

NONİLFENOL'ÜN RAT BÖBREK VE TESTİS DOKUSUNDA İNDÜKLEDİĞİ OKSİDATİF STRES ÜZERİNE TAURİNİN KORUYUCU ETKİSİ

Yasemin SUNUCU KARAFAKIOĞLU¹, A.Fatih FİDAN²,
İ. Hakkı CİĞERCİ³, Yılmaz DÜNDAR², Recep ASLAN⁴

¹ Uşak Üniversitesi Eğitim Fakültesi UŞAK

² Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

³ Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü Afyonkarahisar

⁴ Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

ÖZET

Bu araştırmada, taurinin rat böbrek ve testis dokusunda nonilfenol tarafından indüklenen oksidatif stres üzerindeki etkisi incelenmiştir. Denekler her grupta 8 Wistar-albino erkek rat olmak üzere 5 guruba ayrılmıştır. Kontrol gurubu (K) standart rat yemi ile, taurin gurubu (T) standart rat yemi+%3 taurin (v/w) içme suyuna, *nonilfenol* gurubu (NF) standart rat yemi+50 µg/kg yem nonilfenol, *nonilfenol+ taurin* gurubu (NFT) standart rat yemi+50 µg/kg yem nonilfenol+%3 taurin (v/w) içme suyuna ve alkol grubuna (A) standart rat yemi+50 µl /kg yem alkol ile 30 gün süren araştırma boyunca *ad libitum* beslenmişlerdir. Nonilfenol'ün böbrek ve testis dokusu malondialdehit (MDA) düzeylerinde, kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak önemli artışa neden olduğu gözlenmiştir (p<0.001). Taurin uygulanması, testis MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma meydana getirirken (p<0.001); böbrek MDA düzeylerinde azalma ise anlamlı düzeyde görülmemiştir. Sonuç olarak, taurinin rat testis dokusunda nonilfenol tarafından indüklenen oksidatif stres üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Nonilfenol, taurin, böbrek, testis

THE PROTECTIVE EFFECTS OF TAURINE ON NONLYPHENOL-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RAT KIDNEY AND TESTES TISSUE

ABSTRACT

In this study, the effects of taurine on nonlyphenol induced oxidative stress in rat kidney and testes tissue have been investigated. Rats were allocated in to 5 groups each containin 8 Wistar-albino male rats. Control group (K) by standart rat feed, taurine group (T) by standart rat feed+3% taurine (v/w) in drinking water, nonlyphenol group (NF) by standart rat feed+50 µg/kg diet Nonlyphenol, nonlyphenol+taurine group (NFT) by standart rat feed+50 µg/kg diet Nonlyphenol+3% taurine (v/w) in drinking water and alcohol group (A) by standart rat feed+50 µl/kg diet alcohol were fed *ad libitum* for 30 days during the study. Nonlyphenol caused a significant increase in malondialdehyde (MDA) levels in the kidney and testes tissue as compared to control group ($p<0.01$). Taurine caused a significant reduction in testes MDA levels ($p<0.001$), however kidney MDA levels showed non-significant decrease. In conclusion, these results demonstrate that taurine has protective effects on oxidative stress induced by nonlyphenol in rat testes.

Key Words: Nonlyphenol, taurine, kidney, testes

1. GİRİŞ

Sanayileşme ve modern teknolojinin ilerlemesiyle ortaya çıkan çevre sorunlarından biri de çevresel toksik maddelerin üretilmesi ve bunların doğada birikmesidir. Ekolojik dengenin yanı sıra bitki, hayvan ve insan sağlığı için risk oluşturan zararlı ürünler her geçen gün yaşamımızı daha da kuşatmaktadır. Çevreye insanlar tarafından bırakılan pek çok kimyasal, biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonları bozarak insan ve hayvan üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır [1]. Hormon gibi etki yapan ve endokrin maddeler olarak tanımlanan kimyasallar, canlılarda kalıtsal bazı değişikliklere, hücresel hasara ve sperm üretimi ile kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır [2]. Alkilfenol etoksilat bileşikleri (AFB); deterjanlarda, ot ve böcek ilaçlarında, boyalarda, kozmetik ve plastik eşyalarda yüzey aktif maddeleri ve gaz yağı ile uçak benzininde antioksidan olarak yaygın bir şekilde kullanılan ve endokrin sistemi bozucu etkiye sahip maddelerdir [3]. Doğada bulunan AFB bileşiklerinin % 82'sini, nonilfenol oluşturmaktadır. Endüstrideki kullanım nedeniyle AFB'lerin dünyadaki yıllık üretimi 500.000 metrik tonun üzerinde olup, bu miktarın % 60'dan fazlasının dere, nehir göl ve deniz gibi su kütlelerinde biriktiği ortaya konmuştur. Sularda biriken, AFB bileşikleri, biyolojik bozunuma uğrayarak, nonilfenol (NF), oktil fenol ve büttilfenol gibi östrojenik özelliği daha fazla ve biyolojik bozunuma daha dayanıklı olan alkil fenol denilen

bileşikler haline dönüşmektedirler [3,4,5]. Alkil fenol bileşikleri, hidrofobik özelliklerinden dolayı nehir, göl ve denizlerin dibine çökmekte ve buralardaki sedimanlar içerisinde; lipofilik özelliklerinden dolayı da suda yaşayan canlılarda birikmektedir [4]. Canlılardaki birikimi, sularda ölçülen miktarların 50 katı kadar olduğu bildirilmektedir [6]. Bir ksenoöstrojen olan nonilfenol; östrojenik, karsinojenik ve toksik etkiye sahip bir kimyasal maddedir [3,7,8,9,10,11]. Çevredeki kirliliğe bağlı olarak, bu maddelere maruz kalan canlılarda, sağlık sorunları ile birlikte, üreme sorunları meydana gelmektedir [11]. Nonilfenol toksik bir madde olup, yaşamda yaygın olarak karşılaşılmakta ve diğer toksik maddeler gibi bir oksidatif stres kaynağı olarak kabul edilmektedir. Nonilfenol gerçekte *in vitro* bir antioksidandır, fakat alınan doz miktarı ve vücutta birikme kabiliyeti onu prooksidan haline getirebilir. Prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıyla oksidatif stres ortaya çıkar [12].

Taurin, tüm memeli dokularında serbest olarak bulunan kükürt içeren amino asitlerin metabolizması sırasında oluşan, sülfonlanmış bir amino asit bileşiğidir [13]. Antioksidan bir madde olan taurin, (2-aminoetan sülfonik asit) organizmada sisteinden sentez edilen, sistein ve metionin metabolizmaları sırasında açığa çıkar. Birçok kimyasal reaksiyon ve fizyolojik fonksiyonda yer alan taurin, potansiyel bir oksidan olan hipoklorik asiti nütürleştirici etkisi nedeniyle önemli bir detoksifiye ajanıdır. Bu özelliği ile aynı zamanda önemli bir antioksidandır. Aromatik amin içeren ürünlerin DNA'yı hasarlamasına karşı etkindir. Önemli bir diğer işlevi, bakteri toksinleri, bağırsaklardan kaynaklanan endotoksinler ve toksik kimyasalların nötralizasyonunda oldukça başarılı olmasıdır. Biyolojik sistemlerde gösterdiği antioksidan etkinin, biyomembranların stabilizasyonundan kaynaklandığı ileri sürülmektedir [13,14,15,16,17,18]. Çevresel toksik maddelerden biri olan nonilfenole bağlı gelişen oksidatif stresin giderilmesinde antioksidanların kullanılmaları bu maddenin zararlı etkilerine karşı organizmanın korunmasında etkili olabilir. Bu çalışmada nonilfenolün rat böbrek ve testis dokusunda indüklediği oksidatif stres üzerinde taurinin koruyucu etkisi araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

Çalışmamız Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda 180-220 gr ağırlığında yaş ve kiloları uyumlu 40 adet Wistar-albino türü erkek rat kullanılmıştır. Deney hayvanları, araştırmadan 15 gün önce gözlem altına alınmış, sağlık kontrolleri yapıldıktan sonra çalışmaya dahil edilmişlerdir. Denekler

laboratuvar şartlarına adaptasyon için, 12 saat gece-12 saat gündüz döngüsü sağlanarak, 22°-25°C sıcaklıkta barındırılmıştır.

Deney hayvanları, kontrol grubu (K) (n=8), Taurin grubu (T) (n=8), Nonilfenol Grubu (NF) (n=8), Nonilfenol +Taurin Grubu (NFT) (n=8), Alkol Grubu (A) (n=8), olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Deney guruplarına uygulanan nonilfenol ve taurin dozları, Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Deney guruplarındaki taurin ve nonil fenol uygulamaları

Gurup	N	Uygulama
Kontrol Gurubu (K)	8	Standart Rat Yemi
Taurin Gurubu (T)	8	Standart Rat Yemi + %3 Taurin (v/w) içme suyuna
Nonilfenol Gurubu (NF)	8	Standart Rat Yemi + 50 µg/kg yem Nonilfenol
N.fenol+Taurin Gurubu (NFT)	8	Standart Rat Yemi +50 µg/kg yem Nonilfenol + %3 Taurin (v/w) içme suyuna
Alkol Gurubu (A)	8	Standart Rat Yemi +50 µl/kg yem Alkol

Çalışmamızda 1 µl sinde 1 µg nolilfenol içeren nonil fenol stok solüsyonu, alkol içinde hazırlanarak NF ve NFT, guruplarındaki ratların diyetlerine 50 µg nonilfenol içeren bu çözelti püskürtme tarzında ilave edilmiştir. Bu doz yaklaşık olarak ortalama çevresel nonilfenol maruziyet düzeyi göstergesi olarak seçilmiştir [18]. A grubunun diyetlerine ise sadece 50 µl alkol püskürtme tarzında ilave edilmiştir. Ayrıca T ve NFT grubu içme sularına %3 (v/w) oranında taurin ilave edilmiştir [19].

Deney guruplarındaki ratlar 30 gün olan çalışma süresi sonunda servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir. Böbrek ve testis dokuları alınarak, soğuk zincir içerisinde laboratuvara getirilerek doku MDA düzeyleri bekletilmeden ölçülmüştür.

2.2 Metod

Dokularda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak, MDA düzeylerinin tayini için Ohkawa ve ark.(1979)'ın spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır [20]. Yöntem, doku homojenatında peroksidede lipidlerin yıkım ürünü olan MDA'nın, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucunda oluşan renkli ürünün miktar tayini prensibine dayanmaktadır. Lipid peroksidasyonunun tayini pH'nın 3.5 olduğu ve aerobik şartlar altında, %0.8'lik TBA ile doku homojenatının sıcak su banyosunda 100 °C'de bir saat inkübasyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile gerçekleştirilmiştir.

Dokularda lipid peroksidasyonu ile ilgili sonuçlar, nmol MDA/g doku olarak verilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler SPSS 10.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin ortalamaları \pm standart hatalarıyla ifade edilmiştir. Elde edilen verilerin normallik testleri yapılmış ve gruplar arasındaki istatistiksel farkları saptamak için ANOVA testi, post-test olarak Duncan testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $P < 0.001$ değerleri seçilmiştir [21].

3. BULGULAR

Deney hayvanı olarak seçilen ratların yemlerine 50 μg /kg yem dozda Nonilfenol verilmesi ve antioksidan özellikteki taurin uygulamasının böbrek ve testis dokusu MDA düzeyinde yaptığı değişiklikler, Tablo 2 ve Grafik 1 ve 2' de gösterilmiştir.

Tablo 2. Böbrek ve testis dokusunda ölçülen MDA değerlerine ait bulguların aritmetik ortalama, standart hata ve anlamlılık düzeyleri

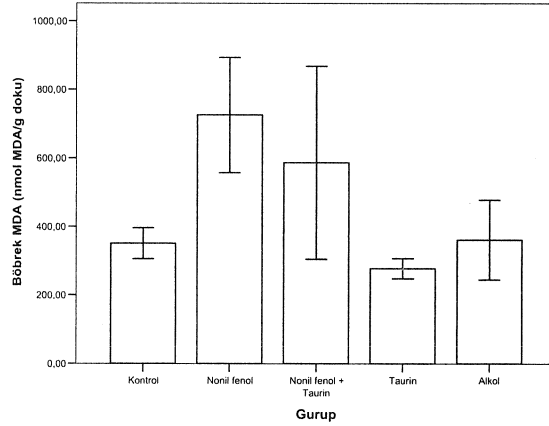
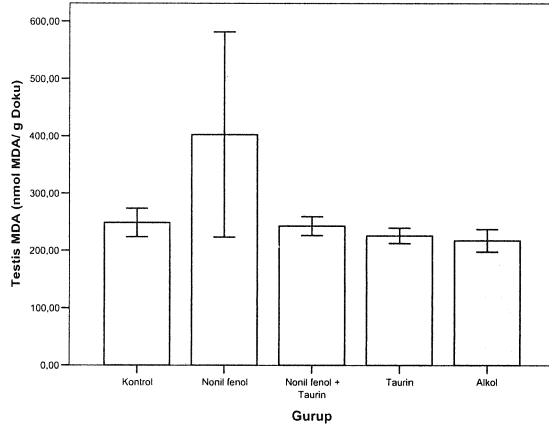
Grup	Böbrek MDA (nmol MDA/g doku)	Testis MDA (nmol MDA/g doku)
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Kontrol	351,24 \pm 16,28 ^a	248,91 \pm 8,94 ^a
Nonil fenol	725,94 \pm 60,63 ^{ab}	402,41 \pm 64,49 ^{ab}
Nonil Fenol + Taurin	586,83 \pm 101,52 ^b	243,04 \pm 5,92 ^a
Taurin	277,69 \pm 10,67 ^a	225,99 \pm 4,87 ^a
Alkol	361,37 \pm 41,99 ^a	217,46 \pm 7,13 ^a

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

*: $P < 0.001$,

Çalışmamızda her beş deneysel gruptaki deneklerin Böbrek MDA düzeylerine karşılaştırıldığında, Tablo 1 ve Grafik 1'de görüldüğü gibi NF ve NFT grubundaki ratların böbrek MDA düzeylerinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak arttığı ($P < 0.001$) gözlemlenmiştir. Diğer yandan T grubunda MDA düzeylerinin, azaldığı ve kontrol grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda deney gruplarındaki ratların Testis MDA düzeyleri karşılaştırıldığında Tablo 1 ve Grafik 2'de görüldüğü gibi, NF grubundaki ratların MDA düzeylerinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak arttığı ($P < 0.001$) gözlemlenmiştir. Diğer yandan NFT, T ve A gruplarında MDA düzeyleri, NF grubuna oranla anlamlı olarak azaldığı ($P < 0.001$) ve kontrol grubu değerlerine yaklaştığı saptanmıştır.

**Grafik 1** Böbrek dokusu MDA düzeyleri**Grafik 2** Testis dokusu MDA düzeyleri

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Endüstriyel ürünlerden, deterjanlar, ot ve böcek ilaçları, boyalar, kozmetik ve plastik eşyalar, yüzey aktif maddeleri ve gaz yağı ile uçak benzininde antioksidan olarak yaygın bir şekilde kullanılan AFB bileşikleri, endokrin sistemi bozucu, östrojenik, karsinojenik ve toksik etkiye sahip kimyasal maddelerdir [3,7,8,9,10,11]. Çevresel kimyasal ajanlara maruz kalma, hücrelerdeki oksidatif indeksi değiştirerek oksidatif strese yol açmakta, ayrıca hücrede proteinleri, DNA'yı ve membran lipidlerini etkileyerek hücrenin fonksiyonlarının ve bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır [22,23]. Nonilfenol sitotoksik etkilerini reaktif oksijen bileşiklerini artırarak oluşturabilir. Nitekim, İşcan ve ark. (2001) 220 µg/L nonilfenole

iki ve üç hafta maruz kalan balıkların karaciğerinde glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktivitesinin düştüğünü bildirmektedir [24]. Okai ve ark., (2000) maya hücrelerinde nonilfenolün büyümeyi ve hücre solunumu güçlü bir şekilde engellediği, bu etkisini de serbest radikal oluşumunu uyararak sağladığını bildirmiştir [27]. Chitra ve ark., (2002) erkek ratlara 45 gün boyunca 1, 10 ve 100µg/kg vücut ağırlığına oral yolla nonilfenol verildiğinde, epididimal sperm sayısının doz arttıkça azaldığını ve antioksidan savunmanın aşıldığını ileri sürmüşlerdir. Araştırma, nonilfenol uygulanan ratlarda antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidazın azaldığını, lipid peroksidasyonunun ise arttığını ortaya koymuştur [28].

Birçok çevresel kimyasalın akut ve kronik renal harabiyete neden olabileceğini gösteren bulgular vardır [25,26]. Nitekim karsinojenik ve toksik etkiye sahip nonilfenolün böbrek dokusu harabiyetine neden olması doğaldır. Çalışmamızdaki tüm gruplar içinde NF ve NFT guruplarındaki ratlarda böbrek MDA düzeylerinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak arttığı (P<0.001) gözlemlenmiştir. Diğer yandan T grubunda MDA düzeylerinin, azaldığı ve kontrol grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular nonilfenolün, böbrek dokusu harabiyetine neden olduğunu ayrıca çalışmada uygulanan dozda taurinin böbrek dokusunu nonilfenolün yıkımlayıcı etkisine karşı tam koruyamadığını göstermektedir.

Tapiero ve ark., (2002) nonilfenol gibi sentetik östrojenlerin doğal östrojenlere oranla metabolize olmadan vücutta daha uzun süre aktif halde kalabildiğini rapor etmektedirler. Çevredeki kirliliğe bağlı olarak, bu maddelere maruz kalan canlılarda, üreme sorunları meydana çıkmaktadır [7]. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar nonilfenolün zayıf östrojenik etkili olduğunu ve östrojenik ajanların ise serbest radikal oluşumuna yol açtığını göstermiştir [27]. Jobling ve ark.'nın (1996) çalışması, yetişkin gökkuşuğu alabalıklarında spermatogenesi olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır. Benzer çalışmalar, karada yaşayan canlılar üzerinde de yapılmıştır. Örneğin nonilfenole maruz bırakılan erkek ratların, serumlarında testesteron miktarının önemli ölçüde azaldığı ortaya konmuştur [11]. Lahnsteiner ve ark. (2005), nonilfenolün çevrede bulunan kirlilik oranlarının bile semen kalitesine, gametlerin yaşama kabiliyetine, fertilizasyon ve embriyo gelişimine önemli düzeyde olumsuz etkilerinin olduğunu ortaya çıkarmıştır [18].

Elde ettiğimiz bulgular testis dokusu MDA düzeylerinin, NF grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı olarak arttığını (P<0.001) göstermiştir. Diğer yandan NFT, T ve A guruplarında testis MDA düzeyleri, NF

grubuna oranla anlamlı olarak azalmış ($P<0.001$) ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır.

Sonuç olarak; nonilfenol rat böbrek ve testis dokusunda, lipid peroksidasyonu indükleyici özellikte bir etki meydana getirmektedir. Uyguladığımız dozda taurinin bir antioksidan olarak koruyucu amaçla uygulanmasının, böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunun gelişimini tam olarak önleyemediği, testis dokusunda ise nonilfenol tarafından indüklenmiş oksidatif stresin azaltılmasında etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. İkizoğlu E, Haskök S., Tehlikeli Kimyasalların Çevresel Etkileri İçin Risk Değerlendirme Örneği: Endokrin Sistemini Bozan Kimyasallar <http://www.cevremuhendisleri.com/articles.asp>, Erişim tarihi 16.03.2006.
2. Erdin E., Alten A, Hegemann W, Emiralioglu A., Endokrin Maddeler Ve Çevresel Etkileri. I. Ulusal Çevre Kongresi, 13-15 Ekim 2004. Sivas.
3. Nimrod A.C, and Benson W.H., Environmental estrogenic effects of alkylphenol etoxylates. *Crit.Rev.Toxicol*, 26(3):335-364, (1996).
4. Ahel M., Giger W., and Koch M., Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment.1. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Res.*, 28:1131-1142, (1994).
5. Hawerlak M., Bennett E. and Metcalfe C., The environmental fate of the primary degradation products of alkylphenol ethoxylate surfactants in recycled paper Sludge. *Chemosphere*, 39(5): 745-752, (1999).
6. Blackburn M.A., Kirby S.J. and Waldoek M.J., Concentrations of alkylphenol polyethoxylates entering UK estuaries. *Mar. Pollut. Bull.*, 38, pp. 109–118, (1999).
7. Tapiero H., Ba G.N. and Tew K.D., Estrogens and environmental estrogens. *Biomed Pharmacother*, 56(1):36-44, (2002).
8. Skakkebaek N.E., Meyts E.R.D., Jorgensen N., Carlsen E., Petersen P.M., Giwercman A., Andersen A.G., Jensen T.K., Andersson A.M. and Muller J., Germ cell cancer and disorders of spermatogenesis: an environmental connection?. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica (APMIS)*, 106 1, pp. 3–11, (1998).
9. Veeramachaneni D.N.R., Deteriorating trends in male reproduction: idiopathic or environmental. *Anim. Reprod Sci.*, 60-61(2):121-130, (2000).
10. Hughes P.J., McLellan H., Lowes D.A., Khan S.Z., Bilmen J.G., Tovey S.C., Godfrey R.E., Michell R.H., Kirk C.J., and Michelangeli F., Estrogenic alkylphenols induce cell death by inhibiting testis endoplasmic reticulum Ca^{2+} pumps. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 277:568-574, (2000).
11. Jobling S., Sheahan D., Osborne J.A., Matthissen P. and Sumpter J.P., Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15 2, pp. 194–202, (1996).

12. Dündar Y., Aslan R., Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. Uyum Ajans Ankara, 1. Basım. S: 4-6. (2000).
13. Huxtable R.J., Sebring L.A., Towards a unifying theory for the actions of taurine. TIPS, 481-485, (1986).
14. Halliwell B., Gutteridge J.M.C., Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd Ed., Oxford University Press, p.936, (2000).
15. Geggel H.S., Ament M.E., Heckenlively J.R., et al., Nutritional requirement for taurine in patients receiving long-term parenteral nutrition. N Engl. J. Med., 312:142-146, (1985).
16. Sturman J.A., Taurine in development. Physiol Rev., 73:119-147, (1993).
17. Huxtable R.J., Physiological actions of taurine. Physiol Rev., 72:101-163, (1992).
18. Vethaak A.A., Lahr J., Schrap S.M., Belfroid A.C., Rijs G.B. J., Gerritsen A., De Boer J., Bulder A.S., Grinwis G.C.M., Kuiper R.V., Legler J., Murk T.A. J., Peijnenburg W., Verhaar H.J.M., De Voogt P., An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of the Netherlands. Chemosphere, 59:511-524, (2005).
19. Colivicchi M.A., Raimondi L., Bianchi L., Tipton K.F., Pirisino R., Della Corte L., Taurine prevents streptozotocin impairment of hormone-stimulated glucose uptake in rat adipocytes. European Journal of Pharmacology, 495, 209-215, (2004).
20. Ohkawa H., Ohishi N. and Yagi K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem., 95: 351-358, (1979).
21. Özdamar K., SPSS ile Biyoistatistik.5.Baskı. Kaan Kitap Evi. Eskişehir. (2003).
22. Aslan R., Şekeroğlu M.R., Bayiroğlu F. And Gültekin F., Blood Lipoperoxidation And Antioxidant Enzymes In Healthy Individuals. Relation To Age, Sex, Exercise, Air Pollution And Life Habits. J. Environ. Sci. Health., 32(8):2101-2109, (1997).
23. Thomas M.J., The Role Of Free Radicals And Antioxidants: How Do We Know That They Are Working? Critical Rew. Food. Sci. And Nutrit., 35(1-2): 21-39, (1995).
24. İşcan M, Togan İ, Tabak İ, Ve Ark., Deniz Ve Akarsulardaki Kirliliğin Karadeniz'deki Ekonomik Değeri Yüksek Balıkların Stok Ve Üremesi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi. TAGEM / HAYSÜD /98/12/02/00. (2001).
25. Finn W.F., Disorder of The Kidney and Urinary Tract, Alyce Bezman, Principles and Practice of Environmental Medicine, (ed) Plenum Medical Book Company, New York and London, (1991).
26. Anderson R.J., Linas S., Henrich W.L., Nonoliguric acute renal failure, N Eng J Med., 296, 11-34, (1977).
27. Okai Y., Sato E.F., Higashi-Okai K., Inoue M., Enhancing Effect of the Endocrine Disruptor para-Nonylphenol on the Generation of Reactive Oxygen Species in Human Blood Neutrophils. Erişim adresi: <http://www.all-natural.com/estrog-2.html> Erişim tarihi: 01.09.2004
28. Chitra K.C., Latchoumycandane C., Mathur P.P., Effect of nonylphenol on the antioxidant system in epididymal sperm of rats. Arch Toxicol. Sep;76(9):545-51, (2002).

YAYIN KURALLARI

1. Dergi "Hakemli Dergi" statüsüne uygun olarak yayınlanmaktadır.
2. Dergide yayınlanacak yazılar, Fen ve Mühendislik Bilimleri alanındaki konuları kapsar.
3. Gönderilen çalışmalar, alanında bir boşluğu dolduracak araştırmaya dayalı özgün çalışma veya daha önce yayınlanmış bir yazıyı değerlendiren, bu konuda yeni ve dikkate değer görüşleri ortaya koyan araştırma veya inceleme olmalıdır.
4. Yayınlanmak üzere gönderilen yazılar, özet dahil 15 sayfayı geçmemeli ve daha önce yayınlanmamış olmalıdır.
5. Dergi Yayın Kurulu, biçim açısından uygun bulduğu yazıları seçilmiş hakemlere (üç hakeme) gönderir, makaleler üç hakemin en az ikisinin oluruyla yayın alır. Yayınlanması için düzeltilmesine karar verilen yazıların yazarları tarafından en geç (posta süresi dahil) 10 gün içerisinde teslim edilmesi gereklidir. Bu süreyi aşan yazılar daha sonraki sayılarda değerlendirilecektir.
6. Dergide yayınlanan yazıların, telif hakkı dergiye aittir. Fen Bilimleri Dergisi telif hakkı karşılığında yazarlarına bir adet dergi ve 1. yazara 1 adet dergi ve 20 adet ayrı baskı gönderilecektir.
7. Yazım dili Türkçe ve İngilizce'dir. Makalenin başında Türkçe ve İngilizce olmak üzere en az 100, en fazla 200 kelimedenden oluşan özet ile Türkçe ve İngilizce anahtar sözcükler (en az 3 en fazla 5 kelime) verilmelidir.
8. Hazırlanan yazı şu bölümlerden oluşmalıdır: Başlık, Yazarlar, Adres, Özet, Anahtar Kelimeler, Yabancı Dilde Başlık, Abstract, Key words, Giriş, Materyal ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Kaynaklar. Türkçe hazırlanan yazıda Abstract'tan önce Y.dilde başlık; Y.dildeki yazıda ise özetten önce Türkçe başlık bulunmalıdır. Yazarların ünvanı yazılmamalıdır.
9. Dergiye gönderilen yazılar dört nüsha (yazar isimleri bulunan bir ve yazar isimleri bulunmayan üç nüsha) olmalıdır. Ayrıca WINDOWS ortamında ve MS WORD 7.0 ve daha sonraki sürümlerinde yazılmalıdır. Yazı içinde kullanılan grafikler WINDOWS ortamında açılacak bir grafik formatında, fotoğraflar scannerda 300 dpi çözünürlüğünde taranmış olarak JPG veya GIF formatında gönderilmelidir. Dergiye gönderilen yazı, şekil ve fotoğrafların dijital kayıtları bir diskette gönderilmelidir. Şekil ve tablolar

numaralandırılmalıdır. Şekil adı, şekil altında; tablo adı tablonun üzerinde yer almalıdır.

10. Yazı karakteri Times New Roman, 11 punto, satırlar tek aralıklı yazılacaktır.

11. Paragraflar satır başından başlamalı, iki paragraf arasında bir satır boşluk bırakılmalıdır.

12. Sayfa düzeni normal, sayfa yapısı üstten 5 cm, alttan 5.5 cm, soldan 4.5 cm, sağdan 4.5 cm, cilt payı 0 olmalı, herhangi bir özel format bulunmamalıdır.

13. Başlıklar ardışık olarak numaralanmalı ve satır başından başlamalıdır. Ana başlıklar büyük harflerle ve koyu, alt başlıklarda her kelimenin ilk harfi büyük ve başlık koyu olmalıdır.

14. Makalelerde dipnot kullanılmayacaktır.

15. Kaynaklar metin içinde ilk verilenden başlanarak numaralandırılmalı ve köşeli parantez içinde verilmelidir. Metin sonunda "kaynaklar" başlığı altında numara sırasına göre listelenmelidir. Listede kaynaklar aşağıdaki şekilde belirtilmelidir: Periyodikler: Yazar soyadı, Adının ilk harfi, (varsa diğer yazarlar aynı şekilde), Makale adı, Dergi adı, Cilt no (sayı), Sayfa aralığı, (yayın yılı). Kitaplar: Yazar soyadı, Adının ilk harfi (varsa diğer yazarlar aynı şekilde), Kitap adı, varsa editörün adı, Basım sayısı, Cilt no, Yayınevi adı, Basıldığı yer, Sayfa sayısı, (Yayın yılı) Tezler: Yazar soyadı, Adının ilk harfi, Tez adı, Tez türü, Çalışmanın yapıldığı enstitü adı ve adresi, Sayfa sayısı, Çalışmanın yapıldığı yıl. Kaynaklar kısmı için örnekler aşağıda verilmiştir. -Konuk M., Brown E., Biosynthesis of Nebularine Involves Enzymic Release of Hdroxylamine From Adenosine, *Phytochemistry*, 38:(1), 61-71, (1995). -Konuk M., Babaoğlu M., *Bitki Biyoteknolojisi II*, Editörler; Özcan S., Gürel E., Babaoğlu M., 1. Basım, Vol:2, Selçuk Üniversitesi Basım Evi, Konya, 1-45sf (1991). -Konuk M., *Studies of The Biosynthesis and Properties of Nebularine*, Doktora Tezi, Department of Biochemistry, University College of Swansea, 200, (1993)

16. Sayfa numarası çıktı üzerinde sağ üst köşeye verilmelidir.

17. Dergideki yazıların bilimsel ve idari sorumluluğu yazarına aittir.

18. Yazılar "Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi, Fen-Edebiyat Fakültesi, ANS Kampüsü, AFYON" adresine gönderilecektir. Yazılara yazışma yapılacak yazarla ilgili ayrı bir sayfada ad, soyad, unvan, posta, telefon, faks ve e-posta bilgileri eklenmelidir.