



**KADMİYUMUN NEDEN OLDUĞU  
KARACİĞER, AKCİĞER VE BÖBREK HASARI  
ÜZERİNE SİLDENAFİLİN KORUYUCU ETKİSİ**

**Ahmet Hüsamettin BARAN**  
İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi  
Farmakoloji Anabilim Dalı  
Ortak Doktora Programı

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gökür AKTAY**  
**Ortak Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma AKAR**

**Doktora Tezi – 2018**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KADMIYUM'UN NEDEN OLDUĞU KARACİĞER, AKCİĞER VE BÖBREK  
HASARI ÜZERİNE SİLDENAFİL'İN KORUYUCU ETKİSİ**

**Ahmet Hüsamettin BARAN**

**İnönü Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi  
Farmakoloji Anabilim Dalı  
Ortak Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Göknur AKTAY**

**Ortak Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Fatma AKAR**

**MALATYA  
2018**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi ile Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüleri Farmakoloji Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Ahmet Hüsamettin BARAN'nın "Kadmiyumun Neden Olduğu Karaciğer, Akciğer ve Böbrek Hasarı Üzerine Sildenafil'in Koruyucu Etkisi "** konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14/12/2018



Prof. Dr. Göknur AKTAY  
Tez Danışmanı  
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Fatma AKAR  
Gazi Üniversitesi  
Ortak Tez Danışmanı  
Üye



Prof. Dr. Orhan Mecit ULUDAĞ  
Gazi Üniversitesi  
Üye



Prof. Dr. Nuray ARI  
Ankara Üniversitesi  
Üye



Prof. Dr. Aslı CEYLAN  
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi  
Üye

### ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ....../....../2018 tarih ve 2018/.....sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Metal Toksisitesi.....	3
2.2. Kadmiyum .....	4
2.2.1. Kadmiyumun Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	4
2.2.2. Çevrede Kadmiyum ve Maruziyet Kaynakları .....	5
2.2.3. Kadmiyumun Emilimi ve Vücutta Dağılımı.....	6
2.2.4. Kadmiyum Toksisitesi .....	8
2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres .....	8
2.3.1. Lipit Peroksidasyonu .....	12
2.3.2. DNA Oksidasyonu.....	12
2.3.3. Protein Oksidasyonu .....	13
2.4. Antioksidanlar.....	13
2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar .....	14
2.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	16
2.5. Sitokinlerin Fizyolojik Önemi .....	17
2.6. Fosfodiesteraz İnhibitörleri.....	19
2.6.1. Seçici Fosfodiesteraz-5 İnhibitörleri.....	21
2.6.1.1. Sildenafil.....	22
3. MATERYAL VE METOT .....	24
3.1. Denede Kullanılan Cihaz ve Malzemeler .....	24
3.1.1. Kimyasallar .....	24
3.1.2. Cihazlar.....	24
3.1.3. Malzemeler .....	24
3.1.4. Kitler .....	25
3.2. Protein Miktarı Tayini .....	25

3.3. Stok ve Standart Protein Çözeltilerinin Hazırlanması .....	25
3.4. Eliza Ölçüm Yöntemi .....	26
3.5. Deney Hayvanları .....	27
3.6. Deney Grupları .....	27
3.7. Kan, Akciğer, Böbrek ve Karaciğer Dokularının Alınması.....	29
3.8. Dokuların Ölçüme Hazır Hale Getirilmesi .....	29
3.9. Tampon Çözelti Hazırlanışı .....	30
3.10. İstatistiksel Analiz.....	30
3.11. Dokuda İnterlökin-6 ve TNF- $\alpha$ Ölçümü .....	30
3.12. Dokuda TSH, TBARS, GSH ölçümü .....	31
3.13. Serumda AST, ALT, KREATİNİN, CK-MB ve BUN ölçümü.....	32
3.14. Histopatolojik çalışma .....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Histopatoloji İncelemesi .....	41
5. TARTIŞMA .....	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR .....	52
EKLER.....	63
Ek-1. Özgeçmiş.....	63
Ek-2. Etik Kurul Onayı .....	64

## TEŐEKKÜR

Akademik eğitim hayatım baőından bu yana göstermiő oldukları destek için baőta danıőman hocam İnönü nivesitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Prof.Dr Göknur AKTAY'a ve ortak tez danıőmanım Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Prof.Dr. Fatma Akar'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Çalıőmalarım sırasında beni '2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı' ile destekleyen TÜBİTAK'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen eőime, arkadaőlarım Bahadır Kaymaz ve Ahmet Berk'e teőekkür ederim.

## ÖZET

### **Kadmiyum'un Neden Olduğu Karaciğer, Akciğer ve Böbrek Hasarı Üzerine Sildenafil'in Koruyucu Etkisi**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı kadmiyum ile indüklenen karaciğer, akciğer ve böbrek toksisitesine karşı sildenafilin koruyucu etkisini incelemektir.

**Materyal ve Metot:** Sprague Dawley cinsi dişi sıçanların (n=28) kadmiyumla oluşturulmuş karaciğer, akciğer ve böbrek doku toksisitesi için serum AST, ALT, kreatinin, BUN ve CK-MB ile oksidatif stres göstergelerinden doku TBARs, GSH, T-SH ve enflamasyonda kötü prognoz göstergesi sayılan doku IL-6, TNF- $\alpha$  düzeyleri ile histopatolojik durum değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Kadmiyum'un TNF- $\alpha$ , IL-6 ve TBARs düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde artırdığı (p<0.05, p<0.001), GSH ve T-SH düzeylerini ise anlamlı derecede azalttığı tespit edilmiştir (p<0.001). Sildenafil+kadmiyum uygulamasında ise, kadmiyum grubuna göre TBARs düzeyi anlamlı derecede azalırken (p<0.05), GSH ve T-SH düzeyleri anlamlı derecede artmıştır (p<0.001). TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeyleri değerlendirildiğinde, sildenafil+kadmiyum grubunda, kadmiyum uygulanan gruba göre anlamlı derecede düştüğü gözlenmiştir (p<0.001, p<0.01). Histopatoloji değerlendirmesinde ise sildenafil uygulaması, kadmiyumun neden olduğu doku harabiyetini azaltmıştır.

**Sonuç:** Sildenafil'in, kadmiyum'un neden olduğu çoklu doku hasarına karşı koruyucu etkisinin antiinflamatuvar özelliğinden kaynaklandığı söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan sistem, Enflamasyon, Kadmiyum, Oksidatif stres, Sildenafil

## ABSTRACT

### Protective Effect of Sildenafil on Cadmium-induced Liver, Lung and Kidney Injury

**Aim:** The aim of this study was to investigate the protective effect of sildenafil against cadmium-induced liver, lung and kidney toxicity.

**Material and Method:** Sprague Dawley female rats (n=28) are for cadmium-induced liver, lung and kidney tissue toxicity, biochemical parameters serum AST, ALT, creatinine, BUN and CK-MB, tissue TBARs from lipid peroxidation indicators, tissue GSH and T-SH levels from tissue antioxidant parameters, tissue IL-6 and TNF- $\alpha$  levels which are considered as indicators of poor prognosis in inflammation and histopathological status were evaluated.

**Results:** It was found that cadmium significantly increased TNF- $\alpha$ , IL-6 and TBARs levels ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ), GSH and T-SH levels were significantly decreased compared to the control group ( $p < 0.001$ ). In Sildenafil + cadmium application, TBARs decreased significantly compared to cadmium group ( $p < 0.05$ ), GSH and T-SH levels were significantly increased ( $p < 0.001$ ). When TNF- $\alpha$  and IL-6 levels were evaluated, it was observed that sildenafil+cadmium group was significantly decreased compared to cadmium group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ). In the histopathological evaluation, sildenafil application decreased the cadmium-induced tissue damage.

**Conclusion:** The protective effect of sildenafil against multiple tissue damage caused by cadmium can be said to be due to its anti-inflammatory properties.

**Keywords:** Antioxidant system, Cadmium, Inflammation, Oxidative stress, Sildenafil



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ALT</b>	: Alanin Aminotransferaz
<b>AST</b>	: Aspartat Aminotransferaz
<b>cAMP</b>	: Siklik Adenozin Monofosfat
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>Cd</b>	: Kadmiyum
<b>cGMP</b>	: Siklik Guanozin Monofosfat
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>GPx</b>	: Glutatyon Peroksidaz
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>i.p.</b>	: İntraperitonel
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MPO</b>	: Miyeloperoksidaz
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentaz
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup></b>	: Süperoksit radikali
<b>OH<sup>·</sup></b>	: Hidroksil radikali
<b>PDE</b>	: Fosfodiesteraz
<b>PDEi</b>	: Fosfodiesteraz İnhibitörü
<b>PDE5i</b>	: Fosfodiesteraz 5 İnhibitörü
<b>R<sup>·</sup></b>	: Alkil radikali
<b>RCOO<sup>·</sup></b>	: Organik peroksit radikali
<b>RO<sup>·</sup></b>	: Alkoksil radikali

<b>ROO<sup>·</sup></b>	: Peroksil radikali
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>RNS</b>	: Reaktif Azot Türleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SiL</b>	: Sildenafil
<b>SH</b>	: Tiyol grubu
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik asit
<b>TBARs</b>	: Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör alfa
<b>T-SH</b>	: Total tiyol grupları
<b>XO</b>	: Ksantin oksidaz

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil No</b>	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. Kadmiyum ve İtai itai hastalığı. ....	5
Şekil 2.2. Kadmiyumun biyotransformasyonu .....	6
Şekil 2.3. Kronik kadmiyum maruziyeti ve metallothionein.....	7
Şekil 2.4. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu .....	9
Şekil 2.5. MDA oluşum reaksiyonu .....	10
Şekil 2.6. Oksidatif stres kaynakları ve oksidatif strese bağlı oluşan DNA, protein ve lipit peroksidasyon şeması .....	11
Şekil 2.7. Oksidatif stresle indüklenen DNA hasarının muhtemel mekanizması.....	13
Şekil 2.8. Endojen antioksidan enzimlerin döngü reaksiyonu.....	14
Şekil 2.9. Fosfodiesteraz-5'in etki mekanizması .....	22
Şekil 4.1. Serum AST, ALT düzeyleri, * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001 .....	33
Şekil 4.2. Serum Kreatinin, BUN, CK-MB düzeyleri. * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001.....	34
Şekil 4.3. Doku TBARS düzeyleri. * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001.....	35
Şekil 4.4. Doku GSH düzeyleri. * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001 .....	36
Şekil 4.5. Doku T-SH düzeyleri. * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001.....	37
Şekil 4.6. Doku TNF- $\alpha$ düzeyleri. * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001 .....	38
Şekil 4.7. Doku IL-6 düzeyleri. * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001 .....	39
Şekil 4.8. Kontrol grubu histopatoloji .....	41
Şekil 4.9. SiL grubu histopatoloji.....	42
Şekil 4.10. Cd grubu histopatoloji .....	43
Şekil 4.11. SiL+Cd grubu histopatoloji.....	44

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Endojen ve eksojen antioksidanlar .....	15
<b>Tablo 2.2.</b> Ana sitokinlerin temel işlevleri.....	18
<b>Tablo 2.3.</b> Fosfodiesteraz enzimlerinin dokulara dağılımı ve fonksiyonları. ....	20
<b>Tablo 3.1.</b> Sığır serum albumin seri standart çözelti derişimleri ve hazırlanması .....	25
<b>Tablo 3.2.</b> Eliza ölçümünde kullanılacak standartların hazırlanması .....	26
<b>Tablo 3.3.</b> Eliza ölçümünde kuyucuklara eklenen solüsyonlar .....	26
<b>Tablo 4.1.</b> Ölçüm sonuçları .....	40

# 1. GİRİŞ

Metal kaynaklı toksisiteler halk sağlığını yakından ilgilendirmektedir. Çünkü, ağır metallere maruziyet hem çevresel hem de mesleki kaynaklarla olabilmektedir (1). Bazı metallerin kansere ve organ hasarlarına neden olduğu iyi bilinirken, birçoğunun gerçek toksik etki mekanizmaları açık bir şekilde aydınlatılamamıştır (2). Tartışılan tüm mekanizmalar göz önüne alındığında, oksidatif stres metal kaynaklı karsinogenez ve organ hasarında açık bir rol oynamaktadır (3). Erken evrede metal kaynaklı karsinogenez ve organ hasarı sırasında, normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesi, yüksek miktarlarda serbest radikal üretimi ile gerçekleşir. Bu süreç boyunca, oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (4).

Kadmiyum ( $Cd^{+2}$ ) tüm canlı organizmaların sağlığını tehdit eden, doğal olarak oluşan ve endüstride sıklıkla kullanılan zararlı bir ağır metaldir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Dairesi tarafından bir insan kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır.  $Cd^{+2}$  zehirlenmesinin başlıca kaynakları sigara ve kadmiyumla bulaşan gıda veya suyun tüketilmesidir (5). Kadmiyum maruziyeti organizmada oksidan/antioksidan dengesizliğine neden olur ve oluşan peroksiti artırır. Bu durum, yüksek düzeyde hidroperoksitlerin üretilmesine ve lipid, karbonhidrat, protein metabolizmasının bozulmasına yol açar. Diğer taraftan, enflamasyon, apoptoz ve tümör gelişiminden sorumlu tümör nekroz faktörü alfa ( $TNF-α$ ) ve interlökinler IL6, 8,1B gibi biyolojik göstergelerin düzeylerinin artmasına neden olduğu gösterilmiştir. (6).

Seçici bir fosfodiesteraz-5 inhibitörü (PDE5i) olan sildenafil (SiL), hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyini artırarak erektil disfonksiyon ve anjina tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Ek olarak, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve kardiyoprotektif etkilere sahip olduğu ve aynı zamanda son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar SiL'in bu etkilerinin çoğunu, oksidatif stresi ve enflamasyonu önleyerek gösterdiği bildirilmiştir (7).

Bu çalışmamızla, Cd'nin toksik etki mekanizmasını farklı biyolojik göstergeler üzerinden anlamaya çalışarak toksisiteyi önlemeye yönelik olası yaklaşımları sunmak, klinikte kullanımı olan bir ilacın ağır metal maruziyetine bağlı olarak gelişebilecek organ ve doku hasarlarının önlenmesi açısından yararını değerlendirmeye sunmak, organ hasarlarının önlenmesi amacıyla yapılan çalışmalara verilerimizle bilgi ve

deneyim paylaşımı sağlamak ve fosfodiesteraz-5 inhibitörleri ile yapılan ilaç geliştirme çalışmalarına yeni yaklaşımlar geliştirilmesini sağlamayı amaçladık.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Metal Toksisitesi

Metaller çevrede doğal olarak bulunabilen bileşenlerdir ve birçoğu organizmalar için gerekli olan mikro besinlerdir. Karasal ve sucul sistemlerde ve aynı zamanda havada da bulunabilirler. Özellikle güncel olarak önemli olan toksik metaller arasında, bunlarla sınırlı olmamakla birlikte  $Ar^{+3}$ ,  $Pb^{+4}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$  ve  $U^{+3}$  bulunur (8).

Metaller toksik, kalıcı, biyobozunur olmayan ve yüksek biyobirikim özellikleri nedeniyle küresel bir problemdirler. Kentleşme, sanayileşme, madencilik gibi insani faaliyetler, ekosistemdeki metal kirliliğinin ana kaynağıdır. Çoğu metalin yüksek konsantrasyonlarda birçok organizma için toksik olduğu bilinmesine rağmen, bunların birçoğu önemli metabolik ve sinyal yollarına da katılır. Birçok organik kimyasaldan farklı olarak, metaller daha az toksik bileşiklere kolayca metabolize edilemez. Bu nedenle metaller, çevreye salındığında toprakta uzun kalma sürelerine sahiptir ve metal kirliliğinin meydana gelmesinden sonra uzun süre zararlı etkilere neden olabilirler (9).

Oksidatif hasar genellikle metaller tarafından reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesi ile ilişkilidir ve bu nedenle antioksidan savunma, oksidatif strese karşı organizmaların korunmasında önemli bir role sahiptir (10).

Metal atomları, pozitif iyonları (katyonları) oluşturmak için elektronlarını kolayca kaybeder. Bu nedenle, metaller çok reaktiftir ve metabolizmaya ve önemli biyokimyasal reaksiyonlara katılırken organizmada toksik etki oluşturabilirler (11). Vücuttaki belirli bir metalin konsantrasyonu, metal maruziyetinin seviyesine ve süresine bağlıdır. Toksikite, metallerin izotop formlarının yanı sıra diğer zenobiyotiklerle etkileşimleri ile de ilişkili olabilir. Ayrıca, metaller DNA iplikçığı kırılması ve DNA onarımını inhibe etmek gibi genotoksik etkilere de sahiptir (12, 13).

Metaller, işlevlerine göre redoks-aktif ve redoks-inaktif metallere ayrılabilir. Reaktif hidroksil ( $OH^-$ ) radikalleri üreten ve genellikle mitokondri, mikrozoimler ve peroksizomlar gibi membranöz kısımlarla bağlantılı olan  $Fe^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Cr^{+3}$  gibi metaller Fenton reaksiyonlarını katalizleyen tipik redoks-aktif metallerdir. Fenton reaksiyonu, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve bir  $Fe^{+2}$  katalizörü içeren en güçlü oksitleyici reaksiyonlardan biridir. Bu reaksiyonda, peroksit bir hidroksit iyonu ve bir hidroksil radikaline ayrılır.  $Pb^{+4}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  ve  $Hg^{+2}$  içeren redoks-inaktif metaller, glutatyon

(GSH) ve diğ er tiyol (-SH) içeren antioksidanlar ve proteine bağı lı -SH grupları gibi hücrelerin baş lı ca antioksidanlarını tüketir (14).

Esansiyel metaller, bir takım biyolojik süreçler vası tasıyla temel vücut fonksiyonlarının sürdürülmesi için gereklidir. Özellikle beyin, optimal fizyolojik fonksiyon için  $Fe^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Cu^{+}$  ve  $Zn^{+2}$  gibi birkaç önemli geçiş metali gerektirir. Santral sinir sisteminde ve vücutta meydana gelen hayati fonksiyonlarda, bu metaller biyokimyasal reaksiyonlar için katalizörler, gen ifadesi düzenleyicileri, sinyal yollarında ikinci haberciler ve birçok hayati enzim için kofaktör görevi görürler. Örneğ in, antioksidan fonksiyonlarla ilgili birçok enzim, metalleri kofaktör olarak kullanmaktadır; süperoksit dismutaz (SOD) mitokondride  $Mn^{+2}$  ve sitozolda  $Zn^{+2}/Cu^{+}$  gerektirir (15).

Esansiyel olmayan metaller ise düşük seviyelerde bile toksik etkilere neden olabilirler.  $Pb^{+4}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Al^{+3}$  ve alkil türevleri gibi çeşitli metallerin inorganik tuzları davranış ve beyin fonksiyonları üzerinde toksik etkilere sahiptir. Metallerin toksisitesi, metal homeostazının bozulmasıyla oluş ur ve DNA hasarı, gen ifadesinde değ işiklikler ve oksidatif stres ile meydana gelen organ hasarları ile kendini gösterir (16).

## **2.2. Kadmiyum**

Kadmiyum modern toksik metal olarak bilinen, çevrede yaygın olarak bulunan en toksik çevresel ve endüstriyel kirleticilerden biri olarak kabul edilmiş, periyodik cetvelde IIb grubunun üyesi olan ağır bir metaldir (17). Çoğ u metalden farklı olarak, büyük ölçekli  $Cd^{+2}$  kullanımı oldukça yakın bir tarihte 1940'larda başlamıştır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Dairesi,  $Cd^{+2}$  ve bileşiklerini Grup-1 kanserojenler olarak sınıflandırmıştır; diğ er bir deyiş le, insanlarda ve deney hayvanlarında karsinojenite açısından yeterli kanıt bulunmaktadır (18, 19).

### **2.2.1. Kadmiyumun Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri**

1817'de Stromeyer tarafından çinko karbonattaki bir safsızlıktan keşfedildi.  $Cd^{+2}$ , çoğ unlukla sfalerit gibi küçük miktarlarda çinko cevherleriyle birleşmiş olarak bulunur.  $Cd^{+2}$ 'nin neredeyse tamamı çinko, bakır ve kurşun cevherlerinin işlenmesinde yan ürün olarak elde edilir. Birçok inorganik  $Cd^{+2}$  bileş iğ inden birkaç ı suda oldukça çözü nür (örneğ in kadmiyum asetat, kadmiyum klorür ve kadmiyum sülfat), kadmiyum oksit ve

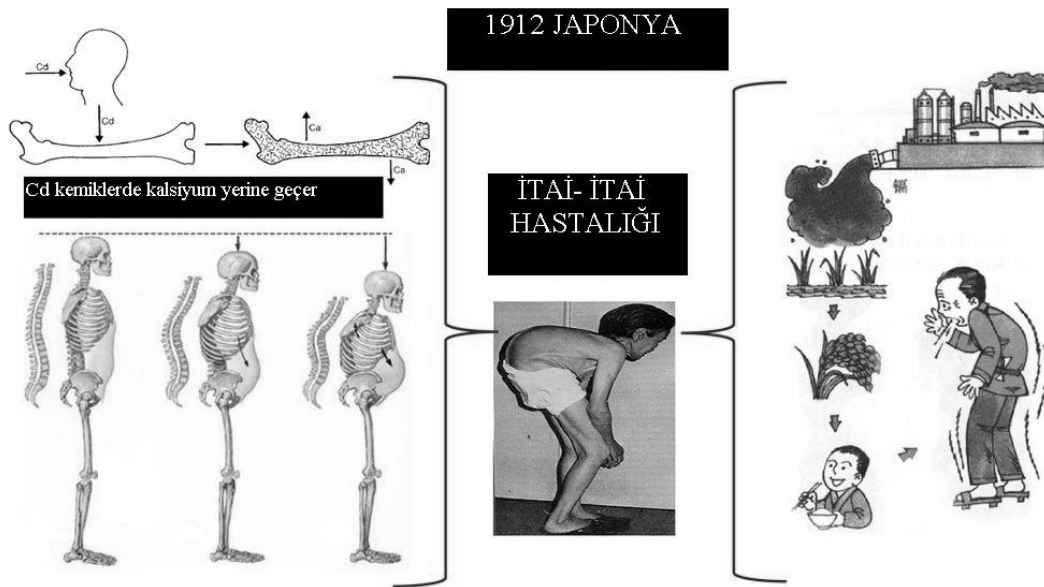


sülfür neredeyse çözünmez. Bununla birlikte, kadmiyum oksit ve kadmiyum karbonat mide pH'sında çözünebilir (19, 20).

### 2.2.2. Çevrede Kadmiyum ve Maruziyet Kaynakları

Çeliklerin korozyona karşı korunması için, alaşımlarda lehim ve kaynak metali olarak, polivinil klorür plastiklerde, boya pigmentlerinde, farklı boya ve cila tiplerinde, gübrelerde, Ni-Cd pillerde kullanılır (21, 22). Genel olarak  $Cd^{+2}$  maruziyetinin başlıca kaynakları gıdalar ve sigaradır. Kadmiyum açısından zengin gıdalar arasında özellikle kabuklu deniz ürünleri, karaciğer, böbrek, yabani mantarlar, keten tohumu ve kakao tozu bulunur. Bununla birlikte, yiyecekte bulunan  $Cd^{+2}$ 'nin %80'i tahıllar, patatesler ve kirlenmiş toprakta yetiştirilen sebzelerden gelir (23, 24).

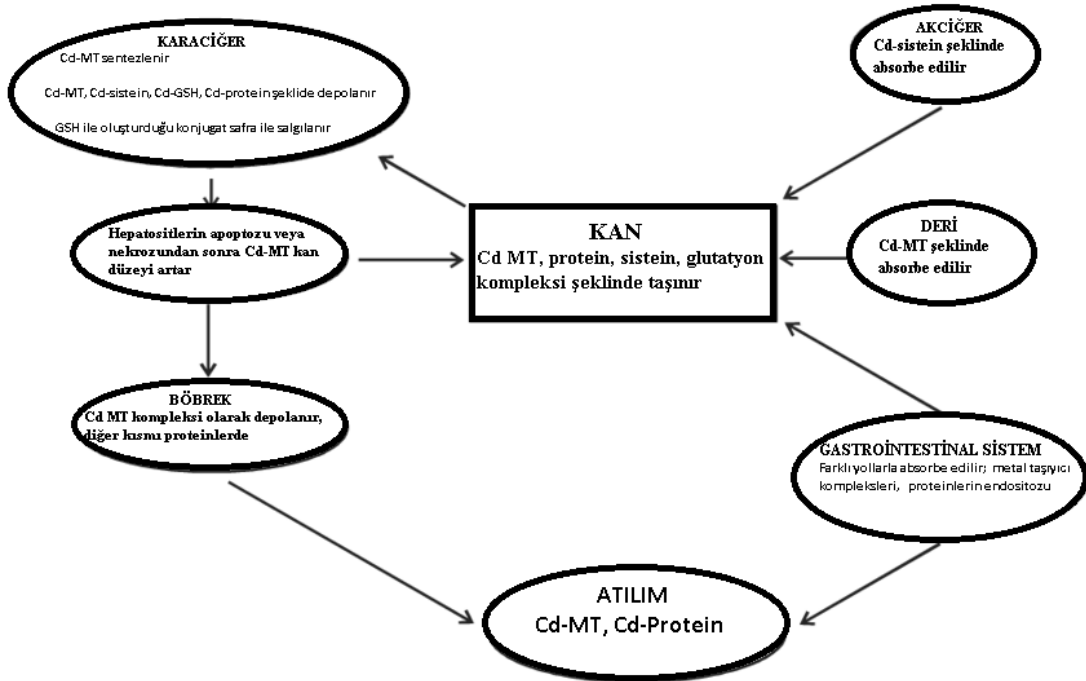
Kadmiyum çevreye doğal kaynaklar ve antropojenik aktivitelerden salınmaktadır. Çevresel bir kirletici olarak öneminin klasik örneği, şiddetli ağrı, kemik kırıkları, proteinüri ve ağırlıklı olarak kadınlar arasında görülen ve ağır osteomalazi ile belirgin ciddi bir hastalık olan ve Jinzu Nehri'nde yaygın görülen **İtai-İtai** hastalığıdır. Bu hastalığın besin faktörleri ile birlikte bir maden faaliyetinden kaynaklanan kadmiyumla kirlenmiş topraklarda yetişen pirincin tüketilmesi ve kirlenmiş suların içilmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (25-27).



Şekil 2.1. Kadmiyum ve İtai itai hastalığı (28).

### 2.2.3. Kadmiyumun Emilimi ve Vücutta Dağılımı

Akciğerlerde, solunan dozun % 10-50'si, partikül büyüklüğüne, solunan kadmiyum bileşiğinin çözünürlüğüne ve maruz kalma süresine bağlı olarak emilir (29, 30). Ağızdan alınan kadmiyumun çoğu, mide bağırsak yolundan değişmeden geçer ve normal bireylerde sindirilen kadmiyumun yaklaşık % 6'sı emilir, ancak demir eksikliği olanlarda % 9' a kadar emilebildiği gösterilmiştir. Suyla alınan kadmiyum, gıdalardaki kadmiyuma göre daha kolay emilir. Diyetle yüksek  $Zn^{+2}$  veya  $Cr^{+3}$  varlığı  $Cd^{+2}$  emilimini azaltır. Deriden emilim,  $Cd^{+2}$  girişinin önemli bir yolu değildir;  $Cd^{+2}$ 'nin sadece yaklaşık % 0.5' i cilt tarafından emilir (31).



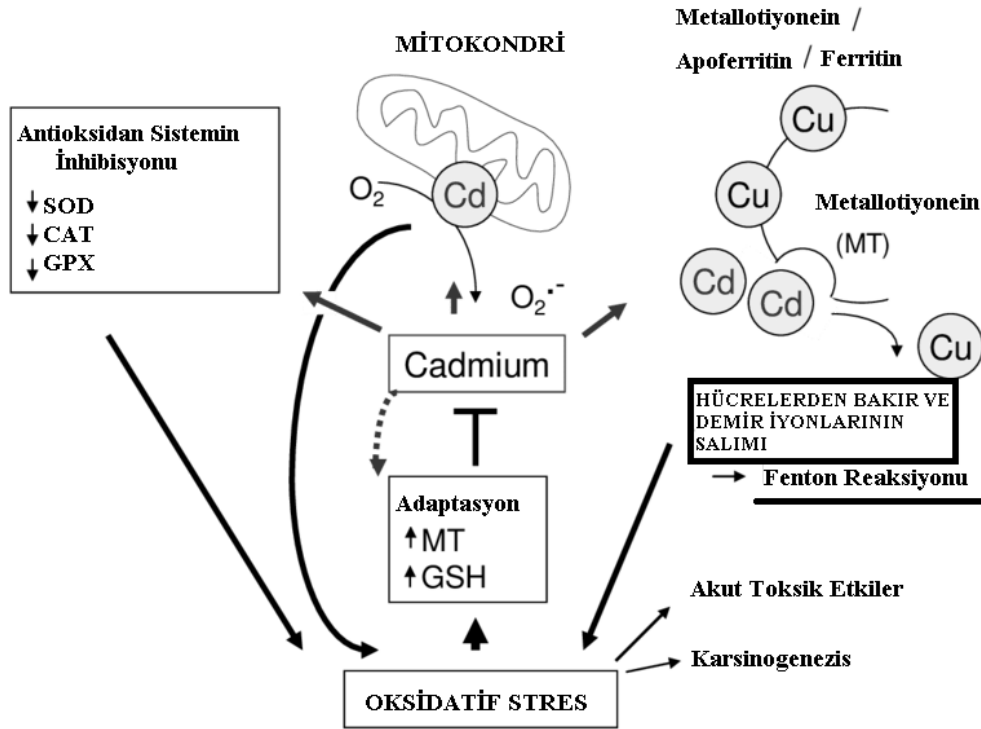
Şekil 2.2. Kadmiyumun biyotransformasyonu (29).

Kadmiyum akciğerlerden veya bağırsaklardan sistemik dolaşıma girdikten sonra plazma albüminine zayıf bir şekilde bağlanır ve çeşitli organlara kolayca dağıtılır. Oral, pulmoner ya da parenteral maruziyet ne olursa olsun, maruziyetten hemen sonra en fazla  $Cd^{+2}$  miktarını alan ilk organ karaciğerdir. Bağırsaktan emilen kadmiyumun çoğu önce portal dolaşım yoluyla karaciğere gelir, burada henüz çok iyi tanımlanamamış mekanizmalarla hepatositler tarafından sinüzoidal kılcak damarlardan alınır (32).

Kadmiyum karaciğerde, metal bağlayan bir protein olan metallothionein (MT) sentezini uyarır ve dolaşıma  $Cd^{+2}$ -MT kompleksi şeklinde salınır (33). Bu kompleks

glomerüler yolla kolaylıkla filtrelenir ve endositozla proksimal tübül içine salınır. Çeşitli proksimal tübül segmentleri, distal boru ve bağlı tübüler hücrelerdeki serbest  $Cd^{+2}$  iyonlarının hem kandan epitel hücrelerine, hem de epitel hücrelerinden idrara taşınmasında birden fazla taşıyıcı sorumludur (34).

Metallotiyoneinler, 6 ila 7 kDa arasında değişen molekül ağırlıkları olan bir çok organizma tarafından üretilen sistein açısından zengin bir protein grubudur. 1957'de at böbrek korteksindeki  $Cd^{+2}$ -bağlayıcı proteinlerin keşfedilmesinden bu yana, metal taşınmasında MT'lerin rolü kapsamlı bir incelemeye tabi tutulmuştur. MT'lerin, sistein kalıntılarında metal iyonlarına yüksek afiniteye sahip bol miktarda -SH grupları olması nedeniyle, sadece  $Zn^{+2}$ ,  $Cu^{+}$  ve  $Se^{+2}$  gibi fizyolojik metal iyonlarının homeostazında değil aynı zamanda  $Cd^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+4}$  ve  $Ar^{+2}$  gibi ağır metallerin toksisitesinde de önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (35, 36).



Şekil 2.3. Kronik kadmiyum maruziyeti ve metallothiyonein (37).

Enterik olarak emilen kadmiyumun idrar ve gaita yoluyla atılımı yavaştır. Atılım yavaş olduğundan, vücutta  $Cd^{+2}$  birikmeye başlar. Kandaki  $Cd^{+2}$  konsantrasyonu yakın zamandaki maruziyeti yansıtır; üriner  $Cd^{+2}$  konsantrasyonu ise toplam vücut yükünü ve kronik maruziyeti yansıtır. Bununla birlikte,  $Cd^{+2}$  maruziyetinden kaynaklanan böbrek

hasarları olduğunda, atılım oranı belirgin bir şekilde artar ve idrar  $Cd^{+2}$  düzeyleri artık vücut yükünü yansıtmaz.

#### **2.2.4. Kadmiyum Toksisitesi**

Kadmiyum toksisitesinden sorumlu mekanizma çok etmenli olabilir.  $Cd^{+2}$ , fonksiyonlarını doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyerek solunum sistemi, böbrek, kardiyovasküler, gastrointestinal ve sinir sistemleri ve kemikler gibi çeşitli sistem ve dokuların hücrelerinde toksisiteye neden olabilir. Bu toksik etkiler, hücrelerin dejenerasyonunu ve hatta transmutasyonunu indükler.  $Cd^{+2}$  hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozu etkiler. Bu etkileri DNA onarım mekanizmasının inhibisyonu, ROS oluşumu ve apoptozisin indüksiyonu ile ilişkilidir (38). Ayrıca, antioksidan enzimler olan SOD, CAT, GPx, manganez-süperoksit dismutaz ve  $Cu^{+}/Zn^{+2}$ -dismutaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini de baskılar (39).

Kadmiyum toksisitesinin derecesi akut veya kronik maruziyet durumuna göre farklılık gösterir. Akut  $Cd^{+2}$  zehirlenmesi, akciğer ödemi, hemoraji, fulminant hepatit, testis hasarı ve ölüme neden olur;  $Cd^{+2}$  kronik maruziyette nefrotoksisite, osteotoksisite ve immünotoksisiteye neden olur (40).

#### **2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres**

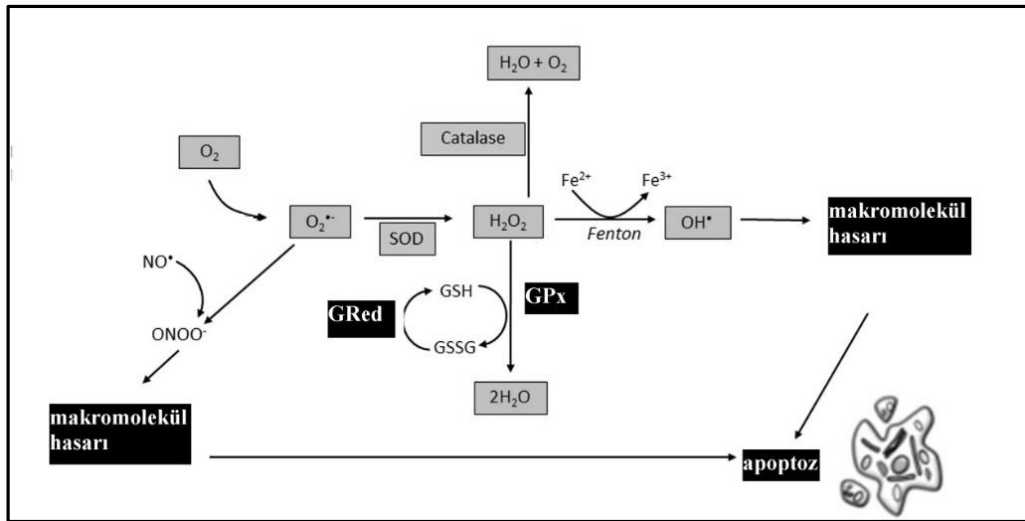
Oksidatif stres, ROS/RNS oluşmasıyla organizmada bunların zararlı etkilerini önlemeye çalışan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması olarak tanımlanır. Oksidatif stres artmış ROS/RNS üretiminden veya antioksidan koruyucu gücün azalmasıyla ortaya çıkan, endojen sistemlerin savaşıma kapasitelerinin azalmasıyla karakterize edilen, nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson, Alzheimer, Huntington hastalığı ve amyotrofik lateral skleroz) amfizem, kardiyovasküler ve inflamatuvar hastalıklar, katarakt, yaşlanma ve kanser gibi birçok kronik sağlık probleminin patogenezine ve patofizyolojisine katkıda bulunmuştur. Kümülatif oksidatif stres, membran hasarına neden olur, DNA onarımının bozulması, sonuçta hücre ölümüne yol açabilir. Oksidatif stres kaynakları ve oksidatif strese bağlı oluşan DNA, protein ve lipid peroksidasyon şeması şekil 2.6'da gösterilmiştir (41, 42).

Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen ve bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren yüksek derecede reaktif küçük moleküllerdir. Hücrenin enerji üreten organelleri olan mitokondri, oksidatif fosforilasyonun bir yan ürünü olarak ROS üretir. Aynı zamanda ROS, konakçı savunma mekanizmalarına katılım, gen ifadesinin düzenlenmesi

ve hücre sinyallemesi gibi metabolik sürecin doğal bir yan ürünüdür. Fagositler tarafından üretilmeleri, çeşitli bakteri veya mantar türlerine karşı savunma mekanizmasında gereklidir (43, 44).

Hücrede düzenli olarak devam eden oksidatif süreç, bir hücrenin yaşamı ve ölümü için gereklidir. Apoptoz, nekroz, fagositoz gibi faydalı biyolojik fonksiyonlara reaktif oksijen türleri aracılık eder. ROS ve RNS, miyeloperoksidaz (MPO), ksantin oksidaz (XO), Nitrik oksit sentaz (NOS) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) içeren enzimler tarafından üretilir. Bu radikaller, doğrudan ya da dolaylı olarak, DNA, proteinler, lipitler ve karbonhidratlar gibi biyomoleküllerle hızlı bir şekilde etkileşime girerek hasara neden olur ve sonuçta hücre ölümüne yol açar. Bununla birlikte, aşırı ROS üretimi, çeşitli nörolojik ve nörodejeneratif hastalıkların ortak bir patolojik özelliği olan oksidatif stres ile ilişkilidir (45, 46).

En yaygın reaktif oksijen türleri  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{O}_2^\cdot$ .  $\text{OH}^\cdot$  radikali, oksidatif potansiyeli ve biyomoleküllerle reaktivitesi nedeniyle biyolojik ve toksikolojik anlamda en önemli serbest radikaldir. ROS, doğal metabolizmanın yan ürünleridir ve organizmaların fizyolojik sağlığı için gereklidir, ancak serbest radikallerin bir kısmı, antioksidan korumadan kurtularak yaşam sistemlerinde oksidatif stresi artırır (47).

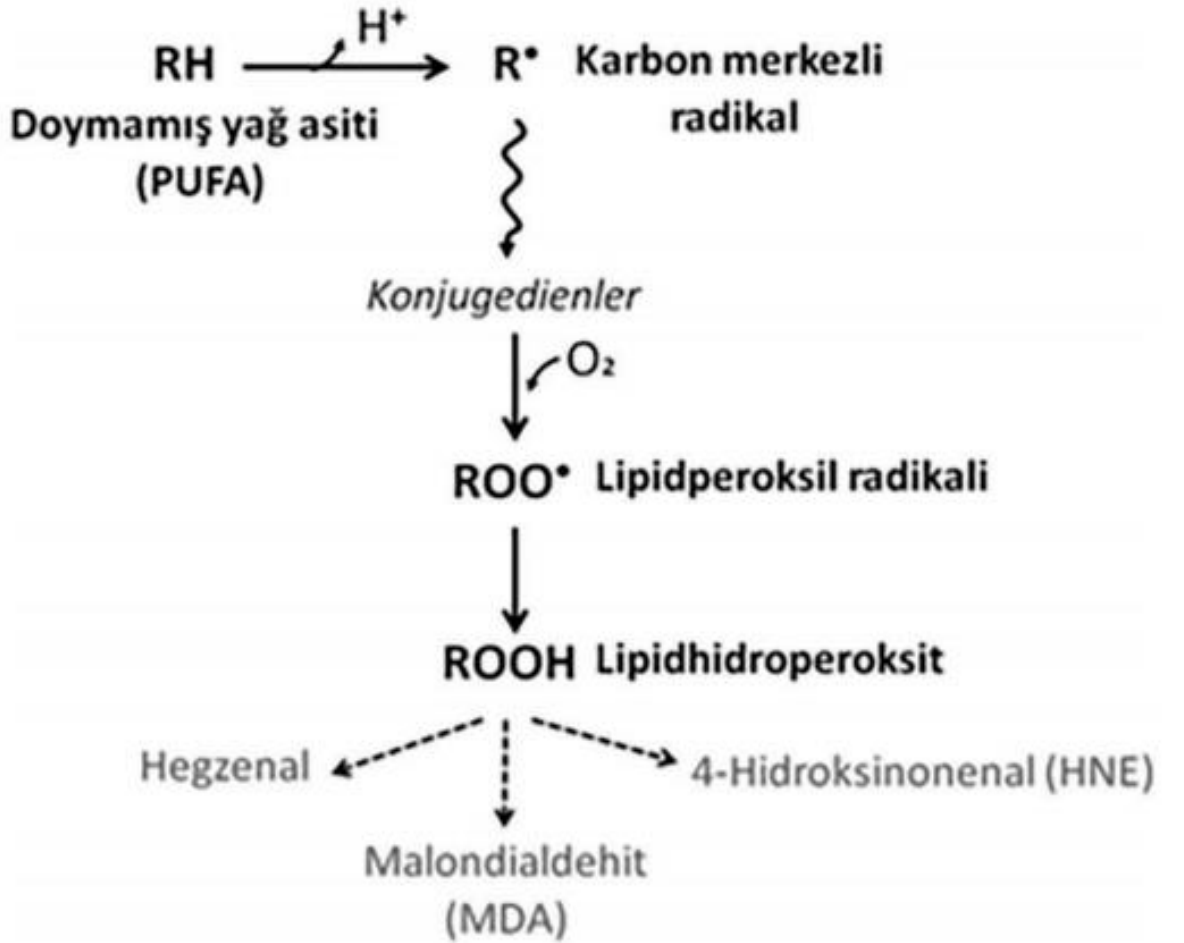


Şekil 2.4. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu (48).

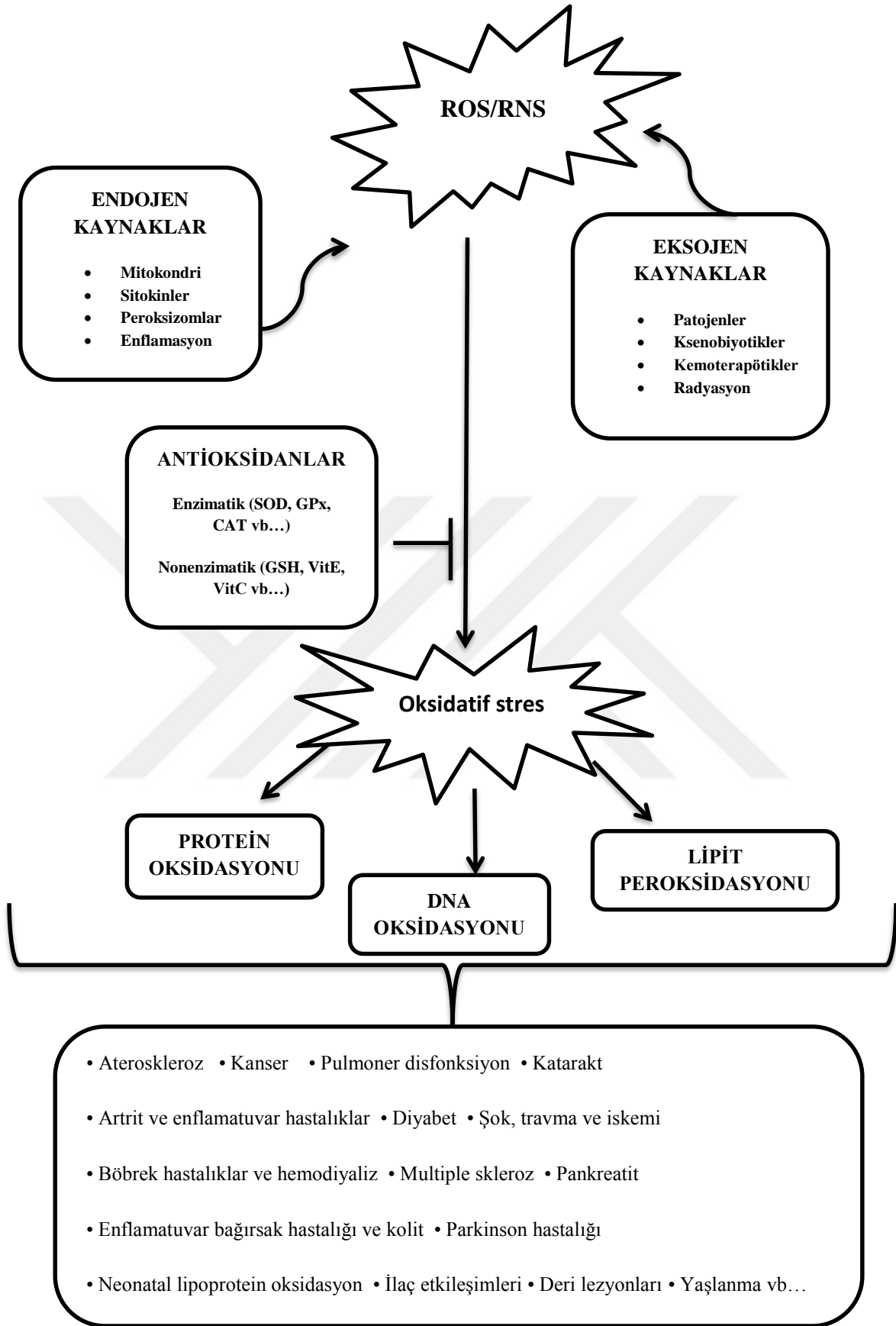
ROS ayrıca mitokondri katalizli elektron taşıma sistemi ve diğer mekanizmaların yan ürünleri olarak üretilmiştir. Normal fizyolojik koşullar altında üretilen ROS, çeşitli transkripsiyonel faktörlerin ve enzim kaskadlarının aktivasyonu yoluyla fizyolojik süreçlerde düzenleyici bir rol oynar. ROS'un çeşitli endojen ve eksojen kaynaklar

tarafından sürekli olarak üretilmesi, hücrel hasara neden olur, birçok hücrel fonksiyonu ve yaşlanmayı değiştirir (49).

Malondialdehit (MDA), lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitleri ve aldehitler, tiobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) olarak adlandırılır ve MDA eődeęeri olarak ölçülür. TBARS klinik çalışmalarda en çok kullanılan oksidatif stres belirteçlerinden biridir. MDA oluşum reaksiyonu Şekil 2.5' te gösterilmiştir (50).



Şekil 2.5. MDA oluşum reaksiyonu (50).



**Şekil 2.6.** Oksidatif stres kaynakları ve oksidatif strese bağlı oluşan DNA, protein ve lipit peroksidasyon şeması

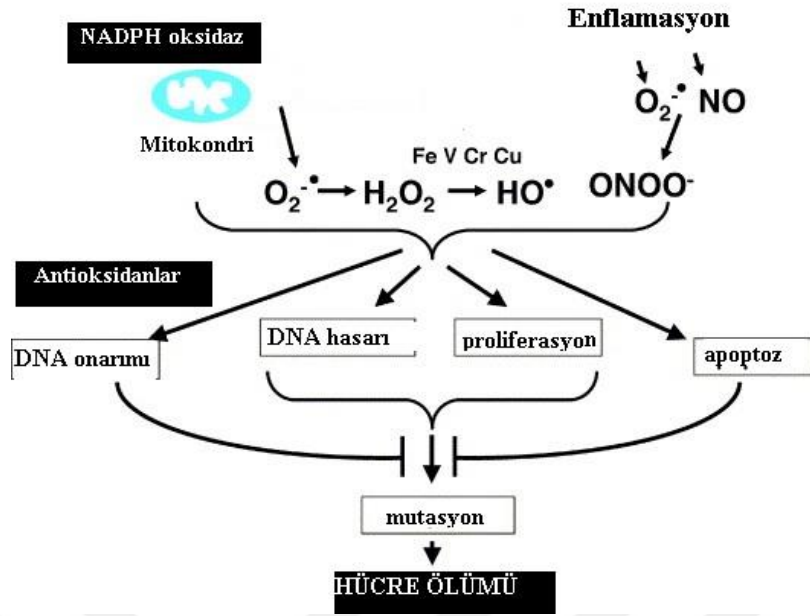
### **2.3.1. Lipit Peroksidasyonu**

Lipitler, hücre yapısını koruyan ve hücrelerin işlevini kontrol eden hücre zarının temel bileşenleridir. Lipit peroksidasyonu, hücre ölümüne yol açan toksisite sürecindeki hücre yapılarında oksidatif hasara sebep olan ana moleküler mekanizma olarak kabul edilir (51). Lipit peroksidasyonu, hidrojen ayrılması veya bir oksijen radikalinin eklenmesiyle başlatılan bir zincir reaksiyonudur ve bu da doymamış yağ asitlerinin oksidatif hasarıyla sonuçlanır. Doymamış yağ asitleri, doymuş olanlardan daha hassas olduğu için, aktive edilmiş metilen köprüsünün kritik bir hedef alanı temsil ettiği açıktır (52). Membran lipitlerinin peroksidasyonu membran fonksiyonunun bozulmasına, akışkanlığın azalmasına, membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna, iyonlara karşı membran geçirgenliğinin artmasına ve sonunda membran delinmesine neden olur. Oksidatif stres özellikle şiddetli ise, hücre ölümüne neden olur (53).

### **2.3.2. DNA Oksidasyonu**

ROS'un DNA-protein çapraz bağları gibi DNA'da çeşitli lezyonlara neden olarak DNA iplikçiklerinin kırılmasına yol açabilir. Oksidatif stresle DNA hasarına neden olabilen dış etmenler; hava kirliliği, iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, yaşam tarzı (örn. sigara, diyet) ve pestisitlere maruziyet ile ağır metallerdir. DNA, proteinler ve lipitlerde meydana gelen oksidatif hasar, sonuç olarak, hücrede organizasyon bozukluğu, fonksiyon bozukluğu ve membranların, enzimlerin ve proteinlerin tahribatı gibi sonuçlara yol açabilir (54-56). Oksidatif stresle indüklenen DNA hasarının muhtemel mekanizması şekil 2.7.'de gösterilmiştir (57).





Şekil 2.7. Oksidatif stresle indüklenen DNA hasarının muhtemel mekanizması (57).

### 2.3.3. Protein Oksidasyonu

Proteinin başlıca oksidatif modifikasyonları, -SH oksidasyonu, aromatik hidroksilasyon ve karbonil gruplarının oluşumunu içeren amino asitlerin yan zincirlerinde gerçekleşir. Tüm amino asit yan zincirleri arasında, sistein ve metionin, reaktif kükürt atomları içerdiğinden oksidasyona en duyarlı olanlardır. Oksidanlar, proteinin ikincil ve üçüncül yapısında parçalanma ve yapısal değişikliklere neden olmak için doğrudan proteinin omurgasına saldırabilirler. Disülfid, ditirozin ve oksidasyon ile indüklenen diğer moleküller arası köprüler, protein agregasyonu ve proteolitik özelliklerini değiştirmek için polimerizasyon ile sonuçlanabilir. Bu değişiklikler, çözünürlük, hidrofobiklik, su tutma kapasitesi fonksiyonları dahil olmak üzere proteinlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkileyebilir (58, 59).

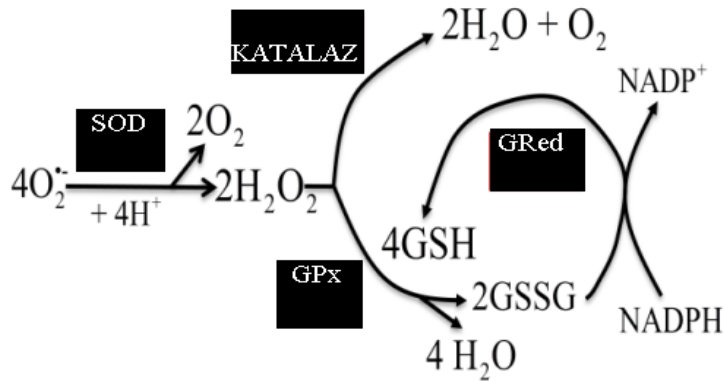
### 2.4. Antioksidanlar

Organizmalar, ROS uzaklaştırmak ve hücre içi mekanizmalara zarar vermeden önce oksidatif stresi önlemek için birçok koruyucu mekanizma geliştirmişlerdir. ROS ve RNS'nin aşırı üretimini dengelemek ve hücrel redoks homeostazisini korumak için hücreler, GSH,  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini),  $\beta$ -karoten, bilirubin ve ürik asit gibi küçük endojen antioksidan molekülleri içeren antioksidan savunma mekanizmaları ile donatılmıştır. Endojen ve eksojen antioksidanlar tablo 2.1'de gösterilmiştir (60, 61).

Antioksidanlar, genel olarak enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır:

#### 2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

Vücuttaki tüm hücreler kendilerini oksidatif hasara karşı koruyan güçlü antioksidan enzimler içerir. Oksidanlarla reaksiyona giren ve detoksifiye eden çok sayıda özel antioksidan enzim vardır (62). Endojen antioksidan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GP<sub>x</sub>), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon S-transferazlar (GST) gibi enzimlerdir. SOD, oksijen radikallerine karşı ilk savunma hattını oluşturan O<sub>2</sub><sup>-</sup>'nin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye indirgenmesini katalize eder. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT veya GP<sub>x</sub>'in etkisiyle suya ve moleküler oksijene parçalanır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, proteinleri, lipitleri ve nükleotitleri geri dönüşü olmayan şekilde zarar verebilen Fe<sup>+2</sup> üreten OH<sup>-</sup> ile reaksiyona girebilir. GSH, indirgenmiş glutatyonun glutatyon disülfide (GSSG) oksitlendiği bir reaksiyonda hidroperoksitlerin indirgenmesinde en fazla bulunan memeli hücre içi -SH içerir. GSH, NADPH kullanarak glutatyon redüktaz ile tekrar GSH'a indirgenir. Çeşitli detoksifiye edici enzimlerin bir kofaktörünün yanı sıra GSH ayrıca plazma membranı boyunca amino asitlerin taşınmasına katılır ve serbest radikallerin doğrudan temizleyicisidir. Endojen antioksidan enzim döngüsü şekil 2.8' de gösterilmiştir (63, 64).



Şekil 2.8. Endojen antioksidan enzimlerin döngü reaksiyonu.

**Tablo 2.1.** Endojen ve eksojen antioksidanlar

<b>ENDOJEN ANTIOKSİDANLAR</b>		
<b>ENZİMATİK ANTIOKSİDANLAR</b>	<b>ENZİMATİK OLMAYAN ANTIOKSİDANLAR</b>	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutatyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	$\alpha$ -lipoik asit
Glutatyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
<b>EKSOJEN ANTIOKSİDANLAR</b>		
<b>VİTAMİN EKZOJEN ANTIOKSİDANLAR</b>	<b>İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKZOJEN ANTIOKSİDANLAR</b>	
<b><math>\alpha</math>-tokoferol(Vitamin E)</b>	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
<b>B-karoten(Vitamin A)</b>	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestetikler, kal- siyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
<b>Askorbik asit (Vitamin C)</b>	Rekombinant süperoksit dismutaz	
<b>Folik asit (Vitamin B9)</b>	Trolox-C (vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

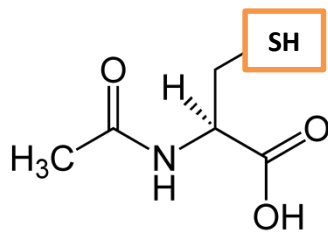
## 2.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

**Glutatyon:** GSH sistein, glutamik asit ve glisin içeren bir tripeptittir. GSH, iki karakteristik yapısal özelliğe sahiptir: bir c-glutamil bağlantısı ve bir sülfidril (-SH) grubu. GSH'nin çok yönlü fizyolojik fonksiyonları olduğu bilinmektedir, ksenobiyotik bileşiklerin detoksifikasyonunda ve ROS'in ve serbest radikallerin antioksidasyonunda önemli bir rol oynar. Geri dönüşümsüz hücre hasarı, hücre artık GSH içeriğini koruyamadığında meydana gelir. İnsanlarda, GSH tükenmesi, kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere bir dizi hastalık durumuna bağlı olarak gerçekleşir (65).

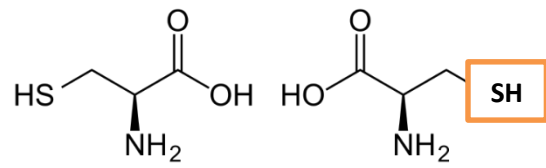
Aerobik metabolizmayla üretilen  $H_2O_2$ , sitosol ve mitokondrideki GPx ve peroksizomdaki CAT ile metabolize edilebilir. GSH, hücrel antioksidan savunmasının bir parçası olarak GSSG'ye oksitlenir, GSSG, NADPH kullanılarak GR tarafından GSH'ye geri döndürülebilir, böylece bir redoks döngüsü oluşturulur. Organik peroksitler, GPx veya GST ile azaltılabilir. GSH ayrıca protein redoks sinyallemede önemli bir rol oynar (66, 67).

**Tiyoller:** Tiyoller de antioksidan savunmada önemli bir role sahiptir. -SH'ler, oksidantlara maruziyet ile okside olur ve disülfid bağları oluşturabilir. -SH/disülfid oranı detoksifikasyon, antioksidan koruma, sinyal iletimi, enzim aktivitesinin düzenlenmesi, apoptoz ve hücrel sinyal mekanizmalarında kritik rollere sahiptir (68).

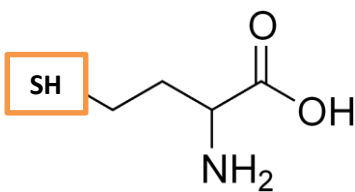
Antioksidan aktiviteye sahip bazı tiyoller;



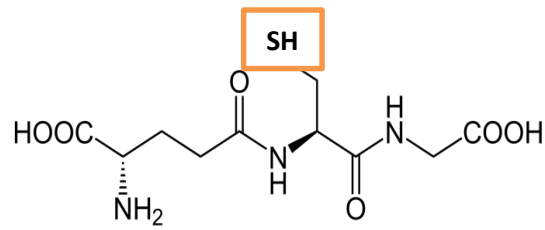
Asetilsistein



sistein



homosistein



glutatyon

## 2.5. Sitokinlerin Fizyolojik Önemi

Sitokinler, hücreler arasında haberciler olarak görev yapan üreme, büyüme ve gelişme, normal homeostatik düzenleme, yaralanmalara tepki ve insan bağışıklık fonksiyonunun yenilenmesinde önemli rol oynayan hücrelerel düzenleyici küçük proteinlerdir. Ana sitokinlerin temel işlevleri tablo 2.2'de gösterilmiştir (69). Pro-enflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$  ve interferon- $\delta$ ) temel olarak makrofajlar tarafından üretilirken anti-enflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13), makrofajlar, T hücreleri, adipozitler, vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücreler tarafından salgılanır (70).

Sitokinler farklı dokulardan salgılanan proteinlerdir ve bağışıklık hücrelerinin üremesini, farklılaşmasını, çoğalmasını ve işlevini etkiler. Bağışıklık hücreleri üzerinde etkilerini uygulamak için çeşitli hücreler tarafından salgılanan bir pleiotropik işaretleme molekülü ailesini içerir (71).

Sitokinler, çeşitli enfeksiyonlara, enflamasyona ve hatta kanserin gelişimine karşı adaptif immün yanıtın düzenlenmesi ve aktivasyonunda önemli araçlardır. Sitokinler, bağışıklık cevabının gücünü ve süresini düzenler, kemotaksis, büyüme ve çoğalmanın uyarılması, apoptozun uyarılması, lenfositlerin farklılaşması, hücrelerel ve humoral aracılı immüitenin farklı efektör fonksiyonlarının aktivasyonu ile hücre içi ve hücre dışı patojenlere karşı harekete geçirilmesi gibi çeşitli işlevlere aracılık eder (72).

IL-1, tanımlanmış ilk sitokin olmuştur ve vücuttaki hemen hemen bütün hücreleri ve organları etkiler. Diğer iki anahtar enflamatuvar sitokin olan TNF- $\alpha$  ve IL-6'nın keşfi ise hızlı bir şekilde IL-1'i takip etmiştir. Bunların hepsi, bu immün araçların birçok otoenflamatuvar, otoimmün, enfeksiyöz hastalık ve enflamasyonun patogeneğinde önemli moleküllerdir. Bütün bu enflamasyon sitokinleri etkilerini spesifik proteazlar tarafından hücre zarında yer alan spesifik reseptörler (IL-1R, TNFR, IL-6R) aracılığıyla uygular (73).

**Tablo 2.2.** Ana sitokinlerin temel işlevleri

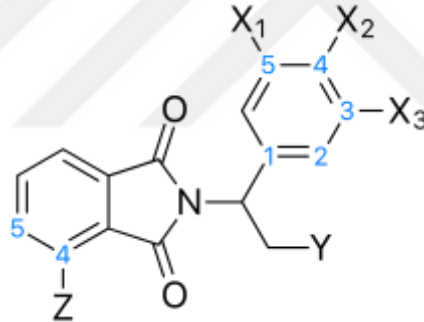
<b>ANA SİTOKİNLERİN TEMEL İŞLEVLERİ</b>	
<b>IL-1a</b>	Çeşitli immün yanıtlar, proenflamatuvar süreçler, hematopoez
<b>IL-1b</b>	Proenflamatuvar (hücre proliferasyonu, diferansiasyon ve apoptoz)
<b>IL-2</b>	İmmün yanıt (T hücrelerinde T-tolerans ve bağışıklık)
<b>IL-3</b>	İmmün yanıt (hematopoietik hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması)
<b>IL-4</b>	Antienflamatuvar (proenflamatuvar sitokinlerin baskılanması)
<b>IL-5</b>	Bağışıklık (hem B hücreleri hem de eozinofiller için büyüme ve farklılaşma faktörü)
<b>IL-6</b>	Proenflamatuvar ve immün yanıt (B hücrelerinin olgunlaşması, endojen piroksiyi uyarır)
<b>IL-9</b>	Çeşitli hematopoietik hücreleri düzenler (hücre proliferasyonunu uyarır ve apoptozu önler)
<b>IL-10</b>	Antienflamatuvar ve otoimmünite (patojen temizlenmesini engeller ve immünopatolojiyi iyileştirir)
<b>IL-12 (p40)</b>	Proenflamatuvar (Th1 hücrelerinin indükleyicisi ve hücre içi patojene uzun süreli koruma aracılık eder)
<b>IL-12 (p70)</b>	Proenflamatuvar (saf T hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşması)
<b>IL-13</b>	İmmün yanıt ve antienflamatuvar (alerjik enflamasyonun neden olduğu fizyolojik değişikliklerin aracı)
<b>IL-17</b>	Proenflamatuvar (NF-kappaB, mitojen ile aktive olan protein kinaz yollarının aktivite ve IL-6 üretimini uyarır)
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Proenflamatuvar (hücre proliferasyonu, diferansiasyon, apoptoz, lipit metabolizması ve koagülasyonun düzenlenmesi)

**IL-6:** IL-6 hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar özelliklere sahip bir pleiotropik sitokindir. IL-6, patolojik ağrıyı, nöral iletimi, enflamasyonu ve enfeksiyon cevabını düzenleyen ve aynı zamanda kanserde çoklu ilaç direncine neden olan çok işlevli bir sitokindir. IL-1 ve TNF gibi çeşitli pro-enflamatuvar uyarılara yanıt olarak T ve B lenfositleri, makrofajlar, monositler, fibroblastlar, endotelyal ve malign hücreler

tarafından üretilir ve IL-6R reseptörüne bağlanarak işlev görür. Akut enflamasyon sırasında IL-6 anti-enflamatuvar etkiler gösterir, kronik enflamasyonda ise pro-enflamatuvardır. IL-6 ayrıca akut faz reaksiyonlarının düzenlenmesinde aktif rol oynayan önemli bir immünomodulatördür (74).

**TNF- $\alpha$ :** TNF- $\alpha$ , esas olarak monositler ve makrofajlar tarafından üretilen bir sitokindir; bununla birlikte, diğer hücre kaynakları arasında lenfositler, mast hücreleri, nötrofiller bulunur. Uzak dokuların biyolojisini değiştirmek için kan dolaşımına giren hormon benzeri bir peptid veya lokal olarak hareket eden bir parakrin hormon olarak davranabilir. TNF- $\alpha$ , tümör nekroz faktör süper ailesinin bir pleiotropik üyesidir. Diğer proenflamatuvar sitokinlerini indükleyerek enflamatuvar etkilerini artırır. TNF- $\alpha$ 'ya proenflamatuvar sitokin denmektedir. TNF- $\alpha$ , Crohn hastalığı, ülseratif kolit, romatoid artrit, ankilozan spondilit ve sedef hastalığı gibi çoklu enflamatuvar ve otoimmün durumların patogeneğinde rol oynar (75).

## 2.6. Fosfodiesteraz İnhibitörleri



PDEi'leri genel kimyasal yapı

PDE'ler cAMP ve cGMP'nin hidrolizinden sorumlu enzimlerdir. cAMP ve cGMP, adenilat siklaz ve guanilat siklaz tarafından üretilen hücre içi ikinci habercilerdir. Konsantrasyonlarındaki herhangi bir değişiklik hemen her hücrede çeşitli etkilere yol açar. Her hücre tipi birkaç farklı PDE izoformu üretebilir. İnsan genomu 11 aileye (PDE1-11) bölünen 21 PDE genini içerir ve cAMP / cGMP'nin bozunması ve hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi üzerinde farklı özellikler gösterirler. Fosfodiesteraz enzimlerinin dokulara dağılımı ve fonksiyonları tablo 2.3'te gösterilmiştir (76). Bunların yerleşimi ve aktivitesi, ilgili hücreler ve dokularda cAMP ve cGMP konsantrasyonunun en önemli düzenleyici mekanizmalarından biri olarak kabul edilir. Ligandların veya ikinci habercinin bozulmasının regülasyonu, üretimlerini

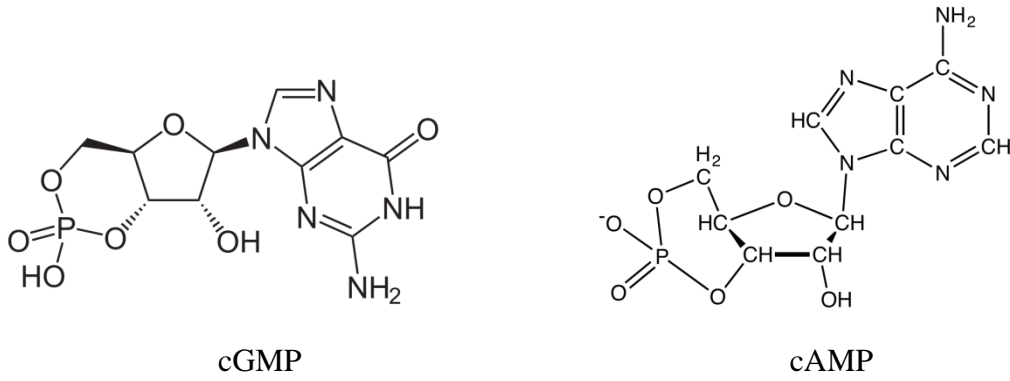
etkilemeye kıyasla konsantrasyonlarında daha önemli ve daha hızlı değişikliklere yol açtığından, PDE inhibisyonu, çeşitli hastalıkların tedavisinde etkili ve kabul görmüş bir tedavi seçeneği olarak kabul edilir (77).

**Tablo 2.3.** Fosfodiesteraz enzimlerinin dokulara dağılımı ve fonksiyonları.

PDE	Başlıca doku/organ dağılımı	cAMP/cGMP afnitesi	Fonksiyonları
PDE1	Kalp, beyin, akciğer, düz kas	cAMP/cGMP	Vasküler düz kas kasılması, sperm fonksiyonu (PDE1 A); Dopaminerjik sinyal, immün hücre aktivasyonu ve sağkalım (PDE1B); Vasküler düz kas hücre proliferasyonu, sperm fonksiyonu, nöronal sinyal (PDE1C).
PDE2	Adrenal bez, kalp, akciğer, karaciğer, trombosit	cAMP/cGMP	Aldosteron sekresyonunu, kalpte kalsiyum kanallarının fosforilasyonunu, nöronlarda cGMP'yi; enflamatuvar durumlarda endotelial hücre fonksiyonunu düzenler.
PDE3	Kalp, akciğer, karaciğer, trombosit, immün hücre	cAMP-selektif	Kardiyak kontraktilete, trombosit agregasyonu, vasküler düz kas kasılması, oosit maturasyonu, renin salınımı (PDE3A); İnsülin sinyalizasyonu, hücre döngüsü / proliferasyonu (PDE3B).
PDE4		cAMP-spesifik	Beyin fonksiyonu, monosit ve makrofaj aktivasyonu, nötrofil infiltrasyonu, vasküler düz kas proliferasyonu, doğurganlık, vazodilatasyon, kardiyak kontraktilete.
HPDE4	Beyin, pariyetal hücre, immün hücre, havayolu düz kası		
LPDE4	İmmün hücre (bazofil, eozinofil, makrofaj, mast hücre monosit, nötrofil, T-hücre, B-hücre) Havayolu düz kası		
PDE5	Akciğer, trombosit, düz kas	cGMP-spesifik	Vasküler düz kas kasılması, trombosit agregasyonu, beyindeki cGMP sinyali.
PDE6	Fotoreseptörler	cGMP-spesifik	Fototransdüksiyon
PDE7	İskelet kası, kalp, böbrek, beyin, T-hücre	cAMP-spesifik	İmmün hücre aktivasyonu (PDE7A); Hafıza fonksiyonu (PDE7B)
PDE8	Testis, karaciğer, iskelet kası, kalp, böbrek, beyin, T-hücre	cAMP-selektif	T hücre aktivasyonu, sperm veya Leyding hücre fonksiyonu, T4 ve T3 üretimi (PDE8A)
PDE9	Böbrek, karaciğer, akciğer, beyin	cGMP-spesifik	Beyindeki NO-cGMP sinyali
PDE10	Testis, beyin cAMP-selektif,	cGMP-sensitif	Öğrenme ve hafıza
PDE11	İskelet kası, böbrek, karaciğer, hipofiz	cGMP-sensitif	Sperm gelişimi ve işlevi



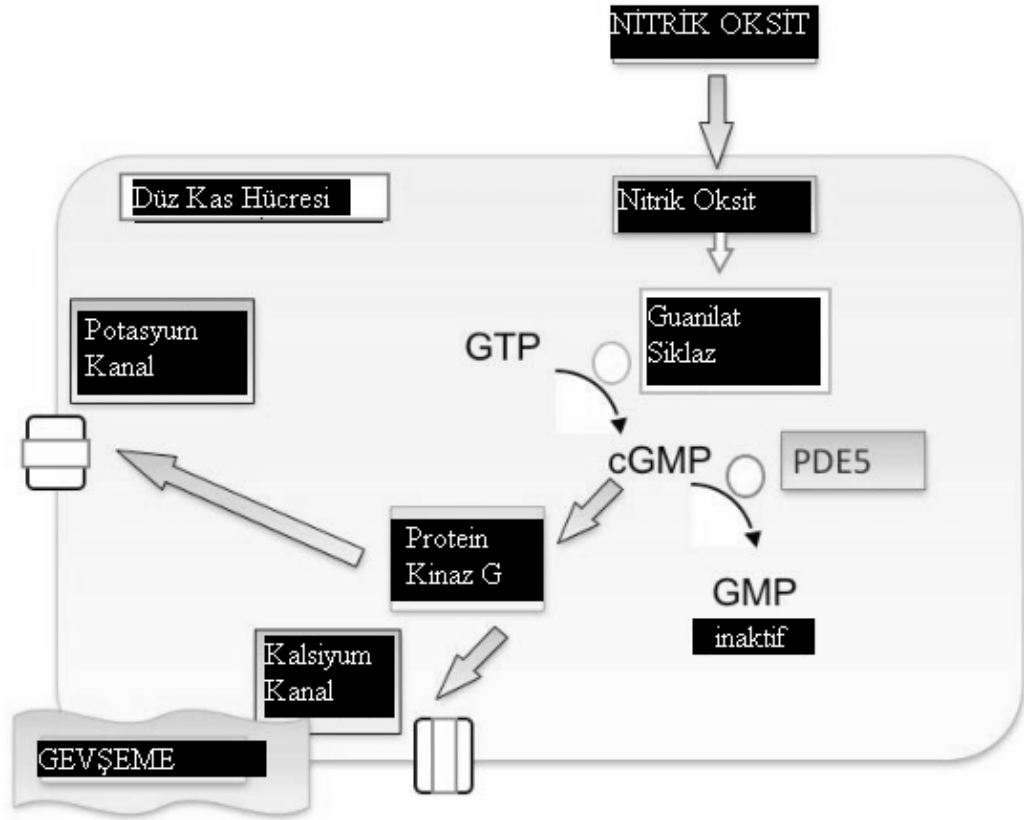
## Siklik Nükleotidler



cAMP ve cGMP sinyal sistemleri, en erken saptanmış sinyal iletim sistemleri arasındadır ve görsel transdüksiyon, hücre proliferasyonu ve farklılaşması, hücre döngüsü regülasyonu, gen ifadesi, enflamasyon dahil olmak üzere apoptoz ve metabolik fonksiyon gibi birçok fizyolojik işlemde yer alırlar (78). Siklik nükleotidler ikinci habercilerdir ve natri-üretik peptit veya nitrik oksit gibi G-protein-bağlı reseptörler ve moleküller tarafından aktive edildikten sonra adenilil-siklaz ve guanil-siklaz ile biyosentezlenir. Buna karşılık cAMP, cAMP bağımlı kinazı ve diğerlerini aktive eder ve böylece hücre farklılaşması ve çoğalması gibi biyolojik süreçleri düzenler. Benzer şekilde, cGMP, cGMP'ye bağlı protein kinazı aktive eder, bu da sırasıyla iyon kanalı iletkenliği ve hücre apoptozu gibi fizyolojik işlemlerde proteinleri fosforile eder. cAMP ve cGMP'nin hidrolizini katalize ederek PDE'ler hücre içi konsantrasyonlarını ve sonuç olarak sayısız biyolojik etkilerini düzenler (79).

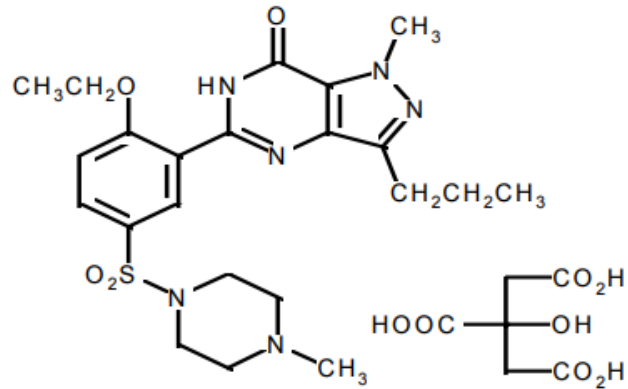
### 2.6.1. Seçici Fosfodiesteraz-5 İnhibitörleri

PDE5 izoenzimleri, prostat, mesane, üretra, *corpus cavernosum*'un ve alt idrar yolu damarlanması, özellikle düz kas ve endotelial hücreler de dahil olmak üzere, yaygın bir dağılım gösterirler. Fonksiyonel olarak, PDE5 izoenzimleri, cGMP'nin hidrolizini katalize ederek NO/cGMP sinyalizasyonunda önemlidir. Fosfodiesteraz-5'in genel etki mekanizması şekil 2.9'da gösterilmiştir (79, 83, 84).



Şekil 2.9. Fosfodiesteraz-5'in etki mekanizması

### 2.6.1.1. Sildenafil



1-[[3-(6,7-dihidro-1-metil-7-oksö-3-propil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidin-5-il)-4-ethoxyfenil]sülfonil]-4-metilpiperazin sitrat

SiL sitrat, suda 3.5 mg/mL çözünürlüğe ve 666.7'lik bir moleküler ağırlığa sahip, beyazımsı kristal tozdur.

SiL (Viagra<sup>®</sup>, Pfizer) 27 Mart 1998'de erkeklerde erektil disfonksiyon tedavisinde ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylandı, bu durum tüm erkeklerin % 10'unu etkileyen ve yaşla birlikte giderek daha yaygın olan bir durumdur. SiL aynı zamanda 2005 yılında pulmoner arteriyel hipertansiyon tedavisi için Revatio (SiL 20 mg tabletler ve 10 mg / 12.5 mL tek kullanımlı flakon enjeksiyonları, Pfizer) onaylandı (80).

SiL, 105 L'lik (70 kg'lık bir bireyde) belirgin bir dağılım hacmine sahiptir ve proteinlere yüksek oranda bağlanır (%96) (81, 82).

SiL metabolizmasının ana yolu CYP450-3A4 enzimi ile karaciğerde gerçekleşir. Bu enzimatik yol SiL'le ilişkili en önemli ilaç etkileşimlerinden sorumludur. Daha az olarak sitokrom CYP450-2C9 enzimi de biyotransformasyonunda rol alır. N-desmetil SiL, SiL'in serum konsantrasyonlarının yaklaşık %40'ını oluşturur ve farmakolojik aktivitenin %20'sinden sorumlu olan aktif bir metabolitidir (81).

SiL ve n-desmetil SiL'in eliminasyon yarı ömrü 3 ila 5 saattir. İlacın yaklaşık %80'i fekal olarak ve %13'ü böbreklerden atılım yoluyla elimine edilir. Böbrek fonksiyon bozukluğu olan bireylerde (30 mL/dk), SiL'in böbrek atılımı önemli ölçüde azalmıştır. SiL plazma konsantrasyonları karaciğer yetmezliği, ağır böbrek fonksiyon bozukluğu ve CYP450 inhibitörlerinin eşzamanlı kullanımı ile artmaktadır (81).

**Sildenafil'in Etkileri:** SiL, cGMP'a spesifik PDE-5'in seçici ve güçlü bir inhibitörüdür. PDE-5, cGMP'in hidrolizini katalize eder. PDE-5'in inhibisyonu cGMP ve cAMP konsantrasyonunun artmasına neden olur. Siklik nükleotidler cAMP ve cGMP, enflamasyon gibi çeşitli hücrel süreçlerde önemli rol oynayan ikincil mesajcılar olarak bilinir (83). Son zamanlarda, çeşitli çalışmalar SiL'in oksidatif stresi ve enflamasyona bağlı organ hasarını önleyebildiğini göstermektedir (84).

## 3. MATERYAL VE METOT

### 3.1. Deneyde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

#### 3.1.1. Kimyasallar

-% 0.9 İzotonik sodyum klorür solüsyonu.....	İ.E. ULAGAY
-Kadmiyum.....	MERCK
-Sildenafil.....	PFİZER
-Asetik asit.....	MERCK
-Fosfat Tampon Tuzu.....	LIFE TECHNOLOGIES
-Ketalar® flakon (Ketamin).....	PFİZER
-Alfazyne® (Ksalazin).....	ALFASAN INTERNATIONAL B.V.

#### 3.1.2. Cihazlar

-ELIZA cihazı.....	BIOTEK
-Elektronik hassas terazi.....	OHAUS NV-210
-Tissuelyser homojenizatör.....	QIAGEN
-Homojenizatör.....	HEİDOLPH-2021
-Vorteks karıştırıcı.....	NÜVE NM-110
-Spektrofotometre.....	SHIMADZU-1240
-Manyetik karıştırıcı.....	ART SH-3
-Etüv.....	NÜVE FN-120
-pH metre.....	HANNA-211
-Santrifüj cihazı.....	SİGMA 1-14
-Su banyosu.....	NÜVE BM-402

#### 3.1.3. Malzemeler

-Otomatik pipetler çeşitli hacimlerde.....	EPPENDORF
-Polipropilen(PVC) tüpler.....	SİGMA
-Farklı boyutta balonjojeler.....	PAYREX
-Otomatik pipet ve uçları.....	ACCUMAX
-Enjektörler.....	SET INJECT
-Cam tüpler.....	KİMAX

### 3.1.4. Kitler

- Rat İnterlökin-6 Kit.....SHANGHAI YEHUA BIOLOGICAL TECHNOLOGY
- Rat TNF- $\alpha$  Kit.....SHANGHAI YEHUA BIOLOGICAL TECHNOLOGY
- Rat TSH, GSH, TBARS Kit.....SHANGHAI YEHUA BIOLOGICAL TECHNOLOGY

### 3.2. Protein Miktarı Tayini

Çalışma boyunca akciğer, böbrek ve karaciğer dokuları için tüm protein tayinleri Bradford (1976) yöntemine göre yapıldı (85). Bu yöntemde bir organik boyar madde içeren reaktif çözeltisinin proteinleri renklendirme özelliğinden yararlanır, kullanılan reaktif, negatif yüklü proteindeki pozitif yüklü gruplara bağlanan bir boyadır. Proteinlere bağlanan boya mavi renk oluşturur, iki dakika içinde oluşan renk uzun süre stabil kalır. Bradford yöntemi ile protein tayini için aşağıdaki işlemler uygulandı.

### 3.3. Stok ve Standart Protein Çözeltilerinin Hazırlanması

1000  $\mu\text{g}$  sığır serum albümini, 1000  $\mu\text{L}$  saf su ile çözünerek 1000 ppm'lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden tablo 3.1'deki çizelgeye göre bir seri standart çözelti hazırlandı.

**Tablo 0.1.** Sığır serum albumin seri standart çözelti derişimleri ve hazırlanması

Standart çözelti derişimi (ppm)	Stok sığır albumin çözeltisi ( $\mu\text{L}$ )	Saf su ile tamamlandığı hacim ( $\mu\text{L}$ )
25	25	1000
50	50	1000
100	100	1000
200	200	1000
300	300	1000
400	400	1000
500	500	1000
750	750	1000

Hazırlanan standart çözeltilerinden 25 µL alınarak üzerlerine 200 µL Bradford çözeltisi ilave edilerek 595 nm'deki absorbans değerleri BioTek Eon Eliza Mikroplate spektrofotometre cihazında okundu, deney üç kez tekrarlanarak ortalaması alındı.

### 3.4. Eliza Ölçüm Yöntemi

Çalışmamız kullandığımız eliza kitlerinin protokolüne uyularak sandwich eliza tekniğiyle yapıldı.

**Tablo 0.2.** Eliza ölçümünde kullanılacak standartların hazırlanması

<b>Standart No:5</b>	120 µl Orijinal Standart + 120 µl Standart Dilüent
<b>Standart No:4</b>	120 µl Standart No:5 + 120 µl Standart Dilüent
<b>Standart No:3</b>	120 µl Standart No:4 + 120 µl Standart Dilüent
<b>Standart No:2</b>	120 µl Standart No:3 + 120 µl Standart Dilüent
<b>Standart No:1</b>	120 µl Standart No:2 + 120 µl Standart Dilüent

Bu şekilde her biri öncekinin 2 katı derişime sahip 5 standart elde edilir. 96 kuyucuktan oluşan mikrolitre kabına standartlar ve örnekler aşağıdaki tablo 3.3'te belirtildiği gibi eklenir. 450 nm dalga boyunda okunan değerler ve konsantrasyonlar grafiğe dönüştürülür. Bu grafiğin denklemiyle örneklerin konsantrasyonu hesaplanır.

**Tablo 0.3.** Eliza ölçümünde kuyucuklara eklenen solüsyonlar

	<b>Örnek</b>	<b>Antikor</b>	<b>Standart</b>	<b>Streptavidin- HRP</b>	<b>Reaktif A ve B</b>	<b>Durdurma Solüsyonu</b>
Kör Bölmesi	-	-	-	-	50 µl	50 µl
Standart Bölmeleri	-	-	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Örnek Bölmeleri	40 µl	10 µl	-	50 µl	50 µl	50 µl

### 3.5. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinden temin edilen 28 adet Sprague-Dawley türü dişi sıçan kullanıldı. Çalışma süresince Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu esaslarına uyuldu (Etik kurul protokol no: 2016/151). 250-300 gram ağırlığındaki dişi sıçanlar deneyin yapılacağı güne kadar standart barınma kafeslerinde tutuldu. Hayvanların içme sularının günlük değiştirilmesi, yemlerinin verilmesi ve standart kafes temizliği gibi rutin bakım hizmetleri Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi personelleri tarafından yapıldı. Sıçanlar 12'şer saatlik karanlık/aydınlık ışıklandırmasına sahip odalarda, uygun nem ve havalandırma ortamında 24-27 C° oda sıcaklığında barındırıldılar. Her kafeste 7 adet sıçan barındırıldı ve sıçanlar kendi aralarında 4 gruba ayrıldı. Benzer çalışmalar dikkate alınarak ve istatistiksel anlamlılığın sağlanması amacıyla gruplar, her grupta 7 sıçan olacak şekilde tasarlandı.

### 3.6. Deney Grupları

- **Grup 1** (Kontrol, 10 gün boyunca *ad libitum* beslenme, 7. gün 0,5 ml/sıçan, ip, distile su, n=7)
- **Grup 2** (Cd, 10 gün boyunca *ad libitum* beslenme, 7. gün 3,7 mg/kg tek doz ip, n=7)
- **Grup 3** (SiL, 10 gün boyunca *ad libitum* beslenme ve 5 mg/kg/gün, içme suyu içinde, n=7)
- **Grup 4** (Cd+SiL, 10 gün boyunca *ad libitum* beslenme Cd 3,7 mg/kg ip,7.gün + SiL 5 mg/kg po içme suyu içinde, 10 gün boyunca, n=7)

Deneysel çalışma süreci aşağıda şematik olarak gösterilmiştir.

GRUP I (n=7)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	KESİM
	İÇME SUYU										
ADAPTASYON 7 GÜN	10 GÜN										10. GÜN

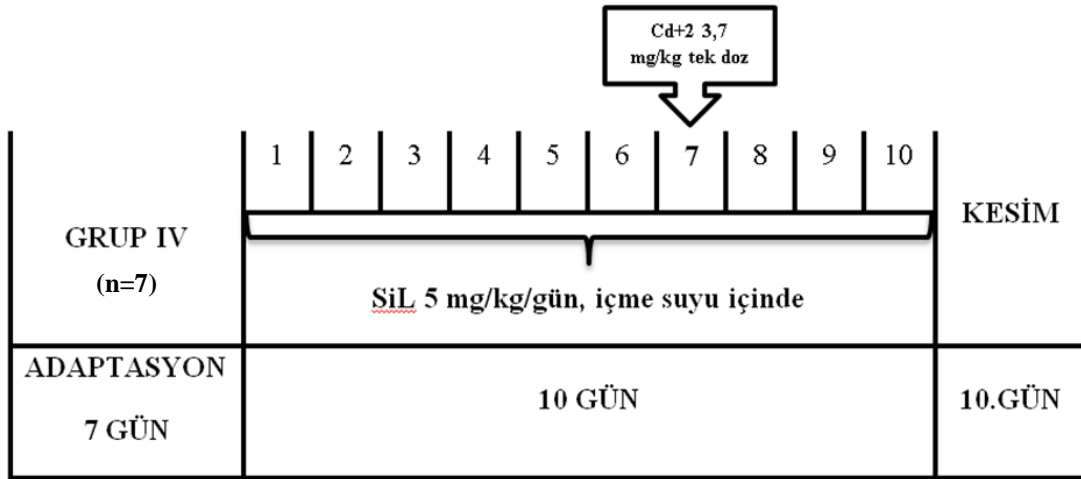
0,5 ml/sıçan,  
ip, distile su

GRUP II (n=7)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	KESİM
	İÇME SUYU										
ADAPTASYON 7 GÜN	10 GÜN										10.GÜN

Cd+2 3,7  
mg/kg tek doz

GRUP III (n=7)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	KESİM
	SiL 5 mg/kg/gün, içme suyu içinde										
ADAPTASYON 7 GÜN	10 GÜN										10. GÜN





$Cd^{+2}$  ve SiL distile su içinde çözüldü, enjeksiyon hacmi 0,5 ml/sıçan olacak şekilde ayarlandı. 7. gün sabah tek doz 3.7 mg/kg  $Cd^{+2}$  ip enjeksiyon halinde, SiL ise 10 gün boyunca içme suyu içinde uygulandı ve 10. gün,  $Cd^{+2}$  uygulamasından 72 saat sonra sıçanlar anestezi altında kesilerek serum, akciğer, böbrek ve karaciğer alınıp dokularda TBARS, GSH, T-SH, TNF-alfa ve IL-6 seviyeleriyle histopatolojik değişimler değerlendirildi. Doku hasarları serum ALT, AST, kreatinin, BUN ve CK-MB ile değerlendirildi.

### 3.7. Kan, Akciğer, Böbrek ve Karaciğer Dokularının Alınması

Deney sonunda hayvanlara 50 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin ip anestezisi uygulandı. Sıçanların kalbinden alınan kan örnekleri jelli tüplere alınarak soğutmalı santrifüjle 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Bistüri ile karın derisi açılan sıçanların akciğer, böbrek ve karaciğer dokuları alındı. Bu dokular zaman kaybetmeksizin kilitli buzdolabı poşetleriyle önce  $-20^{\circ}C$ , daha sonra  $-80^{\circ}C$  dolabına kaldırılarak ölçümlerin yapılacağı ana kadar muhafaza edildi.

### 3.8. Dokuların Ölçüme Hazır Hale Getirilmesi

Akciğer, böbrek ve karaciğer dokuları  $-80^{\circ}C$  dolabından çıkarılmadan önce enzim, hormon gibi hassas moleküllerin yapısının bozulmasını önlemek amacıyla buzlu suyla çalışma ortamı hazırlandı ve bütün işlemler bu ortamda gerçekleşti. Akciğer, böbrek ve karaciğer dokularından yaklaşık 100 mg alınarak hassas terazide tartıldı ve plastik tüplere konuldu. Tüplerin üzerine 1 ml fosfat tamponu eklendikten sonra homojenizatörle homojenize edildi, ardından sonifikasyon işlemi uygulandı, santrifüj

sonrası elde edilen süpernatantlar ependorf tüplerine alınarak biyokimyasal parametrelerin ölçümünde kullanıldı.

### 3.9. Tampon Çözelti Hazırlanışı

Fosfat tampon hazırlamak için 800 ml distile su içerisinde 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 0.24g of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> çözüldü. HCl yardımıyla pH 7,4'e ayarlandı ve distile su ilavesiyle toplam hacim 1 L'ye tamamlandı, otoklavda sterilize edilen tampon kullanıma hazır hale geldi.

### 3.10. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için Graph Pad Instat Version 3.10 paket programı kullanıldı. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $\pm$  SEM) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Farkın anlamlı bulunduğu gruplardaki çoklu karşılaştırmalar Tukey-Kramer testi ile yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.  **$p < 0.05$ : \* anlamlı,  $p < 0.01$ : \*\* çok anlamlı ve  $p < 0.001$ : \*\*\* son derece anlamlı olarak değerlendirildi.**

### 3.11. Dokuda İnterlökin-6 ve TNF- $\alpha$ Ölçümü

IL-6 ve TNF- $\alpha$  tayinleri için Shanghai Yehua Biological Technolgy firmasından temin edilen ticari kitler kullanıldı. Bunun için:

- Daha önce -20°C'de tutulan örnekler oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi.
- Kitler 4°C'den çıkarılıp 30 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Kitlerin içinde bulunan Kromojen B ışığa duyarlı olduğundan kapalı kutuda tutuldu.
- Serumlar 2500 g'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar ayrıldı.
- Standart solüsyonların dilüsyon işlemine geçilmiştir. Bunun için kit içerisindeki orjinal standarttan 120  $\mu$ l alınarak ependorf tüpünde 120 $\mu$ l standart dilue ile karıştırıldı. Daha sonra karışımdan 120  $\mu$ l alınarak her seferinde aynı miktar standart dilue ile karıştırıldı.
- Daha sonra örnekler ve solüsyonlar ELİZA tabakaya yüklenmeye başlandı.
- Standartlar 50  $\mu$ l olacak şekilde yüklenip üzerlerine yine 50  $\mu$ l streptomisin-HRP eklendi.

- K r kısmı boŐ bırakılıp, 40µl serum ve 10µl TNF-α  l m  için TNF-α antibody, interlökin 6 içinse IL-6 antibody solüsyonu eklendi. Son olarak 50 µl streptavidin-HRP eklenip, tabakanın üstü kapatıldı.
- Dikkatlice sallanıp 37°C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- Yıkama solüsyonu distile su ile 1/30 (h/h) olacak Şekilde karıŐtırılıp hazırlandıktan sonra inkübasyondan çıkan tabakalardaki tüm kuyulara 5 kez 30 sn olacak Şekilde uygulanıp boŐaltıldı.
- Renk oluşumu için ilk once kromojen A tüm kuyulara 50 µl eklendi. Daha sonra yine 50 µl kromojen B eklenip dikkatlice sallandı. 10 dk 37°C inkübasyona bırakıldı. Bu esnada ıŐıktan etkilenmemesi için karanlık ortamda çalıŐıldı.
- İnkübasyon sonrası stop solüsyonlar 50 µl olacak Şekilde eklenip hemen 450 nm’de ELİZA aletinde okundu.
- Alınan veriler standartlara göre koordinat düzleminde hesaplandı.
- Sonuçlar TNF-α ve IL-6 için pg/ml cinsinden ifade edildi.

### **3.12. Dokuda TSH, TBARS, GSH  l m **

TSH, TBARS ve GSH tayinleri için Shanghai Yehua Biological Technolgy firmasından temin edilen ticari kitler kullanıldı. Bunun için;

- Daha  nce -20°C’de tutulan örnekler oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi.
- Kitler 4°C’den çıkarılıp 30 dk oda sıcaklığında bekletildi.
- Kitlerin içinde bulunan Kromojen B ışığa duyarlı olduğundan kapalı kutuda tutuldu.
- Serumlar 2500 g’de 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar ayrıldı.
- Standart solüsyonların dilüsyon işlemine geçilmiştir. Bunun için kit içerisindeki orjinal standarttan 120 µl alınarak ependorf tüpünde 120µl standart dilue ile karıştırıldı. Daha sonra karışımdan 120 µl alınarak her seferinde aynı miktar standart dilue ile karıştırıldı.
- Daha sonra örnekler ve solüsyonlar ELİZA tabakaya yüklenmeye başlandı.
- Standartlar 50 µl olacak Şekilde yüklenip üzerlerine yine 50 µl streptomisin-HRP eklendi.

- K r kısmı boş bırakılıp, 40µl serum ve 10µl TSH ۆlçümü için TSH antibody, GSH için GSH antibody ve TBARS için TBARS antibody solusyonu eklendi. Son olarak 50 µl streptavidin-HRP eklenip, tabakanın ۆstü kapatıldı.
- Dikkatlice sallanıp 37°C’de 1 saat inkubasyona bırakıldı.
- Yıkama solusyonu distile su ile 1/30 (h/h) olacak şekilde karıştırılıp hazırlandıktan sonra inkubasyondan çıkan tabakalardaki tüm kuyulara 5 kez 30 sn olacak şekilde uygulanıp boşaltıldı.
- Renk oluşumu için ilk once kromojen A tüm kuyulara 50 µl eklendi. Daha sonra yine 50 µl kromojen B eklenip dikkatlice sallandı. 10 dk 37°C inkubasyona bırakıldı. Bu esnada ışıktan etkilenmemesi için karanlık ortamda çalışıldı.
- İnkubasyon sonrası stop solusyonlar 50 µl olacak şekilde eklenip hemen 450 nm’de ELİZA aletinde okundu.
- Alınan veriler standartlara göre koordinat düzleminde hesaplandı.
- Sonuçlar TBARS için nmol/g, GSH ve TSH için µmol/g cinsinden ifade edildi.

### **3.13. Serumda AST, ALT, KREATİNİN, CK-MB ve BUN ۆlçümü**

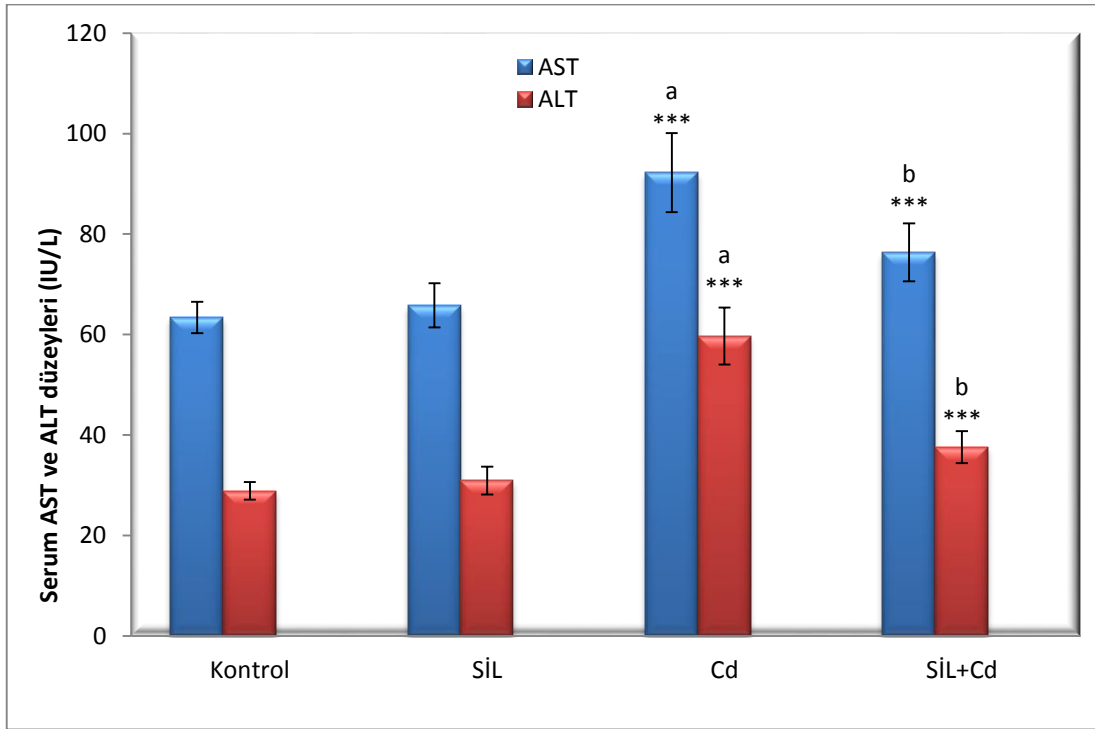
Oto analizörde çalışılmıştır

- Sonuçlar AST, ALT ve CK-MB için IU/L cinsinden, kreatinin ve BUN için mg/dl cinsinden ifade edildi.

### **3.14. Histopatolojik alışma**

Karaciğer, böbrek ve akciğerin kalitatif analizi için gruplardaki sıçanlardan nekropsi sonrası alınan doku ۆrnekleri %10’luk nötral tamponlu formaldehit (pH 7.2-7.4) solusyonu içerisinde tespit edildi. Rutin doku takibinden sonra oluşturulan parafin bloklardan 5 µ kalınlığında kesitler alınıp Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Boyama sonrası kesitler ışık mikroskopunda ve yüksek çözünürlüklü kamera altında incelendi. Dokular enflamasyon ve nekroz oluşumu yönlerinden incelendi.

## 4. BULGULAR

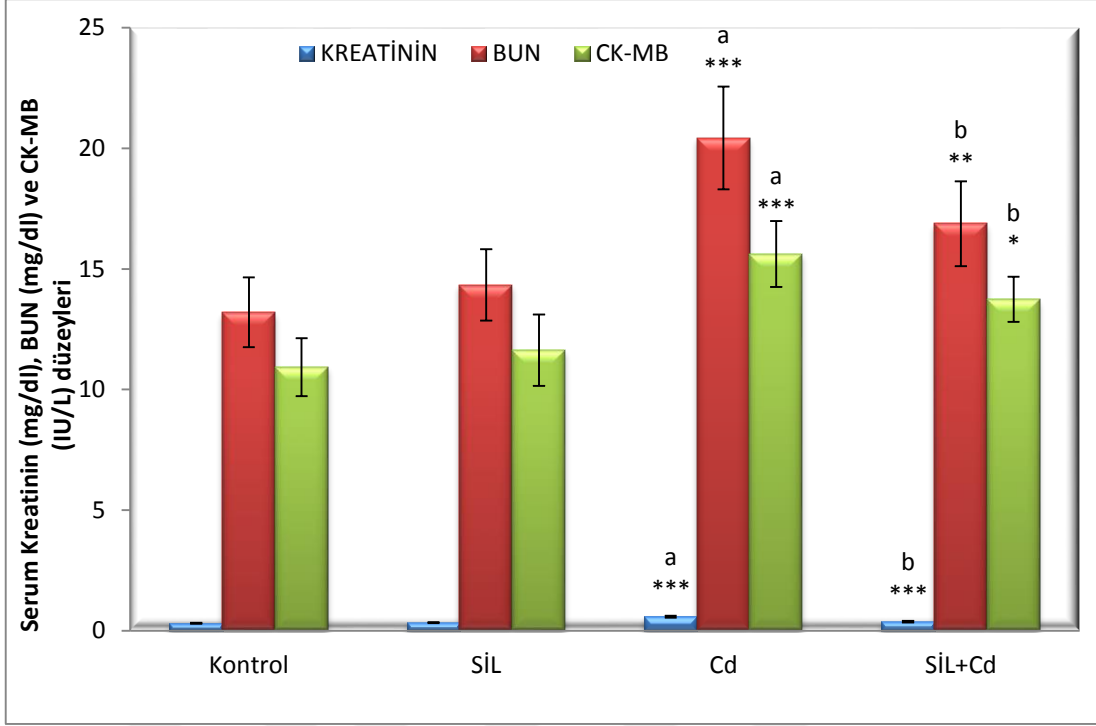


Şekil 4.1. Serum AST, ALT düzeyleri, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

### *AST ve ALT ;*

a; Kontrol grubuna göre; Cd grubunda son derece anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p < 0.001$ ).

b; Kadmiyum grubuna göre; SiL+Cd grubunda anlamlı bir azalma gözlenmiştir. ( $p < 0.001$ ).

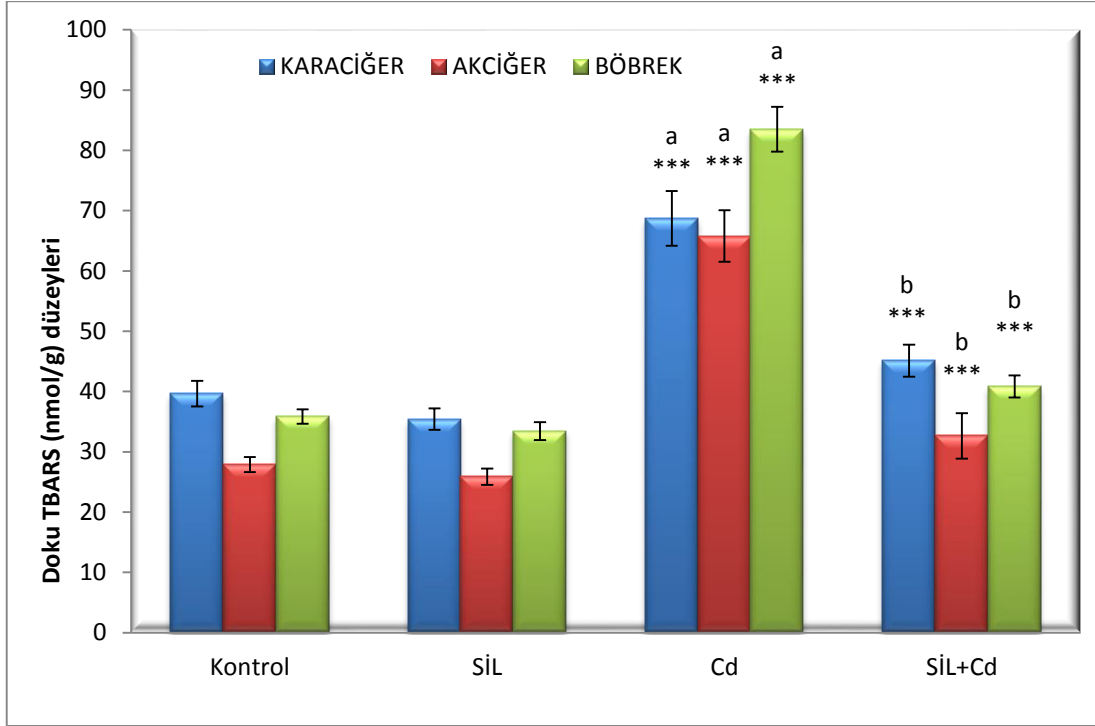


Şekil 4.2. Serum Kreatinin, BUN, CK-MB düzeyleri. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

***Kreatinin, BUN ve CK-MB ;***

a; Kontrol grubuna göre; Cd grubunda son derece anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p < 0.001$ ).

b; Kadmiyum grubuna göre; SiL+Cd grubunda anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Kreatinin;  $p < 0.001$ , BUN;  $p < 0.01$ , CK-MB;  $p < 0.05$ ).

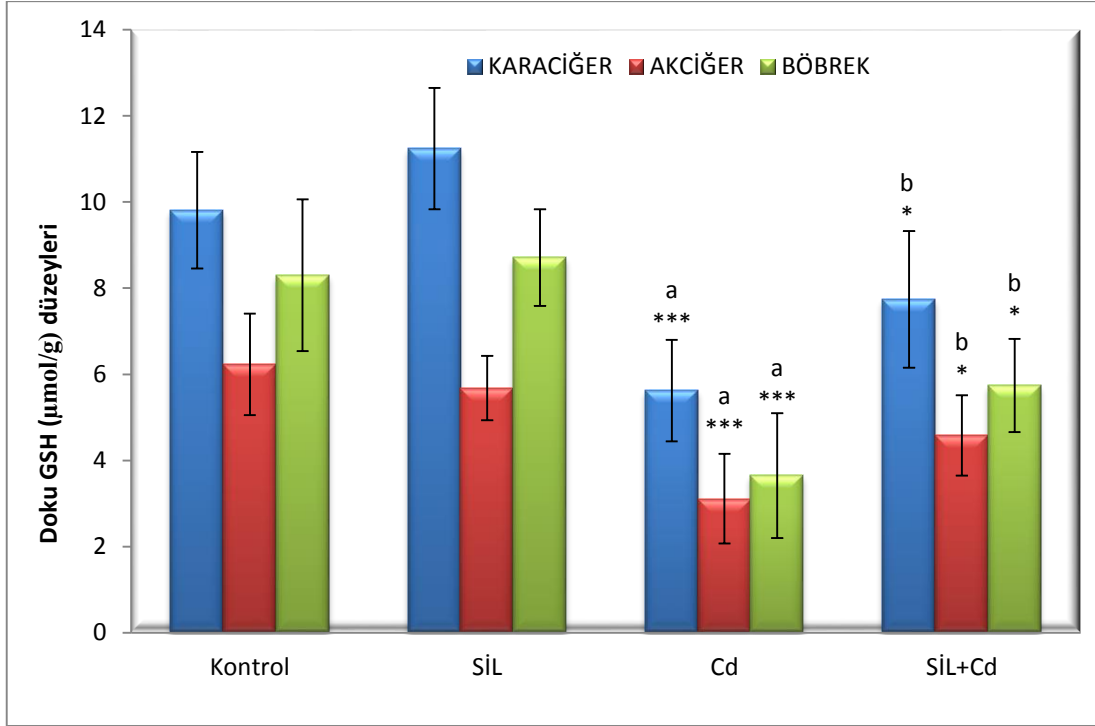


Şekil 4.3. Doku TBARS düzeyleri. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

**TBARS ;**

a; Kontrol grubuna göre; Cd uygulaması tüm dokularda son derece anlamlı bir artışa neden olmuştur ( $p < 0.001$ ).

b; Kadmiyum grubuna göre; SiL+Cd grubunda anlamlı azalmalar gözlenmiştir ( $p < 0.001$ ).



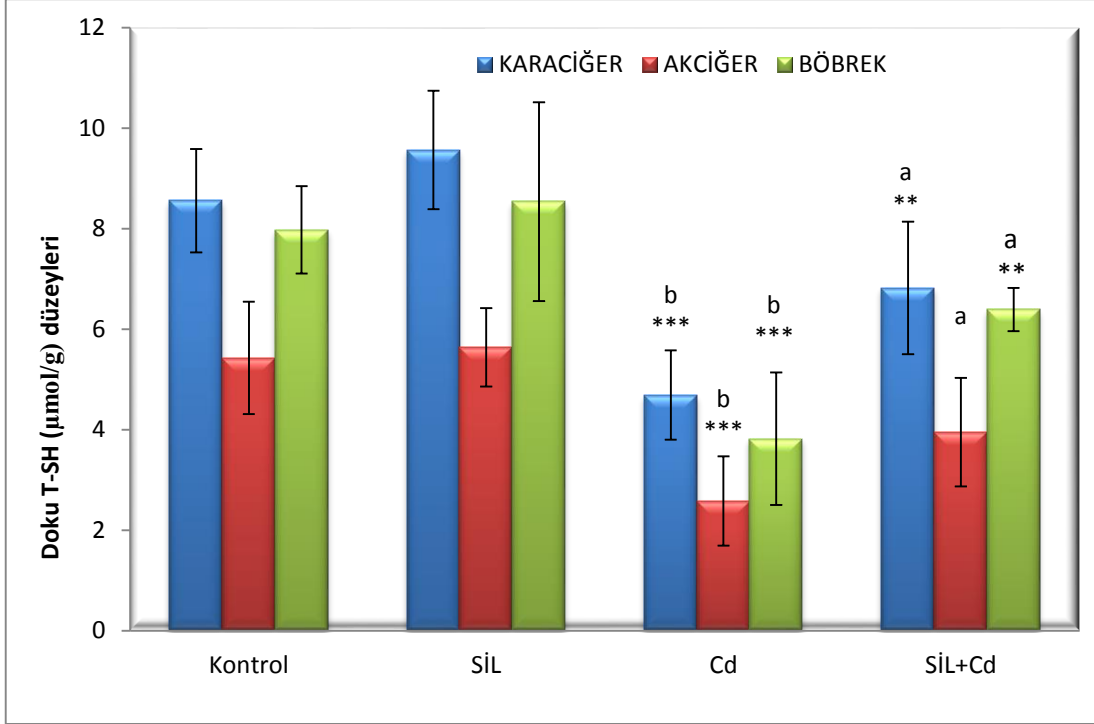
Şekil 4.4. Doku GSH düzeyleri. \* p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\* p<0.001

**GSH;**

a; Kontrol grubuna göre; Cd grubunda tüm dokularda son derece anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (p<0.001).

b; Kadmiyum grubuna göre; SiL+Cd grubunda, SiL uygulaması Cd un neden olduğu GSH azalmasını anlamlı derecede önlemiştir (p<0.05).



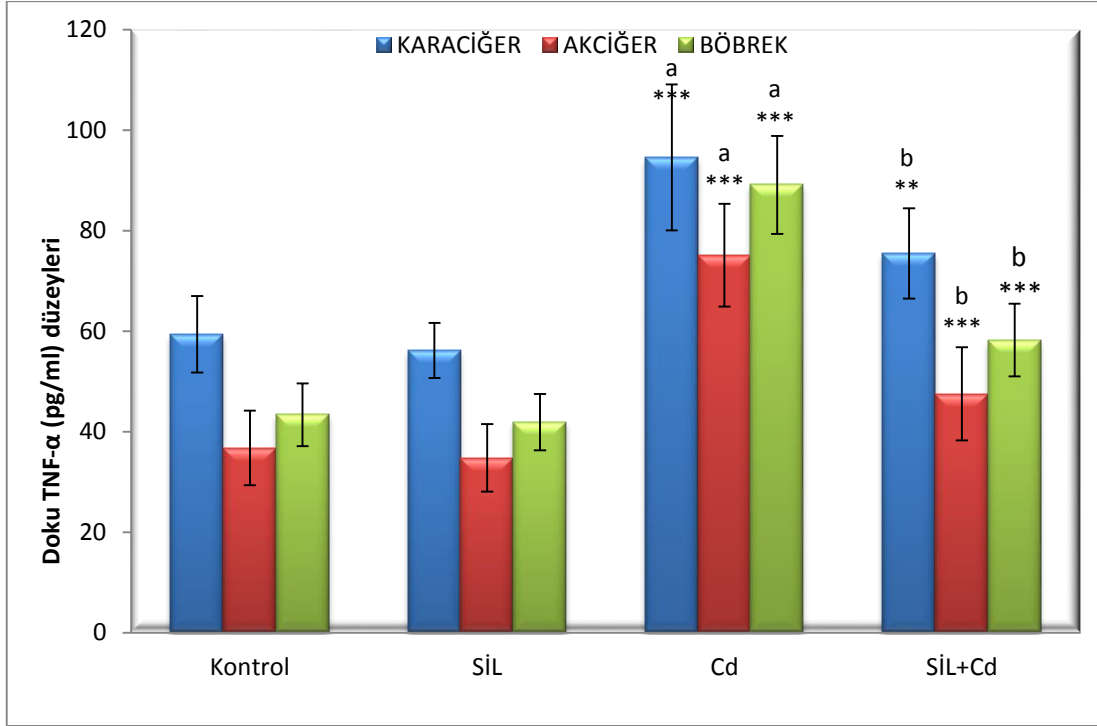


Şekil 4.5. Doku T-SH düzeyleri. \* p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\* p<0.001

**T-SH;**

a; Kontrol grubuna göre; Cd grubunda son derece anlamlı bir azalma bulunmuştur (p<0.001).

b; Kadmiyum grubuna göre; SiL uygulamasının Cd'un neden olduğu azalmayı karaciğer ve böbrekte anlamlı derecede önlediği gösterilmiştir (p<0.01), akciğerde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

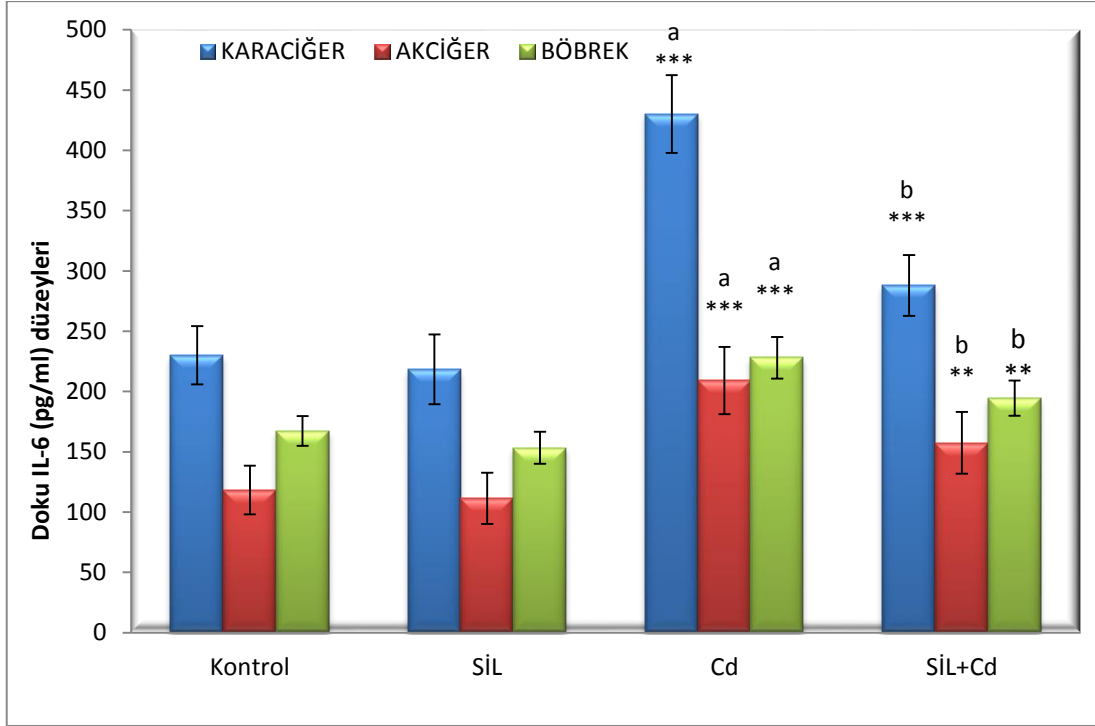


Şekil 4.6. Doku TNF- $\alpha$  düzeyleri. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

#### *TNF- $\alpha$* ;

a; Kontrol grubuna göre; Cd uygulanan grubun TNF-  $\alpha$  değerleri son derece anlamlı derecede artmıştır ( $p < 0.001$ ).

b; Kadmiyum grubuna göre; SiL uygulaması Cd'un neden olduğu TNF- $\alpha$  düzeyindeki artışı anlamlı derecede önlemiştir (akciğer ve böbrekte:  $p < 0.001$ , karaciğerde:  $p < 0.01$ ).



Şekil 4.7. Doku IL-6 düzeyleri. \* p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\* p<0.001

#### **IL-6 ;**

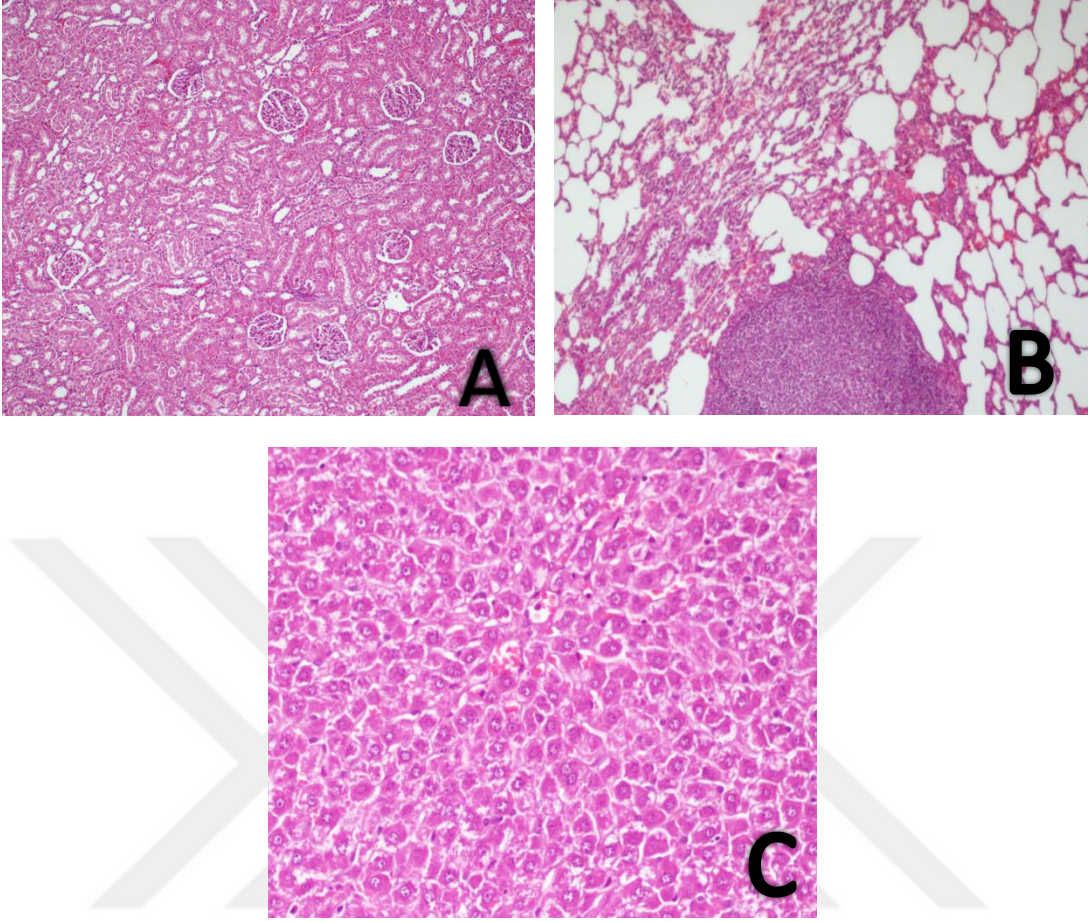
a; Kontrol grubuna göre; Cd uygulaması tüm dokularda son derece anlamlı derecede IL-6 düzeyinde artışa neden olmuştur (p<0.001).

b; Kadmiyum grubuna göre; SiL uygulamasının Cd'un neden olduğu artışı anlamlı derecede önlediği bulunmuştur (karaciğerde: p<0.001, akciğer ve böbrekte p<0.01).

**Tablo 4.1.** Ölçüm sonuçları

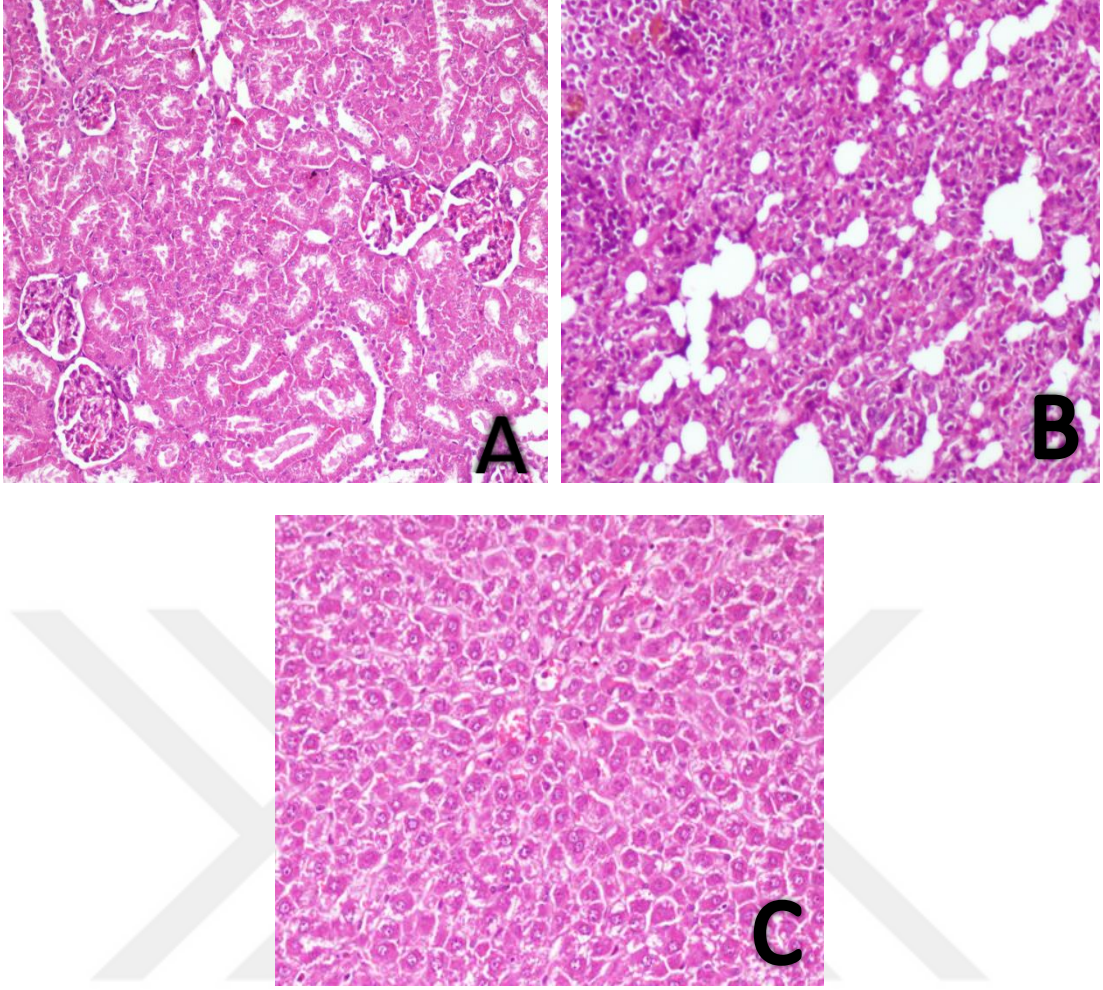
		<b>KONTROL</b>	<b>SiL</b>	<b>Cd</b>	<b>SiL + Cd</b>
	AST(IU/L)	63.4±3.1	65.8±4.4	92.2±7.8***	76.3±5.7***
	ALT(IU/L)	28.9±1.7	30.9±2.7	59.7±5.6***	37.6±3.2***
	KREATİNİN(mg/dl)	0.3±0.02	0.3±0.02	0.6±0.04***	0.4±0.03***
	BUN(mg/dl)	13.2±1.4	14.3±1.5	20.4±2.1***	16.9±1.8***
	CK-MB(IU/L)	10.9±1.2	11.6±1.5	15.6±1.3***	13.7±0.9*
<b>TBARS(nmol/g)</b>	Karaciğer	39.6±2.1	35.4±1.8	68.7±4.5***	45.1±2.6***
	Akciğer	27.8±1.2	25.9±1.4	65.8±4.2***	32.6±3.8***
	Böbrek	35.8±1.2	33.4±1.5	83.5±3.7***	40.8±1.8***
<b>GSH(µmol/g)</b>	Karaciğer	9.8±1.3	11.2±1.4	5.6±1.2***	7.7±1.6*
	Akciğer	6.2±1.1	5.7±0.7	3.1±1.0***	4.6±0.9*
	Böbrek	8.3±1.8	8.71±1.1	3.6±1.4***	5.7±1.1*
<b>TSH(µmol/g)</b>	Karaciğer	8.6±1.0	9.6±1.2	4.7±0.9***	6.8±1.3**
	Akciğer	5.4±1.1	5.6±0.8	2.6±0.9***	3.9±1.1
	Böbrek	8.0±0.9	8.5±2.0	3.8±1.3***	6.4±0.4**
<b>TNF-α(pg/ml)</b>	Karaciğer	59.4±7.6	56.2±5.5	94.6±14.5***	75.49±9.0**
	Akciğer	36.8±7.4	34.8±6.7	75.1±10.2***	47.53±9.3***
	Böbrek	43.4±6.2	41.9±5.6	89.1±9.7***	58.24±7.2***
<b>IL-6(pg/ml)</b>	Karaciğer	230.1±24.1	218.3±28.9	430.2±32.1***	287.9±25.2** *
	Akciğer	118.2±20.2	111.4±21.2	209.1±27.9***	157.4±25.6**
	Böbrek	167.3±12.3	153.3±13.3	228.0±17.3***	194.5±14.6**

#### 4.1. Histopatoloji İncelemesi



Şekil 4.8. Kontrol grubu histopatoloji

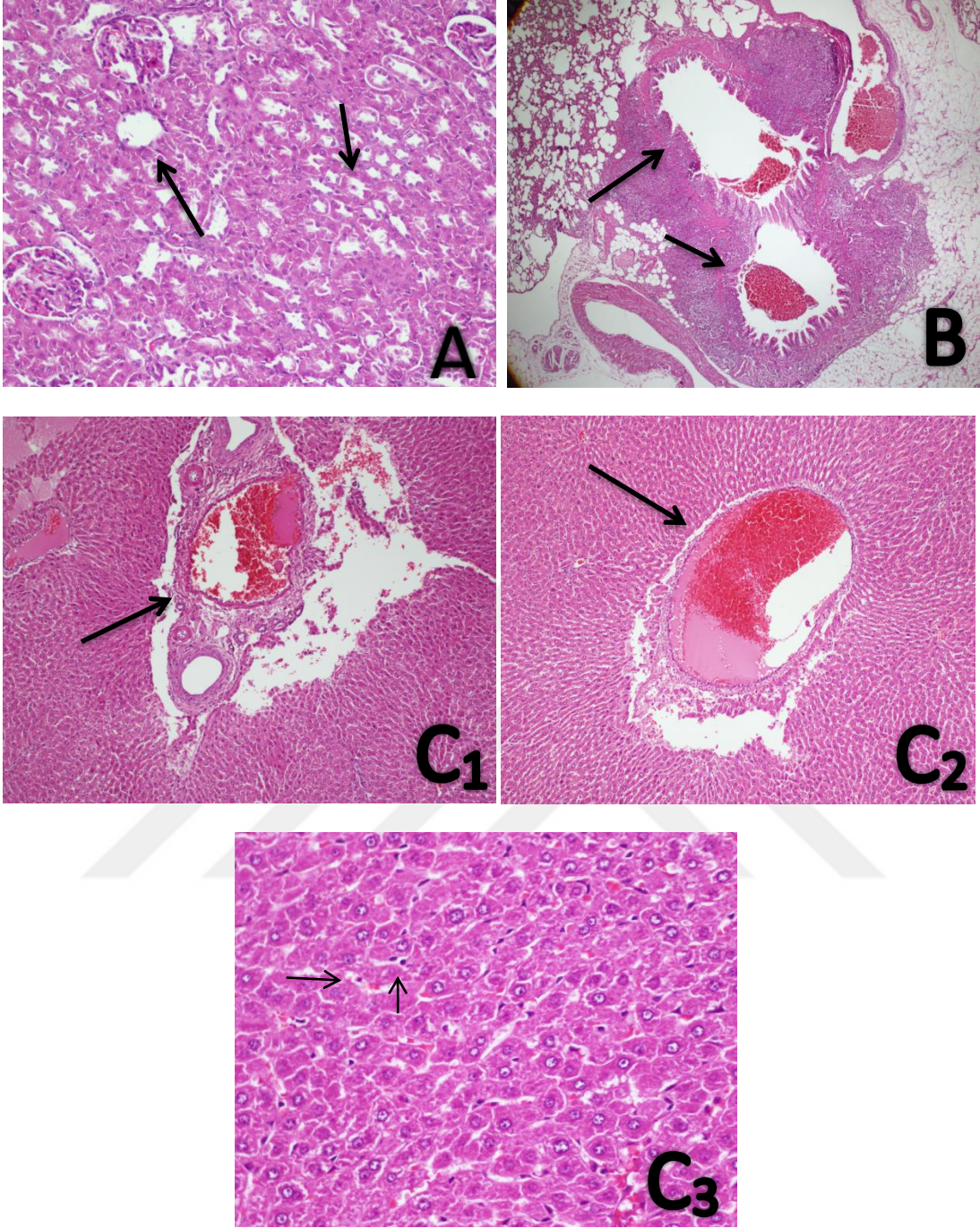
A) Böbrek dokusunda normal histopatolojik görünüm, B) Akciğer dokusunda normal histopatolojik görünüm, C) Karaciğer dokusunda normal histopatolojik görünüm



**Şekil 4.9.** SiL grubu histopatoloji

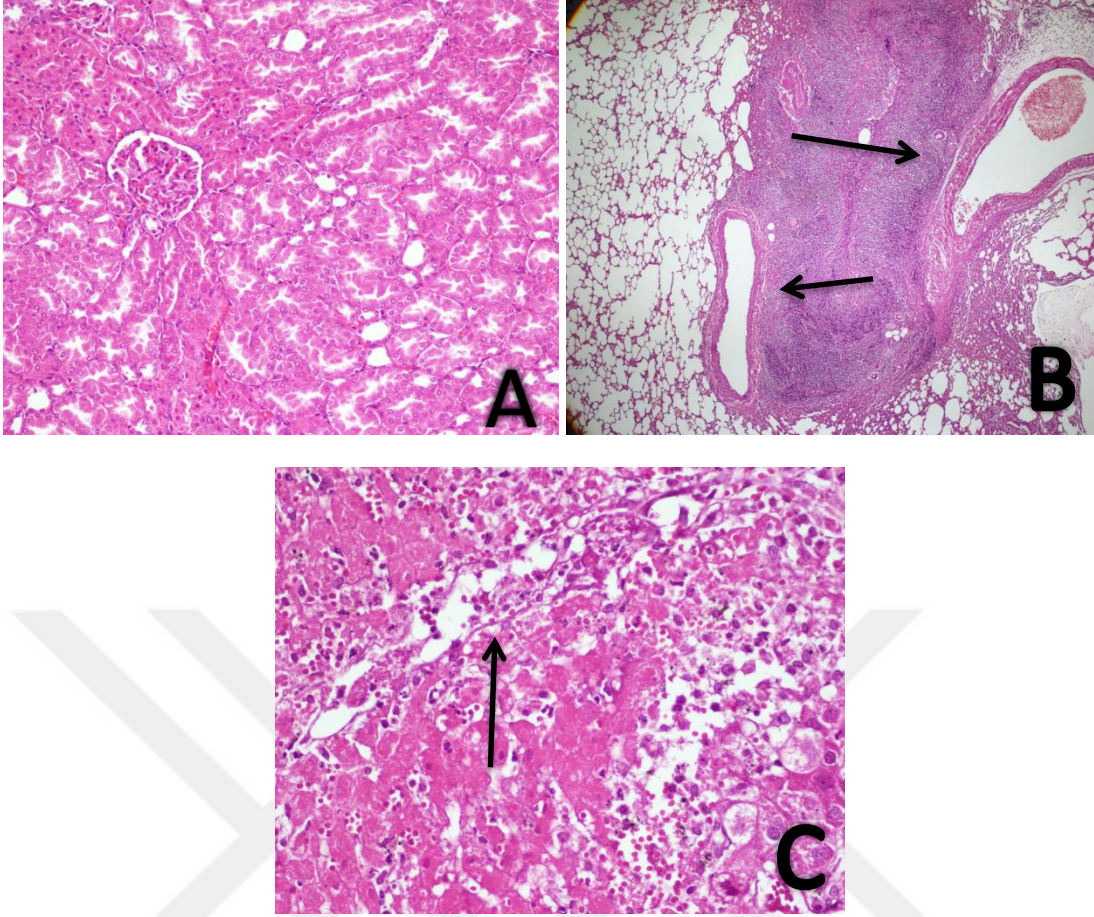
B) Böbrek dokusunda normal histopatolojik görünüm, B) Akciğer dokusunda normal histopatolojik görünüm, C) Karaciğer dokusunda normal histopatolojik görünüm





**Şekil 4.10.** Cd grubu histopatoloji

A) Böbrek dokusunda fokal nekroz, B) Akciğer dokusunda kronik enflamasyon, hemoraji, C1) Karaciğer dokusunda portal ven dilatasyonu, C2) Karaciğer dokusunda santral vende genişleme, C3) karaciğer dokusunda tek hücre nekrozu



**Şekil 4.11.** SiL+Cd grubu histopatoloji

A) Böbrek dokusunda normal histopatolojik görünüm, B) Akciğer dokusunda kronik enflamasyon, hemoraji, C) Karaciğer dokusunda nekroz



## 5. TARTIŞMA

Kadmiyum, akciğer, karaciğer ve böbrek de dahil olmak üzere, hedef organlardaki patolojik değişikliklerle ilişkili olan ve düşük maruz kalma seviyelerinde bile ciddi sağlık sorunlarına neden olan ağır bir metaldir. Birçok çalışmada, kadmiyumun maruziyet kaynakları olan havada (sigara dumanı, fabrika atıkları), suda (boru hattı ve bataryalardan) ve endüstriyel tesislerdeki yaygın kullanılması insan sağlığı üzerindeki toksik ve kanserojen etkileriyle ilgili çalışmaları artmıştır(86-88).  $Cd^{+2}$  gibi ağır metaller hücrelerde redoks dengesini bozarak oksidatif strese neden olduğundan, ROS üretimi metal kaynaklı karsinogenezin anahtar mekanizması olarak kabul edilir. Birçok çalışma,  $Cd^{+2}$  toksisitesinin, insanlarda ve hayvanlarda, lipitler, proteinler ve DNA gibi hücrenin biyolojik bileşenlerinden aktif oksidatif serbest radikaller üreten serbest radikal başlatma mekanizmaları aracılığıyla çeşitli patolojik olayların uyarılmasını başlattığı bildirilmiştir (89-91).

Kadmiyum, lipit peroksidasyonunu arttıran süperoksit iyonu ve hidrojen peroksit oluşumunu indükler. ROS hücre zarı lipit peroksidasyonu, protein denatürasyonu, DNA hasarı ve hücre hasarı yoluyla doku hasarı veya ölümüne neden olabilir (92, 93).  $Cd^{+2}$ , hücrenin GSH içeriğini, SOD, peroksidazlar ve CAT gibi hücrenel antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltarak ROS birikmesine ve hücre içi oksidatif stresteki artışa neden olur (94). Çalışmamızda kadmiyum uygulanan grupta kontrol grubuna göre doku TBARS düzeyleri anlamlı bir şekilde artarken, T-SH ve GSH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulunmuştur. Bu durum,  $Cd^{+2}$ 'un toksik etki mekanizmaları arasında ROS oluşumunun artması ve antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalmasını açıklayıcı niteliktedir. Diğer taraftan, Cd'un, bölgesel ve sistemik enflamasyonun araçları olan IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi bazı proenflamatuvar sitokinlerin gen ifadesini indüklediği gösterilmiştir (95, 96). Benzer şekilde, bizim çalışmamızın  $Cd^{+2}$  uygulanan grupta proenflamatuvar sitokinlerden IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde anlamlı artış gösteren çalışma ile uyumludur.

Karaciğer ve böbrekler,  $Cd^{+2}$  atılımından sorumlu başlıca organlar oldukları için  $Cd^{+2}$  toksisitesinin asıl hedef organlarıdır. Maruz kalma yolundan bağımsız olarak, Cd toksisitesi ilk olarak karaciğerde nekroz ve hepatositlerin apoptozu ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Karaciğerdeki bir hasar kandaki ALP, ALT ve AST dahil olmak üzere karaciğer enzimlerinin seviyelerinde artışa neden olur (97). Karaciğer fonksiyon

göstergeleri olan AST ve ALT serum seviyeleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, SiL ile tedavi edilen sıçanlar hariç tüm gruplarda AST ve ALT serum seviyelerinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Kadmiyum grubuyla karşılaştırıldığında ise, SiL verilen grupta Cd'un neden olduğu karaciğer hasarının azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak SiL'in Cd'un indüklediği karaciğer hasarından koruyabildiği değerlendirilmiştir.

Karaciğerde oluşan oksidatif hasarın mekanizmasında ROS ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik önemlidir. Çalışmalar, Cd<sup>2+</sup>un, GSH ve T-SH dahil antioksidan seviyelerini azalttığını göstermektedir (98). Cd<sup>2+</sup>, antioksidanları inaktive ederek veya onlara bağlanarak, ROS oluşumuyla ilgili prooksidatif bir durumu tetikler. Bunun sonucu olarak, ROS lerin membran lipitlerinin çift bağlarına saldırısı aktive olur, bu da endojen antioksidan savunma sisteminde bozulmayla son ürünü MDA olan lipit peroksidasyonuna neden olur (99). MDA, biyolojik sistemlerde oksidatif stresin önemli bir göstergesidir. Bu çalışmada, Cd<sup>2+</sup> grubunda antioksidan düzeylerinde aşağı regülasyon gözlemlendi ve tek başına SiL ile tedavi edilen grup kontrol ile karşılaştırıldığında SiL'in MDA, GSH, T-SH üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığı görüldü. Oysa, Cd<sup>2+</sup> grubuyla kıyaslandığında SiL+Cd grubunun MDA düzeylerinde azalma ve antioksidan enzimler olan GSH, T-SH seviyelerinde ise yükselmeye sonuçlanmıştır. GSH ve T-SH aktivitesindeki upregülasyon, antioksidan savunma sisteminin korunmasında esastır, çünkü endojen antioksidanlarda azalma ROS'taki artıştan daha fazla hasara neden olur (100-102).

Karaciğerde, Cd<sup>2+</sup> kaynaklı oksidatif stresi takiben, Kupffer hücreleri adezyon moleküllerinin salınmasına neden olan proenflamatuvar medyatörler olan TNF- $\alpha$  ve IL-6'yı aktive eder; bu, hepatositlerin enflamasyonu ve hücre membranında bozulma ile sonuçlanan bir dizi hücrel ve humoral aktivite üretir (103).

Böbrekler toksik ksenobiyotik ve metabolitlerinin eliminasyonunda önemli bir rol oynar. Böbreklerin filtrasyon, sekresyon ve emilim için olağanüstü yeteneklerinin bir sonucu olarak, karaciğer gibi diğer organlara kıyasla toksik maddelere maruz kalma olasılığı daha yüksektir (104, 105). Cd<sup>2+</sup>'nin kronik uygulanması hücrel sülfhidril depolarının azalmasına, apoptoz ve nekroz yoluyla böbreğin proksimal tübüllerine zarar vererek karakteristik nefropatiye neden olur (106). Bu çalışmada, Cd<sup>2+</sup> uygulamasının renal antioksidan savunma sistemini bozduğu ve böbreklerde T-SH ve GSH gibi antioksidan moleküllerin aktivitelerinde anlamlı azalmaya neden olduğu görüldü. T-SH ve GSH düzeyinin azalması, ROS birikimini artırarak, böbrek dokusunda lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır (107). Son çalışmalar, Cd<sup>2+</sup>'nin T-SH veya GSH'de

ki tiyol (-SH) sistein grubuna doğrudan bağlanmasının, böbrekte işlev bozukluklarına yol açabileceğini göstermektedir(107, 108). Bu bulguyla uyumlu olarak, çalışmamızda Cd grubu sıçanlarda renal TBARS içeriğinin önemli ölçüde arttığını gözlemledik. MDA, biyolojik sistemlerde lipit peroksidasyonunun en önemli ve en fazla oluşan aldehit ürünüdür (109). MDA, patolojik süreçlerde rol oynayan mutajenik ve karsinojenik etkileri nedeniyle önemlidir. Lipit peroksidasyon sonucu oluşan aldehitlerin düzeyinin ölçümünde kullanılan tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren tüm aldehitlerin ifadesi olarak günümüzde MDA yerine TBARS (tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddeler) ifadesi kullanılmaktadır. Bulgularımızdaki artmış MDA düzeyi Cd<sup>+2</sup> ile indüklenen nefrotoksisite ile uyuşmaktadır. Aktoz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 30 gün boyunca 1 mg/kg Cd<sup>+2</sup> uygulanan sıçanlarda, böbreklerde proksimal tübüllerde ve glomerüllerde değişik derecelerde hasar gözlenmiştir. Antioksidan bir madde olan Kersetin bu hasarı tersine çevirmiştir (110). Fouad ve Jresat (2011), 9 hafta boyunca 1.2 mg Cd<sup>+2</sup> uyguladığı çalışmada, proksimal tübüllerde yaygın nekroz, dilatasyon ve vakuolar dejenerasyon gelişmiştir (111). Başka bir çalışmada, Cd<sup>+2</sup> uygulaması böbrek korteksinde hafif enflamatuvar hücre infiltrasyonu, nekroz, fibrozis ve proksimal tübül hücrelerinde dejenerasyon ve hipertrofi ile sonuçlanmış olup glomerüler ödem de mevcuttur (112). Literatürlerle uyumlu olarak, çalışmamızda Cd<sup>+2</sup> grubunda belirgin histopatolojik dejenerasyonlar bulunurken, SiL+Cd grubunda proksimal tübül hücreleri, tübüler vakuolizasyon, hipertrofi ve glomerüler hasar gibi dejeneratif bulgularda belirgin derecede düşük nekroz oluşumu gözlenmiştir.

Cd<sup>+2</sup> ile indüklenen nefrotoksisite sıklıkla TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi pro-enflamatuvar sitokinler ve nötrofillerin infiltrasyonu ile ilişkilidir. Tnf- $\alpha$  ve IL-6'nın hem fizyolojik hem de patolojik koşullardaki rolü, tam olarak açıklanamamışsa da, bu sitokinlerin doku hasarını takiben seviyelerindeki azalma hücresel tamir mekanizmalarının devreye girdiğini düşündürmektedir. Oysa, enflamatuvar sitokinler bol miktarda üretildiğinde, dermatotoksisite, karaciğer toksisitesi, romatoid artrit, ateroskleroz, böbrek ve akciğer toksisitesi gibi patolojik durumlar ortaya çıkarabilir (113). Çalışmamızda Cd<sup>+2</sup> uygulanmış sıçanlarda gözlemlenen böbrek TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinde artış hücresel hasara kadar giden bir enflamasyonun başladığını göstermekte olup, SiL uygulamasıyla düzeylerinin düşmesi ise onarım mekanizmalarının indüklendiğini düşündürmektedir (114).

Bu çalışmada, serum kreatinin, üre ve BUN renal glomerüler fonksiyonu değerlendirmek için çalışılmıştır. Elde edilen veriler Cd<sup>+2</sup> uygulaması ile renal

belirteçlerde anlamlı artış olduğunu yani uygulamayla böbrek nefrotoksisitesinin geliştiği teyid edilmiştir. Serum böbrek biyobelirteç düzeylerindeki değişim, literatürde daha önce bildirildiği gibi  $Cd^{+2}$ 'nin neden olduğu böbrek hasarını göstermektedir (115). Bu veriler,  $Cd^{+2}$  toksisitesinin tübüler nekroza ve böbrek tübüllerinde hasara yol açtığını bildiren diğer çalışmalarla desteklenmiştir (116). Bu çalışmada, 5 mg/kg dozda SiL uygulanması, BUN, üre ve kreatinin düzeylerinde azalma ile böbrek fonksiyonunda anlamlı bir koruma göstermiştir. Elde edilen veriler,  $Cd^{+2}$  nefrotoksisitesine karşı SiL'in antioksidan etkisi olduğunu ve SiL'in tek başına uygulanmasının böbrek fonksiyonu üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını yani böbrekler üzerinde zararlı bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Itai-itai hastalığı olan hastalarda, böbrek histopatolojik incelemesinde glomerüllerde herhangi bir anormallik saptanmazken, tübüllerin atrofisi ve dilatasyonu ile epitelin belirgin dejenerasyonu görülür; bu özellikler  $Cd^{+2}$  böbrek toksisitesinin karakteristik etkileri olarak kabul edilmektedir (117).

Bazı çalışmalar, mesleki  $Cd^{+2}$  maruziyetinin, akciğer fonksiyonunda bir azalmaya yol açtığını ya da amfizem gelişmesine neden olduğunu göstermiştir (118, 119). Son yıllarda,  $Cd^{+2}$  maruziyetinin genel popülasyonda da akciğer fonksiyonlarında azalmaya neden olabileceği ve bu bulguların  $Cd^{+2}$  mesleki maruziyeti olan işçilerle sınırlı olmadığı bildirilmiştir (120-122). Deneysel çalışmalar,  $Cd^{+2}$ 'a kronik maruziyetin akciğer dokusu enflamasyonu ve akciğer hücre proliferasyonunu indüklediğini göstermiştir. Ayrıca, düşük  $Cd^{+2}$  maruziyetinin, sıçanlarda akciğer dokusu enflamasyonu ve akciğer hücresi proliferasyonunu indükleyebildiği (123) ve ip kadmiyum enjeksiyonunu takiben sistemik enflamasyonun varlığının, akciğer dokusunda nötrofil sayısı ile güçlü bir korelasyona sahip olduğu da bildirilmiştir (124). Sistemik yanıtlar, akciğer dokusunda nötrofil sayısı ve pulmoner enflamasyon ve toksisite ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca,  $Cd^{+2}$  maruziyetinden sonra farelerde böbreklerde TNF- $\alpha$  ve IL-6 ifadesi ve salıverilmesinde artış gözlenmiştir (125). Benzer şekilde, çalışmamızda da  $Cd^{+2}$  toksisitesine karşı SiL'in akciğer dokusunda TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerini değiştirerek antioksidan aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir.

Antioksidan savunma sistemleri, fizyolojik sistemdeki serbest radikallerin (pro-oksidanlar) doğrudan temizleyicisini temsil ettikleri ve böylece biyolojik sistem için maksimum koruma sağladığı için son derece önemlidir. İyi bir antioksidan, özellikle serbest radikalleri gidermeli ve redoks/geçiş metallerini şelatlamalıdır (126).

SiL, spesifik fosfodiesteraz-5 (PDE5) inhibitörüdür. Yaygın olarak erektil disfonksiyonun klinik tedavisinde kullanılır ve bu hastalık için ilk basamak tedaviyi temsil eder (127). SiL, son zamanlarda, pulmoner hipertansiyon ve hipoksi veya hiperoksi kaynaklı akciğer hasarının tedavisinde de yoğun olarak çalışılmıştır (128, 129). SiL, alveoler büyüme, anjiyogenezi, enflamasyonu ve hava yolu reaktivitesini azaltır ve oksidatif stresi azaltarak akut akciğer hasarı ve biyokimyasal analizler ve histopatolojik analizlerle doğrulanmış enflamasyon üzerine koruyucu etkileri vardır (130). Bleomisin ile uyarılmış akciğer fibrozunda lipit peroksidasyonunun, sitokin üretiminin ve salıverilmesinin ve nötrofil birikiminin önlenmesinin olumlu etkileri sıçanlarda gösterilmiştir (131).

Nunes ve ark.'nın yaptığı çalışmada Cd<sup>2+</sup> uygulaması, plazma, idrar ve böbrek homojenatlarındaki belirteçler üzerinde beklenen ve önceden rapor edilen oksidatif strese, apoptoza ve enflamatuvar etkilere neden olmuştur. Çalışmada ön tedavi olarak uygulanan SiL'in önemli ölçüde oksidatif stresi ve enflamasyonu önleyerek tüm dokularda ve serumda antioksidan düzeylerini arttırdığını ve enflamatuvar parametrelerde azalmaya neden olduğu bulunmuştur (132). SiL'in daha önce sisplatin ve siklosporinin neden olduğu akut böbrek hasarını da aynı mekanizmalarla azalttığı bildirilmiştir (133, 134). SiL uygulaması, iskemi-reperfüzyon hasarı, diyabetik nefropati ve sisplatin kaynaklı nefrotoksisite, enflamasyon ve oksidatif stres gibi böbrek hastalıklarının hayvan modellerinde terapötik yarar göstermiştir (135). SiL'in antioksidan ve anti-enflamatuvar özelliklerle renoprotektif etki sağladığı bildirilmiştir. SiL'in bu aktivitesi lökosit infiltrasyonunda azalma, p53 gen ekspresyonunu azaltma, CAT ve SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırma ve IL-6, TNF- $\alpha$  gibi proenflamatuvar sitokinlerin upregülasyonunu baskılamasıyla ilişkilendirilmiştir (136-139). Çalışmamızda SiL'in, Cd'un neden olduğu oksidatif strese bağlı böbrek hasarına karşı renoprotektif etkileri, renal tübüler hasar, apoptoz ve kan üre azot ile serum kreatininindeki artışları baskılamasıyla açıklanabilir.

SiL'in tiyoasetamit toksisitesinde karaciğer fibrozunu inhibe ettiği bildirilmiştir (140). Li ve arkadaşları (141), sıçanlarda deneysel karaciğer hasarında SiL'in etkisini incelemiştir. SiL tarafından oluşturulan artmış NO düzeylerinin neden olduğu düz kas gevşemesindeki artışa bağlı olarak karaciğer hipoksisinin ve karaciğer hasarının azaldığını bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonunda SiL'in, oksijen tüketimini düzenleyerek iskemi sonrası hepatositlerde hasarı önleyebileceği sonucuna varmışlardır.

Organizmaya giren  $Cd^{+2}$ , karaciğer metabolizmasında önemli bir rol oynayan MT proteini ile dayanıklı bir kombinasyon oluşturur. Bu, MT-Cd kompleksi böbrekle atılır (142). Renal kortekste biriken MT-Cd kompleksi renal klirensin azalmasına neden olur. Birikme aynı zamanda hücre depolarizasyona neden olur, böylece sodyum ve potasyum iyonunun dengesiz akışı tübüler fonksiyon kaybına yol açar. Ayrıca, kadmiyum tübüler proteinüriye neden olan filtrasyon membranı proteinlerine de bağlanabilir. Bu şekilde, sodyum emilimini artırır, hücre membranı direncini azaltır ve potasyum kanallarını uyarır. Tübüler reabsorpsiyonu ve glomerüler filtrasyon hızını düşürür (143, 144).

Çalışmamızda,  $Cd^{+2}$  uygulamasının, pro-enflamatuvar sitokinler TNF- $\alpha$ , IL-6 ve önemli bir oksidatif stres göstergesi olan TBARS'ı akciğer, karaciğer ve böbreklerde artırırken, antioksidan parametreler olan GSH ve T-SH azalttığını gösterdik. Bu durum, öncesinde SiL uygulanan grupta anlamlı olarak tedavi edildi. Bu nedenle,  $Cd^{+2}$  ile indüklenen akciğer, karaciğer ve böbrek hasarına karşı SiL'in koruyucu etkilerinin,  $Cd^{+2}$ 'nin neden olduğu oksidatif stresi inhibe etmek suretiyle olabileceği olasıdır.

Histolojik gözlemlerimiz biyokimyasal, oksidatif stres ve antioksidan parametre testlerini destekledi ve SiL'in  $Cd^{+2}$ 'nin karaciğer, akciğer ve böbrek toksisitesine karşı koruyucu ve iyileştirici bir etkiye sahip olduğunu doğruladı.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

EDTA (Etilen Diamin Tetraasetik Asit), tiyol bileşikleri ve DDTC (Diethyithithiocarbamate) bileşikleri kadmiyum gibi ağır metallerin atılımını artırabilir, ancak bu ilaçların böbrek ve beyine ciddi yan etkileri vardır. Yüksek doz demir ve selenyum gibi eser elementler, kadmiyum bağlı proteinlere rekabetçi olarak bağlanarak kadmiyum gibi ağır metallerin toksisitesini antagonize edebilir. Ancak, bunların kadmiyumun antagonize edilmesindeki etkinliği sınırlıdır, çünkü yüksek doz demir ve selenyum zehirlidir. Bu nedenle, az yan etki ile kadmiyum gibi ağır metallerin toksisitesini antagonize edebilen ve vücuttaki kadmiyum yükünü azaltabilecek yeni ilaçların keşfi halk sağlığı için önemlidir.

İlaç geliştirme çalışmalarının çok zahmetli olması, fazla maliyetli ve uzun zaman gerektiren bir çalışma olması nedeniyle son yıllarda mevcut ilaçların farklı farmakolojik etkilerini araştırmaya yönelme söz konusudur. Yeni yüzyılın ilaçlarından olan ve klinikte pulmoner hipertansiyon tedavisinde de kullanım alanı bulmaya başlayan sildenafilin farklı klinik kullanım olasılıklarını irdelediğimiz çalışmamız, bir fosfodiesteraz 5 inhibitörü olan sildenafilin kadmiyum gibi ağır metallerin neden olabileceği çoklu organ hasarına karşı koruyucu olabileceği, bu etkisinin antioksidan savunma sistemini aktive ederek ve enflamasyonu engelleyerek gerçekleştirmesinin olası olduğunu düşündürmektedir. Ancak bu faydalı etkinin klinik çalışmalar ile de desteklenmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Fay M, Wilbur S, Abadin H et al. Toxicological Profile for Nickel. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), Atlanta (GA) 2005.*
2. Wise SS, Holmes AL, Wise Sr JP. Hexavalent chromium-induced DNA damage and repair mechanisms. Hexavalent chromium-induced DNA damage and repair mechanisms. *Rev Environ Health 2008; 23(1): 39–57.*
3. Wang L, Wise JTF, Zhang Z et al. Progress and prospects of free radicals in metal-induced carcinogenesis. *Curr Pharmacol Rep 2016: 1-9.*
4. Wang X, Zhang J, Xu W et al. Low-level environmental arsenic exposure correlates with unexplained male infertility risk. *Sci Total Environ 2016; 571: 307-13.*
5. Anthony S, Jennifer NS, Clement GY, Paul BT. Cadmium Chloride Induces DNA Damage and Apoptosis of Human Liver Carcinoma Cells via Oxidative Stress. *Int J Environ Res Public Health 2016; 13: 88.*
6. Oh SH, Lim, SC. A rapid and transient ROS generation by cadmium triggers apoptosis via caspase-dependent pathway in HepG2 cells and this is inhibited through N-acetylcysteine-mediated catalase upregulation. *Toxicol Appl Pharmacol 2006: 212-23.*
7. Kaur M, Singh A, Kumar B, Singh SK, Bhatia A, Gulati M, Prakash T, Bawa P, Malik AH. Protective effect of co-administration of curcumin and sildenafil in alcohol induced neuropathy in rats. *Eur J Pharmacol 2017; 805: 58-66.*
8. Goyer RA. Toxic effects of metals. In: Klaassen CD editor. Cassarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. *New York McGraw-Hill Publisher 2001: 811-67.*
9. Miia JK, Tapio E. Metal-related oxidative stress in birds. *Environ Pol 2010; 158: 2359-70.*
10. Thomas DJ, Thomas JB, Prier SD, Nasso NE, Herbert SK. Iron superoxide dismutase protects against chilling damage in the cyanobacterium *Synechococcus* species PCC7942. *Plant Physiol 1999; 120: 275-82.*
11. Pinto E, Sigaud-Kutner TCS, Leitão MAS, Okamoto OS, Morse D, Colepicolo P. Heavy metal-induced oxidative stress in algae. *J Physiol 2003; 39: 1008-18.*
12. Miia JK, Tapio E. Metal-related oxidative stress in birds. *Environ Pol 2010; 158: 2359-70.*



13. Eeva T, Sillanpää S, Salminen JP, Nikkinen L, Tuominen A, Toivonen E, Pihlaja K, Lehtikoinen E. Environmental pollution affects the plumage color of great tit nestlings through carotenoid availability. *EcoHealth* 2008; 5: 328-37.
14. Valko M, Morris H, Cronin MTD. Metals, toxicity and oxidative Stress. *Cur Med Chem* 2005; 12: 1161-208.
15. Julian ATD. The essential roles of metal ions in insect homeostasis and physiology. *Current Opinion in Insect Sci* 2017; 23: 43-50.
16. PGC Campbell, J Gailer. Effects of non-essential metal releases on the environment and human health, in: RM Izatt (Ed.), *Metal Sustainability: Global Challenges, Consequences and Prospects*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, United Kingdom 2016: 221-52.
17. Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis. *Mutat Res* 2003; 533: 107-20.
18. IARC (Internationale Agency for Research on Cancer). Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. IARC, Lyon, France 1993.
19. International Agency for Research on Cancer (IARC). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Available at 2012: Vols. 100C-8. <https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C-8.pdf>.
20. David RL. CRC Handbook of Chemistry. *Boca Raton FL CRC Press* 2005.
21. de Vries W, McLaughlin MJ. Modeling the cadmium balance in Australian agricultural systems in view of potential impacts on food and water quality. *Sci Total Environ* 2013: 461-462, 240–257.
22. Rafati Rahimzadeh M, Kazemi S, Moghadamnia AA. Cadmium toxicity and treatment: an update. *Caspian J Intern Med* 2017; 8: 135-45.
23. Olsson IM, Bensryd I, Lundh T, Ottosson H, Skerfving S, Oskarsson A. Cadmium in blood and urine—impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking—association of renal effects. *Environ Health Perspect* 2002; 110: 1185-90.
24. Nordic Council of Ministers, Cadmium Review (Jan. 2003), [http://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr\\_cadmium.pdf](http://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr_cadmium.pdf).
25. Ono, K., Nov 15. Past and future cadmium emissions from municipal solid-waste incinerators in Japan for the assessment of cadmium control policy. *J Hazard. Mater* 2013; 262: 741–747.
26. Takeya I, Etsuko K, Yasushi S, Mirei U. Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai–itai disease. *Toxicol Lett* 2005; 159: 192-201.

27. Nordberg GF. Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 192-200.
28. Tran Nguyen H, Sheng-Jie Y, Huan-Ping C. Adsorption Capacity and Mechanism of Cadmium on Orange Peel-Derived Biochar Produced at Different Pyrolysis Temperatures and Times. *The 3st International Conference on Solid Waste Technology and Management Philadelphia PA U.S.A* 2016: April 3-6,
29. C.B.Dissanayake, Rohana C. Phosphate mineral fertilizers, trace metals and human health. *J Natn Sci Foundation Sri Lanka* 2009; 37(3): 153-65.
30. Jarup L. "Cadmium overload and toxicity." *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(Suppl 2): 35-9.
31. Nawrot TS, Staessen JA, Roels HA, Munters E, Cuypers A, Richart T, Ruttens A, Smeets K, Clijsters H, Vangronsveld J. Cadmium exposure in the population: from health risks to strategies of prevention. *Biometals* 2010; 23(5): 769-82.
32. Liu J, Liu Y, Klaassen CD. Metallothionein-null and wild-type mice show similar cadmium absorption and tissue distribution following oral cadmium administration. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 175: 253-59.
33. Nordberg GF. Cadmium and health in the 21st century—historical remarks and trends for the future. *Biometals* 2004; 17: 485-89.
34. Klaassen, CD, Liu J, Choudhuri S. Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 267-94.
35. Klaassen, DC, Liu J, Choudhuri S. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 267-94.
36. Xiaoxia Y, Shuai Wei b, Yunxia Y, Zundan D, Qian W, Jintong Z, Xiaoqing L, Xiaoyu C, Jian T, Ningfeng W, Yunliu F. Identification of cadmium-binding proteins from rice (*Oryza sativa* L.). *Int J Biol Macromol* 2018; 119: 597-603.
37. Henkler F, Brinkmann J, Luch A. The role of oxidative stress in carcinogenesis induced by metals and xenobiotics. *Cancers (Basel)* 2010; 8(2): 376-96.
38. Rani A, Kumar A, Lal A, Pant M. Cellular mechanisms of cadmium- induced toxicity: a review. *Int J Environ Health Res* 2014; 24: 378-99.
39. Filipic M. Mechanisms of cadmium induced genomic instability. *Mut Res* 2012; 733: 69-77.
40. Curtis DK, Jie L, Bhalchandra AD. Metallothionein Protection of Cadmium Toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238(3): 215-20.
41. Awais Ullah I, Farhan Ullah K, Puregmaa K, Khalil Ali A, Muhammad N, Sufia Y, Yanfang C, Abdoh T, Richinandan M, Fahad A, Xiaoqian L, Xue L, Yijie C,

- Hidayat Ullah K, Khurshid A, Xiaohui Z. Role of oxidative stress in pathology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and male infertility and antioxidants function in ameliorating oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2018; 106: 714-23.
42. Sies H. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox biology* 2015; 4: 180-183.
  43. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility a clinical perspective, *Hum Reprod Update* 2008; 14(3): 243-58.
  44. K Brieger et al. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly* 2012; 142: p. w13659.
  45. Shinde A, Ganu, J, Naik P. Effect of free radicals & antioxidants on oxidative Stress. *Jour Dent & Allied Sci* 2012; 1(2): 63-6.
  46. Sugamura K, Keaney Jr JF. Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Disease. *Free Radic Biol Med* 2011; 51(5): 978-92.
  47. Junyi W, Wenbin D. Oxidative stress and bronchopulmonary dysplasia. *Gene* 2018; 678: 177-83.
  48. Maureen Redza-Dutordoir Diana AAB. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1863: 2977-92.
  49. D Esterhazy et al. Production of reactive oxygen species by complex I (NADH:ubiquinone oxidoreductase) from Escherichia coli and comparison to the enzyme from mitochondria. *Biochem* 2008; 12: 3964-71.
  50. Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, Yatham LN. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord* 2008; 111: 135-44.
  51. Dianzani M, Barrera G. Pathology and physiology of lipid peroxidation and its carbonyl products. In: Álvarez S; Evelson P (ed.). Free Radical Pathophysiology. *Transworld Research Network Kerala India* 2008: 19-38,
  52. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 218: 1-14.
  53. Fridovich, S, Porter N. Oxidation of arachidonic acid in micelles by superoxide and hydrogen peroxide. *J Biolog Chem* 1981; 256: 260-5.
  54. Claudia PG, Mandheer W, Laurie HS. DNA damage by oxidative stress: Measurement strategies for two genomes. *Cur Opin Toxicol USA* 2018; 7: 87-94 .

55. Yu Y, Cui Y, Niedernhofer LJ, Wang Y. Occurrence: Biological consequences, and human health relevance of oxidative stress-induced DNA damage. *Chem Res Toxicol* 2016; 29: 2008-39.
56. Dizdaroglu M, Jaruga P: Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res* 2012; 46: 382-419.
57. L Risom, P Møller, S Loft, "Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution". *Mutat Res* 2005; 592: 119-37.
58. Michael JD. Protein oxidation and peroxidation. *Biochem J* 2016; 473(7): 805-25.
59. Matthias G, Bernd M, Irina SL, Thomas A, Adriana del R, Kristin E, Christian B, Parvana H. High membrane protein oxidation in the human cerebral cortex. *Redox Biology* April 2015; 4: 200-7.
60. Ward CW, Prosser BL, Lederer WJ. Mechanical stretch-induced activation of ROS/RNS signaling in striated muscle. *Antioxidants Redox Signaling* 2014; 20: 929-36.
61. Hua Z, Rong T. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Cur Opin Food Sci* 2016; 8: 33-42.
62. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39(1): 44-84.
63. Zeinab F, Richard W Browne , Matthew R Bonner, Lili T, Furong D, Mya S, Lina M. How do glutathione antioxidant enzymes and total antioxidant status respond to air pollution exposure. *Environ Int* 2018; 112: 287-93.
64. Vera LM Silva, J Elguero, Artur MS Silva. Current progress on antioxidants incorporating the pyrazole core. *Europ J Med Chem* 2018; 156: 394-429.
65. Jia Wang, Ke Wang, Ying Wang, Songyi Lin, Ping Zhao, Gregory Jones. A novel application of pulsed electric field (PEF) processing for improving glutathione (GSH) antioxidant activity. *Food Chem* 2014; 161: 361-6.
66. Domenico L, Giuliano C, Antonio Maria C, Francesco C, Ettore P. Impaired glutathione-related antioxidant defenses in the arterial tissue of diabetic patients. *Free Radic Biol Med* 2018; 124: 525-31.
67. Shelly C Lu, M.D. GLUTATHIONE SYNTHESIS. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830(5): 3143-53.
68. Gamze E, Vahap Ozan K, Canan T, Güven Ö, Özcan E, Rabia Nazik Y, Emre Ü, Makbule Çiğdem A, Erol G. Thiol/disulphide homeostasis in bipolar disorder. *Psychiatry Res* 2018; 261: 237-42.

69. Lichtblau N, Schmidt F, Schumann R, Kirkby, Himmerich H. Cytokines as biomarkers in depressive disorder: current standing and prospects. *Int Rev Psychiatry* 2013; 25: 592-603.
70. Zhangn J, An J. Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol Clin* 2007; 45: 27-37.
71. Hoge E, Brandstetter K, Moshier S, Pollack M, Wong K, Simon N. Broad spectrum of cytokine abnormalities in panic disorder and posttraumatic stress disorder. *Depress Anxiety* 2009; 26(5): 447-55.
72. Nadia A Al-Banna, Farhan Cyprian, M John Albert. Cytokine responses in campylobacteriosis: Linking pathogenesis to. *Cytokine and Growth Factor Rev* 2018; 41: 75-87.
73. Toshio T, Masashi N, Tadimitsu K. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014; Oct 6(10): a016295.
74. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813: 878-88.
75. Parameswaran N, Patial S. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Signaling in Macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2010; 20(2): 87-103.
76. Bender AT, Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 488-520.
77. Mokry J, Joskova M, Mokra D, Christensen I, Nosalova G.. Effects of selective inhibition of PDE4 and PDE7 on airway reactivity and cough in healthy and ovalbumin-sensitized Guinea pigs. *Adv Exp Med Biol* 2013; 756: 57-64.
78. Maurice DH, Ke H, Ahmad F, Wang Y, Chung J, Manganiello VC. Advances in targeting cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13: 290-314.
79. Levy I, Horvath M Azevedo A, de Alexandre CA RB. Stratakis, Phosphodiesterase diesterase function and endocrine cells: links to human disease and roles in tumor development and treatment. *Curr Opin Pharmacol* 2011; 11: 689-97.
80. Wespes E, Amar E, Hatzichristou D, et al. EAU guidelines on erectile dysfunction: An update. *Eur Urol* 2006; 49: 806-15.
81. Pfizer Inc. VIAGRA (sildenafil citrate) tablets. United States package insert. [http://www.pfizer.com/files/products/uspi\\_v Viagra.pdf](http://www.pfizer.com/files/products/uspi_v Viagra.pdf). Accessed July 25, 2012.
82. Nichols DJ, Muirhead GJ, Harness JA. Pharmacokinetics of sildenafil after single oral doses in healthy male subjects: absolute bioavailability, food effects and dose proportionality. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 53(Suppl 1): 5-12.

83. Karim M Tawfik, Yasser M Moustafa, Mona F El-Azab. Neuroprotective mechanisms of sildenafil and selenium in PTZ-kindling model: Implications in epilepsy. *Eur J Pharmacol* 2018; 833: 131-44.
84. Zahran MH, Hussein AM, Barakat N, Awadalla A, Khater S, Harraz A, Shokeir AA. Sildenafil activates antioxidant and antiapoptotic genes and inhibits proinflammatory cytokine genes in a rat model of renal ischemia/reperfusion injury. *Int Urol Nephrol* 2015, 47: 1907-15.
85. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-54.
86. Patra RC, Rautray AK, Swarup D. Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *Vet Med Int* 2011; 20: 327-457.
87. Cho YA, Kim J, Woo HD, Kang M. Dietary cadmium intake and the risk of cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: 750-87.
88. Chargui A, Zekri S, Jacquillet G, Rubera , Ilie M, Belaid A, Duranton C, Tauc M, Hofman P, Poujeol P, El May MV, Mograbi B. Cadmium-induced autophagy in rat kidney: an early biomarker of subtoxic exposure. *Toxicol Sci* 2011; 121: 31-42.
89. Anetor JI. Rising environmental cadmium levels in developing countries: threat to genome stability and health. *Niger J Physiol Sci* 2012; 27: 103-15.
90. Lee JC, Son YO, Pratheeshkumar P, Shi X. Oxidative stress and metal carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 2012; 53: 742-57.
91. Liu J, Qian SY, Guo Q, Jiang J, Waalkes MP, Mason RP, Kadiiska MB. Cadmium generates reactive oxygen- and carbon-centered radical species in rats: insights from in vivo spin-trapping studies. *Free Radic Biol Med* 2008; 45: 475-81.
92. Cooke MS, Evans MD, Dizdraoglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB J* 2003; 17: 1195-214.
93. Skipper A, Sims JN, Yedjou CG, Tchounwou B. Cadmium chloride induces DNA damage and apoptosis of human liver carcinoma cells via oxidative stress. *Int J Environ Res Public Health* 2016; 13 (1) pii: E88.
94. Toppo R, Roy BK, Gora RH, Baxla SL, Kumar P. Hepatoprotective activity of moringaoleifera against cadmium toxicity in rats. *Vet World* 2015; 8(4): 537-40.
95. Olszowski T, Baranowska-Bosiacka I, Gutowska I, Chlubek D. Pro-inflammatory Properties of Cadmium. *Acta Biochim Pol* 2012; 59. pp.: 475-82(4).
96. Yazıhan N, Koçak MK, Akçıl E, Erdem O, Sayal A, Güven C, Akyürek N. Involvement of Galectin-3 in Cadmium-Induced Cardiac Toxicity. *Derg AK* 2011; 11: 479-84(6).

97. Liju VB, Jeena K, Kuttan R. Acute and subchronic toxicity as well as mutagenic evaluation of essential oil from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food Chem Toxicol* 2013; 53: 52-61.
98. Arroyo VS, Flores KM, Ortiz LB, Gómez-Quiroz LE, Gutiérrez-Ruiz MC. Liver and cadmium toxicity. *J Drug Metab Toxicol* 2012; 001: <https://doi.org/10.4172/2157-7609.S5-001>.
99. Nair AR, DeGheselle O, Smeets K, van Kerkhove E, Cuypers A. Cadmium-induced pathologies: where is the oxidative balance lost (or not). *Int J Mol Sci* 2013; 14: 6116-43.
100. Sandhi J, Singh JP, Kaur T, Ghuman SS, Singh AP. Involvement of progesterone receptors in ascorbic acid mediated protection against ischemia reperfusion - induced acute kidney injury. *J Surg Res* 2014; 187: 278-88.
101. Montes S, Juárez-Rebollar D, Nava-Ruiz C, Sánchez-García A, Heras-Romero Y, Rios C, Méndez-Armenta M. Immunohistochemical study of Nrf2-antioxidant response Element as indicator of oxidative stress induced by cadmium in developing rats. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 9: 570-650
102. Ibrahim NK. Possible protective effect of kombucha tea ferment on cadmium chloride induced liver and kidney damage in irradiated rats. *Int J Biol Life Sci* 2013; 9: 7-12.
103. Yamano LA T, DeCicco LE, Rikans. Attenuation of Cadmium-induced liver injury senescent male Fischer 344 rats: role of Kupffer cells and inflammatory cytokines, *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 162: 68-75.
104. Prozialeck WC, Edwards JR. Cell adhesion molecules in chemically induced renal injury. *Pharmacol Ther* 2007; 114: 74-93.
105. Boroushaki MT, Mollazadeh H, Rajabian A, Dolati K, Hoseini A, Paseban M, Farzadnia M. Protective effect of pomegranate seed oil against mercuric chloride-induced nephrotoxicity in rat. *Ren Fail* 2014; 36(10): 1581-86.
106. Agirdir BV, Bilgen I, Dinc O, Ozcaglar HU, Fisenk F, Turhan M, Oner G. Effect of zinc ion on cadmium-induced auditory changes. *Biol Trace Elem Res* 2002; 88: 153-63.
107. Farooqui Z, Ahmed F, Rizwana S, Shahida F, Khan AA, Khan F. Protective effect of *Nigella sativa* oil on cisplatin induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomed Pharmacother* 2017; 85: 7-15.
108. Valentovic MA, Ball JG, Brown JM, Terneus MV, McQuade E, Meter SV, et al. Resveratrol attenuates cisplatin renal cortical cytotoxicity by modifying oxidative stress. *Toxicol in Vitro* 2014; 28: 248-57.

109. Hamza AA. Ameliorative effects of *Moringa oleifera* Lam seed extract on liver fibrosis in rats. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 345-55.
110. Aktoz T, Kanter M, Uz YH, et al. Protective effect of quercetin against renal toxicity induced by cadmium in rats. *Balkan Med J* 2012; 29: 56-61.
111. Fouad AA, Jresat I. Protective effect of telmisartan against cadmium-induced nephrotoxicity in mice. *Life Sci* 2011; 89: 29-35.
112. Kaplan M, Atakan IH, Aydogdu N, et al. Influence of N-acetylcysteine on renal toxicity of cadmium in rats. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 233-41.
113. Kayama F, Yoshida T, Elwell MR, Luster MI. Cadmium-induced renal damage and proinflammatory cytokines: possible role of IL-6 in tubular epithelial cell regeneration. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995; 134: 26-34.
114. Kataranovski M, Popovic S, Kataranovski D. Differential effects of in vivo cadmium administration on lymphocytes and granulocytes in rats. *Vet Hum Toxicol* 1999; 41: 200-204.
115. Bekheet SH, Awadalla EA, Salman MM, Hassan MK. Bradykinin potentiating factor isolated from *Buthus occitanus* venom has a protective effect against cadmium induced rat liver and kidney damage. *Tissue Cell* 2011; 43: 337-43.
116. Wang L, Chen D, Cao J, Liu Z. Protective effect of N-acetylcysteine on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in immature female rats. *Hum Exp Toxicol* 2009; 28: 221-9.
117. Effects of cadmium on human health. A review of studies mainly performed in Japan. *Japan Public Health Association* 1976; 1-23.
118. Moitra S, Blanc PD, Sahu S. Adverse respiratory effects associated with cadmium exposure in small-scale jewelry workshops in India. *Thorax* 2013; 68: 565-70.
119. Jakubowski M, Abramowska-Guzik A, Szymczak W, Trzcinka-Ochocka M. Influence of long-term occupational exposure to cadmium on lung function tests results. *Int J Occup Med Environ Health* 2004; 17: 361-8.
120. Mannino DM, Holguin F, Greves HM, Savage-Brown A, Stock AL, Jones RL. Urinary cadmium levels predict lower lung function in current and former smokers: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Thorax* 2004; 59: 194-8.
121. Lampe BJ, Park SK, Robins T, Mukherjee B, Litonjua AA, Amarasiriwardena C, et al. Association between 24-hour urinary cadmium and pulmonary function among community-exposed men: the VA Normative Aging Study. *Environ Health Perspect* 2008; 116: 1226-30.



122. Rokadia H, Agarwal S. Blood heavy metals and obstructive lung disease: results from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Chest* 2013; 143: 388-97.
123. Kundu S, Sengupta S, Chatterjee S, Mitra S, Bhattacharyya A. Cadmium induces lung inflammation independent of lung cell proliferation: a molecular approach. *J Inflamm* 2009; 6: 19-23.
124. Kataranovski M, Kataranovski D, Savic D, Jovicic G, Bogdanovic Z, Jovanovic T. Granulocyte and plasma cytokine activity in acute cadmium intoxication in rats. *Physiol Res* 1998; 47: 453-61.
125. Kayama F, Yoshida T, Elwell MR, Luster MI. Cadmium-induced renal damage and proinflammatory cytokines: possible role of IL-6 in tubular epithelial cell regeneration. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995; 134: 26-34.
126. Valko M, Rhodes CJ, Moncola J, Izakovic M, Mazura M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
127. Smith WB 2nd, McCaslin IR, Gokce A, Mandava SH, Trost L, Hellstrom WJ. PDE5 inhibitors: considerations for preference and long-term adherence. *Int J Clin Pract* 2013; 67: 768-80.
128. Wang RC, Jiang FM, Zheng QL, et al. Efficacy and safety of sildenafil treatment in pulmonary arterial hypertension: a systematic review. *Respir Med* 2014; 108: 531-7.
129. Zhao L, Mason NA, Morrell NW, et al. Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2001; 104: 424-8.
130. Gokakin AK, Deveci K, Kurt A, et al. The protective effects of sildenafil in acute lung injury in a rat model of severe scald burn: A biochemical and histopathological study. *Burns* 2013; 39: 1193-9.
131. Yildirim A, Ersoy Y, Ercan F, et al. Phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate in a rat model of bleomycin-induced lung fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther* 2010; 23: 215-21.
132. Nunes AK, Rapôso C, Rocha SW, Barbosa KP, Luna RL, da Cruz-Höfling MA, Involvement of AMPK, IK $\beta$  $\alpha$ -NF $\kappa$ B and eNOS in the sildenafil anti-inflammatory mechanism in a demyelination model. *Brain Res* 2015; 1627: 119-33.
133. Ali BH, Abdelrahman AM, Al-Salam, Sudhadevi M, Al Mahruqi AS, Al Husseni IS. The effect of sildenafil on cisplatin nephrotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2011; 109: 300-8.

134. Abdel-Latif RG, Morsy MA, El-Moselhy MA, Khalifa MA. Sildenafil protects against nitric oxide deficiency-related nephrotoxicity in cyclosporine A treated rats, *Eur J Pharmacol* 2013; 705: 126-34.
135. Kuno Y, Iyoda M, Shibata T, Hirai Y, Akizawa T. Sildenafil, a phosphodiesterase type 5 inhibitor, attenuates diabetic nephropathy in non-insulin-dependent Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *Br J Pharmacol* 2011; 162: 1389.
136. Cadirci E, Halici Z, Odabasoglu F, et al. Sildenafil treatment attenuates lung and kidney injury due to overproduction of oxidant activity in a rat model of sepsis: a biochemical and histopathological study. *Clin Exp Immunol* 2011; 166: 374.
137. Kuno Y, Iyoda M, Shibata T, Hirai Y, Akizawa T. Sildenafil, a phosphodiesterase type 5 inhibitor, attenuates diabetic nephropathy in non-insulin-dependent Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *Br J Pharmacol* 2011, 162: 1389.
138. Abdel-latif RG, Morsy MA, El-Moselhy MA, Khalifa MA. Sildenafil protects against nitric oxide deficiency-related nephrotoxicity in cyclosporine A treated rats. *Eur J Pharmacol* 2013; 705: 126.
139. Oruc O, Inci K, Aki FT, et al. Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte infiltration. *Acta Histochem* 2010; 112: 337.
140. Said E, Said SA, Gameil NM, Ammar, EM. Modulation of thioacetamide-induced liver fibrosis/cirrhosis by sildenafil treatment. *Can J Physiol Pharmacol* 2013; 91: 1055-63.
141. Li J, Fu P, Deleon M, French BA, French SW. The effect of Viagra (sildenafil citrate) on liver injury caused by chronic ethanol intragastric feeding in rats. *Exp Mol Pathol* 2005; 78: 101-8.
142. Yang H and Shu Y. Cadmium transporters in the kidney and cadmium-induced nephrotoxicity. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 1484-94.
143. Marya RK. The Kidney, In: Medical physiology, II ed, CBS publishers and distributors, New Delhi, 2003: 534-59.
144. Newman DJ and Price CP. Renal function and nitrogen metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, Tietz. *Textbook of clinical chemistry 3rd ed WB Saunders Philadelphia* 1999: 1204-64.

## **EKLER**

### **Ek-1. Özgeçmiş**

**Adı** : Ahmet Hüsamettin

**Soyadı** : Baran

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Şanlıurfa, 23.02.1989

**Eğitimi** : Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Lisans, Ankara (2007-2012)

**Yabancı Dili** : İngilizce



## Ek-2. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 03/02/2017-53502



T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Etik Kurulu

Sayı :97132852/604.01.02/  
Konu :Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Gökür AKTAY

"Kadmiyum'un neden olduğu karaciğer, akciğer ve böbrek hasarı üzerine Sildenafil'in koruyucu etkisi" başlıklı araştırma projeniz Etik Kurulumuzda görüşülmüş olup Etik Kurulu Kararı ekte gönderilmiştir.  
Bilgilerinizi rica ederim.

e-izmalıdır  
Doç.Dr. Mustafa İSSİ  
Kurul Başkanı

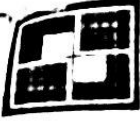
Not: Islak imzalı nüshalar sekreterlikten teslim alınabilir.

EKLER :  
Etik Kurul Kararı

Evrak Doğrulamak için : <https://ebys.firat.edu.tr/enVision/DoGrula/BR3TJPL>  
Firat Üniversitesi Rektörlüğü 23119 ELAZIĞ/TURKIYE Ayrıntılı bilgi için irtibat: Erhan COŞKUN  
Tel: 0 (424) 237 00 00 Faks: 0 (424) 0  
E-Posta: [halkalinksier@firat.edu.tr](mailto:halkalinksier@firat.edu.tr) Elektronik ağ: <http://www.firat.edu.tr>



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.



T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



**ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar No	Protokol No	Özü
01.02.2017	2017/03	35	2016/151	Prof. Dr. Göknur AKTAY

**KARAR**

"Kadmiyum'un neden olduğu karaciğer, akciğer ve böbrek hasarı üzerine Sildenafil'in koruyucu etkisi" başlıklı araştırma projenizde 28 Adet Sprague-Dawley Sıçan kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafımızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait bu çalışmanın "Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi" yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

1. Prof. Dr. Göknur AKTAY
2. Ecz. Mustafa Bahadır KAYMAZ
3. Ecz. Ahmet Hüsamettin BARAN

GÖREVİ	ADI SOYADI	BÖLÜMÜ	İMZA
Başkan	Doç. Dr. Mustafa İSSİ	Veteriner Fakültesi	
Üye	Prof. Dr. Sinan CANPOLAT	Tıp Fakültesi	
Üye	Prof. Dr. Azize BEŞTAŞ	Tıp Fakültesi	
Üye	Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE	Veteriner Fakültesi	Bulunmadı.
Üye	Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA	Su Ürünleri Fakültesi	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Serkan DÜNDAR	Diş Hekimliği Fakültesi	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Burcu GÜL BAYKALIR	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Bulunmadı.
Üye	Vet. Hek. Özgür BULMUŞ	FÜDAM	
Üye	Onur UYGUR	Sivil Üye	
Üye	Murat DAĞHAN	Sivil Üye	Bulunmadı.