

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KADMIYUM TOKSİKASYONUNA MARUZ BIRAKILAN
RATLARDA POLYDATİN VE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ
EKSTRAKTININ KAN, KARACİĞER, BÖBREK, BEYİN VE
TESTİS DOKULARINA ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK VE
OKSİDAN-ANTIOKSİDAN GÖSTERGELERLE
ARAŞTIRILMASI**

Mustafa EVCİMEN

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Recep ASLAN

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
14.SAĞ.BİL.06 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2015-008

2015-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

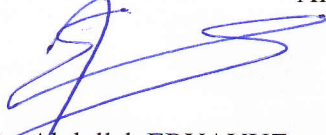
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/12/2015


Prof. Dr. Recep ASLAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı


Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye


Prof. Dr. Hüdayi İPEK

Balıkesir Üniversitesi

Üye


Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY

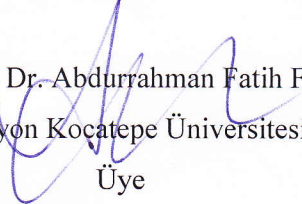
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Üye


Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye


Doç. Dr. Abdurrahman Fatih FİDAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

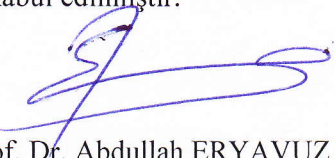
Üye


Yrd.Doç. Dr. Sevecan SEVİMLİ

Uşak Üniversitesi

Raportör

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı öğrencisi Mustafa EVCİMEN'in "Kadmiyum Toksikasyonuna Maruz Bırakılan Ratlarda Polydatin ve Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Kan, Karaciğer, Böbrek, Beyin ve Testis Dokularına Etkilerinin Histopatolojik ve Oksidan-Antioksidan Göstergelerle Araştırılması" başlıklı tezi 29.12.2015. günü saat 14.30'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Toksik etkili ağır metallere birisi olan kadmiyumun çeşitli endüstri kollarında kullanımının artmış olması, modern tekniklere dayalı tarımın yaygınlaşması gibi nedenlerle maruziyeti artan, en önemli sağlık riskleri arasında yer almaktadır. Kadmiyum toprak-bitki sistemindeki yüksek mobilitesi nedeniyle kolaylıkla besin zincirine dahil olabilmekte, böylece bitki, hayvan ve insan sağlığı için tehlike oluşturmaktadır. Kadmiyum, sitotoksik etkileri nedeniyle hücrelerde hasara, serbest radikal oluşumuna ve oksidatif strese yol açabilmektedir. Hem kadmiyumun bütün bu etkilerinin önlenmesinde, hem de birçok risk faktörünün zararlı etkilerinin giderilmesinde fitokimyasallar etkili bir role sahiptir. Tez çalışmamızda, kadmiyum maruziyetinin organizmadaki etkileri ve yüksek antioksidan etkisiyle tanınan Polydatin ve Üzüm Çekirdeği Ekstraktı'nın kadmiyum maruziyetindeki koruyucu etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızın alanındaki literatür boşluğunu gidermede önemli bir yerinin olacağını, kullandığımız fitokimyasalların güvenlik bandına önemli bir katkı sunacağını düşünmekteyiz.

Tez projemizi destekleyen Üniversiteme, imkânlarını kullandığım fakülteme, anabilim dalımızdaki hocalarım ve arkadaşlarıma, ortak doktora programındaki eğitimimin her aşamasında, bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemeyen hocalarıma, projemle ilgili yönlendirmeleri ve süreç takibindeki katkıları nedeniyle tez izleme komitesindeki hocalarıma, çalışmam sırasında hep yanımda hissettiğim akademik, teknik ve idari personelden arkadaşlarıma, bu süre zarfında beni fedakâr bir anlayışla motive eden aileme teşekkür etmekten onur duyarım.

Mustafa EVCİMEN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Tablolar	xi
Grafikler	x
Resimler	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kadmiyum	3
2.1.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	4
2.1.2. Doğada Kadmiyum ve Maruziyet Kaynakları	6
2.1.3. Kadmiyumun Metabolizması ve Fizyolojik Etkileri	7
2.2. Serbest Radikaller	12
2.2.1. Serbest Radikal Oluşumu.....	14
2.2.2. Serbest Radikal Kaynakları	15
2.2.3. Serbest Radikallerin Etkileri	18
2.3. Antioksidan Savunma Sistemi ve Antioksidanlar	19
2.3.1. Antioksidan Fitokimyasallar	24
2.3.2. Polifenoller.....	25
2.3.3. Resveratrol	28
2.3.4. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı	31
2.3.5. Polydatin	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.....	38
3.2 Hayvan Materyali	39
3.2.1. Deney Grupları ve Deney Protokolü	39
3.2.2. Çalışmanın Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması	40

3.2.3. Plazma Eldesi, Eritrosit Paketi ve Doku Homojenatının Hazırlanması.....	40
3.2.4. Eritrosit Paketi Ve Dokularda Kadmiyum Konsantrasyonu Tayini	41
3.2.5. TAS ve TOS Düzeyleri Tayini	41
3.2.6. MDA ve AOP Düzeyleri Tayini	42
3.2.7. Histopatolojik Analizler İçin Dokuların Hazırlanması	43
3.3. İstatistiksel Analizler	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Rat Yeminin, İçme Suyunun, PD Ve ÜÇE'nin Cd Yönünden Analizi	44
4.2. Kan Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	44
4.3. Karaciğer Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	48
4.4. Böbrek Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	51
4.5. Beyin Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	54
4.6. Testis Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	57
4.7. Histopatolojik Bulgular.....	60
4.7.1. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi	61
4.7.2. Beyin dokusu histopatolojik incelemesi	62
4.7.3. Böbrek Dokusu Histopatolojik İncelemesi	63
4.7.4. Testis Dokusu Histopatolojik İncelemesi	64
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ	78
ÖZET	80
SUMMARY	82
KAYNAKLAR.....	84

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	Alanin transaminaz
AOP	Antioksidan potansiyel
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum
CdO	Kadmiyum Oksit
CdCl ₂	Kadmiyum Klorür
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
Fe	Demir
g	Gram
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSH-Rx	Glutasyon redüktaz
HCl	Hidroklorür
H&E	Hemotoksilen-eosinle
Kcal	Kilokalori
Kg	Kilogram
L	Litre
LPO	Lipid peroksidasyon
mg	Miligram
µg	Mikrogram
µmol	Mikromol

ml	Mililitre
mmol	Milimol
MDA	Malondialdehid
MT	Metallotionein
NADPH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinüklotid fosfat
ÖD50	Öldürücü doz 50
PD	Polydatin
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksid dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TAS	Total antioksidan statü
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Tiyokloroasetik asit
TOS	Total oksidan statü
ÜÇE	Üzüm çekirdeği ekstraktı

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Kadmiyumun Vücuttaki Dağılımı.....	9
Şekil 2.2. Kadmiyumun Neden Olduğu Oksidatif Stres Tablosu	12
Şekil 2.3. Radikal Üretimi, Hedef Yapılar ve Riskler	14
Şekil 2.4. Aktive Olmuş Nötrofillerde Fagositik Patlama Sonucu Radikal Oluşumu	18
Şekil 2.5. Hücrenin Antioksidan Savunma Mekanizması	23
Şekil 2.6. Polifenollerin Sınıflandırılması	27
Şekil 2.7. Resveratrolün Kimyasal Yapısı	28
Şekil 2.8. Resveratrolün Kanda Taşınması ve Hücre İçine Geçiş Hipotezi.....	29
Şekil 2.9. Resveratrol ve Etkileri	31
Şekil 2.10. Resveratrolün Piceid Formu	36

TABLÖLAR

	<u>Sayfa</u>
2.1. Sık Karşılaşılan Radikaller, Simgeler ve Kimlikleri	13
2.2. Bilinen Endojen Antioksidanlar ve Etkinlikleri	21
2.3. Başlıca Eksojen Antioksidanlar ve Özellikleri	22
2.4. Üzümün Genel Bileşimi	32
2.5. Taze Üzümün Besinsel Değerleri	33
4.1. Kan Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	46
4.2. Karaciğer Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	49
4.3. Böbrek Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri.....	52
4.4. Beyin Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri.....	55
4.5. Testis Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri	58
4.6. Karaciğer, Böbrek, Beyin ve Testis Dokularındaki Histopatolojik Bulgular	60

GRAFİKLER

	<u>Sayfa</u>
4.1. Eritrosit Cd Düzeyleri	47
4.2. Plazma TOS Düzeyleri	47
4.3. Plazma TAS Düzeyleri	47
4.4. Plazma MDA Düzeyleri.....	47
4.5. Plazma AOP Düzeyleri	47
4.6. Karaciğer Cd Düzeyleri	50
4.7. Karaciğer TOS Düzeyleri	50
4.8. Karaciğer TAS Düzeyleri	50
4.9. Karaciğer MDA Düzeyleri	50
4.10. Karaciğer AOP Düzeyleri	50
4.11. Böbrek Cd Düzeyleri	53
4.12. Böbrek TOS Düzeyleri	53
4.13. Böbrek TAS Düzeyleri	53
4.14. Böbrek MDA Düzeyleri	53
4.15. Böbrek AOP Düzeyleri	53
4.16. Beyin Cd Düzeyleri	56
4.17. Beyin TOS Düzeyleri	56
4.18. Beyin TAS Düzeyleri	56
4.19. Beyin MDA Düzeyleri	56
4.20. Beyin AOP Düzeyleri	56
4.21. Testis Cd Düzeyleri	59
4.22. Testis TOS Düzeyleri	59
4.23. Testis TAS Düzeyleri	59
4.24. Testis MDA Düzeyleri	59
4.25. Testis AOP Düzeyleri	59

RESİMLER

	<u>Sayfa</u>
4.1. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi	61
4.2. Beyin Dokusu Histopatolojik İncelemesi	62
4.3. Böbrek Dokusu Histopatolojik İncelemesi	63
4.4. Testis Dokusu Histopatolojik İncelemesi	64

1.GİRİŞ

Yaşayan her canlı gibi insan da hayati fonksiyonlarını devam ettirebilmek için enerjiye ve bu enerjiyi sağlayabilmek için beslenmeye ihtiyaç duymuştur. İlk insanlar, bitkiler içinden kendi ihtiyaçlarına göre seçimler yaparak yenilebilecek bitkileri tanımış ve küçük hayvanları yemeyi öğrenmiştir (Sürmeli, 2003). Yirminci yüzyılın başından itibaren modern tarıma geçilmesi ve hızlı sanayileşmeyle birlikte çevre problemleri ortaya çıkmaya başlamıştır. Hızla artan dünya nüfusunun beslenmesi günümüzde de önemini korumaktadır. Endüstrileşme ve kentleşmeye bağlı olarak artan çevre kirliliği kapsamında toprak kirliliği de canlılar üzerinde tehlikeli olabilecek boyutlara ulaşmıştır. Toprak kirliliğinden besin zinciri yoluyla bütün organizmaların etkilenmesi, bu problemin büyüklüğünü ve tehlikesini daha da arttırmaktadır. Çevre ve toprak faktörlerinden en önemlisi ağır metallerdir (Stresty ve Madhava Rao, 1999).

Tarım alanlarının ağır metal içeriğindeki artış ve metallerin bitki, hayvan ve insan sağlığı üzerindeki bilinen toksik etkileri bu konuda yapılan çalışmaların artmasına yol açmıştır. Ağır metallerden biri olan Kadmiyum (Cd)'un tarım topraklarında bulunması ana materyal kaynaklı olabileceği gibi endüstriyel faaliyetler, fosforlu gübreler, lağım atıkları ve atmosferik depozitler gibi insan faaliyetleri sonucu da olabilir (Assche ve Clijsters, 1990). Bunun yanı sıra Cd topraktaki şelatlayıcı ajanlarla topraktan aşağı taşınarak yeraltı suyuna karışmakta içme ve sulama sularında kirliliğe neden olmaktadır (Köleli ve Kantar, 2005). Cd'un yarılanma ömrünün 15-1100 yıl gibi uzun olması hangi ortamda olursa olsun Cd kirliliği önleminin alınmasını veya minimuma indirilmesini gerekli kılmaktadır (Lopez ve ark., 2006). Cd sitotoksik etkili olup serbest radikaller yoluyla oksidatif stres oluşturması ve antioksidan savunma sistemi yetmezliğine neden olması sorumlu tutulmaktadır (Casalino ve ark., 2002). Serbest radikallerdeki çiftlenmemiş elektronlar kararlı duruma geçmek ister ve kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür (Gökpınar ve ark., 2006). Oluşan serbest radikallere ve oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı hücrenin kendisini koruması için sahip olduğu hücre içi ve hücre dışı enzim ve

nonenzim savunma mekanizmasına antioksidan savunma denilmektedir (Fridovich, 1976).

Kadmiyumun yaygın bir ağır metal toksikasyon faktörü olması, insan ve hayvanların yaşamı için risk oluşturmaya karşı önlem alınmasını ve etkilerinin daha spesifik ölçekli olarak araştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Vücuda alınan Cd'un büyük bir kısmı karaciğer ve böbreklerde birikmektedir (Gürel, 1998). Kadmiyum'un sitotoksik etkilerinin oluşan oksidatif stresle de ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kadmiyumun etkisiyle serbest radikaller hücredeki tüm membranları, proteinleri, DNA'yı ve membran lipitlerini etkileyerek hücre fonksiyonlarının ve bütünlüğünün bozulmasına yol açmakta, böylece organların işlevlerini yerine getiremez duruma gelmesine neden olmaktadır. Doku ve organlarda oluşan bu zararı önlemede ya da azaltmada, ülkemizde yaygın olarak hasatı yapılan ve halkın severek kullandığı antioksidan bir fitokimyasal olan üzüm çekirdeğinin ekstraktı ve polydatin olarak bilinen fitokimyasalın ayrı ayrı ve kombine kullanımlarının etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bir ağır metal olan kadmiyumun ratların böbrek, karaciğer, beyin, testis dokuları ile kandaki etkilerinin izlenmesi ve olası hasarların önlenmesinde antioksidan etkili Üzüm Çekirdeği Ekstraktı ile Polydatin'in koruyucu ve önleyici özelliklerinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu tez çalışmasının ana teması, bilinen ve sıklıkla kullanılan bu fitokimyasalların antioksidan güvenlik sınırlarının netleştirilmesi, hangi dokularda ve hangi durumlarda antioksidan etkiye sahip olduklarının belirlenmesidir. Bu etkinin oral Cd maruziyeti uygulanan ratların kan, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularında oksidan-antioksidan parametreler ve histopatolojik değerlendirmelerle izlenmesi hedeflenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

Metaller, insanlar için bilinen en eski toksinlerdir. Metalleri diğer toksik maddelerden ayıran en önemli özellikleri, insanlar tarafından ne oluşturulabilir nede yok edilebilir olmalarıdır. Metaller, çevresel taşınım sonucu besinler ve içme suları ile; insanlar tarafından veya doğal olarak hava, su, toprak ve besinlerle organizmaya girebilirler. Periyodik cetvelde bulunan 105 elementin yaklaşık 80'ini metaller oluşturmakta ve bunların 30 kadarının insanlarda toksisite oluşturduğu bilinmektedir (Goyer ve Clarkson, 2001; Altındağ ve ark., 2003).

Bu metaller arasında yer alan selenyum, arsenik, molibden, kadmiyum, kurşun ve civa toksisitelerinin yüksek olduğu bilinen ağır metallerdir. Ağır metallerin tanımlanmasında belirteç olarak yoğunluğu kullanılmakta ve 5 g/cm^3 den daha yoğun olan metaller ağır metal olarak tanımlanmaktadır. Ağır metaller arasında, canlı sağlığının önemi açısından araştırma yapılanların başında kadmiyum, kurşun, civa ve arsenik gelmektedir. Bu metaller insanlar tarafından yüzyıllardır kullanılmaktadır. Uzun zamandır sağlık açısından sakıncalı oldukları bilinmesine rağmen çeşitli amaçlarla kullanılmaya devam edilmesi sebebiyle maruziyet günümüzde de önemli bir husustur. Ağır metallerin çevreye yayılımı çoğunlukla hava, su ve toprak aracılığı ile olmaktadır. Canlılar belirtilen metalleri sıklıkla solunum, oral veya deri yoluyla almaktadırlar (Kaya ve Akar, 2002; Jarup, 2003).

2.1. Kadmiyum

Kadmiyum 1817 yılında Almanya'da Stromeyer tarafından keşfedilmiştir. Yirminci yüzyılın metali olarak tanımlanmakta olup doğada çinko ve kurşun filizlerinde bulunan Cd'un günümüzdeki endüstriyel kullanımı elli yıl öncesine oranla oldukça fazladır. International Agency for Research on Cancer (IARC), kimyasal maddeleri insandaki karsinojenik etki risklerine göre beş gruba ayırmıştır. IARC'nin sınıflandırmasında, Cd akciğer kanseriyle olan ilişkisinden dolayı Grup 1: İnsanda

Karsinogenik Etkili Maddeler arasında yer almaktadır (Liu ve ark., 2002; Murugavel ve ark., 2007; Mendez-Armenta ve Rios, 2007). Birinci ve ikinci dünya savaşlarında kalay metalinin yokluğu kadmiyumu besin kaplarının kaplanmasında ve konserve kapları gibi materyallerde kalay yerine kullanılmasına yol açmıştır. Asit özellikteki besinlere geçen kadmiyumun insan ve hayvanlarda zehirlenmelere yol açması sonucu kısa zamanda kullanımı bırakılmıştır (Karatas, 1998; Friberg ve ark., 1986).

Japonya'da 1946 yılında ‘‘Itai-itai’’ hastalığı adı verilen epidemik olaya kadmiyum zehirlenmesinin neden olduğu gösterilmiştir. Bu hastalığın Japonya'da kurşun ve kadmiyum filizlerinin çıkarıldığı maden ocaklarının atıklarının Jinthzu nehrini kirletmesi ile bu civarda yaşayan halkın sulama ve içme suyu olarak nehirden yararlanması sonucu, suyu kirleten kadmiyum ve kurşunun besin zinciri ile burada yaşayan insanlara ulaşması neticesinde ortaya çıkmıştır (Koçak, 2004; Ohta ve ark., 2000; Who, 1992).

Günümüzde çeşitli endüstri kollarındaki gelişmeler, modern tekniklere dayalı tarımın yaygınlaşması ve kentleşme sonucu kadmiyum ve benzeri ağır metallerin çevredeki derişimi artış göstermiştir. Bu metalin çok düşük ortam derişimleri bile canlılar üzerinde toksik etki yaptığından, besin zincirinin çeşitli basamaklarındaki dağılımını belirlemek büyük önem taşımaktadır. Kadmiyumun düşük derişimleri duyarlı canlı türlerinde üremenin durmasına, gelişimin yavaşlamasına ve mortaliteye neden olabilmektedirler (Kalay ve Karataş, 1999; Merian ve Weinheim, 1991).

2.1.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kadmiyum periyodik cetvelin 48. elementi olup II-B grubunda bulunan bir geçiş elementidir. Orta sertlikte bir metal olan Cd, gümüş beyazı rengindedir ve doğada genellikle saf halde bulunmaz. Doğal olarak yer kabuğunda mevcut olup, kadmiyum oksit (CdO), kadmiyum klorit (CdCl₂) ve kadmiyum sülfat (CdSO₄) tuzları şeklinde bulunmaktadır. Cd'un kükürt ve karbonat tuzları suda çözünmezken, sülfat, asetat, nitrat ve halojenli bileşikler suda çözünürler. Cd'un çevre ve ekosistem üzerindeki etkileri bu tuzların doğadaki dağılımına bağlıdır. Okside olma kabiliyeti +2 değerlikli

formunda daha yüksektir (Zalups ve Ahmad, 2003; Mendez-Armenta ve Rios, 2007; Flora ve ark., 2008).

Kadmiyum (Cd)

Temel Özellikleri

Atom numarası	: 48
Element serisi	: Geçiş metalleri
Grup, periyot, blok	: 2, 4, d
Görünüş	: Metalik gri
Atom Ağırlığı	: 112.41 g/mol
Özgül Ağırlığı	: (20 °C): 8.65 g/cm ³
Molar Hacmi	: 13.01 cm ³ /mole
Elektron dizilimi	: Ar5s ¹ 3d ¹⁰

Fiziksel Özellikleri

Maddenin Hali	: Katı
Yoğunluk	: 7,86 g/cm ³
Sıvı haldeki yoğunluğu	: 6,98 g/cm ³
Erime noktası	: 321 °C
Kaynama noktası	: 767 °C
Ergime ısısı	: 13,81 kJ/mol
Buharlaşma ısısı	: 340 kJ/mol

Atom Özellikleri

Kristal yapısı	: Hacim merkezli kübik
Yükseltgenme seviyeleri	: 2, 3, 4, 6
Elektronegatifliği	: 1,83 Pauling ölçeği
İyonlaşma enerjisi	: 762,5 kJ/mol
Atom yarıçapı	: 140 pm

2.1.2. Doğada Kadmiyum ve Maruziyet Kaynakları

Kadmiyum, Çevre Koruma Örgütü (EPA) tarafından tanımlanan 126 önemli çevre kirleticisi arasında sıralanmıştır. İnsan faaliyetleri ve fosil yakıtlarının yanması sonucu çevreye önemli miktarda kadmiyum geçisi söz konusudur. Kadmiyum'un yıllık doğaya yayılma miktarı 25,000–30,000 ton arasında olup bununda 4,000–13,000 tonu insan faaliyetlerine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Zalups ve Ahmad, 2003). Kadmiyumun kullanımının en sık olduğu alanlar; Nikel-Cd pillerinin yapımında, çinko, bakır ve kurşun cevherlerinin arındırılmasında, elektrolizle kaplama ve galvanizleme işlemlerinde paslanmayı önleyici olarak, metal alaşımı hazırlanmasında koruyucu olarak, plastiklerin üretiminde sağlamaştırıcı olarak, cam endüstrisi, seramik yapımında ve boya maddeleridir (Kirkham, 2006; Murugavel ve ark., 2007). Bunların yanı sıra ev eşyaları, otomobil ve kamyon lastikleri, fotoğrafçılık, zirai aletler, uçak parçaları, endüstriyel aletler, el aletleri, tutturucu özelliği olan; vida somunu, civata, vida, çivi gibi malzemelerin kaplanmalarında genellikle Cd kullanılmaktadır.

Kadmiyum ile diğer ağır metaller arasında karşılaştırma yapıldığı zaman suda çözünme özelliği en yüksek elementlerden biri olduğu görülmektedir (Draft, 2006). Kadmiyumun canlılar üzerindeki toksik etkilerinin mekanizması günümüzde hala tartışılmakta olup yoğun olarak araştırılmaktadır. Tarım sektöründe yaygın ve kontrolsüz sentetik gübre kullanımı ve bunun yanı sıra seracılıkla üretilen özellikle lifli sebze ve meyvelerin, kadmiyumla kirlenmiş topraklarda yetişen tahılların, sanayi ve diğer atıklarla kirlenen sularla beslenen su ürünlerinin, kadmiyumla kirlenmiş içme sularının, memeli hayvanların karaciğer, böbrek, akciğer gibi iç organlarının tüketimi, hava kirliliği, sigara kullanım düzeyi ve buna bağlı olarak yüksek oranda pasif içicilik göz önüne alındığında insan ve hayvanların hem gıdalarla hem de solunum yoluyla büyük ölçüde kadmiyum toksisitesi tehdidi altında olduğu açıktır (He ve ark., 2009; Burukoğlu ve Bayçu, 2008; Goyer, 1995; Taylor ve Ennever, 1993).

Kontamine besinlerin yanısıra sigara içimi Cd maruziyetinin potansiyel kaynağıdır. Sigara kullanımında karsinojen olan bu metale hem oral hem de solunum yoluyla maruziyet söz konusudur. Bir tek sigara 1-2 µg gibi düşük sayılabilecek düzeyde Cd içerse de, bu miktarın tekrarlayan dozlarıyla, maruz kalınan Cd'un birikimi toksik etkilere neden olabilecek düzeye ulaşabilmektedir (Baker ve ark., 2005).

Kadmiyum toprakta hareketli bir element olduğu için bitkiler tarafından kolaylıkla alınabilmektedir. Bitkiler tarafından alınmasıyla besin zincirine giren kadmiyum, insan ve hayvan organizmasına taşınır. Toprakta yıkanarak yer altı kaynaklarına ulaşmasıyla da önemli bir çevre sorunu oluşturmaktadır. Şelatlayıcı ajanlar Cd'un topraktan aşağı taşınmasını hızlandırarak, içme ve sulama sularında kirliliğe neden olmaktadır (Köleli ve Kantar, 2005). Cd'un et, balık ve meyvelerde 1-50µg/kg, tahıllarda ise yaklaşık 150 µg/kg kadar bulunduğu, midye, istiridye gibi kabuklu deniz hayvanlarında 100-1000 µg/kg'a kadar tesbit edildiği bildirilmektedir (Kirkham, 2006; Goyer ve Clarkson, 2001).

2.1.3. Kadmiyumun Metabolizması ve Fizyolojik Etkileri

Kadmiyumun vücuda alınımı sıklıkla oral ve solunum yoluyla olmaktadır. Deri yoluyla alınımı ise nispeten daha azdır. Kadmiyumun yüksek oranda suda çözünen başlıca formu olan kadmiyum klorür ($CdCl_2$)'ün ağızdan ve sindirim sisteminde emilimi oldukça yüksektir. Solunum yoluyla sıklıkla maruz kalınan şekli ise kadmiyum oksit (CdO) dir. Kadmiyumun kontaminasyon şekline göre değişiklik gösterebilir solunum yolu ile alınan miktarının, oral alım miktarından fazla olabileceği ve Cd'un solunum yolu ile emiliminin, mide-bağırsak kanalındaki emiliminden daha fazla olduğu bildirilmektedir (Zalups ve Ahmad, 2003; Jumarie, 2002).

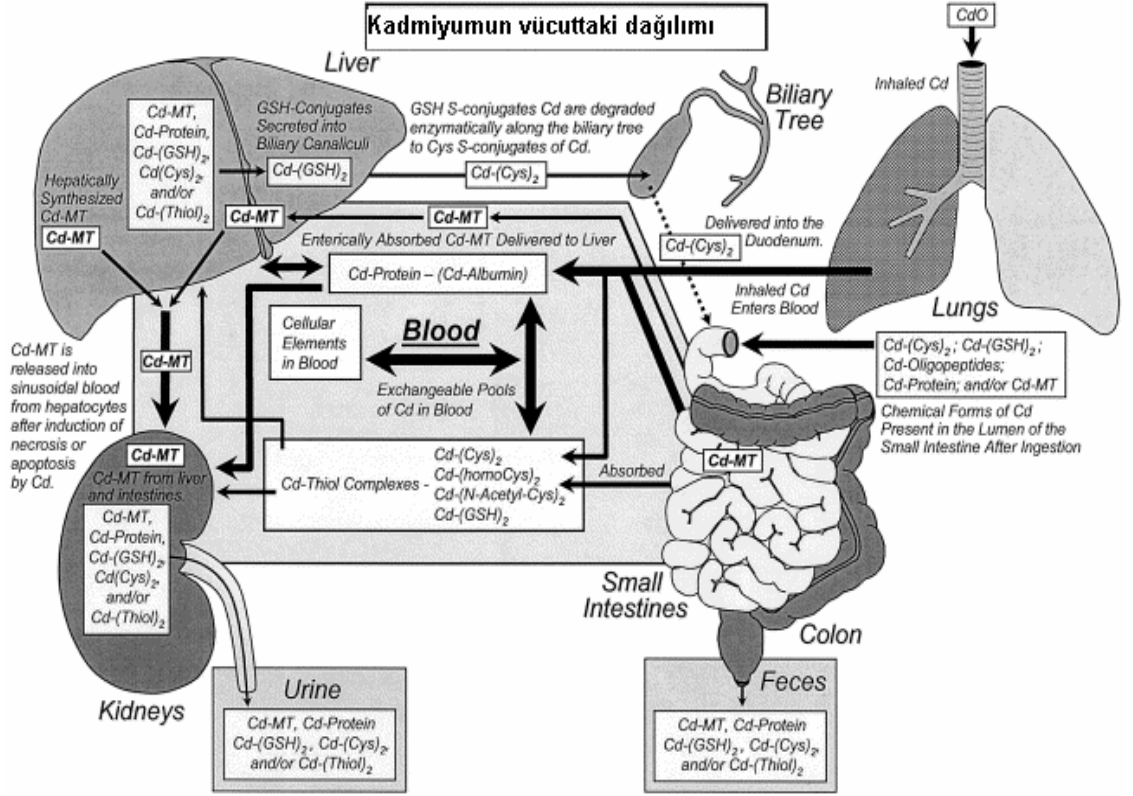
Oral alınan Cd'un sindirim sisteminden emilimi düşük olup % 5-8 oranındadır. Cd emilim yerleri esas olarak ince bağırsakların villus hücreleri ve onikiparmak bağırsağıdır. Kadmiyumun bağırsak lumeninden eritrositler içine geçisi,

luminal plazma membranına kadmiyumun bağlanması yada aktif taşıma ile luminal plazma membranından eritrositler içine geçmesi şeklindedir. Alyuvar hücrelerine kadmiyum geçişinde özel taşıyıcı proteinler önemli rol oynamaktadır. Sistemik dolaşımdaki serbest kadmiyum oranının düşük olması sistemik dolaşıma geçtikten sonra yüksek oranda eritrositlerde birikiyor olmasıdır (Bergeron ve Jumarie, 2006; Zalups ve Ahmad, 2003).

İnhalasyon yolu ile alınması durumunda emilim oranı sindirim sistemi ile emilimine göre oldukça yüksektir ve bu oran % 40'a kadar çıkmaktadır (Cannino ve ark., 2009). Çapları 2–3 µm'den daha az olan kadmiyum molekülleri alveollere geçebilmektedir, daha büyük olanlarının ise nazofarengal bölgede biriktiği görülmektedir. Sigarayla vücuda alınan Cd'un yaklaşık % 30-40'ı sistemik kan dolaşımına geçerken % 10'u akciğerlerde depolandığı bildirilmektedir (Baker ve ark., 2005; Jumarie, 2002).

Kadmiyum vücuda alındıktan sonra absorbe olmasıyla birlikte kan hücrelerine ve albümine bağlanarak taşınır. Hücre içerisine ise membranda bulunan taşıyıcı proteinlerle alınır. Cd hücre içine alınırken taşıyıcı proteinlere bağlanması sırasında kalsiyum, çinko, demir ve bakır gibi esansiyel elementlerle aynı mekanizmayla alındığından bu elementlerle bir yarış içerisinde olmaktadır. Bu elementlerden yoksun ve düşük miktarda protein içeren diyetlerle beslenilmesi sonucu Cd emilimi artmaktadır (Vahter ve ark., 2002; Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001).

Kadmiyum kanda Metallothionein (MT), albumin yada tiyol grupları olan proteinlerle taşınmaktadır. Son zamanlarda, Cd iyonunu bağlayan MT, albumin ya da diğer proteinlerin, Cd'la konjüгат oluşturdukları zaman emici veya reseptör aracılı endositoz taşıyıcısının substratı gibi davrandığı da düşünülmektedir (Zalups ve Ahmad, 2003). Molekül ağırlığı yaklaşık 6000 kDa olan MT, molekül ağırlığı düşük bir protein olmasına karşın kadmiyum metabolizmasında anahtar rol oynamaktadır (Xu ve ark., 2005). Yapılan hayvan çalışmaları ve in vitro çalışmalarda, MT'in kadmiyum toksisitesine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Park ve ark., 2001; Bobillier ve ark., 2006).



Şekil 2.1. Kadmiyumun vücuttaki dağılımı (Zalups ve Ahmad, 2003).

JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) ve WHO (World Health Organisation), böbreğin renal korteksinde biriken Cd'un, Cd'a maruz kalan toplam popülasyonun %10'unda renal fonksiyon kaybına neden olduğunu rapor etmişlerdir (Jarup, 2002). Kan ve karaciğerden süzülen Cd'un % 70'i böbreklerin proksimal tübülleri tarafından alınır ve böbreklerin hasar görmesiyle kandan asitleri uzaklaştırma fonksiyonları yok edilmiş olur. Böbrek korteksinde Cd birikimi sonucunda ilk olarak Na⁺ glikoz ve Na⁺ aminoasit taşıyıcı proteinleri baskılanırken, ikincil olarak bazolateral Na⁺ K⁺ ATPaz aktivitesinin azalmasına neden olarak, glikoz ve aminoasitlerin proksimal tübül hücrelerinin luminal kısmından geri emilimini azaltır. Böylece geri dönüşümsüz olarak fosfat seviyelerinde düşmeye yol açar. Böbreklerdeki fonksiyon bozukluğu, kanda yüksek asit birikimi sonucu eklemlerde ürik asit kristallerinin birikmesine ve eklem iltihaplanmalarının bir şekli olan gut hastalığına sebep olmaktadır. Bir diğer etki ise kanda klorid seviyelerinin düşmesiyle böbreklerde %30 oranında bir küçülmeye sebep olmasıdır (Tsuruoka ve

ark., 2000; Göktaş 2007). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmada, diyetle Cd maruziyeti sonucu ortaya çıkan renal fonksiyon bozukluklarının renal kortekste biriken Cd oranı ile uyumlu olarak artış gösterdiği (Satoh ve ark., 2002), kadmiyum toksisitesinin proksimal tübülüs hücrelerinde apoptoza yol açtığı (Suzuki, 1980) ve Cd'un önemli nefrotoksik etkilerinden birisinin de, tübüler hücre nekrozu ve inflamasyonu sonucu intersitisyel fibrozise neden olduğu bildirilmiştir (Fang ve ark., 2002).

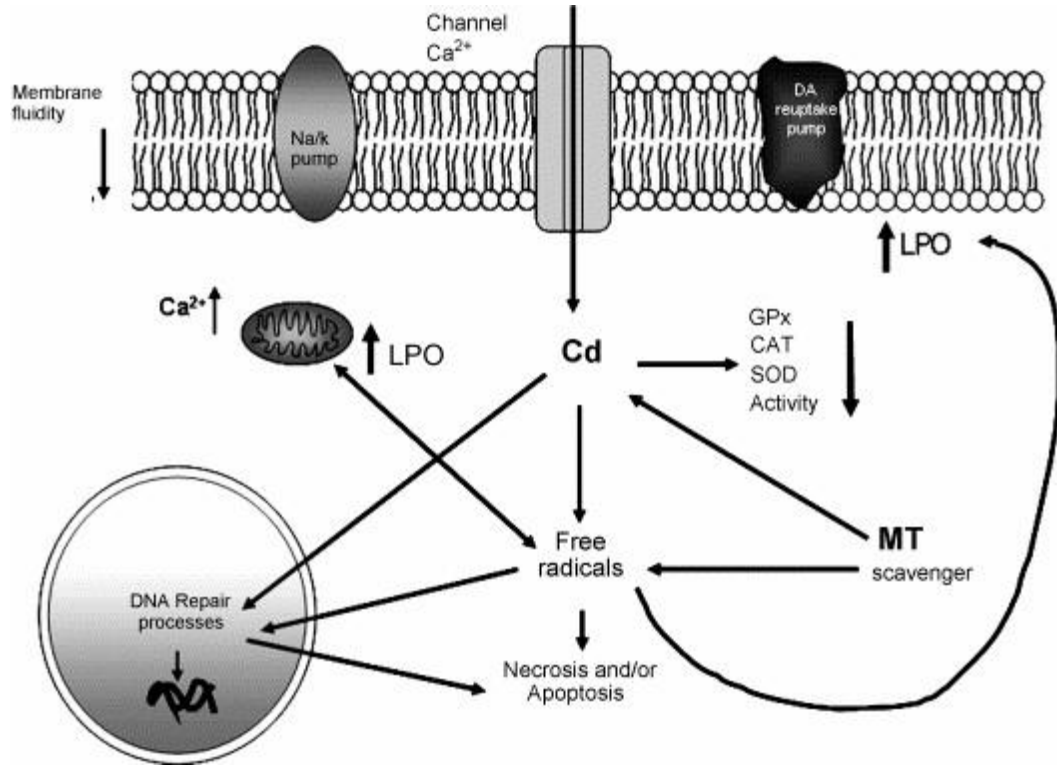
Kronik Cd maruziyeti sonucu işçilerde, koku duyusunda kayıp, baş ağrısı ve vertigo gibi semptomlar, hayvan çalışmalarında ise nörokimyasal ve davranışsal bozuklukların belirdiği gözlenmiştir (Antonio ve ark., 1999). Cd'un beyin hücrelerinde reaktif oksijen türlerine aşırı ilgi gösterdiği fakat kan-beyin bariyerinin koruyucu özelliği nedeniyle beyin parankimasını kolaylıkla geçemediği, kronik Cd maruziyeti sonucu kan-beyin bariyeri geçirgenliğinin artması sonucu Cd'un beyin dokusunda biriktiği belirtilmiştir (Shukla ve ark., 1996). Cd antioksidan enzimleri baskı altına alarak, serbest radikal üretiminin artmasına neden olabilir, serbest radikallere karşı oldukça hassas bir organ olan beyinin parietal korteks, striatum ve serebellum gibi bölgelerinde lipid peroksidasyonuna yol açtığı belirlenmiştir (Mendez-Armenta ve ark., 2003).

Kadmiyum maruziyetinde bir diğer hedef organ ise karaciğer ve parankimasıdır. Bunun nedeni tiyol gruplarınca zengin ve düşük molekül ağırlıklı metal bağlama özelliğine sahip olan metallothionein (MT) proteinlerinin sentezinin karaciğerde olmasıdır (Coyle ve ark., 2000). Cd maruziyetinin karaciğerde oluşturduğu zararın erken bulgularından biri de, mitokondriyal fonksiyonun bozulmasıdır (Sultan ve ark., 1998). Cd'un mitokondri üzerine toksik etkisi, mitokondriyal iç zarın geçirgenliğini artırmasının yanı sıra, kadmiyumun karaciğer hücrelerindeki glutatyon miktarı ve glutatyon peroksidaz aktivitesini azaltmasına bağlı olarak şekillenmektedir. Cd, hücre lizozomları içinde birikmesi sonucu lizozomal zarın bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır. Lizozomal proteazların ve fosfolipazların salınması, hepatosit sitotoksitesine neden olan bir dizi olaylar zincirini başlatmaktadır. Kadmiyum karaciğerde, hücresel iletişimde

önemli rol oynayan hücreler arası sıkı bağlantıların bozulmasına sebep olduğuda söylenmektedir (Marselt ve ark., 1986; Yamano ve ark., 1998; Skowerski ve ark., 1997).

Uzun süren Cd maruziyetleri sonucu özellikle erkek ve dişi üreme sistemlerinde, yapısal ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelmektedir (Boscolo ve ark., 1985; Haffo ve Abou-Tarboush, 2004). Memeli testisleri Cd'a oldukça duyarlı olup, spermlerin motilitesinde ve spermatogenez indeksinde azalmaya neden olmaktadır (Bench ve ark., 1999; Shimada ve ark., 2002). Cd'un sebep olduğu testiküler nekroz sonucu kalıcı infertilite sorunları oluşabilmektedir. Kronik Cd uygulamasında, kadmiyumun sperm kromatinine katılmasıyla fertilitede azalmaya neden olduğu ileri sürülmüştür (Merian ve Weinheim, 1991).

Kadmiyumun neden olduğu serbest radikal oluşumu için dolaylı mekanizmalar öne sürülmektedir. Cd, metalloenzimlerdeki çinko, kalsiyum, bakır ve demir gibi elementlerin yerini alarak bu metallerin bağlı olmayan formlarının miktarını artırır; glutatyon gibi serbest radikal süpürücülerin tiyol gruplarına bağlanır, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin inhibe olmasını sağlar. Fenton metali olmamasına rağmen, süperoksit ve nitrik oksit'inde içinde bulunduğu birçok serbest radikalın üretimine neden olduğu ve böylece hücre membranındaki yapıların peroksidasyonuna, DNA hasarına ve protein oksidasyonlarına yol açtığı düşünülmekte ve ayrıca membran lipitlerinin oksidasyonu, membran yapısının polimerizasyonuna ve çapraz bağlarla bozulmasına neden olmaktadır. Mitokondri membranındaki hasar, kalsiyumun mitokondriden hücre içine kolay salıverilmesini sağlar. Bu da DNA hasarına, apoptoza ve nekroza yol açarak kaspaz-3 aktivasyonuna sebep olur (Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Waisberg ve ark., 2003; Bertin ve Averbek, 2006).



Şekil 2.2. Kadmiyumun neden olduğu oksidatif stres tablosu (Mendez-Armenta ve Rios, 2007).

2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller veya oksidanlar, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan, kısa ömürlü, reaktif atom, iyon veya moleküllerdir (Choi ve ark., 2004). Serbest radikallerdeki çiftlenmemiş elektronlar kararlı duruma geçmek ister ve kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür (Gökpınar ve ark., 2006). Bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olan oksijen; hidrojen, karbon, nitrojen ve kükürt ile birlikte organik moleküllerin temel yapı taşlarını oluşturur (Sun ve Hu, 2005). Ancak aerobik canlıların hücrelerinde gerçekleşen metabolik reaksiyonlar için gerekli olan oksijen, aynı zamanda vücut içinde reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olur. Reaktif oksijen türleri birçok normal biyolojik olaylarda önemlidir ve fizyolojik olarak üretilir. Örneğin organizmada en aktif radikal üreticiler fagositik hücrelerdir. Fakat

reaktif oksijen türlerinin artması hücrelerde strese yol açabilir (Dündar ve Aslan, 1999; Fang ve ark., 2002; Koca ve Karadeniz, 2003).

Bu durumda, oluşan reaktif moleküller membranı oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler, DNA, doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri gibi oksitlenebilen tüm hücre elemanlarında oluşturdukları reaksiyonlarla fonksiyonel ve yapısal bozulmalara yol açabilmektedir (Fernandes ve ark., 2004).

Son orbitalinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron taşıyan halojen atomlar (Cl ve Br), hidrojen atomu, sodyum, potasyum gibi alkali metal atomları ve oksijenin reaksiyon ara ürünleri süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^\cdot), peroksil (RO_2^\cdot) ve alkoksil (RO^\cdot) radikallerini içeren kısa ömürlü oksijen kaynaklı küçük moleküllerdir. Singlet oksijen (1O_2), ozon (O_3), hipoklorik asid ($HOCl$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi non-radikal türler okside edici ajanlar gibi rol oynayarak kolaylıkla radikallere dönüşebilirler (Wiseman ve Halliwell, 1996).

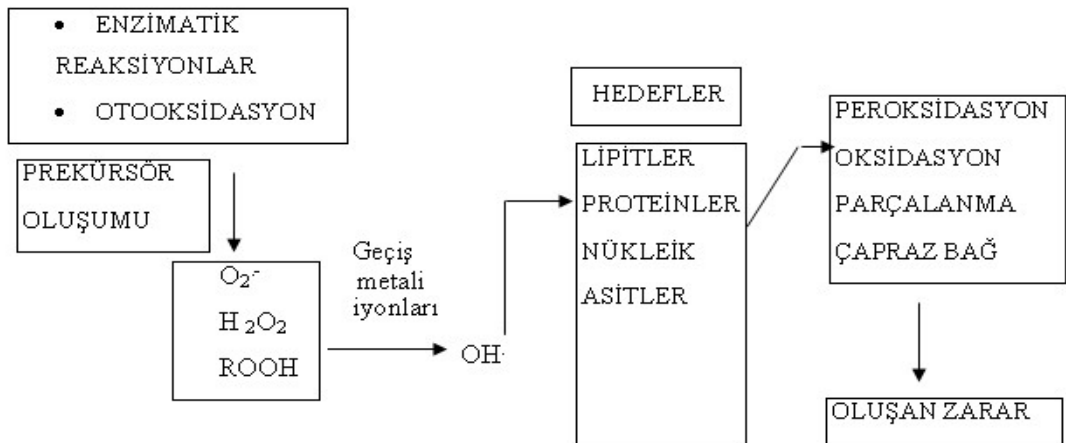
Tablo 2.1. Sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri (Dündar ve Aslan, 2000).

Radikal	Simge	Tanımlama
Hidrojen	H^\cdot	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	OH^\cdot	En toksik (reaktif) oksijen metaboliti radikal
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O_2^{\cdot}	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	HO_2^\cdot	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksitasyonunu artırır
Peroksil radikal	ROO^\cdot	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olur
Triklorometil	CCl_3	CCl_4 metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Thyl radikal	RS^\cdot	Sülfürlü ve çitlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	RO^\cdot	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Nitrojen oksit	NO	L-arjinin amino asitinden in vivo üretilir
Nitrojen dioksit	NO_2	NO 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Başta egzersiz olmak üzere, yiyeceklerde bulunan çeşitli katkı maddeleri, hiperoksi, hava kirliliği, anestezi maddeler, pestisitler, solventler, aromatik hidrokarbonlar, sigara dumanı, alkol ve uyuşturucu gibi maddelerin (Gilbert ve Colton, 2002; Choe ve Min, 2006), bununla birlikte stres durumunda vücuttaki katekolamin düzeyinin artması ile artan katekolamin oksidasyonu radikal türlerinin üretiminde artırır. İyonize ve non-iyonize radyasyon, metal iyonları, sisplatin, doksorubisin, metotreksat, bleomisin, siklosporin gibi antineoplastik ilaçlar ise canlı organizmada serbest radikal oluşturan eksojen kaynaklardır (Drisko ve ark., 2003 ; Von Sonntag, 2006).

2.2.1. Serbest Radikal Oluşumu

Serbest radikaller, aerobik metabolizma sırasında boyaların, plastik maddelerin işlenmesi ve organik maddelerin çürümesi gibi endüstriyel işlemler sırasında, oksijenin kısmi redüksiyonu ve oksijen türlerinin reaksiyonları ile oluşabilmektedir (Freeman ve Crapo, 1982; Cheeseman ve Slater, 1993). Şekil 2.3. Reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ilişkin radikal üretimini gösterilmektedir (Thomas, 1995). Serbest radikaller başlıca, moleküler oksijenin, normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi sırasında açığa çıktığında görülmektedir (Pal Yu, 1994). Bu radikaller kopma ve yapışma reaksiyonları ile yeni radikallerin üretilmesine yol açmaktadır, yeni radikallerin açığa çıkarıldığı reaksiyon basamakları, serbest radikal zincir reaksiyonları olarak adlandırılır (Thomas, 1995).



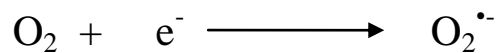
Şekil 2.3. Radikal üretimi, hedef yapılar ve riskler (Thomas, 1995).

Normal metabolizma dışında iyonize edici radyasyon, fotokimyasal hava kirleri, iskemi, hipoksi, intoksikasyon, inflamasyon, ısı, yoğun egzersiz, travma gibi durumlar radikal oluşumunda etkili faktörler olarak bildirilmektedir (Freeman ve Crapo, 1982; Halliwell ve ark., 1995). Oksijeni, klinik uygulamalarda kullanılan bir çok kemoterapötik, özellikle antineoplastik maddeler, anestetik maddeler, pestisitler, geçiş metallerine affinitesi bulunan antibiyotikler, çözücü gibi kimyasallar, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerine dönüştürerek radikal üretimine katkıda bulunurlar. Halojenli hidrokarbon metabolizmasının ürünü olarak oluşan radikal reaksiyonlarında sürekli olarak süperoksit anyonu oluşumuna sebep oldukları belirtilmiştir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Cheeseman ve Slater, 1993; Pal Yu, 1994).

2.2.2. Serbest Radikal Kaynakları

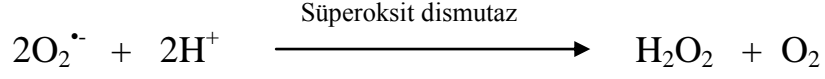
Oksijenin suya indirgenmesi ve mitokondriyal solunum esnasında tekli elektron transferi ile oksijenden süperoksit üretimi ile başlayan olaylar dizisi sonucu serbest radikaller meydana gelir ve hidroksil serbest radikallerinin başlıca kaynağıdır. Reaktif oksijen moleküllerinden hidroperoksit (HO_2^-), süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^\cdot) gibi radikaller önemli bir grubu oluşturur.

Süperoksit (O_2^-) radikalleri hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşurlar, süperoksit dismutaz adı verilen bir enzimle inaktive edilirler. Fagositlerin bakterisit etkilerinin temel mekanizmasıdır. Moleküler oksijenin (O_2) mitokondriyal elektron transport sisteminde bir elektron alması sonucunda oluşur.

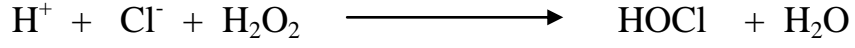


Hidrojen peroksit (H_2O_2) eşleşmemiş elektrona sahip olmadığı için nonradikal özelliğe sahip bir reaktif oksijen türüdür. Ancak demir ve bakır gibi

atomlarla tepkimeye girerek çok güçlü bir reaktif olan hidroksil radikalini (OH[•]) oluşturur. Hidrojen peroksit kolayca hücre içerisine girebilir ve hem gruplarında Fe⁺⁺'in yapısına girerek bunları güçlü oksitleyici durumlarına getirebilmektedir.

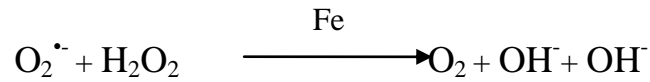


Ayrıca hidrojen peroksit reaktif bir ürün olan hipoklorik asiti (HOCl) oluşturmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

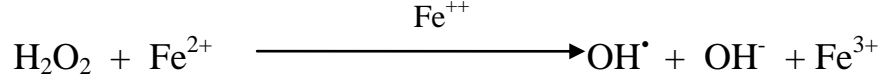


Hidroksil (OH[•]) radikali; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllere çok güçlü bir şekilde saldırarak oksitleyip yapılarında kalıcı hasarlar bırakan ve yarı ömrü 10⁻⁹ saniye gibi çok kısa olan bir reaktif oksijen türüdür. Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin indirgenmesi sonucunda açığa çıkar. Demir iyonları katalizörlüğünde “Fenton tepkimesi” gerçekleşir ve reaksiyon yaklaşık 4000 kez hızlanır (Fantal, 1996; Halliwell ve ark., 2000; Nordberg ve Arner, 2001).

Fenton reaksiyonu veya Haber-Weis reaksiyonu ile çok toksik ve çok reaktif olan hidroksil radikaller salınabilir. Haber-Weis reaksiyonunda süperoksit anyonu ile hidrojen peroksit, demirle katalizlenerek direkt reaksiyona girer, fakat birçok fizyolojik durumda bu reaksiyon çok yavaş gerçekleşir (Kılınç, 1985; Ambrosio ve ark., 1987; Reilly ve ark., 1991; Powell ve Tortolani, 1992).

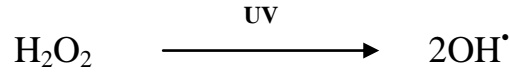


Hidrojen peroksitin intrasellüler konsantrasyonu yeterli olduğu zaman Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikali meydana gelir.

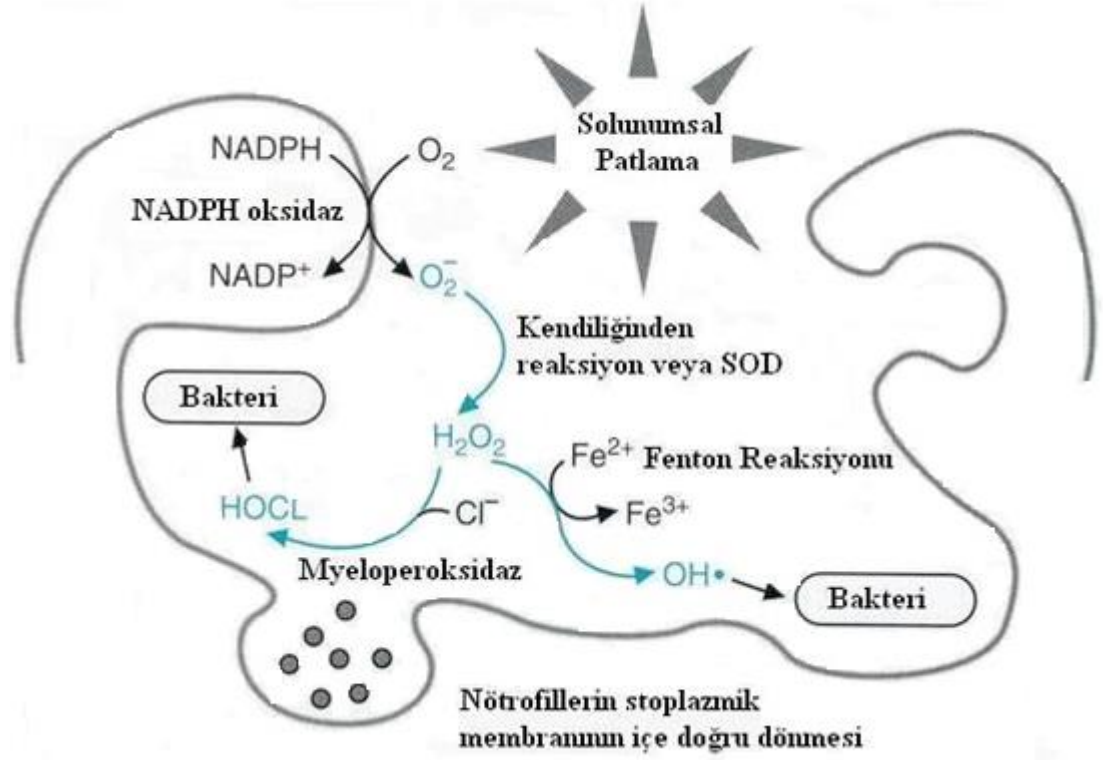


Ferritine bağlı demir 3 (Fe^{+3}), süperoksit radikali varlığında demir 2 (Fe^{+2}) olarak salınır. Birçok doku yaralanması modelinde, süperoksit radikali yada hidrojen peroksitten daha çok hidroksil radikalleri bu sekonder salınımında sorumlu tutulur (Kılınç, 1985; Reilly ve ark., 1991).

Ayrıca hidrojen peroksitin UV ışınlarının etkisiyle hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir.



Hipoklorik asidi (HOCl), aktive nötrofillerden üretilen güçlü bir oksidandır. Fagositler membran NADPH oksidaz sistemi ile O_2^- radikalini oluşturur. Oluşan radikal hızla dismutasyona uğrar ve H_2O_2 meydana gelir. HOCl ise, oksidan bir molekül olup protein oksidasyonuna yol açabilir veya O_2^- radikali veya demir tuzları ile reaksiyona girerek OH^\bullet grubunu oluşturur (İnan ve Gül, 2001; Koca ve Karadeniz, 2003). Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerde fagositoz sırasında da bazı serbest radikaller oluşur (Babior, 2000; Altınışık, 2006).



Şekil 2.4. Aktive olmuş nötrofillerde fagositik patlama sonucu radikal oluşumu (Altınışık, 2006).

Nitrik oksidin kendisi zayıf bir indirgeyici ajan olmasına karşın, endojen serbest radikaller ile birleşerek peroksit radikalini meydana getirir. Bu güçlü bir oksidan olup kolaylıkla hidroksil radikalini oluşturabilir (İnan ve Gül, 2001). Mitokondride oksijenin suya indirgenmesi sırasında iç membranda lokalize elektrontransport zincirinde O_2^- radikali oluşur (İnan ve Gül, 2001; Yerer, 2006). Peroksizomal metabolizmanın artışı ile peroksidaz ve oksidaz gibi enzimlerin aktiviteleride Reaktif Oksijen Türlerin (ROT) oluşumuna yol açar ve güçlü bir H_2O_2 kaynağıdır (Bohr, 2002).

2.2.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikal aracılığı ile gelişen hücre zedelenmesi özellikle üç reaksiyon ile şekillenmektedir.

Membranların ve lipidlerin peroksidasyonunda; otooksidasyon ürünlerinden lipid-hidroperoksitler O_2^- iyonu atakları yada lipoksigenaz aktivitesi ile bir kaç mekanizma parçalayarak yeni radikaller üretmeye başlar (Dündar ve Aslan, 2000). Lipid hidroperoksitler doğrudan DNA (deoksiribonükleik asit) zincirini kırabilir ve lipid peroksil ve alkoksil radikalleri DNA'da oksidasyona neden olabilir. Okzoaldehidler DNA, RNA (ribonükleik asit) ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar yapabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Bu nedenle, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Yılmaz ve Ozan, 2003).

Proteinlerin çapraz bağlanması ve protein oksidasyonunda; serbest radikaller sülfidril aracılı protein çapraz bağları oluşturarak parçalanmanın artmasına veya enzimatik aktivitenin kaybına neden olur. Serbest radikal reaksiyonları direkt olarak polipeptit parçalanmasına da yol açabilir (Kumar ve ark., 2000). Doymamış ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallere karşı duyarlılığı en fazla olduğundan: sistin, sistein, histidin, metiyonin, triptofan ve trozin içeren proteinler oksidasyona karşı en duyarlı olanlardır (Stadman ve Levine, 2000).

DNA lezyonları ve oksidasyonunda; timin ve sitozinle serbest radikal reaksiyonları nükleer ve mitokondrial DNA'da tek iplik kırılmaları oluşturur. DNA hasarı hem hücre ölümü, hem de hücrelerin malign değişiminde rol alır (Kumar ve ark., 2000).

2.3. Antioksidan Savunma Sistemi ve Antioksidanlar

Organizmanın; ürettiği serbest radikallere karşı ve normal oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı kendini koruması için sahip olduğu hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim (enzim olmayan) savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi denilmektedir (Fridovich, 1976). Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücre yapısına saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sistemi tarafından gerçekleşir (Byung, 1994). Reaktif oksijen ortamlar ve oksijen metabolizması ürünleri olarak üretilen reaktif oksijen türleri, selüler homeostasis için başlıca tehdit olarak sayılabilir. Bu

reaktif ürünler hücre için olmazsa olmaz temel fizyolojik olaylar ve metabolik işlemler sırasında üretilmektedir (Sinclair ve ark., 1980). Serbest radikal üretimindeki artış, hücresel komponentler ve fonksiyonlarca toksik etkili görülmektedir. Antioksidan sistemi oluşturan maddelerin görevi bu toksik etkilere karşı organizmayı ve reaktif moleküllerin oksidatif yıpratıcılığına karşı hücresel homeostazisi korumaktır (Pal Yu, 1994; Halliwell ve ark., 1995). Koruma işlemi; toksik etkili oksidan metabolit üretiminin engellenmesi, sekonder oksidan üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması, ortamdaki radikallerin temizlenmesi, endojen antioksidan kapasitenin artırılması ve inflamatuvar mediatörlerin blokajı gibi yollarla oluşturulmaktadır (Sinclair ve ark., 1980; Hollan, 1995).

Antoksidanların Sınıflandırması

Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre sınıflandırılabilir (Baykal, 1998).

1. Yapılarına göre:

- a. Enzimsel
- b. Enzim olmayan proteinler

2. Kaynaklarına göre:

- a. Organizmaya ait olanlar (Endojen) (SOD, Katalaz, α tokoferol)
- b. Dışardan alınanlar (Ekzojen) (Adenozin, Allopurinol, Glutasyon)

3. Çözünürlüklerine göre:

- a. Suda çözünenler (Glutasyon, Vit C, Ürik asit, Glukoz, Sistein)
- b. Lipitlerde çözünenler (Vit E, β -karoten, Bilirubin, Flavonidler)

4. Yerleşimlerine göre:

- a. İntraselüler olanlar (SOD, Katalaz, Glutasyon peroksidaz)
- b. Ekstraselüler olanlar (Askorbik asit, Transferin, Albumin)

Antioksidanlar vücutta sentezlenebildiği gibi diyet ile dışarıdan da alınabilirler. Canlılarda antioksidan savunma sistemi iki ana grup madde ile gerçekleştirilir. Bunlar; metabolizmada üretilen (endojen) ve dışarıdan diyet ile alınan (ekzojen) antioksidan sistemleridir (Gülçin, 2009).

Tablo 2.2. Bilinen Endojen Antioksidanlar ve Etkinlikleri (Pal Yu, 1994; Byung, 1994; Karlsson ve ark., 1997)

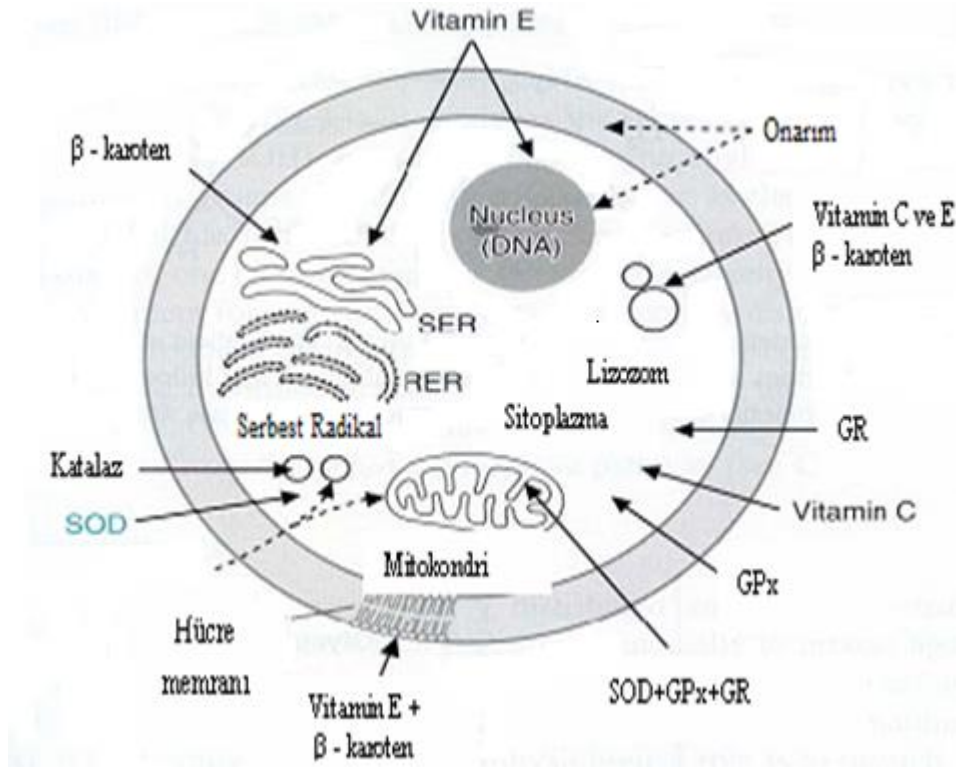
Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	İşlevi
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksid nötralizanı
SOD	Cu Zn, Mn SOD	Mitokondri, serum	Süperoksidi H ₂ O ₂ 'e çevirir
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı
GSH-Px	Selenoprotein	Sitosol, mitokondri	LP ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfitleri indirger
α -tokoferol	Yağda çözünen vit.	Membranlar, eksensel ortama	Peroksidasyonu azaltır
B-karoten	Vit A prekursoru	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptid	İntraselüler ortam, alveoller	GSH redoks substratı
Askorbik asit	Suda çözünen vit.	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder
Ürik asit	Okside purin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, vit C korur
Sistein	Aminoasit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikalleri giderir
Bilirubin	Hemoprotein ürünü	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksidi H ₂ O ₂ 'e çevirir
Transferin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolasım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı

Tablo 2.3. Başlıca Eksojen Antioksidanlar ve Özellikleri (Pal Yu, 1994; Clarkson, 1995)

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz İnhibitörleri	Allopurinol	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Oksipurinol	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Pterin aldehit	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Tungsten	Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
Proteaz İnhibitörleri	Soya tripsin inhibitörü	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Serin proteaz inhibitörleri	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Fenilmetilsülfonil (PMSF)	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
NADPH oksidaz İnhibitörleri	Adenozin	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Lokal anestetikler	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Kalsiyum kanal blokerleri	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Nonsteroid Antinflamatuarlar	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Cetiedil	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
Katalazlar	Doğal katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi ve nötralizasyonu
	PEG-katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi ve nötralizasyonu
	Lipzom kapsüllü katalaz	H ₂ O ₂ 'ni O ₂ ve H ₂ O'ya çevirir
Nonenzimatik toplayıcılar	Mannitol	Hidroksil radikal giderici
	Albumin	Geniş çaplı oksidan toplayıcı
	Dimetil sulfoksit	Fe, süperoksit, hidroksil toplayıcı
	17-aminosteroid lazaroidler	H ₂ O ₂ ve hidroksil giderici
	Glutatyon	Süperoksit giderici
	Ürik asit	Süperoksit ve hidroksil giderici
	Spin tuzakları	Tüm radikalleri toplar
	Bilirubin	Peroksidasyon zincirini bozar
Demir redoks zinciri inhibitörleri	Deferoksamin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
	Apotransferrin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
	Seruloplazmin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
Endojen Savunmayı artıran ajanlar	Antinötrofil serumu	Hücrel glutatyon peroksidaz enzim aktivitesini artırır
	Monoklonal antibodiler	Nötrofillerin endotele adezyonu inhibe eder
	Platelet aktive edici faktör	Nötrofillerin endotele adezyonu inhibe eder

Bir antioksidanın faydalı olma potansiyeli değerlendirilirken şu özellikleri göz önüne alınır:

1. Emilimi ve vücut tarafından kullanılabilirliği
2. Etkin dozu, güvenliği ve toksisitesi
3. Hücrelere, dokulara ve ekstraselüler sıvılara dağılımı
4. Serbest radikallerin oluşumunu engelleyebilme yeteneği
5. Reaktif metabolitleri toplayabilme
6. Oluşan oksidatif hasarı onarabilme
7. Metal bağlama aktivitesi
8. Gen ekspresyonuna etkisi
9. Hüresel antioksidanlarla ve antioksidan enzimlerle olan ilişkisi
10. Kanserojen metabolitleri detoksifiye etme yeteneği (Bagchi ve ark., 2000).



Şekil 2.5. Hücrenin Antioksidan Savunma Mekanizması

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanların zararlarını önlerler (Wang ve ark., 2006).

1. Temizleme etkisi: Enzimler tarafından oksidan molekülleri zayıf hale getirilmesi ve oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alıp lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilmeleri. Örneğin; Süperoksit Dismutaz(SOD) enzimi oldukça zararlı olan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikalini katalitik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürerek uzaklaştırmak ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek etkisini gösteren bir enzimdir.

2. Baskılama etkisi: Oksidanlara bir hidrojen molekülü verilerek hidroksil radikali yapısında yer alan hidrojen atomları ile bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyip peroksidasyonun başlamasını önlemeleridir. Fitokimyasalların(FK) dominant etki tarzıdır. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.

3. Onarma etkisi: Serbest radikallerin oluşturduğu hasarları onarabilmeleridir.

4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen bu etki hemoglobin, seruplazmin ve E vitamini tarafında yapılır. Fitokimyasalların ikinci önemli antioksidan etki tipidir. Zincir kırıcı antioksidanlar arasında fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olan α - tokoferoller yer almaktadır.

2.3.1. Antioksidan Fitokimyasallar

Bitkilerin kendilerine özgü renk, koku ve tatların oluşmasında biyolojik aktif maddeler olan fitokimyasallar etkili bir role sahiptir (Balch, 1997). Yıllardır sürdürülmekte olan çalışmalar sonunda bitkilerdeki bu maddelerden kimileri saflaştırılabilmiş, böylece fitokimyasalların saf elde edilerek kullanılabilmesi tartışmaya açılmıştır. Artık brokoli, domates gibi bazı sebze ve meyvelerin içerdiği Fitokimyasallardan oluşan konsantre preparatlar günlük kullanıma sunulmuş bulunmaktadır (Fahey ve ark., 1997). Bu gelişmeler, önümüzdeki yıllarda fitokimyasal destek ürünlerinin yaygınlaşabileceğinin göstergesi sayılmaktadır.

Doğal antioksidanlar, endojen (organizma tarafından sentezlenen) ya da ekzojen (dışarıdan besinlerle alınan) yapılardır. Fakat organizmanın doğal antioksidan üretimi yaş ilerledikçe azalmaktadır. Uzmanlar oluşan bu açığın kapatılabilmesi için bitkisel antioksidanların (fitokimyasallar) iyi bir alternatif olduğunu düşünmektedir (Taner, 2005). En önemli kaynağı meyve sebzeler olan fitokimyasallar anormal hücre çoğalmalarını engelleyen ve oksidasyon nedeniyle zarar gören hücreleri koruyan bir görev üstlenirler (Brown, 1999). Sayıları oldukça fazla bitkisel kimyasallar yaşamımızda yer almaktadır. Yoğun olarak likopen kaynağı olmasına rağmen sadece domateste 10 bini aşkın fitokimyasal maddenin bulunduğu bildirilmektedir (Balch ve Balch, 1997). Bu durum göz önüne alındığında çeşitli fitokimyasalların hem listelenmesi hemde rakamlarla ifadesi güçleşmektedir. Etkinlikleri büyük oranda belirlenmiş ve kullanımı global olarak yaygınlaşmış kimi sebze ve meyvelerde bulunan ve gıda yoluyla en çok alınan fitokimyasal gruplardan bir tanesinde polifenollerdir (Scalbert ve ark., 2005).

2.3.2. Polifenoller

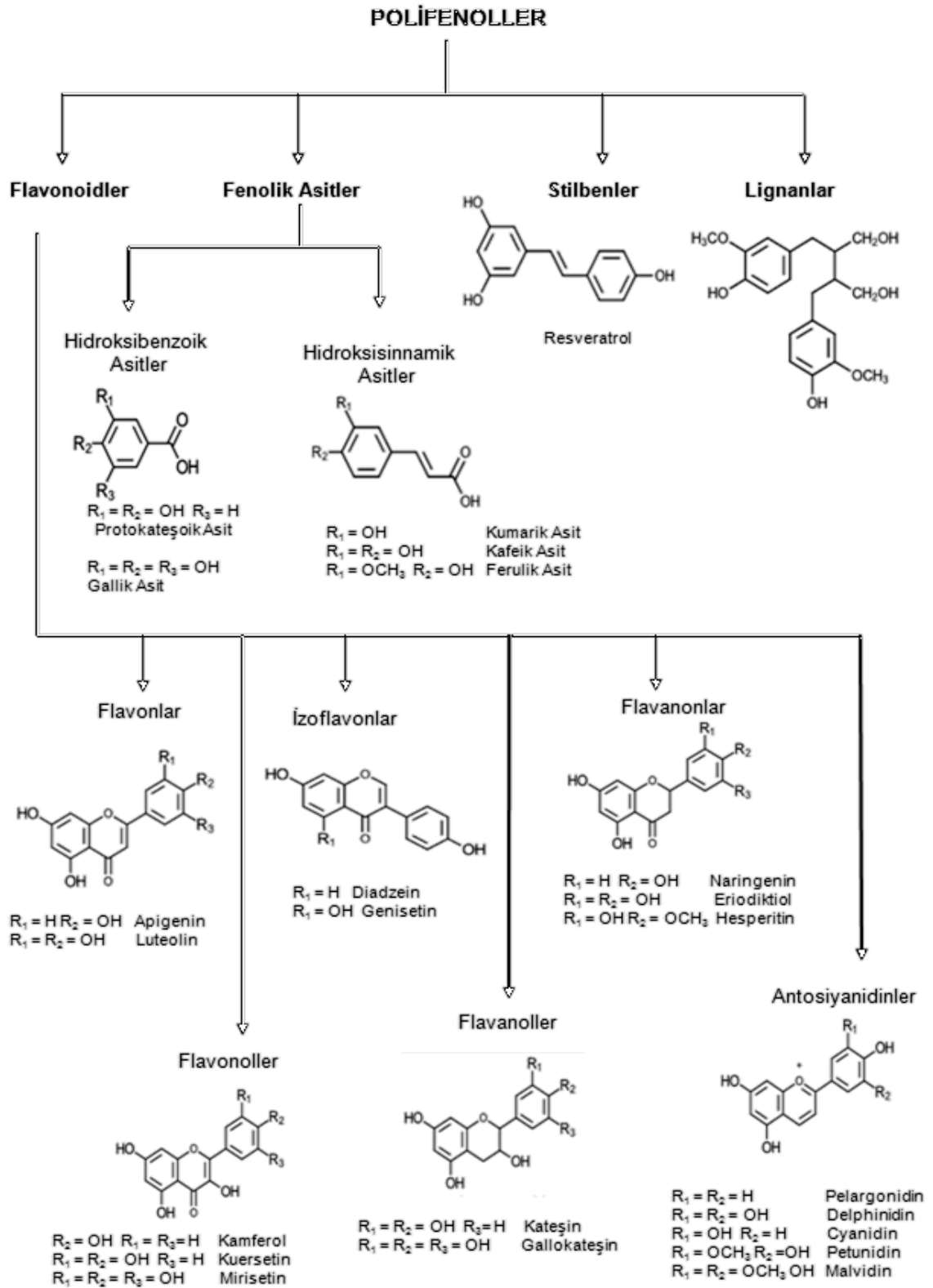
Polifenoller doğal olarak 8000'den fazla çeşidiyle büyük ölçüde meyve, sebze, tahıl ve içeceklerde az veya çok miktarda bulunmaktadır. Fakat polifenoller bakımından meyveler sebzelere göre daha zengindirler. Üzüm, elma, armut, kiraz ve çilek gibi meyvelerin 100 gramında 200-300 mg'a kadar polifenol içerir. Bu meyvelerden elde edilen ürünler de önemli miktarda polifenol içermektedirler. Genellikle bir fincan çay veya kahve yaklaşık olarak 100 mg polifenol içerir. Polifenoller bitkilerin sekonder metabolitleri olup genellikle ultraviyole radyasyona veya patojenlere karşı savunucu rol oynamaktadırlar (Cemeroğlu ve Acar, 1986; Bravo, 1998; Pandey ve Rizvi, 2009).

Polifenollerin bir kısmı ürünlerin lezzetli olmasında ya da ağızda buruk bir tat bırakmasında etkilidir. Diğer taraftan polifenollerin bir kısmı renkli olduklarından, meyve ve sebzelerin renklerinin oluşumu üzerinde etkilidirler. Ayrıca bunlara ek olarak polifenoller, fenol oksidaz enzimleriyle enzimatik renk esmerleşmesine neden olan önemli bir madde grubudur (Cemeroğlu ve Acar, 1986). Polifenollerin

antioksidan etkinlikleri serbest radikalleri bağlayabilme kapasitesi veya demiri indirgeme gücüne dayanmaktadır (Yoshino ve Murakami, 1998; Pulido ve ark, 2000). Polifenoller olarak isimlendirilen antioksidan fitokimyasallar en zengin biyoaktif bileşikler olup bu bileşiklerin diyetdeki günlük 1 gr'ının tüketimi, Vitamin C tüketimine göre 10 kat daha değerlidir (Scalbert ve ark, 2005). Bu nedenle polifenoller güçlü antioksidanlar olarak kabul edilmiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda araştırmacılar ve gıda üreticileri polifenollerle giderek daha fazla ilgilenmeye başlamışlardır. Bu ilginin başlıca nedeni, besinlerde bol miktarda bulunmasının yanı sıra kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi oksidatif stres ile ilişkili çeşitli hastalıkların önlenmesinde, polifenollerin antioksidan özelliklerinin anlaşılmasıdır. (Manach ve ark., 2004). Polifenollerin metabolizmasından sorumlu temel organ karaciğer olmakla birlikte, polifenol metabolizmasından sorumlu enzimleri içermeleri nedeniyle böbreklerin veya bağırsak mukozasının da bu olayda rol aldığı düşünülmektedir (Bravo, 1998). Polifenollerin alt gastrointestinal sistemdeki lokal aktiviteleri önemlidir, çünkü bağırsaklar okside edici ajanlara maruz kalması sonucu inflamasyon ve kanser gibi pek çok hastalığa sebep olabilir (Halliwell ve ark 2000). Polifenollerin fare ve sıçanların beyin, endotel hücresi, kalp, böbrek, dalak, pankreas, prostat, uterus, ovaryum, meme bezleri, testis, mesane, kemik ve deri gibi pek çok dokusunda bulunduğu HPLC ile belirlenmiştir (Manach ve ark 2004). Polifenollerin in vivo şartlarda endotelial fonksiyonu artırıcı (Caton ve ark, 2010), hücreler arası sinyal iletimine katkı sağlayıcı ve iltihap önleyici özellikleri gibi çok daha önemli etkilerinin olabileceği ortaya konulmuştur (Williams ve ark, 2004; Sies ve ark, 2005; Ramos, 2008). Fenolik bileşiklere, beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkileri nedeniyle biyoflavonoid, kılcal dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleme ve kan basıncı düşürücü etkisi göz önüne alınarak P faktörü (Permeabilite Faktörü) veya P vitamini adıda verilmektedir (Anonim, 2006).

Polifenoller yapılarında bulunan fenol halkalarının yapısal elemanlarına ve birbirlerine bağlanma şekillerine göre farklı gruplarda sınıflandırılabilirler. Bunlar; fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve lignanlar. (Manach ve ark., 2004)

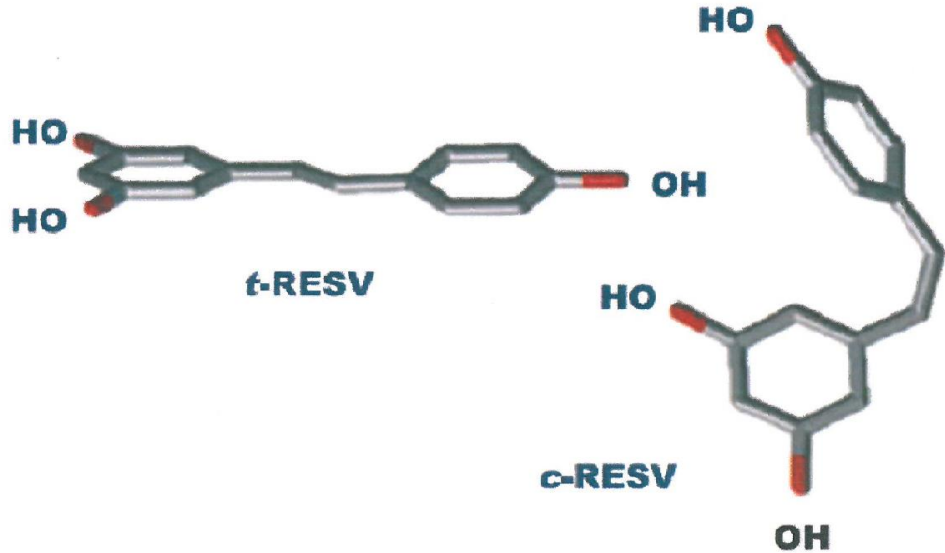


Şekil 2.6. Polifenollerin sınıflandırılması.

Polifenollerin stilbenler grubunda yer alan ve içeriğinde resveratrol aktif bileşeni bulunan, günlük yaşamımızda çok sık kullandığımız önemli fitokimyasallardan iki tanesi üzüm çekirdeği ekstraktı ve polydatindir.

2.3.3. Resveratrol

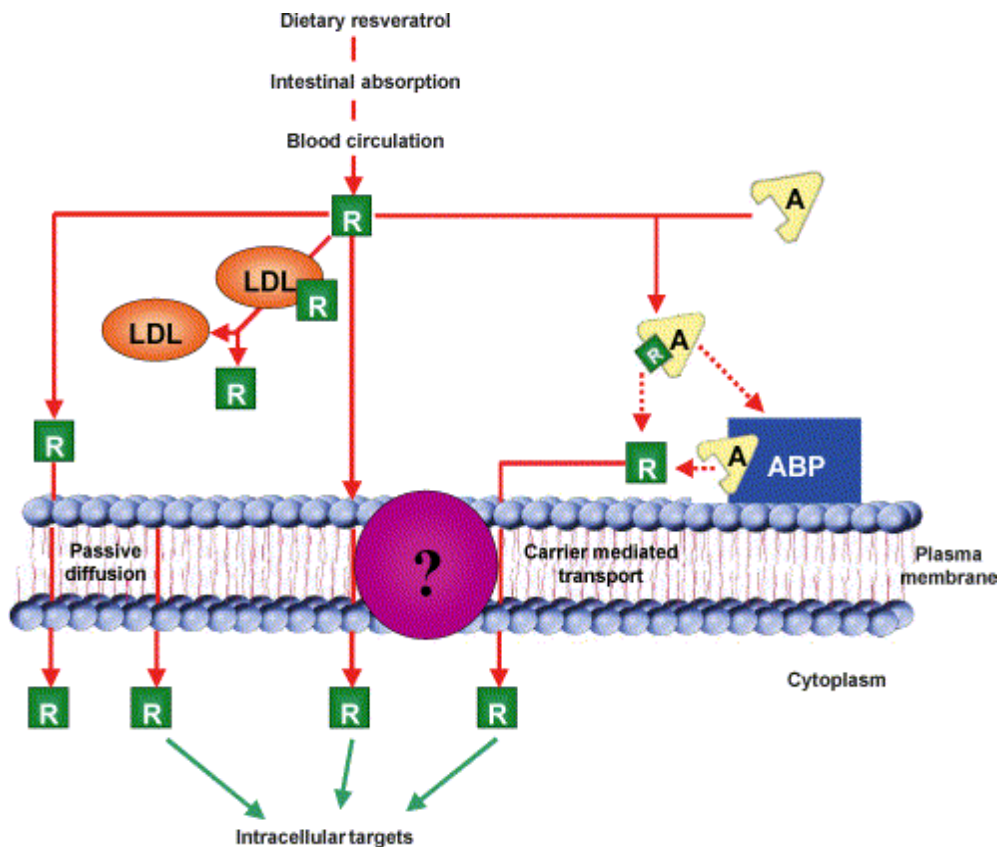
Resveratrol (RES), travmatik zedelenme, UV ışığına maruziyet ya da fungal enfeksiyona (*Botrytis cinerea*) karşı cevap olarak bazı bitkiler tarafından sentezlenen non-flavonoid yapıda polifenolik bir fitokimyasaldır. Fitokimyasallar patojenik mikroorganizmalara karşı bitkiler tarafından korunma amaçlı sentezlenen kimyasal maddelerdir, bitkisel antibiyotikler de denilebilir. RES, stilben fitokimyasalların en aktif bileşimidir. Üzümde ve diğer bazı meyvelerde bulunan RES'ün biyolojik aktivite gösteren formu trans RES'dür. Resveratrolün trans izomerlerinin yanı sıra cis ve glikozit formu olanla piceid formunda bulunmaktadır (Fremont, 2000; Gerogiannaki-Christopoulou ve ark., 2006).



Şekil 2.7. Resveratrolün kimyasal yapısı (Yanez ve ark., 2006).

RES'ün 3,4,5-trihidroksistilben olarak adlandırılan formunun, molekül formülü: $C_{14}H_{12}O_3$ ve molekül ağırlığı: 228,25 daldondur. Bitkilerdeki polifenoller, RES de dahil genellikle glikozit yapısındadır. Bu nedenle RES, 3-O- β -D-glikozit "piceid" olarakta bilinir ve cis, trans izomerlerin adları sırasıyla cis-piceid ve trans-piceid'dir. Bununla birlikte doğal analogları ve konjüatlarında bulunmaktadır (Signorelli ve Ghidoni, 2005).

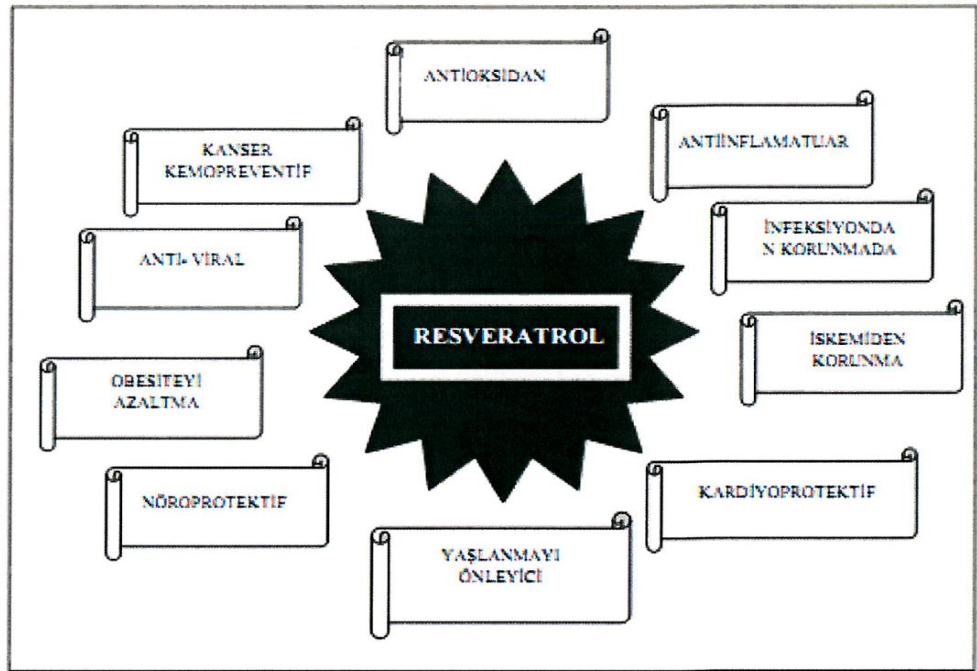
Resveratrol kanda esas olarak albumine bağlanarak taşınır, fakat lipoproteinlere de bağlandığı bildirilmiştir. Hepatoblastoma hücreleri üzerinde resveratrolün kinetik karakteriyle ilgili yapılan çalışmaya göre; RES hücre içine alınımı asıl olarak taşıyıcı aracılı geçiş ve pasif difüzyonla gerçekleşmektedir. RES albumine bağlanıp kompleks oluşturduktan sonra, albumin membran reseptörlerince bu kompleksin tutulduğu ve daha sonra da bu reseptörler tarafından serbest RES'ün hücre membranına doğru salıverildiği düşünülmektedir (Jannin ve ark., 2004).



Şekil 2.8. Resveratrolün kanda taşınması ve hücre içine geçiş hipotezi (Jannin ve ark., 2004).

Resveratrol'un OH[·] ve O₂^{-·} radikallerini süpürdüğü, OH[·] radikalının neden olduğu lipid peroksidasyonu inhibe ettiği, OH[·] ile H₂O₂'in neden olduğu DNA hasarını önlediği, protein oksidasyonunu engelleyerek, serum antioksidan kapasitesini artırdığı belirtilmiştir (Leonard ve ark., 2003; Olas ve ark., 2006). RES, düşük dansiteli lipoproteinlere bağlanarak lipoprotein peroksidasyonunu inhibe eder ve bakır kataliz oksidasyonu sırasında gecikme zamanını uzattığı, serbest radikal süpürücüsü ve enzim düzenleyici özelliğinden dolayı oksidatif stresin sebep olduğu çeşitli böbrek hasarlarına karşı koruyucu olduğu bildirilmektedir (Belguendouz ve ark., 1998; Rodrigo ve Bosco, 2006). Etanolün beyin, karaciğer, kalp ve testisler gibi çeşitli organlarda oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruyucu olduğu, ayrıca nöronal oksidatif stres ve nitroztatif stres ile nöroblastoma hücrelerinde oluşan mitokondriyel hasara karşı koruyucu olduğu belirlenmiştir (Lee ve ark., 2007; Kasdallah-Grissa ve ark., 2007).

Resveratrol ile yapılan çalışmalarda antikarsinojik, antiinflamatuvar, antiaterosklerotik ve nöroprotektif etkilerinin olduğu, ayrıca sıçanların karaciğerlerinde lipid sentezini azalttığı, lökositlerdeki eikozanoid sentezini inhibe ettiği, düşük dansiteli lipoproteinleri oksidasyondan vitamin E'ye göre daha iyi koruyan bir antioksidan olduğu belirtilmiştir (Hung ve ark., 2000; Olas ve Wachowicz, 2002; Cao ve Li, 2004; Jannin ve ark., 2004).



Şekil 2.9. Resveratrol ve etkileri (Karabulut, 2008)

Sıçanlara günlük 1000 ve 3000 mg/kg dozda 28 gün oral verildiğinde; nefrotoksisite, dehidrasyon, solunum güçlüğü, duruş bozukluğu (kamburlaşma), aktivite kaybı, diyare, burunda kırmızı renkte lezyonlar; erkek sıçanlarda lökositöz ve her iki cinsten anemi olduğu tespit edilmiştir (Crowell ve ark., 2004).

2.3.4. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı

Üzüm botanik tanımlamada cins adı *Vitis* olan ve yıllık odunsu üzüm asması olarak adlandırılan bitkinin meyvesi olup meyve üretiminde kullanılan türler içerisinde dünyada en çok üzüm çeşidi içeren tür *Vitis vinifera* L. ssp. *Savita* D.C.'dir (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2006). Üzümün (*Vitis vinifera*) tıbbi ve besinsel değeri binlerce yıl öncesinden bilinmektedir. Mısırlılar bu meyveyi yaklaşık 6000 yıldır tüketmektedirler ayrıca birçok antik Yunan filozofu üzümün iyileştirici etkisinden bahsetmiştir (Kar ve ark 2006). Çeşitli değerlendirme yöntemlerinin oluşu, iklim ve toprak yönünden çok seçici olmayışı, çok yıllık olması ve çoğalma yöntemlerinin

kolay oluşu gibi nedenlerden dolayı üzüm, dünyada en yaygın yetiştiriciliği yapılan bitkilerden biridir. Dünya üzüm üretiminde ülkemiz % 12 ile 5. sırada yer almaktadır. Ülkemizde üretilen üzümün, yaklaşık olarak % 40'ı çekirdekli ve çekirdeksiz kurutmalık, % 30'u sofralık, % 28'i şıralık ve % 2-3'ü de şaraplık olarak değerlendirilmektedir (Çelik ve ark., 2005). Üzümün genel bileşimi Çizelge 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4. Üzümün genel bileşimi (Kar ve ark 2006)

Sap	% 2-6
Kabuk	% 5-12
Su	% 80-90
Çekirdek	% 0-5

Üzüm çekirdeği, üzümün ağırlığının çok küçük bir kısmını oluşturmasına rağmen ekstrakte edilebilen fenollerin üçte ikisini kapsamaktadır. Üzümün en fazla fenol içeriğine sahip olan kısmı çekirdeği olup onunda ağırlığının % 5-8'i kadarı fenol içerebilir (Kar ve ark., 2006).

Üzümün yetiştiği bölgelerin iklimi, üzüm kabuğunun kalınlığı ve üzümün hasat zamanı gibi faktörler flavonoid içeriğinin miktarında etkilidirler (Rapport ve Lockwood, 2001).

Tablo 2.5. Taze üzümün besinsel değerleri (100 g) (Yadav ve ark., 2009)

Kalori	78 cal
Protein	0.5 g
Karbonhidrat	19 g
Yağ	0.3 g
Lif	0.9 g
Vitamin A	92 IU
Vitamin C	3.6 mg
Vitamin E	0.3 mg
Vitamin B9 (Folat)	3.6 µg
Kalsiyum	13 mg
Demir	3 mg
Mağnezyum	4.6 mg
Fosfor	9.2 mg
Potasyum	176 mg
Bor	0.7 mg
Selenyum	0.2 µg

Genel olarak üzümlerin bileşiminde su, şeker, fenol bileşikleri, organik asitler, pektik maddeler, aroma maddeleri, azotlu maddeler, enzimler, vitaminler ve mineraller içermektedir (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2006). Üzüm çekirdeği ekstraktında; fenolik asitler (p-kumarik, sinnamik, kafeik, gentisik, ferulik ve vanilik asit), flavonoidler (kateşin, epikateşin, kuersetin), stilbenler (resveratrol ve polydatin) bulunmaktadır (Takahashi ve Koboyashi, 2003).

Üzüm çekirdeği ekstraktı, E vitamini ve C vitamininin süperoksit anyonu ve hidroksil radikale karşı etkileri in vitro olarak sitokrom c redüksiyonu ve kemilüminesan cevap yoluyla değişik konsantrasyonlarda değerlendirilmiş olan bir çalışmada, süperoksit anyonu ve hidroksil radikale karşı 50 mg/L Üzüm çekirdeği ekstraktı'nın E vitaminine kıyasla sırasıyla % 84 ve % 98, 100 mg/L, Üzüm çekirdeği ekstraktı'nın C vitaminine kıyasla sırasıyla % 439 ve % 575 daha fazla serbest radikal kovucu etkisinin olduğu belirtilmiştir (Bagchi ve ark., 1997).

Devi ve arkadaşlarının (2006) yaptığı bir çalışmada erkek albino Wistar sıçanlara 9 hafta boyunca oral olarak 25, 50 ve 75 mg/kg Üzüm Çekirdeği Ekstraktı uygulamış olup 25 ve 50 mg/kg Üzüm Çekirdeği Ekstraktı uygulanan gruplarda beyin dokusundaki lipid peroksidasyonunda ve SOD aktivitesinde sınırlı bir değişim gözlemlenirken, 75 mg/kg Üzüm Çekirdeği Ekstraktı uygulanan grubun beyin dokusundaki MDA seviyelerini % 70 azaltırken, SOD aktivitesini de % 70 oranında artırmış ve CAT seviyelerinde ise herhangi bir değişim olmadığı gözlemlenmiştir (Devi ve ark., 2006). Karaciğerde iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlarda hasarın oluşumundan 15 gün önce ve sonra oral olarak uygulanan 50 mg/kg dozdaki Üzüm Çekirdeği Ekstraktı'nın iskemi-reperfüzyon hasarı sonrasında yükselen karaciğer MDA düzeylerini azaltırken, azalan karaciğer GSH düzeylerini ise yükselttiği belirlenmiştir (Şehirli ve ark., 2008).

Farelerde yapılan bir in vivo çalışmada, 20, 50 ve 100 mg/kg gibi değişik dozlarda Üzüm Çekirdeği Ekstraktı uygulamasının peritoneal makrofaj hücrelerinde, beyinde ve karaciğer dokularında 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)'nın neden olduğu lipid peroksidasyonunda ve DNA fragmentasyonunda doza bağlı olarak önemli ölçüde azalmalara neden olduğu tesbit edilmiştir (Bagchi ve ark., 1998). Oksijen radikallerinin beyin hasarında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yangzheng ve arkadaşlarının (2005) yeni doğmuş sıçanlar üzerindeki çalışmalarında oksijen radikalleri tarafından indüklenen beyin hasarı üzerinde üzüm çekirdeği ekstraktının etkilerini inceleyen çalışmalarında, üzüm çekirdeği ekstraktının kullanılmasıyla lipid peroksidasyonunun durdurulduğunu ve hipoksik (oksijen azlığı nedeni) iskemik beyin hasarının yenidoğan sıçanlarda azaltıldığı tespit edilmiştir.

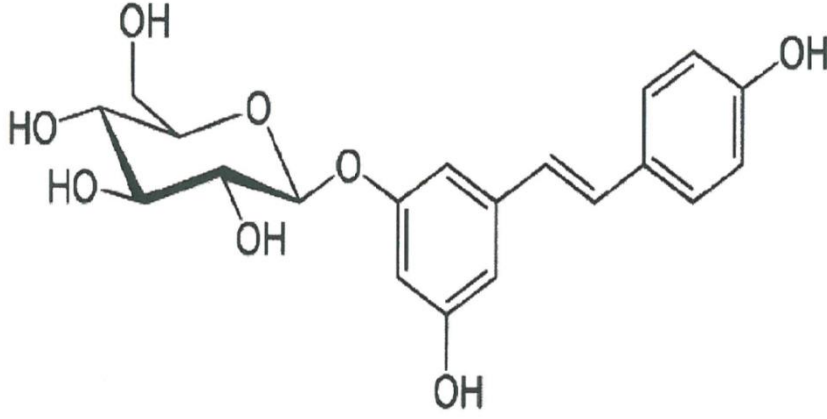
Dehane ve arkadaşları (2004) üzüm çekirdeği ekstraktı içeren diyetle beslenen sıçanların beyin proteinlerinin korunacağı hipotezine dayanarak yaptıkları bir araştırma sonucunda %5 üzüm çekirdeği ekstraktı içeren yemle beslenen sıçanlarda, Alzheimer hastalığı veya nörodejenarasyon üzerinde koruyucu etki sağlayacak şekilde, beyin proteinlerine yönelik koruyucu etki ettikleri tespit edilmiştir. Anemili sıçanlarda Azatioprin toksikasyonunun kan ve karaciğer dokuları üzerinde Üzüm Çekirdeği Ekstraktının etkisi araştırılan çalışmada, Azatioprin

uygulanan grupta karaciğerin histolojik yapısı zarar görmüş ve antioksidan savunması azalmıştır. Üzüm Çekirdeği Ekstraktı ile birlikte uygulanan grupta serbest radikal kaynaklı karaciğer hasarını iyileştirdiği tesbit edilmiştir (El-Ashmawy ve ark., 2010).

Kadmiyum kaynaklı böbrek hasarı oluşturulan bir araştırmada Üzüm Çekirdeği Proantosiyanidin Ekstraktı'nın lipid peroksidasyonu zayıflattığı, böbrekte oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği (Chen ve ark., 2013), sıçanlarda yapılan diğer bir çalışmada ise kurşun asetat kaynaklı nörotoksisite ve hepatotoksisitede, Üzüm Çekirdeği Ekstraktı'nın engel olabileceği düşünülmektedir (Waggas, 2012).

2.3.5. Polydatin

Polygonum cuspidatum bitkisinin kökleri (RPC), Asya'da geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmakta olup antibakteriyel (Shan ve ark., 2008), antioksidan (Pan ve ark., 2007) ve anti-anjiyogen (Wang ve ark., 2004) etkiler göstermektedir. RPC'de emodin, chrysophanol, rhein, resveratrol, polydatin (PD), kateşin, quercetin, gibi birçok bileşen bulunmaktadır fakat RPC'deki esas bileşen PD'dir. PD (resveratrol- $\text{in3-O-}\beta\text{-mono-D-glukosit}$) önemli bir stilbenoidtir ve resveratrolün glikozitidir, RPC'deki içeriği resveratrol'den altı kat daha fazladır (Zhou ve ark., 2005; Shan ve ark., 2008). PD üzüm, fıstık, şerbetçiotu kozalağı, kırmızı şaraplar, kakao içeren ürünler, çikolata ürünleri gibi günlük tükettiğimiz birçok üründe tespit edilebilir. Ayrıca PD doğadaki fitokimyasallardan bileşenleri arasında resveratrolü içeriğinde en çok bulundurandır (Regev-Shoshani ve ark., 2003).



Şekil 2.10. Resveratrolün piceid formu (Anonymous, 2014e)

Polydatin öğrenme ve hafıza bozukluklarına karşı koruyucudur, bu arada anlamlı kronik serebral hipoperfüzyon tarafından uyarılan vasküler demans sıçan modelinde MDA üretimini azaltır, SOD ve CAT aktiviteleri artırmaktadır (Li ve ark., 2012). PD hücre canlılığını önemli miktarda artırır, OGD'ye maruz bırakılmış feokromositoma hücrelerinde LDH, NO, MDA seviyesini düşürürken, SOD aktivitesi artırmaktadır (Xu ve ark., 2010). Ayrıca OGD-kaynaklı nöron hasarını etkin bir şekilde azaltmaktadır (Li ve ark., 2012). Amiloid- β peptid ($A\beta$) birikimi Alzheimer hastalığının ilerlemesi sırasında ortaya çıkan başlıca nörodejeneratiflerden biridir (Rivière ve ark., 2010). Bu birikime karşı 20 farklı stilben türevleri uygulanarak yapılan çalışmada, $A\beta$ polimerizasyonunu inhibe etmede bu bileşikler arasında en iyi inhibitör aktiviteye sahip bileşiğin doza bağlı olarak PD olduğu bildirilmiştir (Riviere ve ark., 2007; Riviere ve ark., 2010). PD akciğer I / R hasarına karşı SOD aktivitesi ve yaralı alveol oranını iyileştirerek, MDA düzeyini azaltır (Wang ve ark., 2008).

Daha önce yapılmış olan çalışmada PD'in açıklanan birçok aktivitesi mevcuttur: hiperlipidemik tavşanlarda lipid profilini azaltmakta (Xing ve ark., 2009), iskemi/reperfüzyonla indüklenen sıçanlarda serebral hasarda nöroprotektif etki sağlamakta (Cheng ve ark., 2006), kilo kaybına yol açmakta ve düşük doğum ağırlıklı yavrularda diyeti zenginleştirmekte (Jordan ve ark., 2008), CCl_4 ile uyarılan ratların primer hepatosit kültürlerinde koruyucu etki göstermekte (Huang ve ark., 1999) ve lipid oksidasyonu düşürmektedir (Pan ve ark., 2007).

Bu çalışmanın amacı Cd maruziyeti uygulanan Wistar albino ratlarda, aktif bileşenlerinde resveratrol bulunan PD ve üzüm ekirdeği Ekstraktı'nın koruyucu etkisinin kıyaslamalı olarak araştırılmasıdır. Kan, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularında ICP-OES ile Cd konsantrasyon miktarları, yine aynı dokularda total oksidan statü (TOS), total antioksidan statü (TAS), malondialdehit (MDA) ve antioksidan potansiyel (AOP) düzeyleri belirlendi. Buna ilaveten, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularının ışık elektron mikroskopuyla incelemesi gerçekleştirildi.

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmamızda Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, AKÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma merkezinde bulunan ve aşağıda özellikleri verilen cihazlar/laboratuvar malzemelerinden yararlanılmıştır:

- Kadmiyum Klorür (Aldrich)
- Polydatin (Sigma)
- Üzüm Çekirdeği Ekstraktı(Aksu Vital)
- ELISA (Biotek, ELx800)
- ICP/OES (Perkin Elmer Optima 8000)
- Homojenizatör (Heidolph Silient Crusher M)
- Distile su cihazı (GFL, 2202)
- Buzdolabı (Beko, D 8459 SM)
- Derin dondurucu (Uğur, UDD300BK)
- Soğutmalı santrifüj (Nüve, NF 1000R)
- Vorteks (IKA, MS2)
- Hassas terazi (Denver, TP-214)
- Su banyosu (Nüve. BM 402)
- Isıtcılı manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica)
- Dijital pH metre (Inolab, WTW)
- Değişik hacimlerde otomatik pipet (Eppendorf ve Socorex)
- Farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (Isolab)
- Ependorf tüpü (1,5 mL'lik, Roth)
- Cerrahi eldiven (Dolphin)
- Polietilen enjektör (5 mL, Ayset)
- İnsülin enjektörü (1 mL, Ayset)

- Antikoagülanlı tüp
- Antikoagülansız kuru tüp

3.2 Hayvan Materyali

Bu araştırmada, ağırlıkları 250±50g arasında değişen 49 adet erkek “Wistar albino” rat kullanılmıştır. Aynı üretim biriminden temin edilen, daha önce herhangi bir deneyde kullanılmamış hayvanların, araştırmadan 10 gün önce bakım altına alınarak, deney ortamına adaptasyonları sağlanmıştır. Ratların bakım ve beslemeleri çalışma boyunca 21 ± 2°C evre sıcaklığı, % 55–60 nem ve 12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü şartlarında gerçekleştirildi. Çalışma grubundaki ratlara standart rat yemi (kuru madde % 88; ham protein % 23; ham selüloz % 7; ham kül % 8 ve metabolik enerji 2600 Kcal/kg) ve temiz içme suyu ad libitum (serbestçe) verildi. Çalışma boyunca hayvanlara yapılacak tüm müdahaleler, AK Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından bildirilen kurallar doğrultusunda, 27.08.2014 tarihli, 103 sayılı AKHADYEK-389-14 referans nolu araştırma kapsamında AK Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde yapıldı.

3.2.1. Deney Grupları ve Deney Protokolü

Bu çalışmada toplam 49 erkek rat her grupta 7 adet olacak şekilde polietilen kafeslere konularak rastgele 7 gruba ayrıldı. 4 haftalık deney süresince gruplara eşit sayıda gastrik gavaj ile aşağıda belirtilen çalışma protokolü uygulandı.

Birinci Grup: Kontrol Grubu; Ratlara gastrik gavaj uygulamasıyla serum fizyolojik verildi.

İkinci Grup: Kadmiyum(Cd) Grubu; Ratlara 5mg/kg/gün dozda kadmiyum klorür serum fizyolojikte çözdürülerek gastrik gavaj uygulamasıyla verildi.

nc Grup: Polydatin(PD) Grubu; Ratlara 120 mg/kg/gün polydatin serum fizyolojikte çözdürülerek gastrik gavaj uygulamasıyla verildi.

Dördüncü Grup: zm ekirdeği Ekstraktı(E) Grubu; Ratlara 120 mg/kg/gün üzüm çekirdeği ekstraktı serum fizyolojikte çözdürülerek gastrik gavaj uygulamasıyla verildi.

Beşinci Grup: Cd + PD Grubu; Ratlara 5mg/kg/gün dozda kadmiyum klorür ve 120 mg/kg/gün polydatin serum fizyolojikte çözdürülerek gastrik gavaj uygulamasıyla verildi.

Altıncı Grup: Cd + ÜÇE Grubu; Ratlara 5mg/kg/gün dozda kadmiyum klorür ve 120 mg/kg/gün üzüm çekirdeği ekstraktı serum fizyolojikte çözdürülerek gastrik gavaj uygulamasıyla verildi.

Yedinci Grup: Cd + PD + ÜÇE Grubu; Ratlara 5mg/kg/gün dozda kadmiyum klorür, 120 mg/kg/gün polydatin ve 120 mg/kg/gün üzüm çekirdeği ekstraktı serum fizyolojikte çözdürülerek gastrik gavaj uygulamasıyla verildi.

Çalışmamızda kullanılan Cd(ALDRICH İlaç etkileşimini ve ilaç emilimini etkilememek için kadmiyum klorür uygulamaları sabah, polydatin ve üzüm çekirdeği ekstraktı uygulamaları öğleden sonra yapılmıştır.

3.2.2. Çalışmanın Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması

Dört haftalık Cd, PD ve ÜÇE uygulaması sonunda, 12 saat boyunca aç bırakılan ratlar 13 mg/kg ksilazin ve 87 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alındı. Daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri açıldı. Çalışır durumda iken kalpten 5 mL'lik enjektörlerle Lityum Heparin'li tüplere ortalama 6-9 mL kan alınmış ve hayvanların ölümünü takiben karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularında alınarak soğuk zincir altında zaman kaybetmeden laboratuvara getirilmiştir.

3.2.3. Plazma Eldesi, Eritrosit Paketi ve Doku Homojenatının Hazırlanması

Alınan kan örnekleri Nüve NF 1000 R model santrifüj cihazı ile 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazma örnekleri elde edilerek analizler yapılincaya kadar -30°C'de saklandı.

Eritrositler izotonik solüsyonda 3 kere yıkandı ve beyaz kısmı atıldı. Daha sonra eritrositler üzerine aynı miktarda izotonik solüsyon eklendi ve analizler yapılincaya kadar -20 °C'de buzdolabında muhafaza edildi.

Deney hayvanlarından çıkarılan dokular öncelikli olarak buz soğukluğunda deiyonize su ile yıkanarak kan, yağ ve bağ dokusu uzaklaştırılmıştır. Dokulardan 1g alınarak 1/5 oranında hazırlanan tampon (140 mM KCl, 10mM NaHCO₃, 3mM KH₂PO₄ ve 2mMK₂HPO₄/L; 950 ml deiyonize suda çözdürülerek 5N NaOH ile pH'sı 7,2'ye ayarlanmış ve 1000 ml'ye tamamlanmıştır) ile homojenizatör ve sonikatör işlemleri yapılan dokuların homojenizasyonu tamamlanmıştır. Homojenat daha sonra 13000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant ayrılmıştır.

3.2.4. Eritrosit Paketi ve Dokularda Kadmiyum Konsantrasyonu Tayini

Tez çalışması öncesi yapılan plot çalışmada kan Cd analizlerinde plazmasında Cd düzeylerinin tüm gruplarda ölçülebilir seviyede olmadığı görülmüştür. Bu nedenle literatürlerdeki Cd'un eritrositlerde akümüle olduğu yönündeki veri (Zalups ve Ahmad, 2003) kapsamında çalışmamızda kan Cd ölçümleri eritrosit paketinde gerçekleştirilmiştir.

Her hayvanın eritrosit paketinden ve doku örneklerinden 0.5g alınarak yüksek ısıya dayanıklı porselen tüpler içerisine konulmuş ve üzerine önce 1 ml %30 H₂O₂ (Hidrojen peroksit) ve hemen ardından 7 ml %65 HNO₃ (Nitrit oksit) ilave edildikten sonra 10 dakika bekletilmiştir. Daha sonra tüplerin ağızları kapatılarak mikrodalga fırında 180 °C'de 30 dk süreyle yakma işlemine tabi tutulmuştur. Yakma işlemi Milestone Stard D marka mikrodalga fırında yapılmış olup, miktar tayini Perkin Elmer ICP/OES Optima 8000'de yapılmıştır.

3.2.5. TAS ve TOS Düzeyleri Tayini

TAS düzeyleri spesifik kitlerle ratların plazma örnekleri ve doku homojenatlarından ELISA yöntemiyle (Rel Assay Diagnostics, Türkiye, TAS kiti RL 0017) ölçüldü.

Test prensibi: İndirgenmiş ABTS molekülü asit ortamda (asetat tamponu, 30 mmol/L, pH:3,6) H₂O₂ kullanılarak ABTS•+ molekülüne okside edilir. Asetat tampon solüsyonunda, konsantre (koyu yeşil) ABTS•+ molekülü uzun süre

dayanıklılığını korur. Yüksek pH'daki daha konsantre bir asetat tampon solüsyonu (asetat tamponu, 0.4 mol/L, pH:5.8) ile dilüe edildiğinde, renk, kendiliğinden yavaşça açılır. Örnekte bulunan antioksidanlar konsantrasyonları ile orantılı olarak renkteki açılmayı hızlandırır. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak izlenebilir ve renteki açılma örnekteki total antioksidan kapasite ile ters orantılıdır.

TOS düzeyleri spesifik kitlerle ratların plazma örnekleri ve doku homojenatlarından ELISA yöntemiyle (Rel Assay Diagnostics, Türkiye, TOS Kiti RL 0024) ölçüldü.

Test prensibi: Örnekte bulunan oksidanlar, Fe^{+2} -o-dianisidine kompleksini Fe^{+3} iyonuna okside eder. Oksidasyon reaksiyonu reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile arttırılır. Fe^{+3} iyonu asidik ortamda ksilenol oranj ile renkli bir kompleks yapar. Renk şiddeti, örnekte bulunan oksidan moleküllerin miktarı ile orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

3.2.6. MDA ve AOP Düzeyleri Tayini

MDA tayini Ohkawa ve ark. (1979) yöntemiyle belirlenmiştir. Bu metot lipid peroksidasyonunun aldehid ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu temeline dayanmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansının 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipid peroksidasyonunun derecesi saptanmaktadır.

AOP tayini Durak ve ark. (1998) yöntemiyle belirlendi. Numuneler, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikallerine (O_2^-) bir saat süreyle maruz bırakıldı. Reaksiyon ortamındaki TBARS konsantrasyonu O_2^- radikali oluşmadan önce ve oluşturulduktan sonra ölçüldü. İki değer arasındaki fark antioksidan potansiyelle ters orantılıdır.

3.2.7. Histopatolojik Analizler için Dokuların Hazırlanması

Çalışmanın sonunda, herbir hayvanın karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokuları histopatolojik analiz için %10'luk formalin solüsyonu içine alınmış ve %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat sabitlenmiştir. Dereceli alkolden (%70'den %100'e) geçirerek dokular dehidre edildi, ksilende temizlendikten sonra parafine gömüldü, 5-6 µm'lik kesitlere ayrıldıktan sonra hemotoksilen-eosinle (H&E) boyandı. Sonuç olarak her bir bölüm ışık mikroskopu altında (Olympus BX51 and DP20 eklenilmiş Mikroskopik Dijital Resim Analiz Sistemi, Tokyo, Japan) incelendi.

3.3. İstatistiksel Analizler

Araştırmadan elde edilen sonuçlar, SPSS istatistik paket programında tek yönlü ANOVA testi uygulanarak yapılmıştır. İstatistiki fark bulunan sonuçlara Tukey testi uygulanmış, veriler "ortalama \pm standart sapma" olarak ifade edilmiştir ($X \pm SE$). İstatistiki anlamlılık için $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

Tez kapsamında oluşturulan 7 grupta kan, karaciğer, beyin, böbrek ve testis dokularına ait Cd konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA, AOP düzeyleri ile bu dokulara ait histopatolojik görüntülemelere ait bulgular ve bulguların istatistiksel değerlendirmesi aşağıda sunulmuştur.

4.1. Rat Yeminin, İçme Suyunun, PD ve ÜÇE'nin Cd Yönünden Analizi

ICP/OES cihazı ile yapılan analizler neticesinde standart rat yeminde 0,15 mg/kg, ÜÇE'nde 1,17 mg/kg, PD'nde 0,20 mg/kg düzeyinde Cd varlığı tesbit edilirken ratların içme sularındaki Cd ölçülebilir düzeylerde değildi.

4.2. Kan Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri

Kan Cd konsantrasyonu önce plazmada sonra eritrosit paketinde ayrı ayrı çalışılmıştır. Plazma Cd düzeyleri ölçülebilir seviyelerde çıkmadığı için eritrosit paketi ölçümlerine geçilmiş ve eritrosit Cd düzeyleri sunulmuştur. (Tablo 4.1, Grafik 4.1) Gruplar karşılaştırıldığında Cd ve Cd+ÜÇE gruplarının diğer gruplara göre istatistiki açıdan önemli düzeyde yüksek kan Cd seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Kontrol grubunda ölçülebilir düzeyde Cd görülmemiş olup, kontrol grubu tüm diğer gruplardan istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.001$). Cd ile birlikte PD uygulanan (Cd+PD) grup ve Cd ile birlikte PD+ÜÇE uygulanan (Cd+PD+ÜÇE) grupların kendi aralarında istatistiki bir fark olmasa da antioksidan fitokimyasalların Cd konsantrasyon düzeylerini azaltarak istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) bir fark oluşturmuştur. PD ve ÜÇE gruplarında düşük Cd konsantrasyon düzeylerine sahip oldukları, kendi aralarında istatistiki açıdan herhangi bir fark oluşmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.1, Grafik 4.1).

Kan TOS düzeyleri açısından gruplar karşılaştırıldığında Kontrol grubunun en yüksek değere sahip olduğu PD, Cd+ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE grupları haricinde diğer gruplarla aralarında önemli ($p<0.001$) fark oluştuğu belirlenmiştir. Cd, PD ve

Cd+PD grupları arasında istatistiki bir fark olmamasına rağmen, Cd+PD grubunun en düşük TOS düzeyine sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.1, Grafik 4.2).

Kan TAS düzeyleri açısından gruplar karşılaştırıldığında PD ve Cd+PD+ÜÇE gruplarında en yüksek değere sahip olduğu, en düşük TAS düzeyine sahip olan Cd grubu ile istatistiki açıdan önemli ($p<0.01$) bir fark olduğu görülmüş olup diğer gruplarla aralarında önemli bir fark gözlenmemiştir (Tablo 4.1, Grafik 4.3).

Kan MDA değerleri açısından gruplar karşılaştırıldığında Cd grubunun en yüksek MDA seviyelerine sahip olduğu, Cd+PD grubu ile aralarında istatistiki açıdan ($p<0,05$) anlamlılık ifade ederken, diğer gruplarla aralarında bir fark gözlenmemiştir (Tablo 4.1, Grafik 4.4).

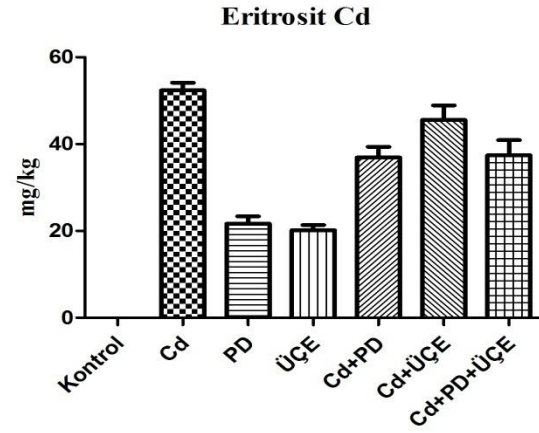
Kan AOP düzeylerine bakıldığında ise en yüksek AOP değerini PD grubunda olduğu, kontrol grubu ile aralarında bir fark oluşmazken diğer gruplarla aralarında istatistiksel olarak anlamlı ($p\leq 0,001$) bir fark olduğu gözlenmektedir (Tablo 4.1, Grafik 4.5).

Eritrositlerde ölçülen Cd (mg/kg) ve plazmada ölçülen TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L), TAS ($\mu\text{mol Trolox equivalent/L}$), MDA (nmol/l), AOP (nmol/l) düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 4.1, Grafik 4.1, Grafik 4.2, Grafik 4.3, Grafik 4.4 ve Grafik 4.5’de gösterilmiştir.

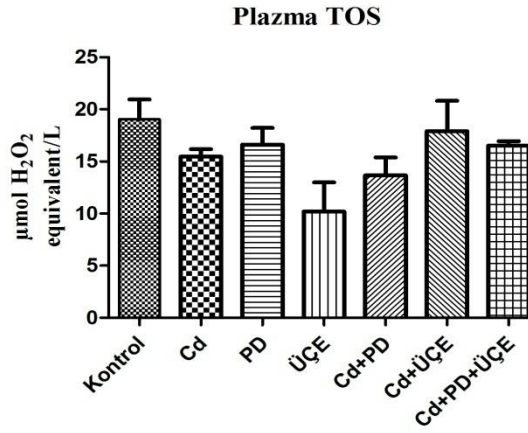
Tablo 4.1. Eritrosit Cd, Plazma TOS, TAS, MDA ve AOP düzeyleri (n=7 \pm SE)

	Kontrol	Kadmiyum(Cd)	Polydatin(PD)	Üzüm Çek. Eks.(ÜÇE)	CD+PD	Cd+ÜÇE	Cd+Pd+ÜÇE	P =
Cd	0,00 \pm 0,00 ^d	52,36 \pm 1,74 ^a	21,69 \pm 1,70 ^c	20,19 \pm 1,18 ^c	36,93 \pm 2,45 ^b	45,57 \pm 3,36 ^{ab}	37,43 \pm 3,49 ^b	0,000
TOS	25,03 \pm 1,91 ^a	15,46 \pm 0,71 ^b	18,75 \pm 1,60 ^{ab}	10,20 \pm 2,78 ^b	13,67 \pm 1,71 ^b	17,90 \pm 2,93 ^{ab}	16,53 \pm 0,42 ^{ab}	0,000
TAS	0,66 \pm 0,06 ^{ab}	0,43 \pm 0,05 ^b	0,96 \pm 0,02 ^a	0,80 \pm 0,06 ^{ab}	0,90 \pm 0,07 ^{ab}	0,53 \pm 0,06 ^{ab}	1,02 \pm 0,26 ^a	0,004
MDA	4,60 \pm 0,38 ^{ab}	4,83 \pm 0,33 ^a	4,29 \pm 0,68 ^{ab}	4,60 \pm 0,27 ^{ab}	3,83 \pm 0,38 ^b	4,68 \pm 0,50 ^{ab}	4,14 \pm 0,50 ^{ab}	0,023
AOP	4,03 \pm 1,05 ^{ab}	2,76 \pm 0,30 ^b	4,98 \pm 1,36 ^a	3,05 \pm 0,28 ^b	3,36 \pm 0,63 ^b	3,13 \pm 0,54 ^b	3,06 \pm 0,40 ^b	0,001

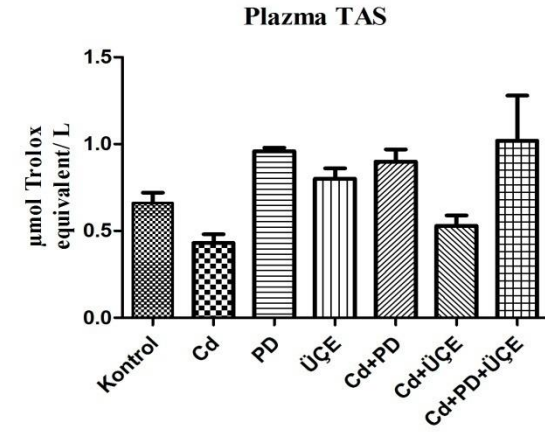
^{a,b,c,d}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiki olarak önemlidir.



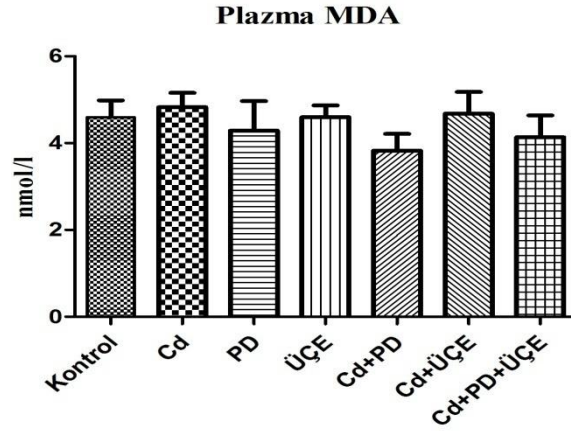
Grafik 4.1. Eritrosit Cd düzeyleri



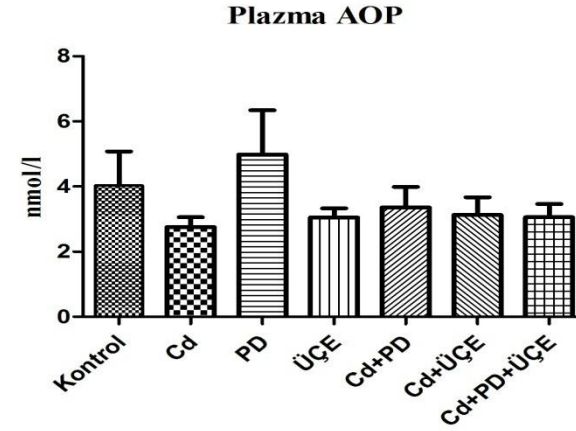
Grafik 4.2. Plazma TOS düzeyleri



Grafik 4.3. Plazma TAS düzeyleri



Grafik 4.4. Plazma MDA düzeyleri



Grafik 4.5. Plazma AOP düzeyleri

4.3. Karaciğer Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri

Karaciğer Cd konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar karşılaştırıldığında Cd+ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE gruplarının en yüksek Cd konsantrasyon düzeylerine sahip olup kendi aralarında istatistiki açıdan bir fark olmayıp, diğer gruplarla aralarında önemli ($p<0.001$) derecede bir fark olduğu görülmektedir. Kontrol, PD ve ÜÇE grupları Cd konsantrasyon düzeyi yönünden herhangi bir değere sahip olmayıp diğer gruplarla istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) bir fark gözlenmektedir (Tablo 4.2, Grafik 4.6).

Karaciğer TOS düzeyleri bakımından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında Cd grubunun en yüksek TOS değerine sahip olduğu, Cd+PD+ÜÇE grubunun ise en düşük TOS düzeyine sahip olduğu görülmekte olup bu iki grup arasında istatistiki açıdan önemli ($p<0.05$) bir fark olduğu belirtilmekte olup, bu iki grubun diğer gruplarla arasında istatistiki açıdan önem bulunmadığı görülmektedir. Kontrol, PD, ÜÇE, Cd+PD, Cd+ÜÇE gruplarının ise kendi aralarında istatistiksel bir farkın olmadığı gözlenmektedir (Tablo 4.2, Grafik 4.7).

Karaciğer TAS düzeyleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında hiçbir grubun birbirleri ile aralarında istatistiki açıdan önem ($p>0,05$) arz etmediği görülmektedir (Tablo 4.2, Grafik 4.8).

Karaciğer MDA değerleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, en yüksek MDA seviyesinin Cd grubunda olduğu gözlenirken, en düşük MDA seviyesinin PD ve Cd+ÜÇE gruplarında olduğu gözlenmiş olup, bu gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlılık ($p<0,05$) arz ettiği görülmektedir. (Tablo 4.2, Grafik 4.9).

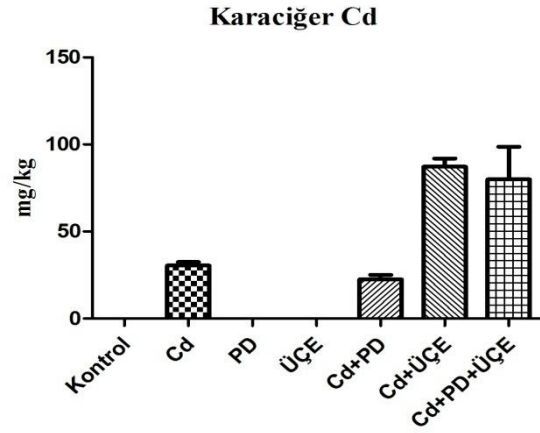
Karaciğer AOP değerleri yönünden bakıldığında en yüksek AOP seviyesinin PD grubunda, en düşük AOP seviyesinin kontrol, Cd ve ÜÇE gruplarında olduğu, PD grubu ile bu gruplar arasında önemli derecede bir istatistiki ($p<0,001$) artış görülmektedir (Tablo 4.2, Grafik 4.10).

Karaciğer dokusunda ölçülen Cd (mg/kg), TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L), TAS ($\mu\text{mol Trolox}$ equivalent/L), MDA (nmol/g), AOP (nmol/g) düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 4.2, Grafik 4.6, Grafik 4.7, Grafik 4.8, Grafik 4.9 ve Grafik 4.10'da gösterilmiştir.

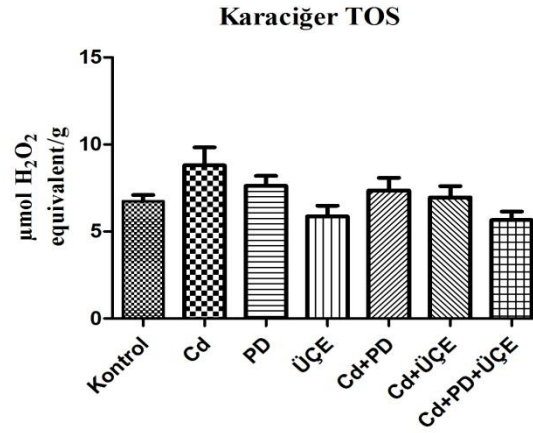
Tablo 4.2. Karaciğer Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP düzeyleri ($n=7 \pm \text{SE}$)

	Kontrol	Kadmiyum(Cd)	Polydatin(PD)	Üzüm Çek. Eks.(ÜÇE)	CD+PD	Cd+ÜÇE	Cd+Pd+ÜÇE	P =
Cd	0,00 \pm 0,00 ^c	36,93 \pm 2,45 ^b	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^c	22,42 \pm 2,64 ^b	87,24 \pm 4,67 ^a	79,97 \pm 18,71 ^a	0,000
TOS	6,74 \pm 0,35 ^{ab}	8,79 \pm 1,04 ^a	7,62 \pm 0,58 ^{ab}	5,87 \pm 0,61 ^{ab}	7,36 \pm 0,72 ^{ab}	6,96 \pm 0,65 ^{ab}	5,66 \pm 0,48 ^b	0,037
TAS	0,55 \pm 0,05	0,38 \pm 0,04	0,56 \pm 0,06	0,31 \pm 0,03	0,56 \pm 0,09	0,39 \pm 0,06	0,45 \pm 0,08	0,051
MDA	2,64 \pm 0,46 ^{ab}	2,96 \pm 0,34 ^a	2,27 \pm 0,32 ^b	2,46 \pm 0,33 ^{ab}	2,67 \pm 0,23 ^{ab}	2,32 \pm 0,19 ^b	2,58 \pm 0,15 ^{ab}	0,025
AOP	4,20 \pm 0,57 ^b	4,60 \pm 1,06 ^b	8,65 \pm 1,90 ^a	5,35 \pm 1,18 ^b	6,04 \pm 1,11 ^{ab}	6,56 \pm 1,82 ^{ab}	6,51 \pm 1,06 ^{ab}	0,000

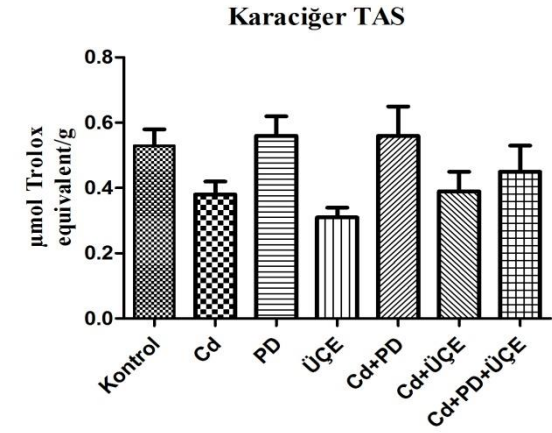
^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiki olarak önemlidir.



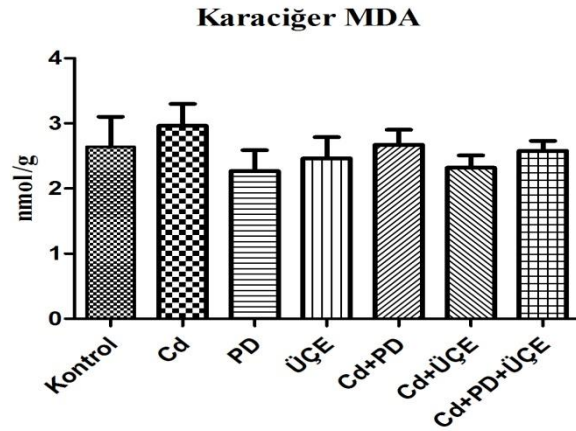
Grafik 4.6. Karaciğer Cd düzeyleri



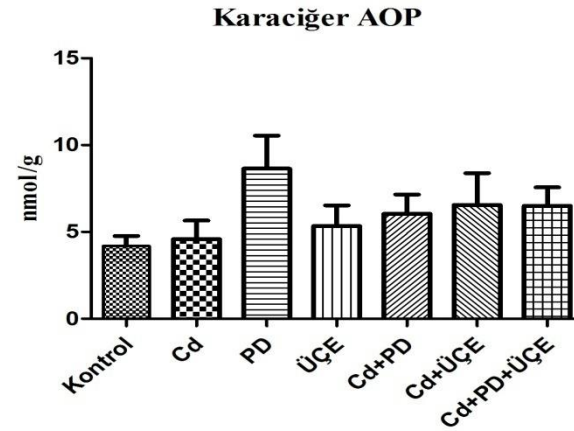
Grafik 4.7. Karaciğer TOS düzeyleri



Grafik 4.8. Karaciğer TAS düzeyleri



Grafik 4.9. Karaciğer MDA düzeyleri



Grafik 4.10. Karaciğer AOP düzeyleri

4.4. Böbrek Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri

Böbrek Cd konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında Cd grubunun en yüksek Cd konsantrasyon düzeyine sahip olmakta ve diğer gruplarla arasında istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) fark olduğu görülmektedir. Cd maruziyeti durumunda tek tek ve kombine fitokimyasal uygulanan gruplar arasında, yani Cd+PD, Cd+ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE gruplarının kendi aralarında istatistiksel düzeyde bir statü farkı izlenmemiştir. Antioksidan fitokimyasalların Cd konsantrasyon düzeylerini Cd grubuna göre istatistiki olarak azalttıkları gözlenmiştir ($p<0.001$) Kontrol grubunda Cd izlenmemiştir. PD ve ÜÇE gruplarında da eser miktarda Cd konsantrasyonu olduğu için, Kontrol, PD ve ÜÇE grupları kendi aralarında istatistiksel olarak bir önem ifade etmesede diğer gruplarla karşılaştırılmasında istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) bir fark olduğu görülmektedir (Tablo 4.3, Grafik 4.11).

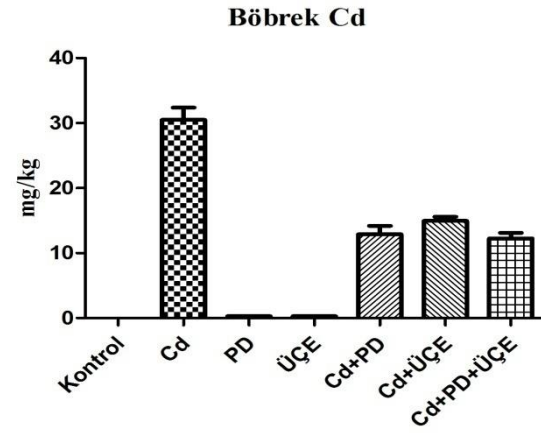
Böbrek TOS düzeyleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında Cd+ÜÇE grubunun en yüksek TOS değerine sahip olmakta ve diğer gruplarla arasında istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) bir fark olduğu görülmektedir. Kontrol, Cd, PD, ÜÇE Cd+PD ve Cd+PD+ÜÇE gruplarının ise kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlılık ifade etmediği gözlenmektedir (Tablo 4.3, Grafik 4.12). Böbrek TAS değerleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında Kontrol grubunun en yüksek TAS düzeyine sahip olduğu Cd, PD ve Cd+PD+ÜÇE grupları haricindeki gruplarla aralarında istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) bir fark olduğu görülmektedir. ÜÇE, Cd+PD, Cd+ÜÇE grupları ise en düşük TAS değerlerine sahip olup kendi aralarında istatistiksel anlamda bir önem ifade etmezken Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu gözlenmektedir (Tablo 4.3, Grafik 4.13). Böbrek MDA değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında en yüksek MDA değeri Cd+PD+ÜÇE grubunda gözlenmiş olup, Cd+PD grubu hariç diğer gruplarla aralarında istatistiki açıdan önemli bir fark ($p<0.001$) gözlenmiştir (Tablo 4.3, Grafik 4.14). Böbrek AOP değerlerine bakıldığında PD ve Cd+PD+ÜÇE grupları kontrol grubuna göre istatistiksel önemde ($p\leq 0,001$) artarken, diğer gruplarda önemli bir değişim gözlenmemiştir (Tablo 4.3, Grafik 4.15).

Böbrek dokusunda ölçülen Cd (mg/kg), TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L), TAS ($\mu\text{mol Trolox}$ equivalent/L), MDA (nmol/g), AOP (nmol/g) düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 4.3, Grafik 4.11, Grafik 4.12, Grafik 4.13, Grafik 4.14 ve Grafik 4.15’de gösterilmiştir.

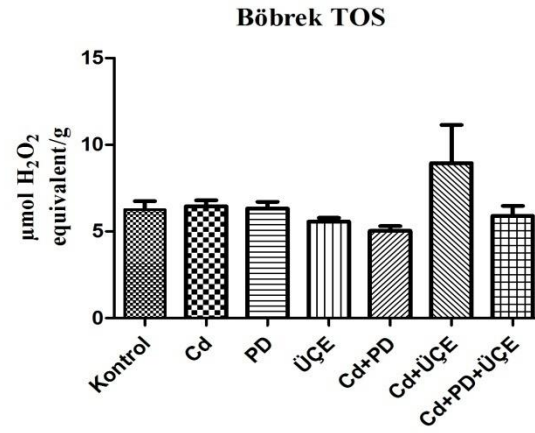
Tablo 4.3. Böbrek Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP düzeyleri (n=7 \pm SE)

	Kontrol	Kadmium(Cd)	Polydatin(PD)	Üzüm Çek. Eks.(ÜÇE)	CD+PD	Cd+ÜÇE	Cd+Pd+ÜÇE	P =
Cd	0,00 \pm 0,00 ^c	30,48 \pm 1,91 ^a	0,29 \pm 0,00 ^c	0,29 \pm 0,00 ^c	12,90 \pm 1,29 ^b	14,94 \pm 0,63 ^b	12,25 \pm 0,88 ^b	0,000
TOS	6,25 \pm 0,49 ^b	6,45 \pm 0,35 ^b	6,32 \pm 0,38 ^b	5,57 \pm 0,21 ^b	5,03 \pm 0,28 ^b	8,95 \pm 2,19 ^a	5,89 \pm 0,58 ^b	0,000
TAS	1,35 \pm 0,05 ^a	0,98 \pm 0,09 ^{ab}	1,01 \pm 0,12 ^{ab}	0,94 \pm 0,07 ^b	0,87 \pm 0,06 ^b	0,80 \pm 0,11 ^b	0,97 \pm 0,08 ^{ab}	0,007
MDA	1,88 \pm 0,27 ^b	2,18 \pm 0,16 ^b	1,90 \pm 0,15 ^b	2,02 \pm 0,23 ^b	2,20 \pm 0,10 ^{ab}	2,09 \pm 0,22 ^b	2,62 \pm 0,26 ^a	0,000
AOP	6,31 \pm 0,92 ^c	7,87 \pm 0,36 ^{abc}	9,29 \pm 0,93 ^a	7,03 \pm 0,69 ^{bc}	8,25 \pm 1,31 ^{abc}	8,61 \pm 0,63 ^{ab}	9,41 \pm 1,93 ^a	0,001

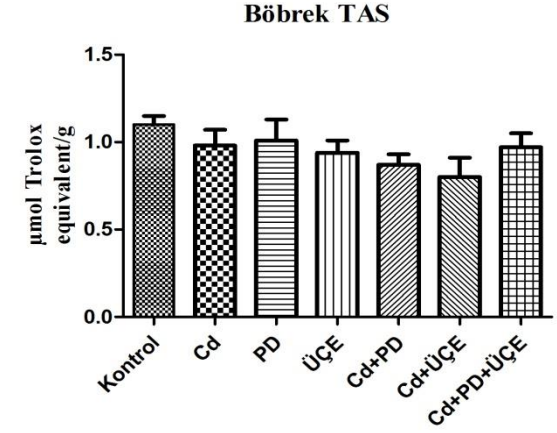
^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiki olarak önemlidir.



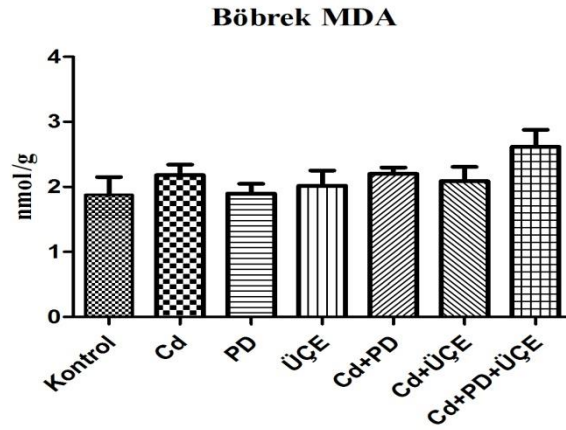
Grafik 4.11. Böbrek Cd düzeyleri



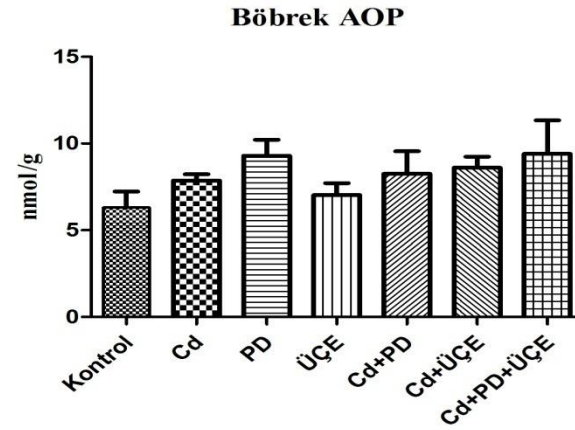
Grafik 4.12. Böbrek TOS düzeyleri



Grafik 4.13. Böbrek TAS düzeyleri



Grafik 4.14. Böbrek MDA düzeyleri



Grafik 4.15. Böbrek AOP düzeyleri

4.5. Beyin Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri

Beyin Cd konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında tüm gruplarda cihazın ölçüm sınırları altında olduğu için grupların beyin dokularında herhangi bir Cd konsantrasyonuna rastlanmamıştır (Tablo 4.4, Grafik 4.16).

Beyin TOS düzeyleri bakımından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında Kontrol, Cd, PD, ÜÇE, Cd+PD, Cd+ÜÇE, Cd+PD+ÜÇE gruplarının kendi aralarında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir (Tablo 4.4, Grafik 4.17).

Beyin TAS düzeyleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında kontrol grubunun en yüksek TAS değerine sahip olduğu, Cd+ÜÇE grubunun ise en düşük TAS düzeyine sahip olduğu görülmekle birlikte bu iki grubun kendi aralarında ve diğer gruplarla aralarında istatistiki açıdan önemli ($p>0,05$) bir fark olmadığı belirtilmektedir. Cd, PD, ÜÇE, Cd+PD, Cd+PD+ÜÇE gruplarında kendi aralarında istatistiksel bir anlam ifade etmediği gözlenmektedir (Tablo 4.4, Grafik 4.18).

Beyin MDA değerleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında Kontrol, Cd, PD, Cd+PD, Cd+ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE grupları arasında istatistiki açıdan kayda değer bir önem görülmemiş olup, ÜÇE grubunun kontrole göre istatistiki değerler yönünden ($p<0.05$) azaldığı görülmektedir (Tablo 4.4, Grafik 4.19).

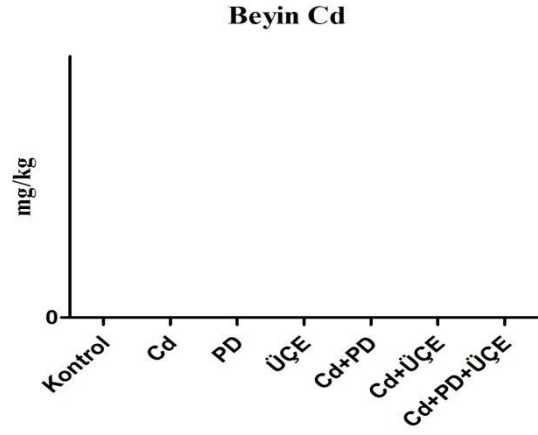
Beyin AOP değerleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında PD grubunun en yüksek AOP düzeylerine sahip olduğu, kontrol ve Cd gruplarında ise AOP en düşük düzeylerde olduğu görülmüştür. ÜÇE, Cd+ÜÇE, Cd+PD ve Cd+PD+ÜÇE gruplarında kontrol ve Cd grubuna göre istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) bir artış görülmekte olup, birbirleri arasında AOP düzeyleri bakımından önemli fark yoktur (Tablo 4.4, Grafik 4.20).

Beyin dokusunda ölçülen Cd (mg/kg), TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L), TAS ($\mu\text{mol Trolox}$ equivalent/L), MDA (nmol/g), AOP (nmol/g) düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 4.4, Grafik 4.16, Grafik 4.17, Grafik 4.18, Grafik 4.19 ve Grafik 4.20'de gösterilmiştir.

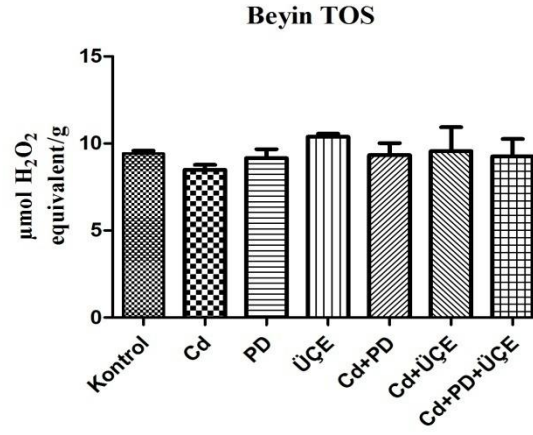
Tablo 4.4. Beyin Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP düzeyleri (n=7 \pm SE)

	Kontrol	Kadmiyum(Cd)	Polydatin(PD)	Üzüm Çek. Eks.(ÜÇE)	CD+PD	Cd+ÜÇE	Cd+Pd+ÜÇE	P =
Cd	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	
TOS	9,42 \pm 0,16	8,48 \pm 0,29	9,16 \pm 0,51	10,38 \pm 0,17	9,33 \pm 0,69	9,56 \pm 1,37	9,25 \pm 1,00	0,738
TAS	0,27 \pm 0,04	0,16 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02	0,14 \pm 0,04	0,14 \pm 0,02	0,09 \pm 0,03	0,18 \pm 0,05	0,117
MDA	1,05 \pm 0,05 ^a	1,00 \pm 0,04 ^{ab}	0,96 \pm 0,06 ^{ab}	0,78 \pm 0,06 ^b	0,94 \pm 0,04 ^{ab}	0,91 \pm 0,04 ^{ab}	0,92 \pm 0,05 ^{ab}	0,030
AOP	2,25 \pm 0,21 ^c	2,24 \pm 0,43 ^c	10,58 \pm 0,43 ^a	6,76 \pm 1,21 ^{ab}	7,45 \pm 1,40 ^{ab}	6,39 \pm 0,65 ^b	9,15 \pm 1,17 ^{ab}	0,000

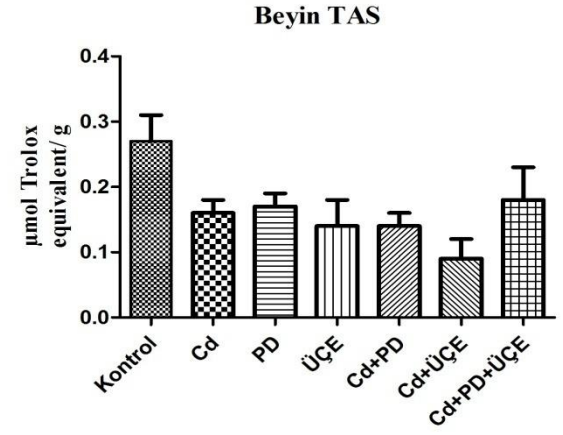
^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiki olarak önemlidir.



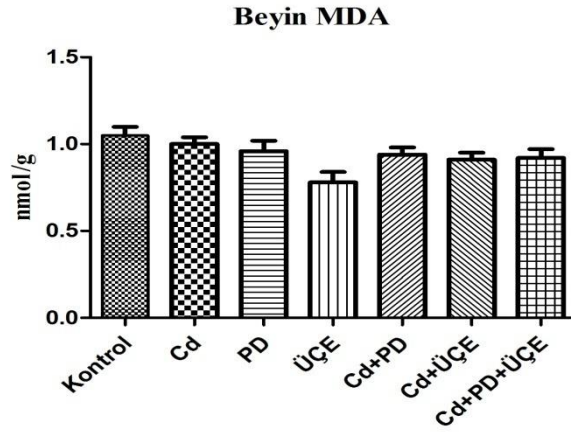
Grafik 4.16. Beyin Cd düzeyleri (Ölçüm sınırları altında)



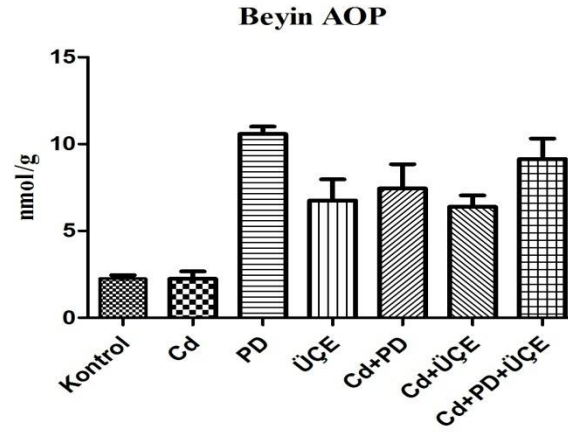
Grafik 4.17. Beyin TOS düzeyleri



Grafik 4.18. Beyin TAS düzeyleri



Grafik 4.19. Beyin MDA düzeyleri



Grafik 4.20. Beyin AOP düzeyleri

4.6. Testis Cd Konsantrasyonu, TOS, TAS, MDA ve AOP Düzeyleri

Testis Cd konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında en yüksek Cd konsantrasyon düzeyi Cd grubunda gözlenmiş olup, Cd+PD ve Cd+ÜÇE grupları dışında diğer gruplarla aralarında istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) fark olduğu görülmektedir. Kontrol, PD, ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE gruplarının kendi aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.5, Grafik 4.21).

Testis TOS düzeyleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında Cd+PD+ÜÇE grubunun en yüksek, PD, ÜÇE ve Cd+PD gruplarının ise en düşük TOS değerine sahip olduğu görülmekte olup, bu gruplar arasında istatistiki açıdan önemli ($p=0.001$) bir fark olduğu görülmektedir (Tablo 4.5, Grafik 4.22).

Testis TAS düzeyleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında en düşük TAS değerinin Cd grubunda gözlenmiş olup, kontrol grubu dışındaki diğer gruplarla aralarında istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) bir fark oluşmuştur. PD, ÜÇE, Cd+PD, Cd+ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE gruplarının kendi aralarında istatistiki açıdan bir fark oluşmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.5, Grafik 4.23).

Testis MDA değerleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında kontrol grubunun en yüksek değere sahip olup PD, Cd+PD ve Cd+ÜÇE grupları ile aralarında istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) bir fark oluşmuştur. Cd, ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE grupları arasında ise istatistiki açıdan bir fark oluşmamıştır (Tablo 4.5, Grafik 4.24).

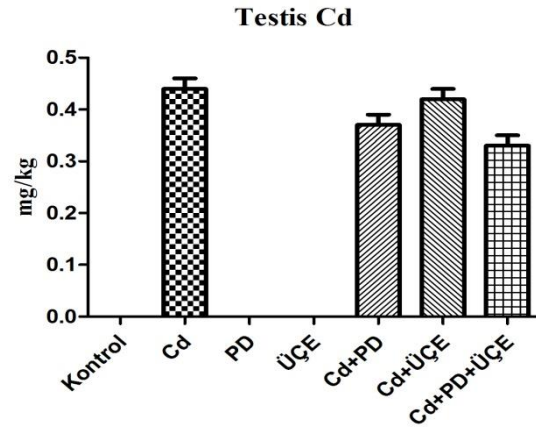
Testis AOP değerleri açısından gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında PD grubu en yüksek değere sahip olup, ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE grupları dışındaki tüm gruplarla aralarında istatistiki açıdan önemli ($p<0.001$) düzeyde bir fark oluşmuştur. Kontrol, Cd ve Cd+PD gurupları arasında ise istatistiksel bir fark oluşmamıştır (Tablo 4.5, Grafik 4.25).

Testis dokusunda ölçülen (mg/kg), TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L), TAS ($\mu\text{mol Trolox}$ equivalent/L), MDA (nmol/g), AOP (nmol/g) düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 4.5, Grafik 4.21, Grafik 4.22, Grafik 4.23, Grafik 4.24 ve Grafik 4.25’de gösterilmiştir.

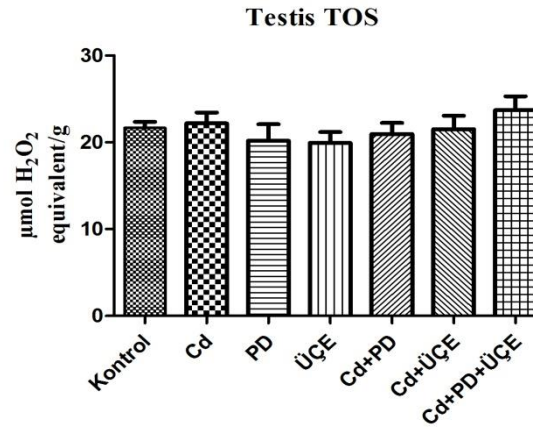
Tablo 4.5. Testis Cd, TOS, TAS, MDA ve AOP düzeyleri (n=7 \pm SE)

	Kontrol	Kadmiyum(Cd)	Polydatin(PD)	Üzüm Çek. Eks.(ÜÇE)	CD+PD	Cd+ÜÇE	Cd+Pd+ÜÇE	P =
Cd	0,00 \pm 0,00 ^b	0,44 \pm 0,02 ^a	0,00 \pm 0,00 ^b	0,00 \pm 0,00 ^b	0,37 \pm 0,02 ^{ab}	0,42 \pm 0,02 ^{ab}	0,33 \pm 0,02 ^{ab}	0,000
TOS	21,66 \pm 0,69 ^{ab}	22,19 \pm 1,24 ^{ab}	20,18 \pm 1,91 ^b	19,94 \pm 1,24 ^b	20,96 \pm 1,27 ^b	21,52 \pm 1,54 ^{ab}	23,70 \pm 1,62 ^a	0,001
TAS	0,62 \pm 0,03 ^{ab}	0,50 \pm 0,09 ^b	0,72 \pm 0,08 ^a	0,68 \pm 0,06 ^a	0,65 \pm 0,09 ^a	0,68 \pm 0,05 ^a	0,68 \pm 0,09 ^a	0,000
MDA	1,03 \pm 0,07 ^a	0,90 \pm 0,06 ^{ab}	0,69 \pm 0,04 ^b	0,89 \pm 0,10 ^{ab}	0,67 \pm 0,05 ^b	0,74 \pm 0,03 ^b	0,82 \pm 0,05 ^{ab}	0,003
AOP	3,65 \pm 0,95 ^c	5,04 \pm 1,01 ^c	12,32 \pm 1,83 ^a	11,17 \pm 2,40 ^{ab}	3,04 \pm 0,49 ^c	4,13 \pm 0,79 ^c	6,07 \pm 0,83 ^{bc}	0,000

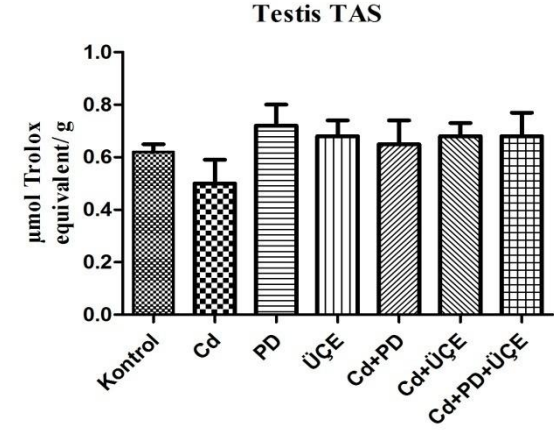
^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiki olarak önemlidir.



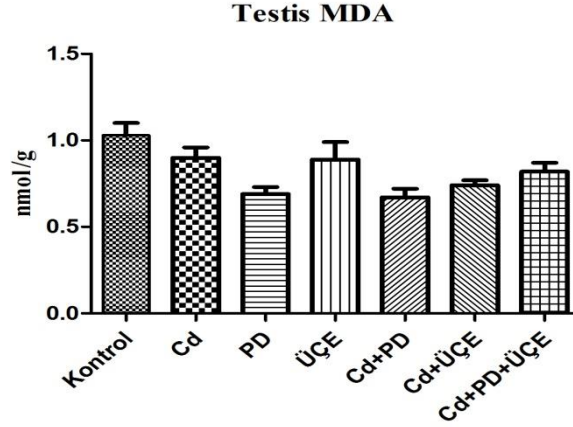
Grafik 4.21. Testis Cd düzeyleri



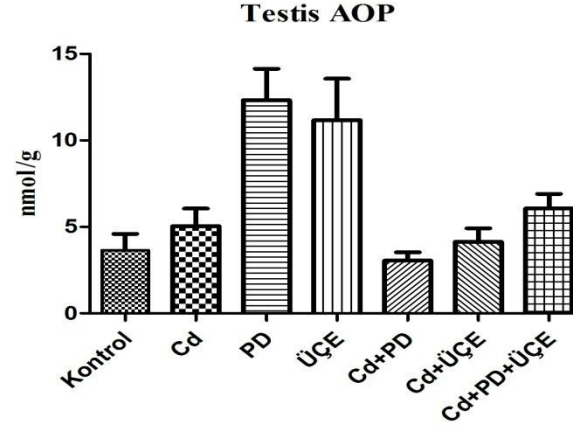
Grafik 4.22. Testis TOS düzeyleri



Grafik 4.23. Testis TAS düzeyleri



Grafik 4.24. Testis MDA düzeyleri



Grafik 4.25. Testis AOP düzeyleri

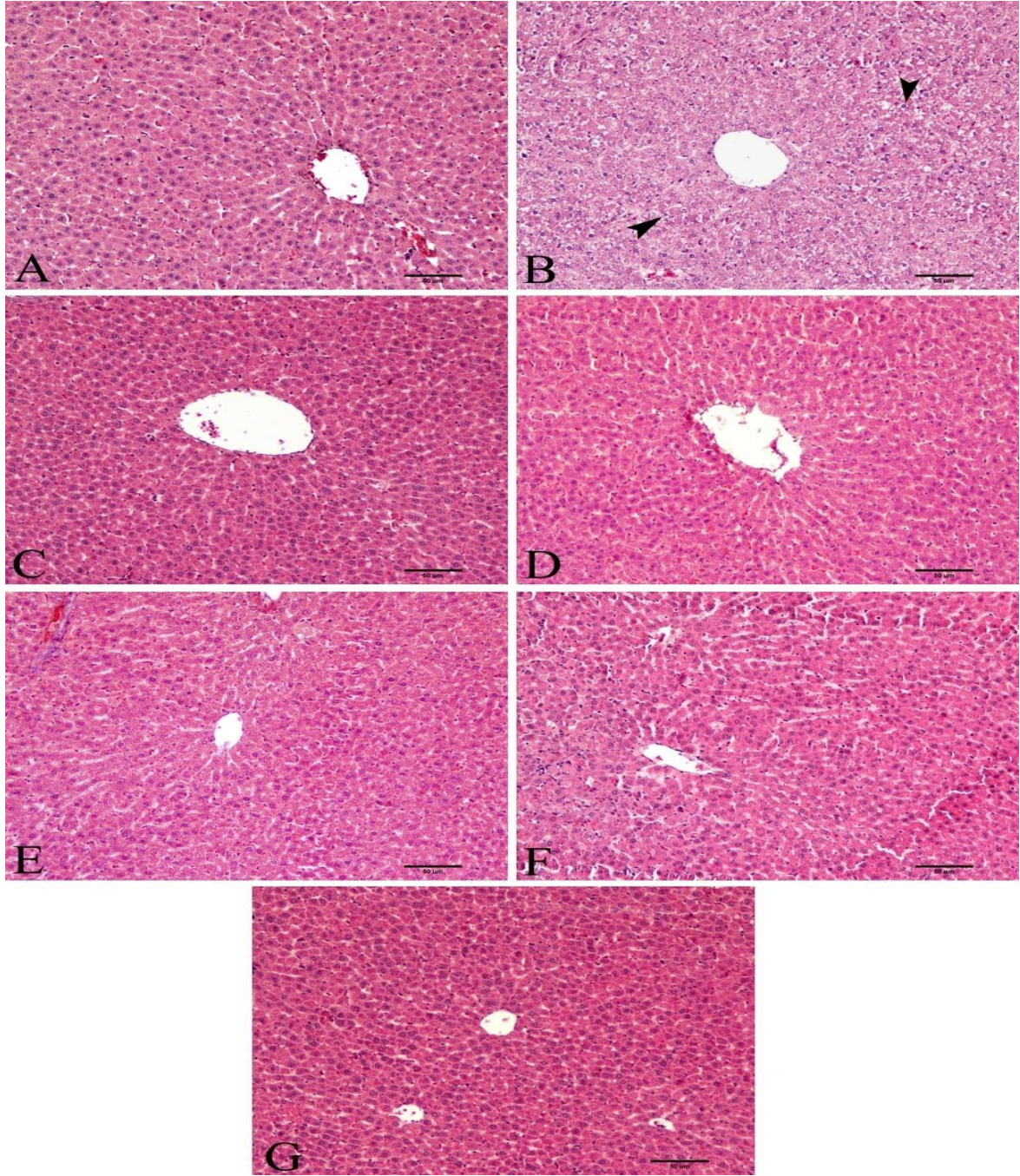
4.7. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarındaki hayvanlara ait organlarındaki histopatolojik değişiklikler ayrıntılı olarak tanımlanmış Tablo 4.6, Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Karaciğer, Beyin, Böbrek ve Testis dokularındaki histopatolojik bulgular

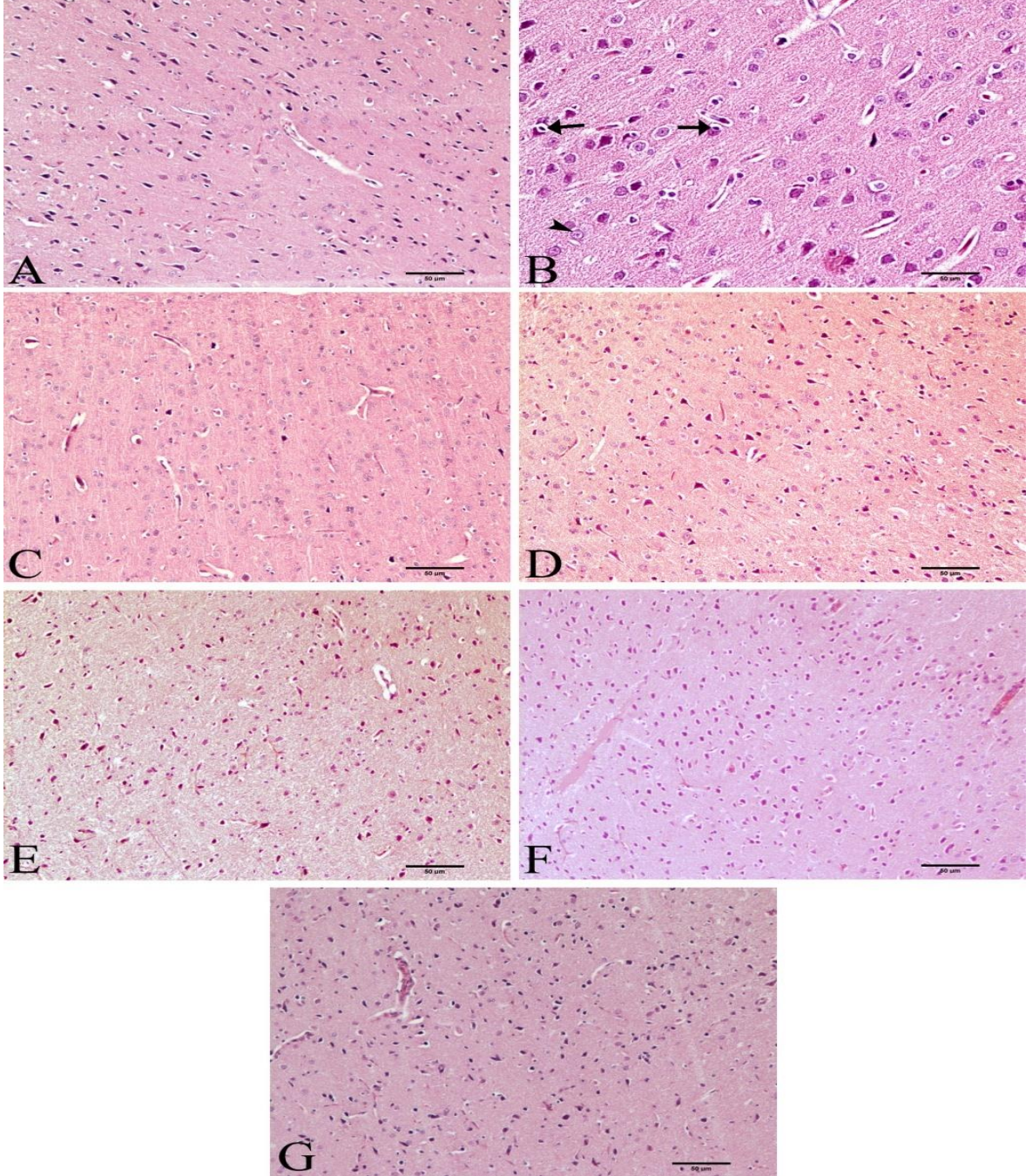
	Histopatolojik Bulgular	Kontrol	Cd	Pd	ÜÇE	Cd+Pd	Cd+ÜÇE	Cd+Pd+ÜÇE
Karaciğer	Sinuzoidlerde genişleme ve hepatositlerde dejeneratif değişiklikler	- (7/7)	+ (5/7) ++ (2/7)	- (7/7)	-(7/7)	- (4/7) ++ (3/7)	- (4/7) + (3/7)	- (7/7)
Beyin	Nöronlar çevresinde fokal gliozis ve nöronofaji	- (7/7)	+ (4/7) ++ (3/7)	- (7/7)	-(7/7)	- (5/7) + (2/7)	- (3/7) + (4/7)	- (6/7) + (1/7)
	Nöronda vakuolizasyon	- (7/7)	+ (4/7) ++ (3/7)	- (7/7)	-(7/7)	- (4/7) + (3/7)	- (7/7)	- (7/7)
Böbrek	Tubulus lumenlerinde hyalin silindirleri	- (7/7)	+ (1/7) ++ (6/7)	- (7/7)	-(7/7)	- (2/7) + (2/7) ++ (3/7)	- (3/7) + (4/7)	- (5/7) + (2/7)
	Tubulus epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon	- (7/7)	+ (1/7) ++ (4/7) +++ (2/7)	- (7/7)	-(7/7)	- (2/7) + (4/7) ++ (1/7)	- (5/7) + (2/7)	- (7/7)
Testis	TSK lumeninde spermatozoa yoğunluğunda azalma	- (7/7)	+ (4/7) ++ (3/7)	- (7/7)	-(7/7)	- (5/7) + (2/7)	- (5/7) + (2/7)	- (6/7) + (1/7)

4.7.1. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi



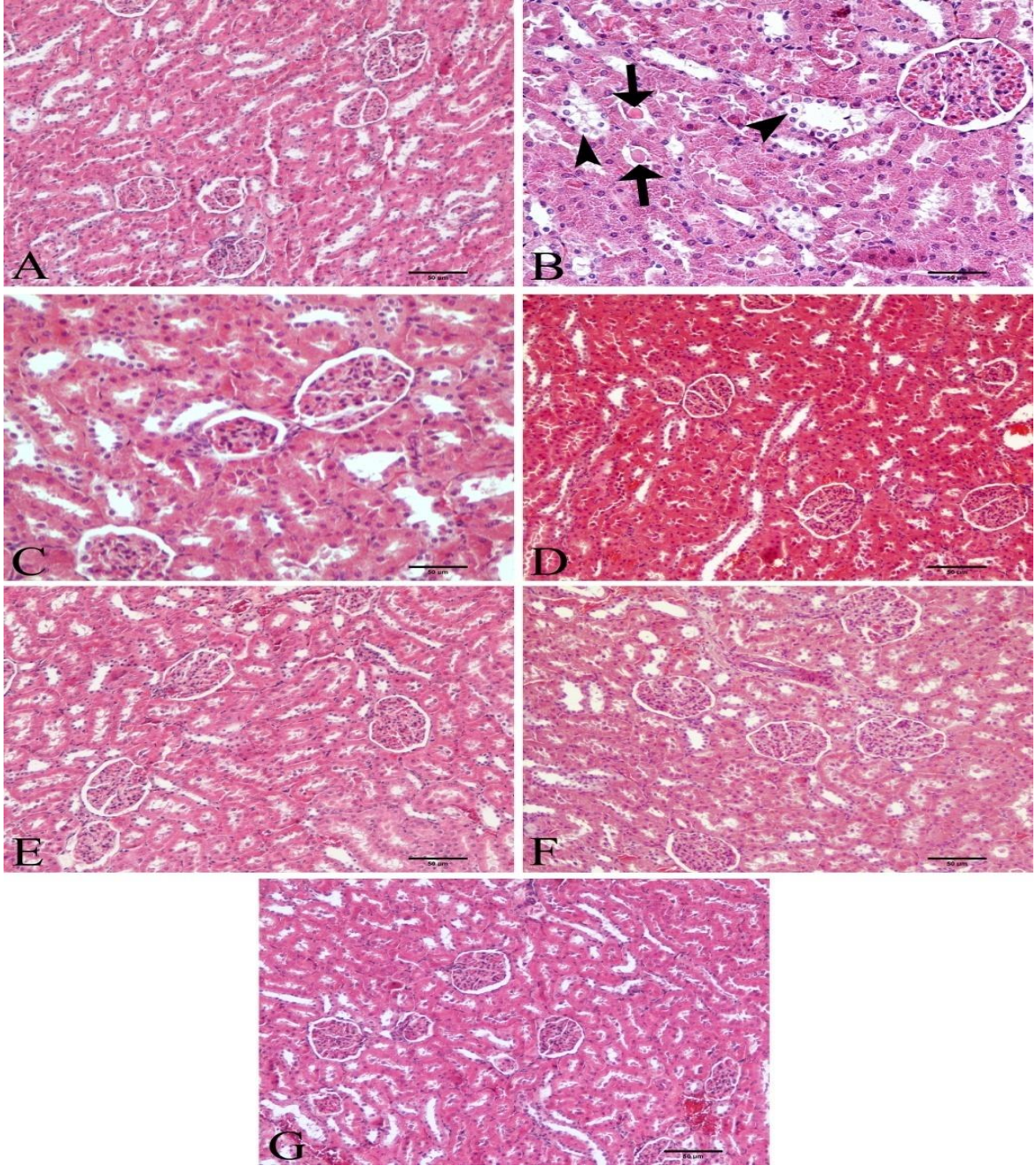
Resim 4.1. **A.** Normal karaciğer dokusu (Kontrol Grubu), **B.** Vena centralis çevresinde sinuzoidlerde genişleme ve hepatositlerde dejeneratif değişiklikler (ok başı) (Cd Grubu), **C.** Normal karaciğer dokusu (PD Grubu), **D.** Normal karaciğer dokusu (ÜÇE Grubu), **E.** Normal karaciğer dokusu (Cd+PD Grubu), **F.** Normal karaciğer dokusu (Cd+ÜÇE Grubu), **G.** Normal karaciğer dokusu (Cd+PD+ÜÇE Grubu) H&E ile boyanmıştır.

4.7.2. Beyin Dokusu Histopatolojik İncelemesi



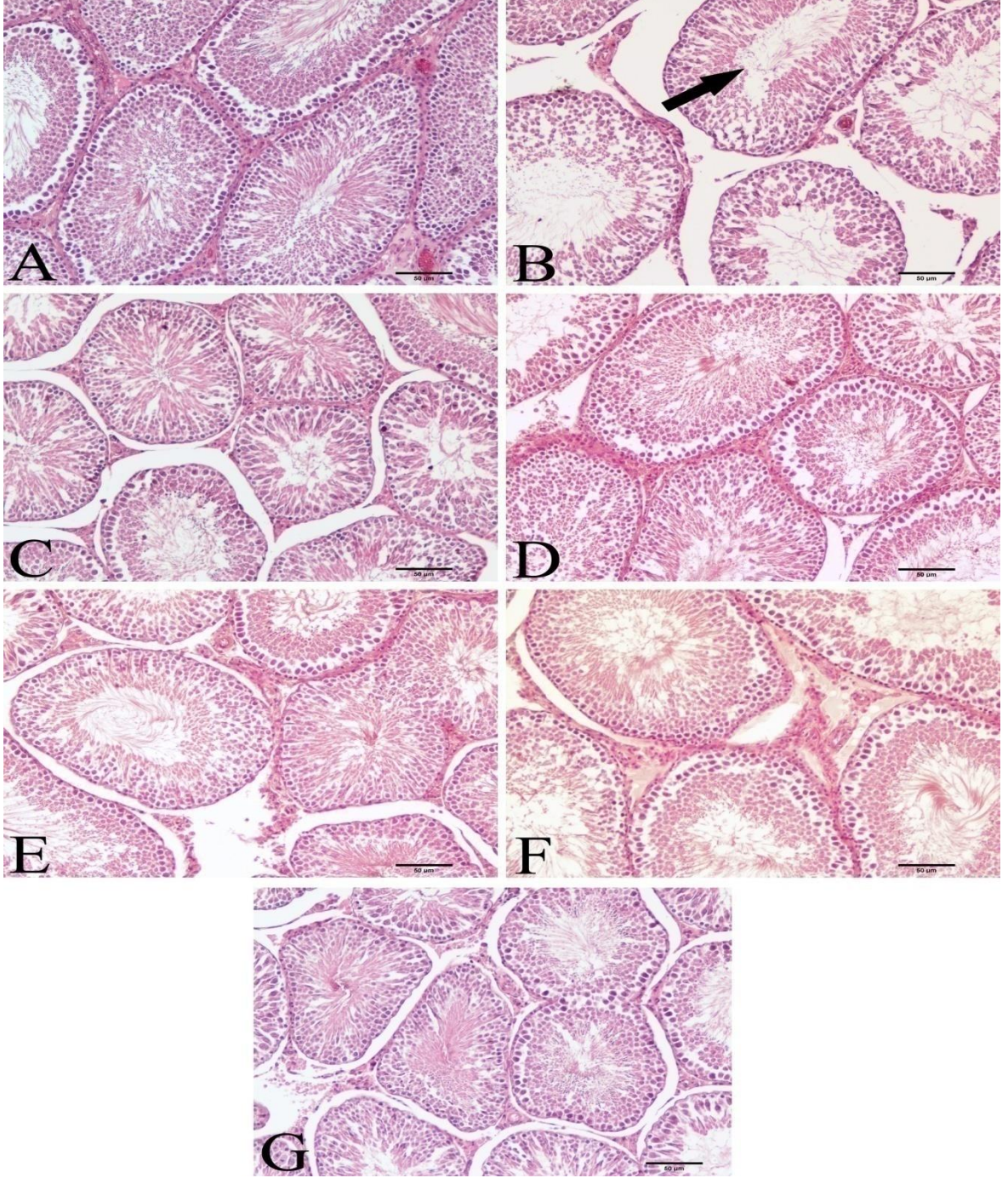
Resim 4.2. A. Normal beyin dokusu (Kontrol Grubu), B. Nöronlarda fokal gliozis ve hiperemi (Cd Grubu), C. Normal beyin dokusu (PD Grubu), D. Normal beyin dokusu (ÜÇE Grubu), E. Normal beyin dokusu (Cd+PD Grubu), F. Normal beyin dokusu (Cd+ÜÇE Grubu), G. Normal beyin dokusu (Cd+PD+ÜÇE Grubu) H&E ile boyanmıştır.

4.7.3. Böbrek Dokusu Histopatolojik İncelemesi



Resim 4.3. A. Normal böbrek dokusu (Kontrol Grubu), B. Tubulus lumenleri içerisinde hiyalin silindirleri (oklar) ve tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler (ok başı) (Cd Grubu), C. Normal böbrek dokusu (PD Grubu), D. Normal böbrek dokusu (ÜÇE Grubu), E. Normal böbrek dokusu (Cd+PD Grubu), F. Normal böbrek dokusu (Cd+ÜÇE Grubu), G. Normal böbrek dokusu (Cd+PD+ÜÇE Grubu) H&E ile boyanmıştır.

4.7.4. Testis Dokusu Histopatolojik İncelemesi



Resim 4.4. A. Normal testis dokusu (Kontrol Grubu), B. Tubulus lumenleri içerisinde hiyalin silindirleri (oklar) ve tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler (ok başı) (Cd Grubu), C. Normal testis dokusu (PD Grubu), D. Normal testis dokusu (ÜÇE Grubu), E. Normal testis dokusu (Cd+PD Grubu), F. Normal testis dokusu (Cd+ÜÇE Grubu), G. Normal testis dokusu (Cd+PD+ÜÇE Grubu) H&E ile boyanmıştır.

5.TARTIŞMA

Kadmiyumun toksik ağır metallere birisi olarak birçok sanayi dalında kullanımı, onun hava, toprak ve su yoluyla insan ve hayvanların besin zincirine girmesine veya solunum yoluyla Cd'a maruz kalmasına yol açmaktadır. Bu da Cd'u takip edilmesi gereken önemli kimyasallar arasına taşımış ve Cd toksisitesi yoğun olarak çalışılan bir konu haline gelmiştir (Prasad ve ark., 2006). Endüstri kollarındaki yaygın kullanımı, örneğin Nikel-Cd pillerinin yapımında, çinko, bakır ve kurşun cevherlerinin arındırılmasında, elektrolizle kaplama ve galvanizleme işlemlerinde paslanmayı önleyici olarak, metal alaşımı hazırlanmasında koruyucu olarak, plastiklerin üretiminde sağlamaştırıcı olarak, cam endüstrisi ve seramik yapımında ve boya maddelerinde kadmiyum sık kullanılması çevresel düzeylerinde artışa neden olmuştur. (Kirkham, 2006; Murugavel ve ark., 2007).

Çalışmamızda kontrol ve deneme grupları için kullandığımız rat yeminde yaptığımız ICP ölçümünde 0,15 mg/kg, ÜÇE'de 1,17 mg/kg, PD'de 0,20 mg/kg düzeyinde Cd tesbit edilmiş olması toprak ve besin zincirindeki Cd yaygınlığının göstergesi olarak dikkat çekicidir. Hayvanlara verdiğimiz suyun filtrelenecek artırılmış olması nedeniyle suda Cd'a rastlanmamıştır. Bu kapsamda insanlar için üretilen gıdalar ile hayvan yemlerinin ve içme sularının Cd içeriği açısından güvenli sınırlarda olup olmadığının araştırılması ve Cd için bir standart değer belirlenmesi önemlidir.

Bu metalin çok düşük derişimleri bile canlılar üzerinde toksik etki yaptığından, canlı türlerinde gelişim bozukluklarına, üremenin zarar görmesine ve mortaliteye sebep olabilmektedir (Elinder ve Piscator 1978; Koçak, 2004). Oral ve solunum yoluyla alınan Cd, ince bağırsaklardan emilir. Kanda MT, albümin ve tiyol grupları olan proteinlere bağlanarak organlara taşınır. Cd, en çok karaciğer ve böbrekte MT'ne ve diğer proteinlerin tiyol gruplarına bağlı olarak depolanır. Akut maruziyette Cd'un büyük bir çoğunluğu karaciğere dağılır. Ancak hepatik MT üretimini takiben redistribüsyonu böbrekte şekillenir. Vücuttan atılımı ise feçes ve idrarladır (Zalups ve Ahmad, 2003; Kirkham, 2006; Mendez-Armenta ve Rios,

2007). Tez çalışmamızda Cd'un karaciğer, böbrekler ve testiste akümülyasyon gösterdiği, aynı zamanda eritrositlerde depolandığı görülmüştür. Bu tablo, kan ve dokulardaki Cd depolanma süreçlerine ilişkin yayınları desteklemektedir.

El-Demerdash ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada 5 mg/kg dozda 15 gün boyunca oral gavaj yoluyla CdCl₂ uygulamasının plazma, karaciğer ve beyin dokularında hücre hasarı oluştuğu, Renugadevi ve Prabu, (2009) yaptıkları çalışmada 5 mg/kg canlı ağırlık dozda 4 hafta boyunca oral gavaj yoluyla CdCl₂ uygulamasının böbrek dokusunda hasar meydana geldiğini, aynı kişiler tarafından yapılan başka bir çalışmada ise yine aynı doz ve aynı süre uygulamasıyla karaciğer hasarı oluştuğunu belirtmişlerdir. Hagar ve Malki ise (2014), ratlarda yaptıkları çalışmada 5 mg/kg dozda 4 hafta boyunca gastrik gavaj yoluyla CdCl₂ maruziyetinin böbrek dokularında tahribat oluşturduğunu bildirmişlerdir. Tez çalışmamızda CdCl₂'ün 75 mg/kg olan LD₅₀ dozunun 1/15'i 4 hafta süreyle günlük 5 mg/kg gastik gavajla uygulanmıştır. Ratların karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularında izlenen histopatolojik tahribat yukarıdaki çalışmalarla aynı kanaati oluşturmaktadır.

Messaoudi ve ark. (2010), Cd verilen gruptaki hayvanları kanında Cd konsantrasyonu kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığını bildirmiştir. Bu çalışmada, Cd'un eritrositlerdeki düzeyinin yüksek olduğu, Cd maruziyetinden 24 saat sonra bile eritrosit Cd seviyesinin korunduğu görülmektedir. Dolayısıyla, Cd dokulara taşınarak depolanan bir ağır metal olarak kandaki mevcudiyetini devam ettirmiştir. ÜÇE ve PD'nin birlikte verilmesi eritrositlerdeki Cd konsantrasyonunu önemli düzeyde düşürmüştür (p<0,001). Zalups ve Ahmad (2003), yaptıkları araştırmada, dolaşımdaki serbest Cd oranının düşük olmasının nedeninin sistemik dolaşıma geçen Cd'un yüksek oranda eritrositlerde birikmesinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada plazma Cd düzeyleri eritrosit Cd düzeyleri ile karşılaştırıldığında plazma Cd seviyesinin belirlenemeyecek düzeyde çok düşük olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu, Cd'un eritrositlere affinitesini ortaya koymaktadır ki Cd'un eritrositler için hemoglobin, oksijen ve demir bağlama yeteneği açısından bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Bu kapsamda eritrositler Cd düzeylerinin ölçümü ve araştırılması için uygun bir doku olabilir.

Eybl ve ark. (2006), Cd uygulaması yapılan grupta karaciğer ve beyin dokusunda Cd konsantrasyonunun artış gösterdiğini bildirmiştir. Chen ve ark. (2013), 5 mg/kg dozda 30 gün süreyle CdCl₂ maruziyeti oluşturulan farelerin böbrek dokularını ışık mikroskobu altında incelemiş, epitelyum yapısının boru şekilli ve bulanık olduğunu, böbrek tübüllerinde yaygın koagülatif nekroz ve vakuoler dejenerasyon odakları gözlemişlerdir. Shagirtha ve ark., (2011) 5 mg/kg oral Cd, Nemmiche ve ark. (2007) 2 mg/kg i.v. Cd uyguladıkları ratların beyin dokusunda Cd akümüasyonu ve histopatolojik değişiklikler izlemişlerdir. Shagirtha ve ark. (2011), Cd uygulanan grubun beyin dokularındaki mikroskobik incelemelerde gliozis, süngerimsi nekroz ve lenfositik iltihap infiltratların olduğu gözlemişlerdir. Bazı çalışmalar ise akut maruziyette Cd'un kan-beyin bariyerinin koruyucu özelliği nedeniyle beyin parankimasını kolaylıkla geçemediği, kronik Cd maruziyeti sonucu kan-beyin bariyeri geçirgenliğinin artması sonucu Cd'un beyin dokusunda biriktiği belirtmişlerdir (Shukla ve ark., 1996). Ognjanović ve ark. (2010), Ola-Mudathir ve ark. (2008), Oguzturk ve ark. (2012), Manna ve ark. (2008), farklı yollarla oluşturdukları Cd maruziyetinin testisler üzerine etkilerini araştırdıkları bu çalışmalar bu alandaki aynı kanaate sahip çalışmalardandır. Tez çalışmamızda Cd'un en yüksek düzeyde eritrositlerde daha sonra sırasıyla karaciğer, böbrek ve testislerde depolandığı görüldü. Beyin dokusunda Cd akümüasyonu izlenmedi. Bu veriler memeli testislerinin Cd'a affinitesi en yüksek doku olduğu yönündeki çalışmalarını desteklememektedir (Bench ve ark., 1999; Shimada ve ark., 2002). Testislerdeki Cd affinitesi, testiküler nekroz ve kalıcı infertilite sorunlarına temel teşkil etmektedir. (Merian ve Weinheim, 1991).

Kadmiyum maruziyetinde karaciğer ve parankiması önemli bir hedeftir. Bunun nedeni tiyol gruplarınca zengin ve düşük molekül ağırlıklı metal bağlama özelliğine sahip olan metallothionein (MT) proteinlerinin sentezinin karaciğerde olmasıdır (Coyle ve ark., 2000). Cd maruziyetinin karaciğerde oluşturduğu zararın erken bulgularından biri de, mitokondriyal fonksiyonun bozulmasıdır (Sultan ve ark., 1998). Karaca ve ark., (2014) tarafından 30 gün süreyle Cd uygulaması yaptıkları sıçanların karaciğer dokularının mikroskobik incelemesinde, yağ dejenerasyonu, hidropik dejenerasyon, fibrosiz ve mononükleer hücre infiltrasyonu tespit

etmişlerdir. Renugadevi ve Prabu, (2010) yaptıkları çalışmada Cd maruziyeti uygulanan ratların karaciğer dokularındaki histopatolojik incelemede, sinüs dilatasyonu, yağlı dejenerasyon, sentrilobüler vakuolleşme, nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlenmişlerdir. Borges ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada ise Cd'un karaciğerde oluşturduğu hasarı histopatolojik incelemelerinde hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz odaklarının gözlemlenmelerini belirtmişlerdir. Tez çalışmamızdaki histopatolojik incelemede ise; Cd grubunda, karaciğer sinuzidlerinde daralma, hepatositlerde dejeneratif değişiklikler gözlemlendi (Şekil 4.1-B). Bulgularımız literatür verileriyle uyumlu olup Cd'un karaciğere affinitesinin ve toksik etkilerinin göstergesi niteliğindedir.

Kan ve karaciğerden süzülen Cd'un % 70'i böbrek proksimal tübüleri tarafından alınır. Yoğun Cd maruziyetinde böbreklerin hasar görmesiyle kandan asitleri uzaklaştırma fonksiyonları yok edilmektedir. Böbreklerdeki fonksiyon bozukluğu, kanda yüksek asit seviyesiyle seyreden birçok hastalığa sebep olmaktadır (Tsuruoka ve ark., 2000; Göktaş 2007). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmada, diyetle Cd maruziyeti sonucu ortaya çıkan renal fonksiyon bozukluklarının renal kortekste biriken Cd oranı ile uyumlu olarak artış gösterdiği (Satoh ve ark., 2002), kadmiyum toksisitesinin proksimal tübülüs hücrelerinde apoptoza yol açtığı (Suzuki, 1980) ve Cd'un önemli nefrotoksik etkilerinden birisinin de, tübülüs hücre nekrozu ve inflamasyonu sonucu intersitisyel fibrozise neden olduğu bildirilmiştir (Fang ve ark., 2002). Chen ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada (5 mg/kg dozda) 30 gün süreyle Cd maruziyeti oluşturdukları farelerin böbrek dokularını ışık mikroskobu altında incelenmiş olup epitelyum yapısının boru şekilli ve bulanık, böbrek tübüllerinde yaygın koagülatif nekroz ve vakuoler dejenerasyon gözlemlenmiştir. Renugadevi ve Prabu (2009), yaptıkları çalışmada Cd maruziyeti oluşturdukları sıçanların böbrek dokuları histopatolojik incelemelerinde, Cd uygulaması yapılan grupta kanama odakları, tübülüs nekroz, dejenerasyon gözlemlenmiştir. Tez çalışmamızdaki histopatolojik incelemede ise; Cd grubunda böbrek tubulus lumenleri içerisinde hyalin silindirler ve tubulus epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 4.3-B). Vücuttan Cd atılımında en etkin fizyolojik rolü üstlenen nefron yapısının akümülyasyondan ziyade

Cd transportu sırasında dejeneratif etkiye maruz kaldığını düşünmekteyiz. Cd'un bu nefrotoksik etkisinin tübüler hücre nekrozu ve inflamasyon ile gelişen fibrozis ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Fang ve ark., 2002).

Kadmium maruziyetinde kan-beyin bariyerinin etkin bir rol oynadığı, bu yüzden beyin parankimasını kolaylıkla geçemediği ancak kronik maruziyetlerde hücre membran geçirgenliğinin bozulması nedeniyle kan-beyin bariyeri geçirgenliğinin arttığı ve Cd'un beyin dokusunda birikiminin başladığı Shukla ve ark. (1996) tarafından bildirilmiştir. Tez çalışmamızda 30 gün boyunca 5 mg/kg/gün oral Cd uygulamasının beyin dokusunda birikime yol açmadığı, bir diğer ifadeyle uyguladığımız Cd'un kan-beyin bariyerini aşmadığı görülmüştür. Ancak histopatolojik incelemede nöronları etrafında fokal gliosis ve nöronlarda dejeneratif değişikliklerin gözlenmesi kan- beyin bariyerinin dejenerasyon sürecinin başladığını ve bunun nöronları etkilediğini göstermektedir (Şekil 4.2 - B). Mendez-Armenta ve ark. (2001) Cd maruziyeti oluşturdukları farelerin beyin dokularının ışık mikroskobu altındaki incelemelerinde hafif interstisyel ödem, hiperkromatik hücreler ve parietal korteks nekrozu şekillendiğini belirtmişlerdir. Shagirtha ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada 4 hafta boyunca Cd maruziyeti (5 mg/kg) uygulanan ratların beyin dokusundaki histopatolojik değişiklikleri incelemiş, gliosis, süngerimsi nekroz ve lenfositik iltihap infiltratların olduğu bildirmişlerdir. Kronik maruziyette Cd'un insanlarda koku duyusu kaybı, baş ağrısı ve vertigo gibi semptomlara, hayvanlarda ise serebro spinal sıvıda nörokimyasal kompozisyonun ve davranış bozukluklarının baş gösterdiği rapor edilmiştir (Antonio ve ark., 1999). Cd gibi güçlü bir toksik ağır metale karşı kan-beyin bariyeri önemli bir işlev görmekte ancak kronik maruziyetlerde hücre membranlarının geçirgenliği ile birlikte bu bariyerinde işlevini yitirdiği görülmektedir.

Kan-beyin bariyerinin aksine kan-testis bariyerinin işlevini daha hızlı yitirdiği ve testislerde Cd birikiminin tez çalışmamızda beyin dokusuna göre yüksek düzeyde olduğu tesbit edilmiştir. Bu tablonun altında testis damar yapısının hızla parçalanarak kan-testis bariyerinin ortadan kalkması yatmaktadır. Damar bütünlüğünün bozulması sertoli hücrelerinde dejeneratif değişikliklere, fokal gliosis

oluşumuna ve savunma hücreleri ile yangı hücrelerinin dokusal artışına yol açmaktadır. Bu mekanizmayı doğrular şekilde testislerde yüksek düzeyde Cd akümülyasyonu, histopatolojik değerlendirmede ise tubulus seminiferus kontortus lumeninde spermatozoa yoğunluğunda azalma ve hücre döküntüleri gözlenmiştir (Şekil 4.4-B).

Oğuztürk ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada akut Cd (1 mg/kg i.p.) toksisitesi oluşturdukları hayvanların testis dokularının histopatolojik incelemesinde, tubuler nekroz, intratübüler dev hücre oluşumu, dejenerasyon ve germinal epitel hücrelerinde dağılma gözlemlenmiştir. Manna ve ark. (2008) da Cd (4 mg/kg) maruziyeti uyguladıkları farelerin testis dokularında spermatojenik hücrelerin kısmi kaybı, şiddetli nekroz ve seminifer tübüllerde dejenerasyon şekillendiğini belirtmişlerdir.

Histopatolojik değerlendirmeler kapsamında görülmektedir ki uyguladığımız Cd toksikasyonu etkili olmuştur. Bu toksikasyonun dokularda oluşturduğu histopatolojik değişimleri önlemede her iki fitokimyasalın tek tek ve kombine kullanımları olumlu sonuç vermiş, lezyonların azaltılmasında bu gruplara ait histopatolojik görüntüler kontrol grubuna yakınlaşmıştır.

Hücrelerde ve hücreler arası ortamda Cd'a bağlı olarak ilkin Na^+ glikoz ve Na^+ aminoasit taşıyıcı proteinleri baskılanırken, daha sonra bazolateral Na^+ K^+ ATPaz aktivitesi azalmaktadır. (Tsuruoka ve ark., 2000; Göktaş 2007). Cd çevresel bir toksik ağır metal olarak serbest radikal artışına ve oksidatif strese yol açan başlıca faktörlerden birisidir. Cd'un neden olduğu oksidatif stres ve serbest radikal oluşumunu açıklayan bazı mekanizmalar öne sürülmektedir. Cd, metalloenzimlerdeki çinko, kalsiyum, bakır ve demir gibi elementlerin yerini alarak bu metallerin bağlı olmayan formlarının miktarını artırır; glutatyon gibi serbest radikal süpürücülerin tiyol ve sülfidril gruplarına bağlanıp, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimleri inhibe eder (Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Waisberg ve ark., 2003; Bertin ve Averbeck, 2006). İleri sürülen bir diğer mekanizma ise, Cd'un kalmodulindeki Ca^{+2} 'la yer değiştirip, kalmoduline bağlı

fonksiyonları etkiliyor olmasıdır (Lermioğlu ve Bernard, 1998). Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, (2001) Cd'un proteinler, enzimler gibi tiyol (-SH) grubu içeren biyolojik yapılara olan güçlü afinitesinden dolayı bu yapılara bağlanarak onların aktivitelerini baskıladığını bildirmişlerdir. Ayrıca Cd hücrede mitokondriye girerek hücre solunumu oksidatif fosforilasyon düzeyinde etkilediği, bu yolla lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumunu artırdığı bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar Cd'un CAT, mangan-SOD ve Cu/Zn-SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini inhibe ettiğini de belirtmişlerdir (Ercal ve ark., 2001).

Kadmiyumun insan ve hayvanlarda akut ve kronik maruziyetinde oksidatif strese yol açan etkileri üzere yapılmış birçok çalışma mevcuttur (Shukla ve ark., 1996; Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Waisberg ve ark., 2003; Mendez-Armenta ve ark., 2003; Bertin ve Averbeck, 2006). Cd'un böbrek, karaciğer, beyin, kalp, akciğer, plasenta ve uterusu serbest radikal üretimi ve oksidatif stresi artırarak, lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin oksidasyonuna neden olduğu, nekrozu indüklediği ve hücre hasar oluşturduğu; kronik maruziyette ise özellikle akciğer, böbrek, karaciğer ve kemikte ciddi dokusal hasarlara yol açtığı bildirilmiştir (Friberg ve ark., 1976; Coyle ve ark., 2000; Liu ve ark., 2002; Zhou ve ark., 2004; Koyutürk ve ark., 2006; Choi ve ark., 2007). Çalışmamızda Cd eritrositler, karaciğer ve böbrekte MDA seviyesinin rakamsal olarak arttığı, testis ve beyinde ise azaldığı izlenmiştir. Bu sonuçla beyin ve testis bariyerlerinin etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Oksidan-antioksidan dengenin bozulmasını önlemek üzere çalışan bir sistem olan endojen antioksidan sistem ve ekzojen antioksidan maddeler hücre içinde ve interselüler ortamda aktif olarak çalışır. Bu yolla, birçok hastalık için sekonder etken olan oksidatif stres baskılanmakta serbest radikal kaynaklı hücre hasar onarılmaktadır (Berger, 2005). Çalışmalarda canlı hücrelerdeki protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleme, geciktirme ve hasarın onarımında Polydatin etkinliği bildirilmiş (Shan ve ark., 2008, Pan ve ark., 2007, Wang ve ark., 2004, Zhou ve ark., 2005; Shan ve ark., 2008, Regev-Shoshani ve ark., 2003), ancak Cd maruziyetindeki rolü ilk kez bu tez çalışmasında araştırılmıştır. Tez çalışmamızda kullandığımız bir diğer antioksidan

fitokimyasal olan üzüm çekirdeği ekstraktının Cd maruziyetindeki etkileri yoğun olarak çalışılmıştır (Takahashi ve Koboyashi, 2003; Şehirli ve ark., 2008; Bijak ve ark., 2012).

Kadmiyum maruziyetinde birçok antioksidan fitokimyasalın etkileri araştırılmaktadır. Amamou ve ark. (2015) tarafından 2 ay süreyle Cd maruziyeti uyguladıkları ratların kanlarında zeytinyağının etkilerini araştırdıkları çalışmada MDA seviyelerinde düşüş SOD ve CAT seviyelerinde ise artış olduğunu bildirmişlerdir. Kanter ve ark. (2005), Cd kaynaklı oksidatif stres üzerine siyah kimyonun (*Nigella sativa*) etkilerini araştırmak için, günlük 0,49 mg/kg subkutan dozda 30 gün süreyle Cd'a maruz bıraktıkları ratların kanlarında, MDA düzeylerinde azalma, SOD, CAT ve GPx düzeylerinde artış rapor etmişlerdir. Messaoudi ve ark. (2010), Cd kaynaklı oksidatif stres oluşturulan ratların eritrositlerinde selenyum, çinko ve bu iki antioksidan maddenin kombine uygulamasının etkileri araştırmışlar, Cd uygulanan grubun MDA değerleri yükselirken, selenyum, çinko ve üçünün birlikte uygulandığı gruplarda MDA seviyesinin düştüğünü tespit etmişlerdir. Cd uygulaması GSH, SOD ve CAT aktivitelerini önemli ölçüde düşürürken, selenyumun tek başına ya da çinko ile birlikte uygulandığı grupta GSH düzeyleri artmıştır. Fakat çinkonun tek başına oksidatif strese karşı antioksidan etki göstermediği belirlenmiştir. CAT değerlerinin tüm gruplarda anlamlı bir şekilde arttığı tesbit edilmiştir. SOD değerleri çinko grubunda artarken, diğer gruplarda değişmemiştir.

Tez çalışmamızda oksidan statü plazma TOS ve MDA düzeyleri ile değerlendirilmiştir. Cd, ÜÇE ve Cd+PD gruplarında TOS değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel önemde düşmüş ($p<0,001$), PD, Cd+ÜÇE ve Cd+PD+ÜÇE uygulamaları yapılan gruplarda ise istatistiksel bir önem görülmemiştir. Plazma MDA'sı Cd+PD grubunda Cd grubuna göre istatistiksel olarak azalırken ($p<0,05$), diğer gruplarda istatistiki bir anlamlılık oluşmamıştır. TAS düzeyleri değerlendirildiğinde PD ve Cd+PD+ÜÇE gruplarında Cd grubuna göre önemli düzeyde artış görülmüştür ($p<0,01$). Kontrol, ÜÇE, Cd+PD ve Cd+ÜÇE gruplarında Cd grubuna göre istatistiki açıdan anlam oluşmamış, fakat plazma TAS değerlerinde rakamsal olarak artış belirlenmiştir. Plazma AOP düzeylerinde ise en yüksek değer

PD grubunda olduğu belirlenmiş olup, kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda istatistiki anlamda önemli bir düşüş ($p \leq 0,001$) belirlenmiştir. Cd ile birlikte antioksidan fitokimyasalların tek tek ve kombine verildiği gruplarda ise Cd grubuna göre rakamsal olarak izlenen artış istatistiksel düzeyde olmamıştır. Kanda yapılan ölçümler ışığında; Cd'un eritrositlerde depolandığı, plazmada Cd'un ölçülemeyecek düzeyde olduğu anlaşılmıştır. Cd grubu plazma TOS seviyesinde önemli düzeydeki düşüşün görülmesi eser miktarda Cd'un antioksidan etkili olabileceğini göstermiştir. Özellikle PD'in eritrositlerde Cd akümülyasyonunu önemli düzeyde azalttığı bu yönüyle ve ÜÇE'na göre daha etkin rol oynadığı görülmüştür. PD'in plazmada da etkin bir antioksidan olduğu görülmüştür.

Toksikasyonlarda sıklıkla araştırılan ve özellikle üzerinde durulan başlıca organlardan biri olan karaciğer Cd toksikasyonu uygulanan birçok çalışmada araştırılmıştır. Karaca ve ark. (2014), 30 gün süreyle Cd uygulanan ratlarda, karaciğer SOD ve GSH-Px değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığını, MDA düzeylerinin ise anlamlı bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Cd maruziyeti ile birlikte melatonin enjekte edilen ratlarda ise kadmiyum grubuna göre, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinde artış olurken, MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bildirilmiştir. Eybl ve ark. (2006), akut Cd maruziyetine bağlı oksidatif stres hasarına karşı curcumin, resveratrol ve melatoninin koruyucu etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemişler; Cd uygulamasının artırdığı karaciğer Cd akümülyasyonunu curcumin, resveratrol ve melatoninin azaltmadığı, Cd uygulamasının artırdığı karaciğer MDA seviyesini her üçünün de düşürdüğü tespit edilmiştir. Her üç fitokimyasalın GSH seviyesini ve Cd'un düşürdüğü GP_X aktivitesini tekrar yükseltemediği, Cd uygulaması yapılan grupta azalan karaciğer CAT değerlerini ise resveratrolün tekrar yükselttiği belirlenmiştir. Amamou ve ark. (2015), iki ay süreyle CdCl₂ maruziyeti uygulanan ratlarda zeytinyağının etkinliğini araştırmışlardır. MDA seviyelerindeki düşüş, SOD ve CAT seviyelerindeki artıştan zeytinyağının bir fitokimyasal olarak karaciğerde antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı oksidatif stresi azalttığı bu yolla karaciğeri korumuş olabileceği sonucuna varmışlardır. Literatürlerde Cd maruziyetinde PD'in antioksidan etkinliğini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır. ÜÇE'nin ise, Cd maruziyetinde karaciğer dokusu

oksidan-antioksidan göstergelerine ilişkin bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Tez çalışmamızda bu yüzden PD ve ÜÇE bulguları literatür açısından önem arz etmektedir. Çalışmamızda karaciğer TOS seviyelerinde Cd grubunun en yüksek değere sahip olduğu, Cd+PD+ÜÇE grubunun ise en düşük değere sahip olduğu belirlenmiştir. PD ve ÜÇE'nin birlikte kullanılması karaciğer TOS değerlerini düşürmüş ve bu gruplar arasında istatistiki anlamda düşüş ($p<0,05$) belirlenmiştir. Fitokimyasal uygulaması yapılan diğer gruplarda ise Cd grubuna göre rakamsal olarak bir azalma görülsede bu azalma istatistiki verilere yansımamıştır. Cd maruziyetinde karaciğer MDA seviyelerinde Cd grubunun en yüksek değere sahip olduğu, PD ve Cd+PD guruplarının ise en düşük karaciğer MDA seviyelerine sahip olduğu belirlenmiştir. Karaciğerde ÜÇE'nin Cd maruziyetine karşı etkin bir serbest radikal baskılatıcı olduğu dikkat çekmektedir. Karaciğer antioksidan potansiyeli PD tarafından güçlü bir şekilde yükseltilmiştir. PD grubunda kontrol ve Cd grubuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyinde önemli ($p<0,001$) bir artış görülmüştür.

Çalışmamız verilerine göre Cd böbrek dokusu için bir oksidatif stres faktörü değildir. Bu yüzden histopatolojik gözlemde böbrek dokusunda izlenen olumsuz tablonun başlatıcısının serbest radikaller ve oksidatif stres olmadığını düşünmekteyiz. Hatta Cd grubunda göreceli olarak artan AOP göz önüne alındığında yüksek düzeyde Cd akümülyasyonuna rağmen hafif bir AOP artışı böbrek dokusunun endojen antioksidan mekanizmasının çok güçlü olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Tek başına PD uygulaması yapılan grup ve Cd ile birlikte uyguladığımız fitokimyasallar olan PD ve ÜÇE böbrek AOP'nu artırmıştır. Ancak her iki fitokimyasalın Cd maruziyetine karşı kombine kullanıldığı gruptaki MDA seviyesi hem kontrol grubuna hemde Cd grubuna göre oldukça dikkat çekici bir artış göstermiştir ($p<0,001$). PD'in böbrekler için güçlü bir antioksidan olduğu ancak Cd maruziyetinde tek başına antioksidan etkinlik gösteremediği, ÜÇE ile birlikte uygulandığı grupta AOP artırdığı, ancak bu artışın serbest radikal reaksiyonlarındaki artışı önleyemediği görülmüştür. Bu durum böbrek dokusunun filtrasyon merkezli bir işleve sahip olması nedeniyle birçok antioksidan maddeyi de filtre etmesinden kaynaklanabilir (Aslan, 1996). Antioksidanların filtre ediliyor olması AOP'in böbrek

dokusunda serbest radikal giderici etki göstermesini engelleyebileceğini düşünmekteyiz. Bu bulgularımız birçok literatürden farklıdır. Renugadevi ve Prabu, (2009), Cd maruziyeti oluşturdukları ratlara 4 hafta boyunca, hergün 5 mg/kg dozda CdCl₂ ile 25 ve 50 mg/kg naringenin oral uygulanmıştır. Lipid peroksidasyon göstergesi olan TBARS seviyeleri Cd uygulanan grupta artırmış, naringenin uygulaması bu artışı düşürmüştür. Chen ve ark. (2013), 5 mg/kg dozda 30 gün süreyle CdCl₂ maruziyeti oluşturulan farelerin böbrek dokuları üzerinde üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresinin (GSPE) 50-100-200 mg/kg miktarlardaki etkisini araştırdıkları çalışmada, Cd uygulamasının böbrek MDA düzeylerini anlamlı şekilde artırdığı, Cd+GSPE uygulanmasının ise doza bağlı olarak MDA seviyesini belirgin biçimde düşürdüğünü, Cd uygulamasının azalttığı GSH-Px ve SOD gibi antioksidan enzim seviyelerini ise yükselttiğini bildirmişlerdir. Hagar ve Malki, (2014), Cd (5 mg/kg dozda) maruziyeti uyguladıkları ratların böbrek dokusunda TBARS değerlerinde artış, Cd+Betain uygulaması yapılan grupta ise düşüş bildirmişlerdir.

Beyin ve testis dokusu sahip oldukları kan bariyeri nedeniyle toksikasyon uygulamalarından nasıl etkilendikleri merak edilen iki dokudur. Beyin dokusu ile başlayacak olursak; Eybl ve ark. (2006), akut Cd maruziyetinin beyin dokusunda oksidatif stres hasarına yol açtığını bildirmişlerdir. Shagirtha ve ark. (2011), 4 hafta boyunca Cd maruziyeti (5 mg/kg) uyguladıkları ratlarda melatoninin beyin dokusu üzerindeki koruyucu etkisini araştırmışlar, Cd uygulanan gruplarda TBARS değerlerinin arttığını, melatoninin bu artışı önlediğini bildirmişlerdir. Melatoninin GSH, SOD ve KAT değerlerini de artırdığını ifade etmektedirler. Nemmiche ve ark. (2007), 2 mg/kg dozda i.v. CdCl₂ uygulaması yapılan ratlarda beyin dokusunda MDA seviyesinin kontrole göre arttığını rapor etmişlerdir. α -tokoferol'un MDA seviyelerini geriletmede başarılı bir antioksidan olduğunu bildirmişlerdir. Tez çalışmamızda uygulanan dozda Cd beyinde akümülyasyona ve oksidan statüyü ve MDA seviyesinde bir artışa yol açmamıştır. Kan-beyin bariyerinin Cd'a karşı güçlü bir koruyuculuk gösterdiği düşünülmektedir. Buna rağmen Cd'un nöronlar etrafındaki kan damarlarında histopatolojik oluşumlar başlattığı tespit edilmiştir. ÜÇE ve PD kontrol grubuna görede Cd grubuna görede çok güçlü bir antioksidan

potansiyel oluşturmuşlardır. Bulgularımız PD ve ÜÇE'nin beyin dokusu için ideal antioksidan fitokimyasallar olduğunu göstermektedir.

Bariyerli dokulardan ikincisi olan testis Cd uygulamalarından yoğun olarak etkilenmektedir. Çalışmamızda kan-testis bariyeri Cd'a karşı bu direncini koruyamadığı böylece testis dokusunu yeterince savunamadığı görülmüştür. Bu bulgu, histopatolojik değerlendirmede izlediğimiz tubulus seminiferus kontortus lumeninde spermatozoa yoğunluğunda azalma ve hücre döküntüleri (Şekil 4.4-B), ile tespit edilmiştir. Fakat bütün bu gelişmeler testislerde belirgin bir oksidatif stres ve MDA artışına yol açmamıştır. Testis dokusundaki histopatolojik değişimin de böbrek ve beyin dokusunda olduğu gibi oksidatif stres tarafından başlatılmadığı düşünülmektedir. Uyguladığımız fitokimyasallar olan PD ve ÜÇE'nin testis dokusunda kontrol ve Cd grubuna göre serbest radikal oluşumunu baskılayıcı etki gösterdiği rakamsal olarak izlenmiştir. Buna rağmen her iki fitokimyasalın da AOP'u kontrol grubuna göre artırdığı, ancak Cd maruziyetinde ise AOP seviyelerini destekleyemedikleri görülmüştür.

Cd toksikasyonunun testis dokusuna etkilerine yönelik çalışmaların yetersiz olduğu gözlenmiştir. Farklı modeller oluşturularak yapılan Cd toksikasyonu çalışmaları mevcuttur. Ognjanovic ve ark. (2010), Cd maruziyeti uygulanan ratların testis dokularında koenzim Q10 ve vitamin E'nin koruyucu etkinliği araştırılmış olup, Cd uygulaması yapılan grupta MDA seviyeleri kontrol grubuna göre artarken, Cd'un koenzim Q10 ve vitamin E ile tek tek ve birlikte uygulandığı gruplarda önemli bir değişim gözlenmemiştir. Cd uygulanan grupta SOD, CAT ve GSH-Px değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı belirlenirken, Cd ile beraber koenzim Q10 ve vitamin E uygulamalarında SOD ve CAT seviyelerinde Cd uygulanan gruba göre artış görülmüştür. Koenzim Q10 ve vitamin E serbest radikal reaksiyonlarına karşı etkili bulunmamış, ancak antioksidan enzim etkinliğini artırmıştır. Ola-Mudathir ve ark. (2008), Cd uygulamasının ratların testis dokularında oluşturduğu hasara karşı soğan (*Allium cepa* Linn) ve sarımsak (*Allium sativum* Linn) ekstraktlarının koruyucu etkisini araştırmışlardır. Cd uygulanan grupta LPO düzeylerinde belirgin artış, GSH, SOD ve CAT düzeylerinde ise düşüş belirtilmiş olup, soğan ve

sarımsağın tek tek ve birlikte uygulanmasının LPO değerlerinde değişen düzeylerde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir. GSH, SOD ve CAT gibi endojen antioksidanları da artırdığı belirtilmiştir. Oguzturk ve ark. (2012), akut Cd (1 mg/kg i.p.) toksisitesine karşı erkek üreme sisteminde kurkuminin koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada Cd'un TBARS değerini artırdığı, GSH, SOD ve CAT seviyelerini azalttığı görülmüştür. Kurkumin TBARS seviyesini düzeltmiş, GSH, SOD ve CAT seviyelerini ise artırmıştır. Çalışmamız literatürlerden farklı olarak uyguladığımız Cd maruziyetinin oksidatif göstergeleri artırmadığını ortaya koymaktadır. Literatürde hakkında yeterli bilgi bulunmayan PD ve ÜÇE'nin testis dokusu için AOP'li artırıcı etkisi saptanmış ancak Cd maruziyetinde bu özelliklerini aktifleyemedikleri görülmüştür.

Çalışmamızda oksidatif stres göstergeleri ile histopatolojik değerlendirmeler karaciğer dokusu dışında diğer dokulardaki dokusal hasarın oksidatif ürünler tarafından başlatılmadığını göstermektedir. Cd'un tiyol ve sülfidril içeren bütün organlara affinitesi bulunduğundan hücrelerin protein içerikli yapıları olan membranlarında güçlü bir serbest radikal oluşum süreci başlatması, böylece hücrel bağlantı noktalarının, özellikle karaciğer ve böbrekte gap-junctionların bozulmasına neden olduğuna yönelik bildirimler mevcuttur.

6.SONUÇ

Tez çalışmasında uyguladığımız yöntem ve miktarda polydatin ve üzüm çekirdeği ekstraktı en etkin antioksidan özelliğini kan ve karaciğer dokusunda göstermiştir.

Kadmiyumun kanda eritrositlerde depolandığını izledik. Bu sebeple, kanda Cd ölçümü sırasında tam kanın veya eritrosit paketinin tercih edilmesi uygun olabilir. Çünkü plazmada Cd ölçülebilir düzeylerde izlenmemiştir.

Kan-beyin bariyeri kan-testis bariyerine göre Cd maruziyetinde daha etkili görülmüştür. Cd maruziyeti gruplarında plazma, karaciğer ve böbrek MDA seviyelerinin artmış olması, beyinde ise azalmış olması, ayrıca beyin dokusunda Cd'un tespit edilememiş olması bu etkinliği gösteriyor olabilir.

Kadmiyum kaynaklı doku dejenerasyonlarında, Cd'un tiyol ve sülfidril affinitesi nedeniyle hücrelerin membranlarındaki proteinlere ilgisi sonucu hücresel bağlantı noktalarında, özellikle karaciğer ve böbrekte gap-junctionlarda bozulmaya neden olduğu yönündeki literatür bilgi, histopatolojik değişimlerin temel nedeni olabilir.

Polydatinin eritrositlerde Cd akümülyasyonunu önemli düzeyde azalttığı bu yönüyle kanda ÜÇE'ye göre daha etkin rol oynadığı görülmüştür. Histopatolojik değerlendirmeler, her iki fitokimyasalın tek tek ve kombine kullanımlarının olumlu sonuç verdiğini, lezyonların azaltılmasında bu gruplara ait histopatolojik görüntülerin kontrol grubu verilerine yaklaştığını göstermiştir.

Kadmiyum maruziyetinde PD'in antioksidan etkinliğini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır. ÜÇE'nin ise, Cd maruziyetinde karaciğer dokusu oksidan-antioksidan göstergelerine ilişkin bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu tez çalışmasındaki PD ve ÜÇE bulguları araştırmacılar için literatür önem arz etmektedir.

Karaciğerde ÜÇE'nin PD'e göre daha etkin bir serbest radikal baskılatıcı olduğu dikkat çekmektedir.

Polydatin ve ÜÇE'nin serbest radikal oluşumunu baskılayıcı etkilerinin testis dokusunda da güçlü olduğu, ancak AOP ve TAS seviyelerine bakıldığında bu özelliklerini Cd maruziyeti ortamında gösterememişlerdir.

Tez çalışmamızda Cd'un beyinde akümülyasyona yol açmadığı izlenmiştir. Ancak bu düzeyde Cd'un nöronlar etrafındaki kan damarlarında histopatolojik oluşumlar başlattığı tespit edilmiştir. Bu tabloda, kan-beyin bariyeri yanı sıra ÜÇE ve PD'in oluşturduğu çok güçlü antioksidan potansiyelin etkili olduğunu düşünmekteyiz. Bu sebeple PD ve ÜÇE'nin beyin dokusu için ideal antioksidan fitokimyasallar olduğu söylenebilir.

Kan-testis bariyerinin PD ve ÜÇE'yi geçirmediği ancak Cd'a karşı testis dokusunu aynı derecede savunamadığı görülmüştür.

Kadmiyum maruziyetinde dokularda çok güçlü bir oksidatif stres tablosu izlenmemiş olmasına rağmen tüm dokularda histopatolojik değişimlerin değerlendirilmiş olması doku hasarının primer başlatıcı etkeninin oksidatif stres olmadığını düşündürmüştür.

Kadmiyumun bazı dokularda TOS ve MDA düzeyini düşürmüş olması, ortamdaki miktarına bağlı olarak kimi zaman antioksidan gibi davranabileceğini akla getirmiştir.

Bütün bu bulgular doğrultusunda, farklı dozaj ve uygulamaların farklı süreçlerde farklı hayvan modellerinde denenerek yeni verilerin elde edilmesi önem arz etmektedir.

ÖZET

Kadmiyum Toksikasyonuna Maruz Bırakılan Ratlarda Polydatin ve Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Kan, Karaciğer, Böbrek, Beyin ve Testis Dokularına Etkilerinin Histopatolojik ve Oksidan-Antioksidan Göstergelerle Araştırılması

Kadmiyum gibi toksik faktörlere karşı oluşan farkındalık, onların etkilerini daha iyi araştırmayı ve toksikasyon faktörlerinden sürdürülebilir şekilde korunmayı gerektirmektedir. Bu bakışla, antioksidan fitokimyasal maddelerden etkin ve güvenli şekilde yararlanım önem arz etmektedir. Ratlar üzerinde yapılan bu çalışmada, kadmiyumun klörür uygulamasının kan, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularındaki etkilerine karşı polydatin (PD) ve üzüm çekirdeği ekstraktı'nın (ÜÇE) koruyucu rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 49 adet "Wistar-albino" cinsi yetişkin erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlar yedi eşit gruba ayrıldı: Kontrol grubu (serum fizyolojik), Cd grubu (5mg/kg CdCl₂), PD grubu (120 mg/kg PD), ÜÇE grubu (120 mg/kg ÜÇE), Cd+ PD grubu (5mg/kg CdCl₂ + 120 mg/kg PD), Cd+ ÜÇE grubu (5mg/kg CdCl₂ + 120 mg/kg ÜÇE), Cd+ PD+ ÜÇE grubu (5mg/kg CdCl₂ + 120 mg/kg PD + 120 mg/kg ÜÇE), Cd, PD ve ÜÇE ratlara serum fizyolojik içerisinde hazırlanarak 4 hafta boyunca oral gavaj ile uygulandı. Çalışma sonunda kanda ve diğer dokularda Cd konsantrasyonu tayini ve total oksidan-antioksidan statü, Malondialdehit ve antioksidan potansiyel ölçümleri ile histopatolojik incelemeler yapıldı.

Bu çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında beyin dokusu hariç diğer dokularda ICP-OES verilerine göre Cd akümüasyonu gözlenirken, beyin dokusunda cihaz ölçüm sınırları altında olduğu için belirlenememiştir. PD ve ÜÇE'nin eritrositler ve dokularda Cd akümüasyonunu değişen düzeylerde önlediği belirlenmiştir. Histopatolojik incelemede Cd uygulanan grubun karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokularında yoğun dejeneratif değişimler gözlemlenirken, Cd ile birlikte PD ve ÜÇE'nin tek tek ve kombine kullanımı gerçekleştirilen gruplarda hafif dejeneratif değişimler izlenmiş olup, PD ve ÜÇE'nin histopatolojik değişimleri azalttığı belirlenmiştir. TOS verileri değerlendirildiğinde, kan plazmasında PD ve ÜÇE Cd'un oluşturduğu oksidatif stresi yeterince baskılayamadığı görülmektedir. Karaciğer TOS verileri karşılaştırıldığında Cd grubu kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artarken, kullanılan fitokimyasalların TOS düzeylerinde Cd grubuna göre önemli bir azalma belirlenmiştir. Böbrek, beyin ve testis dokularındaki TOS değerleri, bu dokularda PD ve ÜÇE'nin güçlü bir antioksidan etki göstermediğini gösteriyor. Cd verilen hayvanların karaciğer ve testis dokularında TAS seviyesi

kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düştü. PD, ÜÇE ve kombine kullanımda ise TAS değerleri önemli düzeyde arttı. Böbrek ve beyin dokularında ise Cd grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş görölse de, PD ve ÜÇE'nin Cd grubuna göre olumlu etkileri görülmemiştir. MDA sonuçları, Cd verilen hayvanların kan plazması ve karaciğer dokularında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttı. PD, ÜÇE ve kombine kullanımı sağlanan gruplarda Cd grubuna göre MDA değerleri önemli düzeyde azaldı. Böbrek, beyin ve testis dokularında ise PD ve ÜÇE'nin Cd maruziyetine karşı MDA seviyesi üzerine anlamlı etkisi görülmedi. Polidatin, üzüm çekirdeği ekstraktı ve ikisinin kombine kullanıldığı grupların kan plazmasında, karaciğer, böbrek ve beyin dokularında antioksidan potansiyel, Cd grubuna göre önemli düzeyde artmıştır. Testis dokusunda, PD ve ÜÇE grupları AOP seviyesi artarken kadmiyumla birlikte fitokimyasalların uygulandığı gruplarda Cd grubuna göre olumlu bir etki izlenmedi.

Sonuç olarak, Cd maruziyeti oluşturulan sıçanlarda özellikle kan ve karaciğer dokusunda oksidatif hasarın oluştuğu, böbrek, beyin ve testis dokularında çok güçlü bir oksidatif stresin izlenmediği görüldü. PD ve ÜÇE'nin farklı dokularda farklı düzeylerde koruyucu etkisi tespit edilirken, PD'nin ÜÇE'ne göre daha çok koruyucu etkili olduğu görülmüştür. Tüm dokularda histopatolojik değişimlerin başladığı, ancak karaciğer ve kan dışındaki dokularda bunları başlatan faktörün oksidatif stres ve ürünleri olmadığı kanaati oluşmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Polidatin, Üzüm Çekirdeği Ektraktı, Toksitite, Rat, Fitokimyasallar, Oksidatif stres, Histopatoloji

SUMMARY

Investigation of The Protective Effects of Polydatin and Grape Seed Extracts On Blood, Liver, Kidney, Brain and Testis Tissues, Oxidant-Antioxidant Parameters and Histopathological Changes In Rats Exposed To Cadmium

Awareness against toxic factors such as cadmium requires more advance researches and protection in a sustainable manner for these factors. In this regard, it is important to use antioxidant phytochemical substances effectively and safely. The current study aimed to investigate the protective role of polydatin (PD) and grape seed extracts (GSE) against the oxidative effects of cadmium chloride application in the blood, liver, kidney, brain and testis tissues of rats.

A total of 49 adult Wistar albino male rats was used in our study. Rats were divided into seven equal groups: Control group (Normal saline), Cd group (5 mg/kg CdCl₂), PD group (120 mg/kg PD), GSE group (120 mg/kg GSE), Cd+PD group (5 mg/kg CdCl₂ + 120 mg/kg PD), Cd+ GSE group (5 mg/kg CdCl₂ + 120 mg/kg GSE), and Cd+PD+ GSE group (5 mg/kg CdCl₂+120 mg/kg PD + 120 mg/kg GSE). Cd, PD, and GSE were prepared in saline and administered by oral gavages for 4 weeks. At the end of the experimental period, all rats were decapitated and their blood, liver, kidney, brain and testis tissue samples were examined histopathologically. Cadmium accumulation, total oxidant and antioxidant status, malondialdehyde levels and antioxidant potentials were also measured in blood and tissues.

According to ICP-OES data, when compared the control group to other treatments, Cd accumulation was observed in all tissues studied except for the brain tissue. Cd levels in brain tissue could not be determined since it was under ICP-OES measurement limits. PD and GSE inhibited the Cd accumulation in erythrocytes and tissues at varying levels. Histopathological examination of liver, kidney, brain and testes showed extensive degenerative changes in Cd treated group. Mild degenerative changes were seen in the CD+PD, CD+GSE and CD+PD+GSE groups. PD and GSE alone reduced the histopathological changes in the same tissues. The TOS data indicated that PD and GSE did not suppress Cd induced oxidative stress in blood plasma. Liver TOS level in Cd group increased significantly compared to the control. In addition, the phytochemicals used in the study also reduced TOS levels in liver. TOS values from kidney, brain and testis tissues suggest that PD and GSE did not show a strong antioxidant effect in these tissues. MDA levels in blood plasma and liver tissues raised significantly in Cd treated rats compared to controls. PD, GSE and their combinations significantly decreased the MDA levels in blood plasma and

liver tissue. However, PD and GSE showed no significant positive effect against Cd exposure in kidney, brain and testis MDA levels. Compared to the cadmium administration, PD, GSE and their combinations significantly increased AOP levels in plasma, liver, kidney and brain tissues. In the testis, AOP levels improved in PD and GSE groups. On the other hand, compared to Cd group there was no positive effect on AOP levels observed in the groups that antioxidant phytochemicals administered with cadmium.

Consequently, Cd exposure in rats showed oxidative damage, particularly in blood and liver. On the other hand, kidney, brain and testis tissue did not exhibit very strong oxidative stress because of Cd. Although the protective effects of PD and GSE were detected at different levels in different tissues, the protective effects of PD have been shown to be more effective than GSE. Our results suggested that although the initiation of histopathological changes were present in all tissues, the initiating factor was not the oxidative stress in the tissues studied except for the liver and blood.

Key words: Cadmium, Polydatin, Grape Seed Extract, Toxicity, Rat, Phytochemicals, Oxidative stress, Histopathology

KAYNAKLAR

- ALTINIŞIK, M. (2006). Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar, A.D.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya AD eğitim semineri, Aydın.
- ALTINDAG, Z.Z., BAYDAR, T., ENGİN, A.B., SAHİN, G. (2003). Effects of the metals on dihydropteridine reductase activity. *Toxicol in Vitro* **17(5-6)**: 533-537.
- AMAMOU, F., NEMMİCHE, S., MEZİANE, R.K. (2015). Protective effect of olive oil and colocynth oil against cadmium-induced oxidative stress in the liver of wistar rats. *Food. Chem. Toxicol.* **78**; 177–184.
- AMBROSİO, G., ZWEİER, J.L., JACOBUS, W.E. (1987). Improvement of postschismic myocardial function and metabolism induced by administration of deferoxamine at the time of reflow: the role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. *Circulation* **74**; 906-915.
- ANONİM, (2006). Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri, MEGEP, Ankara, http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/gida/moduller/fenolik_bilisklervedogal_renk_maddeleri.
- ANONYMOUS, (2014e). <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Piceid.svg>
- ANTONİO, M.T., CORREDOR, L., LERET, M. L. (1999). Neurochemical changes in newborn rat's brain after gestational cadmium and lead exposure. *Toxicol. Lett.*104:1-9.
- ASLAN, R., ŞEKEROĞLU, M.R., TARAKÇIOĞLU, M. (1996). Diyaliz hastalarında iz element ve antioksidan enzim ilişkisi. *Diyaliz Transplantasyon ve Yanık Dergisi* **9(1)**: 39-42.
- ASSCHE, F.V., CLIJSTERS, H. (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant and Cell Environment.* **13**: 195-206.
- BABIOR, B.M. (2000). Phagocytes and oxidative stres (Physiology in medicine), *American Journal of Medicine.* **109**: 33-44.
- BAGCHI, D., GARG, A., KROHN, R.L., BAGCHI, M., TRAN, M.X., STOHS, S.J. (1997). Oxygen free radi cal scavenging abi lities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocy anidin extract in vitro. *Resr Commun Mol Pathol Pharmacol* **95 (2)**: 179- 89.
- BAGCHI, D., BAGCHI, M., STOHS, S.J., DAS, D.K., RAY, S.D., KUSZYNSKI, C.A., JOSHI, S.S., PRUESS, H.G. (2000). Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention.*Toxicology.* **148**:187-97.
- BAGCHI, D., GARG, A., KROHN, R.L. (1998). Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen Pharmacol.* **30**:771-776.

- BAKER, J.R., EDWARDS, R.J., LASKER, J.M., MOORE, M.R., SATARUG, S. (2005). Renal and hepatic accumulation of cadmium and lead in the expression of CYP4F2 and CYP2E1. *Toxicol Lett.* **159(2)**; 182-191.
- BALCH, J.F., BALCH, P.A. (1997). *Pre scription for Nutritional Healing*. 2nd edition, Avery Publication, USA, p: 5-9.
- BAYKAL, A. (1998). Serbest radikaller. Seminer notları III. 1998-1999 Öğretim Yılı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yay. Kars.
- BELGUENDOZ, L., FRÉMONT, L., GOZZELINO, M.T. (1998). Interaction of transresveratrol with plasma lipoproteins. *Biochem Pharmacol* **55(6)**; 811-816.
- BENCH, G., CORZETT, M.H., MARTNEL, L.R. (1999). Cadmium concentrations in the testes, sperm, and spermatids of mice subjected to long-term cadmium chloride exposure. *Cytometry.* **35**: 30–36.
- BERGER, M.M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally. *Clin.Nutr.* **24**: 172–183.
- BERGERON, P.M., JUMARIE, C. (2006). Characterization of cadmium uptake in human intestinal crypt cells HIEC in relation to inorganic metal speciation. *Toxicology.* **219 (1-3)**; 156-166.
- BERTIN, G., AVERBECK, D. (2006). Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (review). *Biochimie.* **88 (11)**; 1549-1559.
- BİJAK, M., KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J., PONCZEK, M.B., SALUK, J. (2012). Protective effects of grape seed extract against oxidative and nitrative damage of plasma proteins. *Int. J. Biol. Macromol.* **51**: 183-187.
- BOBILLIER, S.C., MAUPOIL, V., BERTHELOT, A. (2006). Metallothionein induction in the liver, kidney, heart and aorta of cadmium and isoproterenol treated rats. *Journal of Applied Toxicology.* **26**: 47–55.
- BOHR, V.A. (2002). Repair of oxidative DNA damage in nuclear and mitochondrial DNA, and some changes with aging in mammalian cells. *Free Radical Bio. Med.* **32 (9)**; 804- 812.
- BORGES, L.P., BRANDÃO, R., GODOI, B., NOGUEIRA, C.W., ZENI, G. (2008). Oral administration of diphenyl diselenide protects against cadmium-induced liver damage in rats. *Chem. Biol. Interact.* **171**: 15–25
- BOSCOLO, P., SACCHETTONI-LOGROSCINO, G., RANELLETTI, F.O. (1985). Effects of long term cadmium exposure on the testis of rabbits, ultrastructural study. *Toxicoll. Lett.* **24**: 145-9.
- BRAVO, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews.* **56**: 317-333.
- BROWN, J.E. (1999). *Nutrition Now*. 2nd edition, West/Wadsworth, Belmont.

- BRZÓSKA, M.M., MONIUSZKO-JAKONIUK, J. (2001). Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food. Chem. Toxicology* **39** (10); 967-980.
- BURUKOĞLU, D., BAYÇU. C. (2008). Protective effects of zinc on testes of cadmium-treated rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **81**: 521–524.
- BYUNG, P.Y. (1994). Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews* **74** (1); 139-172.
- CABAROĞLU, T., YILMAZTEKİN, M. (2006). Üzümün bileşimi ve insan sağlığı üzerine etkileri, *Buldan Sempozyumu*, 999-1004.
- CANNINO, G., FERRUGGIA, E., LUPARELLO, C., RINALDÌ, A.M. (2009). Cadmium and mitochondria. *Mitochondrion.* **6**: 377-384.
- CAO, Z., LI, Y. (2004). Potent induction of cellular antioxidants and phase 2 enzymes by resveratrol in cardiomyocytes: protection against oxidative and electrophilic injury *Eur. J. Pharmacol.* **489**: 39–48
- CASALINO, E., CALZARETTI, G., SBLANO, C., LANDRISCINA, C. (2002). Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. *Toxicol.* **179**: 37-50.
- CATON, P.W., POTHECARY, M.R., LEES, D.M., KHAN, N.Q., WOOD, E.G., SHOJÌ, T., KANDA. T., RULL. G., CORDER. R. (2010). Regulation of vascular endothelial function by procyanidin-rich foods and beverages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **58**: 4008–4113.
- CEMEROĞLU, B., ACAR, J. (1986). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilimdalı. **6**: 37-38, Ankara
- CHEESEMAN, K.H., SLATER, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* **49**(3); 479-481.
- CHEN, Q., ZHANG, R., LI, W.M., NIU, Y.J., GUO, H.C., LIU, X.H., HOU, Y.C., ZHAO, L.J. (2013). The protective effect of grape seed procyanidin extract against cadmium-induced renal oxidative damage in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* **36**: 759–768.
- CHENG, Y.F., ZHANG, H.T., SUN, L.S., GUO, S.L., OUYANG, S., ZHANG, Y.J., XU, J. (2006). Involvement of cell adhesion molecules in polydatin protection of brain tissues from ischemia-reperfusion injury. *Brain Res.* **1110**: 193-200.
- CHOE, E., MİN, D.B. (2006). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **46**: 1-22.
- CHOI, W., BENZİC, F., COLLINS, A., HANNİGON, M., STRAIN, J. (2004). Vitamin C and E: Acute interactive effects on biomarkers of antioxidant defence and oxidative stress. *Mutation Research.* **551**: 109-117 .

- CHOI, A.O., CHO, S.J., DESBARATS, J., LOVRIC, J., MAYSINGER, D. (2007). Quantum dot-induced cell death involves Fas upregulation and lipid peroxidation in human neuroblastoma cells. *J. Nanobiotechnology* **5**: 1.
- CLARKSON, M.P. (1995). Antioxidants and physical performance. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **35**: 131-41.
- COYLE, P., NIEZING, G., SHELTON, T.L., PHILCOX, J.C. AND ROFE, A. M., (2000). Tolerance to cadmium hepatotoxicity by metallothionein and zinc: In vivo and in vitro studies with mt-null mice. *Toxicology*. **150 (1-3)**; 53-67.
- CROWELL, J.A., KORYTKO, P.J., MORRISSEY, R.L. (2004). Resveratrol-associated renal toxicity. *Toxicol. Sci.* **82(2)**; 614-619.
- ÇELİK, H., ÇELİK, S., MARASALI KUNTER, B., SÖZLEMEZOĞLU, G., BOZ, Y., ÖZER, C., ATAK, A. (2005). Bağcılıkta gelişme ve üretim hedefleri, Türkiye Ziraat Mühendisliği IV. Teknik Kongresi, Cilt II, 565-588.
- DEHANE, J., CHAVES, L., SARİKONDA, K. V., ISBELL, S., WILSON, L., KIRK, M., GRUBBS, C., BARNES, S., MELETH, S., KİM, H. (2004). Proteomic Analysis of Rat Brain Protein Modulations by Grape Seed Extract. *J. Agric. Food Chem.* **52**: 7872-7883.
- DEVİ, S.A., JOLİTHA, A.B., İSHİİ, N. (2006). Grape Seed Proanthocyanidin Extract and antioksidant defense in the brain of adult rats. *Med. Sci. Monit.* **12(4)**; 124-129.
- DRAFT. (2006). For review only, public healthy goal for cadmium in drinking water, february.
- DRİSKO, JA., CHAPMAN, J., HUNTER, V.J. (2003). The use of antioxidant therapies during chemotherapy. *Gynecol Oncol.* **88**: 434-439.
- DURAK, I., KARABACAK, H.I., BUYUKKOCAK, S., CİMEN, M.Y., KACMAZ, M., OMEROGU, E., OZTURK, H.S. (1998). Impaired antioxidant defense system in the kidney tissues from rabbits treated with cyclosporine. Protective effects of vitamins E and C. *Nephron.* **78**: 207– 211.
- DÜNDAR, Y., ASLAN, R. (1999). Hücre moleküler statünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi* **2(2)**; 134-142.
- DÜNDAR, Y., ASLAN, R. (2000). Antioxidative stress. *Eastern Journal Of Medicine* 1(2).
- EL-ASHMAWY. I.M., GAD, S.B., SALAMA, O.M. (2010). Grape seed extract prevents azathioprine toxicity in rats. *Phytother. Res.* **24(11)**; 1710-1715.
- EL-DEMERDASH, F.M., YOUSEF, M.I., KEDWANY, F.S., BAGHDADI, H.H. (2004). Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and beta-carotene. *Food. Chem. Toxicol.* **42**: 1563-1571.
- ELİNDER, C.G., PISCATOR, M. (1978). Cadmium and Zinc Relationships. *Environmental Health Perspectives.* **25**: 129-132.

- ERCAL, N., GÜRER-ORHAN, H., AYKİN-BURNS, N. (2001). Toxic metals and oxidative stresspart I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem.* **1 (6)**; 529-39.
- EYBL, V., KOTYZOVA, D., KOUTENSKY, J. (2006). Comparative study of natural antioxidants–curcumin, resveratrol and melatonin–in cadmium-induced oxidative damage in mice. *Toxicology* **225**: 150–156.
- FAHEY, J.W., ZHANG, Y., TALALAY, P. (1997). Broccoli sprouts an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc. Nat. Acad.Sci.* **94(19)**; 10367-72.
- FANG, Y.Z., YANG, S., WU, G. (2002). Free Radicals, Antioxidants and Nutrition, *Nutrition.* **18**: 872-879.
- FANTAL, A.G. (1996). Reactive oxygen species in developmental toxicity: Review and hypothesis. *Teratology.* **53**: 96-217.
- FERNANDES, A., CROMORTY, D., ALBERCHT, C., JONSON, C. (2004). The antioxidant potential of sutherlandia frutescens. *Journal of Ethnopharmacology.* **95**: 1-5.
- FLORA, S.J.S., MITTAL, M., MEHTA, A. (2008). Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J. Med. Res.* **128**: 501-523.
- FREEMAN, B.A., CRAPO, J.D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue damage. *Laboratory Investigation* **4 (47)**; 412-426.
- FREMONT, L. (2000). Minireview - Biological effects of resveratrol. *Life Sci.* **66 (8)**; 663-673.
- FRIBERG, L., ELINDER, C.G., KJELLSTROM, T. (1986). Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal, Vol.2, CRC Press Boca Raton, FL, 247-255.
- FRIBERG, L., PISCATOR, M., NORDBERG, G.F., KJELLSTRÖM, T. (1976). Cadmium in the environment. 2nd Ed. CRC Press, Cleveland, Ohio.
- FRIDOVICH, I. (1976). In free radical in biology; Pryor, W.A., Ed; Academic: New York. **1**: 239-271.
- GEROGIANNAKI-CHRISTOPOULOU, M., ATHANASOPOULOS, P., KYRIAKIDIS, N., GEROGIANNAKI, A.I., SPANOS, M. (2006). Trans-Resveratrol in wines from the major Greek red and white grape varieties *Food. Control.* **17 (9)**; 700-706.
- GILBERT, D.L., COLTON, C.A. (2002). *Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Inter disciplinary Approach*: Kluwer academic publishers.
- GOYER, R.A. (1995). Nutrition and metal toxicity. *Am. J. Clin. Nutr.* **61**: 646-650.
- GOYER, R.A., CLARKSON, W.T. (2001). Toxic effects of metals. edited by: Klaassen, c.d.: casarett and doull's toxicology, the basic science of poisons, 6th ed, mcgraw-hill, USA, 811–827.

- GÖKPINAR Ş., KORAY T., AKÇİÇEK E., GÖKSAN T., DURMAZ Y.(2006). Algal antioksidanlar. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi. **23**: 85-89.
- GÖKTAŞ, Ö. (2007). Kadmiyumun neden olduğu oksidatif stres üzerine resveratrolün koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İnönü Üniversitesi, Malatya.
- GÜLÇİN, İ. (2009). Antioxidant activity of L-adrenaline: A structure–activity insight. *Chemico-Biological Interactions*. **179**: 71-80.
- GÜREL, Z. (1998). Apoptoz ile metallothionein ilişkilerinin, farklı süre ve dozlarda kadmiyum ve bakıra maruz bırakılan sıçanların değişik dokularında araştırılması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, biyofizik Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- HAFFOR, A.S., ABOU-TARBOUSH, F.M. (2004). Testicular Cellular Toxicity of Cadmium: Transmission Electron Microscopy Examination. *J. Environ. Biol.* **25**: 251-8.
- HAGAR, H., ALMALKİ, W. (2014). Betaine supplementation protects against renal injury induced by cadmium intoxication in rats: role of oxidative stress and caspase-3. *Environ Toxicol Pharmacol.* **37(2)**; 803–11.
- HALLİWELL, B., ZHAO, K., WHITEMAN, M. (2000). The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? *Free Radic. Res.* **33**:819-30.
- HALLİWELL, B., CLEMENT, M.V., LONG, L.H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Letters*. **486**: 10-13.
- HALLİWELL, B., GUTTERIDGE, J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* **186**: 1-8.
- HALLİWELL, B., MURCİA, M.A., CHİRİCO, S., ARUOMA, O.I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *Critical Rev Food Sci And Nutrit.* **35 (1- 2)**; 7-20.
- HE, L., WANG, B., HAY, E., NEBERT, D.W. (2009). Discovery of ZIP transporters that participate in cadmium damage to testis and kidney. *Toxicol Appl Pharm*; 238: 250-257.
- HOLLAN, S. (1995). Free radicals in health and disease. *Heamatologica* 1 77-89.
- HUANG, Z.S., WANG, Z.W., LİU, M.P., ZHONG, S.Q., Lİ, Q.M., RONG, X.L. (1999). Protective effects of polydatin against CCl(4)-induced injury to primarily cultured rat hepatocytes. *World J Gastroenterol.* **5**: 41-44.
- HUNG, L.M., CHEN, J.K., HUANG, S.S., LEE, R.S., SU, M.J. (2000). Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res.* **47**:549-55.
- İNAN, Y., GÜL, M. (2001). Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul.
- JANNİN, B., MENZEL, M., BERLOT, J-P., DELMAS, D., LANÇON, A., LATRUFFE, N. (2004). Transport of resveratrol, a cancer chemopreventive agent, to cellular targets: plasmatic protein binding and cell uptake. *Biochem Pharmacol* **68 (6)**; 1113-1118.
- JARUP, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *Br. Med. Bull.* **68**: 167-182.

- JARUP, L. (2002). Cadmium overload and toxicity. *Nephrol. Dial. Transplant.* **17**: 35- 39.
- JORDAN, K.C., FREELAND-GRAVES, J.H., KLOHE-LEHMAN, D.M., CAI, G.W., VORUGANTİ, V.S., PROFFİTT, J.M., (2008). A nutrition and physical activity intervention promotes weight loss and enhances diet attitudes in low-income mothers of young children. *Nutr. Res.* **28**: 13-20.
- JUMARİE, C. (2002). Cadmium transport through type II alveolar cell monolayers: contribution of transcellular and paracellular pathways in the rat ATII and the human A549 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1564 (2)**; 487-499,
- KALAY, M., KARATAS, S. (1999). Kadmiyumun *Tilapia nilotica* (L.)’da Kas, Beyin ve Kemik (Omurga Kemigi) Dokularındaki Birikimi, *Tr. J. of Zoology*, 23 Ek Sayı **3**: 985-991.
- KANTER, M., COSKUN, O., GUREL, A. (2005). Effect of black cumin (*Nigella sativa*) on cadmium-induced oxidative stress in the blood of rats. *Biol Trace Elem Res* **107**:277–288
- KAR, P., LAİGH, D., SHAW, K.M., CUMMİNGS, M.H. (2006). Flavonoid-rich grape seed extracts: A new approach in high cardiovascular risk patients? *Int J Clin Pract.* **60**:1484-92.
- KARABULUT, A.B. (2008). Resveratrol ve etkileri, *Türkiye Klinikleri J. Med Sci.* **28**: 166-169.
- KARACA, Ö., SUNAY, F.B., KUŞ, M.A., GÜLCEN, B., ÖZCAN, E., ÖGETÜRK, M., KUŞ, İ. (2014). Kadmiyum İle Oluşturulan Deneysel Karaciğer Hasarına Karşı Melatoninin Etkilerinin Biyokimyasal Ve Histopatolojik Düzeylerde İncelenmesi. *Fırat Tıp Derg/Fırat Med J.* **19(3)**; 110-115.
- KARATAS, S. (1998). Sıçanlarda Kadmiyum Klorür’ün (CdCl₂) Testis Dokusuna Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskisehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı.
- KARLSSON, J., RONNEBERG, R., SEMB, B. (1997). Vitamins Q and E, extracorporal circulation and hemolysis. *Mol Cell Biochem.* **173 (1-2)**; 33-41.
- KASDALLAH-GRİSSA, A., MORNAGUİ, B., AOUANİ, E., HAMMAMİ, M., MAY, M.E., GHARBİ, N., KAMOUN, A., EL-FAZAA, S. (2007). Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver. *Life Sci* **80(11)**; 1033-1039.
- KAYA, S., AKAR, F. (2002). Metaller ve Diğer 3norganik ve Radyoetkin Maddeler. 3çinde: Kaya S, Pirinççi 3, Bilgili A (Ed), *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*, Medisan Yayınları. 207-250.
- KEHA, E., KÜFREVİOĞLU, Ö.İ. (2000). *Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum.*
- KILINÇ, K. (1985). Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi.* **10 (2)**; 60-89.
- KİRKHAM, M.B. (2006). Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendmets. *Geoderma* **137 (1-2)**; 19-32.

- KOCA, N., KARADENİZ, F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*. **16**: 32-37.
- KOÇAK. M. (2004). Kronik Kadmiyum Toksikitesinin Hemostatik Sisteme Etkileri, Doktora Tezi, Türkiye Cumhuriyeti Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- KOYUTURK, M., YANARDAG, R., BOLKENT, S., TUNALI, S. (2006). Influence of combined antioxidants against cadmium induced testicular damage. *Environ Tox Pharm* **21(3)**; 235-240.
- KÖLELİ, N., KANTAR, Ç. (2005). Fosfat Kayası, Fosforik Asit ve Fosforlu Gübrelerdeki Toksik Ağır Metal (Cd, Pb, Ni, As) Konsantrasyonu. *Ekoloji Dergisi*. **14**: 55.
- KUMAR, V., COTRAN, R.S., ROBBİNS, S.L. (2000). Basic Pathology. Çeviri Editörü ÇEVİKBAŞ U. 6.Baskı. Sy: 9-11. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.
- LEE, S.R., KWAK, J.H., KİM, H.J., PYO, S. (2007). Neuroprotective effects of kobophenol A against the withdrawal of tropic support, nitrosative stress, and mitochondrial damage in neuroblastoma cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17(7)**; 1879-1882.
- LEONARD, S.S., XIA, C., JIANG, B.-H., STINEFELT, B., KLANDORF, H., HARİS, G.K., SHİ, X. (2003). Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem. Bioph. Res. Co.* **309 (4)**; 1017-102.
- LERMİOĞLU, F., BERNARD, A. (1998). Effect of calmodulin-inhibitors and verapamil on the nephrotoxicity of cadmium in rat. *Toxicol. Lett.* **95(1)**; 9-13.
- Lİ, R.P., WANG, Z., SUN, M.X. (2012). Polydatin protects learning and memory impairments in a rat model of vascular dementia. *Phytomedicine*. **19**: 677–81.
- LİU, J., KADIİSKA, M.B., CORTON, J.C., QU, W., WAALKES, M., MASON, R.P., LİU, Y., KLAASSEN, C.D. (2002). Acute cadmium expo sure induces stress-related gene expression in wild-type and metallothionein-I/II-null mice. *Free Radical Bio. Med.* **32**: 525-535.
- LOPEZ, E., ARCE, C., OSET-GASQUE, M.J., CANADAS, S., GONZALEZ, M.P. (2006). Cadmium induces reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in cortical neurons in culture. *Free Radic. Biol. Med.* **40**: 940-51.
- MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JİMÉNEZ, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition*. **79**: 727-747.
- MANNA, P., SİNHA, M., SİL P.C. (2008). Cadmium induced testicular pathophysiology: prophylactic role of taurine *Reprod Toxicol.* **26**: 282–291.
- MARSEL, A.F.W., SUZUKI, K.T., ROELOFSEN, A.M., ROELFZEMA, W.H. (1986). Increase of Cadmium-Thiolate Clusters As a Measure of Morfological Non- Toxic Cadmium Accumulation in the Rat Liver, *Toxicology*. 33-41.

- MÉNDEZ-ARMENTA, M., BARROSO-MOGUEL, R., VILLEDA-HERNÁNDEZ, J., NAVA-RUIZ, C., RÍOS C. (2001). Histopathological alterations in brain regions of rats after perinatal combined treatment with cadmium and dexamethazone *Toxicology*. **161**: 189–199.
- MÉNDEZ-ARMENTA, M., RÍOS, C. (2007). Cadmium neurotoxicity. *Environ Toxicol. Phar.* **23(3)**; 350-358.
- MENDEZ-ARMENTA, M., VILLEDA-HERNANDEZ, J., BARROSO-MOGUEL, R., NAVA-RUIZ, C., JIMENEZ-CAPDEVILLE, M. E., RÍOS, C. (2003). Brain regional lipid peroxidation and metallothionein Levels of developing rats exposed to cadmium and Dexamethasone. *Toxicol. Lett.* **144**: 151-157.
- MERIAN, M., WEINHEIM, N.Y. (1991). *Cadmium and Their Compounds in the Environment*, VCH, Basel, Cambridge. 803-851.
- MESSAOUDI, I., HAMMOUDA, F., ELHENI, J., BAATI, T., SAÏD, K. (2010). Reversal of cadmium-induced oxidative stress in rat erythrocytes by selenium, zinc or their combination. *Exp. Toxicol. Pathol.* **62**: 281–288.
- MURUGAVEL, P., PARI, L., SITASAWAD, S.L., KUMAR, S., KUMAR, S. (2007). Cadmium induced mitochondrial injury and apoptosis in vero cells: Protective effect of diallyl trasufide from garlic. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. **39(1)**; 161-170.
- NEMMICHE, S., CHABANE-SARI, D., Guiraud P. (2007). Role of alpha-tocopherol in cadmium-induced oxidative stress in Wistar rat's blood, liver and brain *Chem. Biol. Interact.* **170**: 221–230.
- NORDBERG, J., ARNER, E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*. **31**: 1287- 1312.
- OGNJANOVIĆ, B.I., MARKOVIĆ, S.D., ETHORDEVIĆ, N.Z., TRBOJEVIĆ, I.S., STAJN, A.S., SAICIĆ, Z.S. (2010). Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidant defense system in the rat testes: protective role of coenzyme Q(10) and vitamin E *Reprod. Toxicol.* **29**: 191–197.
- OGUZTURK, H., CİFTÇİ, O., AYDİN, M., TİMURKAAN, N., BEYTUR, A., YILMAZ, F. (2012). Ameliorative effects of curcumin against acute cadmium toxicity on male reproductive system in rats. *Andrologia*. **44**: 243–249.
- OHKAWA, H., OHISHI, N., YAGI, K. (1979). Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal. Biochem.* **95**: 351-358.
- OHTA, H., YAMAUCHI, Y., NAKAKITA, M., TANAKA, H., ASAMI, S., SEKI, Y., YOSHIKAWA, H. (2000). Relationship between Renal Dysfunction and Bone Metabolism Disorder in Male Rats after Long-term Oral Quantitative Cadmium Administration, *Industrial Health*. **38**: 339-355.
- OLA-MUDATHİR, K.F., SURU, S.M., FAFUNSO, M.A., OBIOHA, U.E., FAREMI, T.Y. (2008). Protective roles of onion and garlic extracts on cadmium-induced changes in

- sperm characteristics and testicular oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol.* **46**: 3604–3611.
- OLAS, B., NOWAK, P., KOŁODZIEJCZYK, J., PONCZEK, M., WACHOWICZ, B. (2006). Protective effects of resveratrol against oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and lipids exposed to peroxynitrite. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* **7(2)**; 96-102.
- PAL YU, B. (1994). Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews.* **74 (1)**; 139-162.
- PAN, Y.M., ZHANG, X.P., WANG, H.S., LIANG, Y., ZHU, J.C., LI, H.Y., ZHANG Z, W.U. Q. (2007). Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in peanut oil. *Food Chem.* **105**: 1518-1524.
- PANDEY, K.B., Rizvi, S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2**, 270-278.
- PARK, J.D., LIU, Y., KLAASSEN, C.D. (2001). Protective Effect of Metallothionein against the Toxicity of Cadmium and Other Metals, *Toxicology.* **163**: 93-100.
- POWELL, S.R., TORTOLANÍ, A.J. (1992). Recent advances in the role of reactive oxygen intermediates in ischemic injury. I. evidence demonstrating presence of reactive oxygen intermediates; II. Role of metals in site-specific formation of radicals. *J. Surg. Res.* **53**: 417-429.
- PRASAD, N.R., SRÍNIVASAN, M., PUGALENDI, K.V. AND MENON, V.P., (2006). Protective effect of ferulic acid on gamma-radiation-induced micronuclei, dicentric aberration and lipid peroxidation in human lymphocytes. *Mutat Res.* **603 (2)**; 129-134.
- PULIDO, R., BRAVO, L., SAURA-CALIXTO, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agr. Food. Chem.* **48**: 3396-3402.
- RAMOS, S. (2008). Cancer chemoprevention and chemotherapy: dietary polyphenols and signalling pathways. *Molecular Nutrition & Food Research.* **52**: 507–526.
- RAPPORT, L., LOCKWOOD, B. (2001). Proanthocyanidins and grape seed extract. *Pharm J.* **266**: 581-4.
- REILLY, P.M., SCHILLER, I.I.J., BULKLEY, G.B. (1991). Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J. Surg.* **161**: 488-503.
- RENUGADEVI, J., PRABU, S.M. (2009). Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology.* **256**: 128–134.
- RENUGADEVI, J., PRABU, S.M. (2010). Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. *Exp. Toxicol. Pathol.* **62**: 171–181.
- REQEV-SHOSHAN, G., SHOSEYOV, O., BILKIS, I. (2003). Glycosylation of resveratrol protects it from enzymic oxidation. *Biochem. J.* **374**: 157–63.

- RIVIÈRE, C., PAPASTAMOULIS, Y., FORTIN, P.Y. (2010). New stilbene dimers against amyloid fibril formation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20**: 3441–3.
- RIVIÈRE, C., RICHARD, T., QUENTIN, L. (2007). Inhibitory activity of stilbenes on Alzheimer's β -amyloid fibrils in vitro. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**: 1160–7.
- RODRÍGO, R., BOSCO, C. (2006). Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney- A review. *Com Biochem Phys.* **142**: 317-327.
- SATOH, M., KOYAMA, H., KAJI, T., KITO, H., TOHYAMA, C. (2002). Perspectives on cadmium toxicity research. *Tohoku. J. Exp. Med.* **196**: 23-32.
- SCALBERT, A., JOHNSON, I.T., SALTMAR, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond, *The American Journal of Clinical Nutrition.* **81**: 215–7.
- SEHIRLI, O., ÖZEL, Y., DULUNDU, E. (2008). Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Phytother Res.* **22**: 43-8.
- SHAGIRTHA, K., MUTHUMANI, M., PRABU, S.M. (2011). Melatonin abrogates cadmium induced oxidative stress related neurotoxicity in rats. *Eur. Rev. Med. Pharmacol.* **15**: 1039–1050.
- SHAN, B., CAI, Y.Z., BROOKS, J.D., CORKE, H. (2008). Antibacterial properties of *Polygonum cuspidatum* roots and their major bioactive constituents. *Food Chem.* **109**: 530-537.
- SHIMADA, H., NAGANO, M., YASUTAKE, A., (2002). Wistar- Imamichi Rats Exhibit a Strong Resistance to Cadmium Toxicity. *Journal of Health Science.* **48**: 201-203.
- SHUKLA, A., SHUKLA, G.S., SRIMAL, R.C. (1996). Cadmium-induced Alterations in blood-brain barrier permeability and its Possible correlation with decreased microvessel Antioxidant potential in rat. *Hum. Exp. Toxicol.* **15**: 400-405.
- SIES, H., SCHEWE, T., HEISS, C., KELM, M. (2005). Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *American Journal of Clinical Nutrition.* **81**: 304–312.
- SIGNORELLI, P., GHIDONI, R. (2005). Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* **16(8)**; 449-466.
- SINCLAIR, A.J., BAME, T A.H., LUNEC, J. (1980). Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Brish. Hosp. Med.* **43**: 32.
- SKOWERSKI, M., KONECKI, J., CZECHOWICZ, K., OWACKA, M.G. (1997). Effects of Interaction between Cadmium and Selenium on Hepatic Metabolism in Mice. Part I: The Study on DNA, RNA and Protein Synthesis Activities in Mouse Hepatocytes, *Med. Sci. Monit.* **3(5)**; 642-647.
- STADTMAN, E.R., LEVINE, R.L. (2000). Protein oxidation, *Ann NY, Acad.* **899**: 191-208.

- STRESTY, T.V.S., MADHAVA RAO, K.V. (1999). Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeonpea, *Environmental and Experimental Botany*. **41**: 3-13.
- SULTAN, S.M., HABEEBU, LIU, J., KLAASSEN, C.D. (1998). Cadmium-Induced Apoptosis in Mouse Liver, *Toxicology and Applied Pharmacology*. **149**: 203–209.
- SUN, T., HU, C. (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*. **90**: 743-749.
- SUZUKI, Y. (1980). Cadmium Metabolism and Toxicity in Rats after Long-term Subcutaneous Administration. *J.Toxicol. Environ. Health*. **6**: 469-482.
- SÜRMEĪ, A. (2003). Organik Tarım Gelisimi ve İlkeleri, Kırsal Kalkınma Programı Eğitim Dizisi No1, Dev. Maden-Sen Yayın Kurulu, Ankara.
- TAKAHASHĪ, T., KOBOYASHĪ, A. (2003). Proanthocyanidin-containing composition, United Patent Office. **6**: 419-506.
- TANER, G. (2005). Serbest radikallere karşı antioksidan savunma, bilim teknik, Ağustos **113**: 453.
- TAYLOR, J., ENNEVER, F.K. (1993). Cadmium, ATSDR Toxicological Profiles, Atlanta, Ga, Life Systems, Inc., Cleveland.
- THOMAS, M. J. (1995). The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working? *Critical Rew Food Sci And Nutrit*. **35 (1-2)**; 21-39.
- TSURUOKA, S., SUGIMOTO, K.I., MUTO, S., NOMIYAMA, K., FUJIMURA, A., IMAĪ, M. (2000). Acute effect of cadmium-metallothionein on glucose and amino acid transport across the apical membrane of the rabbit proximal tubule perfused in vitro. *J Pharmacol Exp Ther*. **292 (2)**; 769–777.
- VAHTER, M., BERGLUND, M., AKESSON, A., LİDÉN, C. (2002). Metals and Women's Health. *Environ Res*. **88(3)**; 145-155.
- VON SONNTAG, C. (2006). Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair. Verlag Berlin Heidelberg New York: Springer.
- WAGGAS, A.M. (2012). Grape seed extract (*Vitisvinifera*) alleviate neurotoxicity and hepatotoxicity induced by lead acetate in male Albino rats *Journal of Behavioral and Brain Science*. **2**: 176–184.
- WAİSBERG, M., JOSEPH, P., HALE, B., BEYERSMANN, D. (2003). Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*. **192(2-3)**; 95-117.
- WANG, F.Y., XU, Z.J., ZHANG, X.L. (2008). Protective effects of polydatin against lung ischemia/reperfusion injury and the initial exploration for its mechanism. *Chin J Appl physiol*. **24**: 62–5.
- WANG, S.S., ZHENG, Z.G., WENG, Y.Q., YU, Y.J., ZHANG, D.F., FAN, W.H., DAĪ, R., HU, Z. (2004). Angiogenesis and anti-angiogenesis activity of Chinese medicinal herbal extracts. *Life*. **74**: 2467-2478.

- WANG, Y., CHİEN, Y., PAN, T. (2006). Effect of dietary supplementation of caretenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hypsobrycon callistus*. *Aquaculture*. **261**: 641-648.
- WILLİAMS, R.J., SPENCER, J..PE., RİCE-EVANS, C. (2004). Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? *Free Radical Biology and Medicine*. **36**: 838–849.
- WISEMAN, H., HALLİWELL, B. (1996). Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in infammatory disease and progression to cancer. *Biochem J*. **313**: 17-29.
- WORLD HEALTH ORGANISATION. (1992). Cadmium, WHO, Geneva. 92-205.
- XİNG, W.W., WU, J.Z., JİA, M., DU, J., ZHANG, H., QİN, L.P. (2009). Effects of polydatin from *Polygonum cuspidatum* on lipid profile in hyperlipidemic rabbits. *Biomed Pharmacother*. **63**: 457-462.
- XU, B., LİN, H.B., ZHOU, H. (2010). Protective effect of polydatin on a PC12 cell model of oxygen-glucose deprivation. *J South Med Univ*. **30**: 1041–3.
- XU, L.C., SUN, H., WANG, S.Y., SONG, L., CHANG, H.C., WANG, X.R. (2005). The Roles of Metallothionein on Cadmium-induced Testes Damages in Sprague-Dawley Rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **20**: 83-87.
- YADAV, M., JAIN, S., BHARDWAJ, A., NAGPAL, R., PUNIYA, M., TOMAR, R., SINGH, V., PARKASH, O., PRASAD, G.B., MAROTTA, F. (2009). Biological and medicinal properties of grapes and their bioactive constituents: an update. *J Med Food*. **12(3)**; 473-484.
- YAMANO, T., SHIMIZU, M., NODA, T. (1998). Age-Related Change in Cadmium- Induced Hepatotoxicity in Wistar Rats: Role of Kupffer Cells and Neutrophils, *Toxicology and Applied Pharmacology*. **151**: 9–15.
- YANEZ, M., FRAİZ, N., CANO, E., ORALLO, F. (2006). Inhibitory effects of cis- and trans-resveratrol on noradrenaline and 5-hydroxytryptamine uptake and on monoamine oxidase activity. *Biochem Biophys Res Commun*. **344**: 688–95.
- YANGZHENG, F., LİU, Y.M., FRATKİNS, J.D., LE BLANC, M.H. (2005). Garpe seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic inshemic brain injury in neonatal rats. *Brain Research Bulletin*. **66**: 120-127.
- YERER, B.M. (2006). Sirkadiyen ritme bağlı olarak fizyolojik melatonin seviyesindeki değişikliklerin göz ve beyin dokusunda antioksidan önemi. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- YILMAZ, S., OZAN, S., BENZER, F., CANATAN, H., (2003). Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell. Biochem. Funct*. **21**: 325-330.
- YOSHİNO, M., MURAKAMİ, K. (1998). Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Anal Biochem*. **257**: 40-44.

- ZALUPS, R.K., AHMAD, S. (2003). Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol Appl Pharm.* **186(3)**; 163-188.
- ZHOU, C.S., XIANG, H.Y., XIAO, J.B., LEI, Q.F. (2005). Quantitative determination of resveratrol and piceidin *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. by HPLC. *Chin J Pharm Anal.* **25**: 534-536.
- ZHOU, T., JIA, X., CHAPIN, R.E., MARONPOT, R.R., HARIS, M.W., LIU, J., WAALKES, M.P., EDDY, E.M. (2004). Cadmium at a non-toxic dose alters gene expression in mouse testes. *Toxicol. Lett.* **154(3)**; 191-200.