2021). Sunulan çalışmada ölçülen CAT düzeyleri tüm gruplarda karaciğer, böbrek ve uterus dokularında arttı. Zalewska-Ziob ve ark.'larının (2019) yapmış oldukları bir çalışmada, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde CAT aktivitesinin, kanserli dokulara kıyasla komşu kanserli olmayan dokularda önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Seo ve ark. (2004), DBP'ye maruz bırakılan rat modelinde CAT, lipid peroksidasyonu ve glutatyon-S-transferaz aktivitelerinde oksidatif stres kaynaklı artışların olduğunu bildirmişlerdir. Ancak diğer bir çalışmada, bazı baş ve boyun, akciğer, gastrointestinal sistem, göğüs, böbrek veya lösemi gibi kanser türlerinde CAT aktivitesinde azalma olduğu gözlemlenmiştir (Scibior-Bentkowska ve Czczot., 2006). CAT aktivitesinde daha erken indüksiyon, ROS'un zararlı etkisini azaltmak için yüksek bir antioksidan aktiviteye neden olur. Ek olarak, CAT aktivitesinin

deki azalma, enzimi deaktive eden süperoksit radikallerinin baskın akışına bağlı olabilir (Kaur ve Jindal, 2017).

GSH, redoks potansiyelinin korunmasında kritik bir rol oynayan ve hücre içi ortamı ROS'lara, ksenobiyotiklere, ağır metaller ve strese karşı koruyan en bol hücre içi antioksidandır (Kumar ve ark., 2011). Proteinlerin tiyol grupları ve GSH gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikler, ortamdaki oksidan moleküller ile oksitlenir ve tersinir disülfid bağları (SS) oluşturur. Oluşan SS bağları tekrar SH'lere indirgenebilir ve bu sayede tiyol/disülfid (SH/SS) homeostazisi sağlanır (Nagy, 2013). Dinamik SH/SS homeostazisi, antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptoz, enzimatik aktivitenin düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücreler sinyal iletiminde kritik bir rol oynar (Lushchak, 2012). GSH, toksik maddelerin detoksifikasyonu için önemlidir, bu nedenle aktivitesinin ölçümü, antioksidan durumu veya oksidatif stresin iyi bir göstergesi olarak kabul edilir. Yapılan çalışmada karaciğer dokusu GSH düzeyleri 20 mg ve 100 mg PAE grubunda arttı, 500 mg PAE grubunda ise azaldı, böbrek ve uterus doku analizlerinde GSH düzeyleri kontrol gruplarına göre yüksek bulundu. Ogunwole ve ark.'nın (2021) yaptıkları bir çalışmada, onbeş gün boyunca DBP'ye maruz kalan balıkların solungaç dokularında ölçülen GSH düzeylerinde artışın, otuz gün süre ile maruziyette ise bir azalmanın olduğu rapor edilmiştir.

C vitamini, hücre içi redoks dengesini koruyarak hücrelerin oksidatif stresten korunmasında önemli bir rol oynar. C vitamini, FR'leri söndürerek, protein bütünlüğünü korumak için oksidatif DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve amino asit kalıntılarının oksidasyonunun neden olduğu mutasyonlara karşı koruma sağlayabilir (Padayatty ve Levine., 2016). Hücre içi GSH miktarı hücre içi askorbik asit redoks durumu tarafından kontrol edilmektedir. Askorbik asit antioksidan savunma mekanizmasının ilk basamağında bulunur, oksidasyonlara karşı oldukça duyarlıdır ve aynı zamanda iyi bir radikal temizleyicidir (Olayinka ve Olukowade, 2010). Çalışmamızda tüm deney gruplarında karaciğer, böbrek ve uterus

dokusu vitamin C düzeylerinde düşüşler gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, C vitamininin hem endojen kaynaklı hem de ekzojen kaynaklı lipit peroksidasyonu üzerine koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Barja ve ark., 1994; Tanaka, ve ark., 1997). Çalışmalarda C vitamininin kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve katarakt gibi kronik hastalıklarda, olası antioksidan mekanizmalar yoluyla yararlı olabileceği bildirilmiştir (Carr ve Frei, 1999).

Lapinskas ve ark.'nın (2005) yaptıkları bir çalışmada, DEHP'nin kemirgenlerde karaciğer tümörüne neden olabileceği rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada DEHP'in tiroid hormonu dengesini bozabileceği ve hepatik enzimleri indükleyerek karaciğer ödeme neden olabileceği belirtilmiştir (Ye ve ark., 2017). Bir çalışmada DEHP'in antioksidan dengesi bozduğu karaciğerde oksidatif stresi arttırdığı ve hepatotoksositeye neden olduğu gösterilmiştir (Erkekoglu ve ark., 2014). Sunulan çalışmada total protein düzeyleri karaciğer dokusunda tüm gruplarda azaldı, böbrek dokusu tüm gruplarda arttı, uterus dokusu 20 mg PAE grubunda azaldı, 100 mg ve 500 mg PAE gruplarında ise arttı.

Sonuç olarak, MDA, GSH, CAT, C vitamini ve total protein düzeylerinde gözlenen değişiklikler, oksidatif strese bağlı olarak hücrelerde olası hasarın meydana gelmiş olabileceğini göstermektedir. Günlük hayatta maruz kaldığımız birçok kimyasalın zararlı etkilerinden korunmak için bu konularda yapılan çalışmaların öne çıkarılması, epidemiyolojik çalışmalarla sonuçların detaylı olarak araştırılması ve paylaşılması gerekmektedir. Bu bağlamda vücutta oksidatif strese neden olabilecek DEHP içeren plastik ürünlerden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. PAE türlerinin eko-toksikolojik etkileri hakkında ortaya çıkan verilerle, bunların değiştirilmesi için yapılan çalışmalar son on yılda ivme kazandı ve bu da polihidroksialkanoatlar ve nişasta bazlı plastikler gibi bir dizi biyolojik olarak bozunabilir polimerin geliştirilmesini sağladı. PAE'lerin ve esterlerinin geniş kullanım yelpazesi göz önüne alındığında, yakın gelecekte bu sınıf bileşiklere uygun bir alternatif sunmak

veya bunlardan kurtulmak zor görünmektedir. Dolayısıyla, kısıtlı kullanım ve etkili iyileştirme, PAE kontaminasyonu başa çıkma için geriye kalan geçerli seçeneklerdir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Bu makale yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- Aebi H. (1984). Catalase *in vitro* Enzymol, 105:121-126.
- Akingbemi BT, Ge R, Klinefelter GR, Zirkin BR, Hardy MP. (2004). Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(3), 775-780.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 360438.
- Axelsson J, Rylander L, Rignell-Hydbom A, Jönsson BA, Lindh CH, Giwercman, A. (2015). Phthalate exposure and reproductive parameters in young men from the general Swedish population. *Environment International*, 85, 54-60.
- Barja G, López-Torres M, Pérez-Campo R, Rojas C, Cadenas S, Prat J et al. (1994). Dietary vitamin C decreases endogenous protein oxidative damage, malondialdehyde, and lipid peroxidation and maintains fatty acid unsaturation in the guinea pig liver. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(2), 105-115.
- Baudin B. (2020). Stress oxydant et protections anti-oxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 22-30.
- Barakat R, Lin PP, Rattan S, Brehm E, Canisso IF, Abosalum ME et al. (2017). Prenatal exposure to DEHP induces premature reproductive senescence in male mice. *Toxicological Sciences*, 156(1),96-108.
- Basak S, Das MK, Duttaroy AK. (2020). Plastics derived endocrine-disrupting compounds and

- their effects on early development. *Birth Defects Research*, 112(17), 1308–1325.
- Benjamin S, Masai E, Kamimura N, Takahashi K, Anderson RC, Faisal PA (2017). Phthalates impact human health: Epidemiological evidences and plausible mechanism of action. *Journal of Hazardous Materials*, 340, 360–383.
- Caldwell JC. (2012). DEHP: Genotoxicity and potential carcinogenic mechanisms – A review. *Mutation Research*, 751(2), 82–157.
- Callesen M, Bekö G, Weschler CJ, Langer S, Brive L, Clausen G et al. (2014). Phthalate metabolites in urine and asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic dermatitis in preschool children. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 217(6), 645–652.
- Campbell JL Jr, Yoon M, Ward PL, Fromme H, Kessler W, Phillips MB et al. (2018). Excretion of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) metabolites in urine is related to body mass index because of higher energy intake in the overweight and obese. *Environment International*, 113, 91–99.
- Carr AC, Frei B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1086–1107.
- Choi Y, Lee S.J, Jeon J, Jung KJ, Jee SH. (2019). Inverse associations of bisphenol A and phthalate metabolites with serum bilirubin levels in Korean population. *Environmental Science and Pollution Research International*, 26(26), 26685–26695.
- Du YY, Fang YL, Wang YX, Zeng Q, Guo N, Zhao H et al. (2016). Follicular fluid and urinary concentrations of phthalate metabolites among infertile women and associations with in vitro fertilization parameters. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 61, 142–150.
- Erkekoglu P, Zeybek ND, Giray BK, Rachidi W, Kızılgün, Hininger-Favier I et al. (2014). The effects of di (2-ethylhexyl) phthalate on rat liver in relation to selenium status. *International Journal of Experimental Pathology*, 95(1), 64–77.
- Erkekoglu P, Rachidi W, Yuzugullu OG, Giray B, Favier A, Ozturk M et al. (2010). Evaluation of cytotoxicity and oxidative DNA damaging effects of di(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) and mono(2-ethylhexyl)-phthalate (MEHP) on MA-10 Leydig cells and protection by selenium. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 248(1), 52–62.
- Galasso M, Gambino S, Romanelli MG, Donadelli M, Scupoli MT. (2021). Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple regulation in cancer. *Free Radical Biology & Medicine*, 172, 264–272.
- Goldstone AE, Chen Z, Perry MJ, Kannan K, Louis GM. (2015). Urinary bisphenol A and semen quality, the LIFE Study. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 51, 7–13.
- Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS et al. (2015). EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocrine Reviews*, 36(6), E1–E150.
- Göktekin E. (2016). Prenatal dönemde diheksil fitalat ve disikloheksil fitalata maruziyetin erkek ve dişi sıçanların bazı endokrin dokuları üzerindeki etkilerinin incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Doktora Tezi.
- Heudorf U, Mersch V, Angerer J. (2007). Phthalates: toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(5), 623–634.
- Jain SK, McVie R, Duett J, Herbst JJ. (1989). Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*, 38(12), 1539–1543.
- John PWM. (1971). *Statistical Design and Analysis of Experiments*. New York: Macmillan Co.
- Kaur M, Jindal R. (2017). Oxidative stress response in liver, kidney and gills of *Ctenopharyngodon idellus* (Cuvier & Valenciennes) exposed to chlorpyrifos. *MOJ Biology and Medicine*, 1(4), 103–112.

- Krotz SP, Carson SA, Tomey C, Buster JE. (2012). Phthalates and bisphenol do not accumulate in human follicular fluid. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 29(8), 773-777.
- Kumar C, Igbaria A, Autreaux B, Planson AG, Junot C, Godat E et al. (2011). Glutathione revisited: a vital function in iron metabolism and ancillary role in thiol-redox control. *The EMBO Journal*, 30(10), 2044-2056.
- Lapinskas PJ, Brown S, Leesnitzer LM, Blanchard S, Swanson C, Cattley RC et al. (2005). Role of PPAR α in mediating the effects of phthalates and metabolites in the liver. *Toxicology*, 207(1), 149-163.
- Latini G, De Felice C, Verrotti A. (2004). Plasticizers, infant nutrition and reproductive health. *Reproductive Toxicology (Elmsford NY)*, 19(1), 27-33.
- Li B, Xu X, Zhu Y, Cao J, Zhang Y, Huo X. (2016a). Neonatal phthalate ester exposure induced placental MTs, FATP1 and HFABP mRNA expression in two districts of southeast China. *Scientific Reports*, 6, 21004.
- Li L, Liu JC, Lai FN, Liu HQ, Zhang XF, Dyce PW et al. (2016b). Di (2-ethylhexyl) phthalate exposure impairs growth of antral follicle in mice. *PloS One*, 11(2), e0148350.
- Lushchak VI. (2012). Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids*, 2012.
- Lymperaki E, Makedou K, Iliadis S, Vagdatli, E. (2015). Effects of acute cigarette smoking on total blood count and markers of oxidative stress in active and passive smokers. *Hippokratia*, 19(4), 293-297.
- Meeker JD, Calafat AM, Hauser R. (2007). Di(2-ethylhexyl) phthalate metabolites may alter thyroid hormone levels in men. *Environmental Health Perspective* 115:1029-1034.
- Nagy P. (2013). Kinetics and mechanisms of thiol-disulfide exchange covering direct substitution and thiol oxidation-mediated pathways. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(13), 1623-1641.
- Ogunwole GA, Abiya SE, Amaeze NH, Eze CT. (2021). Antioxidant markers in gills, liver and muscle tissue of the African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to subchronic levels of Ibuprofen and Dibutyl phthalate. *Scientific African*, 12, e00816.
- Olayinka ET, Olukowade IL. (2010). Effect of amoxicillin/clavulanic acid (Augmentin 625®) on antioxidant indices and markers of renal and hepatic damage in rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2, 85-92.
- Olsen, L, Lind L, Lind PM. (2012). Associations between circulating levels of bisphenol a and phthalate metabolites and coronary risk in the elderly. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 179-183.
- Omaye ST, Turnbull JD, Sauberlich HE. (1979). Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids. In: McCormick DB, Wright LD, editors. *Methods in enzymology*, vol. 62. New York: Academic Press, p. 3-11.
- Padayatty SJ, Levine M. (2016). Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral Diseases*, 22(6), 463-493.
- Perrone S, Santacroce A, Longini M, Proietti F, Bazzini F, Buonocore G. (2018). The free radical diseases of prematurity: from cellular mechanisms to bedside. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 7483062.
- Piecha R, Svačina Š, Malý M, Vrbík K, Lacinová Z, Haluzík M et al. (2016). Urine levels of phthalate metabolites and bisphenol A in relation to main metabolic syndrome components: dyslipidemia, hypertension and type 2 diabetes. A pilot study. *Central European Journal of Public Health*, 24(4), 297-301.
- Sadzak A, Mravljak J, Maltar-Strmečki N, Arsov Z, Baranović G, Erceg I et al. (2020). The structural integrity of the model lipid membrane during induced lipid peroxidation: the role of flavonols in the inhibition of lipid peroxidation. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(5), 430.

- Safarpour S, Zabihi E, Ghasemi-Kasman M, Nosratiyan N, Feizi F. (2021). Prenatal and breastfeeding exposure to low dose of diethylhexyl phthalate induces behavioral deficits and exacerbates oxidative stress in rat hippocampus. *Food and Chemical Toxicology*, 154, 112322.
- Scibior-Bentkowska D, Czczot H. (2006). Katalaza – budowa, właściwości, funkcje [Catalase: structure, properties, functions]. *Postępy Hig Med Dosw (Online)*, 60, 170-180.
- Seo KW, Kim KB, Kim YJ, Choi JY, Lee KT, Choi KS. (2004). Comparison of oxidative stress and changes of xenobiotic metabolizing enzymes induced by phthalates in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 42(1), 107-114.
- Silva MJ, Reidy JA, Samandar E, Herbert AR, Needham LL, Calafat AM. (2005). Detection of phthalate metabolites in human saliva. *Archives of Toxicology*, 79(11), 647-652.
- Sircar D, Albazi SJ, Atallah Y, Pizzi W. (2008). Validation and application of an HPLC method for determination of di(2-ethylhexyl) phthalate and mono (2-ethylhexyl) phthalate in liver samples. *Journal of Chromatographic Science*, 46 (7), 627-631.
- Smerieri A, Testa C, Lazzeroni P, Nuti F, Grossi E, Cesari S et al. (2015). Di-(2-ethylhexyl) phthalate metabolites in urine show age-related changes and associations with adiposity and parameters of insulin sensitivity in childhood. *PloS One*, 10(2), e0117831.
- Tanaka K, Hashimoto T, Tokumaru S, Iguchi H, Kojo S. (1997). Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. *Journal of Nutrition*, 127(10), 2060-2064.
- Tiftik AM. (1996). Biüret metoduyla total protein tayini, Klinik Biyokimya, Konya, Mimoza Yayınları, 291-292.
- Wang Y, Zhu H, Kannan K. (2019). A review of biomonitoring of phthalate exposures. *Toxics*, 7(2), 21.
- Wang C, Yang L, Wang S, Zhang Z, Yu Y, Wang M et al. (2016a). The classic EDCs, phthalate esters and organochlorines, in relation to abnormal sperm quality: A systematic review with meta-analysis. *Scientific Reports*, 6, 19982.
- Wang YX, Zeng Q, Sun Y, Yang P, Wang P, Li J ve ark. (2016b). Semen phthalate metabolites, semen quality parameters and serum reproductive hormones: a cross-sectional study in China. *Environmental Pollution (Barking, Essex:1987)*, 211, 173-182.
- Warner GR, Dettogni RS, Bagchi IC, Flaws JA, Graceli JB. (2021). Placental outcomes of phthalate exposure. *Reproductive Toxicology*, 103, 1-17
- Ye H, Ha M, Yang M, Yue P, Xie Z, Liu C. (2017). Diethylhexyl phthalate disrupts thyroid hormone homeostasis through activating the Ras/Akt/TRHr pathway and inducing hepatic enzymes. *Scientific Reports*, 7(1), 1-12.
- Yu L, Yang M, Cheng M, Fan L, Wang X, Xu T et al. (2021). Associations between urinary phthalate metabolite concentrations and markers of liver injury in the US adult population. *Environment International*, 155,106608.
- Yüzüak H, Akbulut KG, Yüzüak S. (2014). Yaşlanma sürecinde melatoninin pankreas dokusundaki oksidan ve antioksidanlara etkisi. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 5(4),583-588.
- Zalewska-Ziob M, Adamek B, Kasperczyk J, Romuk E, Hudziec E, Chwalińska E et al. (2019). Activity of antioxidant enzymes in the tumor and adjacent noncancerous tissues of non-small-cell lung cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2901840.
- Zhang Y, Jiao Y, Li Z, Tao Y, Yang Y. (2021). Hazards of phthalates (PAEs) exposure: A review of aquatic animal toxicology studies. *Science of the Total Environment*, 771, 145418.

- Zhou L, Beattie MC, Lin CY, Liu J, Traore K, Papadopoulos V et al. (2013). Oxidative stress and phthalate-induced down-regulation of steroidogenesis in MA-10 Leydig cells. *Reproductive Toxicology (Elmsford NY)*, 42, 95-101.
- Zhou C, Flaws JA. (2017). Effects of an environmentally relevant phthalate mixture on cultured mouse antral follicles. *Toxicological Sciences*. 156(1), 217-229.