

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA ARSENİK TOKSİKASYONUNUN PATOLOJİSİ VE
EŞ ZAMANLI UYGULANAN *CİSTUS LAURİFOLIUS* L.
(CİSTACEA) BİTKİSİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Hasan Hüseyin DEMİREL

**PATOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Erkan KARADAŞ

**Bu Tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından, 10.VF.19 proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 2012-008

2012 – AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Patoloji Anabilim Dalı Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 07.09.2012

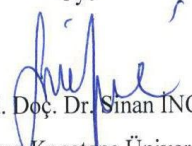

Prof. Dr. Hüdaşerdi ERER
Selçuk Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. M. Müfit KAHRAMAN
Uludağ Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Erkan KARADAŞ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye


Doç. Dr. Esra Kıpeli AKKOL
Gazi Üniversitesi
Üye


Yrd.Doç. Dr.Hikmet KELEŞ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye


Yrd. Doç. Dr. Sinan İNCE
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye


Yrd. Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Raportör

Patoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Hasan Hüseyin DEMİREL'in "Ratlarda Arsenik Toksikasyonunun Patolojisi ve Eş Zamanlı Uygulanan *Cistus Laurifolius* L. (Cistacea) Bitkisinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması" başlıklı tezi **14.09.2012** günü saat **11:15**'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Kağan ÜÇÖK
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Dünya nüfusunun artması, artan nüfusun beraberinde getirdiği ihtiyaçların gün geçtikçe artarak değişmesi ve doğal kaynakların her geçen gün azalması, insanoğlunun karşısına bütün dünyayı etkisi altına alan çevre sorunlarını çıkarmıştır. Kentleşme ve sanayileşme süreci ile insanoğlunun yaşam kalitesi yükselmiş, ortalama ömrü uzamıştır. Buna bağlı olarak artan nüfusun ihtiyaçlarını karşılayabilmek için daha çok enerjiye ve hammaddeye ihtiyaç duyulmuş, doğal kaynaklar daha fazla tüketilmeye başlanmıştır. Başta ısınma olmak üzere, ulaşım ve sanayi, enerji ve hammadde üretimini başlatarak çevre kirliliği sorununu da beraberinde getirmiştir (Büke ve Köne, 2006).

Endüstrileşme ve kentleşmeye bağlı olarak artan çevre kirliliği; hava, toprak ve su kirliliği olarak üçlü bir çember içerisinde oluşmaktadır. Doğrudan ve dolaylı yollardan oluşabilen çevre kirliliği probleminden besin zinciri yoluyla bütün organizmaların ve ekosistemin etkilenmesi, bu problemin büyüklüğünü ve tehlikesini daha da arttırmaktadır. Çevre kirliliğine neden olan faktörlerden en önemlilerinden biri ağır metallerdir (Stresty ve Madhava Rao, 1999). Son zamanlarda ağır metal tanımı ile kimyasal maddelerin ekolojik sisteme verdikleri zarar genelleştirilerek çevresel problemlere neden oldukları vurgulanmaya başlamıştır. Bunun nedeni, çevresel sorunlar söz konusu olduğunda “ağır metal” tanımı sanki çok tanımlı ve kesin bir grupmuş gibi bu kavramın çok sık olarak kullanılmasıdır. Bu yaygın kaniya, ağır metallerin belirli bir zaman aralığında canlı organizmada diğer metallere kıyasla birikiminin fazla olması ve bunun sonucu canlı üzerindeki zararlı etkisinin giderek artması yol açmaktadır (Anonim 2011a).

Ağır metallerin ekolojik sistemde yayılımları dikkate alındığında, daha çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle çevreye yayılımının söz konusu olduğu görülmektedir. Sürekli ve kullanıma bağlı kirlenmenin yanı sıra kazalar sonucu da ağır metallerin çevreye yayılımı önemli miktarlara ulaşabilmektedir. Yıllık olarak doğal dönüşümler sonucu 7600 ton kadmiyum, 18800 ton arsin, 3600 ton civa ve 332000 ton kurşun atmosfere atılmakta iken, insan faaliyetleri sonucu atılan miktarlar dikkate alındığında ise, selenyum (19 kat), kadmiyum (8 kat), civa, kurşun, kalay (6 kat), arsin, nikel ve krom (3 kat)) daha fazladır (Abernaty, 2001; Anonim 2011a).

Ağır metallerin çevreye yayılımında etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir-çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir. Havaya salınan ağır metallere, sonuçta karaya ve buradan da bitkiler ve besin zinciri yoluyla hayvanlara ve insanlara ulaşırlar. Ağır

metaller endüstriyel atık suların içme sularına karışması yoluyla veya aerosol solunum yoluyla da hayvan ve insanlar üzerinde etkin olurlar (Anonim 2012 a,b).

Günümüzde endüstrileşmenin artması ile önemli bir çevre kirleticisi haline gelen ve canlılar üzerinde zararlı etkilere yol açan ağır metallerin en önemlilerinden birisi de arseniktir (Smedly ve Kinniburgh, 2002). Arsenikle olan zehirlenmelerde, sindirim kanalı, sinir sistemi, karaciğer, böbrek, dalak, pankreas, akciğer, kalp kası, testis, epididimis ve deri başta olmak üzere pek çok organ ve sistem zarar görür. Arseniğin vücuttaki dağılımı; arseniğin alınış yoluna, yapısına, dozuna ve süresine bağlı olarak değişmektedir (Albores ve ark., 1996; Yağmur ve Hancı, 2002; Centeno ve ark., 2002; Bhattacharya ve ark., 2007; Cui ve Okayasu., 2008; Juarez-Reyes ve ark., 2009).

Arsenik zehirlenmesi sonucu oluşan hasarın önlenmesine yönelik koruyucu amaçla pek çok çalışma yapılmıştır. Arsenik zehirlenmesinin tedavisinde antioksidan olarak folik asit (Rahman ve Misbahuddin, 2010), taurin (Ma ve ark., 2010), alfa lipoik asit (Kokilavani ve ark., 2005, Shila ve ark., 2005a; Shila ve ark., 2005b; Bilka ve Wlodek 2005), flavonoidler (Mandal ve ark., 2007), vitamin E (Al-Attar, 2011), vitamin C (Duarte ve Lunec, 2005), N-asetil sistein (Flora, 1999), L-ascorbate (Bera ve ark., 2010), metallothionein (Park ve ark., 2001a,b; Jia ve ark., 2004) ve melatonin (Pal ve Chatterjee, 2006) semptomatik olarak kullanılmaktadır.

Arsenik zehirlenmesinde klinik tedavi 2,3 dimerkaptosüksinik asit (DMSA) veya 2,3 dimerkaptopropan 1- sülfonat (DMPS) sülfidril içeren şelatörlerin uygulanmasıdır. Bu dimerkaptoselatör ajanlar dokularda veya enzimlerde 3 değerlikli arseniğe (arsenit) bağlanmak için sülfidril grupları ile yarışır; bu olay arseniğin eliminasyonu ile sonuçlanır. Metal şelasyon ajanlarının bilinen çok sayıda komplikasyonlarının olması nedeniyle, risk altındaki canlılarda arseniğin zehirleyici etkilerini önlemek için, doğal besin bileşikleri ilave edilmesi veya yeni doğal besinlerin ortaya konulması olanakları araştırılmaktadır (Mehta ve Flora, 2001).

Dünyada ve ülkemizde, geleneksel halk hekimliğinde tıbbi bitkilerin ilaç olarak yaygın bir kullanım alanına sahip oldukları görülmektedir. Bu bitkilerden birisi de ülkemizde Afyonkarahisar yöresi de dahil olmak üzere, yaygın olarak yetişen, halk arasında tavşanak, tistüs, yavşancıl, karakan yaprağı, karakan otu ve kaya gülü olarak da bilinen *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae)'dir (Aziz ve ark., 2006; Anonim, 2012c). Flavonoidlerden oldukça zengin olduğu bildirilen bu bitkinin koruyucu etkileri ile ilgili olarak fitokimyasal ve biyokimyasal olarak çok sayıda bildirim bulunmakla birlikte (Simeray ve ark.,1982; Chinou ve ark., 1994; Yeşilada ve ark., 1997a; Yeşilada ve ark., 1997b; Bouamama ve ark.,1999; Küpeli ve ark., 2006) dokularda morfolojik olarak koruyucu etkisi ile ilgili herhangi bir kayda rastlanılmamıştır.

En başta, doktora eğitimim ve birlikte çalıştığımız yıllar boyunca engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her zaman yakın ilgisi ve sabrıyla yanımda olan, her konuda destek veren, tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesindeki katkılarından dolayı sevgili danışman hocam Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erkan KARADAŞ'a; hem bilgi ve tecrübesiyle hem de manevi desteğiyle her zaman yanımda olan; tez ikinci danışmanım Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL'a; Tez İzleme Komitesi'nin değerli üyeleri; Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hikmet KELEŞ'e, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Sinan İNCE'ye; çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT'a, bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde çok büyük emeği olan, sonsuz sabrı, hoşgörüsü, bilgi ve tecrübeleriyle deneysel çalışmalarım süresince yanımda olan ve destek veren, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi, sevgili arkadaşım, Ruhi TÜRKMEN'e, tez çalışmam için laboratuvar ortamını sağlayan ve bilgileri ile beni aydınlatan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKKURT'a, biyokimyasal ölçümler sırasında yardımını esirgemeyen İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Mustafa KABU'ya, deneysel ve laboratuvar çalışmalarım esnasında her türlü desteği sağlayan Veteriner Hekim Mikail GÖKDEMİR'e, Veteriner Hekim Fatih TEMEL'e, Veteriner Hekim Ömer Hattab KARATAŞ'a, Veteriner Hekim Murat ÇOLAKOĞLU'na, Veteriner Hekim Abdullah FIŞKIN'a; Veteriner Hekim İsmail ORHAN'a, değerli arkadaşım Müslüm ÇEVİK'e; moral ve desteklerini esirgemeyen kardeşim Fahrettin DEMİREL'e, eşi Kübra DEMİREL'e, annem Raziye DEMİREL'e ve bu çalışmanın proje olarak desteklenmesini sağlayan Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin tüm çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca, yetişmemde ve bugünlere gelmemde büyük özveri gösteren, merhum dedem Hasan Hüseyin DEMİREL ve merhum babam İsmail DEMİREL'in aziz hatırasını minnet, şükran ve rahmetle yad ediyor ve doktora tezimi beni bugünlere getiren sevgili aileme ithaf ediyorum.

Bu tez çalışması, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 10.VF.19 proje numarası ile desteklenmiş olup, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 20-06-referans no ve 040 sayılı izni ile yapılmıştır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Kabul ve Onay.....	ii
Önsöz.....	iii
İçindekiler.....	vi
Simgeler ve Kısaltmalar.....	ix
Şekiller.....	xi
Tablolar.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Ağır metaller.....	2
1.2 Arsenik.....	4
1.2.1 Arseniğin Tarihçesi ve Genel Özellikleri.....	4
1.2.2 Arsenik Kaynakları.....	6
1.2.2.1 Doğal Kaynakları.....	7
1.2.2.2 Antropojenik Kaynakları.....	8
1.3 Endüstride Kullanımı ve Çevreye Etkisi.....	9
1.4 Türkiyede Arsenik Sorunu.....	12
1.5 Arseniğin Canlılar Üzerine Etkisi.....	13
1.5.1 Arseniğin Akut Toksik Etkileri.....	16
1.5.2 Arseniğin Kronik Toksik Etkileri.....	16
1.6 Arseniğin Patolojisi.....	17
1.7 Arsenik Toksikasyonundan Korunma ve Tedavi Yöntemleri.....	20
1.8. Arsenik ve Oksidatif Stres.....	23
1.9 Serbest Radikaller.....	23
1.9.1 Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri.....	25
1.10 Lipoik Asitin Antioksidan Özellikleri.....	26
1.11 Metalotiyoneinler.....	27
1.12 Flavonoidler.....	29
1.13 Cistus Laurifolius L.....	31
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
2.1 Gereç.....	36
2.1.1 Hayvan Materyali.....	36
2.1.2 <i>Cistus Laurifolius</i> L. Bitkisinin Temini.....	36
2.1.3 Çalışma Grupları.....	38
2.2 Yöntem.....	40
2.2.1 Ekstraksiyon.....	40
2.2.2 Kan Örneklerinin Toplanması ve Biyokimyasal Analizler.....	40
2.2.3 Nekropsi ve Histopatolojik İncelemeler.....	41

2.2.4 İmmunohistokimyasal İncelemeler.....	42
2.2.5 İstatistiksel Analizler.....	43
3. BULGULAR.....	44
3.1 Klinik Bulgular.....	44
3.2 Canlı Ağırlık Artışı ve Rölatif Organ Ağırlık Bulguları.....	44
3.3 Biyokimyasal Bulgular.....	47
3.3.1 Kan Biyokimyasal Bulgular.....	47
3.3.2 Doku Biyokimyasal Bulgular.....	47
3.4 Patolojik Bulgular.....	52
3.4.1 Makroskobik Bulgular.....	52
3.4.1.1 Grup 1-Negatif Kontrol Grubu.....	52
3.4.1.2 Grup 2-Kontrol Grubu.....	52
3.4.1.3 Grup 3.....	52
3.4.1.4 Grup 4.....	53
3.4.1.5 Grup 5.....	53
3.4.1.6 Grup 6.....	54
3.4.1.7 Grup 7.....	54
3.4.1.8 Grup 8.....	54
3.4.1.9 Grup 9.....	55
3.4.1.10 Grup 10.....	55
3.4.1.11 Grup 11.....	56
3.4.1.12 Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu.....	56
3.4.2 Histopatolojik Bulgular.....	56
3.4.2.1 Grup 1-Negatif Kontrol Grubu.....	62
3.4.2.2 Grup 2-Kontrol Grubu.....	62
3.4.2.3 Grup 3.....	65
3.4.2.4 Grup 4.....	74
3.4.2.5 Grup 5.....	76
3.4.2.6 Grup 6.....	76
3.4.2.7 Grup 7.....	79
3.4.2.8 Grup 8.....	79
3.4.2.9 Grup 9.....	87
3.4.2.10 Grup 10.....	90
3.4.2.11 Grup 11.....	95
3.4.2.12 Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu.....	99
3.4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	101
3.4.3.1 Grup 1-Negatif Kontrol Grubu.....	101
3.4.3.2 Grup 2-Kontrol Grubu.....	101
3.4.3.3 Grup 3.....	104
3.4.3.4 Grup 4.....	104
3.4.3.5 Grup 5.....	104
3.4.3.6 Grup 6.....	104
3.4.3.7 Grup 7.....	107
3.4.3.8 Grup 8.....	107
3.4.3.9 Grup 9.....	107
3.4.3.10 Grup 10.....	107

3.4.3.11 Grup 11.....	110
3.4.3.12 Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu.....	110
4. TARTIŞMA.....	112
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	139
ÖZET.....	142
SUMMARY.....	144
KAYNAKLAR.....	146
ÖZGEÇMİŞ.....	181

SİMGELER ve KISALTMALAR

AEC	3-amino-9 etilcarbazol
ALA	Alfa lipoik asit
ALT	Alanin aminotransferaz
AKŞ	Açlık kan şekeri
APL	Akut promiyelositik lösemi
AST	Aspartat aminotransferaz
BAL	British Anti-Lewisite
CAT	Katalaz
DMSA	2-3 Dimerkaptosüksinik asit
DMPS	2-3 Dimerkaptopropan
DMA	Dimetil arsinik asit
g	Gram
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (The U.S. Food and Drug Administration)
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (Gas chromatography–mass spectrometry)
GGT	Gama glutamil transferaz
GSSG-R	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon S transferaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
HE	Hematoksilen-Eosin
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografi (High-performance liquid chromatography)
LC-MS-MS	Sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)
MDA	Malondialdehit
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
MT	Metallothionein
8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
ÖD	Öldürücü doz
PBS	Phosphate buffer saline
pH	Asit ve alkalın yoğunluğunun göstergesi
PTWI	Geçici tolere haftalık alımı (Provisional tolerable weekly intake)
RBE	Rölatif beyin
RBÖ	Rölatif böbrek
RD	Rölatif dalak
RK	Rölatif kalp
RT	Rölatif testis
SGOT	Serum glutamate oksolaasetat transaminaz

SGPT	Serum glutamat piruvat transaminaz
SOD	Süper oksit dismutaz
MNH	Mononükleer hücre infiltrasyonu
TK	Total kolesterol
TP	Total protein
TSK	Tubulus seminiferus kontortus
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 1.1	Doğadaki arsenik döngüsü	7
Şekil 1.2	Flavonoidlerin açık kimyasal yapısı	29
Şekil 1.3	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin taksonomide sınıflandırılması	32
Şekil 2.1	Ağın Dağı (Koroğlu beli)'nin yamaç ve eteklerinden toplanan <i>Cistus Laurifolius</i> L. (Cistaceae) bitkisinin doğal görünümü	37
Şekil 3.1	Grup 3, A. Karaciğerin viseral yüzünde boz renkte odaklar. B. Böbreğin dış yüzünde boz renkte odaklar; C. Testislerde damarlarda konjesyon; D. Beyin ve beyinciğin dış yüzünde konjesyon.	53
Şekil 3.2	Grup 8, A. Karaciğerin viseral yüzünde boz renkte odaklar; B. Böbreğin dış yüzünde boz renkte odaklar.	55
Şekil 3.3	Grup 1, A. Karaciğer, HE; B. Böbrek HE; C. Kalp, HE; D. Akciğer, HE; E. Dalak, HE; F. Pankreas, HE; G. Beyin, HE; H. Testis, HE.	63
Şekil 3.4	Grup 2, A. Karaciğer, HE; B. Böbrek, HE ; C. Kalp, HE; D. Akciğer, HE; E. Dalak HE; F. Pankreas, HE; G. Beyin, HE; H. Testis, HE.	64
Şekil 3.5	Grup 3, A. Karaciğerde sentral ve portal venlerde şiddetli hiperemi, HE; B. Portal alanlarda ve intersitisyumda mononükleer hücre infiltrasyonları, HE; C. Kupffer hücre aktivasyonu (ok başı), HE; D. Bağ doku artışı ve psöydolobül oluşumu (ok başı), HE; E. Hepatositlerde şişme ve vakuolizasyon, HE; F. Hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, HE; G. Hepatositlerde nükleer değişiklikler ve karyomegali (ok başı), HE; H. Akciğerde peribronşioler lenfoid dokuda artış, HE.	69
Şekil 3.6	Grup 3, A. Böbrekte kortikomedüller bölgede şiddetli hiperemi ve kanama, HE; B. Glomeruluslarda hiperemi ve periglomerular mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başı), HE; C. Proksimal tubulus epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon (ok) ve piknoz (ok başı) ile karakterize koagülasyon nekrozu, HE; D. Perivasküler alanda eozinofil lökositlerin (ok başı) de yer aldığı hücre	70

- infiltrasyonları, HE; E.Tubulus epitel hücrelerinde piknoz ile karakterize yaygın koagülasyon nekrozu, HE; F.**Kalp kasında** hyalin dejenerasyonu ve şiddetli kanama, HE.
- Şekil 3.7 Grup 3, A. **Kalp kasında** fokal mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize yangısal reaksiyon (ok), HE; B.**Dalakta** çok sayıda megakaryoistler (ok başı), HE; C.Hemosiderin ile yüklü makrofajlar (ok başı), HE; D.**Pankreasta** ekzokrin epitel hücrelerinde piknoz ile karakterize koagülasyon nekrozu ve vakuolizasyonlar (ok başı), HE; E.Ekzokrin epitel hücrelerinde mineralizasyon (ok başı), HE; F. **Testiste** TSK'ta vakuolizasyon (ok başı), dejeneratif değişiklikler ve lumende dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış kitle (ok), HE. 71
- Şekil 3.8 Grup 3, A. **Testiste** TSK'da spermatogonyumlarda piknoz (ok başı), HE; B.TSK'larda lumende, dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış kitle (ok) ve korpora amileseum benzeri yapı (ok başı), HE; C.TSK'da spermatogenetik hücrelerde veziküler görünüm, spermatidler şekillenmemiş ve lumen boşalmış bir görünümde, HE; D.**Epididimis** kanal lumenlerinde genişleme ve çoğunda boşalma, HE; E. **Beyin de** kapillar damarlarda şiddetli hiperemi, HE; F.Dejenere nöronlar ve fokal gliozis (ok başları), HE. 72
- Şekil 3.9 **Şekil 3.9** Grup 3, A,B. **Deride**, epidermiste parakeratotik hiperkeratozis (oklar), hipergranulozis (h) ve spongiozis (ok başları), HE; C. dermiste yaygın kollajen hyalinizasyon (oklar), HE; D.dermiste yağ bezlerinde hiperplastik (ok başı) görünüm, HE; E dermiste yağ bezlerinde hiperplastik görünüm (ok başı), HE; F dermiste ter bezlerinde atrofik değişiklikler (ok başları), HE. 73
- Şekil 3.10 Grup 4, A. Karaciğer, HE; B. Böbrek, HE; C. Kalp kası, HE; D.Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F. Pankreas , HE; G.Testis, HE; H. Beyin, HE. 75
- Şekil 3.11 Grup 5, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek HE; C.Kalp HE; D. Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F. Pankreas, HE; G. Testis, HE; H. Epididimis, HE. 77
- Şekil 3.12 Grup 6, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Akciğer, HE; 78

- D.Dalak, HE; E.Pankreas, HE; F.Beyin , HE; G.Testis, HE; H.Epididimis, HE.
- Şekil 3.13 Grup 7, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Kalp, HE; D.Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F.Pankreas, HE; G.Beyin, HE; H.Testis, HE. 83
- Şekil 3.14 Grup 8, A. Karaciğer venlerinde ve sinuzoidlerde şiddetli hiperemi, HE; B.Multi fokal koagülasyon nekrozu ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; C.Portal alanda safra kanalları sayısında artış ve pseudolül oluşumu (ok başı), HE.; D.Hepatositlerde yaygın koagülasyon nekrozu, HE.; E. Portal vende ve sinuzoidlerde hiperemi, hepatositlerde yaygın parankim dejenerasyonu, HE; F.Sentral venlerde hiperemi ve tromboz (ok) ile birlikte şiddetli periasiner nekroz, HE; G.Periportal alanlarda çift çekirdekli hepatositler (ok başı) ve hepatomegali (ok), HE; H.Periportal ve intersitisyel alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu, HE. 84
- Şekil 3.15 Grup 8, A. **Böbrekte** korteks ve medullada şiddetli hiperemi, HE; B.Kortekste tubulus epitellerinde şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile mononükleer hücre infiltrasyonu, HE; C. **Kalpte** şiddetli Zenker nekrozu, HE; D.Hyalin dejenerasyonu ile birlikte fokal mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; E.Myokarda şiddetli kanama, HE; F.**Akciğerde** peribronşiyoler lenfoid doku artışı, HE. G. **Dalakta** çok sayıda megakaryositler, HE; H.Hemosiderinle yüklü makrofajlar (ok başları), HE. 85
- Şekil 3.16 Grup 8, A. **Pankreasta** ekzokrin hücrelerde vakuolizasyonlar (ok başı), HE; B.Ekrokzin hücrelerde yaygın piknoz (ok başları), HE; C.Ekrokzin hücrelerde mineralizasyon (ok başı), HE; D.**Testiste** TSK'da şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, HE. E.Bazı TSK'larda lumende boşalma, HE; F.**Beyinde** nöronlarda dejenerasyon (ok başı) ve glia hücre infiltrasyonu, (ok), HE. 86
- Şekil 3.17 Grup 9, A. **Karaciğerde** venlerde hiperemi ve tromboz (ok), HE, B.Hepatositlerde şiddetli hidropik dejenerasyon (ok başı), HE, C.Periasiner alanlardaki hepatositlerde şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile sinuzoidlerde hiperemi, HE; D.**Böbrekte** glomeruluslarda hiperemi, HE; E.Tubulus epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, HE; F.Periglomerular ve intertubuler 91

- alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu (ok) ve tubuluslarda piknoz (ok başı), HE.
- Şekil 3.18 Grup 9, A. **Kalp** kasında Zenker nekrozu, HE; B.Myokarda hiperemi, yaygın Zenker nekrozu, HE; C.Myokarda kas fibrillerinde vakuolizasyonlar (ok başları), damarlarda hiperemi ve serbest halde eritrositler, HE.; D.**Akciğerde** peribronşiyoller lenfoid doku artışı, HE; E.**Dalakta** çok sayıda megakaryositler (ok başları), HE; F.Hemosiderinle yüklü makrofajlar (ok başları), HE. 92
- Şekil 3.19 Grup 9, A., **Pankreasta** ekzokrin epitel hücrelerinde vakuolizasyon (ok başı), HE; B.Ekzokrin epitel hücrelerinde yaygın nekroz ve mineralizasyon (ok başları), HE; C.**Testiste** TSK'larda spermatogeneziste bozulma; spermatogenetik hücre tabakaları kaybolmuş, spermatozoonlar azalmış ve lumenleri spermatidlerden yoksun, HE; D.TSK'da dejeneratif değişiklikler ve lumende, dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış görünüm (ok), HE; E.TSK'da dejeneratif değişiklikler, damarda hiperemi ve duvarında hipertrofik görünüm (ok), HE; F.**Beyinde** nöronlarda vakuolizasyon (ok başı) ve tek tük mikroglia hücreleri, HE. 93
- Şekil 3.20 Grup 10, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Kalp, HE; D.Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F.Pankreas, HE; G.Beyin, HE; H.Testis, HE. 94
- Şekil 3.21 Grup 11, A. **Karaciğerde** sentral ve portal vande hiperemi, HE; B.Sinuzoidlerde hiperemi ve dilatasyon, HE; C.Periasiner hepatositlerde parankim ve vakuoler dejenerasyonu ile Kupffer hücre aktivasyonu, HE; D.Periportal alanda bazı hepatositlerde çift çekirdekli görünüm ve hepatomegali, E.Periportal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; F.**Böbrekte** glomeruluslarda hiperemi ve dilatasyon ile tubuluslarda nekrotik değişiklikler (ok başı), HE; G.Periglomerular alanda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; H.Tubuluslarda yaygın dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ve yer yer mononükleer hücre infiltrasyonları, HE. 97
- Şekil 3.22 Grup 11, A. **Kalpte** hyalin dejenerasyonu ve nekroz, HE; B.Kapillar damarlarda hiperemi ve serbest halde eritrositler, HE; 98

C.**Akciğer**, HE; D.**Dalakta** megakaryositler ve hemosiderin birikimi, HE; E.**Pankreasta** ekzokrin epitel hücrelerinde yaygın nekroz, HE; F.**Testiste** bir tubulusta dejenere spermatogonyumların lumende toplanması (ok) ve tubulus bazal membranında hyalinizasyon, HE; G.TSK'ların bazal membranında hyalinizasyon (ok) ve bazı spermatogonyumlarda vakuolizasyon, HE; H. **Beyinde** nöronlarda dejenerasyon ve tek tük mikroglialar (ok başları), HE.

Şekil 3.23 Grup 12, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Kalp, HE; 100
D.Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F.Pankreas, HE;G.Beyin, HE;
H.Testis, HE.

Şekil 3.24 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 1**, A. 103
Karaciğer, hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; B.Böbrek,
glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; C. Testis, TSK ve
intersitisyumda negatif boyanma; D. Epididimis, kanal epiteli,
lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; **Grup 2**, E.
Karaciğer, hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek,
glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Epididimis, kanal
epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Testis, TSK
ve intersitisyumda negatif boyanma.

Şekil 3.25 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 3**, A. 105
Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde (ok başı) pozitif
boyanma; B.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubuluslarda pozitif
boyanma (ok başı); C.Testis, TSK (ok) ve intersitisyumda (ok
başı) pozitif boyanma. D.Epididimis, intersitisyumda (ok başı)
pozitif boyanma; **Grup 4**, E. Karaciğerde hepatosit ve
sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve
tubuluslarda negatif boyanma; G.Epididimis, kanal epiteli, lümeni
ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Testis, TSK ve
intersitisyumda negatif boyanma.

Şekil 3.26 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 5**, A. 106
Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma;
B.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; C.Testis,
TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; D.Epididimis, kanal
epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; **Grup 6**, E.

- Karaciğer, hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma.
- Şekil 3.27 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 7, A.** 108
Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; B.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; C.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; D.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; **Grup 8, E.** Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde (ok başı) pozitif boyanma; F.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubuluslarda (ok başı) pozitif boyanma; G.Testis, intersitisyumda (ok) ve Leydig hücrelerinde (ok başı) pozitif boyanma; H.Epididimis, intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma.
- Şekil 3.28 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 9, A.** 109
Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde (ok başları) pozitif boyanma; B.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubuluslarda (ok başı) pozitif boyanma; C.Testis, intersitisyumda ve Leydig hücrelerinde pozitif boyanma; D.Epididimis, intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma; **Grup 10, E.,** Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma.
- Şekil 3.29 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 11, A.** 111
Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde pozitif boyanma; B.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubuluslarda (ok başı) pozitif boyanma; C.Testis, intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma; D.Epididimis intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma; **Grup 12, E.** Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma.

TABLULAR

		Sayfa
Tablo 2.1	Deneme grupları, verilen madde, taşıt madde ve veriliş yolu	39
Tablo 3.1	Deneme periyodu boyunca ratların haftalık olarak ölçülen canlı ağırlık değişimleri	45
Tablo 3.2	Gruplara göre rölatif organ ağırlıkları	46
Tablo 3.3	Gruplara göre serum biyokimyasal değerler	48
Tablo 3.4	Gruplara göre kan dokusu MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri	49
Tablo 3.5	Gruplara göre haftalık açlık kan şekeri ölçüm değerleri	49
Tablo 3.6	Karaciğer MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri	50
Tablo 3.7	Böbrek MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri	50
Tablo 3.8	Kalp MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri	51
Tablo 3.9	Beyin MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri	51
Tablo 3.10	Gruplarda organlarda tespit edilen histopatolojik bulgular	57
Tablo 3.11	Gruplarda göre testis TSK çap ölçüm değerleri	61
Tablo 3.12	Kontrol ve deneme gruplarında organlarda saptanan immunohistokimyasal bulgular.	102

1. GİRİŞ

Yirminci yüzyılın başından itibaren artan nüfusun baskısıyla modern tarıma geçilmesi ve hızlı sanayileşmeyle birlikte, çevre kirliliği problemleri de ortaya çıkmaya başlamıştır. Hızla artan dünya nüfusunun beslenmesi, gelişen endüstrilerin ve kentleşmenin bir sonucu olarak günümüzde de giderek artan boyutlarda önemini korumaktadır. Endüstrileşme ve kentleşmeye bağlı olarak artan çevre kirliliği ile birlikte toprak kirliliği de ortaya çıkmış ve canlılar üzerinde tehlikeli olabilecek boyutlara ulaşmıştır. Doğrudan ve dolaylı yollardan oluşabilen çevre ve toprak kirliliği probleminden besin zinciri yoluyla bütün organizmaların etkilenmesi, bu problemin büyüklüğünü ve tehlikesini daha da arttırmaktadır. Çevre ve toprak kirliliğine neden olan faktörlerden en önemlilerinden biri ağır metallerdir (Stresty ve Madhava Rao, 1999).

Ağır metaller, biyolojik proseslere katılma derecelerine göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan ağır metaller olarak sınıflandırılırlar. Yaşamsal olarak tanımlananların organizma yapısında belirli bir konsantrasyonda bulunmaları gereklidir. Bu metallerin biyolojik reaksiyonlara katılmaları nedeniyle, besinler yoluyla düzenli olarak alınmaları zorunludur. Örneğin, bakır hayvanlarda ve insanlarda eritrositlerin ve birçok oksidasyon, redüksiyon proseslerinin vazgeçilmez parçasıdır (Anonim, 2012a). Buna karşın yaşamsal olmayan ağır metaller çok düşük konsantrasyonlarda dahi fizyolojik yapıyı etkileyerek sağlık problemlerine yol açabilmektedirler. Bu gruba en iyi örnek kükürtlü enzimlere bağlanan civadır. Bir ağır metalin yaşamsal olup olmadığı, alınan organizmaya da bağlıdır. Örneğin, bitkilerde toksik etki gösteren nikelin, hayvanlarda iz element olarak bulunması gerekir (Duffus ve Worth, 1996).

Ağır metaller, canlı organizmalarda biyolojik birikime uğrayabilen bileşiklerdir. Bunların canlı vücuduna alınmaları ve depolanmaları, metabolize edilmelerinden veya atılmalarından daha hızlıdır. Canlılarda meydana gelen bu

birikim, birçok biyolojik hasar meydana getirebilmektedir (Eraslan ve ark., 2007). Ağır metaller, metabolize edilmelerinin ardından canlı için hayatî önemi olan proteinler, enzimler ve nükleik asitler gibi makromoleküllere bağlanarak hücrelerin yapı ve fonksiyonlarını etkilerler (Landis ve Yu, 1999).

1. 1 Ağır Metaller

Ağır metal, metalik özellik gösteren elementlerden oluşan, “açık ve tam bir tanımlaması yapılmamış olan grupta” yer alan elementlere verilen addır. Bazı araştırmacılar tarafından yoğunluk, bazıları tarafından atomik sayı ya da atomik ağırlık, bazıları tarafından da kimyasal özellikleri veya toksisite üzerine dayanan birçok tanımlamalar yapılmıştır (Duffus, 2002).

Çevresel sorunlar ele alındığında, yüksek yoğunluğa sahip ve düşük miktarlarda bile zehirleyici etkisi olan metal, ağır metal olarak adlandırılmaktadır. Normalde ağır metal tanımı yoğunluğu 5 g/cm^3 den daha yüksek olan metaller için kullanılmaktadır. Bu grupta kurşun, kadmiyum, arsenik, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa ve çinko gibi altmıştan fazla metal yer almaktadır (Kahvecioğlu ve ark., 2004).

Paracelsus, doğada bulunan tüm maddelerin aynı zamanda zehir özelliği olduğunu söylemiş ve bu maddelerin zehir özelliği ile tedavi edici özelliği arasındaki farkı insan vücudundaki miktarının belirlediğini ifade etmiştir (Bakar ve Baba, 2009). Bu durum, metaller için de geçerlidir. Bazı metaller yaşamın sürdürülebilmesi için vazgeçilmez iken, bazıları ileri derecede zehirlidirler. Ancak, vazgeçilmez görünen metallerin de belirli miktarlardan sonra zehirli oldukları bilinmektedir (Dökmeci ve Dökmeci 2005; Bakar ve Baba, 2009).

Metallerle ilgili sağlık problemleri, metallerin çeşitli amaçlar için yeryüzünde kullanılmasıyla birlikte gözlenmeye başlamıştır. Kurşun ile sağlık arasındaki ilişki

her ne kadar günümüzde daha iyi tanımlanmış olsa da etkileri Romalılar döneminden beri bilinmektedir. Metallerle insan sağlığı arasındaki ilişkinin en tipik örneklerinden birisi Japonya'nın Minamata körfezinde gözlenen metil civa salgınıdır. Planktonlar aracılığı ile balıklara geçen metil civa, besin zinciri yolu ile insanlara ulaşmış ve bu yolla 1953 yılında görülen zehirlenmede 46.000 ölüm olmuştur. "Minamata Hastalığı'nın" yol açtığı salgın ve benzeri olaylar, dünyanın değişik bölgelerinde, özellikle sanayileşme ile birlikte daha sık gözlenir olmuştur. Metallerin, özellikle ağır metallerin yol açtığı sağlık problemlerinin çoğu, ileri derecede tanı ve tedavi olanakları gerektiren kronik hastalıklar ya da kanserlerdir (Bakar ve Baba, 2009).

Ağır metaller, proteinlere bağlanarak kan yoluyla depo edileceği organlara giderler. Karaciğere depolama ya da metabolizma amaçlı taşınırlar. Karaciğerde ağır metaller ya depolanır, ya safra kesesine veya böbrekler tarafından atılmak üzere kana gönderilir. Başlangıçta ağır metallerin vücuttan dışarı atılana kadar moleküllere bağlı olanları, en azından "metabolik açıdan kullanılan" metallerdir, toksik değildirler. Karaciğerde metabolize edilemeyen ağır metaller ise sülfidril grubu başta olmak üzere imidazol ve karboksil gruplarını içeren proteinlere bağlanıp düzenleyici fonksiyonları bozabilecek biyokimyasal değişikliklere yol açabilmektedir (Heath, 1995; Carreo ve Tyson, 1998; Akahori, 1999).

Çevremizde bulunan tüm ağır metaller vücutta belirtilen sınırlarının üstünde alınırsa sağlık problemlerine sebep olurlar. Ağır metallerden kurşun, civa, kadmiyum ve arseniğin yetişkinler için tavsiye edilen limit dozları Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization-WHO)/Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO)'nün uzmanlar grubu tarafından "Geçici Tolere Haftalık Alımı" (Provisional Tolerable Weekly Intake-PTWI) başlığı altında bildirilmiş ve PTWI değeri arsenik için 0,015 mg/kg olarak açıklanmıştır (Kınık ve ark., 2002, WHO, 2004).

1.2 Arsenik

1.2.1 Arseniğin Tarihçesi ve Genel Özellikleri

Arsenik, ilk olarak Farsça'da "zarnikh" şeklinde isimlendirilmiş, daha sonraları Yunanlılar tarafından Yunanca'da "güçlü erkek birey" anlamına gelen "arsenikos" kelimesi ile adlandırılmıştır (Ansari ve ark., 1998; Bentley ve Chasteen, 2002; Akdeniz, 2002).

Elementel arsenik ilk olarak Alman kimyacı Albertus Magnus tarafından 12. yy. (1193-1280)'da keşfedilmiştir. Metalik arsenikten ilk olarak 3. ve 4. yüzyılda Zosimus söz etmiş ve beyaz oksit olarak ifade etmiştir. Arap kimyacı Geber, 8. yüzyılda sülfütlere arsenik üretmiş ve bunu bir metal olarak tanımlamıştır. Schroeder, 17.yy. (1641)'da arsenik oksiti odun kömürü ile indirgeyerek elementel arseniği elde etmiştir. Brand 18.yy. (1733)'da arseniğin kimyasını araştırmış ve beyaz arseniği ilk olarak tanımlamıştır. Scheele 18.yy (1755)'da arsenik asit ve arseniğin hidrojen ile yaptığı bileşiklerini keşfetmiştir. Daha sonraları Davy, hidrojen sülfür bileşiklerinden katı arseniği elde etmiş, Berzelius, arsenik ve arsenik sülfür bileşiklerini arasındaki ilişkileri araştırmıştır. İlk olarak İsveçli kimyacı Scheele tarafından keşfedilen arsin gazı, o zamana kadar gazın öldürücü etkisi bilinmediğinden Münih'de Alman kimyacı Gehlen tarafından bulunduğu zaman 1915'de birkaç dakika içerisinde ölümüne neden olmuştur (Nriagu, 1994; Akdeniz, 2002).

Arsenik "As" simgesi ile belirtilen, azot ailesinden metalloid özellik gösteren bir element olup, doğada yaygın olarak bulunan bir kimyasaldır. Arsenik yer kabuğunun yaklaşık % 0,0005'ini oluşturur. Kimyasal olarak periyodik cetvelde 5A grubunda fosfor ve antimon arasında yer alan arsenik, atom sıra numarası 33 ve atom ağırlığı 74.91 g/mol olan, kokusuz ve tatsız özelliklere sahip bir yarı metaldir. Yarı metal (iyi metal özelliği göstermeyen metaller) olarak ifade edilmekle birlikte, hem metal (yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, kendine özgü parlaklığı olan,

şekillendirmeye yatkın, katyon oluşturma eğilimi yüksek, oksijenle birleşerek çoğunlukla bazik oksitler veren elementler), hem de ametal (metal özelliği göstermeyen elementler) özelliklerinin her ikisini de taşımaktadır.

Arsenik, doğada çoğunlukla diğer metallerden demir, bakır, gümüş, nikel, oksijen ve sülfür kombinasyonları ile birlikte bulunur. Demir, nikel ve manganezden ağır; gümüş, kurşun ve altından ise hafiftir. Redoks reaksiyonlarında arsenik -3, arsenik 0, arsenik +3, arsenik +5 olmak üzere 4 değerlik; inorganik formlarda bir arsenit veya arsenatın oksijen ile birleşimlerine göre As+3 ve As+5 değerliklerini almaktadır. Arsenik genellikle As+3 (trivalent; arsenik trioxide, sodyum arsenite, arsenik tri klorür) ve As+5 (pentavalent; arsenik pentoksit, arsenik asit, kurşun arsenate) bileşikleri halinde bulunur (Hughes, 2002; Smedly ve Kinniburgh, 2002; Bissen ve Fritz, 2003; Kaminsky ve Nunez 2003; Kuan-Seong, 2004).

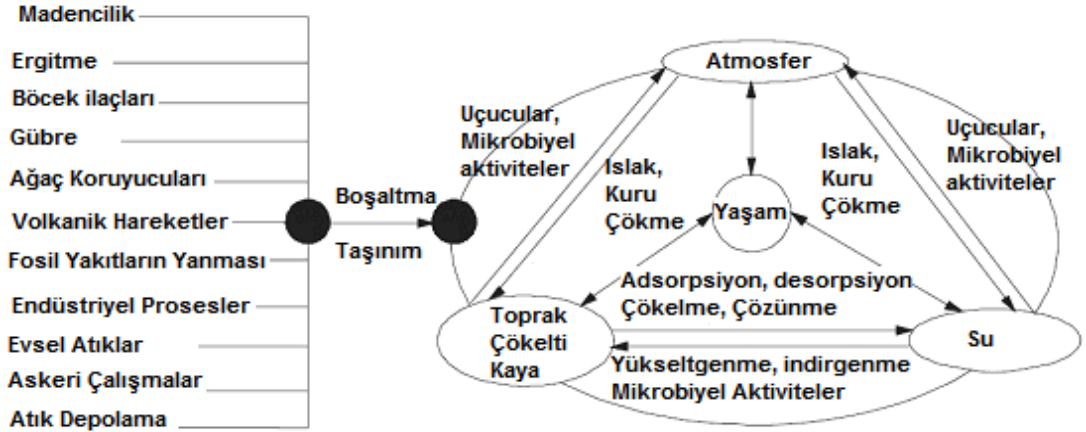
Arsenik, yerkabuğunda geniş bir alana yayılmış ve ortalama konsantrasyonu 2 ppm olan, 5.78 g/cm^3 yoğunluğa sahip olan bir metaldir. Arsenik 200'den fazla mineral ile katışık bileşikler halinde doğada geniş bir alana yayılmıştır. Trivalent ve pentavalent formlarda yiyecek ve yeraltı sularında mevcut olup en çok bilinen minerali arsenopirittir (FeAsS). Endüstride arseniğin bilinen uygulamaları yarı iletken teknolojileri ve laser üretimidir. Bunun yanında antik çağlardan beri zehir olarak kullanıldığı bilinmektedir. İnorganik arsenik bileşikleri $60 \text{ ppm} >$ konsantrasyonlarda oral yolla alındığında insanlar için öldürücüdür (Habashi, 1997; ATSDR, 2000 a,b). Elementel arsenik suda çözünmezken inorganik arsenik tuzları, pH ve iyonik ortama bağlı olarak geniş aralıklı çözünürlükler gösterir. Madencilik, demir dışı metallerin ergitilmesi ve fosil yakıtların yanması gibi büyük endüstriyel işlemler sırasında arsenik hava, su ve toprağa yayılarak kirliliğe yol açabilmektedir. Ayrıca arsenik içeren tarımsal ilaçların kullanılması çevre kirliliğine neden olmaktadır (WHO, 1996; ATSDR, 2000 a,b; Yağmur ve Hancı, 2002; Akdeniz 2002).

Arsenik bileşikleri organik (monometilarsenat, dimetilarsinat, arsenobetain, difenilklor arsin, betaklorvinilklor Arsin) ve inorganik (sodyum arsenit, arsenik trioksit, bakır aseto arsenit, arsenik triklorür, arsenik pentaoksit, arsenik asit, kursun arsenat, potasyum asit arsenat) olmak üzere iki formdadır. Elementel arseniğin oksijen, klor ya da kükürt ile bileşik oluşturmuş haline inorganik arsenik; karbon ve hidrojen ile bağlanmış haline ise organik arsenik denir. Doğada en çok bulunan arsenik türü olan inorganik arsenik toprakta ve pek çok tip kayada, özellikle bakır ya da kurşun içeren minerallerde, cevherlerde, yüzey ve yeraltı sularında baskın iken, organik arsenik türleri ise doğal gaz ve petrolde daha baskındır (USEPA 2002; Kaya ve ark., 2002). İnorganik arsenik bileşikleri içinde, ekonomik değerinin de bulunması nedeniyle arsenik trioksit önemli yer tutar. Arsenik trioksit, suda az çözünmesine karşın, oksitlenmiş formu olan arsenik pentaoksit suda kolaylıkla çözünür. Bu grup bileşiklerden arseniyöz asit ve arsinik asit çok kuvvetli oksitleyici maddelerdir. Gaz formundaki başlıca bileşikleri, arsin ve trimetilarsindir. Maden yataklarının nemiendirilmesi sırasında oluşan Arsin gazı çok toksik bir gazdır. Organik arsenik bileşikleri; genellikle arseniğin metillenmiş yapıları olan arsonik asit, dimetil arsinik asit ya da diğer organoarseniklerden, arseno betain ve arseno-cholindir (O'Day, 2006).

1.2.2 Arsenik Kaynakları

Yerkabuğunda en sık bulunan yirminci element olan arseniğin oluşumu ve dağılımı üzerinde özellikle son yıllarda daha sık durulmaya başlanmıştır. Arseniğin doğadaki oluşumu ve döngüsü hem doğal hem de antropojenik kaynaklı olabilir (Matschullat, 2000; Bhattacharya ve ark., 2007).

İnsanların doğanın dengesini etkileyecek faaliyetlerde bulunmadan çok önceleri arsenik yer kabuğunda, toprakta, suda, havada ve yaşayan canlılarda belli bir oranda bulunmakta idi. Hem doğal hem de antropojenik süreçlerle arseniğin taşınımı (Şekil.1.1.) gerçekleşti (Wang ve Mulligan, 2006; Başkan ve Pala, 2009).



Şekil 1.1 Doğadaki arsenik döngüsü (Wang ve Mulligan, 2006).

1.2.2.1 Doğal Kaynakları

Arsenik toprakta, bazı kaya türlerinde ve özellikle kurşun ve bakır içeren mineral ve cevherlerde doğal olarak bulunur. Arsenik, rüzgarın taşıdığı toz, yüzeysel akış ve yeraltına sızma sonucu havaya ve suya geçebilir (Alain ve ark., 1993). Yer kabuğunda bulunan arseniğin ortalama olarak, kilogramda 6 mg olmak üzere, toplam miktarının 4.01×10^6 kg olduğu tahmin edilmektedir. Deniz suyundaki arsenik konsantrasyonu ortalama olarak $0.09-24 \mu\text{g/L}$ arasında değişmektedir. Yüzeysel sularda ise bu değer $0.15 - 0.45 \mu\text{g/L}$ arasındadır (Chou ve Rosa, 2003; Bissen ve Frimmel, 2003; USEPA, 2003a, USEPA, 2003b).

Doğada arseniğin en önemli kaynağı sülfür mineralleridir. Özellikle kömürde arsenopirit mispickel şeklinde bulunmakta olup, kömürün yanması sonucu önemli kirlilik oluşturmaktadır. Arsenik içeren en önemli mineraller arasında orpiment, realgar, arsenopirit, mispickel, niccolite, tennannite, enargite, loellingite, kobalite yer almaktadır (Matschullat, 2000; Bissen ve Frimmel, 2003, Thirunavukkarasu ve ark., 2003). Sülfür mineralleri dışında arseniğin diğer kaynağı ise arsenik içeren demir oksitlerdir (Smedley ve Kinniburgh, 2001, Sadiq ve ark., 2002; Mandal ve Suzuki, 2002; ATSDR, 2007; Khandaker ve ark., 2009).

Arsenik, vücuda içme suyu, gıdalar ve solunum yoluyla alınmakla birlikte en büyük maruziyet kaynağı içme sularıdır. Doğal sularda arsenik oluşumu akiferin (yerkabuğu içerisindeki su depoları) jeolojik, hidrojeolojik ve jeokimyasal özelliklerine bağlı bulunmaktadır. Yer altı suları ve kuyu suları toprağın yapısındaki arseniğin çözünerek suya geçmesi nedeniyle, yerüstü sularına göre daha yüksek oranda arsenik içerir. Yer üstü suları, dereler, akarsular ve göller nispeten daha düşük oranda arsenik içerir. Yer üstü suları yüksek oranda arsenik içeriyorsa; sanayi atıkları ile kirlenme, başta tarımda kullanılan tarım ilaçları olmak üzere her türlü pestisit topraktan süzülerek yerüstü sularını bulaştırmış olma olasılığı söz konusudur. Bunun yanında baraj göllerinin tabanında “dip çamurunda” arsenik yoğunlaşması şekillenebilir. Baraj su seviyesinin azalmasına paralel olarak “dip çamuruna” yakın bölgeden şebekeye su alınırsa arsenik oranının yüksek olması beklenen bir olgudur. Arsenik minerali kireçtaşında ve sarı zırnık isimli renklendirici olarak kullanılan bir maddede bulunabilir. Arsenik, çevremizdeki bitki ve hayvanlarda, toprakta ve atmosferde doğal olarak bulunur; volkanik patlamalardan çıkan toprak ve kaya parçacıklarında, maden atıklarında da yaygın olarak bulunur. Kapalı ortamlar için en önemli arsenik kaynağı sigara dumanıdır. Tahıllarda, pirinçte, balıklarda ve diğer birçok yiyecekte inorganik arsenik bulunur. Yiyeceklerle alınan arseniğin yaklaşık olarak % 20’si inorganik arseniktir, diğer bir deyişle bir yetişkinin aldığı toplam organik arseniğin % 80’i normal şartlarda besinlerle alınır (Brown, 2002; Smith, ve ark., 2002).

1.2. 2.2 Antropojenik Kaynakları

Arseniğin antropojenik kaynakları oldukça çeşitlidir. Arsenik içeren endüstriyel üretimlerden ahşap ve kereste koruma işlemleri, kozmetikler, boya işletmeleri, ilaç sanayi, herbisit sanayi, yarı iletken madde üretimi, dericilik, cam üretimi, tıbbi kullanımlar, kağıt ve kağıt hamuru üretimi ile çimento üretimi başlıca antropojenik kaynaklardandır. Ayrıca bakır, nikel, altın madenciliği ve cevher tasfiye etme işlemleri, zirai uygulamalar, fosil yakıtların kullanımı, düzenli depolama sahası

sızıntı suları da arseniğin antropojenik kaynakları arasında yer almaktadır (USEPA, 2002).

Arsenik oluşumuna sebep olan en önemli insan hareketleri zararlı bitki ve böcekleri yok eden tarım ilaçlarının kullanımı ve madencilik faaliyetleridir (Mandal ve Suzuki, 2002). Arsenik içeren pestisitlerin kullanımı arseniğin “noktasal olmayan antropojenik kaynakları” arasında bulunmaktadır. Dünyada en çok kullanılan arsenik içeren pestisitler arasında kurşun arsenat, kalsiyum arsenat, magnezyum arsenat, çinko arsenat ve çinko arsenit gelmektedir (Yücer, 2008).

Son zamanlarda çinko asit pillerinin üretimi ile bilgisayarlarda veya diğer elektronik uygulamalarda yarı iletken olarak galyum arsenit üretiminde saf arseniğin kullanılmasına bağlı olarak, insan kaynaklı diğer bir antropojenik arsenik kirliliği oluşabilmektedir (Smedly ve Kinniburgh, 2002; Mandal ve Suzuki, 2002; Bissen ve Fritz, 2003; Wang ve Mulligan, 2006; ATSDR, 2007).

1.3 Endüstride Kullanımı ve Çevreye Etkisi

Arsenik, endüstrileşmenin artması ile günümüzde önemli bir çevre kirleticisi haline gelmiştir. Arsenik, fosil yakıtların yanması sonucu havaya yayılabildiği gibi, madencilik, tarım ve atık yakma işlemlerinden havaya ve suya karışabilir (Smedly ve Kinniburgh, 2002). Çevresel arsenik problemlerinin çoğu doğal süreçlerin bir sonucudur. Bununla birlikte insanoğlunun madencilikle uğraşması, fosil yakıtlarının yanmasıyla, arsenikli bitki ve hayvanlar için ilaçları kullanmasıyla, ekin kurutucuları ve çiftlik hayvanlarının, özellikle kümes hayvanlarının beslenmesinde ek bir madde olarak arsenikli bileşiklerin kullanılması sonucu problemler gittikçe artmaktadır. Son yıllarda hayvan ve bitki için kullanılan arsenikli ürünlerin kullanımı önemli ölçüde azalmış olsa da bu tür ürünlerin endüstride kullanımı hâlâ yaygındır. Arsenikli bileşenlerin çevre üzerindeki olumsuz etkisi bir süre daha devam edecektir (Bissen ve Fritz, 2003; Wang ve Mulligan, 2006; Sambu ve Wilson, 2008).

Element halinde arseniğin kullanım alanı oldukça kısıtlıdır. Daha çok fişekçilikte, tunç kaplamacılığında ve bazı alaşımların yüksek sıcaklıklara direncini artırmada, radyoaktif izotopları tıpta tanı yöntemlerinde, ahşap ve seramik koruyuculuğunda, yağlı boya sanayinde, sülfirik asit üretiminde, deri ve kağıt endüstrisinde; arsenik bileşikleri ise seramik, cam, boya, cila, emaye, vernik ve lastik endüstrisinde ve ayrıca “paris yeşili” olarak bilinen bakır asetoarsenit uzun yıllar böcek öldürücü ve insektisit olarak sıkça kullanılmaktadır (Erkan, 1984; Mertz, 1986; Yağmur ve Hancı, 2002).

Arsenik bileşiklerinin tıbbi uygulamaları uzun yıllara dayanmaktadır. İnorganik arsenik 20. yüzyılın ortalarında sedef hastalığı, kronik bronşit ve astım gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Organik arsenik bileşikleri ise, yaygın bir şekilde spiroket ve protozoon hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Rousselot ve ark., 1999; Tchounwou ve ark., 2003). Günümüzde ise, tedavi amacıyla özellikle akut promiyelositik lösemide (APL) arsenik trioksit kullanılmaktadır (Rousselot ve ark., 1999; Wang ve Mulligan 2006). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (The U.S. Food and Drug Administration-FDA) arsenik trioksitin bu amaçla kullanılmasını onaylamaktadır (FDA, 2000; Smedley ve Kinniburgh, 2001, Khandaker ve ark., 2009). Penisilinin keşfine kadar frengi gibi hastalıklara neden olan etkenlerle savaşmak için organik arsenik bileşiklerinden arsefenamin (salvarsan) kullanılmıştır (Smedley ve Kinniburgh, 2001).

Doğadaki çeşitli arsenikli kaynaklardan içme suyu muhtemelen insan sağlığı için en büyük tehdidi oluşturmaktadır. Arsenik sularında organik ve inorganik olmak üzere iki formda bulunabilir (Rahman ve ark., 2009). Havadan gelen arsenik, özellikle iş amaçlı maruz kaldığı için çoğu bölgede sağlık problemlerini de artırmıştır. İçme suları, yeryüzü suları (göl, nehir, depolar, havuzlar), yer altı suları ve yağmur suları olmak üzere çeşitli kaynaklardan sağlanmaktadır. Bu kaynaklar arsenik riski bakımından çeşitlilik gösterir. Arsenik en yoğun olarak yer altı sularında görülür (Smedley ve Kinniburgh, 2001; Yağmur ve Hancı, 2002).

Bazı bölgelerdeki yeraltı kayalarında bulunan arsenik toprağa, suya ve gıdaya karışmaktadır. Birçok canlı organizmalarda arsenik bulunmaktadır. Canlı organizmalarda bulunan arsenik genel olarak organik formdadır. Bazı bitkiler ve meyveler, toprakta bulunması muhtemel arseniği de absorbe ederek büyürler. Okyanus balıklarında ve deniz ürünlerinde arseniğin toksik olmayan organik bileşiklerinin konsantrasyonu çok yüksektir (Yılmaz ve Ekici, 2004; Bhattacharya, 2007).

Ülkemizde 13,85 milyar m³ yeraltı su rezervi bulunduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde kuyulardan fiili olarak çekilen su miktarı tam olarak tespit edilememektedir. Arseniğin çevreye başlıca yayılma ve taşınma yolu sulardır. Arseniğin su aracılığıyla ekolojik sistemde dağılımı, canlı yapılarda birikimine neden olmaktadır. Yer kabuğunda suların içerdiği ortalama arsenik miktarı 1,5-2 mg/L ve kirlenmiş topraklarda ise 0.2-40 mg/L arasında değişmektedir. Bu miktar farklı jeolojik yapılardan oluşan kumtaşı ve dolomit kabuklarında 67 mg/L ve çeşitli maden kömürlerinde ise 100 mg/L'ye kadar çıkabilmektedir. Sulardaki arsenik miktarının çeşitliliği arazinin coğrafi yapısına, artezyen ve kuyu sularının derinliklerine ve kirlenici kaynakların durumuna bağlıdır. Ortalama 100-300 metre derinliğinde bulunan artezyen sularındaki arsenik konsantrasyonu 0.35-1.14 mg/L arasında iken, yüzeysel kuyu sularında 0.00-0.30 mg/L olarak bildirilmiştir (WHO, 2004; Halem ve ark., 2009).

Genel olarak yer altı suları oksijenden zengin veya sınırlı miktarda oksijen içermektedir. Oksijen bakımından kısıtlı olan yeraltı suları, karbon dioksit bakımından zengindir. Küresel ısınma ile birlikte son zamanlarda suya olan talebin artması ile kuyuların su seviyesi sürekli olarak düşmektedir; bir başka deyişle daha derinlerden yeraltı suyu çekilmektedir. Daha derinden ve daha fazla suyun çekilmesi, su kalitesinde olumsuzlukları da beraberinde getirmektedir. Bu durum, ana kaya akiferine oksijenin girmesine ve sudaki karbondioksitin uzaklaşmasına yol açmaktadır. Böylece, yeraltı suyundaki karbon dioksit uzaklaştığı için ortamın pH'sı yükselmektedir. Yeraltı suyundaki pH'nın yükselmesi, arsenik bileşiğinin suda çözünürlüğünü ve konsantrasyonunu artırmaktadır. Bu olaylar, arseniğin farklı

reaksiyonlar ile serbest hale geçmesine ve suda çözünmesine neden olmaktadır. Böylece, toprakta ve yer altı kayalarında bulunan arsenik bileşikleri daha hızlı olarak yer altı sularına geçebilmektedir (Bhattacharya ve ark., 2007).

Bakır ergitme tesislerinin yakın çevresindeki toprağın arsenikle kirlenebileceği belirtilmektedir. Arsenik içeren kömürlerin yıkanması sonucu oluşan atık suda arsenik bileşiklerinin bulunması ve yine termik santrallerde arsenik içeren kömürlerin yakılması ile arsenik bileşiklerinin bacadan çevreye yayılması ve çevredeki toprakta arsenik bileşikleri bulunabilmektedir (Anonim, 2010).

1.4 Türkiye’de Arsenik Sorunu

Dünya üzerindeki su kaynakları zamanla kirlenmekte veya bilinçsiz kullanımlar yüzünden azalmaktadır. Temiz su kaynaklarını korumak ve gelecek nesillere aktarabilmek için belirli düzenlemeler yapılmış, bu kapsamda yönetmelikler ve standartlar hazırlanmıştır. Milattan önce 2000 yıllarında Sanskritçe yazılarda; su bir ateşin üstünde kaynatılarak, güneşte ısıtılarak veya kum ve taşlardan geçirilerek saflaştırıldıktan sonra içilmesi gerektiği belirtilmiştir. Günümüzde ise, kullandığımız suların, insan sağlığına zararlı mikroorganizmalardan, metallere veya bileşiklerden arındırılması uluslararası veya ulusal standartlar ile belirlenmiş ve bu kapsamda belirli arıtma işlemlerinden geçirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Faust ve Aly, 1998).

Halk sağlığına olumsuz etkileri nedeniyle içme sularında bulunan arsenik düzeylerine belirli sınırlamalar getirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü 1993 yılında içme suyunda izin verilen maksimum arsenik konsantrasyonunu 10 µg/L olarak belirlemiştir. Bununla beraber, uygulama zorlukları nedeni ile çok yüksek arsenik maruziyeti bulunan gelişmekte olan ülkeler için içme suyu arsenik sınırlarının 50 µg/L olarak belirlenmesi önerilmiştir (WHO, 1993; Bakar ve Baba, 2009).

İçme sularında veya toprakta meydana gelen arsenik kirlenmesi ve bu kirlenme sonucu oluşan sağlık problemleri dünyada Bangladeş, Tayvan, Tayland, Şili, Peru, Hindistan, Arjantin, Amerika, Türkiye ve daha birçok ülkede rapor edilmiştir. Arsenik konsantrasyonunun azaltılarak daha sağlıklı su sağlanması, meydana gelen sağlık sorunlarını önlemede en etkili yöntemdir. Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü içme sularındaki maksimum arsenik konsantrasyonunu 10 µg/L olarak belirlemiştir (WHO, 1993; Yağmur ve Hancı, 2002; Bakar ve Baba, 2009).

Ülkemizde de, içme sularındaki arsenik konsantrasyonu, Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlemiş olduğu kararlar doğrultusunda, 10 µg/L olarak esas alınmıştır. Son zamanlarda pek çok yayın ve kaynaklarda, ülkemizdeki arsenik sorununa dikkat çekilmekte, bu kapsamda yapılan bildirimler sonucunda Orta Ege, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde birçok şehirde arsenik kirlenmesinin olduğu ifade edilmektedir. Nedenleri arasında jeotermal suların nehirlere karışması gibi doğal kaynakların yanı sıra bakır, çinko ve kurşun maden sahalarındaki antropojenik faaliyetler gösterilmektedir (Topal, 2009).

Ülkemizde 2007 ve 2008 yıllarında içme ve kullanma sularında arsenik konsantrasyonu verilerine göre, Afyonkarahisar, içme sularında arsenik kirliliği bulunan iller arasında gösterilmektedir. Kayıtlarda, Afyonkarahisar ilinde sularında 2007 yılı arsenik konsantrasyonu 8,0- 68,02 µg/L iken; 2008 yılı verilerine göre 15,0-57,7 µg/L olarak açıklanmıştır (Anonim, 2011b,c).

1.5 Arseniğin Canlılar Üzerine Etkisi

Arseniğin organik türleri canlılar üzerine çok az toksik etki göstermesine rağmen inorganik arsenik türleri daha yüksek toksisiteye sahiptir. İnorganik arsenik bileşiklerinin toksisitesi organik arsenik bileşiklerinden yaklaşık 100 kez, inorganik arsenik bileşikleri içerisinde de arsenitin (As 3+) arsenattan (As 5+) yaklaşık 60 kez daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, arsenobosidlerden arsenobetain ve

arsenosolin canlı organizmalarda bulunan toksik olmayan türlerdir (Petrick ve ark, 2000; Styblo ve ark., 2000; Thomas ve ark., 2001; Sinicropi, 2010).

Arsenik içeren bileşiklerin toksisitesi nötral, 3 değerlikli veya 5 değerlikli olmalarına, organik veya inorganik formda bulunmalarına ve adsorpsiyon ve giderimlerini etkileyen fiziksel durumlarına bağlıdır. Genellikle inorganik arsenik organik arsenikten; As 3+, nötral ve As 5+'den daha toksiktir (Kaya ve ark., 2002).

Arsenik bileşiklerinin zehirliliği hayvanın türüne, maruz kalma şekline, arseniğin değerliliğine, partikül büyüklüğüne ve çözünübilirliğine göre değişiklikler gösterir (Kaya ve ark., 2002). Ratlarda oral olarak öldürücü doz (ÖD) 50 miktarları mg/kg olarak sodyum arsenite 10-50; arsenik asit 48-50; arsenik trioksit 138; bakır asetoarsenit 22; monosodyum metanearsonat 700-900; disodyum metanearsonat 1000-1800 olarak bildirilmiştir (Kaya ve ark., 2002; Pal ve Chatterjee, 2006; Sohini ve Rana, 2007; El-Demerdash ve ark., 2009; Balakumar ve ark., 2010).

Doğada doğal olarak da bulunabildiğinden dolayı arseniğe maruz kalmak insanlar ve hayvanlar açısından kaçınılmazdır. Bu durum; havanın solunması, yiyecek ve su tüketimi ve dermal adsorpsiyon olmak üzere gerçekleşebilir. Arsenik vücuda alındıktan sonra cilt, solunum, kalp ve damar, bağışıklık, genital ve üriner sistemler, üreme, sindirim sistemi ve sinir sistemini de içeren çok farklı organ ve sistemleri etkilemektedir (Abernaty, 2001; Yoshida ve ark., 2004).

Arsenik emildiğinde tüm vücuda dağılır; öncelikle karaciğer, böbrek, kalp ve akciğerde depolanır. Arsenik trioksitin sıçanlara intratrakeal olarak uygulanmasını takiben karaciğer, böbrek, iskelet, gastrointestinal kanal ve diğer dokulara dağıldığı bildirilmiştir (Rhoads ve Sanders, 1985). İntratrakeal yolla dimetil arsenik asit (DMA) uygulanmış sıçanlarda, organik arseniklerin inhalasyonunun da geniş çaplı bir dağılıma sebep olabileceği rapor edilmiştir (Centeno ve ark., 2002; Mandal ve Suzuki, 2002; Yoshida ve ark., 2004; Mohana ve Pitman, 2007).

Gıdalardan ve sudan yüksek seviyede arseniğe maruz kalmış insanların otopsisinden alınmış doku analizleri; arseniğin tüm vücut dokularında mevcut olduğunu göstermektedir (Liebscher ve Smith, 1968). Dokuların çoğu hemen hemen aynı düzeyde arsenik konsantrasyonlarına sahiptirler. Fakat saçtaki ve tırnaktaki arsenik konsantrasyonu daha yüksek bulunmuştur (Hanlon ve Ferm, 1977; Lindgren ve ark., 1984). Arsenik daha küçük miktarlarda da kas ve sinir dokusunda birikmektedir. Arsenik, alımından iki veya dört hafta sonra sülfidrilli gruplar tarafından bağlanarak tırnak, saç ve ciltte birikmeye başlamaktadır. Arsenik toksik ve kanserojendir, ancak ne kadar alındığı (miktarı), nasıl alındığı (solunarak, yenerek veya içilerek, temas sonucu) ve maruz kalınma sıklığı sağlık etkilerini belirler (Roy ve Saha, 2002).

Arsenik, doğal olgularda hayvanlarda zehirlenmelere ve ölümlere neden olan bir elementtir. Bunun başlıca sebeplerinden birisi, zirai mücadele alanlarında kullanılan ilaç ve preparatların yapımında etken madde olarak kullanılmasıdır (Tchounwou, 2003).

Arsenik evcil hayvanların dokularında uzun süre kalmaz. Öldürücü olmayacak miktarlarda bir sefer verilen arseniğin vücuttaki yarılanma süresi 1,5 gün kadardır ve vücuttan tümüyle atılması yaklaşık 10 gün sürer. Ancak, tekrarlanarak verilmesi durumunda bu süre 2,5 aya kadar uzayabilir. Arsenik karaciğerde kısmen metillendikten sonra vücuttan idrar, dışkı, safra, tükürük ve terle atılır (Kaya ve ark., 2002; Ratnaik, 2003; Mohana ve Pitman, 2007).

Arsenik zehir etkisini selüler enerji mekanizması ve DNA sentezi ile ilgili olan 200'e yakın enzimi inaktive ederek gösterir (Shila ve ark., 2005b). Bu enzimler ise, biyolojik katalizör olarak görev yaparlar ve hücresel enerji üretiminden sorumludurlar. Selüler toksisite ile ilgili olarak, mitokondriyal enzimler etkilendiğinden hücre solunumu engellenir. Arsenit tarafından, sitrik asit döngüsü etkilenir. İnhibitör aktivite; inorganik arsenitli komplekslerden dolayı pirüvat dehidrogenazın inaktive edilmesi üzerine kurulmuştur. Böylece ATP üretimi

engellendiğinden, bu hücrelerde “nekroz”, “apoptozis” ve “dejenerasyonlar” şekillenir. Arsenik 3+ türlerinin sülfidril grubu içeren proteinlere ve enzim sistemlerine kuvvetli afinitesi vardır (Chatterjee ve Chatterjee, 1993; Lin ve ark., 1995; Nickson ve ark., 1998; Ahmad ve ark., 2008).

1.5.1 Arseniğin Akut Toksik Etkileri

Yüksek dozda (70-180 mg/kg) arsenik alımı akut olarak ölüme neden olabilir. Arsenik alındıktan 1 saat sonra klinik belirtiler gözlenmeye başlar, bazen bu süre 12 saate kadar uzayabilir. Akut arsenik zehirlenmesinde; nefeste arsenik kokusu (sarımsak kokusu), ağızda metalik tad, iştahsızlık, ateş, bulantı, sık sık kusma, karın ağrısı, kanlı ishal, bazen hafif sarılık, beslenme eksikliği ve anemi, özellikle ellerde ve ayaklarda kızarma, ağırlı şişme, baş dönmesi, baş ağrısı, çarpınma, titreme ve kalpte ritim bozuklukları gibi klinik belirtiler bildirilmiştir. Merkezi ve perifer sinir sistemine ait belirtiler genellikle 2-3 gün içinde; geç belirtiler ise 1-5 hafta içinde ortaya çıkar. Bunlar; polinöropati, saçlarda ve kıllarda dökülme ile tırnaklarda Mee çizgilerinin (tırnaklarda transversal beyaz çizgilenme) ortaya çıkmasıdır. Ölüm birkaç gün içerisinde kalp krizi, hepatik ve böbrek yetersizliği bağlı olarak gerçekleşir (Becket ve ark., 1986; Jain ve Ali, 2000; Bissen ve Frimmel, 2003; Ratnaik, 2003; Bakar ve Baba, 2009).

1.5.2 Arseniğin Kronik Toksik Etkileri

Kronik arsenik zehirlenmeleri daha tehlikelidir. Kronik arsenik zehirlenmesi genellikle uzun süre solunum yoluyla arsenik bileşiklerine maruz kalan işçilerde görülür. Genel olarak kronik birikme akciğerde olur, “kısa süreli kronik maruziyette” ise, arsenik sistein içeren proteinlerce zengin olan saç, tırnak ve deride birikir. Solunum yolu müköz membranlarında ve ciltte meydana gelen değişiklikler temel bulgulardır. Solunum yolu kanserlerinin yanı sıra sinir sistemi, dolaşım sistemi ve karaciğer tutulumu da ortaya çıkabilir. Yiyecek, içme suyu ve ilaçlarla uzun süre

arsenik alımı sonucunda oluşan kronik zehirlenme belirtileri; iştahsızlık, genel zaafiyet, dişetlerinde kanama ve siyah çizgi oluşumu, dermatitis, hiperkeratozis, şiddetli deri döküntüsü, nefeste sarımsak kokusu, el ve ayak tırnaklarında açık lekeler, diyare veya kabızlık, deride kızarıklıklar, pigmentasyon ve hiperkeratoz olarak bildirilmiştir. Bunlara ilave olarak damar tutulumuna bağlı periferik gangren, anemi ve lökositopeni de sık olarak gözlenir. Sindirim yoluyla arsenik alanlarda karaciğer tutulumu ve deri kanserleri daha sık meydana gelir (Ferrecio ve ark., 2000; Jain ve Ali, 2000; Ratnaïke, 2003).

1.6 Arseniğin Patolojisi

Arseniğin canlılarda moleküler düzeydeki etki şekli ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, emilen inorganik As 5+ (pentavalant arsenik) As 3+ (trivalent arsenik)'e dönüşür. Trivalent arsenik metilasyona uğrayarak, idrarla atılan daha az toksik bileşiklere dönüşür. Fakat, bazı inorganik arsenik bileşikleri idrarla değişmemiş olarak atılır. As 3+ bileşikleri enzimler de dahil glikolizis ve sitrik asit döngüsü siklusunu inhibe ederek, sülfidriilli proteinlere ilgi duyar. Arsenik ayrıca, yükseltgeyici enzimler ile glutatyonun sülfidril gruplarını diğer temel tek veya iki tiyol grubu taşıyan maddeleri etkisiz hale getirir (Kaya ve ark., 2002). Böylece, As 3+ serbest oksijen radikallerinin oluşumuna yol açarak antioksidan savunma sisteminin bozulması sonucu hücre hasarına, DNA onarım mekanizmasının bozulmasına, gen ekspresyonunda değişime, kromozomlarda anomalilere ve genetik bozukluklara yol açar (Vahter, 2002). Arsenik nükleik asitlere karşı afinite gösterir. Bu nedenle in vivo olarak, yüksek dozlarda arsenik alımının kanserojen olduğu bildirilmiştir (Lin ve ark., 1995; Centeno ve ark., 2002; Cui ve Okayasu., 2008; Juarez-Reyes ve ark., 2009; Sinicropi ve ark., 2010).

Yükseltgeyici enzimler bakımından zengin olan organlar arseniğe çok duyarlıdır. Bu organlarda arseniğe en duyarlı yapılar kapillar damarlardaki endotel hücreleridir; arsenik kapillar damar permeabilitesinde artışa ve dilatasyona yol açar. Submukozal alanlarda ödem nedeniyle, arsenik toksikasyonlarında mide-bağırsak

mukozası kolayca yerinden soyulur (Cui ve Okayasu., 2008; Juarez-Reyes ve ark., 2009).

Arsenik, sindirim sistemi, sinir sistemi, karaciğer, böbrek, pankreas, dalak, kalp kası, akciğer ve testis başta olmak üzere pek çok organ ve sistemde çeşitli lezyonlara ve tümoral değişikliklere yol açmaktadır. Periferal nöropati motor ve duyu nöronlarında demiyelinizasyon, dermatitis, hiperpigmentasyon ve keratoz önemli patolojik değişikliklerdir. Periferal vasküler endotelial değişiklikler şekillenebilir. Kronik arsenik maruziyeti ile bazal hücre karsinoması ve skuamoz hücre karsinoması gibi çeşitli deri kanserleri oluşabilir (Centeno ve ark., 2002; Yağmur ve Hancı, 2002; Bhattacharya ve ark., 2007; Cui ve Okayasu., 2008; Juarez-Reyes ve ark., 2009).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, Montana'da bulunan Anakonda bakır madeni eritme tesisinde arsenik trioksite maruz kalan işçilerde yapılan çalışmalar sonucu; kanser harici solunum hastalıklarına bağlı ölüm oranı mesleki maruziyete uğramayan normal popülasyonla karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmıştır (Lee-Feldstein, 1983; Lubin ve ark., 2000).

Tayvan'da arsenik maruziyeti aynı zamanda serebrovasküler ve mikrovasküler hastalıkların oluş derecelerinin artışı ile (Chiou ve ark., 1997; Wang ve ark., 1996; Wang ve ark., 2007) olduğu gibi iskemik kalp hastalıkları ile de bağlantılı bulunmaktadır (Tsai ve ark., 1999; Tseng ve ark., 2003; Chang ve ark., 2004).

Anemi ve lökopeni insanda arsenik zehirlenmesinin genel etkileridir. Bu etkiler doğrudan kan hücreleri üzerindeki hem sitotoksik, hem de hemolitik etkilerle ilgili olabilir (Lerman ve ark., 1983; Goldsmith ve From, 1986; Fincher ve Koerker, 1987). Buna karşın, hematolojik etkiler arsenik zehirlenmesi olgularının tamamında gözlenmemiştir. Buna ek olarak, akut zehirlenme olgularının da hepsinde bu etkiler gözlenmemiştir (Moore ve ark., 1994; Cullen ve ark., 1995).

Bazı çalışmalarda, içme suları yoluyla arsenik maruziyeti üreme problemleri ile ilişkilendirilmiştir. Örneğin, Bangladeş'te, konsantrasyonunu $>0,10$ mg As/L (yaklaşık olarak $0,008$ mg As/kg/gün) olan suyu 5 ila 10 yıl arası içen 96 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, maruziyete uğramamış kadınlardan oluşan kontrol grubuyla karşılaştırıldığında çocuk düşürme, ölü doğum ve erken doğum oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu rapor edilmiştir (Ahmad ve ark., 2001).

Oral yolla inorganik arsenik maruziyetinin deri kanseri gelişimi riskini arttırdığını kanıtlayan birçok epidemiyolojik çalışma ve olgu raporları vardır (Alain ve ark., 1993; Chen ve ark., 2003; Beane-Freeman ve ark., 2004). Uzun dönem arsenik maruziyetinin sidik kesesi kanseri gelişimiyle sonuçlandığını kanıtlayan çalışmaların sayısı artmaktadır (Guo ve ark., 2001b; Chen ve ark., 2003; Steinmaus ve ark., 2003; Bates ve ark., 2004; Karagas ve ark., 2004; Lamm ve ark., 2004; Michaud ve ark., 2004). Vücudun diğer dokuları ile karşılaştırıldığında saç ve tırnak arsenik konsantrasyonunun en yüksek olduğu bölgelerdir. Bunun nedeni, bu bölgelerin As 3+ kolayca bağlanabilen sülfidril grupları içeren keratine zengin olmasıdır (Maes ve Pate, 1977).

Havadaki arsenik tozlarına maruz kalan işçilerin boğaz ve burun mukozasında meydana gelen irritasyonlar, larenjit, bronşit ve rinitise sebep olmaktadır (Morton ve Caron, 1989). Çok yüksek arsenik maruziyeti nazal septumun delinmesine sebep olabilmektedir (Sandstrom ve ark., 1989). Solunum zorluğu, kanamalı bronşit ve akciğer ödemi gibi hastalıkları da içeren ciddi solunum etkileri 8 mg As/kg ve üzeri dozlardaki bazı akut oral arsenik zehirlenmeleri olgularında rapor edilmiştir (Levin-Scherz ve ark., 1987; Quatrehomme ve ark., 1992; Moore ve ark., 1994; Civantos ve ark., 1995).

Solunan arseniğin kardiyovasküler sistem üzerinde etkisi olduğunu kanıtlayan bazı epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. İsveç'te bulunan Ronnskar bakır madeni saflaştırma tesisinde 23 yıl boyunca, $0,36$ mg As/m³ hava konsantrasyonuna maruz kalmış işçilerde, Raynaud fenomeni (soğukta özellikle ellerde aklaşma, morarma ve

kızarma ile nitelenen bir lokal atar damar dolaşım bozukluğu) olgu sayılarının arttığı ve parmaklarda kan damarlarının daralmasının hızlandığı bildirilmiştir (Lagerkvist ve ark., 1986). İnsanlarda, oral yolla arsenik alımının kardiyovasküler sistem üzerinde etkilerinin olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar vardır. Myokardial depolarizasyonun ve kalp ritminin değişmesi arseniğin kalp üzerindeki karakteristik etkilerindenidir (Little ve ark., 1990; Moore ve ark., 1994; Cullen ve ark., 1995; Mumford ve ark., 2007).

Oral yolla inorganik arseniğe maruz kalmış insanlarda sürdürülmüş bazı çalışmalarda karaciğer lezyonları bildirilmiştir. Klinik çalışmalar ve bazı kan analizleri yüksek karaciğer enzim seviyelerini göstermektedir (Guha Mazumder ve ark.,1988; Franzblau ve Lilis, 1989; Hernandez-Zavala ve ark., 1998; Liu ve ark., 2002).

Solunan inorganik arseniğin nörolojik etkilere neden olabileceğini kanıtlayan epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Arsenik içerikli pestisit üreten bir fabrikaya yakın yaşayan bireylerde yapılan inceleme sonucunda periferik nöropatinin oluş derecesi % 15,3 (13/85) iken, fabrikaya daha uzakta yaşayan bireylerde % 3,4 (4/118) olarak bildirilmiştir (Cullen ve ark., 1995; Bartolome ve ark., 1999; Gerr ve ark., 2000).

Bazı olgularda, yüksek serum-kreatinin ve serum-bilirubin seviyesi not edilmiş (Armstrong ve ark., 1984; Levin-Scherz ve ark., 1987; Moore ve ark., 1994) ve hafif proteinüri meydana gelebileceği belirtilmiştir (Glazener ve ark., 1968; Tay ve Seah, 1975; Armstrong ve ark., 1984).

1.7 Arsenik Toksikasyonundan Korunma ve Tedavi Yöntemleri

Ağızdan alınması sonucu arsenik ve bileşikleriyle meydana gelen akut zehirlenmelerde gastrik boşaltma (gastrik lavaj, kusma) yapılacak ilk iştir. Kusma

olsun ya da olmasın ılık suyla mide yıkanması yapılarak, henüz emilmemiş olan arseniğin uzaklaştırılmasına çalışılır. Sindirim kanalının boşaltılmasını tamamlamak için sabunlu suyla barsakların irrigasyonu yararlı olabilir. Tuzlu sürgütler ve irkiltmiş mide-barsak mukozasını korumak için mukoza koruyucu etkisi olan kaolin gibi maddeler kullanılmaktadır (Kaya ve ark., 2002; Flora ve ark., 2007).

Arsenik tarafından reaktif oksijen türlerinin indüklenmesi ve devamında antioksidan savunma sisteminin yıkımı memeli dokularında antioksidan dengenin bozulması ile sonuçlanabilir. Hatta oksidatif stres arsenik toksikasyonlarında rol oynayabilir. Bu yüzden, günümüzde arsenik toksikasyonlarının tedavisinde tedavi stratejisi değişmiştir (Flora ve ark., 2007; Mandal ve ark., 2007; Ma ve ark., 2010).

Arsenik toksikasyonu sonucu oluşan hasarın önlenmesine yönelik koruyucu amaçla pek çok çalışma yapılmıştır. Arsenik toksikasyonunun tedavisinde antioksidan olarak folik asit (Rahman ve Misbahuddin, 2010), taurin (Ma ve ark., 2010), alfa lipoik asit (Kokilivani ve ark., 2005, Shila ve ark., 2005a; Shila ve ark., 2005b; Bilka ve Wlodek 2005), flavonoidler (Mandal ve ark., 2007), vitamin E (Al-Attar, 2011), vitamin C, N-asetil sistein (Flora, 1999), L-ascorbate (Bera ve ark., 2010), metallothionine (Park ve ark., 2001; Jia ve ark., 2004) ve melatonin (Pal ve Chatterjee, 2006) semptomatik olarak kullanılmaktadır.

Arseniğin ürettiği serbest radikallere karşı antioksidan etkileri incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda, antioksidan özelliklere sahip olan vitamin E ve vitamin C'nin arseniğin meydana getirdiği oksidatif stresi ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellediği, böylece plazma ve doku enzim düzeylerinin normal biyokimyasal değerlere geldiği bildirilmiştir. Bu durum, uygulanan antioksidanların, arseniğin meydana getirdiği oksidatif stresi ve hücrel hasarı azaltmış olabileceğine yorumlanmıştır (Halliwell, 1996; Rinne ve ark., 2000; Duarte ve Lunec, 2005; Gupta ve ark., 2005; Al-Attar, 2011).

Aloe vera'nın liyofilize tozu % 1, 2 ve 5'lik oranlarında sulandırılıp içme suyuna katılarak arsenik toksikasyonuna karşı ratlarda kullanılmış ve bu maddenin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ile glutatyon (GSH) oranlarını artırmak suretiyle arseniğin oluşturduğu oksidatif hasara karşı dokuları koruduğu bildirilmiştir (Gupta ve Flora, 2005). Diğer bir çalışmada, ıspanak ekstraktı 100 mg/kg dozunda ratlara içme suyuna katılarak arsenik toksikasyonuna karşı kullanılmış ve serum glutamate oksaloasetat transaminaz (SGOT) enzim değerlerini artırdığı, serum glutamate piruvat transaminaz (SGPT) enzim değerleri ile arsenik birikimini azalttığı bildirilmiştir (Islam ve ark, 2009). Ratlarda arseniğin oluşturduğu zehirlenmeyi önlemek için yapılan diğer bir çalışmada, "curcumin" 100 mg/kg dozunda ratlara içme suyuna katılarak (Yadav ve ark., 2010), diğer bir çalışmada ise "curcumin" gavaj yoluyla 15 mg/kg dozunda verilmiş ve heriki çalışmada da "curcumin" in oksidatif stresi ve dopaminerjik fonksiyonları düzenleyerek arseniğin beyin, akciğer, karaciğer, böbrek ve testiste yol açtığı oksidatif hasara yönelik etkilerden koruduğu bildirilmiştir (El-Demerdash, 2009).

Arseniğin yol açtığı kalp kası hasarını korumaya yönelik olarak *Corchorus olitorius* yapraklarının sulu ekstraktları farklı dozlarda (50 mg/kg-100 mg/kg) ratlara 15 gün boyunca verilmiş ve SOD, CAT, glutatyon redüktaz (GSSG-R), glutatyon S transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx) ile glutatyon (GSH) oranlarını artırmak suretiyle kalp kası hasarını önlediği ileri sürülmüştür (Das ve ark, 2010).

Bir başka çalışmada, ratlarda arseniğin yol açtığı karaciğer fibrosisine karşı lipozomal flavanoidler kullanılmıştır. Flavonoidlerin içinde yer alan kuarsetinin sodyum arsenitin yol açtığı oksidatif hasarı, karaciğerde selüler ve subselüler alanlarda azaltmaya katkıda bulunduğu ve böylece karaciğer fibrosisine karşı koruyucu bir mekanizma oluşturduğu ifade edilmiştir (Mandal ve ark., 2007).

Arsenik zehirlenmesinde semptomatik olarak şelasyon tedavileri uygulanmış, bu amaçla en sık olarak; 2,3-dimerkaptopropane 1-sülfonate (DMPS) ve 2,3-dimerkaptosüksinik asit (DMSA) gibi şelatör ajanlar kullanılmıştır. Bu şelatör ajanlar

ile tedavinin ciddi komplikasyonlarının görülmesinden dolayı, şelasyon ajanları ile antioksidanların birlikte kullanılmalarının daha yararlı olacağı bildirilmiştir (Flora, 1999; Flora ve ark., 2007).

BAL, ikinci dünya savaşı sırasında savaş gazı olan Levisit'e antidot olarak geliştirilmiştir. Ayrıca, daha yeni ajanlardan 2-3 dimerkapropropan, 1-sülfonate ve 2-3 dimerkaptosüksinik asit arsenik zehirlenmelerine karşı kullanılmıştır. Bu yeni şelatör ajanlar BAL ile karşılaştırıldığında daha düşük toksisiteye sahiptir ve üstelik oral veya intravenöz olarak uygulanabilir. Bunlara ek olarak, ağır metallerle şelasyon yapıcı özellikleri bu ajanların ditiyol gruplarına sahip olmasına bağlıdır. Bu sayede oksijen radikalleri tutulur ve lipid peroksidasyonu engellenir (Flora, 1999; Kaya ve ark., 2002; Flora ve ark., 2007).

1.8 Arsenik ve Oksidatif Stres

Arsenik, sülfidril grubuna ilgisi olan metallerden olduğundan pro-oksidatif etkilidir ve antioksidatif enzimleri inhibe ederek intraselüler GSH, CAT ve SOD, GSSG-R, GST ve GR enzim aktivitelerinin azalmasına; malondialdehit (MDA)'in ise yükselmesine yol açar. Arsenik, ayrıca sistein ve metallothioneinler gibi birçok proteinin metabolizma ve biyolojik aktivitesini engeller (Gupta ve Flora, 2005; Mandal ve ark., 2007; Das ve ark., 2009; Das ve ark., 2010; Ghosh ve ark., 2010).

1.9 Serbest Radikaller

Serbest radikal, bir veya birden fazla tek elektron içeren yüksek reaktiviteli molekül veya gruplardır. Ortaklanmamış tek elektron, serbest radikallere karakteristik kimyasal özellikler kazandırır. Serbest radikaller, tek elektronu ile birlikte pozitif yüklü, negatif yüklü veya yüksüz olabilirler (Barber ve Harris, 1994; Fang ve ark., 2002). Hücredeki elektron transfer reaksiyonları başta olmak üzere çevresel faktörler,

ilaçlar, diyet ve egzersiz gibi endojen ve eksojen etkiler sonucu oluşan serbest radikaller normal biyolojik süreçte enzim aktivasyonu aracılığı ile veya non-enzimatik olarak (Cheeseman ve Salater, 1993; Jadeski ve ark., 2002), hücre içinde veya hücre dışında oluşturulurlar (Cheeseman ve Salater, 1993). Organizmanın enerji ihtiyacı, yangı ve onarım mekanizmaları gibi birçok hayati fonksiyonu için gerekli olan serbest radikal reaksiyonları kontrolden çıktıkları zaman nükleik asit, protein, aminoasit, lipit, lipoprotein ve karbonhidratlar üzerine olumsuz etkiler göstermekte (Sharma, 1998; Dizdaroğlu ve ark., 2002; Fang ve ark., 2002; Jadeski ve ark., 2002; Kasprzak, 2002), organizmanın maruz kaldığı saldırılara karşı kendini savunmak için geliştirdiği yangı ve onarım mekanizmalarını da bozmaktadırlar (Okada, 2002; Hofseth ve ark., 2003). Serbest radikaller tüm bu etkilerini; hücre membranını ve hücre metabolizmasını bozarak ve gen ekspresyonu etkileyerek gösterirler (Kökoğlu, 1998; Jadeski ve ark., 2002).

Çevre kaynaklı çeşitli fiziksel ve kimyasal etkiler nedeniyle ve hücrel faaliyetler esnasında fazla miktar ve çeşitlilikte serbest radikal üretilmektedir. Serbest radikaller eksojen (çevresel ajanlar, kimyasal ajanlar, radyasyon, antineoplastik ajanlar; bağımlılık yapan maddeler; sıcak şoku, güneş ışınları, karsinojen maddeler ve stres gibi) ve endojen (küçük moleküllerin ootoksidasyonu, çözünen enzimler ve proteinler; mitokondrial elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri) kaynaklıdır (Cheeseman ve Salater, 1993; Yurdakul, 2003; Meotti ve ark., 2004; Osorio ve ark., 2008).

Serbest radikaller Reaktif Oksijen Türevleri-ROT (süperoksit radikali, hidroksil radikali, hipokloroz asit, singlet oksijen) ve oksijen türevi olmayan serbest radikaller (nitrik oksit) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Akkuş, 1995, Huges, 2000, Zhang ve Huang, 2003, Xia ve ark., 2005; Belfield ve ark., 2006).

1.9.1 Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücreler serbest radikal ürünlerinin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunurlar (Akkuş, 1995; Girotti, 1998; Sainz ve ark., 2000; Flora ve ark., 2007).

Antioksidanlar yapılarına göre enzimatik (SOD, CAT, sitokrom oksidaz, GR, GST, GSH ve GSH-Px) ve enzimatik olmayan (GSH, flavanoidler, alfa lipoik asit, vitamin C, vitamin E, vitamin A, likopen, selenyum, çinko, melatonin, ferritin ve transferin gibi); kaynaklarına göre endojen (SOD, CAT ve vitamin E) ve eksojen (GSH, adenzin ve allopurinol); çözünürlüklerine göre suda çözünenler (GSH, vitamin C, ürik asit, glikoz ve sistein) ve yağda çözünenler (flavanoidler, vitamin E, vitamin A ve bilirubin); lokalizasyonlarına göre intraselüler (SOD, CAT ve GSH-Px) ve ekstraselüler (vitamin C, transferrin ve albumin) olmak üzere sınıflandırılmaktadırlar (Mates ve Sanchez-Jimenez 1999; Marnet, 1999; Rinne ve ark., 2000; Gupta ve ark, 2005).

Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Serbest radikallerle oldukça çabuk reaksiyonlara girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır (Akkuş, 1995; Flora, 1999; Flora ve ark., 2007). Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücresel yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir “Zincir kırma reaksiyonları”nın her basamağında az da olsa hidroperoksit oluşması, ortamdaki ürünler ve yıkımlanmanın sınırlanamaması nedeniyle oksidasyon reaksiyonları ve radikaller tamamen yok edilemez (Thomas ve ark., 2001; Nordberg ve Arner, 2001; Fang ve ark., 2002).

Bazı araştırmacılar, antioksidan savunmayı, komponentlerin enzimsel olup olmamasına bakarak CAT, SOD ve GSH-Px’in rol aldığı antioksidan aktiviteleri “enzimatik antioksidan savunma”; glutatyon, ürik asit, glikoz, tokoferol, askorbat

gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini de “nonenzimatik savunma” olarak tanımlamaktadırlar (Yu, 1994; Gutteridge, 1995; Fang ve ark., 2002; Sorg, 2004; Kaplan, 2009).

Antioksidanların oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedirler (Jacopsen, 1998; Duarte ve Lunec, 2005; Hathcock ve ark., 2005).

1.10 Lipoik Asidin Antioksidan Özellikleri

Bir bileşiğin antioksidan potansiyeli; serbest radikalleri temizleme kapasitesi, diğer antioksidanlarla etkileşimi, metallerle şelat yapma yeteneği, absorpsiyonu, biyolojik yararlılığı ve hücre konsantrasyonu, gen ekspresyonuna etkileri, molekülün membran veya akuöz fazda lokalize olması ve oksidatif hasarı onarma yeteneği gibi bazı kriterler göz önünde bulundurularak değerlendirilmektedir (Packer ve ark., 1995; Navari-Izzo ve ark., 2002).

Düşük redoks potansiyeli ve redüksiyon kapasitesi sayesinde reaktif oksijen türevlerinin yakalanmasında ve diğer antioksidanların okside formlarının redüksiyonunda görev alan alfa lipoik asit (ALA)’e bu yüzden “antioksidanların antioksidanı” denilmektedir (Bilska ve Wlodek, 2005).

Alfa lipoik asit/dihidrolipoik asit redoks çifti, diğer antioksidanlarda bulunmayan bazı özelliklere sahiptir. ALA, “ideal”, “eşsiz” ve “evrensel antioksidan” olarak tanımlanmaktadır. Bu durum; ALA’nın dokulardan hızla emilmesi (Packer ve ark. 1995; Moini ve ark., 2002), redükte ve okside formlarının antioksidan etkiye sahip olması (Biewenga ve ark., 1997), hem sıvı, hem de lipid fazda çözünmesi (Packer ve ark., 1997; Biewenga ve ark., 1997) glutatyon düzeylerini artırması, diğer antioksidanlarla etkileşimi (Packer ve ark., 2001; Wollin

ve Jones, 2003), serbest radikalleri nötrale etmesi (Kağan ve ark, 1992) ve normal gen ekspresyonunu artırması (Folsom ve ark., 1998) özellikleri ile açıklanmaktadır.

ALA'nın en önemli antioksidan özelliklerinden birisi de serbest metal iyonlarıyla şelat yapması özelliğidir. Vücut için en tehlikeli ajanlardan biri de toksik metallerdir. Toksik metaller yıllar boyunca dokulara yerleşir ve sürekli zarar verir. ALA, geçiş metal iyonlarıyla şelat yapma yeteneğine sahiptir; arsenik, kadmiyum, kurşun ve civa gibi pek çok toksik metalle çözünmeyen kompleksler oluşturur (Packer ve ark., 1995; Biewenga ve ark., 1997).

Günümüzde ALA'nın antioksidan etkilerinin geniş olması, onu koruyucu ve tedavi edici uygulamalar için güçlü bir ajan haline getirmiştir. Hayvanlarda ve insanlarda yapılan klinik çalışmalarda ALA'nın; ateroskleroza karşı koruyucu etkisi, katarakta karşı koruyucu etkisi (Korkina ve ark., 1993; Packer ve ark., 1995), hafıza ve beyin fonksiyonlarına etkisi (Packer ve ark., 1995), felç ve kalp krizinde etkileri (Packer ve ark., 1995; Packer, 1998) ile diyabet ve diyabetik nöropatinin tedavisindeki etkileri (Packer, 1998; Seidell, 2000) araştırılmıştır.

1.11 Metalloproteinler (MT)

Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan başka, ağır metallere bağlanarak, ağır metallerin yol açtığı hücre hasarı azaltıcı etkisi olduğu bildirilen protein yapısındaki maddelerden biri de metallothionein (MT)'lerdir (Jayasurya ve ark., 2000; Takaba ve ark., 2000; Aloia ve ark., 2001; Hishikawa ve ark., 2001; Joseph ve ark., 2001).

At böbrek dokusunda 1957 yılında kadmiyumu bağlayıcı bir makromolekül bulunmuş, bu protein MT olarak isimlendirilmiştir. MT ile ilgili bilimsel araştırmalar 1950'lerde başlamış ve özellikle biyokimya, çevresel hijyen, ilaç, toksikoloji, patoloji

ve beslenme alanlarında yoğunlaşmıştır (Nordberg, 1998; Davis ve Cousins, 2000; Park ve ark.,2001).

MT, düşük molekül ağırlığında metal bağlama kapasitesine sahip, sistein bakımından zengin, aromatik amino asit bileşikleri bulunmayan ve metal tiolat gruplarından oluşmuş bir proteindir (Kagi ve ark., 1974). MT'lerin, I b ve II b grubu geçiş metallere güçlü bağlanma etkileri vardır (Miles, 2000). MT'lerin, esansiyel metallerin homeostazisini sağladığı (Bremner, 1987; Nordberg, 1989), I.ve II. grup ağır metallerin detoksifikasyonunda görevli olarak hücreleri ve organları metallerin toksik etkilerinden koruduğu (Webb, 1987; Vallee, 1995; Kang, 1999), yüksek derecede tiyol içeriği bulunmasından dolayı serbest radikal süpürücüsü olarak rol oynadığı bildirilmektedir (Sato ve Bremner 1993; Hussain ve ark., 1996; Kiningham ve Kasarskis, 1998). Bununla birlikte, hücre yenilenmesi (Cherian ve ark., 2003), karsinogen ve apoptotik mekanizmalarda (Hiura ve ark., 1998; Zhang ve Takenaka 1998; Tan ve ark., 1999; Jin ve ark., 2002) da görev aldığını ifade eden çalışmalar mevcuttur.

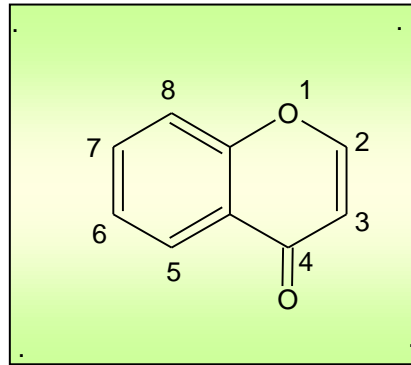
Ağır metalleri bağlayan bir protein olan MT'in, dokulardaki birikiminin olduğu yerlerin saptanması için immunohistokimyasal çalışmalar yapılmıştır (Danielson ve ark, 1982; Erdem, 2010). Bu çalışmalarda, antimetallothioneine ve immunohistoperoksidaz boyama teknikleri kullanılmıştır. Ratlarda bu tür teknikler karaciğer, böbrek, testisleri boyamak için kullanılmaktadır. Ağır metaller, doğal olarak bu organlarda birikmekte ya da besin ve solunum yoluyla alınan metaller özellikle akciğer ve barsak başta olmak üzere organlarla etkileşime girmektedirler. Karaciğer ve böbrekte bu yöntemle boyanan MT intraselüler olarak, böbrek tubulus epitel hücrelerinde ve hepatositlerde immunreaktivite göstermektedir. Ekstraselüler MT lokalizasyonu ise karaciğerde sinuzoidlerin içinde ve böbrek tubuluslarının lumeninde gözlenmektedir. Testiste MT, sertoli hücrelerinde ve intersitisyel Leydig hücrelerinde gözlenir, fakat spermatogonyalarda tespit edilmez. MT, genelde besleyici, absorbtif ve sekresyon yeteneği olan hücrelerde bulunur (Danielson ve ark., 1982; Erdem, 2010).

1.12 Flavonoidler

Polifenollerin doğal yollardan oluşan en büyük gruplarından biri olan flavonoidler bir çok bitkide yaygın olarak bulunan bitki sekonder metabolitleridir. Genellikle bitkinin gövde, yaprak, kabuk, kök ve özellikle çiçeklerinde bulunurlar. Flavonoidler doğal boyar maddeler olup kullanımları çok eskilere dayanır, Mısır'da bulunan 4. ve 12. yüzyıldan kalma yün, ipek gibi arkeolojik tekstil ürünlerinde flavanoidlere rastlanılmıştır (Jowita ve ark., 2003). Flavonoidler yeşil bitkilerin çoğunda bulunduğundan, bitki eksreleriyle yapılan çalışmaların çoğunda sık karşılaşılır (Cook ve ark.,1996; Pikulski ve Brodbelt, 2003).

Günümüzde sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması, özellikle antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı bu organizmaların direnç oluşturmaları gibi sebepler, doğal bitkisel kaynakların ve özellikle flavanoidleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha da artırmıştır. Flavonoidler, birçok radikal türünü içeren güçlü serbest radikal temizleyicisidirler ve yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları, karbonil reaksiyonu, serbest radikal reaksiyonları, metal iyonlarıyla kompleks oluşum reaksiyonları, hidrofobik etkileşimler, tautomeri ve izomerizasyon gibi çeşitli organik reaksiyonlarda yer almaktadırlar (Das, 1994; Blaylock, 1998; Bent, 2002).

Flavonoidlerin temelini bir "flavan çekirdeği" oluşturmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Flavonoidlerin açık kimyasal yapısı (Markham, 1982).

Flavanoidlere bitkiler âleminde en çok angiospermlerde olmak üzere gymnospermlerde, karayosunları ve eğreltilerde rastlanmaktadır. Heterozit halinde suda çözüldükleri için bitkinin hücre vakuolünde yer alan bu bileşikler, yapraklarda epiderma hücrelerinde veya hem epiderma hem de mezofil hücrelerinde toplanmışlardır. Yaprak kütikulasında bulunan flavanoitler ise daha çok aglikon halindedir (Price ve ark., 1998a; Price va ark., 1998b).

Flavonoidlerin ekstraksiyonunda flavonoidin bulunduğu bitkisel materyalin cinsi ve flavonoidin kimyasal yapısı önemli rol oynamaktadır. Ekstraksiyonda kullanılacak olan çözücü, çalışılacak olan flavonoidin polaritesine göre seçilmektedir. İzoflavon, flavanon, dihidroflavanol, çok sayıda metoksil grubu taşıyan flavon ve flavanoller benzen, kloroform, dietileter veya etilasetat ile flavanozitler ve hidroksil grubu taşıyan flavonlar, flavonoller, biflavonlar, auronlar ve kalkonlar ise genellikle aseton, alkol, su veya sulu alkol ile ekstre edilmektedir. Bitkisel materyalden bir çözücü ile değişik tipte flavanoidler ekstre edildiğinde, artan polaritede çeşitli çözücüler kullanılarak yapılan ekstraksiyon ile heterozitler aglikonlardan, polar aglikonlar ise nonpolar aglikonlardan ayrılabilir (Hakkinen, 2000).

Flavonoidlerin teşhisi için klasik renk reaksiyonlarının yanı sıra kağıt ve ince tabaka kromatografisinden de yararlanılmaktadır. Kromatografide kullanılan katı faza ve teşhisi yapılacak olan flavonoidin yapısına bağlı olarak değişik çözücü sistemleri kullanılmaktadır. Kromatogramdaki lekeler önce gün ışığı ve ultraviyole ışık altında incelendikten sonra revelatör olarak kullanılan başta amonyak, alüminyum klorür ve NA belirteci olmak üzere birçok değişik reaktifle verdikleri renklerden yararlanarak flavonoidin tipi ve substitüsyonları hakkında bilgi edinilmektedir. Bunların dışında flavanoitlerin teşhisinde HPLC, LC-MS-MS ve GC-MS gibi yöntemler de kullanılmaktadır (Cook ve ark.,1996; Pikulski ve Brodbeld, 2003).

Günümüzde sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması, özellikle antimikrobiyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı mikroorganizmaların direnç oluşturmaları gibi sebepler, doğal bitkisel kaynakların ve özellikle flavonoidleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha da artırmıştır (Das, 1994; Cook ve ark., 1996; Price ve ark., 1998a; Price ve ark., 1998b, Hodek ve ark., 2002; Gao ve ark., 2003; Martini ve ark., 2004).

Flavonoidler; kapiller direnci artırıp permeabiliteyi azaltmakta, vazodilatatör, diüretik, antiallerjik, spazmolitik, antiviral, antifungal, antibakteriyel, antihelmentik, insektisit, antioksidan, antinosiseptif, antienflamatuvar, antimitojenik, hipokolesterolemik, östrojenik, antineoplastik ve hepatoprotektif aktivite göstermektedirler (Hertog ve ark., 1993; Hollman ve ark., 1996; Knekt ve ark., 1996; Matsuo ve ark., 1996; Santos ve ark., 1999; Pikulski ve Brodbelt., 2003). İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar flavonoidlerin kansere yakalanma riskini azalttığını göstermiştir (Cirico ve Omaye 2006). Güçlü serbest radikal temizleyici özelliğinden dolayı bu bileşikler yükseltgenme-indirgenme reaksiyonu, karbonil reaksiyonu, serbest radikal reaksiyonu, metal iyonlarıyla kompleks oluşum reaksiyonu, hidrofobik etkileşim, tautomeri ve izomerizasyon gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlarda rol oynamaktadırlar. Bu özelliklerinden dolayı, flavonoidler, *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda, geçiş metalleriyle katalizlenen serbest radikal oluşturma reaksiyonlarında önemli rol oynarlar (Das, 1994; Blaylock, 1998; Bent, 2002).

1.13 *Cistus laurifolius* L.

Türkiye'de beş türü bulunan *Cistus* cinsi, Cistaceae familyasının önemli bir bitkisidir. Bu cins, beyaz ve pembe çiçekli olmak üzere iki tipe ayrılır. *Cistus laurifolius*, *C. salvifolius* ve *C. monspeliensis* beyaz çiçekli; *C. creticus* ve *C. parvifolius* ise pembe çiçeklidir (Aziz ve ark., 2006). Halk arasında “laden, yavşancıl, tistüs, karakan yaprağı, karakan otu, kaya gülü ve tavşanak otu” gibi isimlerle bilinen *Cistus laurifolius* L. bitkisi 1,5-2 m boylarına kadar ulaşabilen, sürgünleri tüylü ve yapışkan olan bir bitkidir. Yaprakları 3-7 cm. uzunluğunda,

mızrak gibi, kenarları ondüledir. Dipten itibaren üçlü damarlanma gösterir. Yaprığın üst yüzü çıplak, koyu yeşil ve yapışkan, alt yüzü gri, tüylü ve yapışkandır. Bitki Mayıs, Haziran aylarında çiçeklenmektedir. Çiçekleri beyaz, taç yaprakları ise dipten sarımsı renktedir. Çanak yaprak sayısı diğer türlerinden farklı olarak beş değil üçtür. Akdeniz yöresinde yayılış gösterir. Laden bitkisi, daha çok orman yangınlarından sonra, karaçam ağaçlarının yerini almaktadır. Bu nedenle, laden topluluklarının buldukları yerler, buralarda daha önceden çam ormanının olduğuna işaret etmektedir (Anonim, 2012c). Bu tür ülkemizde Afyonkarahisar yöresi de dahil olmak üzere (Şekil 1.4.) İç Anadolu, Akdeniz, Trakya ve Batı Anadolu'da yaygın olarak yetişmektedir (Aziz ve ark., 2006).

Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Malvales
Familiya	Cistaceae
Cins	<i>Cistus</i>
Tür	<i>C. laurifolius</i>

Şekil 1.3 *Cistus laurifolius* L. bitkisinin taksonomide sınıflandırılması, (Anonim, 2012c).

Cistus laurifolius L. bitkisi, Herodot zamanından beri tedavide endojen ve eksojen kullanımları ile hekimlikte yaygın ve geniş bir kullanım alanı bulmuştur. (Yeşilada ve ark., 1997a). Bitkiden elde edilen “Ladanum veya Labdanum” isimleri ile bilinen oleozin çok eski zamanlardan beri tedavide emanagog, astrenjan, stimülan, ekspektoran, santral sinir sistemi stimülanı, antiseptik, solunum dezenfektanı, tonik özelliklerine bağlı olarak uzun süre saç dökülmesine karşı, gargara şeklinde prurigo ve kızıl hastalığında, lapa halinde sıraca hastalığında görülen tümörlerin tedavisinde ve yaralarda, ayrıca oftalmolojide yararlanılmıştır. Bitkinin yaprak ve köklerinden hazırlanan infüzyon da (% 5) kabız, balgam söktürücü ve idrar yolu antiseptiği olarak kullanılmış ayrıca, parfümeri ve kozmetik sanayiinde, sabun yapımında kullanılabilir (Yeşilada ve ark., 1997a; Sadhu ve ark., 2006). Bitkinin reçinesinin kanser tedavisinde faydalı olduğu ileri sürülmektedir. *Cistus laurifolius* L. bitkisinin, gerek tek başına ve gerekse *Corydalis*

forosa ve *C. stillingia* ile kombine halde, sifilis, kronik diyare, dizanteri ve kronik nezlede infüzyon şeklinde kullanılmaktadır (Bregenta ve ark., 1984; Grieve, 1967).

Ülkemizde yapılan etnofarmakolojik çalışmalarda, bitkiden hazırlanan lapanın Konya, Beyşehir'de haricen romatizmal ağrıların giderilmesinde (Yeşilada ve ark.1997a); Artvin, Borçka'da yapraklarından hazırlanan dekoksasyonun banyo halinde romatizma ve haricen hemoroid tedavisinde (Sadhu ve ark.2006), Afyonkarahisar'da, Şuhut'ta yapraklarından hazırlanan dekoksasyonun dahilen ateş düşürücü, haricen romatizmal ağrılara karşı (Yeşilada ve ark.1997a); Afyonkarahisar, İhsaniye'de çiçek ve tomurcuklarının dekoksyonu dahilen 3 ay süre ile su yerine sürekli içildiğinde peptik ülserlere ve haricen eklem romatizmasına karşı (Yeşilada ve ark., 1997b); Kütahya, Emet, Domaniç ve Hisarcık'ta yapraklarından su ile ısıtılarak hazırlanan banyo suyunun eklemlere uygulanarak romatizmal ağrıların giderilmesinde; Isparta, Sütçüler'de yaprakların kaynatılması ile elde edilen usarenin un ile lapa haline getirilmesi ile preparatın haricen sırt kısmında böbrekler hizasına yakı halinde tatbik edilmesi ile böbrek ve üriner sistem iltihaplanmalarında kullanıldığı tespit edilmiştir (Yeşilada ve ark., 1997a; Sadhu ve ark.2006; Küpeli ve ark., 2006, Küpeli ve Yeşilada, 2007).

Yapılan literatür taramalarında *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisi üzerinde çeşitli fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarının yapıldığı belirlenmiştir. Ülkemizde değişik yörelerden toplanan *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisi ile yapılan fitokimyasal çalışmalarda bitkinin kersetin-3-metil eter, kersetin-3,7-dimetil eter ve kemferol-3,7-dimetil eter, 3,7-*O*-dimetil kersetin, genkvanin, 3,7-*O*-dimetil kemferol, 3,4-*O*-dimetil kersetin kersetin, apigenin, 3,4-*O*-dimetilkemferol, elajik asit, sitosterol, kersetin 3-*O*-ramnozid, 5-*O*-*p*-kumaroilkinik asit methyl ester, 2,3-dihidro-2-(4-*l*-ramnopiranozil-3-metoksifenil)-3-hidroksimetil-7-metoksi 5 benzofuran propanol olmak üzere pek çok flavanoidi içerdiği bildirilmiştir (Sadhu ve ark., 2006; Küpeli ve ark., 2006).

Cistus laurifolius L. (Cistaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan çeşitli polaritedeki ekstre ve fraksiyonların dahili ve harici yolla yapılan uygulamalarında antioksidan, antienflamatuvar, antiromatizmal, antiülseratif, antinosiseptif, antikanserojenik, antihemorajik, hipoglisemik, tansiyon düzenleyici ve koruyucu etkileri ile prostoglandin, TNF-alfa, IL – 1 α ve IL – 1 β inhibitörü etkilerinden söz edilmiştir (Yeşilada ve ark., 1997a; Sadhu ve ark.2006; Küpeli ve ark., 2006, Küpeli ve Yeşilada, 2007; Anonim 2012d).

Üstün ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, bitkiden çeşitli polaritelerde ekstreler hazırlanmış ve kloroformlu ekstrenin antiülser etkisi ile birlikte *H. pylori* enfeksiyonuna karşı güçlü bir aktivite gösterdiği, *Picorno* ve *Poliovirüs*ler üzerine de etkili olduğu ileri sürülmüş, ayrıca ovalbuminin yol açtığı aşırı duyarlılığa karşı baskılayıcı olduğu bildirilmiştir (Üstün ve ark., 2006). Bir başka çalışmada ise, kersetin 3-metil eterin aldoz aktivitesini azaltan etkisinden dolayı diyabetin komplikasyonlarında kullanılabileceği, pıhtılaşmaya yardımcı bir faktör olduğu ve histamini uyararak trakeal gevşemeye sebep olduğu ifade edilmiştir (Enomoto ve ark., 2004). Aynı çalışmada, *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinden izole edilen kersetinin *in vivo* antioksidan ve asetaminofen kaynaklı karaciğer nekrozuna karşı koruyucu etkisi bildirilmiş, çiçek ve çiçek tomurcuklarından elde edilen polisakkarit karışımlarının pilorus stenozuna ve sisteaminin yol açtığı duodenal lezyonlara karşı aktif bir etkisinin olduğu vurgulanmıştır (Küpeli ve ark., 2006). Yapılan başka bir çalışmada, kersetin 3-metil eterin neuroprotektif etkisinden söz edilmiştir (Dok-Go ve ark., 2003). Diğer bir çalışmada, *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) yapraklarından hazırlanan etanollü ekstre ile farelerde “tail flick” testi uygulandığında ağrı kesici etkisi belirlenmiştir (Ark ve ark., 2004). Kaleağasıoğlu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, bitkinin yaprak, kök ve gövdelerinin etanollü ekstresi ve kolon kromatografik olarak elde edilen nonpolar fraksiyonları ile uçucu yağının sitotoksik etkisi araştırılmış, yaprak ve gövdeden hazırlanan etanollü ekstrenin 1 mg/ml dozda yüksek sitotoksik etki, kök ekstresinde ise daha zayıf bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Kaleağasıoğlu ve ark., 1995).

Yapılan literatür taramalarında, *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisi üzerinde çeşitli fitokimyasal ve biyokimyasal çalışmaların bildirilmesine karşın, *in vivo* olarak dokulardaki patolojik lezyonları önleyici veya tedavi edici etkilerine yönelik herhangi bir çalışmaya veya kayda rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, sodyum arsenit verilen ratlarda oluşan patomorfolojik bulguları saptamak ve sodyum arsenit ile eş zamanlı olarak uygulanan *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan çeşitli polaritedeki ekstrahelerin ve fraksiyonların, sodyum arsenitin toksik etkisine karşı, dokularda morfolojik olarak koruyucu etki gösterip göstermediği araştırılacaktır. Ayrıca, biyokimyasal olarak, kan ve dokulara ait antioksidan enzim ve oksidatif stresi yansıtan değerlerdeki değişimler de incelenerek, bu değişimlerin patomorfolojik bulguları destekler nitelikte olup olmadığı da araştırılacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Gereç

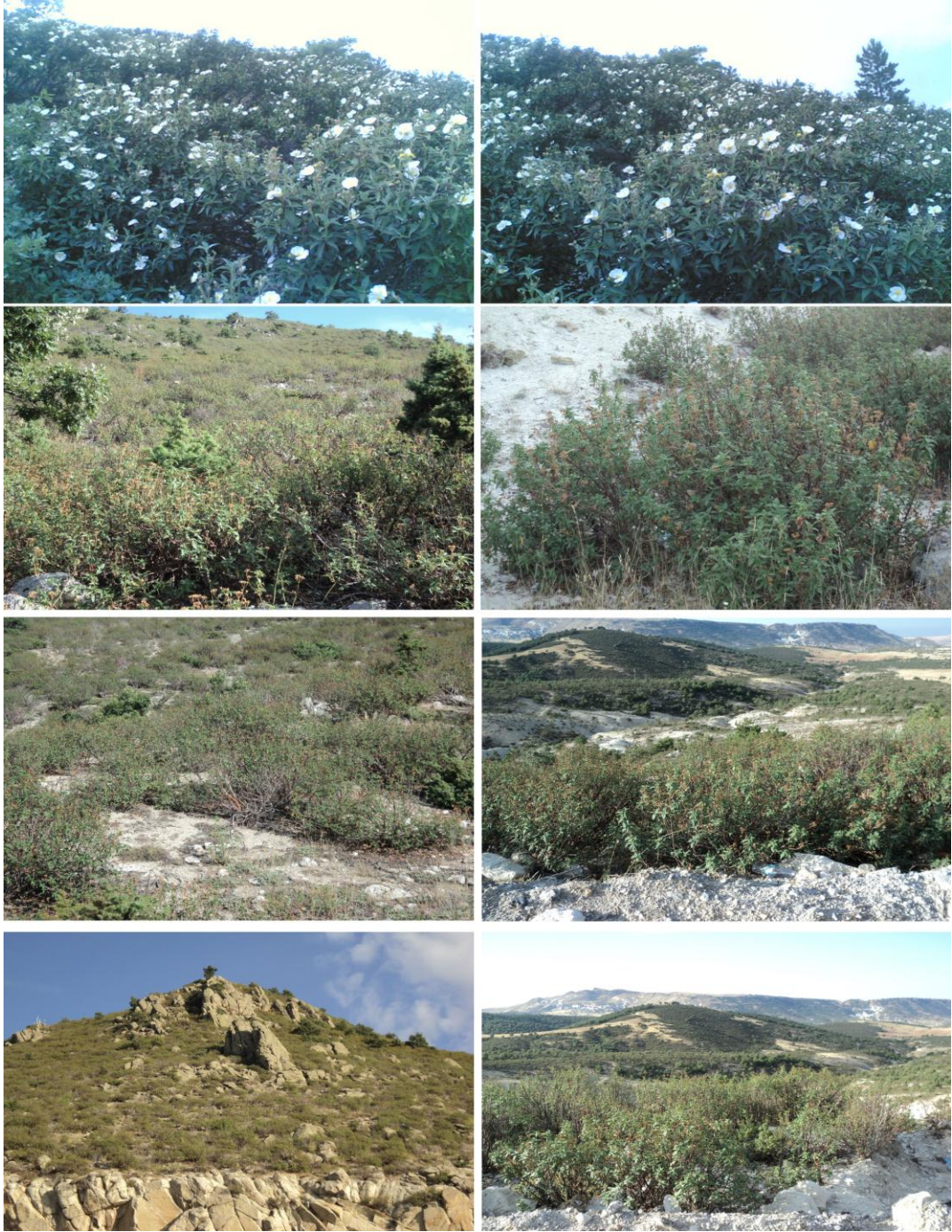
2.1.1 Hayvan Materyali

Bu çalışmada, 6 aylık, 160-180 g ağırlığındaki Sprague - Dawley ırkı, toplam 108 adet erkek rat kullanılmıştır. Ratlar, Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesi'nden temin edilmiştir. Çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir. Ratlar, deneme süresince polysülfon şeffaf kafeslerde barındırılmış, $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ derece sıcaklıkta, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusunda ve düzenli havalandırılan ortamda bulundurulmuştur. Ratlar, standart rat yemi (Korkutelim Yem Gıda Sanayi Ticaret A.Ş.- Antalya; % olarak, kuru madde: 88; ham protein: 23; ham selüloz: 7; ham kül: 8 ve metabolik enerji 2600 Kcal/kg) ve su ile *ad libitum* olarak beslenmiştir.

Bu çalışma için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Karar sayısı: 06/01/2011 tarih ve AKÜHADYEK-01-11 referans nolu araştırma).

2.1.2 *Cistus laurifolius* L. Bitkisinin Temini

Çalışmada kullanılan *Cistus laurifolius* L. bitkisinin toprak üstü kısımları (bitkinin çiçek, yaprak ve gövdesi) Afyonkarahisar yöresindeki Akdağ, Kumalar Dağı ve Ağın Dağı (Köroğlu Beli Dağı) yamaç ve eteklerinden (Şekil 2.1), 2011 Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında toplanmış ve herbaryum numarası (Herbaryum No: GUE-2300) verilmiştir. *Cistus laurifolius* L bitkisinin sulu ve etanollü ekstraktları ile ayrıca etanollü ekstreden (sıvı - sıvı ekstraksiyon tekniği ile) çeşitli polaritelerde ekstraktları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognози Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.



Şekil 2.1 Ağın Dağı (Koroğlu beli)'nin yamaç ve eteklerinden toplanan *Cistus Laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin doğal görünümü.

2.1.3 Çalışma Grupları

Çalışmada, ratlara Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde 15 günlük adaptasyon süresi uygulanmış ve bu süre boyunca ratların tamamı standart rat yemi ile beslenmiştir. On beşinci günün sonunda ratlar, 3'ü kontrol olmak üzere 12 gruba ayrılmış ve her grupta 9'ar hayvan (toplam 108 rat) bulundurulmuştur. Çalışmanın başlangıcında ratlar hassas terazi ile tartılmış, canlı ağırlıkları kaydedilmiştir. Ratlara önce, *Cistus laurifolius* L. bitkisinin toprak üstü kısımlarından, önceden hazırlanmış olan ekstreler, günlük tek doz halinde gastrik gavaj yoluyla uygulanmış; bu uygulamadan 2 saat sonra eş zamanlı olarak, canlı ağırlıklara göre hesaplanan sodyum arsenite (5 mg/kg dozunda Sigma, Katalog No: 71287) yine günlük tek doz halinde gastrik gavaj yolu ile verilmiştir. Deneme grupları, verilen madde, taşıt madde ve veriliş yoluna ilişkin bilgiler Tablo 2.1'de sunulmuştur. Çalışmada gastrik gavaj uygulamalarına 32 gün boyunca devam edilmiştir. Çalışmanın başlangıcından itibaren ratların canlı ağırlık tartımları haftalık olarak çalışmanın sonuna kadar tekrarlanmış; çalışma süresince ratların genel klinik durumları ve davranışları takip edilerek gözlenen bulgular kaydedilmiştir. Otuz iki günlük deneme periyodunun sonunda, ratlar Ketamin HCl ile (Ketalar® flakon, Pfizer İlaç San., İstanbul) genel anesteziye alınmış, canlı ağırlıkları tartılmış ve intrakardiyak kan alımını takiben dekapitasyon yöntemiyle ötanazileri yapılmıştır.

Tablo 2.1 Deneme grupları, verilen madde, taşıt madde ve veriliş yolu.

Deneme Grupları	Verilen Madde	Taşıt Madde- Çözücü	Veriliş Yolu
Grup 1 - Negatif Kontrol Grubu	-	-	-
Grup 2 Kontrol Grubu	-	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 3	5 mg/ kg sodyum arsenite	Distile Su	gastrik gavaj
Grup 4	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin n-hekzan ekstresi	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 5	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin dietil eter ekstresi	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 6	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin etil asetat ekstresi	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 7	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin metanol ekstresi	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 8	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin n-hekzan ekstresi + 5 mg/ kg sodyum arsenite	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 9	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin dietil eter ekstresi + 5 mg/ kg sodyum arsenite	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 10	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin etil asetat ekstresi + 5 mg/ kg sodyum arsenite	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 11	<i>Cistus laurifolius</i> L. bitkisinin metanol ekstresi + 5 mg/ kg sodyum arsenite	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj
Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu	70 mg/kg alfa lipoik asit + 5 mg/ kg sodyum arsenite	% 0.5'lik CMC	gastrik gavaj

2.2 Yöntem

2.2.1 Ekstraksiyon

Çalışma materyali üzerinde kimyasal ve biyolojik işlemlerin yürütülebilmesi amacıyla bitkinin toprak üstü kısımları (bitkinin çiçek, yaprak ve gövdesi) gölgede kurularak toz edilmiştir. Kurutulduktan sonra toz edilen bitki kısmından 1000'er gram tartılarak 5'er litre n-hekzan, dietil eter, etil asetat ve % 85 metanol ile oda ısısında 3 gün boyunca ekstre edilmiştir. Süzülükten sonra alınan ekstreler alçak basınç altında rotavaporda 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırılmış, vakumlu desikatörde alçak basınç altında kurutulmuş ve n-hekzan, dietil eter, etil asetat ve metanol ekstreleri (Verimler: n-hekzan ekstresi % 5-12; dietil eter ekstresi % 9,27; etil asetat ekstresi % 32,5; metanol ekstresi % 45,8) elde edilmiştir (Sadhu ve ark.2006; Küpeli ve ark., 2006, Küpeli ve Yeşilada, 2007).

2.2.2 Kan Örneklerinin Toplanması ve Biyokimyasal Analizler

Çalışmada 32 günlük deneme periyodunun sonunda ratlardan intrakardiyak olarak 5 ml'lik heparinli ve heparinsiz tüplere kan örnekleri alınmıştır. Heparinli ve heparinsiz tüplere alınan kan örnekleri soğuk zincir altında laboratuara getirilmiştir. Heparinsiz tüplere alınan kan örneklerinden kan serumları çıkartılmış ve sonra 1,5 ml'lik godelere alınarak; rutin serum biyokimyasal değerler olan aspartat aminotransferaz (AST) , alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT), glukoz, üre, total kolesterol (TK) ve total protein (TP) değerlerine (otoanalizör; Roche Cobas C 111, Almanya) bakılmıştır. Alınan tam kan örneklerinden, malondialdehit (MDA) ve Glutatyon (GSH) tayini için 2 ml örnekler ayrılmış, geriye kalan kan örnekleri ise 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra plazmaları ayrılmış ve plazmalar 1.5 ml'lik godelere alınarak genel biyokimyasal parametrelerin yanı sıra, kanda oksidan–antioksidan dengeyi gösteren biyokimyasal parametrelere (SOD, CAT, GSH) bakılmıştır (Luck, 1955; Beutler, ve ark., 1963; Aebi, 1974; Sun, ve ark., 1988; Draper ve Hadley, 1990; Koracevic, ve ark., 2001).

Çalışmada, tüm gruplarda yer alan ratlardan, haftalık olarak arka sol bacak veninden (v. safena intermedius) insülin enjektörü ile 1 cc kan örnekleri alınarak açlık kan şekeri (AKŞ) ölçüm cihazı ile (Accu-Chek Go, Roche) açlık kan şekeri ölçülmüştür.

Çalışmanın sonunda tüm gruplarda yer alan ratların sistemik nekropsilerinden sonra karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularından örnekler alınarak MDA, GSH, SOD ve CAT aktivitelerine bakılmıştır.

Çalışmada MDA analizi kanda Draper ve Hadley'in (Draper ve Hadley, 1990), dokuda ise Ohkawa ve arkadaşlarının (Ohkawa ve ark., 1979) kullandığı yöntemlere göre; GSH analizi kanda ve dokuda Beutler ve arkadaşları (Beutler ve ark.,1963) tarafından kullanılan yöntemlere göre; SOD analizi kanda ve dokuda Sun ve arkadaşları (Sun, ve ark., 1988) tarafından kullanılan yöntemlere göre; CAT aktivitesi tayini kanda Luck (Luck, 1955), dokuda ise Aebi tarafından (Aebi, 1974) kullanılan yöntemlere göre tayin edilmiştir.

2.2.3 Nekropsi ve Histopatolojik İncelemeler

Çalışmanın sonunda ratlara ötenazi uygulandıktan sonra sistemik nekropsileri aynı gün yapılmış ve önceden hazırlanmış olan formlara makroskobik bulguları kaydedilmiş ve dokularda saptanan makroskobik lezyonlar resimlendirilmiştir. Sistemik nekropsileri yapılan ratların ayrıca karaciğer, böbrek, dalak, kalp, beyin ve testis dokuları (çevresindeki yağ doku uzaklaştırıldıktan sonra) hassas terazi (Ohaus PA 214C, China) ile tartılarak rölatif organ ağırlıkları (rölatif organ ağırlığı: organ ağırlığı/deneme sonrası canlı ağırlık x 100) hesaplanmıştır.

Histopatolojik incelemeler için karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, pankreas, dalak, beyin, beyincik ve sırt bölgesine ait deriden alınan doku örnekleri % 10'luk tamponlu formalin solüsyonunda; testis ve epididimis dokuları ise Bouin

solüsyonunda tespit edilmiştir. Formalin tespitindeki doku örnekleri 2-3 mm kalınlıkta ve uygun büyüklüklerde küçültülerek doku takip kasetlerine alınmıştır. Çeşme suyunda bir gece yıkandıktan sonra otomatik doku takip cihazında (Leica, TP 1020, Leica Microsystems, Nussloch, Germany) 50, 70, 80, 96'lık ve absöüt alkol ile ksilol, ksilollü parafin ve 56-58°C'de erimiş parafinde 2'şer saat tutulmuş ve sonra da parafinde bloklandıdır. Her parafin bloktan mikrotom (Leica, RM 2155) ile 5 mikron kalınlığında kesilen örnekler su banyosu (Leica, HI 1210) aracılığıyla lamlara alınmıştır. On dakika etüvde kurutularak (Nüve, EN 500) histopatolojik yöntemlerde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Tüm kesitler absöüt, 96, 80, 70 ve 50'lik alkol serileri ile ksilol serilerinden geçirilerek hematoksilen-eosin (HE) ile, gerekli görülenler ise kollajen bağ doku ipliklerini ortaya koymak için "Van Gieson metodu"; kalsiyum tuzlarını ortaya koymak için "Von Kossa" ve hemosiderini ortaya koymak için "Turnbull Blue" metoduna göre boyanmıştır. Ayrıca dokulardaki yağlanmayı ortaya koymak için, gerekli görülen dokulardan dondurma mikrotomunda (Leica, CM 3050 S) kesitler alınmış ve "Oil Red O" yöntemine göre boyanmıştır (Luna, 1968). Boyamaları yapılan preparatlar, binoküler başlıklı ışık mikroskobunda (Olympus BX 51, Tokyo, Japan) incelenmiştir. Gerekli görülen preparatlardan mikroskobik resimler çekilmiştir. (Olympus DP 20, microscopic digital camera systems, Tokyo, Japan).

2.2.4 İmmunohistokimyasal İncelemeler

Çalışmada immunohistokimyasal incelemeler için lizinli lamlara (Menzel-Glasser) 5 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır. Karaciğer, böbrek, testis ve epididimisten lizinli lamlara alınan kesitler MT için strepteavidin-biotin peroksidaz yöntemiyle boyanmıştır. Lizinli lamlara alınan kesitler etüvde (Nüve EN 500) 15-20 dakika olacak şekilde kurutulmuştur. Ksilolde deparafinize edilen kesitler 100, 96 ve 80 derecelik alkollerde 5'er dakika re-hidre edilmiş, daha sonra distile suya alınmıştır. Kesitler, sitrat buffer (pH: 7.4) solüsyonu içerisine konularak yaklaşık 20-25 dakika olacak şekilde mikrodalga fırına (Vestel MW 25 BX 700 watt) konulmuştur. Mikrodalgadan alınan kesitlerin 20-30 dakika kadar çeşme suyu altında soğuması

sağlanmıştır. Humidity chamber (nemli kamara)'a yerleştirilen kesitler Phosphate Buffer Saline-PBS (pH:7.2) ile 3 kez 5'er dakika yıkanmıştır. On dakika hidrojen peroksit uygulamasından sonra kesitler yine PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanmıştır. Nonspesifik boyanmayı engellemek için serum bloking solüsyonu damlatılarak 30 dakika bekletildikten sonra yıkama yapmadan 1/25 oranında sulandırılmış primer antikora (Metallothionein Katolog no: FL 61: sc-11377; rabbit polyklonal Ig G, MT) 45 dakika inkübe edilmiştir. PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanan kesitler, biotinle konjuge edilmiş sekonder antikorda 25 dakika bekletildikten sonra yine aynı şekilde PBS ile yıkanmış, strepteavidin-peroksidazla 25 dakika bekletildikten sonra PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanmıştır. 3-amino-9 etil karbozol (AEC) prosedürüne uygun olarak hazırlandıktan sonra her lama 250 mikrolitre damlatılarak 45 saniye bekletilip 5'er dakika distile su ile yıkanmıştır. Gill's hematoksilen ile karşıt boyama yapıldıktan sonra akan çeşme suyunda yıkanıp su bazlı yapıştırıcı ile kapatılan preparatlar hazır hale getirilmiştir. (Danielson, ve ark.,1982).

2.2.5 İstatiksel Analizler

Çalışmada canlı ağırlık ölçümleri, rölatif organ ağırlıkları, rutin serum biyokimyasal parametreler, kan ve dokudaki MDA, GSH, CAT ve SOD enzim düzeylerine ait sonuçlar ile histopatolojik incelemeler sırasında ölçülen tubulus seminiferus kontortus (TSK)'lara ait değerlerin istatistiksel analizleri ANOVA ve Duncan testi ile değerlendirilmiştir (SPSS 13,0 for Windows/ SPSS ® Inc, Chicago/ USA). Sonuçlar mean±SE olarak sunulmuştur. $p < 0,05$ değeri istatistik açısından önemli kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler 9'ar hayvan üzerinden yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1 Klinik Bulgular

Çalışmada, Grup 3, Grup 8 ve Grup 9’da yer alan ratlarda klinik olarak; durgunluk, bitkinlik, yem ve su tüketiminde azalma ile iştahsızlık dikkati çekti. Diğer gruplarda ise herhangi bir klinik belirti gözlenmedi.

3.2 Canlı Ağırlık Artışı ve Rölatif Organ Ağırlık Bulguları

Çalışmada, 32 günlük deneme periyodunda; ratlarda canlı ağırlık değişimlerini saptamak amacıyla, çalışmanın başlangıcında, 7, 14, 21, 28 ve 32. günlerde canlı ağırlık tartımları yapıldı. Deneme sonrası ile deneme öncesi ağırlıkları arasındaki farklılıklar hesaplanarak, canlı ağırlık artışları belirlendi. Elde edilen sonuçlara ilişkin veriler Tablo 3.1’de sunuldu. Ayrıca nekropsi sonrası tartılan karaciğer, böbrek, kalp, dalak, testis ve beyin dokularının rölatif organ ağırlıkları hesaplandı. Elde edilen rölatif karaciğer (RK), rölatif böbrek (RBÖ), rölatif kalp (RK), rölatif dalak (RD), rölatif testis (RT) ve rölatif beyin (RBE) ağırlıklarına ilişkin sonuçlar Tablo 3.2’de verildi.

Tablo 3.1 Deneme periyodu boyunca ratların canlı ağırlık (g) değişimleri*

Gruplar	Denemenin Başlangıcı	7.gün	14.gün	21.gün	28.gün	32.gün	p değerleri
Grup 1	306,22±59,18	312,86±59,29	332,62±25,68	333,81±28,33	328,78±25,66	334,50±26,19	0,718
Grup 2	295,44±44,47	295,80±53,09	326,41±24,66	329,90±24,64	321,30±67,19	320,89±35,56	0,451
Grup3	340,00±31,87	340,03±27,89	276,16±29,39	269,79±40,18	272,81±48,22	278,89±46,24	0,133
Grup 4	293,11±48,84	288,13±29,74	304,83±36,16	303,90±35,82	299,13±25,21	307,74±32,99	0,605
Grup 5	306,33±19,35	311,03±19,52	306,56±28,00	304,29±37,66	303,87±19,31	307,92±38,43	1,000
Grup 6	289,56±19,95	295,60±24,38	310,71±24,86	310,57±33,46	311,83±33,09	313,18±63,48	0,731
Grup 7	312,89±30,35	314,33±31,79	308,32±26,36	305,24±59,06 ^a	307,44±60,16	309,61±19,37	0,993
Grup 8	350,22±21,56 ^b	344,89±25,20 ^b	279,14±55,76 ^a	275,00±45,14 ^a	273,51±27,04 ^a	281,14±56,96 ^a	0,007
Grup 9	319,67±32,67	318,78±33,29	287,49±23,74	277,73±26,83	275,24±24,98	282,84±21,32	0,552
Grup 10	323,78±27,91	324,16±20,62	301,27±57,41	288,62±27,82	283,37±29,33	289,32±26,20	0,467
Grup 11	329,56±27,97 ^b	325,05±29,02 ^b	299,81±21,12 ^{ab}	279,22±57,29 ^a	283,19±57,32 ^a	283,52±27,54 ^a	0,028
Grup 12	326,67±42,20	324,70±40,77	302,13±34,56	301,78±20,72	289,59±28,74	290,85±32,46	0,615

* : ab: aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak önemlilik arz eder, G-8 ve G-11 (p<0,05).

Tablo 3.2 Gruplara göre rölatif organ ağırlıkları (g/100g)

Gruplar	Beyin	Kalp	Karaciğer	SağBöbrek	Sol Böbrek	Dalak	Sağ Testis	Sol Testis
Grup 1	0,59±0,05	0,29±0,03	3,33±0,8	0,31±0,04	0,33±0,04	0,19±0,02	0,47±0,06	0,48±0,05
Grup 2	0,57±0,05	0,28±0,03	3,31±0,5	0,29±0,03	0,33±0,04	0,18±0,01	0,45±0,06	0,45±0,06
Grup3	0,66±0,04	0,35±0,07	3,70±0,4	0,41±0,04	0,40±0,04	0,26±0,03	0,55±0,05	0,55±0,05
Grup 4	0,53±0,21	0,27±0,11	3,12±0,9	0,28±0,12	0,32±0,13	0,16±0,03	0,43±0,10	0,44±0,10
Grup 5	0,52±0,20	0,26±0,11	3,04±0,4	0,28±0,13	0,31±0,12	0,16±0,08	0,41±0,12	0,44±0,12
Grup 6	0,49±0,18	0,23±0,09	2,99±0,5	0,25±0,12	0,27±0,12	0,15±0,07	0,38±0,14	0,41±0,12
Grup 7	0,51±0,20	0,25±0,10	3,03±0,6	0,27±0,12	0,29±0,12	0,15±0,08	0,40±0,14	0,42±0,14
Grup 8	0,65±0,08	0,34±0,05	3,59±0,3	0,39±0,02	0,39±0,05	0,25±0,05	0,53±0,06	0,53±0,06
Grup 9	0,64±0,03	0,33±0,04	3,57±0,5	0,37±0,03	0,38±0,04	0,24±0,06	0,52±0,06	0,53±0,06
Grup 10	0,61±0,04	0,31±0,03	3,37±0,4	0,34±0,04	0,35±0,03	0,21±0,04	0,49±0,08	0,50±0,07
Grup 11	0,62±0,10	0,32±0,03	3,40±0,3	0,36±0,04	0,36±0,03	0,23±0,05	0,51±0,08	0,51±0,12
Grup 12	0,60±0,06	0,30±0,08	3,35±0,8	0,32±0,02	0,34±0,04	0,20±0,09	0,48±0,05	0,49±0,05
p değerleri	0,080	0,143	0,533	0,490	0,395	0,165	0,128	0,110

3.3 Biyokimyasal Bulgular

3.3.1 Kan Biyokimyasal Bulgular

Çalışmada, deneme periyodunun sonunda, tüm gruplardaki ratlardan alınan kan örneklerinden ölçülen AST, ALT, GGT, glikoz, üre, TK ve TP değerleri Tablo 3.3'de; MDA, GSH, SOD ve CAT değerleri Tablo 3.4'de ve haftalık olarak alınan kan örneklerinden ölçülen açlık kan şekeri (AKŞ) değerleri de Tablo 3.5'de sunuldu.

3.3.2 Doku Biyokimyasal Bulgular

Çalışmanın sonunda tüm gruplardaki ratlardan alınan karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularının MDA, GSH, SOD ve CAT aktivitelerine ilişkin sonuçlar sırasıyla Tablo 3.6, Tablo 3.7, Tablo 3.8, ve Tablo 3.9' da sunulmuştur.

Tablo 3.3 Gruplara göre serum biyokimyasal değerler.*

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	Glikoz (mg/dl)	Üre (mg/dl)	TK (mg/dl)	TP (g/L)
Grup 1	118,98±23,45 ^a	45,00±5,62 ^a	1,72±0,70	118,59±24,82 ^a	40,05±5,60 ^a	35,38±8,11 ^a	56,62±12,14
Grup 2	127,95±24,66 ^{ab}	45,17±7,31 ^a	2,38±0,77	151,38±31,28 ^{ab}	44,03±5,92 ^{ab}	36,56±7,90 ^{ab}	57,62±10,50
Grup3	195,75±30,78 ^f	79,78±20,65 ^c	3,47±0,53	291,57±82,28 ^d	58,94±10,32 ^e	54,62±10,84 ^c	65,45±11,40
Grup 4	154,11±36,72 ^{abcde}	50,30±4,80 ^a	2,69±1,32	168,30±38,45 ^{abc}	50,37±5,10 ^{bcd}	39,10±10,97 ^{ab}	59,60±9,70
Grup 5	150,07±23,21 ^{abcd}	49,23±8,46 ^a	2,68±0,52	164,22±31,60 ^{abc}	50,15±6,66 ^{bcd}	38,88±9,79 ^{ab}	59,16±10,24
Grup 6	133,38±35,60 ^{abc}	47,00±5,94 ^a	2,60±1,36	161,40±67,51 ^{abc}	44,65±4,63 ^{abc}	36,96±8,13 ^{ab}	58,78±15,85
Grup 7	146,01±24,84 ^{abcd}	48,87±9,95 ^a	2,65±1,35	162,46±30,43 ^{abc}	45,30±5,59 ^{abc}	37,83±10,54 ^{ab}	58,95±10,43
Grup 8	188,12±37,31 ^{ef}	69,17±16,86 ^{bc}	3,43±1,63	229,11±83,21 ^{cd}	57,55±4,23 ^{de}	52,76±11,61 ^c	65,38±13,56
Grup 9	179,42±27,58 ^{def}	59,82±15,83 ^{ab}	3,15±1,31	202,95±54,09 ^{bc}	55,57±4,00 ^{de}	49,24±5,89 ^{bc}	62,77±11,30
Grup 10	162,82±23,03 ^{bcdef}	52,63±5,80 ^a	2,90±0,67	182,84±58,24 ^{abc}	53,56±7,69 ^{de}	42,35±4,37 ^{abc}	61,30±8,59
Grup 11	166,63±28,81 ^{cdef}	58,95±9,50 ^{ab}	3,02±1,87	190,17±36,84 ^{abc}	54,73±3,93 ^{de}	48,74±13,65 ^{abc}	62,73±13,89
Grup 12	157,90±17,98 ^{bcde}	52,27±8,70 ^a	2,82±0,77	173,51±42,05 ^{abc}	52,54±7,69 ^{cde}	41,86±12,87 ^{abc}	59,77±8,70
p değerleri	0,000	0,000	0,449	0,000	0,000	0,006	0,963

*:AST: aspartat aminotransferaz, ALT: alanin aminotransferaz, GGT: gama glutamil transferaz,

^{abcdef}: Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder, AST, ALT, glikoz, üre ve TK (p<0,05),

Tablo 3.4 Gruplara göre kan dokusu MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri*

Gruplar	MDA	GSH	CAT	SOD
Grup 1	3,75±0,89 ^a	86,09±19,48	1890,43±528,21 ^e	67,26±18,78 ^e
Grup 2	4,10±1,34 ^a	53,02±7,58	1842,76±747,52 ^e	56,65±20,50 ^{de}
Grup3	22,29±6,10 ^d	31,24±4,16	360,03±166,34 ^a	26,98±4,26 ^a
Grup 4	6,83±2,60 ^{ab}	47,82±10,55	982,88±243,94 ^{bcd}	45,06±8,61 ^{abcd}
Grup 5	6,44±1,29 ^a	48,00±7,74	1131,39±190,89 ^{cd}	45,93±17,33 ^{abcd}
Grup 6	5,63±3,55 ^a	50,14±9,95	1277,89±202,13 ^d	53,91±13,70 ^{cde}
Grup 7	5,91±1,16 ^a	48,62±7,26	1274,82±354,05 ^d	47,87±15,21 ^{bcd}
Grup 8	19,85±5,90 ^{cd}	36,85±5,79	600,01±124,55 ^{ab}	33,19±16,03 ^{ab}
Grup 9	16,07±5,20 ^c	37,33±6,40	718,71±153,46 ^{abc}	35,03±14,69 ^{abc}
Grup 10	7,86±2,13 ^{ab}	39,82±5,98	838,72±110,64 ^{bc}	42,85±12,38 ^{abcd}
Grup 11	10,99±2,79 ^b	37,82±6,42	771,94±245,82 ^{bc}	36,88±10,52 ^{abc}
Grup 12	7,55±2,35 ^{ab}	42,04±7,44	916,79±226,45 ^{bcd}	44,38±15,22 ^{abcd}
p değerleri	0,000	0,492	0,000	0,001

*: MDA: malondialdehit, GSH: glutasyon, CAT: katalaz, SOD: süperoksit dismutaz
 abcde: Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder, MDA, CAT ve SOD
 (p<0,05).

Tablo 3.5 Gruplara göre, haftalık açlık kan şekeri ölçüm değerleri*

Gruplar	Denemenin başlangıcı	1.hafta	2. hafta	3.hafta	4.hafta	p değerleri
Grup 1	92,78±13,02	88,56±15,38	82,22±13,43	84,67±7,52	85,11±5,90	0,364
Grup 2	78,00±5,24	86,89±13,63	83,22±9,14	87,11±7,93	85,78±6,42	0,189
Grup3	85,78±8,32 ^a	87,22±12,78 ^a	104,22±13,90 ^c	93,89±7,35 ^{ab}	98,33±4,36 ^{bc}	0,002
Grup 4	90,56±8,99	80,56±9,22	89,78±10,74	90,00±6,20	91,44±9,14	0,083
Grup 5	86,67±7,78	80,89±13,10	85,33±5,00	89,78±7,76	88,56±4,75	0,200
Grup 6	87,67±11,73	81,44±21,45	84,56±10,28	87,44±6,54	86,67±8,44	0,826
Grup 7	95,22±7,85	87,56±19,69	85,00±7,40	88,44±5,94	86,89±6,86	0,340
Grup 8	88,11±11,35	84,11±16,00	93,78±13,45	93,00±5,10	96,33±6,80	0,171
Grup 9	90,22±8,48	86,44±15,75	93,44±13,50	91,00±8,60	95,33±8,66	0,539
Grup 10	87,67±14,60	87,78±13,36	92,11±10,81	90,56±6,77	93,56±6,04	0,723
Grup 11	89,00±17,54 ^{ab}	78,22±12,50 ^a	93,11±11,59 ^b	90,67±7,68 ^b	94,33±5,36 ^b	0,044
Grup 12	88,78±10,14	87,22±22,28	91,55±12,30	90,44±7,54	93,22±6,70	0,883

*:abc: aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder, G-3 ve G-11 (p<0,05).

Tablo 3.6 Karaciğer MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri*

Gruplar	MDA	GSH	CAT	SOD
Grup 1	11,10±0,96 ^a	157,78±41,76 ^e	0,73±0,14 ^e	73,14±16,32
Grup 2	22,43±4,18 ^a	156,45±38,78 ^e	0,65±0,19 ^{de}	72,69±9,06
Grup3	35,18±14,75 ^c	41,78±23,34 ^a	0,26±0,14 ^a	48,02±19,87
Grup 4	26,52±6,09 ^{ab}	72,89±32,60 ^{ab}	0,47±0,20 ^{abcd}	61,49±17,71
Grup 5	24,83±6,30 ^{ab}	79,56±15,66 ^{bc}	0,50±0,18 ^{abcde}	66,83±15,08
Grup 6	22,74±2,38 ^{ab}	125,78±31,12 ^{de}	0,63±0,21 ^{cde}	68,93±12,82
Grup 7	22,79±1,59 ^{ab}	107,56±31,08 ^{cd}	0,55±0,23 ^{bcde}	67,50±18,60
Grup 8	33,21±9,79 ^b	45,78±13,64 ^{ab}	0,33±0,11 ^{ab}	50,19±20,00
Grup 9	32,38±9,28 ^{ab}	64,00±15,27 ^{ab}	0,37±0,15 ^{ab}	50,55±18,06
Grup 10	30,52±11,47 ^{ab}	67,11±22,10 ^{ab}	0,42±0,25 ^{abcd}	55,98±17,55
Grup 11	31,80±4,03 ^{ab}	66,67±17,93 ^{ab}	0,39±0,13 ^{abc}	55,30±17,60
Grup 12	28,83±8,04 ^{ab}	67,56±17,34 ^{ab}	0,46±0,22 ^{abcd}	57,45±15,31
p Değerleri	0,000	0,000	0,001	0,091

*: MDA: malondialdehit, GSH: glutasyon, CAT: katalaz, SOD: süperoksit dismutaz
a,b,c,d,e: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder, MDA, GSH ve CAT
(p<0,05)

Tablo 3.7 Böbrek MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri*

Gruplar	MDA	GSH	CAT	SOD
Grup 1	32,51±12,88	114,67±17,20 ^f	1,28±0,53 ^c	77,09±8,86
Grup 2	34,33±9,97	100,00±15,25 ^{ef}	1,10±0,43 ^{bc}	77,02±9,50
Grup3	50,32±9,17	51,56±16,15 ^a	0,52±0,33 ^a	71,22±14,93
Grup 4	36,69±6,88	76,00±16,59 ^{bcd}	0,79±0,27 ^{ab}	75,63±14,97
Grup 5	36,15±4,43	84,00±18,22 ^{cde}	0,80±0,39 ^{ab}	76,31±15,67
Grup 6	35,01±6,49	97,33±18,44 ^{ef}	0,85±0,38 ^{ab}	76,96±9,81
Grup 7	35,36±6,41	95,56±25,82 ^{def}	0,84±0,22 ^{ab}	76,78±8,80
Grup 8	49,62±23,45	52,00±14,58 ^a	0,54±0,23 ^a	72,40±14,52
Grup 9	47,66±10,39	52,89±9,60 ^a	0,56±0,26 ^a	73,40±9,87
Grup 10	43,93±15,71	61,78±8,67 ^{ab}	0,69±0,15 ^{ab}	74,63±13,89
Grup 11	44,06±14,60	54,67±12,59 ^a	0,59±0,36 ^a	73,47±14,58
Grup 12	42,73±10,98	65,78±18,83 ^{abc}	0,78±0,26 ^{ab}	75,21±14,49
p Değerleri	0,095	0,000	0,004	0,999

*:MDA: malondialdehit, GSH: glutasyon, CAT: katalaz, SOD: süperoksit dismutaz
a,b,c,d,e,f: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder, GSH ve CAT
(p<0,05).

Tablo 3.8 Kalp MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri*

Gruplar	MDA	GSH	CAT	SOD
Grup 1	9,77±1,71 ^a	62,67±22,27 ^d	0,56±0,15 ^d	81,68±21,99 ^c
Grup 2	9,86±0,86 ^a	47,11±12,01 ^c	0,40±0,16 ^{cd}	81,62±16,43 ^c
Grup3	18,75±4,90 ^c	8,00±4,46 ^a	0,14±0,08 ^a	37,38±24,00 ^a
Grup 4	11,24±1,18 ^{ab}	27,56±13,98 ^b	0,32±0,17 ^{abc}	77,21±17,14 ^{bc}
Grup 5	11,15±2,84 ^{ab}	29,06±2,88 ^b	0,32±0,18 ^{abc}	80,62±20,27 ^c
Grup 6	10,70±2,50 ^{ab}	45,33±20,46 ^c	0,37±0,13	81,52±16,55 ^c
Grup 7	10,75±1,26 ^{ab}	31,99±17,53 ^{bc}	0,33±0,18 ^{bc}	81,23±21,16 ^c
Grup 8	13,86±3,05 ^b	15,55±9,89 ^{ab}	0,18±0,09 ^{ab}	55,40±16,42 ^{ab}
Grup 9	13,10±3,99 ^{ab}	17,07±4,84 ^{ab}	0,18±0,08 ^{ab}	63,27±20,87 ^{bc}
Grup 10	11,91±3,41 ^{ab}	19,11±4,59 ^{ab}	0,27±0,09 ^{abc}	71,65±17,90 ^{bc}
Grup 11	11,95±1,69 ^{ab}	18,67±6,08 ^{ab}	0,24±0,09 ^{abc}	70,74±11,94 ^{bc}
Grup 12	11,90±2,02 ^{ab}	26,67±8,60 ^b	0,30±0,19 ^{abc}	75,37±11,06 ^{bc}
p Değerleri	0,000	0,000	0,000	0,001

*: MDA: malondialdehit, GSH: glutatyon, CAT: katalaz, SOD: süperoksit dismutaz
^{a,b,c}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder, MDA, GSH, CAT ve SOD (p<0,05).

Tablo 3.9 Beyin MDA, GSH, CAT ve SOD değerleri*

Gruplar	MDA	GSH	CAT	SOD
Grup 1	29,93±14,64 ^a	112,00±26,44 ^f	0,55±0,34 ^c	83,59±19,98
Grup 2	34,73±10,86 ^{ab}	80,89±22,92 ^e	0,28±0,20 ^b	83,07±14,68
Grup3	71,78±22,83 ^d	13,33±5,22 ^a	0,06±0,03 ^a	70,92±15,40
Grup 4	44,38±6,25 ^{abc}	33,95±11,82 ^{bcd}	0,09±0,09 ^a	79,19±24,02
Grup 5	44,06±7,70 ^{abc}	38,23±12,47 ^{cd}	0,10±0,03 ^a	81,36±22,04
Grup 6	41,84±9,64 ^{abc}	47,11±17,17 ^d	0,20±0,13 ^{ab}	82,46±20,85
Grup 7	42,02±8,77 ^{abc}	40,45±7,43 ^{cd}	0,17±0,15 ^{ab}	81,75±14,29
Grup 8	56,32±13,28 ^c	16,45±13,34 ^{ab}	0,06±0,03 ^a	71,88±14,09
Grup 9	49,57±10,98 ^{bc}	26,67±5,33 ^{abc}	0,07±0,03 ^a	74,31±14,02
Grup 10	46,73±7,58 ^{bc}	29,33±4,74 ^{abcd}	0,08±0,03 ^a	74,68±12,42
Grup 11	47,40±5,92 ^{bc}	27,11±16,11 ^{abc}	0,07±0,10 ^a	74,34±9,08
Grup 12	45,93±8,76 ^{bc}	33,78±8,55 ^{bcd}	0,09±0,03 ^a	77,67±15,79
p Değerleri	0,000	0,000	0,000	0,933

*: MDA: malondialdehit, GSH: glutatyon, CAT: katalaz, SOD: süperoksit dismutaz
^{a,b,c,d,e,f}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder, MDA, GSH ve CAT (p<0,05).

3.4 Patolojik Bulgular

3.4.1 Makroskopik Bulgular

3.4.1.1 Grup 1- Negatif Kontrol Grubu

Bu grupta bulunan ratların nekropsilerinde, organlarda herhangi makroskopik bir lezyona rastlanmadı.

3.4.1.2 Grup 2-Kontrol Grubu

Bu grupta yer alan ratların nekropsilerinde, organlarda herhangi makroskopik bir lezyon gözlenmedi.

3.4.1.3 Grup 3

Bu gruptaki ratların nekropsilerinde, karaciğerlerinin visceral yüzeyinde, yaygın bir şekilde, 1-1,5 mm çapında, boz beyaz renkte odaklara rastlandı (Şekil 3.1 A). Kesitler yapıldığında, bu odaklara karaciğerin kesit yüzünde de rastlandı. Karaciğer gevrek kıvamda ve küçülmüş olup, bazı olgularda solgun, bazı olgularda hafif kahverengimsi görünümde idi. Olguların çoğunda böbreklerin dış yüzünde ve kesit yüzünde toplu iğne başı büyüklüğünde boz beyaz odaklar gözlemlendi (Şekil 3.1 B). Bu odaklara bazı olgularda böbreklerin kesit yüzünde de rastlandı. Böbrekler gevrek kıvamda olup, bazı olgularda hafif solgun, bazı olgularda ise, alacalı bir görünümde idi. Kalp genellikle balık eti görünümünde ve gevşek kıvamda idi. Akciğer, dalak ve pankreasta herhangi bir makroskopik lezyona rastlanmadı. Testis ve epididimisler, kontrol gruplarının (Grup 1, Grup 2 ve Grup 12) testis ve epididimislerine göre, genellikle küçük yapıda, hafif yumuşak kıvamda olup, damarlar konjesyone idi (Şekil 3.1 C). Tüm olgularda beyin ve beyinciğin dış yüzeyindeki damarlar konjesyone idi (Şekil 3.1D). Deri, palpasyonda hafif sertleşmiş kıvamda ve yer yer döküntüler gösteriyordu. Deri yüzeyindeki kıllar kuru ve mat bir görünümde idi.



Şekil 3.1 Grup 3, A. Karaciğerin viseral yüzünde boz renkte odaklar. B. Böbreğin dış yüzünde boz renkte odaklar; C. Testislerde damarlarda konjesyon; D. Beyin ve beyinciğin dış yüzünde konjesyon.

3.4.1.4 Grup 4

Bu gruptaki ratların karaciğerleri genellikle kahverengimsi, birkaç olguda ise solgun görünümde idi. Böbrek, akciğer, dalak, pankreas, testis, epididimis, beyin, beyincik ve deri de normal görünümde idi.

3.4.1.5 Grup 5

Bu gruptaki ratların karaciğer ve böbrekleri genellikle normal yapı ve kıvamda olup, hafif kahverengimsi görünümde idi. Akciğer, dalak, pankreas, testis, epididimis, beyin, beyincik ve deri normal yapı, kıvam ve görünümde idi.

3.4.1.6 Grup 6

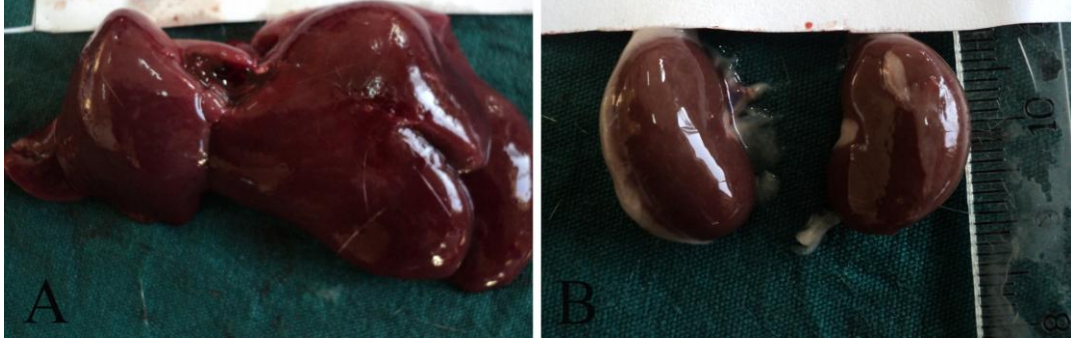
Bu gruptaki ratlarda makroskopik olarak karaciğer, böbrek, akciğer, dalak, pankreas, testis, epididimis, beyin, beyincik ve deri normal görünümde ve kıvamda idi.

3.4.1.7 Grup 7

Bu gruptaki ratların karaciğerleri genellikle normal yapı ve kıvamda olup, genellikle hafif kahverengimsi, birkaç olguda hafif solgun görünümde idi. Bütün hayvanlarda böbrek, akciğer, dalak, pankreas, testis, epididimis, beyin, beyincik ve deri normal yapı, kıvam ve görünümde idi.

3.4.1.8 Grup 8

Bu gruptaki ratların nekropsilerinde, karaciğerlerinin dış yüzeyinde, yaygın bir şekilde, 0,5-1 mm çapında, boz beyaz renkte odaklara rastlandı (Şekil 3.2 A). Karaciğerlere kesit yapıldığında, bu odaklar organın kesit yüzünde de görüldü. Karaciğer gevrek kıvamda olup, genellikle koyu kahverengimsi görünümde idi. Bütün hayvanlarda böbreklerin dış yüzünde ve kesit yüzünde toplu iğne başı büyüklüğünde boz beyaz odaklar gözlemlendi (Şekil 3.2 B). Olguların tamamına yakınında, bu odaklara organın kesit yüzünde de rastlandı. Böbrekler gevrek kıvamda olup, genellikle koyu kahverengimsi görünümde idi. Kalp genellikle koyu kahverengimsi renkte ve gevşek kıvamda idi. Akciğer, dalak ve pankreas normal yapı ve görünümde idi. Testis ve epididimisler, kontrol gruplarının (Grup 1, Grup 2 ve Grup 12) testis ve epididimislerine göre, genellikle küçük yapıda, hafif yumuşak kıvamda olup, damarlar konjesyone ve dolgundu. Dış yüzeyindeki damarlar oldukça konjesyone idi. Tüm olgularda beyin ve beyinciğin dış yüzeyindeki damarlar genellikle genişlemiş ve dolgun olup, dış yüzeyleri düzleşmiş görünümde idi. Deri, palpe edildiğinde hafif sertleşmiş kıvamda ve üzerinde yer yer döküntüler vardı. Deri yüzeyindeki kıllar kuru ve mat bir görünümde idi.



Şekil 3.2 Grup 8, A. Karaciğerin viseral yüzünde boz renkte odaklar; B. Böbreğin dış yüzünde boz renkte odaklar.

3.4.1.9 Grup 9

Karaciğerlerin dış yüzeyinde, yer yer 0,5-1 mm çapında, boz beyaz renkte odaklara rastlandı. Bazı olgularda bu odaklar organın kesit yüzünde de görüldü. Karaciğer koyu kahverengimsi görünümde idi. Bütün hayvanlarda böbreklerin dış yüzünde ve bazı olgularda kesit yüzünde, toplu iğne başı büyüklüğünde boz beyaz odaklar gözlemlendi. Böbrekler koyu kahverengimsi görünümde idi. Kalp gevşek kıvamda idi. Akciğer, dalak ve pankreas normal yapı ve görünümde idi. Testis ve epididimisler, kontrol gruplarının (Grup 1, Grup 2 ve Grup 12) testis ve epididimislerine göre, küçük yapıda, hafif yumuşak kıvamda olup, damarlar konjesyone idi. Tüm olgularda beyin ve beyinciğin dış yüzeyindeki damarlar konjesyone idi. Deri, palpasyonda hafif sertleşmiş kıvamda ve üzerinde yer yer döküntüler vardı. Deri yüzeyindeki kıllar kuru ve mat bir görünümde idi.

3.4.1.10 Grup 10

Karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, dalak, pankreas, testis, epididimis, beyin, beyincik ve deri normal görünümde idi. Herhangi makroskobik bir lezyona rastlanmadı.

3.4.1.11 Grup 11

Bu grupta bulunan ratların karaciğer ve böbreklerinde belirgin makroskopik bir lezyona rastlanmadı; genellikle koyu kahverengimsi görünümde idi. Kalp koyu kahverengimsi renkte ve gevşek kıvamda idi. Akciğer, dalak, pankreas ve deri normal yapı ve görünümde idi; kayda değer makroskopik bir bulguya rastlanmadı. Testis ve epididimislerin dış yüzeyindeki damarlar konjesyone idi. Beyin ve beyinciğin dış yüzeyindeki damarlar konjesyone olup, dış yüzleri genellikle düzleşmiş bir görünümde idi.

3.4.1.12 Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu

Bu grupta bulunan ratların karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, dalak, pankreas, testis, epididimis, beyin, beyincik ve deri normal görünümde idi. Herhangi makroskopik bir lezyona rastlanmadı.

3.4.2 Histopatolojik Bulgular

Çalışmada mikroskopik olarak incelenen dokulara ait histopatolojik bulgular Tablo 3.10'da; testiste ölçülen TSK çaplarının ölçümlerine ait sonuçlar da Tablo 3.11'de sunulmuştur.

Tablo 3.10 Gruplarda organlarda tespit edilen histopatolojik bulgular*

Organ	Histopatolojik Bulgu	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup	8.Grup	9.Grup	10.Grup	11.Grup	12.Grup
Karaciğer	Hiperemi	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	+(5/9)	-(9/9)
	Kanama	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
	Hepatositlerde Dejenerasyon ve Nekroz	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	+(2/9)	+(2/9)	-(9/9)	+(1/9)	+++ (9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)
	MNH infiltrasyonu	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	+++ (9/9)	+(1/9)	-(9/9)	+(2/9)
	Kupffer hücre aktivasyonu	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	+(4/9)	-(9/9)
	Sinuzoidal dilatasyon	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (8/9)	-(9/9)	+(5/9)	-(9/9)
	Safra kanalı proliferasyonu	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
	Bağ doku artışı	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
Böbrek	Hiperemi	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	++ (5/9)	-(9/9)
	Kanama	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	+(5/9)	-(9/9)
	Proksimal Tubullerde Dejenerasyon	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	+(8/9)	-(9/9)
	Proksimal Tubullerde Nekroz	-(9/9)	-(9/9)	++ (8/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)
	Glomeruluslarda Dilatasyon	-(9/9)	-(9/9)	+++ (8/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	+(3/9)	-(9/9)
	MNH İnfiltrasyonu	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
	Mineralizasyon	-(9/9)	-(9/9)	++ (8/9)	+(2/9)	+(1/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)

*:MNH:Mononükleer hücre infiltrasyonu, -: Yok, +: Hafif, ++: Orta, +++: Şiddetli

Tablo 3.10 Gruplarda organlarda tespit edilen histopatolojik bulgular (devamı)*

Organ	Histopatolojik Bulgu	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup	8.Grup	9.Grup	10.Grup	11.Grup	12.Grup
Kalp	Hiperemi	-(9/9)	-(9/9)	++(8/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(5/9)	-(9/9)
	Kanama	-(9/9)	-(9/9)	++(8/9)	+++ (1/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(8/9)	++(1/9)	+(4/9)	++(1/9)
	Hiyalin Dejenerasyonu	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)
	Zenker Nekrozu	-(9/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(4/9)	++(5/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
	MNH İnfiltrasyonu	-(9/9)	-(9/9)	++(8/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(7/9)	+(4/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
Akciğer	Peribronşial Lenfoid Doku Artışı	-(9/9)	-(9/9)	+++ (7/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(7/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
Dalak	Hemosiderin Yüklü Makrofaj	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(5/9)	+(4/9)	-(9/9)	+(2/9)	++(8/9)	++(5/9)	+(2/9)	+(4/9)	+(2/9)
	Megakaryosit	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(5/9)	+(4/9)	-(9/9)	+(2/9)	++(8/9)	++(5/9)	+(2/9)	+(4/9)	+(2/9)
Pankreas	Ekzokrin Hücrelerde Dejenerasyon	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(7/9)	-(9/9)	+(4/9)	-(9/9)
	Ekzokrin Hücrelerde Nekroz	-(9/9)	-(9/9)	++ (7/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(6/9)	++(5/9)	-(9/9)	+(3/9)	-(9/9)
	Mineralizasyon	-(9/9)	-(9/9)	++ (6/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(6/9)	++(5/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
	Hiperemi	-(9/9)	-(9/9)	++ (7/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(5/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)

*:MNH:Mononükleer hücre infiltrasyonu, -: Yok, +: Hafif, ++: Orta, +++: Şiddetli

Tablo 3.10 Gruplarda organlarda tespit edilen histopatolojik bulgular (devamı)*

Organ	Histopatolojik Bulgu	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup	8.Grup	9.Grup	10.Grup	11.Grup	12.Grup
Testis	TSK larda Germinatif Hücrelerde Dejenerasyon	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	-(9/9)
	TSK larda Germinatif Hücrelerde Nekroz	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(8/9)	-(9/9)
	TSK larda Sertoli Hücrelerinde Nekroz	-(9/9)	-(9/9)	+(3/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(7/9)	++(4/9)	-(9/9)	-(8/9)	-(9/9)
	Leydig Hücrelerinde Dejenerasyon	-(9/9)	-(9/9)	++ (8/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(7/9)	-(9/9)	+(5/9)	-(9/9)
	Leydig Hücrelerinde Nekroz	-(9/9)	-(9/9)	+(3/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(5/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(3/9)	-(9/9)
	Bağ dokuda Hyalinizasyon	-(9/9)	-(9/9)	++(7/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(7/9)	+(4/9)	-(9/9)	+(3/9)	-(9/9)
	MNH İnfiltrasyonu	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
Epididimis	Kanal Lumeninde Spermatozoa	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)
	Kanal Lumeninde Dilatasyon	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)
	MNH İnfiltrasyonu	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)

*:TSK: Tubulus seminiferus kontortus, MNH: Mononükleer hücre infiltrasyonu, -: Yok, +: Hafif, ++: Orta, +++: Şiddetli

Tablo 3.10 Gruplarda organlarda tespit edilen histopatolojik bulgular (devamı)*

Organ	Histopatolojik Bulgu	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup	8.Grup	9.Grup	10.Grup	11.Grup	12.Grup
Beyin	Hiperemi	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	+(1/9)	+(1/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)
	Kanama	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)
	Nöron	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(1/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)
	Dejenerasyonu												
	Nöronofaji	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(1/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(9/9)	+(1/9)	+(7/9)	+(1/9)
Beyincik	Perivasküler MNH İnfiltrasyonu	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
	Hiperemi	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	+(1/9)	+(1/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)
	Kanama	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)
	Nöron	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	+(1/9)	+(1/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)
	Dejenerasyonu												
	Nöronofaji	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(9/9)	+(1/9)	+(7/9)	+(1/9)
	Perivasküler MNH İnfiltrasyonu	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++(9/9)	++(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)

MNH: Mononükleer hücre infiltrasyonu, Yok, +: Hafif, ++: Orta, +++: Şiddetli

Tablo 3.11 Gruplara göre testis TSK ap ölçüm değerleri*

Gruplar	Testis TSK ap lmleri (μM)
Grup 1	312,75 \pm 25,63 ^c
Grup 2	312,49 \pm 29,12 ^c
Grup3	268,08 \pm 19,78 ^a
Grup 4	285,95 \pm 32,06 ^{abc}
Grup 5	295,79 \pm 22,54 ^{abc}
Grup 6	309,85 \pm 28,25 ^{bc}
Grup 7	297,63 \pm 46,36 ^{abc}
Grup 8	268,24 \pm 23,55 ^a
Grup 9	273,76 \pm 25,71 ^a
Grup 10	279,90 \pm 21,96 ^{ab}
Grup 11	275,71 \pm 29,71 ^a
Grup 12	284,54 \pm 30,83 ^{abc}
p Değerleri	0,002

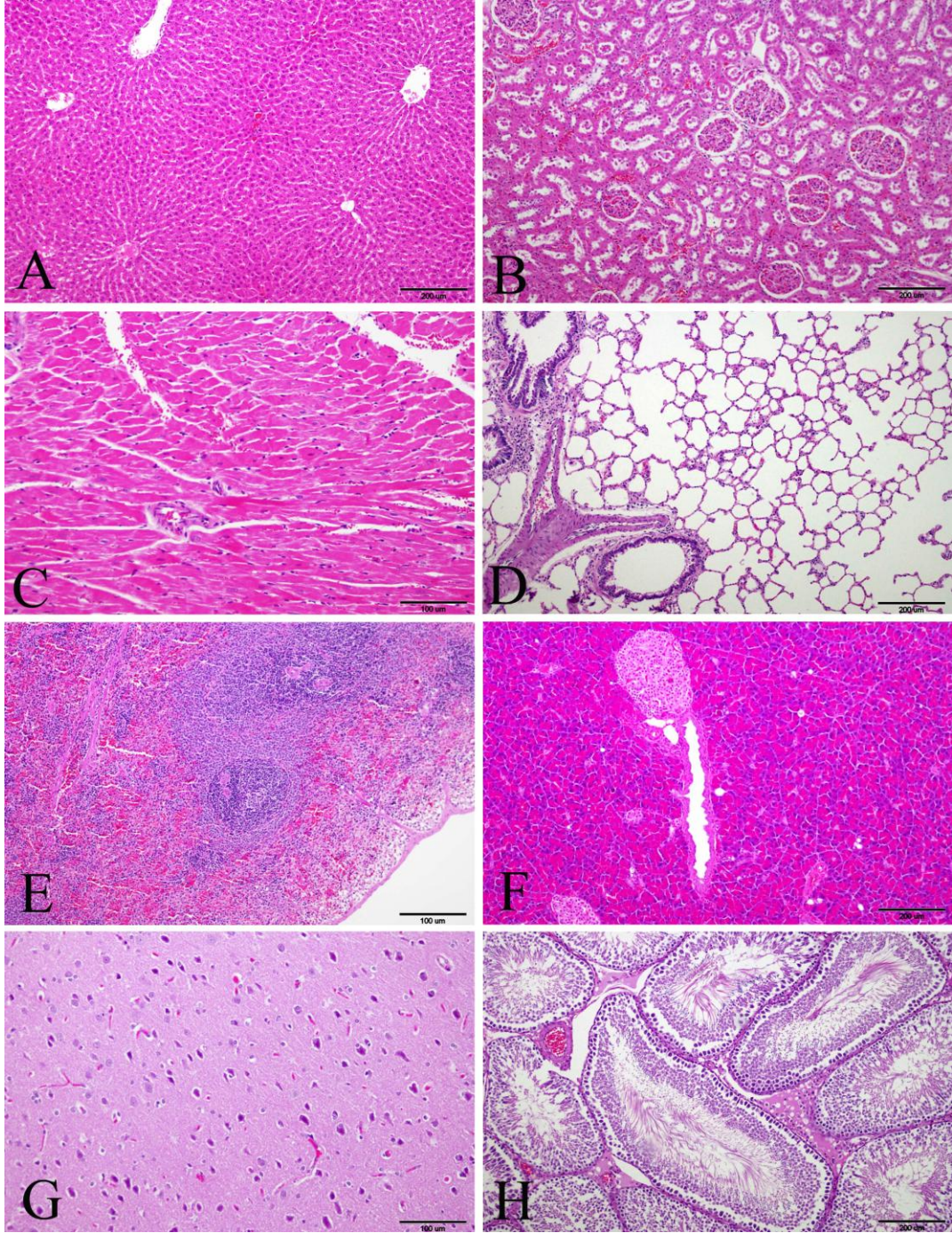
*: abc: aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önem arz eder ($p < 0,05$)

3.4.2.1 Grup 1-Negatif Kontrol Grubu

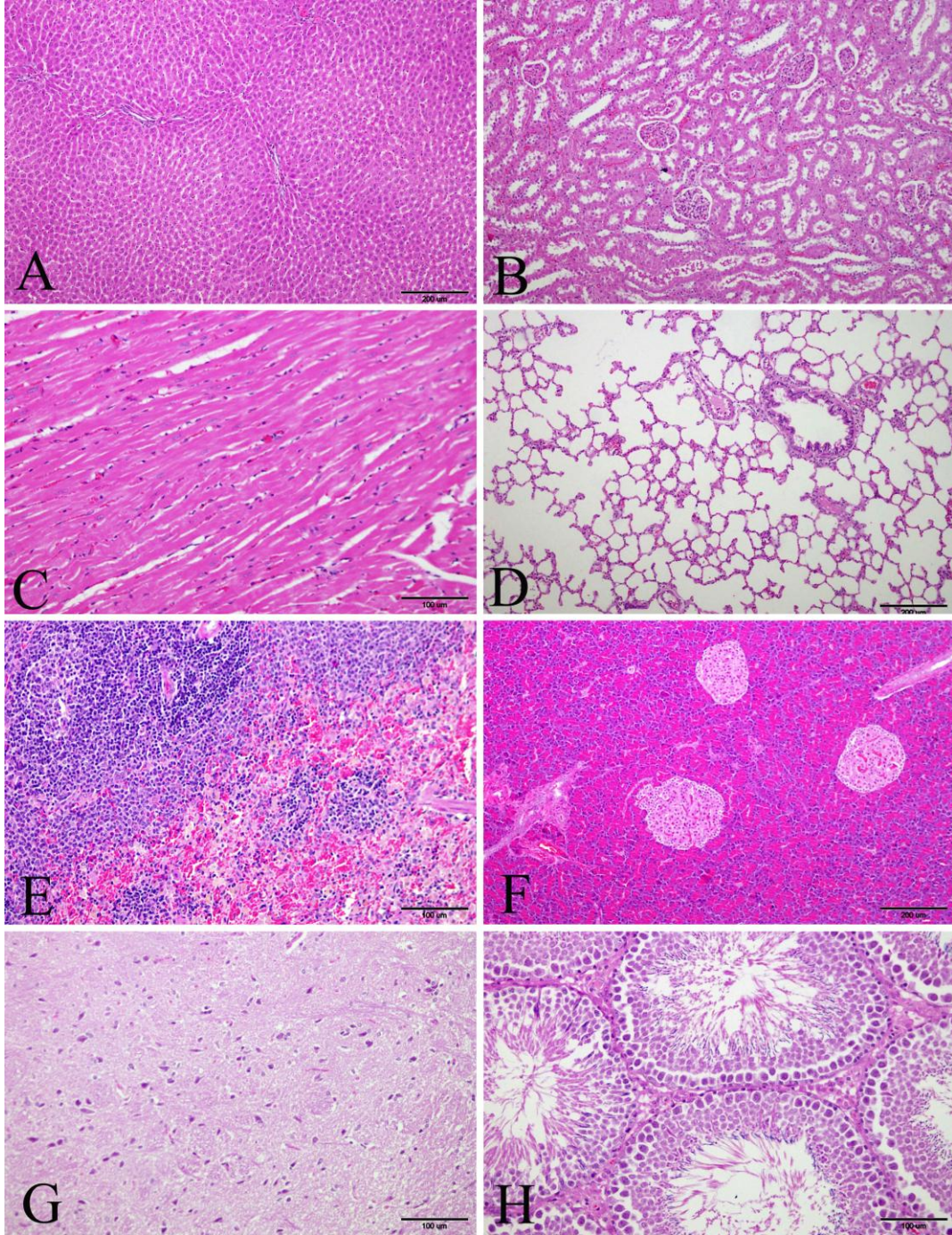
Bu grupta bulunan ratlarda karaciğer (Şekil 3.3 A), böbrek (Şekil 3.3 B), kalp (Şekil 3.3 C), akciğer (Şekil 3.3 D), dalak (Şekil 3.3 E), pankreas (Şekil 3.3 F), beyin (Şekil 3.3 G), beyincik, testis (Şekil 3.3 H), epididimis ve deri normal histolojik yapıda idi. Herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı.

3.4.2.2 Grup 2-Kontrol Grubu

Bu grupta bulunan ratlarda karaciğer (Şekil 3.4 A), böbrek (Şekil 3.4 B), kalp (Şekil 3.4 C), akciğer (Şekil 3.4 D), dalak (Şekil 3.4 E), pankreas (Şekil 3.4 F), beyin (Şekil 3.4 G), beyincik, testis (Şekil 3.4 H), epididimis ve deri normal histolojik yapıda idi. Herhangi bir bulguya rastlanmadı.



Şekil 3.3 Grup 1, A. Karaciğer, HE; B. Böbrek HE; C. Kalp, HE; D. Akciğer, HE; E. Dalak, HE; F. Pankreas, HE; G. Beyin, HE; H. Testis, HE.



Şekil 3.4 Grup 2, A. Karaciğer, HE; B. Böbrek, HE ; C. Kalp, HE; D. Akciğer, HE; E. Dalak HE; F. Pankreas, HE; G. Beyin, HE; H. Testis, HE.

3.4.2.3 Grup 3

Karaciğer şiddetli hiperemikti (Şekil 3.5 A). Sinuzoidler de genellikle hiperemik ve genişlemiştir. Damar endotel hücreleri zedelenmiş veya şişkin görünümde idi. Bazı damarlarda mikrovasküler tromboz, interstisyel alanlarda kanama ve periasiner alanlardaki hepatositlerde koagülasyon nekrozu vardı. Portal ve intersitisyel alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü (Şekil 3.5 B). Kupffer hücre aktivasyonu belirgindi (Şekil 3.5 C). Portal alanlarda bağ doku artışı ile birlikte safra kanalları sayısı da artmıştı. Kesitlerin, “Van Gieson” ile yapılan özel boyamalarında bağ doku alanlarının, pozitif reaksiyon veren kollajen bağ doku olduğu tespit edildi. Kollajen bağ doku artışının bazı olgularda karaciğer parankimine doğru yayılarak yer yer pseudolobülleri oluşturmaya başladığı dikkati çekti (Şekil 3.5 D). Bazı olgularda karaciğer parankim yapısı tamamen kaybolmuştu (disorganizasyon). Sentrilobüler alanlardaki hepatositlerde şişme ve vakuolizasyon gözlemlendi (Şekil 3.5 E). Hepatositler arasındaki mesafe genişlemiştir. Vakuolizasyonun şekillendiği hepatositlerde hücre çekirdeği eksantrikti ya da seçilemiyordu. Bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin “Oil Red O” ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği ve yağ damlacıkları olduğu görüldü. Periasiner alanlardan başlamak üzere hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, bazı hepatositlerin stoplazmalarında granüler, eozinofilik bir görünüm vardı (Şekil 3.5 F). Koagülasyon nekrozuna uğrayan hücrelerin çekirdekleri piknotik görünümde idi. Özellikle midzonal ve periportal alanlardaki hepatositlerde nükleer değişiklikler daha belirgindi. Bu değişikliklerin şekillendiği bazı hepatositlerde hücre çekirdeği yoğunlaşmış bir görünümde idi. Bazı hepatositlerde karyomegali görüldü. (Şekil 3.5 G).

Akciğerlerde bazı ratlarda, özellikle peribronşiyal ve peribronşiyoler alanlardaki lenfoid dokuda belirgin bir artış dikkati çekti (Şekil 3.5 H).

Böbrekte korteks ve medullada kapillar damarlar şiddetli hiperemikti. Damar endotel hücreleri zedelenmiş veya şişkin görünümde idi. Bazı damarlarda mikrovasküler tromboz, intertubuler alanlarda tek tük ya da yığınlar halinde

eritrositler vardı. Kanama kortiko-medüller bölgede daha yaygın ve şiddetli idi (Şekil 3.6 A). Glomeruluslar genellikle hiperemik ve dilatasyona uğramıştı (Şekil 3.6 B). Tubuluslarda dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gözlemlendi. Özellikle proksimal tubulus epitellerinde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler daha belirgindi. Bazı proksimal tubulusların epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon gözlemlendi. Bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin “Oil Red O” ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği görüldü. Bazı proksimal tubulus epitel hücrelerinde piknoz ile karakterize koagülasyon nekrozu gözlemlendi (Şekil 3.6 C). Kortekste daha yaygın ve şiddetli olmak üzere, perivasküler ve periglomerular alanlarda, eozinofil lökositlerin de yer aldığı hücre infiltrasyonları dikkati çekti (Şekil 3.6 D). Bazı proksimal tubuluslarda ise, piknoz ile karakterize koagülasyon nekrozu tüm mikroskop sahasında seçilebiliyordu (Şekil 3.6 E). Tubulusların çoğunun lumenleri, dökülmüş epitel hücreleri ile tıka basa dolu idi. Bazı tubulusların lumenlerinde hiyalin silindirlere de rastlandı. Korteks ve medullada mineralizasyona uğramış alanlar gözlemlendi. Bu kesitlerin, “Von Kossa” ile yapılan özel boyamalarında, mineralizasyon alanlarının, pozitif reaksiyon verdiği tespit edildi.

Kalpçe çoğu olgularda hiyalin dejenerasyonu ve bazı olgularda da Zenker nekrozuna ilişkin bulgular saptandı (Şekil 3.6 F). Kalp kasının bütünlüğü genellikle kaybolmuştu. Hiyalin dejenerasyonuna uğrayan kalp kası lifleri şişkin ve pembe-homojen renkte olup, enine çizgili yapısı da kaybolmuştu; sarkoplazma, eozin ile pembe homojen renge boyanmıştı. İntersitisyel ödem bazı olgularda belirgindi. Bazı olgularda mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı (Şekil 3.7 A). Damarlar genellikle hiperemik olup, bu olgularda kalp kası lifleri arasında yaygın kanama alanlarına rastlandı.

Dalakta olguların tamamında çok sayıda megakaryositlere (Şekil 3.7 B) ve parlak altın sarısı görünüm ile karakterize hemosiderin pigmenti ile yüklü makrofajlara rastlandı (Şekil 3.7 C). Bu kesitlerin, “Turnbull Blue” metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü.

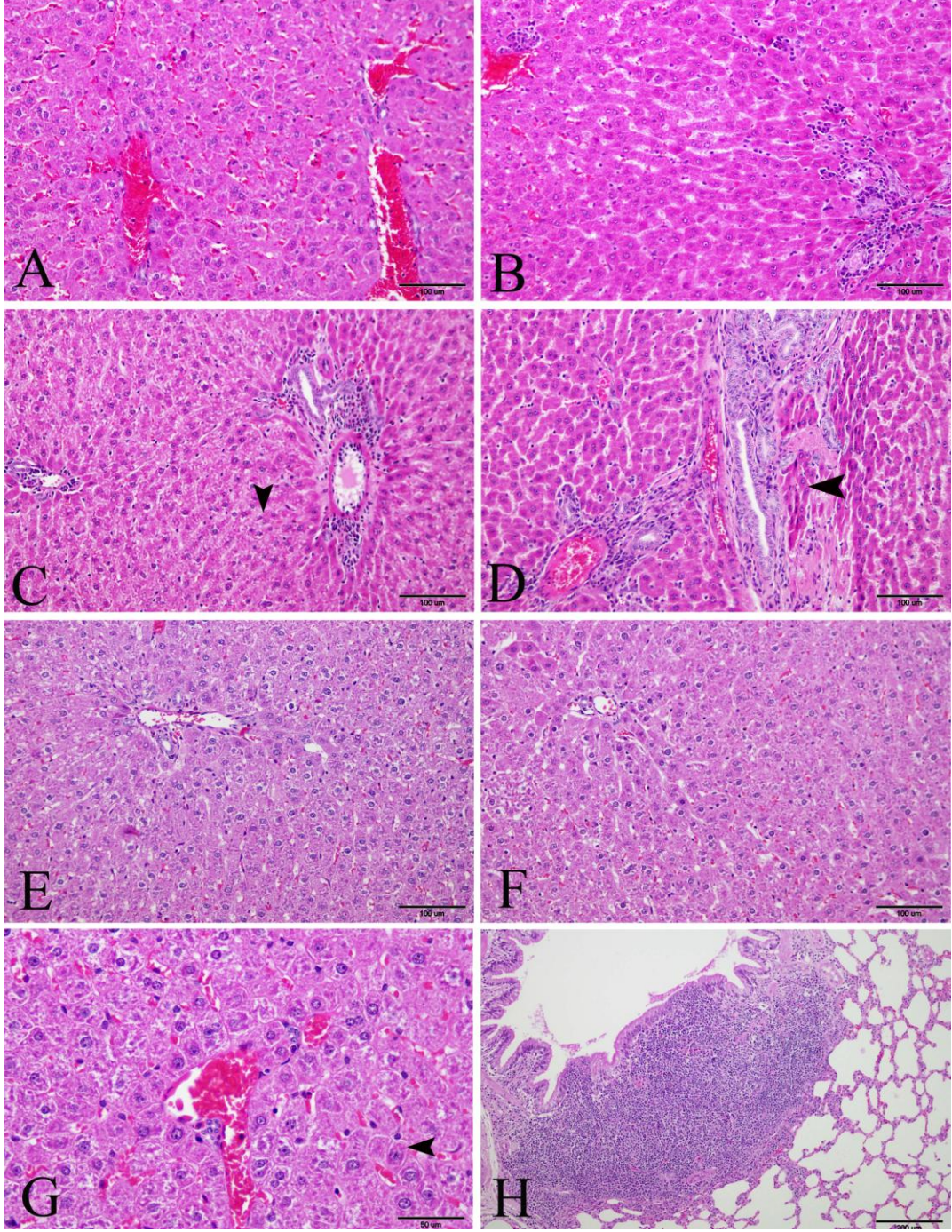
Pankreasta ekzokrin hücrelerde parankim dejenerasyonu ve vakuoler dejenerasyon ile karakterize dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Bazı ekzokrin epitel hücrelerinde piknoz ile karakterize koagülasyon nekrozu ve yaygın vakuolizasyon gözlemlendi (Şekil 3.7 D). Bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin “Oil Red O” ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği ve yağ damlacıkları olduğu görüldü. Bazı ekzokrin epitel hücrelerinde de mineralizasyona ilişkin değişiklikler vardı (Şekil 3.7 E). Bu kesitlerin, “Von Kossa” ile yapılan özel boyamalarında, mineralizasyon alanlarının, pozitif reaksiyon verdiği ve kalsiyum tuzları olduğu tespit edildi. İntersitisyel alanlardaki damarlar genellikle hiperemikti. Bazı alanlarda Langerhans adacıkları sayıca azalmış veya tamamen silinmişti.

Testislerde genellikle dejeneratif değişiklikler hakimdi. Spermatogeneziste azalmaya ilişkin morfolojik bulgular dikkati çekti. Tubulus seminiferus kontortuslarda (TSK) epitel hücrelerinde vakuolizasyonlar ile karakterize dejeneratif değişiklikler (Şekil 3.7 F) ve spermatogoniumlarda piknotik değişiklikler vardı (Şekil 3.8 A). Bu dejeneratif değişikliklerin şekillendiği bazı TSK’ların lumenleri, dökülmüş spermatogenetik hücrelerle dolu olup, sıkı, yoğunlaşmış bir görünüm almıştı. Bu alanlarda korpora amileseum benzeri yapılar da dikkati çekti (Şekil 3.8 B). Bazı TSK’larda spermatogenetik hücreler veziküler bir görünüm almıştı, spermatidler şekillenmemişti, lumenleri de tamamen boşalmıştı (Şekil 3.8 C). TSK’ların çaplarında azalma vardı (Tablo 3.11). Sertoli hücreleri genellikle belirgindi. Periferdeki TSK lumenlerinde bazı spermatozoonların çekirdekleri seçilebilirken, orta bölgelerindeki TSK’ların lumeninde spermatozoonların çekirdeklerinin tamamen kaybolduğu dikkati çekti. Bazı olgularda Tunika albuginea ve intertubuler alanlardaki bağ dokuda, pembe homojen görünümü ile hiyalinizasyon alanları dikkati çekti.

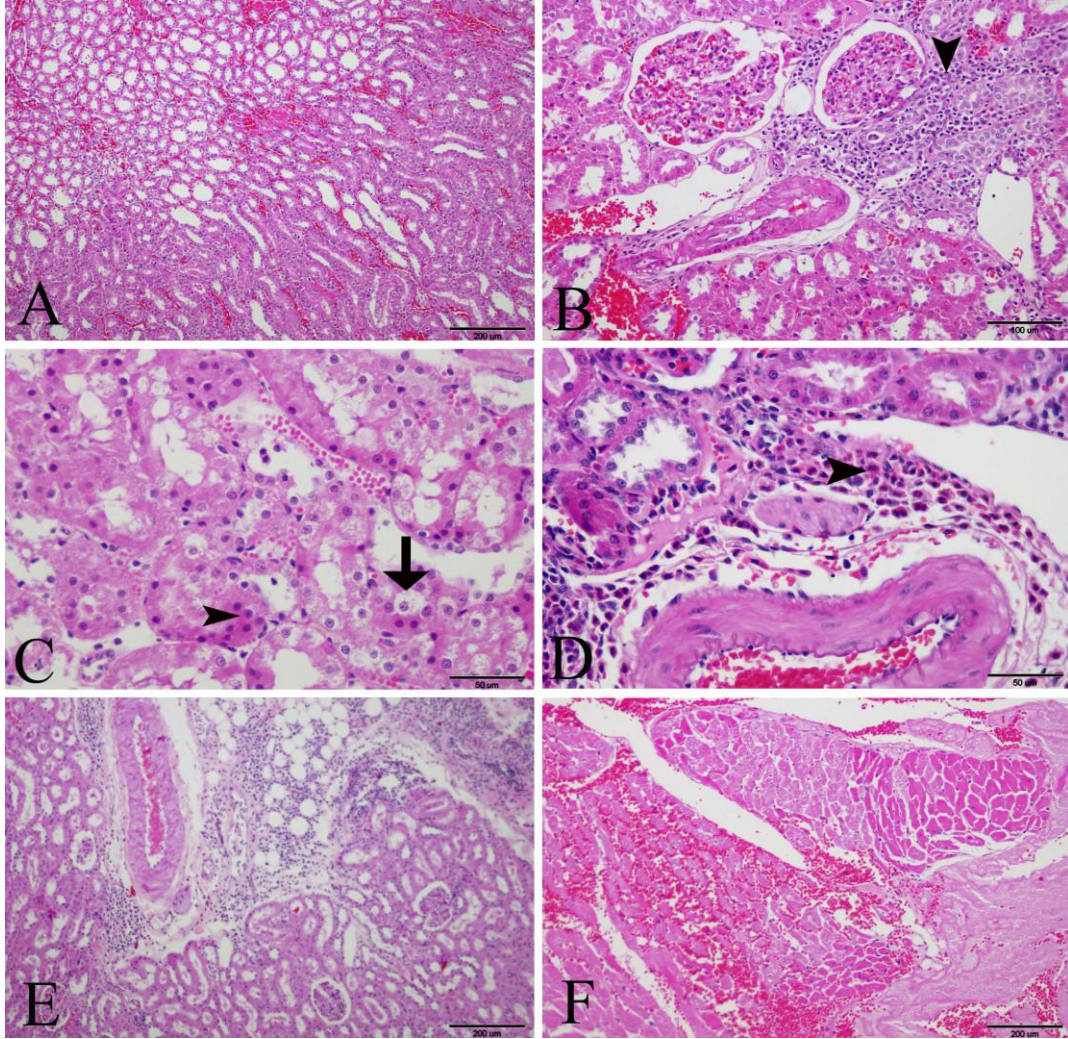
Kaput ve kauda epididimislerin kanal lumenlerinde, az sayıda spermatozoa ve dökülmüş epitel hücreleri vardı. Kanalların lümenleri genişlemiş ve genellikle boşalmış bir görünümde idi (Şekil 3.8 D).

Beyin ve beyincikte, kapillar damarlar hiperemik olup, kanama alanları gözlendi (Şekil 3.8 E). Perivasküler dilatasyon belirgindi. Nöron dejenerasyonu ile birlikte nöronofaji ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu dikkati çekti (Şekil 3.8 F).

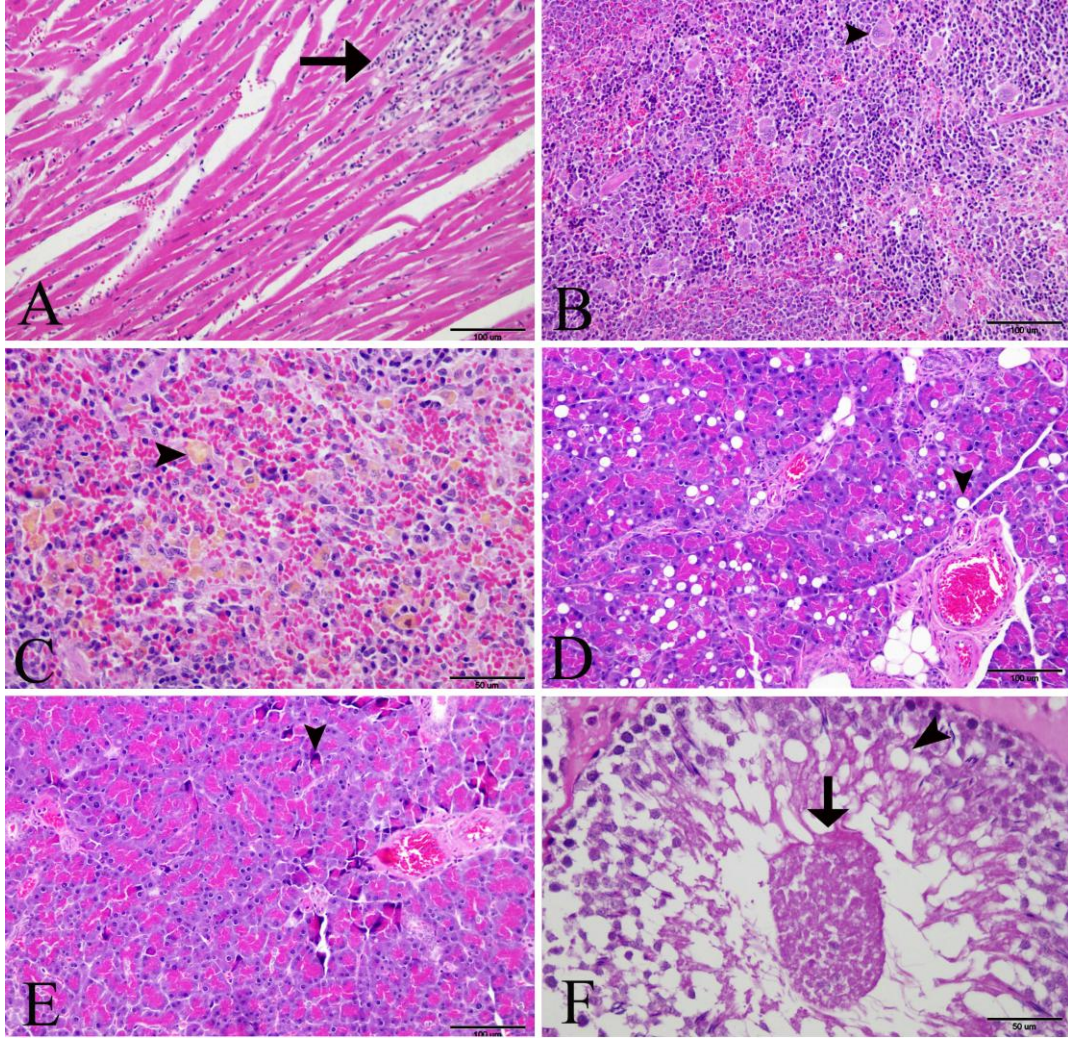
Deride fokal parakeratotik hiperkeratozis, hipergranülozis ve spongiozis ile karakterize dermatozise ilişkin değişiklikler vardı (Şekil 3.9 A,B). Bazı alanlarda; düzgün olmayan ya da granüler, belli bölgelerde rete ridge formasyonlu veya rete papilla yapısını koruyan konfigürasyonlu epidermis hiperplazisi alanları da görüldü. Dermisde folliküler atrofi ile birlikte, artmış eozinofilik camsı, refraktil kitle şeklinde görülen yaygın kollajen hyalinizasyon alanları dikkati çekti (Şekil 3.9 C). Yağ bezleri hiperplastik bir görünümde idi (Şekil 3.9 D,E). Ter bezlerinde, yassılaştırmış epitel hücreleri ile döşenmiş ve geniş tubuluslar ile karakterize atrofik değişiklikler vardı (Şekil 3.9 F).



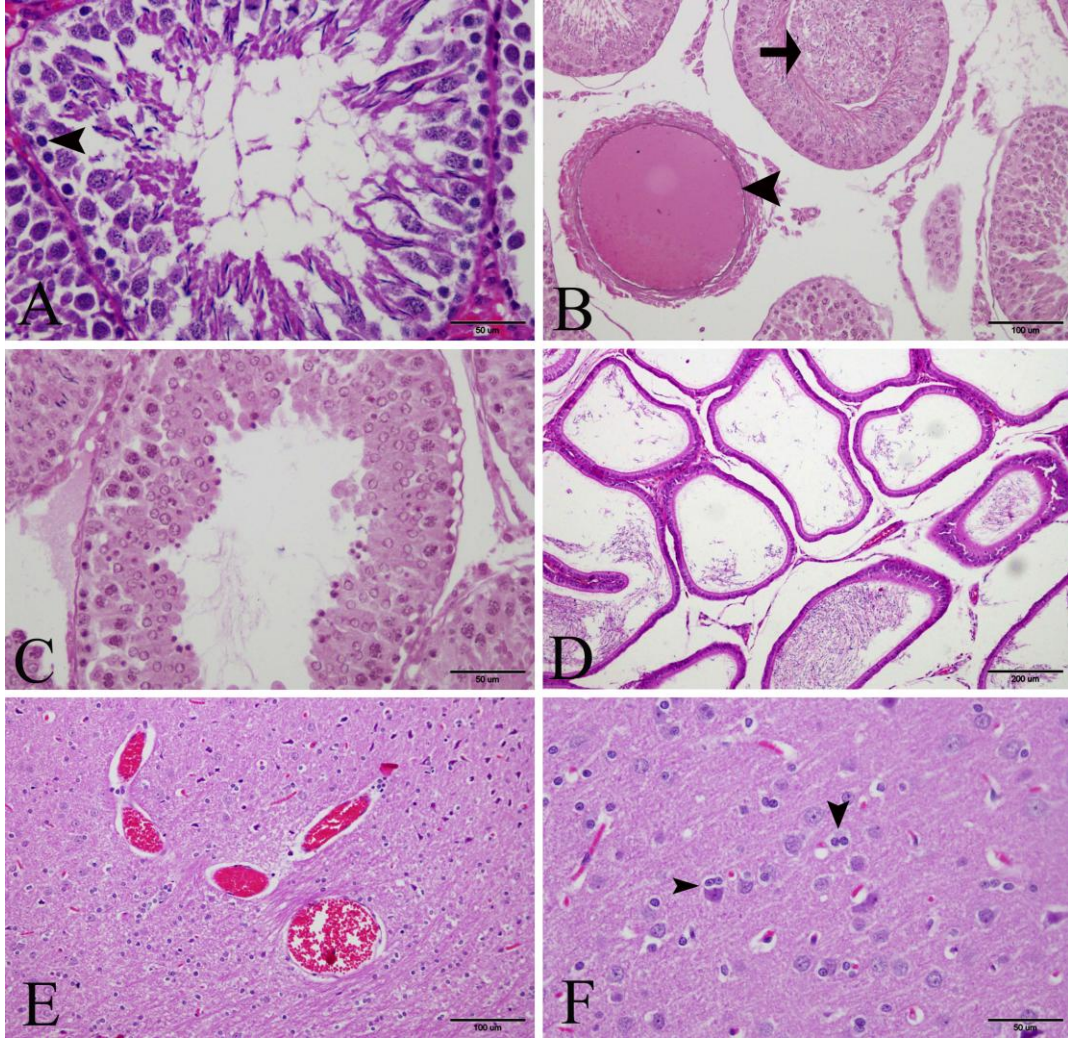
Şekil 3.5 Grup 3, A. **Karaciğerde** şiddetli hiperemi, HE; B. Portal alanlarda ve intersitisyumda mononükleer hücre infiltrasyonları, HE; C. Kupffer hücre aktivasyonu (ok başı), HE; D. Bağ doku artışı ve psödolobül oluşumu (ok başı), HE; E. Hepatositlerde şişme ve vakuolizasyon, HE; F. Hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu, HE; G. Hepatositlerde nükleer değişiklikler ve karyomegali (ok başı), HE; H. **Akciğerde** peribronşiyoler lenfoid dokuda artış, HE.



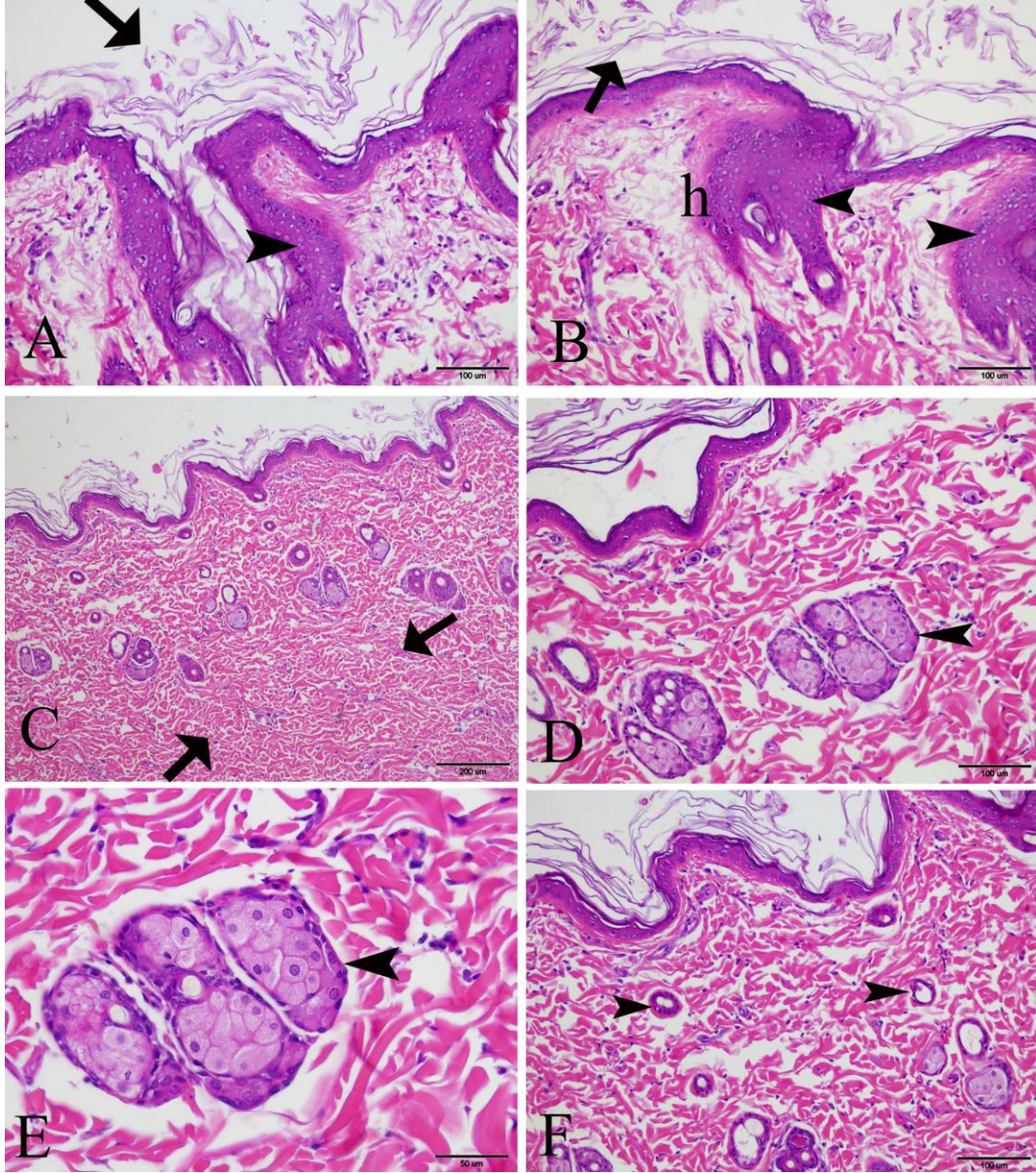
Şekil 3.6 Grup 3, A. **Böbrekte** kortikomedüller bölgede şiddetli hiperemi ve kanama, HE; B.Glomeruluslarda hiperemi ve periglomerular mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başı), HE; C.Proksimal tubulus epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon (ok) ve piknoz (ok başı) ile karakterize koagülasyon nekrozu, HE; D.Perivasküler alanda eozinofil lökositlerin (ok başı) de yer aldığı hücre infiltrasyonları, HE; E.Tubulus epitel hücrelerinde piknoz ile karakterize yaygın koagülasyon nekrozu, HE; F.**Kalp kasında** hyalin dejenerasyonu ve şiddetli kanama, HE.



Şekil 3.7 Grup 3, A. **Kalp kasında** fokal mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize yangısal reaksiyon (ok), HE; B.**Dalakta** çok sayıda megakaryoistler (ok başı), HE; C.Hemosiderin ile yüklü makrofajlar (ok başı), HE; D.**Pankreasta** ekzokrin epitel hücrelerinde piknoz ile karakterize koagüasyon nekrozu ve vakuolizasyonlar (ok başı), HE; E.Ekzokrin epitel hücrelerinde mineralizasyon (ok başı), HE; F. **Testiste** TSK'da vakuolizasyon (ok başı), dejeneratif değişiklikler ve lumende dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış kitle (ok), HE.



Şekil 3.8 Grup 3, A. **Testiste** TSK'da spermatogonyumlarda piknoz (ok başı), HE; B.TSK'larda lumende, dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış kitle (ok) ve korpora amileseum benzeri yapı (ok başı), HE; C.TSK'da spermatogenetik hücrelerde veziküler görünüm, spermatidler şekillenmemiş ve lumen boşalmış bir görünümde, HE; D.**Epididimis** kanal lumenlerinde genişleme ve çoğunda boşalma, HE; E. **Beyin de** şiddetli hiperemi, HE; F.Dejenere nöronlar ve nöronofaji (ok başları), HE.



Şekil 3.9 Grup 3, A,B. **Deride**, epidermisde parakeratotik hiperkeratozis (oklar), hipergranulozis (h) ve spongiozis (ok başları), HE; C. dermisde yaygın kollajen hyalinizasyon (oklar), HE; D.dermisde yağ bezlerinde hiperplastik (ok başı) görünüm, HE; E dermisde yağ bezlerinde hiperplastik görünüm (ok başı), HE; F dermisde ter bezlerinde atrofik değişiklikler (ok başları), HE.

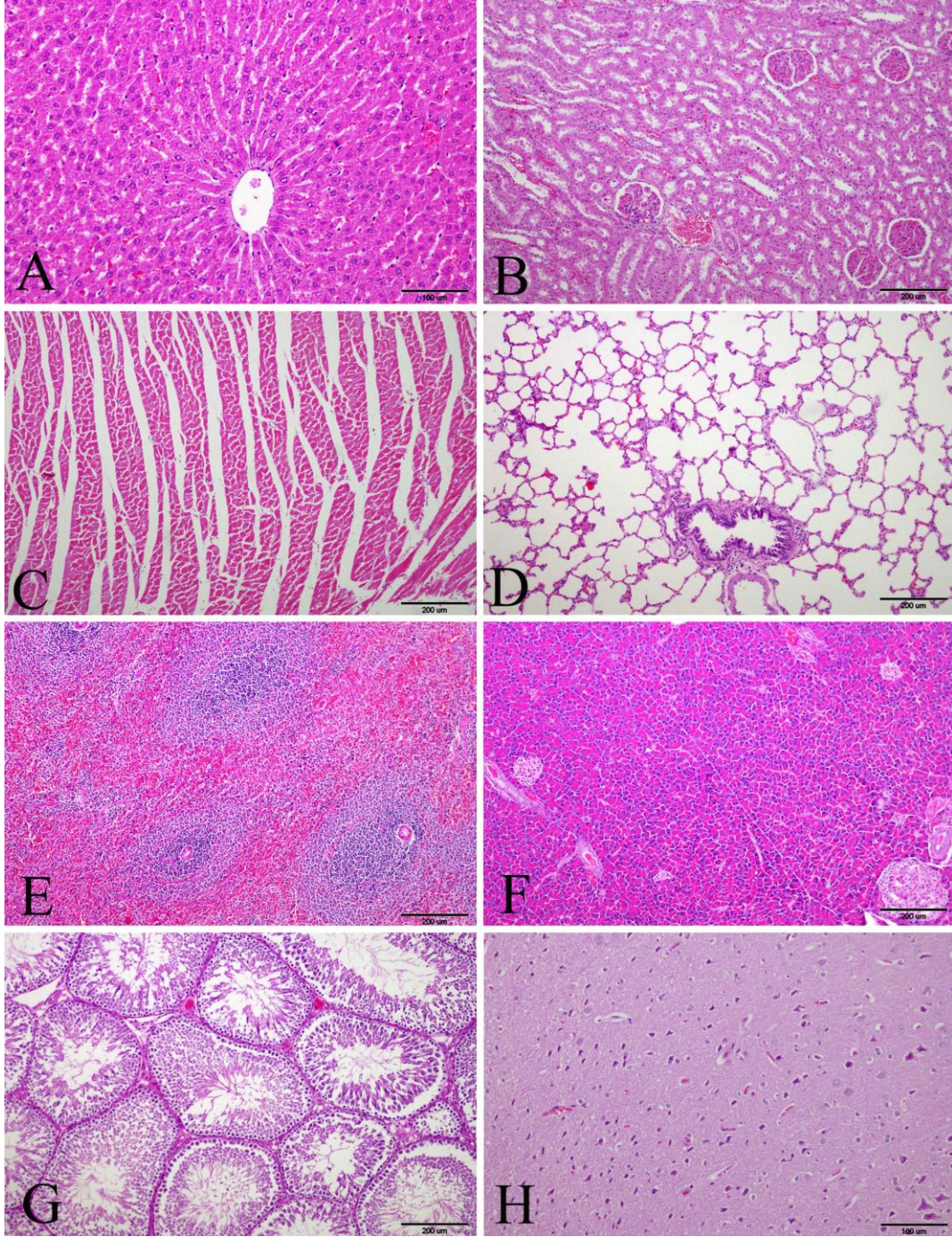
3.4.2.4 Grup 4

Karaciğerlerin genellikle normal histolojik yapıda olduğu görüldü (Şekil 3.10 A). Bu normal yapıların yanı sıra gruptaki ratların ikisinde periportal alanlarda tek tük olarak bazı hepatositlerde parankim dejenerasyonu ve vakuolizasyon gözlemlendi. Bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin “Oil Red O” ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği ve yağ damlacıkları olduğu görüldü

Böbrekler genellikle normal histolojik yapıda idi (Şekil 3.10 B). Bu normal yapıların yanı sıra gruptaki ratların ikisinde korteks ve medullada mineralizasyona uğramış alanlar vardı. Bu kesitlerin, “Von Kossa” ile yapılan özel boyamalarında, mineralizasyon alanlarının, pozitif reaksiyon verdiği ve kalsiyum tuzları olduğu tespit edildi.

Kalbin normal histolojik yapıda olduğu görüldü (Şekil 3.10 C). Bunun yanı sıra bir hayvanda, myokarda kas lifleri arasından endokarda doğru uzanan kanama alanı dikkati çekti.

Akciğer (Şekil 3.10 D), dalak (Şekil 3.10 E), pankreas (Şekil 3.10 F), testis (Şekil 3.10 G), ve epididimis ile beyin (Şekil 3.10 H), beyincik ve deri normal histolojik yapıda idi. Bu normal yapıların yanı sıra bazı ratların dalağında megakaryosit ve hemosiderin birikimi vardı. Bu kesitlerin, “Turnbull Blue” metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü. Ratların birinde beyinde ve beyincikte bazı kapıllar damarlarda hiperemi ve birkaç nöronda hafif şiddette dejenerasyon vardı.



Şekil 3.10 Grup 4, A. Karaciğer, HE; B. Böbrek, HE; C. Kalp kası, HE; D. Akciğer, HE; E. Dalak, HE; F. Pankreas, HE; G. Testis, HE; H. Beyin, HE.

3.4.2.5 Grup 5

Karaciğer dokularının tamamı normal histolojik yapı gösteriyordu (Şekil 3.11 A). Bu normal yapıların yanı sıra gruptaki ratların ikisinde sentrilobüler ve portal alanlarda bazı hepatositlerde parankim dejenerasyonu gözlemlendi.

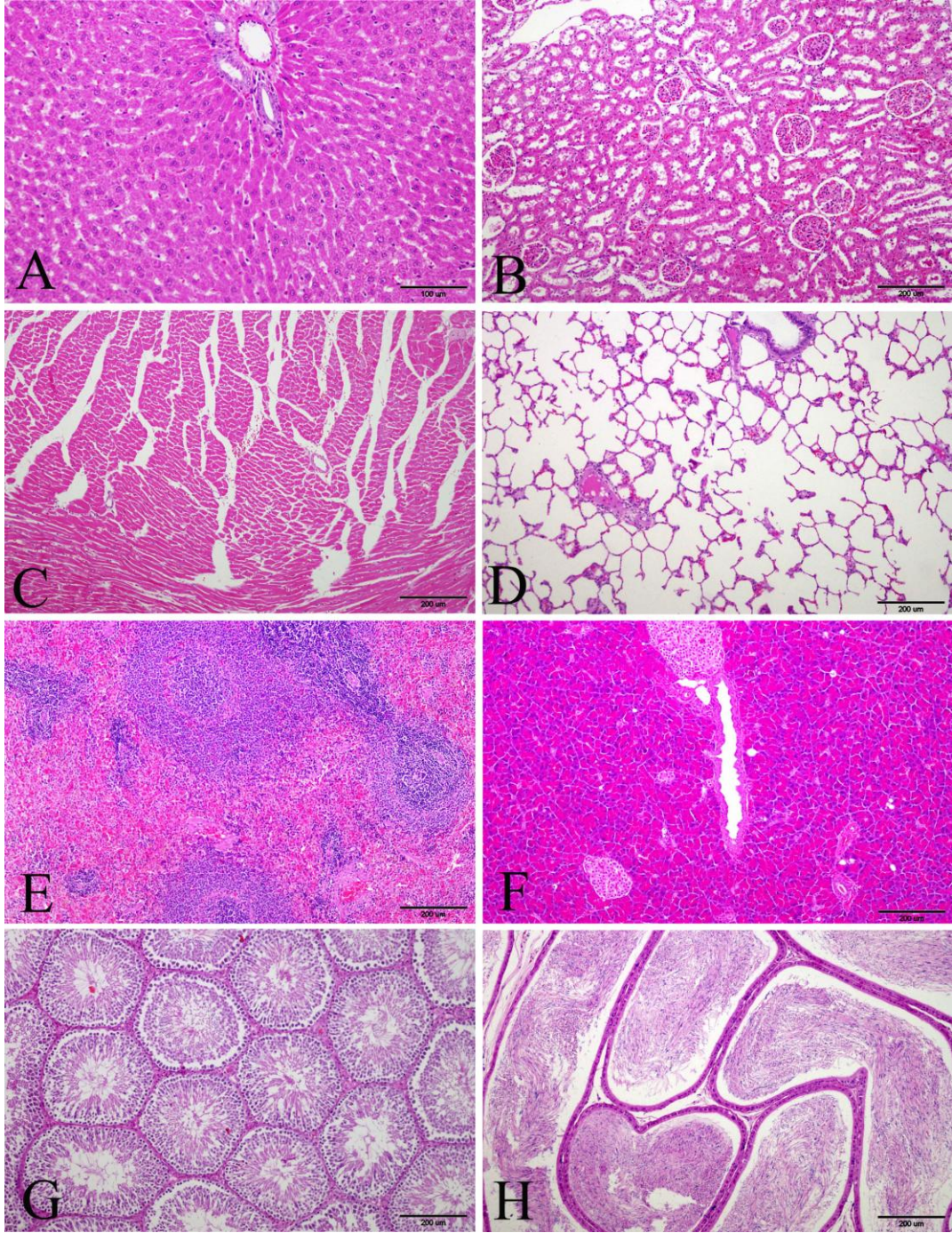
Böbrekler genellikle normal histolojik yapıda idi (Şekil 3.11 B). Bu normal yapıların yanı sıra gruptaki ratların birinde medullada mineralizasyona uğramış bir alan dikkati çekti. Bu olguya ait böbrek kesitlerinin, “Von Kossa” ile yapılan özel boyamalarında, mineralizasyon alanlarının, pozitif reaksiyon verdiği ve kalsiyum tuzları olduğu tespit edildi.

Bu grupta yer alan hayvanların kalp dokuları normal histolojik yapıda idi (Şekil 3.11 C).

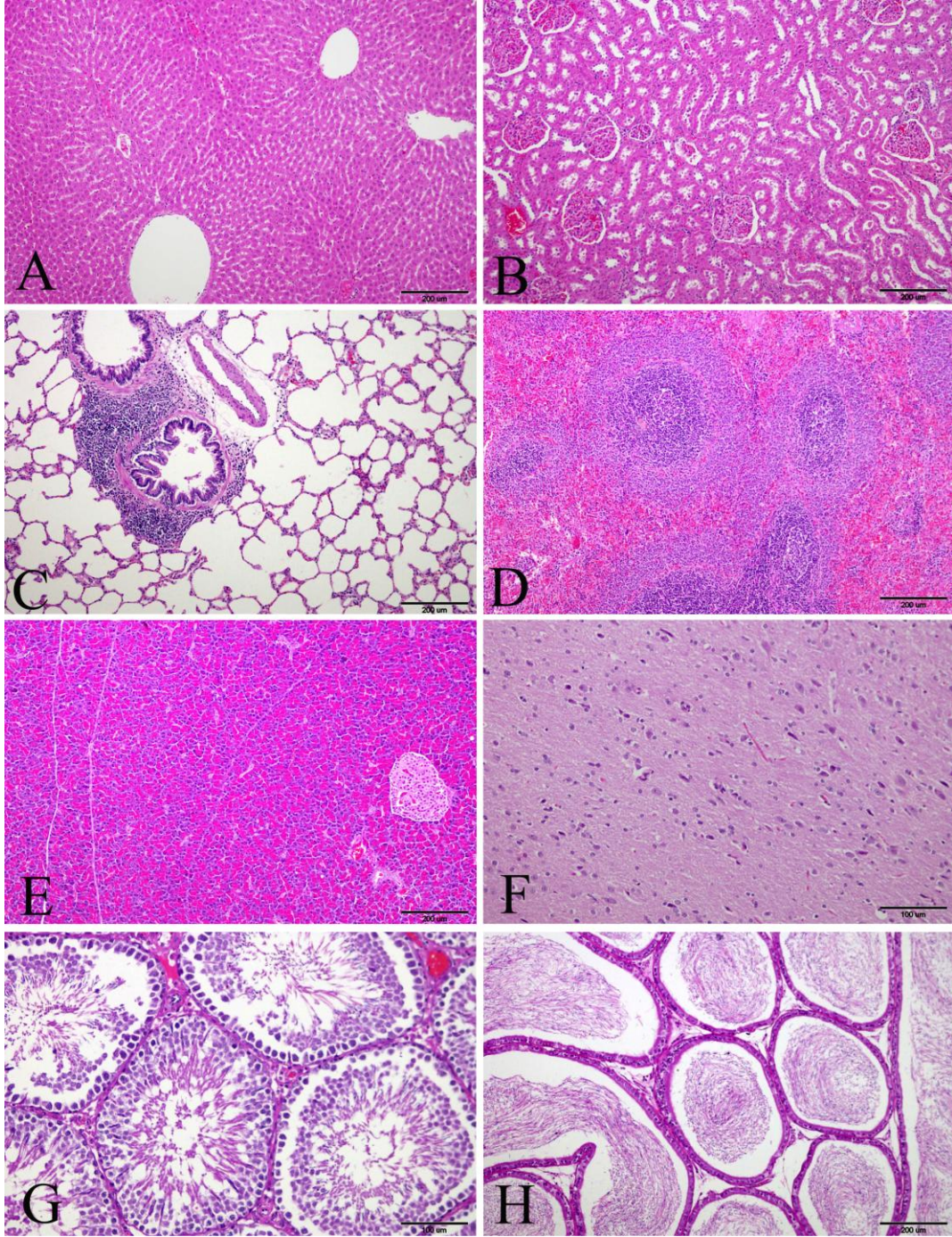
Akciğer (Şekil 3.11 D), dalak (Şekil 3.11 E), pankreas (Şekil 3.11 F), testis (Şekil 3.11 G) ve epididimis (Şekil 3.11 H) ile beyin, beyincik ve deri normal histolojik görünümde idi. Bu normal yapıların yanı sıra bir hayvanda beyin ve beyincikte bazı kapillar damarlarda hiperemi ve birkaç nöronda hafif şiddette dejenerasyon görüldü. Bazı ratların dalağında megakaryosit ve hemosiderin birikimi vardı. Kesitlerin, “Turnbull Blue” metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü.

3.4.2.6 Grup 6

Bu gruptaki ratların karaciğer (Şekil 3.12 A), böbrek (Şekil 3.12 B), akciğer (Şekil 3.12 C), dalak (Şekil 3.12 D), pankreas (Şekil 3.12 E), beyin (Şekil 3.12 F), testis (Şekil 3.12 G), epididimis (Şekil 3.12 H), beyincik ve derileri normal histolojik yapı ve görünümde idi. Histopatolojik olarak herhangi bir bulguya rastlanmadı.



Şekil 3.11 Grup 5, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek HE; C.Kalp HE; D. Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F. Pankreas, HE; G. Testis, HE; H. Epididimis, HE.



Şekil 3.12 Grup 6, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Akciğer, HE; D.Dalak, HE; E.Pankreas, HE; F.Beyin , HE; G.Testis, HE; H.Epididimis, HE.

3.4.2.7 Grup 7

Olguların hemen hemen tamamında karaciğer normal histolojik yapıda ve görünümde idi (Şekil 3.13 A). Bu normal yapıların yanı sıra ratların birinde portal alanlarda, tek tük olarak bazı hepatositlerde parankim dejenerasyonu gözlemlendi.

Böbrek (Şekil 3.13 B), kalp (Şekil 3.13 C), akciğer (Şekil 3.13 D), dalak (Şekil 3.13 E), pankreas (Şekil 3.13 F), beyin (Şekil 3.13 G), testis (Şekil 3.13 H), epididimis, beyin, beyincik ve deri genellikle normal histolojik yapıda idi. Bu normal yapıların yanı sıra, iki ratın dalağında megakaryosit ve hemosiderin pigment birikimi görüldü. Bu kesitlerin, "Turnbull Blue" metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü.

3.4.2.8 Grup 8

Karaciğerde genellikle şiddetli hiperemikti (Şekil 3.14 A). Sinuzoidler de genellikle hiperemik ve genişlemişti. Damar endotel hücreleri zedelenmiş veya şişkin görünümde idi. Bazı damarlarda mikrovasküler tromboz, interstisyel alanlarda kanama ve periasiner koagülasyon nekrozu vardı. Karaciğerde yaygın koagülasyon nekroz alanları ve bu alanlara yakın damarlar çevresinde perivasküler hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 3.14 B). Sinuzoidlerde Kupffer hücre aktivasyonu vardı. Portal alanlarda bağ doku artışı ile birlikte safra kanalları sayısında artış gözlemlendi. Kesitlerin, "Van Gieson" ile yapılan özel boyamalarında bağ doku alanlarının, pozitif reaksiyon veren kollajen bağ doku olduğu tespit edildi. Bu alanlarda psöydolobüller de şekillenmişti (Şekil 3.14 C). Sentrilobüller ve portal alanlardaki hepatositlerde yaygın koagülasyon nekrozu (Şekil 3.14 D) ve parankim dejenerasyonu (Şekil 3.14 E) gözlemlendi. Hepatositlerdeki şişkin görünüm ve vakuolizasyon belirgindi. Bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin "Oil Red O" ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği görüldü. Bazı olgularda şiddetli hiperemi ile birlikte mikrovasküler tromboz gözlemlendi; bu damarlar

çevresindeki hepatositlerde şiddetli dejenerasyon ve nekroz vardı (Şekil 3.14 F). Bazı hepatositlerin stoplazmalarında granüler, eozinofilik bir görünüm dikkati çekti. Özellikle midzonal ve periportal alanlardaki hepatositlerde nüklear değişiklikler daha belirgindi. Bu değişikliklerin şekillendiği bazı hepatositlerde hücre çekirdeği yoğunlaşmış ve çift çekirdekli idi. Bazı hepatositlerde hepatomegali saptandı (Şekil 3.14 G). Periportal ve interstisyel alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonları vardı (Şekil 3.14 H).

Böbrekte korteks ve medullada kapillar damarlar şiddetli hiperemik olup, intertubuler alanlarda kanama gözlendi (Şekil 3.15 A). Bazı damarlarda mikrovasküler tromboz, intertubuler alanlarda tek tük ya da yığınlar halinde eritrositler vardı. Kanama kortiko-medüller bölgede daha yaygın ve şiddetli idi. Glomeruluslar hiperemik ve dilatasyona uğramıştı. Tubuluslarda dejeneratif ve nekrotik değişiklikler hakimdi. Özellikle proksimal tubulus epitellerinde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler belirgindi (Şekil 3.15 B). Bazı proksimal tubulusların epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, bazı proksimal tubulus epitellerinde de koagülasyon nekrozu gözlendi. Bu epitel hücrelerinde stoplazma eozin ile koyu pembeye boyanmış, hücre sınırları henüz seçilebiliyordu. Hücre çekirdekleri genellikle piknotik, bazılarında ise tamamen silinmişti. Tubulusların çoğunun lumeni, dökülmüş epitel hücreleri ile dolu idi. Perivasküler, periglomerular ve intertubuler alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonları dikkati çekti. Korteks ve medullada mineralizasyona uğramış alanlar vardı. Bu kesitlerin, “Von Kossa” ile yapılan özel boyamalarında, mineralizasyon alanlarının, pozitif reaksiyon verdiği ve kalsiyum tuzları olduğu tespit edildi.

Kalpte olguların tamamında hiyalin dejenerasyonu hakimdi. Bazı olgularda şiddetli Zenker nekrozu gözlendi (Şekil 3.15 C). Hyalin dejenerasyonuna uğrayan kalp kası lifleri şişkin ve pembe-homojen renkte olup, sitriasyonu kaybolmuştu. Sarkoplazma eozin ile pembe homojen renge boyanmıştı. Hyalin dejenerasyonunun şekillendiği bazı alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonları da dikkati çekti (Şekil 3.15 D). Bazı olgularda myokarda şiddetli kanama vardı (Şekil 3.15 E).

Damarlar genellikle şiddetli hiperemik olup, bu olgularda kalp kası lifleri arasında kanama alanlarına rastlandı.

Akciğerlerde hemen hemen tüm olgularda, peribronşiyal alanlarda şiddetli lenfoid hiperplazi dikkati çekti (Şekil 3.15 F).

Dalakta genellikle çok sayıda megakaryositlere (Şekil 3.15 G). ve hemosiderin pigmenti ile yüklü makrofajlara rastlandı (Şekil 3.15 H). Bu kesitlerin, “Turnbull Blue” metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü.

Pankreasta ekzokrin hücrelerde parankim dejenerasyonu ve vakuolizasyon gözlemlendi (Şekil 3.16 A). Bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin “Oil Red O” ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği ve yağ damlacıkları olduğu görüldü. Bazı ekzokrin epitel hücrelerinin çekirdekleri piknotikti (Şekil 3.16 B). Bazı ekzokrin epitel hücrelerinde yaygın mineralizasyon gözlemlendi (Şekil 3.16 C). Bu kesitlerin, “Von Kossa” ile yapılan özel boyamalarında, mineralizasyon alanlarının, pozitif reaksiyon verdiği ve kalsiyum tuzları olduğu tespit edildi. İnterstisyel alanlardaki damarlar genellikle hiperemikti. Langerhans adacıkları da hiperemik görünümde idi. Bazı Langerhans adacıkları sayıca tamamen azalmış veya tamamen silinmişti.

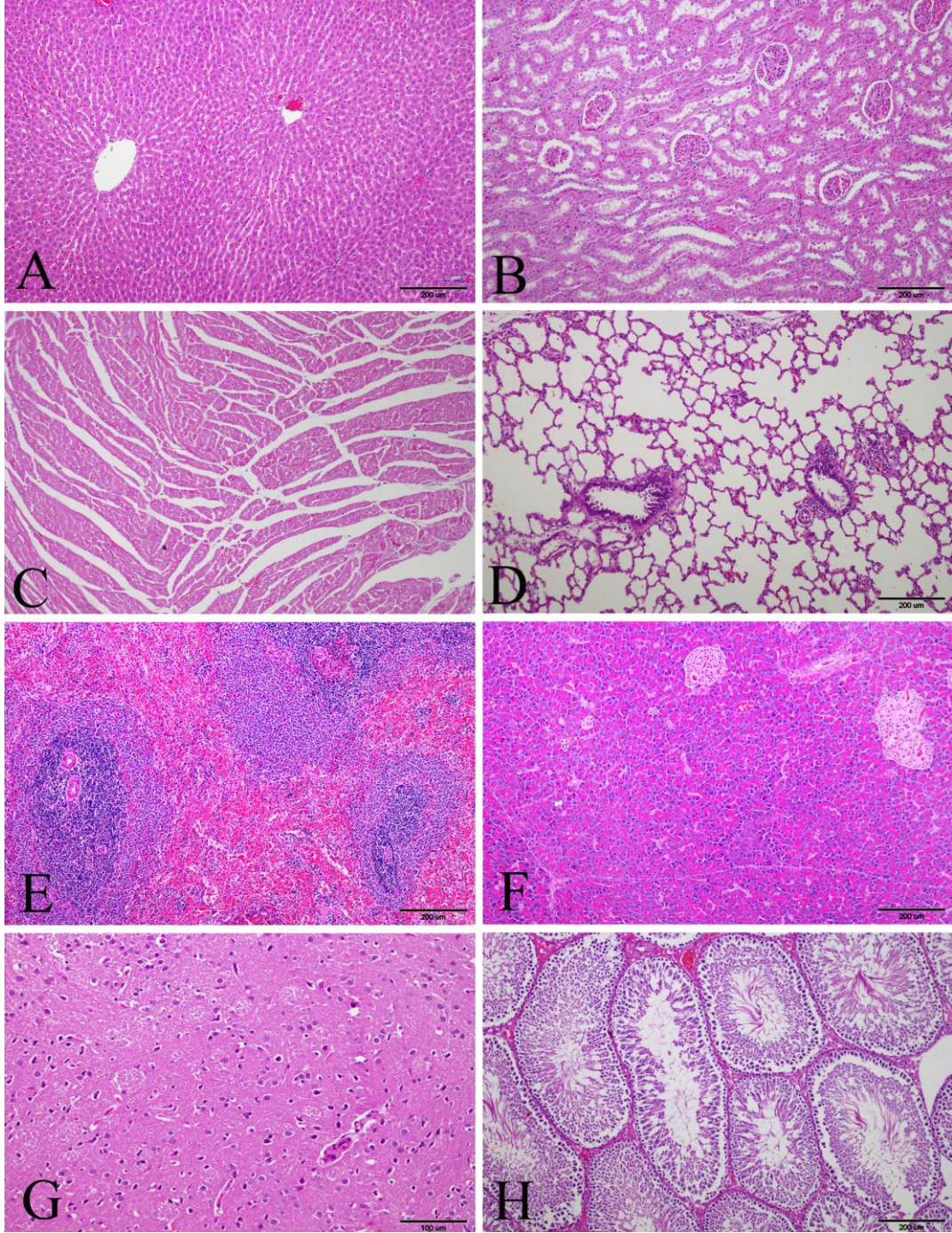
Testislerde genellikle dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gözlemlendi. Tubulus seminiferus kontortuslarda (TSK) şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler vardı (Şekil 3.16 D). Spermatogonyumlar genellikle piknotik veya veziküler bir görünüm almış ve lumeni tıka basa doldurmuştu. TSK’larda spermatogenetik hücre tabakaları kaybolmuştu, spermatozoonlar da yoktu. Bazı TSK’ların lumeni genellikle boşalmıştı (Şekil 3.16 E). Sertoli hücreleri genellikle belirgindi. Bazı TSK’ların sertoli ve germinatif hücrelerinde nekrozla birlikte lumenlerinde nekrotik hücre döküntüleri vardı. Periferdeki TSK lumenlerinde bazı spermatozoonların çekirdekleri seçilebilirken orta bölgelerindeki TSK’ların lumeninde spermatozoonların

çekirdeklerinin tamamen kaybolduğu dikkati çekti. Bazı olgularda tunika albuginea ve intertubuler alanlardaki bağ dokuda, pembe homojen görünümü ile hiyalinizasyon dikkati çekti.

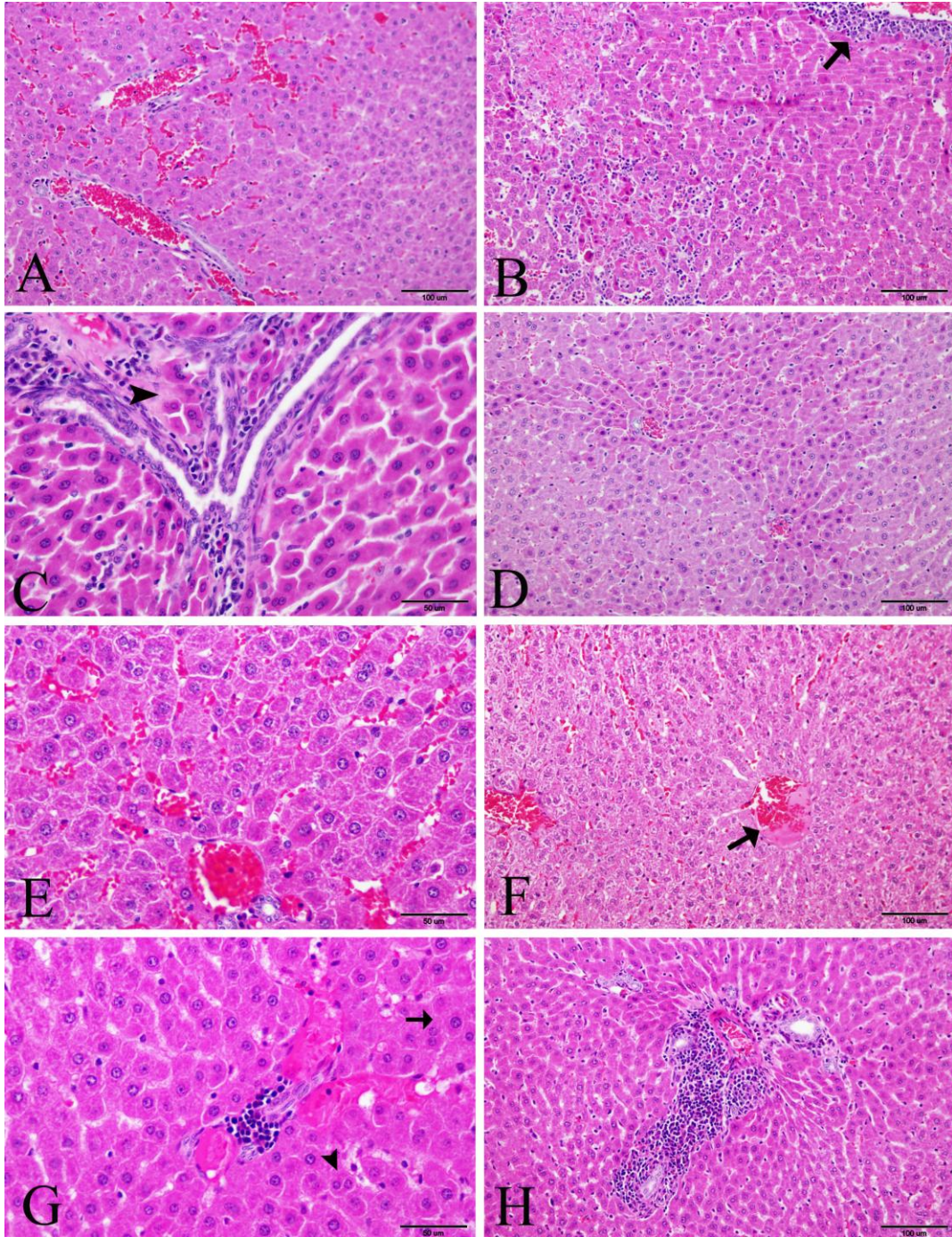
Kaput ve kauda epididimislerin kanal lumenlerinde genellikle az sayıda spermatozoa ve dökülmüş epitel hücreleri vardı. Kanalların çoğunda lumen hemen hemen boşalmış ve genişlemişti.

Beyin ve beyincikte, olguların tamamında kortekste kapillar damarlar hiperemikti. Kortekste perivasküler dilatasyonla birlikte perivasküler kanamalar ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Parankimde, bazı nöronlarda perinöral dilatasyon ve dejeneratif değişiklikler vardı. Nöron dejenerasyonunun olduğu bölgelerde perinöral mikroglia reaksiyonu ve yer yer nöronofaji gözlemlendi (Şekil 3.16 F).

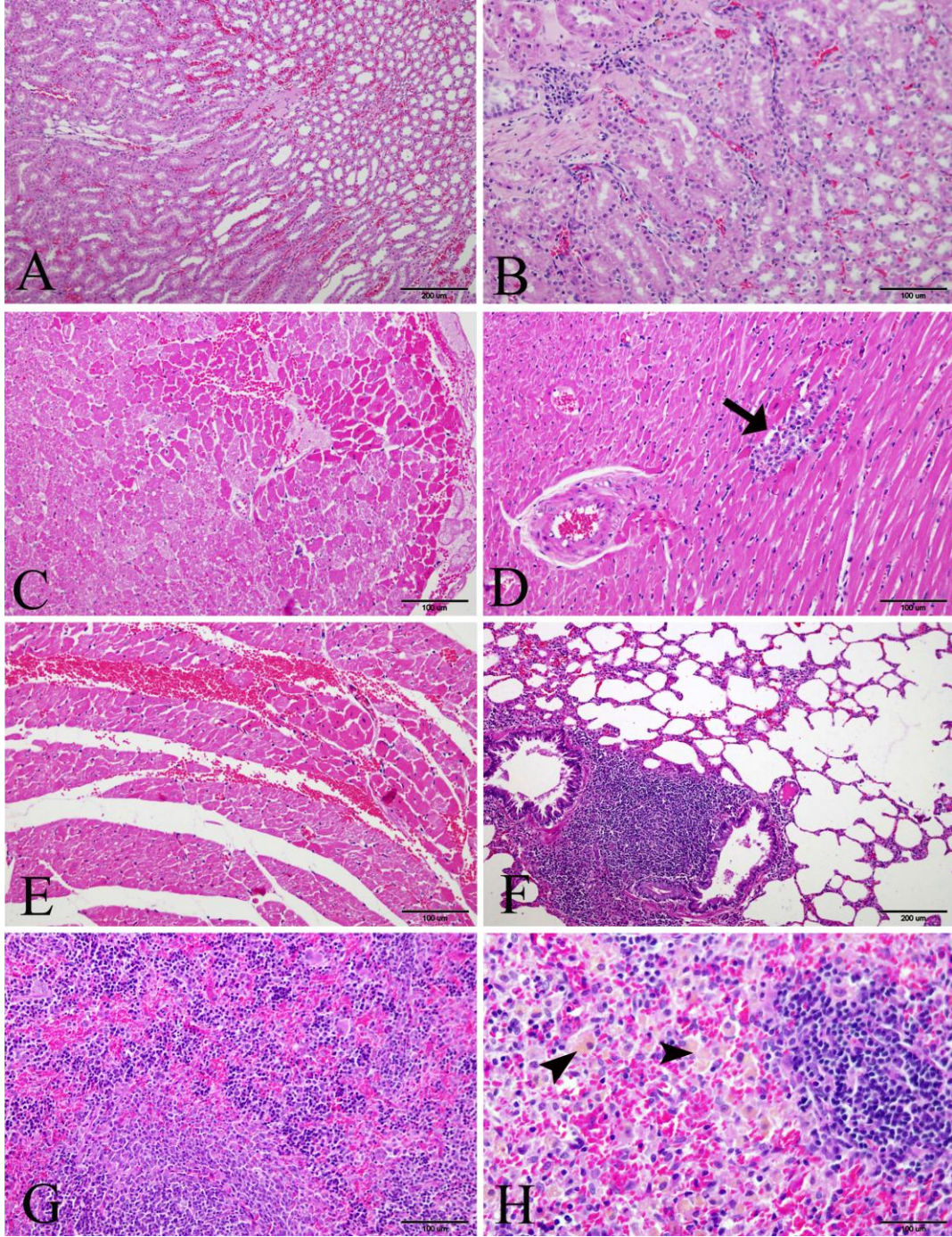
Deride fokal parakeratotik hiperkeratozis, hipergranülozis ve spongiozis ile karakterize dermatozise ilişkin değişiklikler vardı. Dermisde folliküler atrofi ile birlikte, artmış eozinofilik camı, refraktil kitle şeklinde görülen yaygın kollajen hiyalinizasyon alanları dikkati çekti. Yağ bezleri genellikle hiperplastik bir görünümde idi. Ter bezlerinde yassılaştırmış epitel hücreleri ile döşenmiş ve geniş tubuluslar ile karakterize atrofik değişiklikler vardı.



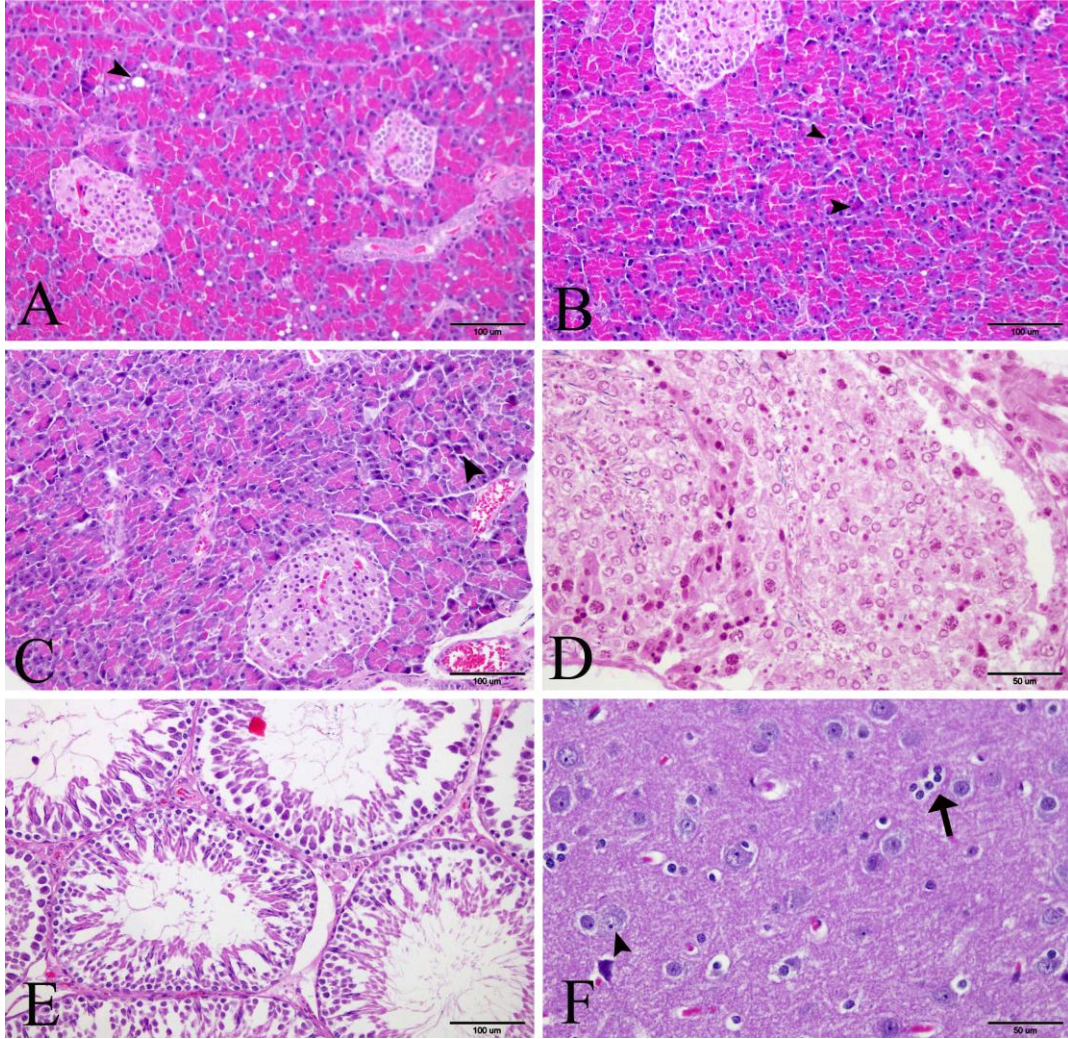
Şekil 3.13 Grup 7, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Kalp, HE; D.Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F.Pankreas, HE; G.Beyin, HE; H.Testis, HE.



Şekil 3.14 Grup 8, A. **Karaciğerde** şiddetli hiperemi, HE; B. Multi fokal koagülasyon nekrozu ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; C. Portal alanda safra kanalları sayısında artış ve pseudolül oluşumu (ok başı), HE.; D. Hepatositlerde yaygın koagülasyon nekrozu, HE.; E. Hiperemi, hepatositlerde yaygın parankim dejenerasyonu, HE; F. Hiperemi ve tromboz (ok) ile birlikte şiddetli periasiner nekroz, HE; G. Periportal alanlarda çift çekirdekli hepatositler (ok başı) ve hepatomegali (ok), HE; H. Periportal ve intersitisyel alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu, HE.



Şekil 3.15 Grup 8, A. **Böbrekte** korteks ve medullada şiddetli hiperemi, HE; B.Kortekste tubulus epitellerinde şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile mononükleer hücre infiltrasyonu, HE; C. **Kalp**te şiddetli Zenker nekrozu, HE; D.Hyalin dejenerasyonu ile birlikte focal mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; E.Myokarda şiddetli kanama, HE; F.**Akciğerde** peribronşiyoler lenfoid doku artışı, HE. G. **Dalakta** çok sayıda megakaryositler, HE; H.Hemosiderinle yüklü makrofajlar (ok başları), HE.



Şekil 3.16 Grup 8, A. **Pankreasta** ekzokrin hücrelerde vakuolizasyonlar (ok başı), HE; B. Ekzokrin hücrelerde yaygın piknoz (ok başları), HE; C. Ekzokrin hücrelerde mineralizasyon (ok başı), HE; D. **Testiste** TSK'da şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, HE. E. Bazı TSK'larda lumende boşalma, HE; F. **Beyinde** nöronlarda dejenerasyon (ok başı) ve nöronofaji, (ok), HE.

3.4.2.9 Grup 9

Karaciğer genellikle hiperemikti. Sinuzoidler de hiperemik ve genişlemişti. Damar endotel hücreleri zedelenmiş veya şişkin görünümde idi. Bazı damarlarda mikrovasküler tromboz, interstisyel alanlarda tek tük ya da yığınlar halinde eritrositler ve periasiner koagülasyon nekrozu vardı. Hiperemi ile birlikte bazı damarlarda tromboz gözlendi (Şekil 3.17 A). Portal ve interstisyel alanlarda kanama vardı. Sinuzoidlerde Kupffer hücrelerinin sayısında artış görüldü. Portal alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonları, bağ dokuda ve safra kanallarında artış gözlendi. Kesitlerin, “Van Gieson” ile yapılan özel boyamalarında bağ doku alanlarının, pozitif reaksiyon veren kollajen bağ doku olduğu tespit edildi. Sentrilobüler alanlardaki hepatositlerde hidropik dejenerasyon daha belirgindi (Şekil 3.17 B). Periasiner alanlardan başlamak üzere, hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve nekroz (Şekil 3.17 C), bazı hepatositlerin stoplazmalarında granüler, eozinofilik görünüm vardı. Özellikle midzonal ve periportal alanlardaki hepatositlerde nükleer değişiklikler belirgindi.

Böbrekte korteks ve medullada kapillar damarlar şiddetli hiperemik olup, intertubuler alanlar kanamalı idi. Glomeruluslar genellikle hiperemik (Şekil 3.17 D) ve dilatasyona uğramıştı. Proksimal tubuluslarda dejeneratif ve nekrotik değişiklikler hakimdi. Bazı proksimal tubulusların epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon (Şekil 3.17 E), bazılarında ise piknoz ile karakterize koagülasyon nekrozları saptandı. Koagülasyon nekrozunun şekillendiği epitel hücrelerinde stoplazma eozin ile koyu pembeye boyanmış, hücre sınırları henüz seçilebiliyordu. Hücre çekirdekleri genellikle piknotik, bazılarında ise tamamen silinmişti. Tubulusların çoğunun lumeni, dökülmüş epitel hücreleri ile dolu idi. Perivasküler ve periglomerular alanlardaki fokal mononükleer hücre infiltrasyonları belirgindi (Şekil 3.17 F).

Kalpde genellikle tüm olgularda hiyalin dejenerasyonu gözlendi. Bazı olgularda miyokarda yer yer Zenker nekrozuna ilişkin histopatolojik bulgular da şekillenmişti (Şekil 3.18 A;B). Bazı olgularda Zenker nekrozu alanlarında mononükleer hücre

infiltrasyonlarına da rastlandı. Hiyalin dejenerasyonuna uğrayan kalp kası lifleri şişkin ve pembe-homojen renkte olup, sitriasyonunu kaybetmişti. Sarkoplazma eozin ile pembe homojen renge boyanmıştı. Myokarda kas fibrillerinde vakuolizasyon ile birlikte, damarlarda hiperemi ve kas telleri arasında serbest halde eritrositlere rastlandı (Şekil 3.18 C). Vakuolizasyonların şekillendiği bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin “Oil Red O” ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği ve yağ damlacıkları olduğu görüldü.

Akciğerlerde olguların çoğunda, peribronşiyal alanlardaki lenfoid hiperplazi kolay seçilebiliyordu (Şekil 3.18 D).

Dalakta bazı ratlarda çok sayıda megakaryositlere (Şekil 3.18 E) ve hemosiderin pigmenti ile yüklü makrofajlara rastlandı (Şekil 3.18 F). Bu kesitlerin, “Turnbull Blue” metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü.

Pankreasta olguların çoğunda, bazı ekzokrin epitel hücrelerinde parankim dejenerasyonu, bazılarında da vakuolizasyonlar gözlemlendi (Şekil 3.19 A). Bu dokuların dondurma mikrotomu ile yapılan kesitlerinin “Oil Red O” ile yapılan özel boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği ve yağ damlacıkları olduğu görüldü. Bazı olgularda tüm mikroskop sahasında olmak üzere, ekzokrin epitel hücrelerinde piknoz ile karakterize şiddetli koagülasyon nekrozu ve yer yer mineralizasyona uğramış alanlar dikkati çekti (Şekil 3.19 B). Bu kesitlerin, “Von Kossa” ile yapılan özel boyamalarında, mineralizasyon alanlarının, pozitif reaksiyon verdiği ve kalsiyum tuzları olduğu tespit edildi. İnterstisyel alanlardaki damarlar hiperemikti. Langerhans adacıkları da hiperemik görünümde idi. Bazı alanlarda Langerhans adacıkları sayıca azalmış veya tamamen silinmişti.

Testislerde tubulus seminiferus kontortus (TSK) epitellerinde orta şiddette dejeneratif ve nekrotik değişiklikler vardı. Bazı olgularda TSK’larda spermatogenetik hücre tabakaları kaybolmuş, bazılarında da spermatozoonlar

azalmış görünümdeydi (Şekil 3.19 C). Sertoli hücreleri genellikle seçilebiliyordu. Bazı TSK'ların sertoli ve germinatif hücrelerinde nekrozla birlikte lumenlerinde nekrotik hücre döküntüleri vardı. Bazı TSK'ların lumeni, dejenere ve dökülmüş spermatogenetik hücrelerle dolmuş ve yoğunlaşmış bir görünümdeydi (Şekil 3.19 D). Bu dejeneratif değişikliklerin şekillendiği TSK'lara yakın damarların genellikle hiperemik ve birkaç olguda damar duvarının hipertrofik olduğu dikkati çekti (Şekil 3.19 E). Periferdeki TSK lumenlerinde bazı spermatozoonların çekirdekleri seçilebilirken, orta bölgelerindeki TSK'ların lumeninde spermatozoonların çekirdeklerinin tamamen kaybolduğu dikkati çekti. Bazı olgularda tunika albuginea ve intertubuler alanlardaki bağ dokuda, pembe homojen görünümü ile hiyalinizasyon şekillenmişti.

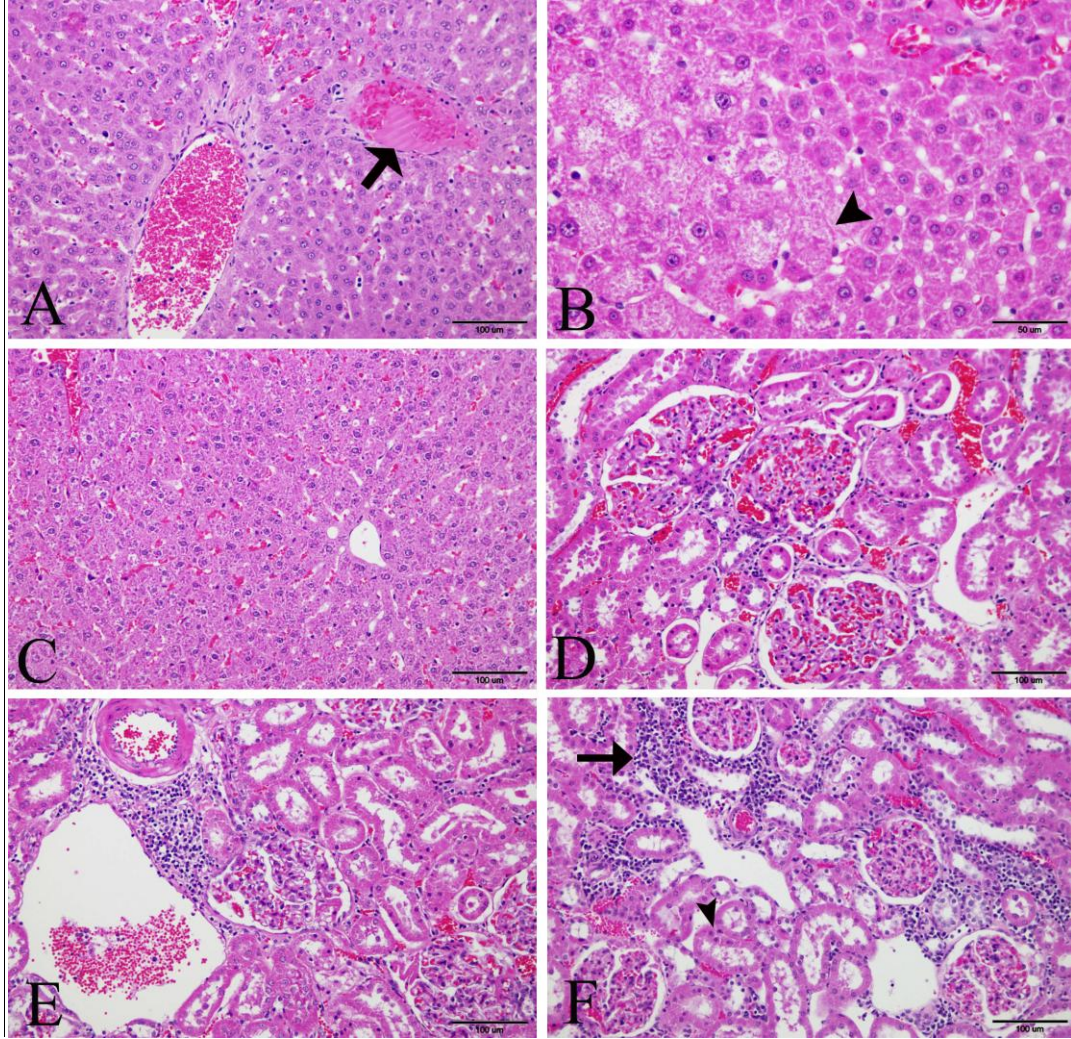
Kaput ve kauda epididimislerin kanal lumenlerinde ya az sayıda spermatozoa ve dökülmüş epitel hücreleri vardı ya da çoğunun lumeni tamamen boşalmış bir görünümde idi.

Beyinde ve beyincikte kapillar damarlar genellikle hiperemikti. Kortekste damarlarda perivasküler dilatasyonla birlikte perivasküler alanlarda kanama ve bazen hafif şiddette perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı. Bazı nöronlarda vakuolizasyon ve perinöral dilatasyonla birlikte nöronofaji görüldü (Şekil 3.19 F).

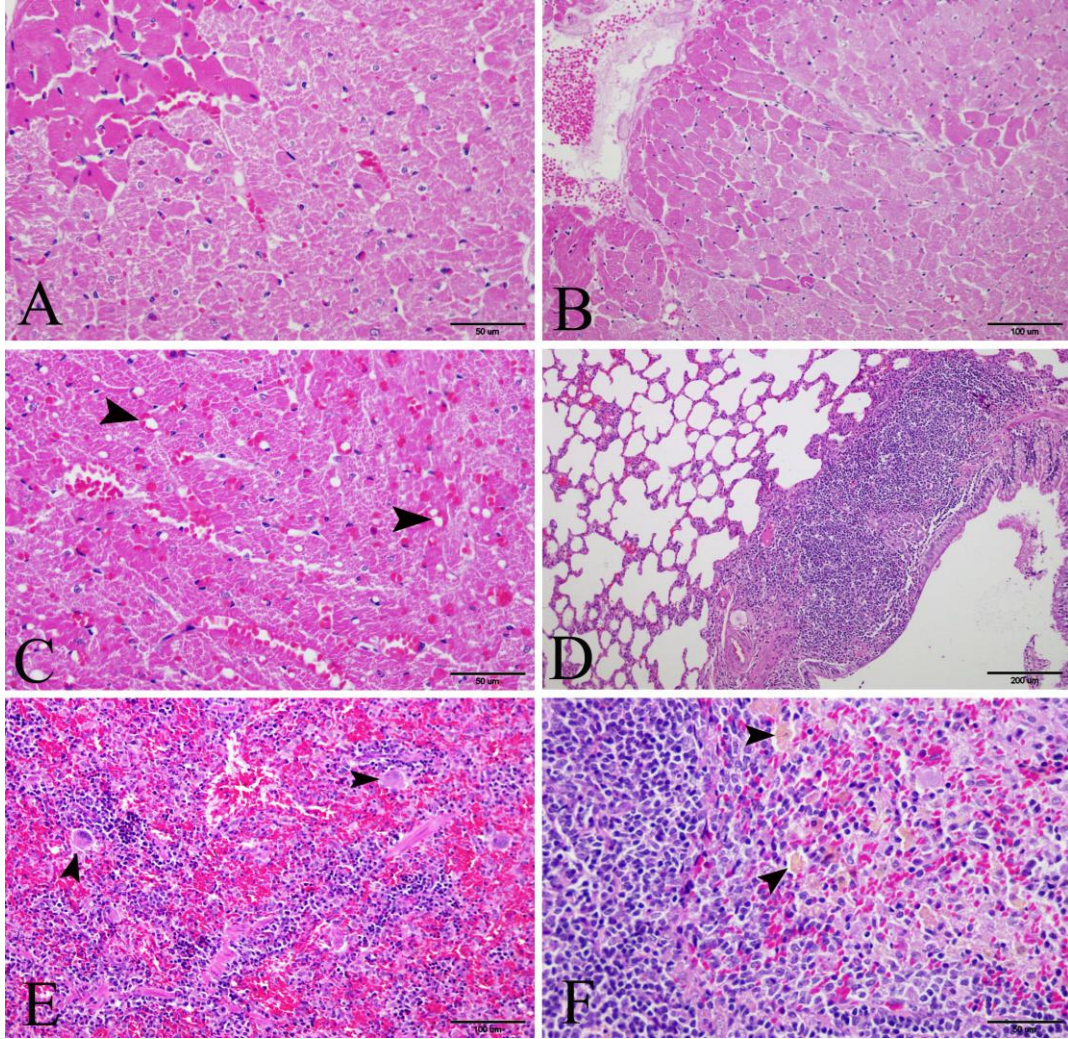
Deride fokal parakeratotik hiperkeratozis, hipergranülozis ve spongiozis ile karakterize dermatozise ilişkin değişiklikler vardı. Dermisde folliküler atrofi ile birlikte yaygın kollajen hiyalinizasyon alanları dikkati çekti. Yağ bezleri genellikle hiperplastik bir görünümde idi. Ter bezlerinde atrofik değişiklikler vardı.

3.4.2.10 Grup 10

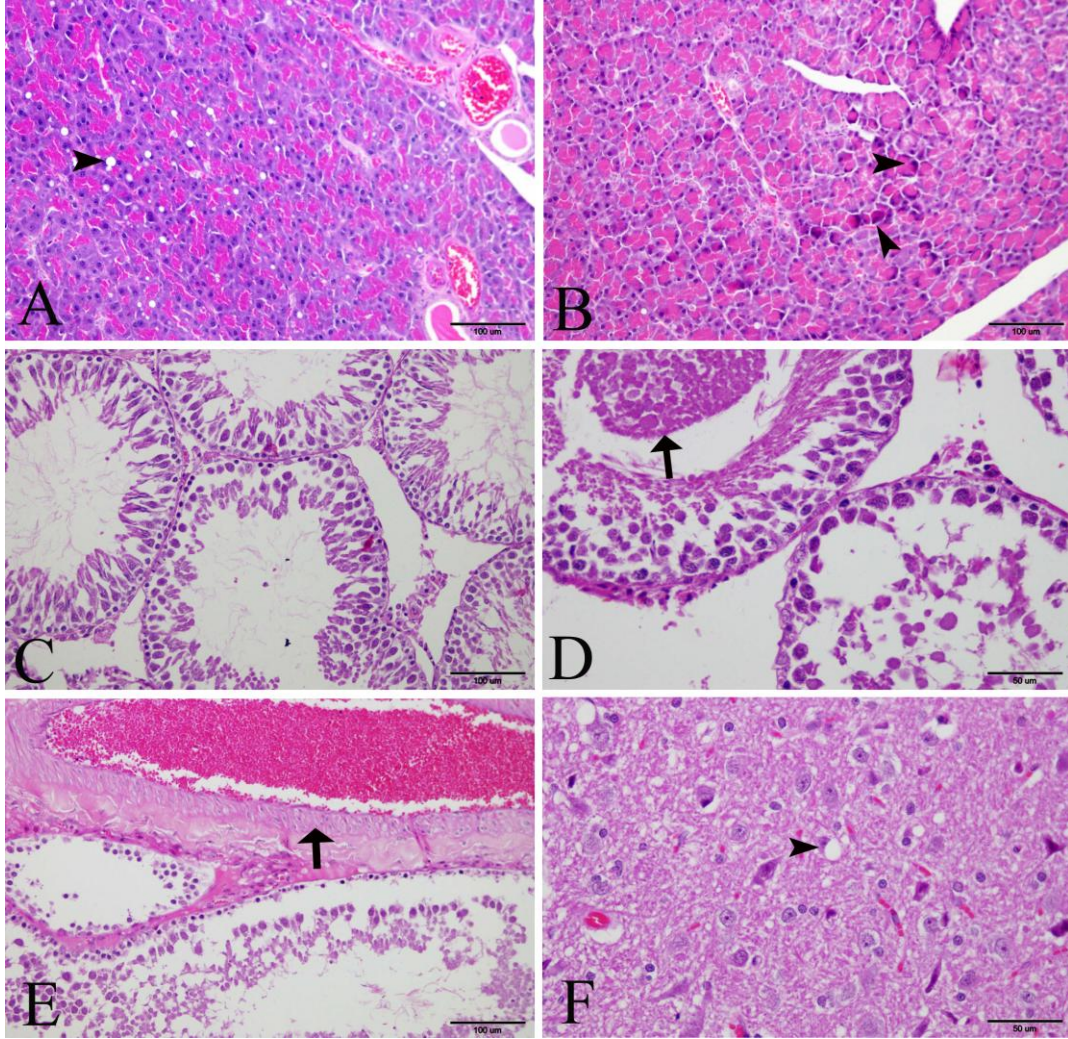
Bu grupta karaciğer (Şekil 3.20 A), böbrek (Şekil 3.20 B), kalp (Şekil 3.20 C), akciğer (Şekil 3.20 D), dalak (Şekil 3.20 E), pankreas (Şekil 3.20 F), beyin (Şekil 3.20 G), beyincik, testis (Şekil 3.20 H), epididimis ve deri normal histolojik yapıda idi. Bu normal histolojik yapılarının yanı sıra gruptaki ratların birinde karaciğerde bir portal alanda, birkaç adet hücreden oluşan, mononuklear hücre infiltrasyonu, bir ratta kalpte miyokarddan endokarda doğru şerit halinde uzanan serbest halde eritrosit yığınlarına rastlandı. İki hayvanın dalağında megakaryosit ve hemosiderin pigment birikimi dikkati çekti. Bu olgulara ait kesitlerin, “Turnbull Blue” metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü. Ratların birinde ise beyin ve beyincikte sadece birkaç adet mikroglıadan oluşan fokal mikroglia reaksiyonuna rastlandı.



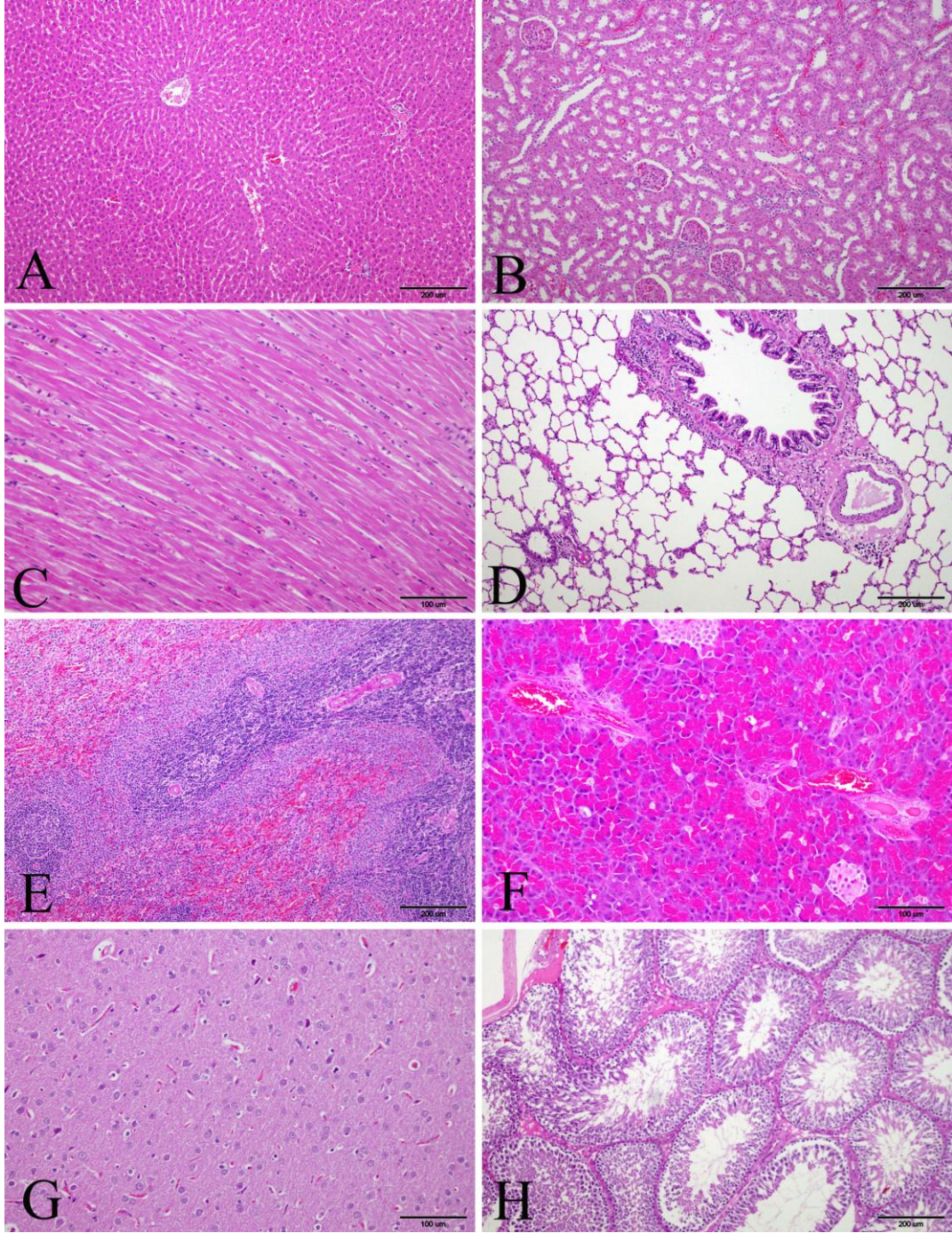
Şekil 3.17 Grup 9, A. **Karaciğerde** hiperemi ve tromboz (ok), HE, B.Hepatositlerde şiddetli hidropik dejenerasyon (ok başı), HE, C.Periasiner alanlardaki hepatositlerde şiddetli dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile sinuzoidlerde hiperemi, HE; D.**Böbrekte** glomeruluslarda hiperemi, HE; E.Tubulus epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, HE; F.Periglomerular ve intertubuler alanlarda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu (ok) ve tubuluslarda piknoz (ok başı), HE.



Şekil 3.18 Grup 9, A. **Kalp** kasında Zenker nekrozu, HE; B.Myokardda hiperemi, yaygın Zenker nekrozu, HE; C.Myokardda kas fibrillerinde vakuolizasyonlar (ok başları), hiperemi ve serbest halde eritrositler, HE.; D.**Akciğerde** peribronşiyoler lenfoid doku artışı, HE; E.**Dalakta** çok sayıda megakaryositler (ok başları), HE; F.Hemosiderinle yüklü makrofajlar (ok başları), HE.



Şekil 3.19 Grup 9, A., **Pankreasta** ekzokrin epitel hücrelerinde vakuolizasyon (ok başı), HE; B.Ekzokrin epitel hücrelerinde yaygın nekroz ve mineralizasyon (ok başları), HE; C.**Testiste** TSK'larda spermatogeneziste bozulma; spermatogenetik hücre tabakaları kaybolmuş, spermatozoonlar azalmış ve lumenleri spermatidlerden yoksun, HE; D.TSK'da dejeneratif değişiklikler ve lumende, dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış görünüm (ok), HE; E.TSK'da dejeneratif değişiklikler, hiperemi ve damar duvarında hipertrofik görünüm (ok), HE; F.**Beyinde** nöronlarda vakuolizasyon (ok başı) ve nöronofaji, HE.



Şekil 3.20 Grup 10, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Kalp, HE; D.Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F.Pankreas, HE; G.Beyin, HE; H.Testis, HE.

3.4.2.11 Grup 11

Karaciğer bazı olgularda hiperemikti (Şekil 3.21 A). Sinuzoidler de hafif hiperemik ve genişlemişti (Şekil 3.21 B). Sinuzoidlerde tek tük Kupffer hücrelerine rastlandı. Sentrilobüler alanlardaki hepatositlerde parankim ve hidropik dejenerasyon gözlemlendi. Bu alanlarda Kupffer hücrelerinde hafif aktivasyon vardı (Şekil 3.21 C). Periportal alanlardaki bazı hepatositlerde hücre çekirdeği yoğunlaşmış, çift çekirdekli iken bazı hepatositlerde ise hepatomegali görüldü (Şekil 3.21 D). Periportal ve intersitisyel alanlarda hafif şiddette mononükleer hücre infiltrasyonları vardı (Şekil 3.21 E).

Böbrekte bazı olgularda korteks ve medullada kapillar damarlar hafif hiperemikti. Glomeruluslar genellikle hafif hiperemik ve bir kısmı dilatasyona uğramıştı (Şekil 3.21 F). Bu glomerulusların çevresindeki alanlarda hafif şiddette fokal mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı (Şekil 3.21 G). Çoğu olgularda proksimal tubuluslarda dejeneratif ve nekrotik değişiklikler hakimdi (Şekil 3.21 H). Bazı proksimal tubulusların epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon gözlemlendi. Bazı proksimal tubulus epitelinde koagülasyon nekrozlarına da rastlandı. Hücre çekirdekleri genellikle piknotik, bazılarında ise tamamen silinmişti. Tubulusların çoğunun lumeni, dökülmüş epitel hücreleri ile dolu idi.

Kalp genellikle hafif şiddette hiyalin dejenerasyonu ve nekroz gözlemlendi (Şekil 3.22 A). Hiyalin dejenerasyonuna uğrayan kalp kası lifleri şişkin ve pembe-homojen renkte olup, sitriasyonu kaybolmuştu. Sarkoplazma, eozin ile pembe-homojen renge boyanmıştı. Bazı olgularda damarlar hafif hiperemikti. Bu olguların dördünde kalp kası lifleri arasında, serbest halde eritrositler vardı (Şekil 3.22 B).

Akciğerler genellikle normal histolojik yapı ve görünümde idi (Şekil 3.22 C). Dalakta bazı ratlarda megakaryositlere ve hemosiderin pigmenti ile yüklü makrofajlara rastlandı (Şekil 3.22 D). Kesitlerin, "Turnbull Blue" metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu görüldü.

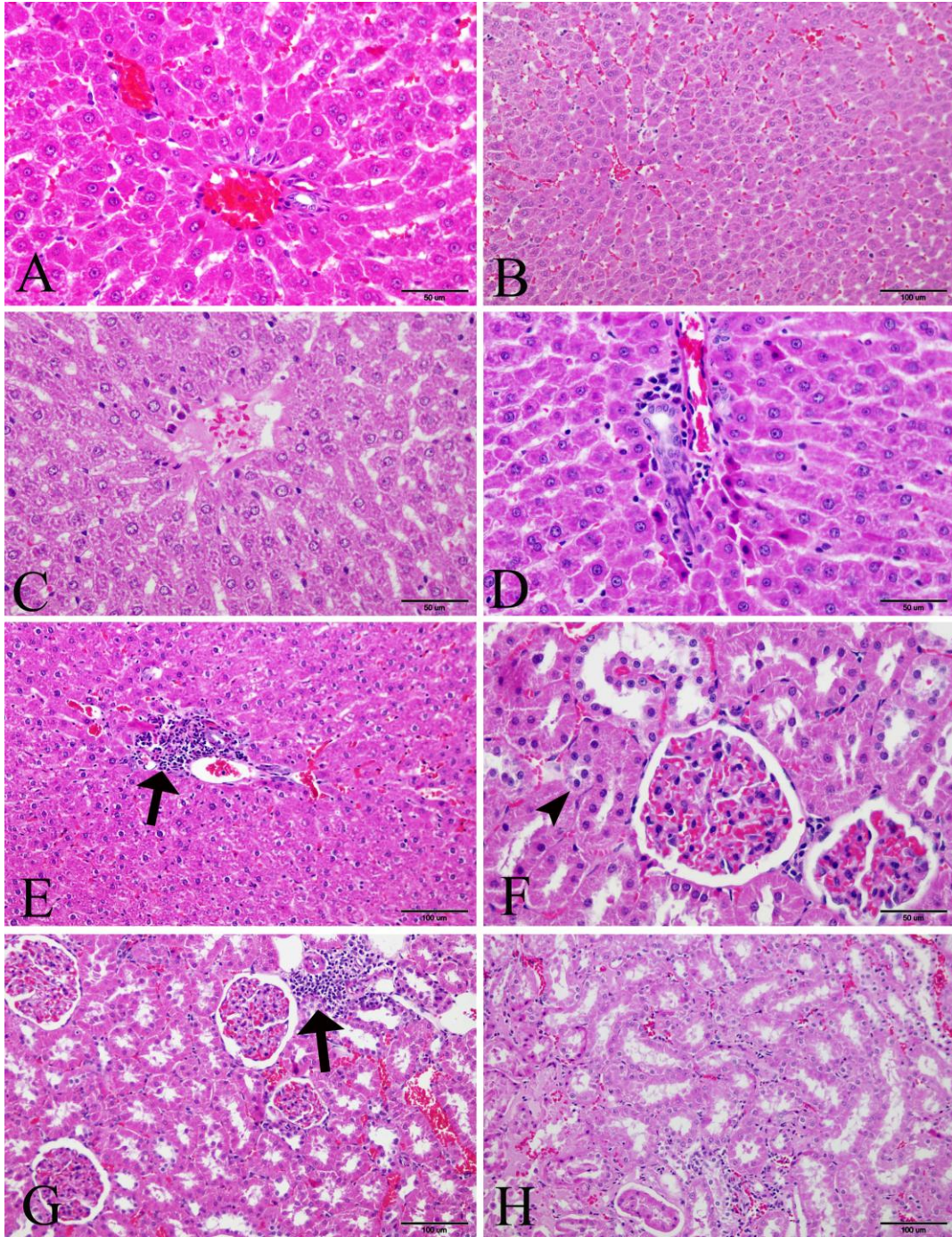
Pankreasta dört olguda, bazı ekzokrin epitel hücrelerinde parankim dejenerasyonu ve yaygın nekroz gözlemlendi. Hücre çekirdekleri genellikle piknotikti (Şekil 3.22 E).

Testislerde orta şiddette dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Tubulus seminiferus kontortus (TSK) epitelleri genellikle dejeneratif ve nekrotikti. Bazı TSK'larda dejenerasyon spermatogonyumların lümeninde kümelenmeleri dikkati çekti. Bu tubulusların bazılarında bazal membranın hyalinize olduğu görüldü (Şekil 3.22 F). Bazı spermatogonyumlarda vakuolizasyon görüldü (Şekil 3.22 G). Üç olguda, tunika albuginea bağ dokuda hyalinizasyon gözlemlendi. Bazı TSK'ların germinatif hücrelerinde hafif şiddette nekrotik değişikliklerle birlikte lümenlerinde nekrotik hücre döküntüleri vardı.

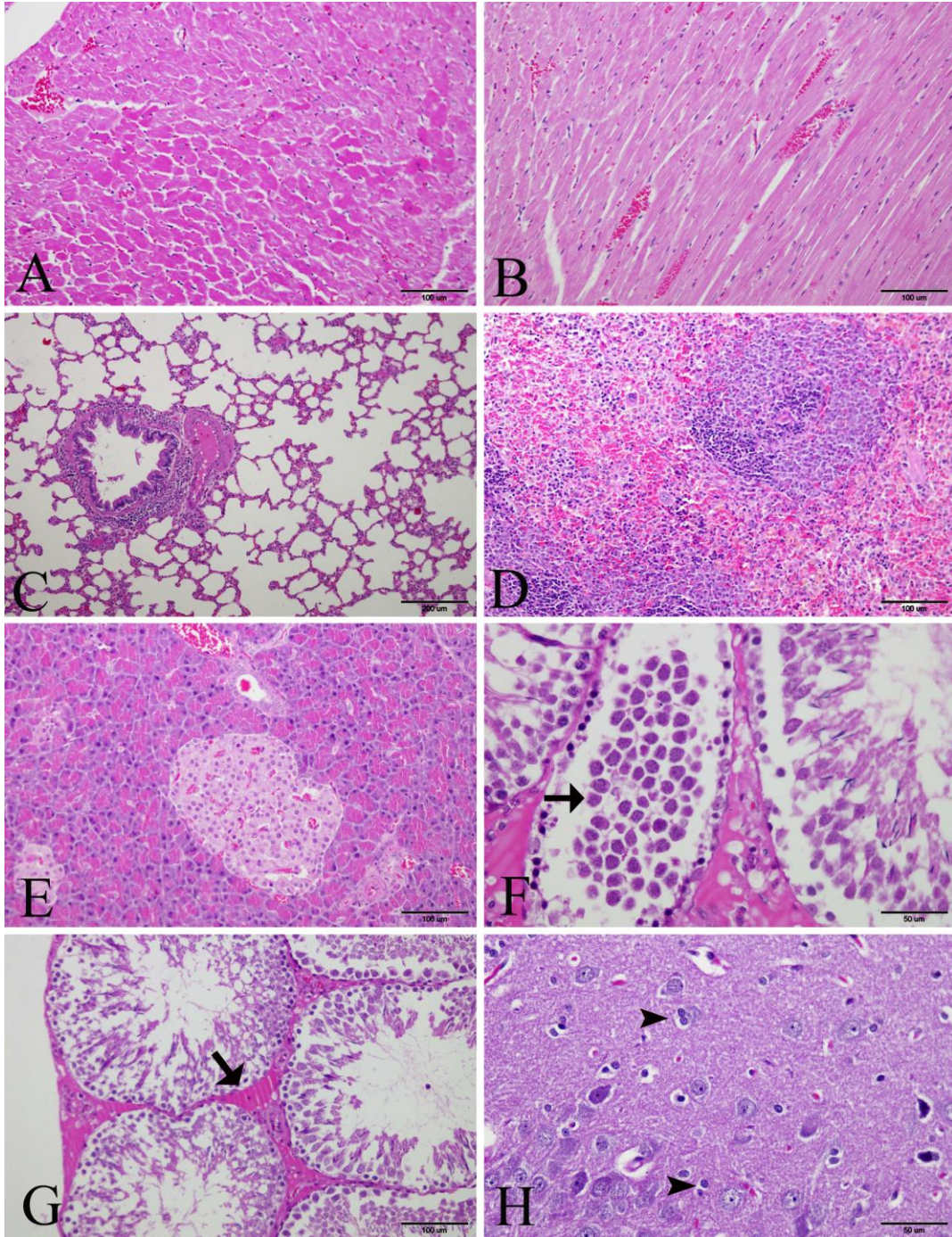
Kaput ve kauda epididimilerin kanal lümenlerinde ya az sayıda spermatozoa ve dökülmüş epitel hücreleri vardı ya da bazı olgularda lümen boşalmış görünümde idi.

Beyin ve beyincikte kortekste bazı olgularda, kapillar damarlar hafif şiddette hiperemikti. Kortekste damarlarda perivasküler dilatasyonla birlikte perivasküler kanama vardı. Parankimde, bazı nöronlarda perinöral dilatasyonla birlikte dejeneratif değişiklikler ve nöronofaji gözlemlendi (Şekil 3.22 H).

Deride fokal parakeratotik hiperkeratozis, hipergranülozis ve spongiozis ile karakterize dermatozise ilişkin değişiklikler vardı. Bazı ter bezleri atrofik görünümde idi.



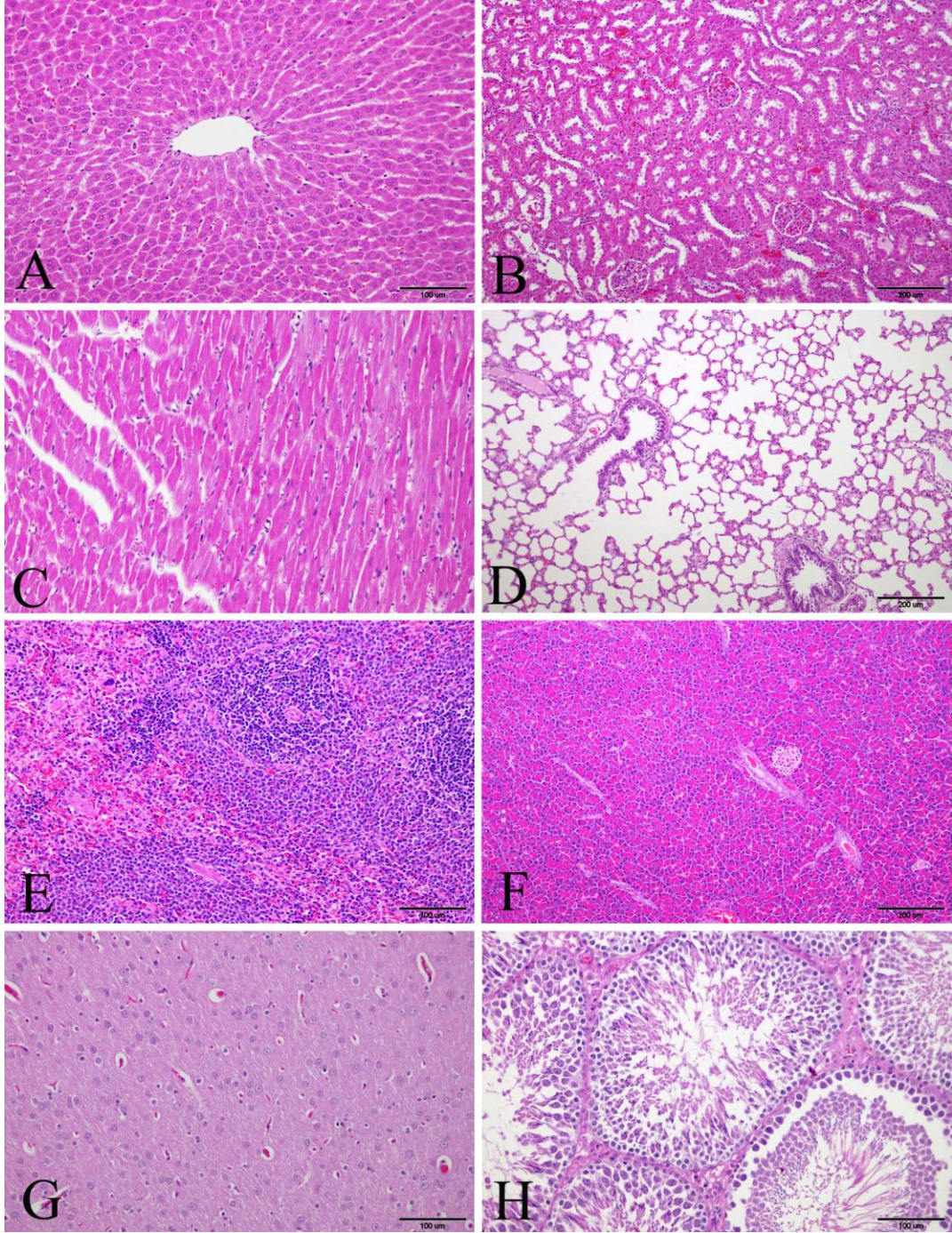
Şekil 3.21 Grup 11, A. **Karaciğerde** hiperemi, HE; B.Sinuzoidlerde hiperemi ve dilatasyon, HE; C.Periasiner hepatositlerde parankim ve vakuoler dejenerasyonu ile Kupffer hücre aktivasyonu, HE; D.Periportal alanda bazı hepatositlerde çift çekirdekli görünüm ve hepatomegali, E.Periportal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; F.**Böbrekte** glomeruluslarda hiperemi ve dilatasyon ile tubuluslarda nekrotik değişiklikler (ok başı), HE; G.Periglomerular alanda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu (ok), HE; H.Tubuluslarda yaygın dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ve yer yer mononükleer hücre infiltrasyonları, HE.



Şekil 3.22 Grup 11, A. **Kalpte** hyalin dejenerasyonu ve nekroz, HE; B. **Kapillar damarlarda** hiperemi ve serbest halde eritrositler, HE; C. **Akciğer**, HE; D. **Dalakta** megakaryositler ve hemosiderin birikimi, HE; E. **Pankreasta** ekzokrin epitel hücrelerinde yaygın nekroz, HE; F. **Testiste** bir tubulusta dejenere spermatogonyumların lumende toplanması (ok) ve tubulus bazal membranında hyalinizasyon, HE; G. **TSK'ların** bazal membranında hyalinizasyon (ok) ve bazı spermatogonyumlarda vakuolizasyon, HE; H. **Beyinde** nöronofaji (ok başları), HE.

3.4.2.12 Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu

Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.23 A), böbrek (Şekil 3.23 B), kalp (Şekil 3.23 C), akciğer (Şekil 3.23 D), dalak (Şekil 3.23 E), pankreas (Şekil 3.23 F), beyin (Şekil 3.23 G), beyincik, testis (Şekil 3.23 H), epididimis ve derilerinin genellikle normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Bu normal histolojik yapılarının yanı sıra gruptaki ratların ikisinde karaciğerde portal alanda, birkaç adet hücreden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonuna, bir ratta kalpte miyokarda tek tük serbest halde eritrositlere rastlandı. Ratların ikisinin dalağında ise megakaryosit ve hemosiderin pigment birikimi görüldü. Bu kesitlerin, "Turnbull Blue" metodu ile yapılan özel boyamalarında, pozitif reaksiyon verdiği ve mavi renkli görünümü ile karakterize hemosiderin pigmenti olduğu saptandı. Ratların birinde ise beyin ve beyincikte tek tük nöronofaji görüldü.



Şekil 3.23 Grup 12, A. Karaciğer, HE; B.Böbrek, HE; C.Kalp, HE; D.Akciğer, HE; E.Dalak, HE; F.Pankreas, HE;G.Beyin, HE; H.Testis, HE.

3.4.3 İmmunohistokimyasal Bulgular

Çalışmada mikroskopik olarak muayene edilen karaciğer, böbrek, testis ve epididimis dokularında MT için yapılan immunohistokimyasal boyamalara ait sonuçlar Tablo 3.12’de verilmiştir.

3.4.3.1 Grup 1- Negatif Kontrol Grubu

Bu grupta yer alan ratların karaciğer (Şekil 3.24 A), böbrek (Şekil 3.24 B), testis (Şekil 3.24 C) ve epididimis (Şekil 3.24 D) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.

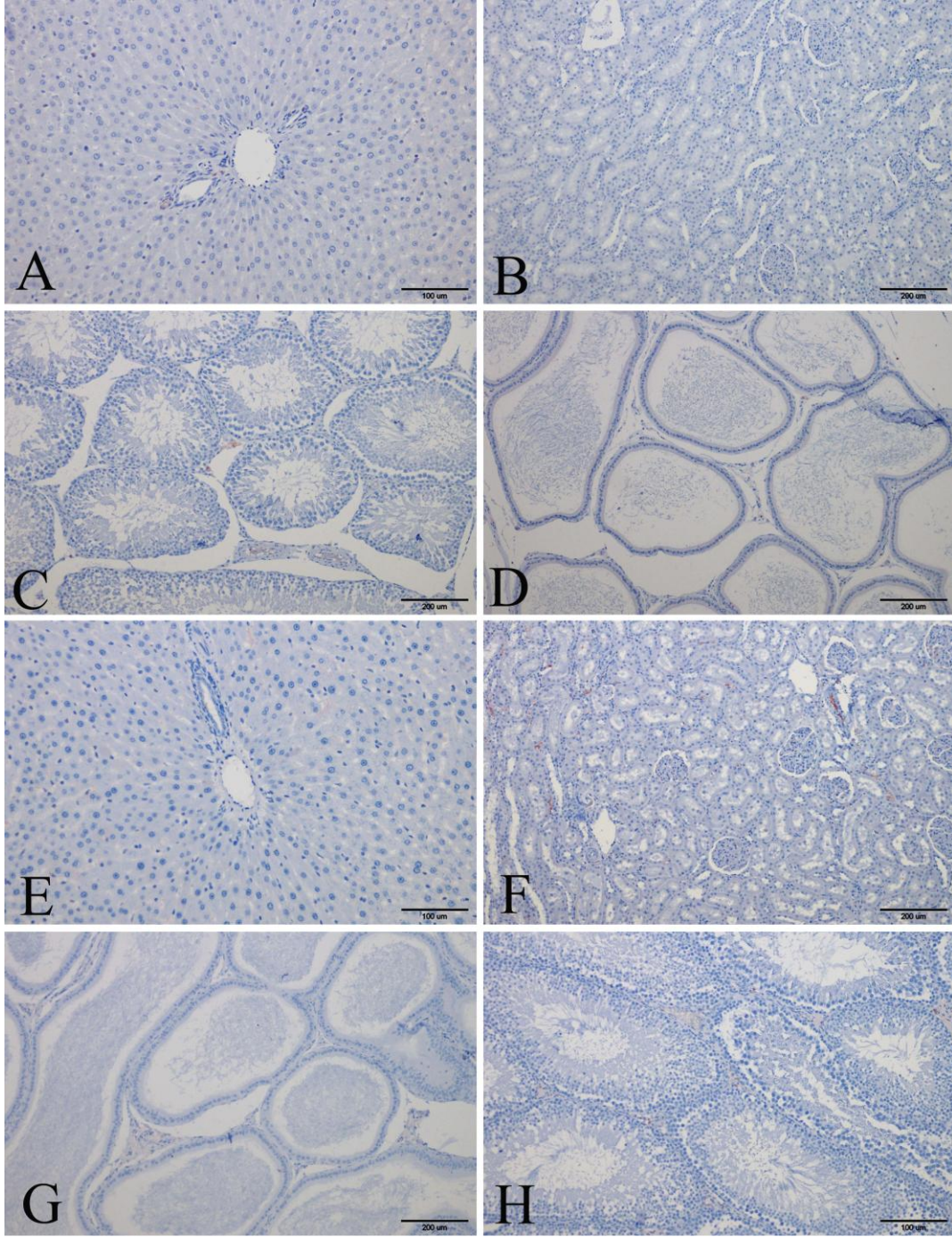
3.4.3.2 Grup 2-Kontrol Grubu

Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.24 E), böbrek (Şekil 3.24 F), testis (Şekil 3.24 F) ve epididimis (Şekil 3.24 G) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.

Tablo 3.12. Kontrol ve deneme gruplarında organlarda saptanan immunohistokimyasal bulgular*

Organ	MT Ekspresyonu	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	7.Grup	8.Grup	9.Grup	10.Grup	11.Grup	12.Grup	
Karaciğer	Hepatosit	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	+(2/9)	+(9/9)	+(1/9)	
Böbrek	Sinuzoid	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	+(2/9)	+(9/9)	+(2/9)	
	Bowman Boşluğu	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	+(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	+(8/9)	+(1/9)	+(7/9)	+(1/9)	
	Proksimal tubulus epitel	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	++ (9/9)	+(1/9)	+(8/9)	+(1/9)	
	Proksimal tubulus lumeni	-(9/9)	-(9/9)	+++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)	
	Distal tubulus epitel	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	
	Distal tubulus lumeni	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	
	İntersitisyum	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)
	Toplayıcı kanal epitel	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	+(8/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)
Toplayıcı kanal lumeni	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)	
Testis	TSK germinatif epitel	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	
	TSK lumeni	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	
	İntersitisyum	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	+(7/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)	
Epididimis	Leydig hücresi	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	+(9/9)	+(7/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	
	Kanal epitel	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	+(8/9)	-(9/9)	+(6/9)	-(9/9)	
	Kanal lumeni	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	
	İntersitisyum	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	-(9/9)	++ (9/9)	+(9/9)	-(9/9)	+(7/9)	-(9/9)	

*.-: Yok +: Zayıf, ++: Orta, +++: Şiddetli



Şekil 3.24 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 1**, A. Karaciğer, hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; B.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; C. Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; D. Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; **Grup 2**, E. Karaciğer, hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma.

3.4.3.3 Grup 3

Bu grupta bulunan ratlarda karaciğerde hem hepatositlerde hemde sinuzoidlerde MT için pozitif boyanma saptandı (Şekil 3.25 A). Böbreklerde Bowman boşluğu, proksimal tubulus epiteli ve lumeni ile toplayıcı kanal epiteli ve lumeninde pozitif boyanmalar tespit edildi (Şekil 3.25 B). Testiste intersitisyel Leydig hücrelerinde MT yönünden pozitif boyanmalar gözlendi (Şekil 3.25 C). Epididimiste intersitisyumda pozitif boyanma belirlendi (Şekil 3.25 D).

3.4.3.4 Grup 4

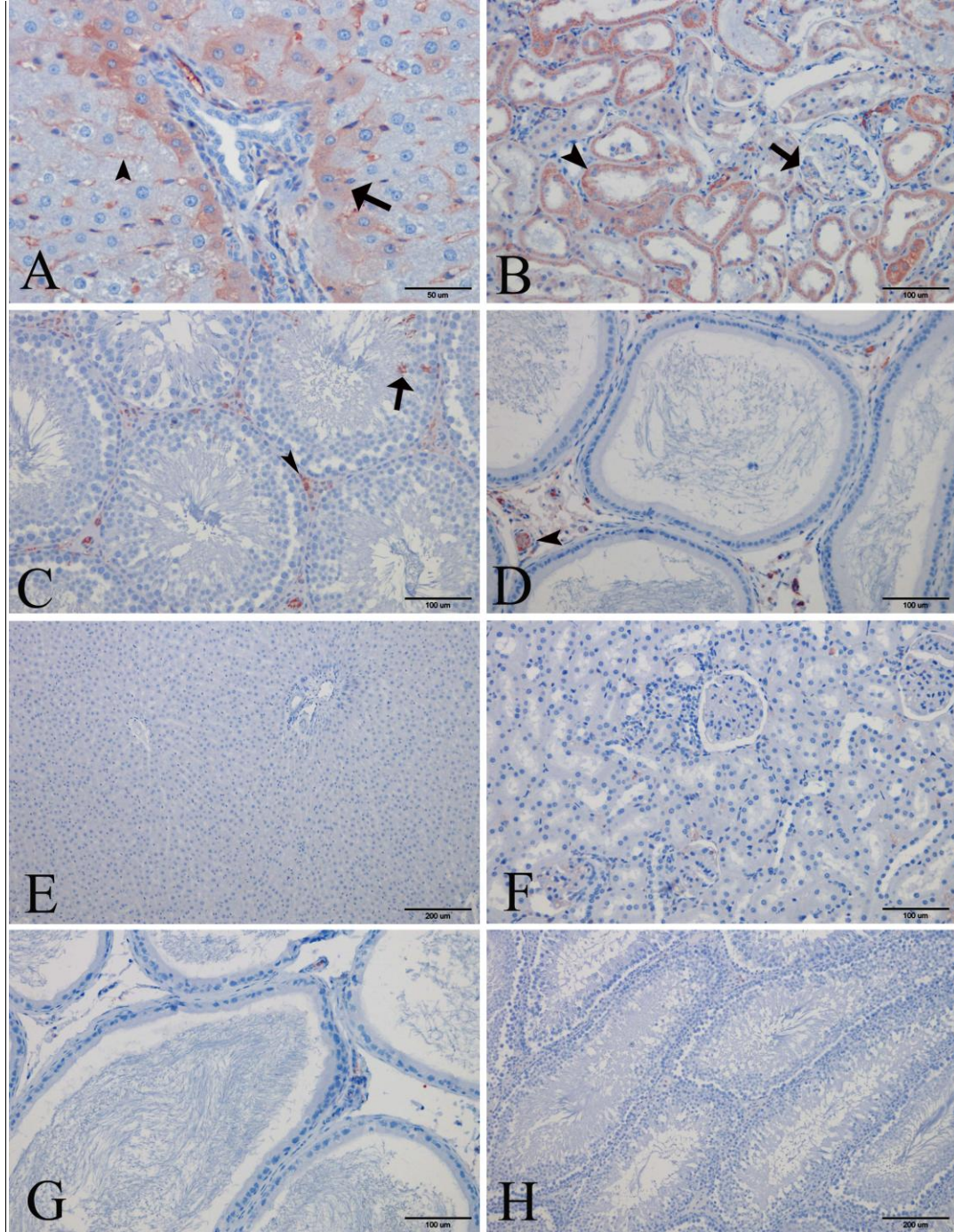
Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.25 E), böbrek (Şekil 3.25 F), epididimis (Şekil 3.25 G) ve testis (Şekil 3.25 H) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.

3.4.3.5 Grup 5

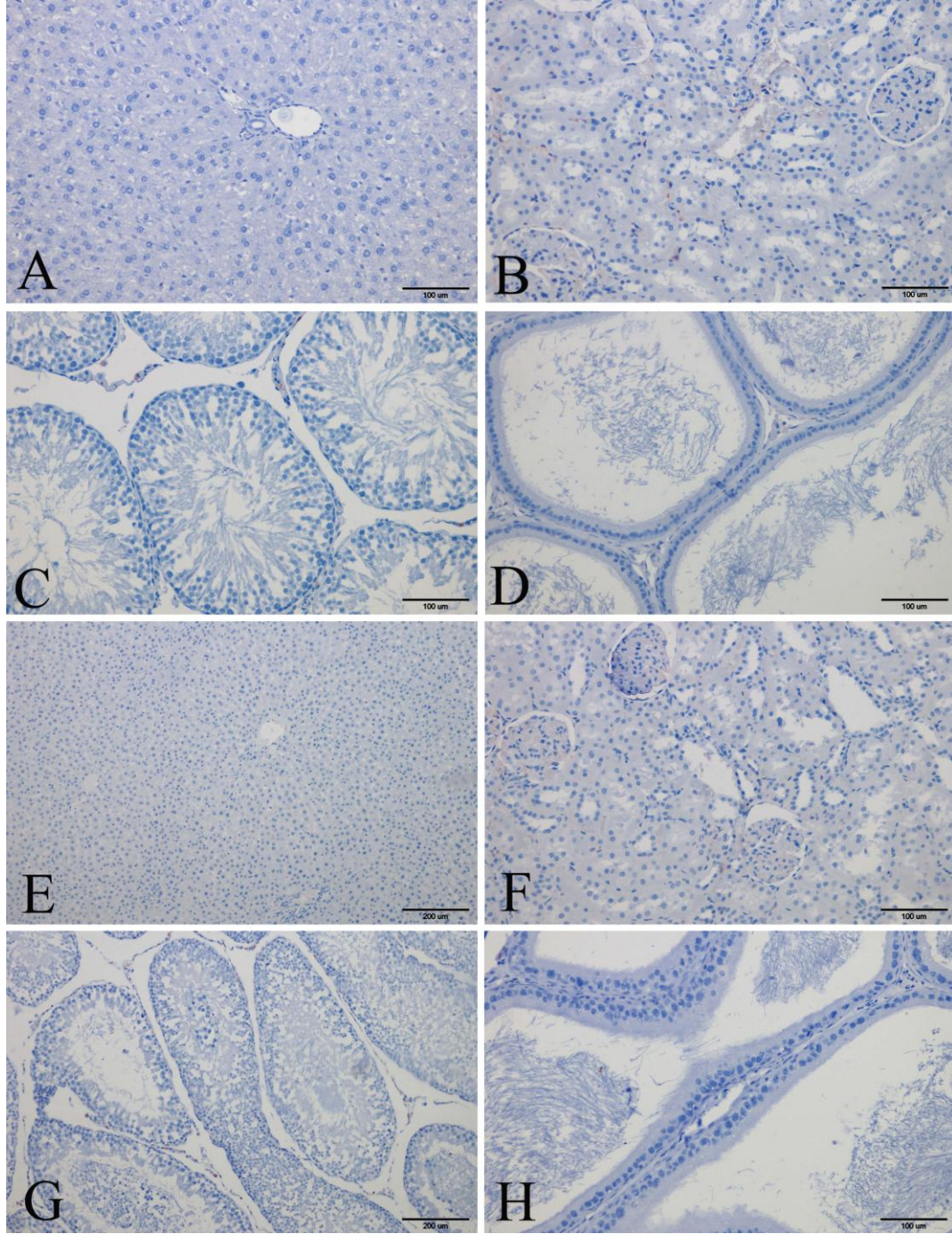
Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.26 A), böbrek (Şekil 3.26 B), testis (Şekil 3.26 C) ve epididimis (Şekil 3.26 D) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.

3.4.3.6 Grup 6

Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.26 E), böbrek (Şekil 3.26 F), testis (Şekil 3.26 G) ve epididimis (Şekil 3.26 H) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.



Şekil 3.25 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 3**, A. Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde (ok başı) pozitif boyanma; B.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubuluslarda pozitif boyanma (ok başı); C.Testis, TSK (ok) ve intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma. D.Epididimis, intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma; **Grup 4**, E. Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma.



Şekil 3.26 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 5**, A. Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; B.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; C.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; D.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; **Grup 6**, E. Karaciğer, hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma.

3.4.3.7 Grup 7

Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.27 A), böbrek (Şekil 3.27 B), testis (Şekil 3.27 C) ve epididimis (Şekil 3.27 D) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.

3.4.3.8 Grup 8

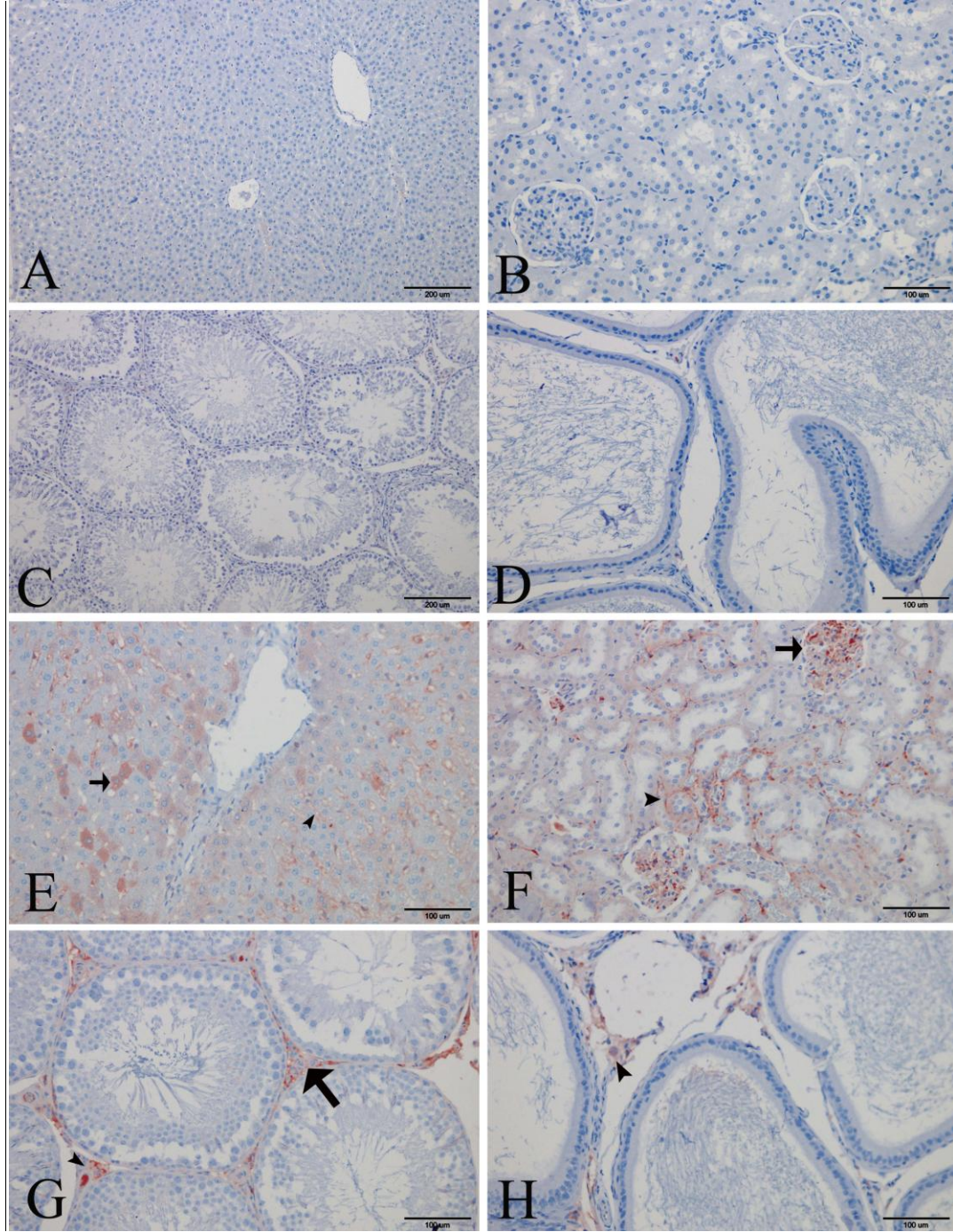
Bu grupta bulunan ratlarda karaciğerde hepatositlerde ve sinuzoidlerde MT için pozitif boyanma saptandı (Şekil 3.27 E). Böbreklerde Bowman boşluğu, proksimal tubulus epiteli ve lumeni ile toplayıcı kanal epiteli ve lumeninde pozitif boyanmalar vardı (Şekil 3.27 F). Testiste intersitisyumda ve Leydig hücrelerinde MT yönünden pozitif boyanmalar gözlendi (Şekil 3.27 G). Epididimiste intersitisyumda pozitif boyanma belirlendi (Şekil 3.27 H).

3.4.3.9 Grup 9

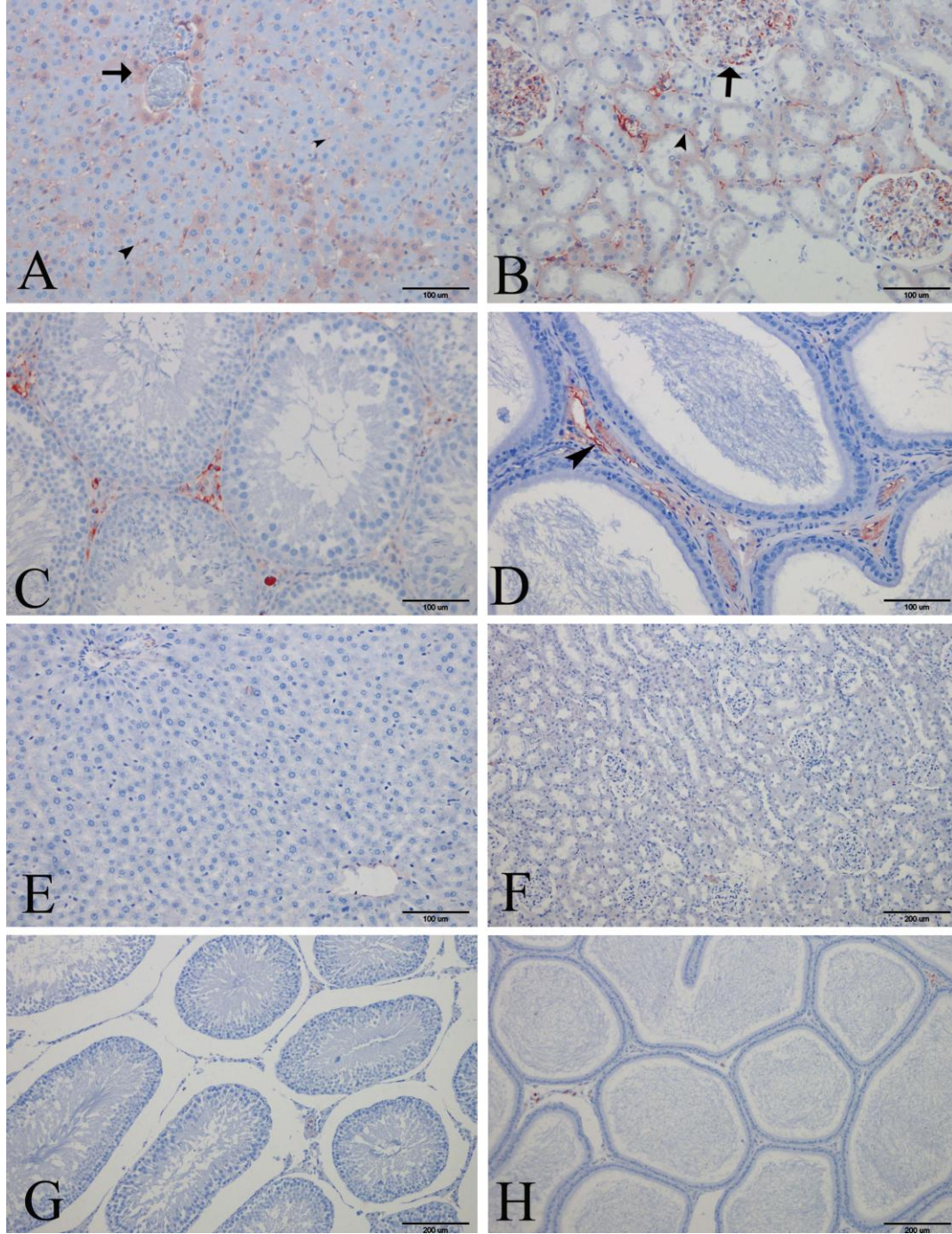
Bu grupta bulunan ratlarda karaciğerde hem hepatositlerde hemde sinuzoidlerde MT için pozitif boyanma görüldü (Şekil 3.28 A). Böbreklerde Bowman boşluğu, proksimal tubulus epiteli ve lumeni ile toplayıcı kanal epiteli ve lumeninde pozitif boyanmalar tespit edildi (Şekil 3.28 B). Testiste intersitisyumda ve Leydig hücreleri MT yönünden pozitif (Şekil 3.28 C). Epididimiste intersitisyumda pozitif boyanma vardı (Şekil 3.28 D).

3.4.3.10 Grup 10

Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.28 E), böbrek (Şekil 3.28 F), testis (Şekil 3.28 G) ve epididimis (Şekil 3.28 H) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.



Şekil 3.27 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 7**, A. Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; B.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; C.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; D.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma; **Grup 8**, E. Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde (ok başı) pozitif boyanma; F.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubuluslarda (ok başı) pozitif boyanma; G.Testis, intersitisyumda (ok) ve Leydig hücrelerinde (ok başı) pozitif boyanma; H.Epididimis, intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma.



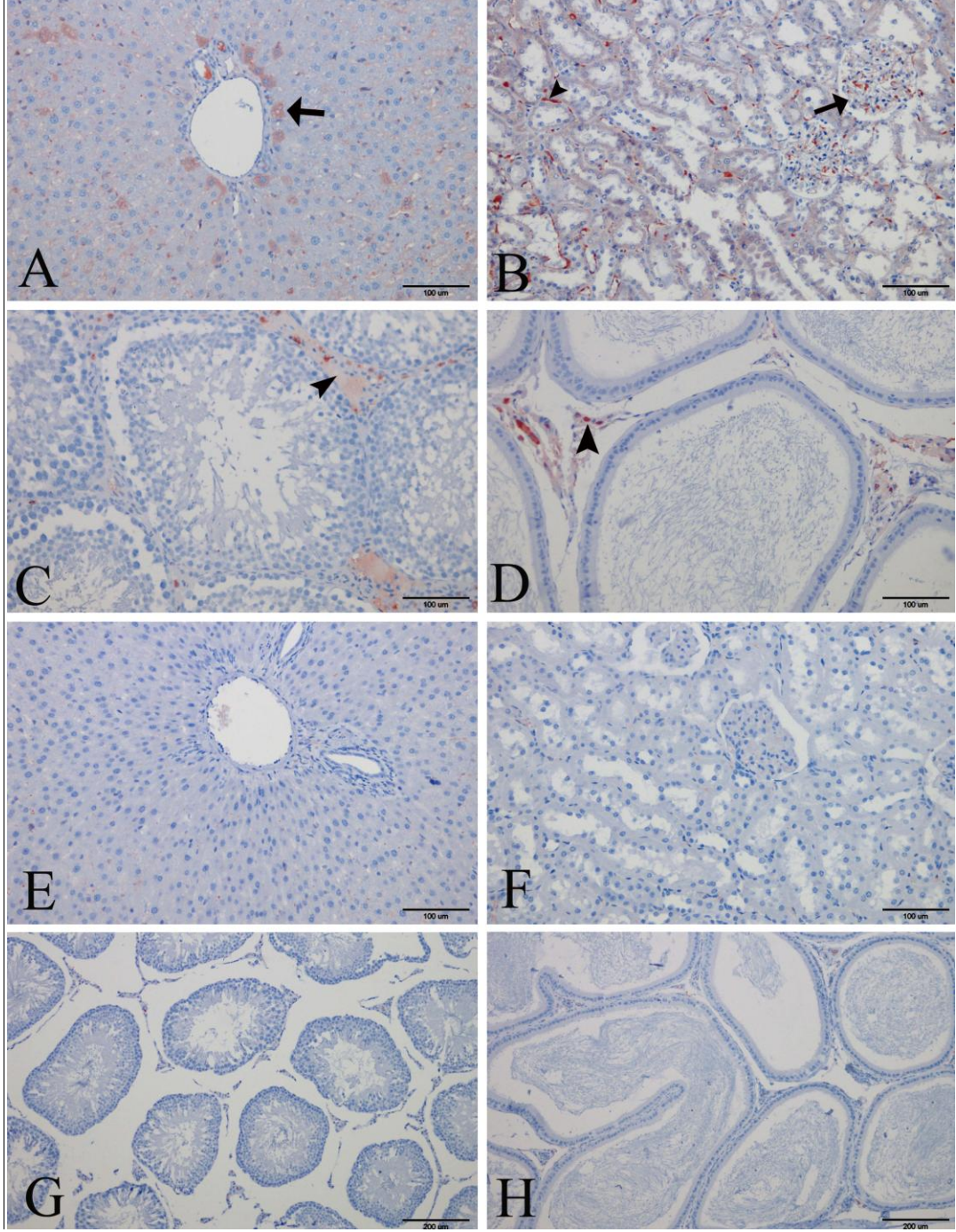
Şekil 3.28 MT lokalizasyonu, Streptavidin-biotin peroksidaz: **Grup 9**, A. Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde (ok başları) pozitif boyanma; B.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubuluslarda (ok başı) pozitif boyanma; C.Testis, intersitisyumda ve Leydig hücrelerinde pozitif boyanma; D.Epididimis, intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma; **Grup 10**, E., Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubuluslarda negatif boyanma; G.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma.

3.4.3.11 Grup 11

Bu grupta bulunan ratlarda karaciğerde hepatositlerde ve sinuzoidlerde MT için pozitif boyanmalar tespit edildi (Şekil 3.29 A). Böbreklerde Bowman boşluğu, proksimal tubulus epiteli ve lumeni ile toplayıcı kanal epiteli ve lumeninde MT için pozitif boyanmalar tespit edildi (Şekil 3.29 B). Testiste intersitisyum ve Leydig hücrelerinde (Şekil 3.29 C); epididimide intersitisyumda MT yönünden pozitif boyanmalar gözlendi (Şekil 3.29 D).

3.4.3.12 Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu

Bu grupta bulunan ratların karaciğer (Şekil 3.29 E), böbrek (Şekil 3.29 F), testis (Şekil 3.29 G) ve epididimis (Şekil 3.29 H) dokularının kesitlerinde MT immunreaktivitesi saptanmadı.



Şekil 3.29 MT lokalizasyonu, Strepteavidin-biotin peroksidaz: **Grup 11**, A. Karaciğerde hepatosit (ok) ve sinuzoidlerde pozitif boyanma; B.Böbrek, glomerulus (ok) ve tubulularda (ok başı) pozitif boyanma; C.Testis, intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma; D.Epididimis intersitisyumda (ok başı) pozitif boyanma; **Grup 12**, E. Karaciğerde hepatosit ve sinuzoidlerde negatif boyanma; F.Böbrek, glomerulus ve tubulularda negatif boyanma; G.Testis, TSK ve intersitisyumda negatif boyanma; H.Epididimis, kanal epiteli, lümeni ve intersitisyumda negatif boyanma.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, sodyum arsenit verilen ratlarda oluşan patomorfolojik bulguları saptamak ve sodyum arsenit ile eş zamanlı olarak uygulanan *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan çeşitli polaritedeki ekstrelerin ve fraksiyonların, sodyum arsenitin toksik etkisine karşı, dokularda morfolojik olarak koruyucu etki gösterip göstermediği araştırılmıştır. Ayrıca, biyokimyasal olarak, kan ve dokulara ait antioksidan enzim ve oksidatif stresi yansıtan değerlerdeki değişimler de incelenmiş bu değişimlerin patomorfolojik bulguları destekler nitelikte olup olmadığı da araştırılmıştır.

Bu çalışmada, Grup 3 (sadece sodyum arsenit), Grup 8 (*Cistus laurifolius* L. bitkisinin n-hekzan ekstresi+sodyum arsenit) ve Grup 9 (*Cistus laurifolius* L. bitkisinin dietil eter ekstresi+sodyum arsenit)'da yer alan ratlarda klinik olarak durgunluk, bitkinlik, yem ve su tüketiminde azalma ile iştahsızlık dikkati çekti. Diğer gruplarda ise herhangi bir klinik belirti gözlenmedi. Çalışmada ratlarda gözlenen klinik bulgular, arsenik toksikasyonu ile ilgili çalışmalarda (Jadhav ve ark., 2007a; Das ve ark., 2010) bildirilen klinik bulgular ile paralellik gösteriyordu.

Çalışmada, denemenin sonunda ratlarda canlı ağırlık değişimleri kaydedildi (Tablo 3.1). Arseniğin tek başına (Grup 3) veya *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin değişik ekstreleri ile birlikte verildiği 10. Grup (*Cistus laurifolius* L. bitkisinin etil asetat ekstresi+sodyum arsenit) hariç, diğer gruplarda (Grup 8, Grup 9, Grup 11) vücut ağırlığının kontrol gruplarına göre azaldığı görüldü. Arsenik ile indüklenmiş ratlarda yapılan pekçok çalışmada da (Jadhav ve ark., 2007a; Vahidnia ve ark., 2008; Das ve ark., 2009; Das ve ark., 2010) vücut ağırlığında azalmadan söz edilmiş ve vücut ağırlığındaki azalma, ratların genel sağlık durumlarının bozulması ile ilgili bir parametre olarak değerlendirilmiştir (Vahidnia ve ark., 2008). Bu durum arseniğin hipotalamik fonksiyon üzerine direkt etkisinden ziyade, muhtemelen deneme boyunca bu hayvanlarda gözlenen yem ve su tüketimindeki azalmaya ve iştahsızlığa yorumlanmıştır (Shila ve ark., 2005a; Vahidnia ve ark., 2008) Diğer bir çalışmada (Jadhav ve ark., 2007a) vücut ağırlığının progresif olarak azalması,

maruziyet süresinin uzaması ile birlikte toksisitenin bir sonucu olarak lipit ve proteinlerdeki artan azalmaya bağlı olarak gelişimin geciktiği şeklinde yorumlanmıştır.

Arseniğin sülfidril grubu ile tiyol grubu içeren dokulara gösterdiği ilgiden dolayı, arsenik toksikasyonu en çok karaciğer ve böbreği etkilemektedir (Neves ve ark., 2004; Jadhav ve ark., 2007a; Ghosh ve ark.,2010).

Çalışmada, Grup 3, Grup 8 ve Grup 9'da yer alan ratlarda karaciğerlerin ve böbreklerin dış yüzeyinde, boz beyaz renkte odaklara rastlanmıştır; bu odaklar her iki organın kesit yüzünde de görülmüştür. Ayrıca, karaciğer ve böbreğin organ ağırlıklarında da değişimler kaydedilmiştir. Karaciğer ve böbrek ağırlıkları en yüksek 3. Grupta kaydedilmiş, bunu sırasıyla 8., 9. ve 11. Gruplar izlemiştir (Tablo 3.2.). Karaciğer ve böbrek ağırlıkları yönünden gruplar arasındaki değişim istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Makroskobik bulgular, arsenik ile indüklenmiş ratlarda yapılan pekçok çalışmada karaciğer ve böbreklerde bildirilen (Jadhav ve ark., 2007a; Vahidnia ve ark.,2008; Das ve ark., 2009; Das ve ark.,2010) bulgular ile paralellik göstermiştir. Çalışmada arseniğin *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin etil asetat ekstresi (Grup 10) ve alfa lipoik asit (Grup 12) ile birlikte verildiği gruplarda yer alan ratlarda karaciğerde ve böbreklerde herhangi makroskobik bir bulguya rastlanmamıştır.

Çalışmada karaciğerde, tek başına arsenik verilen Grup 3'deki ratlarda histopatolojik olarak şiddetli hiperemi, kanama, fokal mononükleer hücre infiltrasyonları, Kupffer hücre aktivasyonu, portal alanda bağ doku artışı ile birlikte safra kanalları sayısında artış gözlenmiştir. Karaciğer parankim yapısı tamamen kaybolmuş, sentrilobüler alanlardaki hepatositlerde şişme, vakuolizasyon ve hepatositler arasındaki mesafe genişlemiştir. Periasiner alanlardan başlamak üzere hepatositlerde yaygın dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu gözlenmiş, bu durum, arseniğin endoteliotoksik etkisine yorumlanmıştır (Ratnaik, 2003; Centeno ve ark., 2002).

Çalışmada *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin n-hekzan ve dietilerle ekstreleri ile arseniğin verildiği 8. ve 9. gruptaki ratlarda karaciğerde ve böbrekte gözlenen histopatolojik değişiklikler, tek başına arsenik verilen 3. Gruptaki histopatolojik değişiklikler ile hemen hemen benzer nitelikte ve şiddette idi. Fakat, *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 11.Grupta daha hafif şiddette ve nitelikte histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin etil asetat ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 10. Gruptaki ratlarda karaciğer ve böbreğin histopatolojik muayenesinde herhangi bir yangısal, dejeneratif, nekrotik veya vasküler hiçbir değişikliğe rastlanmadı. Aynı zamanda, *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 11.Gruptaki ratların karaciğer ve böbreklerindeki histopatolojik değişikliklerin 8. ve 9. Gruplara göre daha hafif şiddette olduğu görüldü. Onuncu gruptakine benzer olarak, alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12. Gruptaki (pozitif kontrol grubu) ratlarda da karaciğer ve böbrekte herhangi bir histopatolojik bulgu seçilemedi.

Çalışmada 10. Gruptaki ve 11. Gruptaki (*Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte sodyum arsenit verilen) ratlarda karaciğer ve böbrekte hiçbir histopatolojik bulgunun olmaması, ayrıca 11. Gruptaki ratlarda, 8. ve 9. Gruptaki ratlara göre daha hafif şiddette ve nitelikte histopatolojik değişikliklerin gözlenmiş olması; bitkinin özellikle etil asetat ekstresinin ve kısmen de metanol ekstrelerinin karaciğer ve böbreklerdeki patolojik değişiklikleri önlemede etkili olabileceğini akla getirmiştir. Onuncu gruptaki ratlarda herhangi bir histopatolojik bulgunun gözlenmemiş olması, aynı zamanda alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12.Gruptaki ratlarda da herhangi bir bulgunun gözlenmemiş olması, bitkinin etil asetat ekstresinin karaciğer ve böbrekte alfa lipoik asitin koruyucu etkisine benzer şekilde koruyucu etki yapmış olabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışmada, karaciğer ve böbrekte saptanan patolojik değişiklikler, pek çok çalışmada arsenik toksikasyonu sonucu karaciğer ve böbrekte bildirilen patolojik değişiklikler ile paralellik göstermiştir (Kotsanis ve ark., 1999; Szymanska-Chabowska ve ark., 2002; Jia ve ark., 2004; Neves ve ark., 2004; Shila ve ark., 2005b; Navas-Acien ve ark., 2006; Saad ve ark., 2006; Ahmad ve ark., 2008; Cui ve Okayasu, 2008; El-

Demerdash ve ark., 2009; Manimaran ve ark., 2009; Bera ve ark., 2010; Liu ve ark., 2010 a,b; Ma ve ark., 2010).

Sunulan bu çalışmada gözlenen histopatolojik değişikliklerin bazıları yangından kaynaklanmış olabilir (Neves ve ark., 2004). Arsenik uygulanan farelerin ve ratların karaciğerinde yangısal hücrelerin varlığının fokal hepatoselüler dejenerasyon veya nekroz ile birlikte olduğunu ifade eden yayınlar bulunmaktadır (Flora ve ark., 1997; Liu ve ark., 2000a,b; Santra ve ark., 2000; Wu ve ark., 2001). Bazı araştırmacılar, (Liu ve ark., 2000a,b) arsenik maruziyetinde, yangısal hücrelerin varlığını yangısal inflammatör sitokinlerin (interlöykin-1 β , interlöykin 6, TNF- α) artmış düzeyleri ile ilişkili olabileceğini ifade etmişler, aynı zamanda bu sitokinlerin karaciğerdeki yangısal hücreler tarafından uzaklaştırıldığını ve arseniğin yol açtığı hepatotoksisitede bu sitokinlerin önemli bir rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Karaciğer nekrozu, arsenik tarafından oluşturulan oksidatif stresten dolayı veya selüler protein azalması ile ilgili olabilir (Santra ve ark., 2000). Sinuzoidlerdeki dilatasyon, hepatositlerin nekrozundan veya büzüşmesinden ya da daralmasından ileri gelebilir. Çünkü, arsenik permeabilityyi artırır (Santra ve ark., 2007; Ferzand ve ark., 2008). Arsenik, bazı araştırmacılar (Somia ve ark., 2006; Gupta ve ark., 2005). tarafından da dile getirildiği gibi hücrelerde apoptozise ve nekroza yol açan reaktif oksijen türlerinin düzeyini artırır. Hem hepatositlerde hem de böbrek tubulus epitel hücrelerindeki nükleer şişkinlik bazı araştırmacılar (Somia ve ark.,2006) tarafından da ifade edildiği gibi arsenik tarafından nükleer materyalin bölünmesinden veya ayrılmasından ileri gelmektedir. Sunulan bu çalışmada böbreklerde proksimal tubuluslardaki nekroz ve hidropik dejenerasyon, arsenik toksisitesi nedeniyle artan glomerular filtrasyon ve permeabileden ileri gelebilir ve sonuç olarak proteinlerin sızıntısı olabilir (Ferzand ve ark., 2008). Bu da bazı araştırmacılar (Cullen ve ark., 1995) tarafından da belirtildiği gibi, tubulus epitel hücrelerinde nekroza yol açabilir. Çalışmada proksimal tubulus epitel hücrelerindeki sitoplazmik vakuolizasyon veya dejenere epitel hücreleri gözlenmiş, bu durum stoplazmada vakuol oluşturan protein komponentlerinin özellikle denatürasyonu ve sitoplazmik materyalin azalmasına yorumlanmıştır. Sunulan çalışmada aynı zamanda glomeruluslarda büzüşme ve

Bowman boşluğunda genişleme gözlenmiş, bu durum bazı araştırmacılar tarafından belirtildiği gibi (Roy ve Bhattacharya, 2006) glomeruluslardan Bowman boşluğuna sıvının infiltrasyonuna yorumlanmıştır.

Bazı çalışmalarda (Shila ve ark., 2005b; Ghosh ve ark., 2010) arseniğin yol açtığı hepatotoksik zedelenmenin; süperoksit, hidroksil ve peroksil radikalleri ve hidrojen peroksit olarak isimlendirilen reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ile gerçekleştiği ifade edilmektedir. Arseniğin zararlı etkileri primer olarak fizyolojik sistemdeki pro-oksidant ve antioksidant homeostazis arasındaki dengenin bozulmasından ileri gelmektedir. Aynı zamanda arsenik, proteinlerin sülfidril gruplarına ve glutatyonun tiyol içeren gruplarına bağlanmak için ilgi duyar (Szymanska-Chabowska ve ark., 2002; Cui ve ark., 2004; Cui ve Okayasu, 2008). Bu yüzden, arsenik, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin hızla azalmasını başlatır (Wang ve ark.,1996).

Karaciğerde arsenik maruziyetine karşı lezyonları önlemede koruyucu amaçla pek çok ajan denenmiştir. Nitekim, ratlarda kuarsetinin arseniğin yol açtığı oksidatif stres ve fibrozisi önlemede terapötik etkisinin incelendiği bir çalışmada, ratlara verilen sodyum arsenit serbest oksijen türlerinde artışa, karaciğerde arsenik birikimine ve hepatotoksisiteye yol açmış; aynı zamanda karaciğerde hepatik plazma membran viskozitesinde ve antioksidan enzim düzeyinde azalmaya yol açmıştır. Kapsülsüz kuarsetin verilen grupta, karaciğerdeki histopatolojik değişikliklerin azaldığı, fibrojenesisin ilerlemesinin durduğu ve oksidatif hasara yol açan serbest radikal temizleyici yeteneğinden dolayı bir stres koruyucu olarak rol oynadığı görülmüş, böylece kuarsetinin, lipozomal kuarsetine göre, arseniğin yol açtığı patolojik değişiklikleri kontrol etmede daha etkin olduğu bildirilmiştir (Peres ve ark., 2000; Lee ve ark., 2003).

Arsenik spesifik antidotlarını içeren çok sayıda ilaç, karaciğer hasarını ve nekrozunu azaltmak için denenmiştir. Fakat, bu ilaçların hiçbiri karaciğere spesifik bulunmamıştır. Bununla birlikte, polifenolik flavanoid bir bileşik olan kuarsetinin

karaciğer fibrozisinin gelişimi ve karaciğer hasarını önlemede etkili olduğu görülmüştür (Peres ve ark., 2000; Lee ve Choi, 2003; Lee ve ark., 2003). Diğer bir çalışmada, ratlarda arseniğin oluşturduğu toksisiteye karşı ıspanağın koruyucu etkisi araştırılmış (Islam ve ark., 2009) ve 30 günlük deneme periyodunun sonunda ıspanak ekstraktının karaciğer ve böbrek arsenik düzeylerini azalttığı bildirilmiştir (Islam ve ark., 2009).

Birçok geleneksel hekimlik tedavisinde artrit, gut, dermatit, peptik ülser ve yanık gibi yaraların tedavisinde yararlı olduğu ifade edilen *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*)'nin (Grindlay ve Reynolds, 1986; Chithra ve ark., 1998; Reynolds ve Dweck, 1999) liyofilize tozu % 1, 2 ve 5'lik oranlarında sulandırılıp arsenik toksikasyonuna karşı ratlarda kullanıldığı bir çalışmada (Gupta ve Flora, 2005), *Aloe vera*'nin süperoksit dismutaz, katalaz ile glutatyon oranlarını artırmak suretiyle arseniğin oluşturduğu oksidatif hasara karşı dokuları koruduğu bildirilmiştir (Gupta ve Flora, 2005).

Ratlarda arseniğin oluşturduğu toksisiteyi önlemek için yapılan diğer bir çalışmada, curcumin 100 mg/kg dozunda ratlara içme suyuna katılarak verilmiş (Yadav ve ark., 2010), diğer bir çalışmada ise curcumin gavaj yoluyla 15 mg/kg dozunda verilmiş ve her iki çalışmada da curcuminin oksidatif stresi ve dopaminerjik fonksiyonları düzenleyerek arseniğin karaciğer, böbrek, akciğer, beyin ve testiste yol açtığı oksidatif hasara yönelik etkilerden koruduğu bildirilmiştir (El-Demerdash, 2009). Bu nedenle, fenolik bir bileşik olan curcuminin oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği ve kansere karşı da güçlü koruyucu bir ajan olarak düşünülebileceği ifade edilmiştir (Duvoix ve ark., 2005). Curcuminin bu koruyucu etkisini; serbest radikal temizleyici aktivitesi ve biyokimyasal enzim detoksifikasyon mekanizmasını indüklemesi ile lipid peroksidasyonunu düzelterek gerçekleştirdiği, böylece dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etki gösterdiği şeklinde açıklanmıştır (Manikandana ve ark., 2004).

Cistus incanus ve *Cistus monspeliensis*'in saf sulu ekstraktlarının DNA parçalanması ve serbest radikal temizleme kapasiteleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Attaguile ve ark., 2000), bitkinin ekstraktlarının DNA parçalanması üzerinde koruyucu etkisi bildirilmiş ve doza bağlı olarak serbest radikal temizleme kapasitesine sahip olduğu ileri sürülmüştür. İlgili çalışmada (Attaguile ve ark., 2000) DNA parçalanması analiz sonuçları *Cistus incanus* ve *Cistus monspeliensis*'un sulu ekstraktlarının kuvvetli antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir.

Bir çalışmada, kuarsetinin kurşunun yol açtığı toksik zedelenmeye karşı serbest radikal üretimini azaltarak, antioksidan enzim aktivitelerini yenileyerek, DNA'nın oksidatif hasarını ve apoptozisi azaltarak ve histopatolojik değişikliklerin şekillenmesini önleyerek böbrek fonksiyonlarının normal durumuna getirilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2010a,b).

Diğer bir çalışmada (Neves ve ark., 2004), arsenik toksikasyonuna karşı lipoik asitin karaciğeri, özellikle yangısal reaksiyonları ve hemorajik lezyonları önlemede, hesperidinden daha az etkili olduğu bildirilmiştir. Hesperidin, vasküler sistemde, antiinflamatuvar aksiyonda, enzim modülasyonunda, trombosit ve hücre agregasyon inhibisyonunda, antioksidan etkide ve immunmodülatör aktivitede çok yönlü koruyucu etkilere sahiptir (Garg ve ark., 2001). Hesperidinin bu yaygın koruyucu etkisi, özellikle yangısal hücre infiltrasyonu ve hemorajik pıhtı oluşumunu önlemedeki etkisi, hesperidinin arsenik tarafından oluşturulan lezyonlara karşı çok yüksek koruyucu kapasitesi ile açıklanmaktadır (Garg ve ark., 2001; Neves ve ark., 2004).

Lipoik asit, glutasyon (GSH) düzeylerini ve diğer hücrel redüktantları rejenere etme kapasitesine sahiptir. Bu nedenle, lipoik asit arsenite karşı korunma için iyi bir aday olarak düşünülmüştür. İlgili çalışmada (Neves ve ark., 2004), karaciğer paranziminin yapısının bozulması ve hepatositlerdeki vakuolizasyon glikojen metabolizmasındaki değişikliklere ilişkin olarak bildirilmiş; alfa lipoik asitin yangısal hücre infiltrasyonunu azaltma, sentrilobüler hepatosit şişkinliği ve

karaciğerde hemorajik pıhtıların oluşumunu azaltma yeteneği, bu bileşiğin arsenik toksisitesine karşı koruyucu kapasiteye sahip olabileceği yönünde görüşler bildirilmiştir. Bu durum, alfa lipoik asitin antioksidan aktivitesine bağlanmıştır (Packer ve ark., 1995; Biewenga ve ark., 1997). Lipoik asitin bilinen bu özelliklerinden dolayı, sunulan bu çalışmada arseniğin toksik etkilerine karşı, *Cistus laurifolius* L. (Cistacea) bitkisinin farklı ekstrelerinin etkilerini karşılaştırabilmek için, bir gruba (Grup 12-Pozitif Kontrol Grubu) arsenik ile birlikte lipoik asit verilmiştir.

Sunulan bu çalışmada 3. Grupta daha belirgin olmak üzere, 8., 9., ve 11. Gruplardaki ratlarda karaciğerde portal alanlarda bağ doku artışının şekillendiği, hatta bazı olgularda bağ dokunun yer yer pseudolobül oluşturmaya başladığı görülmüştür. Bu durum, bazı çalışmalarda (Du ve ark., 1999) çok iyi izah edilmiştir. Hepatik fibroziste kritik olay, fibrozis oluşumunda ekstraselüler matriksin ana kaynağı olan lipositlerin aktivasyonudur (Du ve ark., 1999). Bütün bu etkiler ratlarda tanımlanmıştır. Ratlar, diğer hayvanlardan farklı olarak, kandaki sodyum arsenitin anahtar ara metabolitlerinden biri olan dimetil arsenik asidi vücudunda bulundurlar; ratlar, sodyum arsenitin en toksik metabolik ara ürünü olan monometil arsenik asidi oluşturmada diğer türlere göre daha baskındır. Ratlarda sodyum arsenit enjeksiyonundan sonra iki saat içinde, enjekte edilen arsenik dozunun % 30'unun, farelerde ise sadece % 21'inin atıldığı bildirilmiştir. Bu yüzden, arsenik metabolik hızı, fareler ile karşılaştırıldığında, ratlarda daha yüksektir. Monometil arsenik asit, arsenik metabolizması boyunca hem ratlarda hem de insanlarda bir ara toksik ürün olarak üretilmektedir (Styblo ve ark., 2000).

Böbrek, arsenik atılımı için başlıca sorumlu organdır. Bu nedenle böbrek, arsenik ve metabolitleri için hedef organdır (Goering ve ark., 1999; ATSDR, 2000a,b). Bununla birlikte arseniğin indüklediği böbrek hücre toksisitesi ile ilgili klinik raporlar, kurşun ve kadmiyum gibi diğer metallerdekinden daha azdır. Fakat, arsenikli içme sularını alan kişiler arasında artan nefritis ve nefrozis oranlarını belirten çok sayıda raporlar vardır (Goering ve ark., 1999; Liu ve ark., 2000a,b; Ferzand ve ark., 2008).

Arsenik içeren suyun 30, 150 ve 300 ppb dozunda verilerek histopatolojik değişikliklerin incelendiği bir çalışmada karaciğer ve böbrekte, artan doza bağlı olarak dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin şekillendiği bildirilmiştir. Dejeneratif değişikliklerden dolayı hücrelerin stoplazmik vakuolizasyon ve nüklear şişkinlik gösterdiği ve Bowman boşluğunun genişlediği bildirilmiştir (Ferzand ve ark., 2008). Sunulan bu çalışmada da böbreklerde benzeri histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir.

Arsenik verilen farelerde böbreklerdeki patolojik değişikliklerin incelendiği bir çalışmada (Liu ve ark., 2010a), DNA hasarının bir belirteci olarak 8 OHdG'nin immunaktivitesi proksimal konvolut tubulus epiteli ve Bowman kapsülünde tanımlanmıştır. Sunulan bu çalışmada da böbrekte metalotionin (MT) için yapılan immunohistokimyasal boyamalarda proksimal tubuluslarda ve Bowman kapsülünde MT immunreaktivitesi saptanmıştır. İlgili çalışmanın (Liu ve ark., 2010a) sonuçları, kronik arsenik maruziyetinin özellikle proksimal konvolut tubulus epitel hücrelerinde ve Bowman kapsülünün podositlerinde hasara yol açtığı, bu yapıların arseniğin yol açtığı nefrotoksisiteye karşı daha hassas olduğu ifade edilmiştir. Arseniğe maruz kalan farelerde böbrek dokusunda selüler şişme, tubuler dilatasyon ve lenfositik infiltrasyon ile birlikte glomeruluslarda azalmadan söz edilmiştir (Liu ve ark., 2010a). Arsenik proteinlerde ve DNA'da lipit peroksidasyonuna ve oksidatif hasara yol açan serbest radikalleri oluşturur (Flora, 1999; Ding ve ark., 2005; Wang ve ark., 2007). Bu sonuçlar, artan oksidatif stresin ve daha sonra hücrelerdeki oksidatif DNA hasarının, arseniğin yol açtığı böbrek lezyonları ile ilgili olduğunu göstermektedir (Akagi ve ark., 2003; Thirunavukkarasu ve Sakthisekaran, 2003). Sunulan bu çalışmada da böbreklerde proksimal tubuluslarda tespit edilen bulgulara paralel olarak, pek çok çalışmada (Brown ve ark., 1976; Yang ve ark., 2004) arsenik toksikasyonunda böbreklerin başlıca hedef organ olduğu ve proksimal tubulusların ve Bowman kapsülünün arseniğin yol açtığı nefrotoksisiteye karşı daha hassas olduğu görülmüştür. Proksimal konvolut tubuluslar özellikle yüksek reabsorbtif aktivitesi ve anatomik pozisyonundan dolayı filtre edilen toksik ajanlara maruz kalan ilk böbrek tubulus epitel hücreleri olduğundan, toksik ajanlara karşı daha hassastır (Madden ve Fowler, 2000; Liu ve ark., 2000a). Benzer olarak, pek çok araştırmacı

tarafından da (Tsukamoto ve ark, 1983; Ratnaïke, 2003) arsenik toksisitesi ve birikimi için böbrekler başlıca hedef organ olarak gösterilmiştir.

Biyoindikatör olarak su kirliliğinin izlenmesinde ve besin zinciri yoluyla kirliliğın diğer canlı sistemler üzerine etkilerinin araştırılmasında önemli bir rol oynayan balıklar ağır metal zehirlenmesi çalışmalarında, bilgi vermesi açısından sıkça kullanılmaktadırlar. Çünkü balıklar, sucul ortamda meydana gelen değişimlere karşı hassas oldukları gibi, çok kısa sürede fizyolojik ve biyokimyasal yanıt oluşturabilmektedirler (Dündar, 2010). Nitekim, balıklarda yapılan bir çalışmada, arsenik, propolis ve arsenik+propolis verilen balıkların karaciğer, solungaç ve kas dokularının MDA ve CAT değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, propolis grubu MDA düzeyi ve CAT aktivitesinin kontrol grubuna yakın değerlerde olduğu bildirilmiş, arsenik ve arsenik+propolis uygulanan balıkların dokularında CAT aktivitesi, kontrol grubu değerlerine göre anlamlı bir azalma gösterirken, MDA düzeyleri artmıştır. Arsenik+propolis ve arsenik gruplarında bulunan hayvanların dokularından elde edilen değerler arasındaki değişime bakıldığında; arsenik uygulama grubuna göre arsenik+propolis grubunda CAT aktivitesinde artışın meydana geldiği, MDA seviyesinde ise azalmanın görüldüğü bildirilmiştir (Dündar, 2010). Arsenik uygulamasının yanı sıra bir antioksidan olan propolisinin birlikte verildiği hayvanlarda arseniğın zararlı etkilerine karşı korunmada, özellikle propolisininde bulunan flavonoidlerin rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bu etkiyi flavonoidlerin iyi bir hidrojen ve elektron vericisi olması sebebiyle gerçekleştirebildiği ve bu özelliğiyle propolisinin, hücresel membranların yapısında bulunan doymamış yağ asitlerini oksidantlara ve lipit peroksidasyonuna karşı koruyarak, bir antioksidan gibi rol oynayıp arseniğın zararlı etkilerini elimine ettiği şeklinde açıklanmıştır (Edenharder ve ark., 1993; Seven ve ark., 2007).

Hücrelerde meydana gelen membran hasarları lipit peroksidasyonunun uyarılmasına ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalmasına neden olur (Seven ve Candan, 1995). Hücre zarının yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hasarlı dokularda lipit peroksidasyonunun daha hızlı ilerlemesi ve dokulardaki peroksidasyona yatkınlığın artması antioksidan enzim aktivitelerinin

inaktivasyonunun veya metal iyonlarının hücre içinde serbest hale gelmesinin bir sonucudur (Seven ve Candan, 1995). Lipit peroksidasyonun başlamasında ve ilerlemesinde rol oynayan en önemli faktörlerden biri de ROT'ların artışıdır. ROT'un hücre bileşenlerine oksidatif saldırısı sonucu canlı sistemlerde birçok hasar olduğu belirtilmiştir (Sare ve ark., 2002). Oksidatif stresin biyolojik indikatörlerinin artışı ve modifikasyonların meydana gelmesi, bazı patolojik durumların tespitinde belirleyici bir rol oynamaktadır (Wasowicz ve ark., 1993). Bu indikatörlerden biri de lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'dır. MDA konsantrasyonu serbest radikallerin sebep olduğu toksik süreçle doğrudan ilişkilidir (Duran ve Talas, 2009).

Bir çalışmada arsenik, kadmiyum, kurşun, civa, krom, manganez, demir ve nikel metallere karışımını içeren içme suyu subkronik toksisite için doksan gün boyunca ratlara mod konsantrasyonunun 0, 1, 10 ve 100 katı oranında verilmiş; karışımın toksik etkisi, serum kimyası ve vital organların histopatolojisi değerlendirilmiştir. Metal karışımının ratlarda vücut ağırlığı ve su tüketimini azalttığı; 10 ve 100 kat fazla verilen ratlarda beyin, karaciğer ve böbrek ağırlıklarını ise artırdığı gözlenmiştir. Maruziyetten otuz gün sonra kan değerlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiş, yalnızca 100 kat dozda verilenlerde altmış gün sonra; 10 ve 100 kat verilenlerde doksan gün sonra aspartat aminotransferaz (AST), alkalik fosfataz, üre nitrojen değerleri ve kreatin değerlerinin arttığı ifade edilmiştir. Doza bağlı olarak beyin, karaciğer ve böbreklerde vasküler, dejeneratif ve nekrotik değişiklikler bildirilmiştir (Jadhav ve ark., 2007a).

Karaciğer zedelenmesi genellikle karaciğer fonksiyon testlerinin yardımıyla ortaya konur. Bunların birçoğu karaciğere spesifik olmadığı halde, eğer bu enzim değerlerinde değişimler varsa karaciğer lezyonları düşünülmelidir. Bu testler serum ALT ve AST ölçümlerini içerir. Serum ALT ve AST düzeyleri ise karaciğer nekrozu veya artmış hücre membran permeabilitesini; serum albumin ise biyosentetik kapasiteyi ifade eder. Serum ALP düzeyleri aynı zamanda safra atılımının bir indeksi olarak değerlendirilmektedir (Travlos ve ark., 1996; Pineiro-Carrero ve Pinerio, 2004).

Ağır metallerin yol açtığı serbest radikaller ve sonuçta oksidatif stres hepatositlerdeki ve nefronlardaki nekroz ve apoptozis için önemli mekanizmalardan biridir (Reed, 1998; Shaikh ve ark., 1999; Liu ve ark., 2000a; El-Demardash ve ark., 2004; Valko ve ark., 2005; Bashir ve ark., 2006). Ratlarda 10 ve 100 kat dozda metal karışım düzeylerinin karaciğer, böbrek, beyin, dalak ve eritrositlerde lipid peroksidasyonunu artırdığı ve antioksidan savunma sistemini yıkımladığı bildirilmiştir (Jadhav ve ark., 2007a,b).

Absolut böbrek ağırlığındaki değişim kısmen nefrotoksik bileşikler için bilinen nefrotoksisitenin hassas bir işaretidir (Kluwe, 1981). Serum üre nitrojen ve kreatin konsantrasyonları böbrek fonksiyonlarının ve yapısının bozulduğunun bir işareti olarak değerlendirilir. Böbrekler, fonksiyonel ve strüktürel olarak toksikasyonlara karşı en hassas organdır. Böbrekler, özellikle proksimal tubuluslar ağır metal toksisitesinde ilk hedef yapılar olarak düşünülür (Bell ve ark., 1990; Kim ve Na, 1990; Gupta ve ark., 2000; Madden ve Fowler, 2000; Fernandez-Real ve ark., 2002; Barbier ve ark., 2005; Navas-Acien ve ark., 2006). Sunulan bu çalışmada da böbrekteki patolojik değişikliklerin özellikle proksimal tubuluslarda şekillenmiş olması, ilgili araştırmacıların görüşlerini desteklemektedir.

Sunulan bu çalışmada, serum biyokimyasal değerleri ile ilgili olarak AST, ALT, GGT, glikoz, total kolesterol, total protein ve üre değerlerinde artışlar kaydedilmiştir (Tablo 3.3). Bu değerlerin, tek başına arsenik verilen 3. Grup ratlarda en yüksek düzeye eriştiği, bunu 8. Grup; 9. Grup ve 11. Grup izledi. Serum biyokimyasal değerlerdeki AST, ALT, Glikoz ve Üre düzeylerindeki bu artışların gerek arsenik verilen gruplar ile kontrol grupları arasında, gerekse arsenik verilen gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) olduğu görüldü. GGT, total kolesterol ve total protein düzeylerindeki artışlar ise önemsizdi ($p > 0,05$).

Kan MDA, GSH, CAT ve SOD değerlerine bakıldığında (Tablo 3.4), MDA düzeylerinin yükseldiği, GSH, CAT ve SOD düzeylerinin ise düştüğü görülmüştür.

MDA düzeylerindeki artış tek başına arsenik verilen 3. Grup ratlarda en yüksek düzeye eriştiği, bunu 8. Grup; 9. Grup ve 11. Grup izledi. Bu artışların gerek arsenik verilen gruplar ile kontrol grupları arasında, gerekse arsenik verilen gruplar arasında istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu görüldü. CAT ve SOD düzeylerindeki düşme ise gerek arsenik verilen gruplar ile kontrol grupları arasında, gerekse arsenik verilen gruplar arasında istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$); GSH düzeyindeki düşme ise, gruplar arasında önemsiz ($p>0,05$) idi.

Karaciğer (Tablo 3.6) ve böbrek (Tablo 3.7) dokularına ait MDA, GSH ve SOD değerleri incelendiğinde, karaciğer MDA düzeyinin arttığı, GSH, CAT ve SOD değerlerinin ise azaldığı görüldü. MDA düzeyindeki artış en yüksek Grup 3 de, daha sonra Grup 8 ve Grup 9 da kaydedildi. Bu artış, gerek kontrol grupları ile gerekse arsenik verilen gruplar arasında karşılaştırıldığında önemli ($p<0,05$) idi. GSH ve CAT düzeylerindeki düşme önemli ($p<0,05$) iken, SOD aktivitesindeki düşme önemsiz ($p>0,05$) olarak yorumlandı. Böbrek MDA düzeyinin arttığı, GSH, CAT ve SOD değerlerinin ise azaldığı görüldü. MDA düzeyindeki artış gerek kontrol grupları ile gerekse arsenik verilen gruplar arasında karşılaştırıldığında önemsiz ($p>0,05$); GSH ve CAT düzeylerindeki düşme önemli ($p<0,05$); SOD aktivitesindeki düşme ise ($p>0,05$) önemsizdi.

Haftalık açlık kan şekeri ölçüm değerlerine bakıldığında, (Tablo 3.5) ikinci haftadan itibaren gruplarda açlık kan şekeri değerlerinde artış yönünde değişimler kaydedildi. Bu değişimler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sadece 3. Grupta önemli ($p<0,05$); diğer gruplarda önemsiz ($p>0,05$) bulundu.

Snulan bu çalışmada kaydedilen serum AST, ALT, GGT, glikoz, üre, total protein ve total kolesterol; kan, karaciğer ve böbrek MDA, GSH, CAT, SOD değerlerindeki değişimler gerek arsenik toksikasyonu sonucu gerekse arsenik toksikasyonuna karşı koruyucu amaçla doğal ekstrelerin ya da ilaçların kullanıldığı pek çok çalışmada bildirilen biyokimyasal değişimler ile paralellik gösteriyordu (Kokilavani ve ark., 2005; Shila ve ark.,2005a; Shila ve ark., 2005b; Jadhav ve ark.,

2007a; Mandal ve ark., 2007; Bera ve ark., 2010; Das ve ark., 2009; El-Demerdash ve ark.,2009; Manimaran ve ark., 2009; Ghosh ve ark., 2010).

Mevcut araştırmada, bütün gruplarda pankreasta makroskopik bir değişikliğe rastlanamazken, tek başına arseniğin verildiği Grup 3'deki ratlarda histopatolojik olarak ekzokrin epitel hücrelerinde parankim dejenerasyonu ve yağ dejenerasyon ile karakterize dejeneratif değişiklikler gözlendi. Bazı ekzokrin epitel hücrelerinde de mineralizasyona ilişkin değişiklikler vardı. İnterstisyel alanlardaki damarlar genellikle hiperemikti. Mikroskop sahasında Langerhans adacıkları azalmış ya da tamamen silinmişti.

Çalışmada *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin n-hekzan ve dietileter ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 8. ve 9. Gruplardaki ratlarda pankreasta gözlenen histopatolojik değişiklikler, tek başına arsenik verilen 3. Gruptaki histopatolojik değişiklikler ile benzer nitelik ve şiddette idi. *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 11. Grupta daha hafif şiddette ve nitelikte histopatolojik değişiklikler gözlendi. *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin etil asetat ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 10. Gruptaki ratlarda pankreasta histopatolojik olarak yangısal, dejeneratif, nekrotik veya vasküler herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Aynı zamanda, *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 11. Gruptaki ratların pankreasının histopatolojik incelemesinde 8. ve 9. Gruplara göre daha hafif şiddette dejeneratif, nekrotik ve vasküler değişiklikler dikkati çekti.

Çalışmada 10. Gruptaki ratlarda pankreasta hiçbir histopatolojik bulgunun olmaması, ayrıca 11. Gruptaki ratlarda, 8. ve 9. Gruptaki ratlara göre daha hafif şiddette ve nitelikte histopatolojik değişikliklerin gözlenmiş olması; bitkinin etil asetat ve kısmen de metanol ekstrelerinin pankreasta patolojik değişiklikleri önlemede etkili olabileceğini düşündürmüştür. Onuncu gruptaki ratlarda herhangi bir histopatolojik bulgunun gözlenmemiş olması, alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12. Gruptaki ratlarda da herhangi bir bulgunun olmaması, aynı zamanda

bitkinin etil asetat ekstresinin pankreasta alfa lipoik asitin koruyucu etkisine benzer şekilde etki yaptığını akla getirmektedir.

Bir çalışmada, tavşanlarda oral arsenik trioksit uygulamasının glikoz tolerans testini değiştirdiği, aynı zamanda arsenik verilen gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Langerhans adacıklarının hücrelerinde önemli azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Mukherjee ve ark., 2004). İlgili çalışmada arsenik uygulamasından sonra normal oral glikoz tolerans testinin diyabetik forma değişimi oksidatif stres oluşturan enzimler veya ürünleri tarafından Langerhans adacıklarında zedelenmeye yol açmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Mukherjee ve ark., 2004). Benzer olarak, *Cistus laurifolius* L. (Cistacea) bitkisinden izole edilen kuarsetin-3-metil eterin (isorhamnetin) aldoz redüktaz aktivitesini inhibe ettiği (Küpeli ve ark., 2006; Enomoto ve ark., 2004) ve bu yüzden kuarsetin-3-metil eterin (isorhamnetin) diyabet ile birlikte gelişen komplikasyonları önlemede kullanılabileceği ifade edilmiştir (Enomoto ve ark., 2004). Nitekim, in vivo ve in vitro olarak yapılan diğer bir çalışmada (Navas-Acien ve ark., 2006) kronik arsenik maruziyetinin diyabetin gelişimine yol açtığı bildirilmiştir (Navas-Acien ve ark., 2006). Sunulan bu çalışmada da, tek başına arseniğin verildiği 3. Grup ile ayrıca 8. ve 9. Gruplardaki ratların pankreasında Langerhans adacıklarının azalması ya da tamamen silinmiş olması, ilgili literatürler (Mukherjee ve ark., 2004; Navas-Acien ve ark., 2006; Ferzand ve ark., 2008) ile uyum içinde olduğunu göstermektedir. Sunulan bu çalışmada pankreasta saptanan patolojik değişikliklerin (3. Grup, 8. Grup ve 9. Grup), literatüre (Mukherjee ve ark., 2004; Navas-Acien ve ark., 2006; Ferzand ve ark., 2008) paralellik gösterdiği görülmüş, bununla birlikte 10. ve 12. Gruplarda herhangi bir patolojik değişikliğin görülmemesi, ayrıca bu gruplarda glikoz değerlerinin normal biyokimyasal sınırlar içinde kalması, bitkinin etil asetat ekstresinin pozitif kontrol grubunda (Grup 12) olduğu gibi, pankreasta koruyucu etkiye sahip olabileceğini düşündürmüştür.

Arseniğin canlılar üzerine toksik etkilerinin incelendiği çalışmalarda, diğer organ ve sistemlerdeki hasarın yanı sıra merkezi sinir sisteminin de etkilendiği bildirilmiştir (Jadhav ve ark., 2007a). Bu çalışmada, 3., 8., 9. ve 11. Gruplardaki

ratlarda makroskopik olarak beyin ve beyinciğin dış yüzeyindeki damarlar genişlemiş, dolgun ve hiperemikti. Histopatolojik incelemelerde de tek başına arsenik verilen Grup 3'deki ratlar ile *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin n-hekzan, dietileter ve metanol ekstraktları ile arseniğin verildiği 8., 9. ve 11. gruptaki ratlarda histopatolojik olarak; beyindeki kapiller damarlar hiperemik ve kanamalı idi. Perivasküler dilatasyon belirgindi. Nöron dejenerasyonu ile birlikte dejenerasyon nöronların yoğun olduğu bölgelerde fokal gliozis ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Jadhav ve ark., 2007a). Sunulan bu çalışmada beyin ve beyincikte saptanan patolojik değişiklikler, arsenik toksikasyonu sonucu beyin ve beyincikte histopatolojik değişiklikleri bildiren çalışmaların (Shila ve ark., 2005b; Navas-Acien ve ark., 2006; Jadhav ve ark., 2007a; Vahidnia ve ark., 2008) sonuçları ile genellikle uyum içinde bulundu.

Sunulan bu çalışmada 8. ve 9. gruptaki ratlarda beyinde gözlenen histopatolojik değişiklikler, 3. gruptaki histopatolojik değişiklikler ile hemen hemen benzer nitelik ve şiddette idi. *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin etil asetat ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 10. gruptaki ratlarda beyinin histopatolojik muayenesinde herhangi bir yangısal, dejeneratif, nekrotik veya vasküler değişikliklere rastlanmadı. Benzer olarak, alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12. gruptaki ratlarda da beyin ve beyincikte herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. Sunulan bu çalışmada 10. gruptaki ratlarda beyin ve beyincikte hiçbir histopatolojik bulgunun olmaması, alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12. gruptaki ratlarda da herhangi bir bulgunun olmaması, aynı zamanda bitkinin etil asetat ekstresinin beyin ve beyincikte alfa lipoik asitin koruyucu etkisine benzer etki yaptığını düşündürmektedir (Shila ve ark., 2005b; Navas-Acien ve ark., 2006; Vahidnia ve ark., 2008).

Sinir sistemi birçok metal için önemli bir hedeftir. Arsenik, civa, kurşun ve manganeze kronik maruziyet nörotoksositeye yol açar (Goyer ve Clarkson, 2001). Bir çalışmada (Goyer ve Clarkson, 2001), beyinde gözlenen vasküler ve dejeneratif değişikliklerin nörotoksositeye yol açan toksik ajanların yüksek maruziyeti ile ilişkili olabileceği bildirilmiş; nöroprotektif etkilerinin çalışıldığı bir çalışmada kuarsetin-3-

metil eterin, oksidatif stresin yol açtığı nörolojik bozuklukların tedavi ve önlenmesinde yararlı olabileceği belirtilmiş, bu nedenle kuarsetin-3-metil eter güçlü ve umut verici nöroprotektif bir ajan olarak gösterilmiştir (Dok-Go ve ark., 2003).

Sunulan bu çalışmada sadece arsenik verilen Grup 3'deki ratlar ile 8. Gruptaki, 9. Gruptaki ve 11. Gruptaki ratlarda dalak organ ağırlığında artış gözlemlendi (Tablo 3.2); en fazla artış 3. Grupta kaydedildi. Bunu sırasıyla 8., 9., ve 11. Gruplar takip etti. Dalak organ ağırlığındaki bu artışlar istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0,05$). Dalakta bütün gruplarda herhangi bir makroskobik lezyona rastlanmadı. Gerek arseniğin tek başına verildiği 3. Grupta, gerekse bitki ekstraktları ile birlikte arseniğin verildiği diğer gruplarda histopatolojik olarak makrofajlarda yaygın hemosiderin pigmentinin görülmesi arseniğin hemolitik etkisine yorumlandı. Arsenik toksikasyonu ile ilgili çalışmalarda pek çok organ ile ilgili patolojik değişiklikler bildirilmekle birlikte dalaktaki histopatolojik değişiklikleri bildiren sınırlı sayıda yaygın bulunmaktadır (Ferzand ve ark., 2008; Sakurai ve ark., 2004). Bu çalışmalarda (Ferzand ve ark., 2008; Sakurai ve ark., 2004) lenfositlerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile lenfositlerde yaygın nekroz ve şiddetli bağ doku proliferasyonu bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada ise lenfositlerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gözlenmemiştir.

Sunulan bu çalışmada balık eti görünümü ve gevşek kıvamı dışında kalpte makroskobik olarak kayda değer bir bulguya rastlanmadı. Kalp ağırlıklarında artışlar kaydedildi; en fazla artış 3. Grupta gözlemlendi. Bunu sırasıyla 8., 9., ve 11. Gruplar takip etti. Bu artışlar istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0,05$). Sunulan çalışmada, tek başına arsenik verilen Grup 3'deki ratlarda histopatolojik olarak kalpte hiyalin dejenerasyonu ve bazı olgularda Zenker nekrozuna ilişkin bulgular saptanmış, kalp kası bütünlüğü genellikle kaybolmuştu. Kalp kasında şişme ve intersitisyel ödem bazı olgularda belirgindi. Bazı olgularda mononükleer hücre infiltrasyonları vardı. Çalışmada *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin n-hekzan ve dietileter ekstresi ile arseniğin verildiği 8. ve 9. Gruptaki ratlarda kalpte gözlenen histopatolojik değişiklikler, tek başına arsenik verilen 3. Gruptaki histopatolojik değişiklikler ile hemen hemen benzer nitelik ve şiddette idi. *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae)

bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 11. Grupta daha hafif şiddette histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin etil asetat ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 10. Gruptaki ratlarda kalpte yangısal, dejeneratif, nekrotik veya vasküler herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Aynı zamanda, *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 11. Gruptaki histopatolojik değişiklikler 8. ve 9. Gruplara göre daha hafif şiddette idi. Benzer olarak alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12. Gruptaki (Pozitif Kontrol Grubu) ratlarda da kalpte herhangi bir histopatolojik bulgu seçilemedi.

Sunulan çalışmada *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin etil asetat ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 10. Gruptaki ratlarda kalpte hiçbir histopatolojik bulgunun olmaması, ayrıca *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin metanol ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 11. Gruptaki ratlarda, *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin n-hekzan ve dietil eter ekstresi ile birlikte arseniğin verildiği 8. ve 9. Gruptaki ratlara göre daha hafif şiddette ve nitelikte histopatolojik değişikliklerin gözlenmiş olması; bitkinin özellikle etil asetat ekstresinin ve kısmen de metanol ekstresinin kalpte koruyucu etkiye sahip olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca, 10. Gruptaki ratlarda herhangi bir histopatolojik bulgunun gözlenmemiş olması, alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12. Gruptaki ratlarda da herhangi bir bulgunun olmaması, bitkinin etil asetat ekstresinin kalpte alfa lipoik asitin koruyucu etkisine benzer şekilde etki yaptığını akla getirmektedir. Sunulan bu çalışmada kalpte saptanan patolojik değişiklikler, pek çok çalışmada arsenik toksikasyonu sonucu olduğu bildirilen patolojik değişiklikler ile uyum içinde bulunmuştur (Manna ve ark., 2008; Das ve ark., 2010). Nitekim, bir çalışmada da sodyum arsenit verilmeden önce kuarsetin uygulamasının arseniğin yol açtığı oksidatif stresi ve kalp kasında meydana gelen patolojik değişiklikleri önleyici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Das ve ark., 2010).

Akdeniz bölgesinde yetişen tıbbi bir bitki olan *Cistus ladaniferus* L.'nin farklı farmakolojik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bitkinin antihipertansif etkilerinin olup olmadığı araştırılmış ve bitkinin sulu ekstraktlarının hipertansiyonlu hayvan

modellerinde sistemik kan basıncını azalttığı bildirilmiş, bitkinin ekstraktlarının aynı zamanda hipertansiyonlu hayvan modellerinde bozulmuş endotel fonksiyonları normale çevirerek kalp ve vasküler dokuları koruduğu ileri sürülmüştür. (Belmokhtar ve ark., 2009; Das ve ark., 2010).

Yapılan çalışmalarda kadmiyum verilen ratların testislerinde dissemine intravasküler koagülasyonun şekillendiği bildirilmiş, kadmiyumun verilmesiyle testislerde damar endotel hasarı şekillendiği, buna bağlı olarak kapiller permeabilite artışı, ödem, bölgesel eritrosit miktarında ve kan viskozitesinde artış görüldüğü, trombosit agregasyonu sonucu oluşan trombozun sirkülasyonu engellediği ve bunun sonucunda testislerde iskemik lezyonların oluştuğu ifade edilmiştir (Aoki ve Hoffer 1978; Erdem, 2010). Mikrovasküler tıkanıklığın iskemiyle sonuçlanmasının sebebi olarak, ratlarda testis arterlerinin end arter özelliğinden ileri geldiği bildirilmiştir. Arsenik verilen ratlarda testiste şekillenen patolojik değişiklikler ile ilgili, kadmiyuma göre daha az sayıda yaygın bulunduğundan, sunulan bu çalışmada testis lezyonlarının patogenezisi ile ilgili herhangi bir yorumda bulunulamamış, fakat rat testis arterlerinin end arter özelliğe sahip olmasından dolayı ve arseniğin de kadmiyum gibi bir ağır metal olması nedeniyle, sunulan bu çalışmada testis ve epididimiste saptanan patolojik değişiklikler için de benzer mekanizmanın geçerli olabileceği düşünülmüştür.

Kadmiyumun testislerde oluşturduğu değişikliklerin ve bu değişiklikler üzerine MT'in etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Çolakoğlu ve ark 2004), oluşan hasarla birlikte TSK çaplarının da ölçüldüğü, kadmiyum ve kadmiyumla birlikte MT verilen gruplarda TSK çaplarında, kontrol grubuna göre anlamlı bir azalmanın görüldüğü bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada da, arseniğin tek başına verildiği 3. Grupta ve bitki ekstreleri ile birlikte arseniğin verildiği 8., 9. ve 11 Gruplarda TSK çaplarının küçük olduğu dikkati çekmiş ve bu değerlerin istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu görülmüştür.

Kadmiyumun testiste neden olduğu bozukluklarla birlikte epididimisin de bu hasara bağlı olarak etkilendiği bildirilmiştir (Gupta ve ark., 1967; Gunn ve ark., 1970; Lanning ve ark., 2002; Erdem, 2010). Kadmiyum toksikasyonuna bağlı olarak spermatogeneziste meydana gelen bozukluklar sonucunda sperm üretiminde veya testisten salınan sperm sayısında azalma meydana gelebileceği belirtilmiş, bunun sonucunda epididimis kanal lumenlerindeki sperm içeriği ve konsantrasyonunda azalmalara bağlı olarak epididimis ağırlığında azalmanın gözlenebileceği belirtilmiştir. Sunulan bu çalışmada da benzer şekilde testiste dejeneratif ve nekrotik değişikliklerle birlikte testis ağırlığında azalmanın görülmesi bu görüşü destekler nitelikte bulunmuştur (Erdem, 2010).

Sunulan bu çalışmada, deneme periyodunun sonunda nekropsileri yapılan bütün ratların testis organ ağırlıkları, sağ ve sol testis olmak üzere ayrı ayrı tartılmıştır (Tablo 3.2). Çalışmada, makroskobik olarak, kontrol grubu olarak tutulan Grup 1, Grup 2 ve Grup 12'deki ratların testislerinin; ayrıca Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 7'deki ratların testislerinin makroskobik olarak normal görünümde oldukları tespit edilmiş; 3. Gruptaki ratların testis ve epididimislerinin genellikle küçük yapıda, hafif sert kıvamda ve genellikle solgun bir görünümde oldukları, bazılarında ise üst yüzündeki damarların konjesyone ve dolgun olduğu dikkati çekmiştir. Sunulan bu çalışmada 8. Grupta, 9. Grupta ve 11. Gruptaki ratların testis ve epididimislerinin küçük yapıda, sert kıvamda ve solgun bir görünümde oldukları, bazı olgularda dış yüzündeki damarların hafif konjesyone olduğu dikkati çekmiştir. Onuncu gruptaki ratlarda testiste herhangi bir makroskobik bulguya ratlanılmamıştır. Sunulan bu çalışmada arsenik verilen grupların testislerindeki makroskobik görünüm, kimi araştırmacılar tarafından (Ahmad ve ark., 2008) da belirtildiği gibi, testis dokusundaki azalmış vaskülariteye yorumlanmıştır.

Sunulan bu çalışmada kontrol grubu olarak tutulan 1., 2. ve 12. Gruplar ile Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 7'deki ratların da testislerinin mikroskobik olarak normal görünümde oldukları tespit edilmiştir. Tek başına arsenik verilen 3. Gruptaki ratlarda ise tunika albugineanın kalınlaştığı, kan damarlarının seyrekleştiği ve yer yer kollabe oldukları, TSK'ların çoğunun çaplarının küçüldüğü ve seyrekleştiği

görülmüştür. Bu TSK'ların bazal membranları aynı zamanda kalınlaşmış ve hyalinize olmuştur. Tubulusların çoğunun spermatogonya ve spermatositleri içerdiği, bazı hücrelerde çekirdek membranının parçalandığı ve karyoreksise uğradığı görülmüştür. Bazı tubulusların sadece spermatogonya içerdikleri, kan damarlarının azaldığı ve kollabe olduğu tespit edilmiştir. İntersitisyel Leydig hücrelerinde hafif şiddette dejeneratif değişiklikler gözlenmiştir. Bu çalışmada 8. Grupta histopatolojik olarak şekillenen değişikliklerin, 3. grupta bildirilen değişikliklere benzer nitelik ve şiddette olduğu gözlenmiş, TSK'ların çoğunun çaplarının küçüldüğü ve seyrekleştiği, bazal membranlarının kalınlaştığı ve hyalinize olduğu dikkati çekmiştir. Dokuzuncu ve 11. Gruptaki ratların testislerinde saptanan histopatolojik bulguların, 8. Gruptaki ratlarda saptanan histopatolojik bulgular ile benzer tipte olduğu tespit edilmiş, fakat bu bulguların şiddeti ve tiplerinin 9. Grupta 8. Gruba göre; 11. Grupta da 9. Gruba göre azaldığı dikkati çekmiştir. Onuncu gruptaki ratların testislerinde kayda değer hiçbir histopatolojik bulguya rastlanılmamıştır. Benzer şekilde alfa lipoik asit ile birlikte arseniğin verildiği 12. Gruptaki ratların testislerinde de herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır.

Sunulan bu çalışmada bütün gruptaki ratların testislerinde TSK çapları ölçülmüş (Tablo 3.11), 3. Grupta TSK çaplarının en küçük değerlerde olduğu saptanmış, bunu sırasıyla 8. Grup, 9. Grup ve 11. Gruptaki ratların TSK çaplarının ölçümleri izlemiştir. TSK çaplarının ölçüm değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur. Sunulan bu çalışmada testiste saptanan patomorfolojik değişiklikler, kimi araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi testisin dejeneratif ve atrofik değişikliklerine yorumlanmış, saptanan makroskobik ve mikroskobik değişikliklerin, testiste bildirilen çalışmaların sonuçları (Neves ve ark., 2004; Ahmad ve ark., 2008) ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

Rat testislerinde sodyum arsenitin yol açtığı oksidatif stres ve apoptozise karşı taurinin koruyucu etkilerinin incelendiği bir çalışmada (Das ve ark., 2009), sodyum arsenit ratlara 10 mg/kg dozunda verilmiş ve testiste apoptozise yol açtığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada arsenik maruziyeti reaktif oksijen türlerinin düzeylerini ve lipid peroksidasyonunu artırmış, antioksidan enzimleri ve GSH düzeylerini

azaltmıştır. Taurin uygulanmasının ise arseniğin testiste yol açtığı hasarları ve oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (Das ve ark., 2009). Oksidatif stres, erkek reproduktif yetmezlikte başlıca sebep olarak gösterilmektedir (Kaur ve Bansal, 2004). Doymamış yağ asitlerinin yüksek konsantrasyonu ve düşük antioksidan kapasiteden dolayı spermatogenetik hücreler oksidatif strese karşı duyarlıdırlar (Cozzi ve ark., 1995; Vernet ve ark., 2004). Sunulan bu çalışmada da sodyum arsenit toksikasyonuna karşı *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin farklı ekstreleri kullanılmış, ayrıca arsenik ile birlikte lipoik asitin verildiği 12. Gruptaki ratlar pozitif kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada 10. Gruptaki ratların testislerinde, pozitif kontrol grubu olarak tutulan 12. Gruptaki ratların testislerinde olduğu gibi, herhangi bir patolojik değişikliğin şekillenmemiş olması, hem pozitif kontrol grubunda lipoik asitin koruyucu etkinliğini gösterdiğini, hem de etil asetat ekstresinin arsenik toksikasyonuna karşı testisleri korumada lipoik asit gibi etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Ağır metaller, antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltıp serbest radikal üretimini arttırdığı için hücresel membranlarda lipit peroksidasyonun oluşumuna yol açmaktadırlar (Atlı ve ark., 2006). Hücrelerde meydana gelen membran hasarları lipit peroksidasyonunun uyarılmasına ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalmasına neden olur. Hücre zarlarının yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hasarlı dokularda lipit peroksidasyonunun daha hızlı ilerlemesine ve dokulardaki peroksidasyona yatkınlığın artmasına yol açar. Hücredeki bu değişimler antioksidan enzim aktivitelerinin inaktivasyonunun ve metal iyonlarının hücre içinde serbest hale gelmesinin bir sonucudur (Seven ve ark., 2007). Lipit peroksidasyonun başlamasında ve ilerlemesinde rol oynayan en önemli faktörlerden biri reaktif oksijen türlerinin artışıdır. Reaktif oksijen türlerinin, hücre bileşenlerine oksidatif saldırısı sonucu canlı sistemlerde birçok hasar olduğu bildirilmiştir (Sare ve ark., 2002). Oksidatif stresin biyolojik indikatörlerinin artışı ve modifikasyonların meydana gelmesi, bazı patolojik durumların tespitinde belirleyici bir rol oynamaktadır (Wasowicz ve ark.,1993). Bu indikatörlerden biri de lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'dır. MDA'nın konsantrasyonu serbest radikallerin yol açtığı toksik süreçle doğrudan ilişkilidir (Duran ve Talas, 2009). Vücutta meydana gelen hasarlara cevap

veren temel savunma unsurlarından biri olan CAT, bütün biyolojik membranların içine girebilen ve reaktif oksijen türlerininin üretilmesine sebep olabilen hidrojen peroksiti su ve oksijene indirgeyerek canlıları oksidatif sürecin hasarlarından koruyabilen bir antioksidan enzimdir (Atlı ve ark., 2006). CAT aktivitesinde meydana gelen azalmalar hidrojen peroksit düzeylerinde artışa sebep olabilmektedir (Atlı ve ark., 2006). Böylece, hidrojen peroksit düzeylerinin artması sonucunda da, bu reaktif maddeler biyomoleküllere zarar vererek hücre ve dokularda hasarlara yol açmaktadır.

Antioksidan enzimler oksidatif hasara karşı hücrel savunmanın ilk hattı olarak düşünülür. Tüm antioksidan enzimler arasında SOD ve CAT oksijene maruz kalmış bütün hücrelerde en önemli antioksidan savunmadır. CAT, hidrojen peroksitin suya ve oksijene parçalanmasını katalize eder (McCord ve ark., 1976; Gutteridge, 1995). SOD, süperoksit radikallerini ayrıştırarak hidrojen peroksiti oluşturur. Hidrojen peroksit daha sonra peroksizomlarda katalaz tarafından suya veya sitozolda GPx tarafından okside GSH'a dönüştürülür (Dröge, 2002; Lee ve Choi, 2003). Bu nedenle, bu enzimlerin aktiviteleri hücrelerdeki oksidatif stresi ölçmek için kullanılmaktadır. Fakat GPx, CAT ve SOD'un uygun moleküler yapı ve aktivite gösterebilmesi farklı esansiyel elementlerin varlığına bağlıdır. Bu nedenle, bu antioksidan enzimler ağır metal toksisitesine karşı potansiyel hedeflerdir (Gelman ve ark., 1978; Hsu ve Guo, 2002). Arsenik toksikasyonunun şekillendiği ratlarda SOD aktivitesindeki azalma süperoksit radikal anyonlarının artan üretimi ile ilgili olabilir (Yamanaka ve ark., 1991). Sunulan bu çalışmada da CAT aktivitesinin önemli derecede azaldığı görülmüştür. NADH, CAT'ı inaktif formundan aktive etmek için gereklidir. Arsenit metabolizması boyunca NADH'ın yetersizliği CAT'ın aktivitesini azaltmış olabilir (Kirkman ve Gaetani, 1984). Bir çalışmada (Das ve ark., 2010) *Corchorus olitorius* ekstraktlarının arsenik öncesi uygulaması arsenik ile indüklenmiş ratların kalp kasındaki SOD ve CAT aktivitesini artırmıştır. GST ve GPx, GSH'ın varlığında membranların ve lipoproteinlerin içindeki organik hidroperoksitleri üretmede temel rol oynar. GSH içeriğindeki azalma ve arsenik toksisitesinden dolayı lipit peroksidasyon düzeyindeki artma GST'nin ve GPx aktivitelerini azaltmıştır (Das ve ark., 2010).

Tiyol grubu içeren antioksidan sistem serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasara karşı ikinci bir selüler savunmayı oluşturur. Sülfidril gruplu GSH hücreleri serbest radikaller ve peroksitler gibi reaktif oksijen türlerinden korunmaya yardım eder ve sonuçta kendisinin okside formu olan glutatyon disülfide dönüşür (Jones, 2002). GSH arseniğin metillenmiş arsenik bileşiklerinin detoksifikasyonunda önemli rol oynar (Vahter, 2002). *Corchorus olitorius* ekstraktının arsenik toksikasyonuna karşı koruyucu amaçla verildiği bir çalışmada (Das ve ark., 2010), *Corchorus olitorius* ekstraktının arseniğin yol açtığı nonenzimatik antioksidant belirteçlerin değişimini önlediği bildirilmiştir. Bu durum, *Corchorus olitorius* ekstraktının serbest radikal temizleyicisi aktivitesinden ileri geldiği ifade edilmiştir (Das ve ark., 2010).

Serum AST ve ALT düzeylerindeki değişimler dokulardaki dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile protein metabolizmasındaki değişimleri yansıtması bakımından önemlidir (Karataş ve ark., 2005). Üre ve kreatinin seviyelerinde meydana gelen değişiklikler, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında meydana gelen bozuklukların göstergeleridir (Yang ve Chen, 2003; Talas ve Gülhan, 2009). Kolesterol, canlılardaki besinsel durumun, yağ ve karbonhidrat metabolizmalarının işleyişinin ve metabolizmadaki değişimlerin gösterilebilmesinde sıkça kullanılan parametrelerdir. Kan kolesterol değerinde meydana gelen değişiklikler, karaciğer ve böbrek lezyonlarının bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Glikoz düzeyleri ise, yetersiz beslenme durumlarını ya da karaciğer fonksiyon bozukluklarını işaret etmektedir (Yang ve Chen, 2003). AST ve ALT glukojenik enzimlerdir ve başlıca sentez yerleri karaciğerdir. Bu enzimler, serumda normal koşullarda bulunmazlar. Toksik maddelerin ve serbest radikallerin yol açtığı lezyonların membran bütünlüğünün etkilenmesine ve böylece AST ve ALT enzimlerinin doğrudan kana salınmasına yol açarak, bu enzimlerin kandaki düzeylerinin artışına sebep olması söz konusudur. Ayrıca, AST düzeylerindeki değişimler toksik etkili kimyasalların yanı sıra, dokularda hipoksi ve açlık gibi stres faktörlerinin etkisiyle de meydana gelmektedir. Bütün bu parametrelerdeki değişimin, karaciğer ve böbrekte şekillenen dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin sonucu olarak şekillendiği söylenebilir (Çelik, 2006; Talas ve Gülhan, 2009). Yangı, nekroz, dejenerasyon ve major hepatoselüler

hastalıklar plazmadaki ALT ve AST'deki artışların temel nedeni olabilir. (Meteoğlu, 2007).

Arsenik zehirlenmesi ile ilgili araştırmalar, serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasarın arseniğin patogenezisinde başlıca sebep olduğunu göstermiştir (Flora, 1999; Bashir ve ark., 2006). Bu yüzden, besinlerle alınan antioksidanlar arsenik toksisitesine karşı bir fırsat olarak görülmüştür. *Corchorus olitorius* ekstraktının arseniğin yol açtığı oksidatif hasarlara karşı koruyucu etkisine benzer olarak bu çalışmada da *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae) bitkisinin etil asetat ekstraktının koruyucu etkiye sahip olabileceği düşünölmüştür.

Kaya gülü olarak da isimlendirilen *Cistus ladeniferus* L. bitkisi Akdeniz çevresinde yatışmaktadır. Bitki Fas'ın kuzeydoğusunda yerel halk tarafından bitkisel ilaç şeklinde antidiyural, antiasit ve antispazmotik olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bitkinin esansiyel yağı veya reçinesi antifungal ve antibakteriyel etkilere sahiptir (Aziz ve ark., 2006) ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır (Aziz ve ark., 2006). Sulu ekstraktı antiagregant etkiye sahiptir (Aziz ve ark., 2006). *Cistus incanus* ve *Cistus monspeliensis*'in liyofilize sulu ekstraktlarının ratların aorta ve ileumunda düz kaslarda myorelaksan etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Attaguile ve ark., 2004). Bu durum, ekstraktın nörotransmitter salınımı üzerinde indirekt etkisinden ziyade, ekstraktın düz kaslar üzerindeki direkt etkisiyle ilişkili olduğu açıklanmıştır.

Epidemiyolojik çalışmalarda, diyetteki yüksek flavanoid içeriği ile kanser ve kardiyovasküler hastalıkların riskinin azalması arasında (Hertog ve ark., 1995; Rimm ve ark., 1996; Cook ve Samman, 1996) çok yakın bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir. Genel kanı, flavanoidlerin farmakolojik özelliklerinin serbest radikallerin hasarına karşı koruma yeteneğine sahip olduğudur. Aslında bu, biofenollerin sadece serbest radikallerin çoğalmasını değil, aynı zamanda serbest radikallerin oluşumunu da geçiş metalleri ile şelasyon oluşturarak veya başlangıç reaksiyonları ile ilgili enzimleri inhibe ederek etkilerini gösterdiği yönündedir (Laughton ve ark., 1991; Hoult ve ark.,

1994; Cotelle ve ark., 1996; You ve ark., 1999). Endojen ve eksojen kaynaklı reaktif oksijen türleri koroner kalp hastalığı, yangısal ve nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson ve Alzheimer) ve kanser gibi pek çok hastalıkların sebebi olabilir (Halliwell, 1994; Good ve ark., 1996; Gassen ve Youdim, 1997). Fenton tip reaksiyonlar hariç, flavanoidlerin süperoksit radikal temizleme kapasitesinin ksantin/ksantin oksidaz metodu kullanılarak araştırıldığı bir çalışmada (Atteguile ve ark., 2000), *Cistus incanus* ve *Cistus monspeliensis*'in toprak üstü kısımlarının sulu ekstraktlarının doza bağlı olarak süperoksit radikallerini inhibe ettiği ve radikal temizleyici etki gösterdiği bildirilmiştir.

Fitokimyasal çalışmalarda, *Cistus laurifolius* L.'nin (Cistacea) geleneksel halk hekimliğinde antiinflamatuvar ve romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanıldığı, yapraklarının aynı zamanda prostaglandin inhibitör ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Sadhu ve ark., 2006). *Cistus laurifolius* L.'nin (Cistacea) yaprakları geleneksel olarak Türkiye'de romatizmal ağrı, yüksek ateş, idrar yolu yangıları ve peptik ülseri içeren pek çok yangısal hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. *Cistus laurifolius* L. (Cistacea)'nin geleneksel kullanımı ve prostoglandin inhibitör ve antioksidan aktivite özelliklerine dayanarak bu bitkinin terapötik olarak yararlı olduğu düşünülmektedir. Bu bitki, aynı zamanda antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler göstermiştir. Mast hücrelerinin ve nötrofillerin degranulasyonu, makrofajların ve mikroglial hücrelerin aktivasyonu yangısal hastalıklara yol açar. Bileşik, peritoneal mast hücrelerinden histamin, rat nötrofillerinden lizozim ve β -glukorinidaz salınımını ve rat nötrofillerinden süperoksit anyon oluşumunu inhibe etmiştir. Kuarsetin; ksantin oksidaz inhibitörü ve süperoksit temizleyici aktivite etkileri göstermiş (Cimanga ve ark., 2001), aynı zamanda (Sadhu ve ark., 2006) flavanoidler ve lignanlar gibi diğer bileşiklerle birlikte yangısal hastalıklara karşı koruyucu etkileri ileri sürülmüştür (Sadhu ve ark., 2006).

Kuarsetinle ilgili hücre kültürü çalışmalarında (Son ve ark., 2004), kuarsetinin tümör hücrelerinde apoptozis oluşturma kapasitesinde olduğu ve aktif olarak SOD, CAT ve GSH'ı içeren antioksidan savunma sistemini stimüle ettiği bildirilmiştir (Son

ve ark., 2004). İın vitro çalışmalarda kuarsetin-3-metil eter (isorhamnetin), insan pikorna virusuna, trombosit yapışmasına ve histaminin yol açtığı trekeal gevşemeye karşı dikkat çekici bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Vanden Berghe ve ark., 1986; Lin ve ark., 1995; Ko ve ark., 1999).

Ratlarda farklı ũlser modelleri kullanılarak, *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae)'nin çiçeklerinin ve tomurcuklarının peptik ũlser tedavisindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Yeşilada ve ark., 1997a), bitkinin fraksiyonlarının gũlũ antiasit aktiviteye sahip olduğu, aktif fraksiyonların rat modelinde stres ve pylorik ligatũr tarafından oluşturulan mide lezyonlarını ũnledięi ve antiũlserojenik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Yeşilada ve ark., 1997a).

Atherosklerozis, osteoporozis, kanser ve Alzheimer's hastalığı gibi pek çok hastalığın insidensini azaltmadaki rollerinden dolayı, flavanoidler ũzellikle yakın zamanda halk sağlığı ile uğraşan pek çok araştırıcının dikkatini çekmiştir. Bazı flavanoid tũrlerinin veya metabolitlerinin anti *Helicobacter pylori* aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Bae ve ark., 1999; Ohsaki ve ark., 1999). Bir başka çalışmada (Ŭstũn ve ark., 2006), peptik ũlser ile *Helicobacter pylori* arasında ilişkinin varlığından yola çıkılarak, *Cistus laurifolius* L.'nin yapraklarından hazırlanan ekstrelerin *Helicobacter pylori*'ye karşı antiũlseratif etkisi araştırılmış ve *Cistus laurifolius* L. (Cisteceae)'nin kloroform ekstraktının gũlũ bir antiũlser aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Ŭstũn ve ark., 2006). Bu nedenle, anti- *Helicobacter pylori* aktivitesine sahip olan flavanoidin mevcut tedaviye bir alternatif olarak veya ilave bir ajan olarak kullanılabilceği ileri sũrũlmũřtũr (Yeşilada ve ark., 1997a; Ŭstũn ve ark., 2006).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yeraltı kaynaklarından yararlanmanın ve sanayileşmenin insanoğlunun yaşamına getirdiği zenginliğin yadsınması mümkün değildir. Ancak bu faaliyetlerin insan sağlığına olan olası etkilerinin göz ardı edilmeden sürdürülmesi, yaşamın gelecek kuşaklara sağlıklı olarak aktarılması için son derece önemlidir. Kirleticiler için, “hava, su ve toprak” kirliliğinin temel nedeni, doğal ya da antropojenik faaliyetlerden kaynaklanan atıkların çevreye düzenli olmayan bir şekilde atılmasıdır.

Yaşadığımız yüzyılda artan nüfusun beslenmesinin ve bu besinlerin insan sağlığı yönünden tehlikeli maddeleri taşınamaması için daha çok gayret ve özen gösterilmesi gerekir. Çevre kirlenmesine paralel olarak, gıda kaynakları da kirlenmekte, böylece insanlar ve hayvanlar için önemli sağlık sorunları oluşabilmektedir. Besin zincirine bulaşan en yaygın toksik kirleticilerden biri ağır metallerdir. Ağır metaller, biyolojik olarak birikebilen maddelerdir. Biyolojik birikim; besin zincirinin ilk halkalarında düşük düzeylerde bulunan kirleticilerin, birbirini izleyen halkalarda artan yoğunluklarda canlı organizmada bulunmasıdır. Bu da, besin zincirinin son halkalarında yer alan insanlar ve hayvanlar için ağır metal toksitesinin daha kritik olduğu anlamına gelmektedir.

Arseniğin yol açtığı zedelenmeyi önlemek veya oluşan biyokimyasal ve morfolojik lezyonları tedavi etmek amacıyla pek çok çalışma yapılmış olup, bu çalışmalar halen devam etmektedir. Toksik maddelerin hücrelerde oluşturduğu oksidatif hasara karşı vücudu savunan ve koruyan sistemler bazen yetersiz kalabilmektedir. Günümüzde bilim insanları, bu görüşten hareket ederek ekosistemde meydana gelen olumsuzlukları gerek ekolojik dengeyi korumak adına, gerekse kullandıkları doğal olmayan maddelerin beklenmeyen zararlı etkilerini ve doğadaki olası biyobirikimlerinin başka bir soruna neden olmaması adına, daha doğal yollarla bu olumsuzlukları önleme ve giderme arayışına girmişlerdir.

Yıllardır, tıbbi bitkiler ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu bitkilerden birisi de Cistacea ailesine bağlı *Cistus* cinsidir. Flavanoidler bakımından oldukça zengin olan farklı *Cistus* türlerinden *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) ülkemizde ve Afyonkarahisar yöresinde yaygın olarak yetişmektedir. Bitkinin koruyucu etkileri ile ilgili pek çok sayıda yayın bulunmaktadır.

Ülkemizde 2007 ve 2008 yıllarında içme ve kullanma sularında arsenik konsantrasyonu verilerine göre, Afyonkarahisar, içme sularında arsenik kirliliği bulunan iller arasında ön sıralarda gösterilmektedir.

Bu çalışmada, sodyum arsenit verilen ratlarda oluşan patomorfolojik bulguları saptamak ve sodyum arsenit ile eş zamanlı olarak uygulanan flavanoidlerden olan *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan çeşitli polaritedeki ekstraktların ve fraksiyonların, sodyum arsenitin toksik etkisine karşı, dokularda morfolojik olarak koruyucu etki gösterip göstermediği araştırılmış, ayrıca, biyokimyasal değerlerdeki değişimler de incelenmiş, bu değişimlerin patomorfolojik bulguları destekler nitelikte olup olmadığı araştırılmıştır.

Bu amaçla, *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan çeşitli polaritelerdeki ekstraktları (500 mg/kg/gün) ve arsenik (5 mg/kg/gün), ratlara aynı gün, tek doz ve eş zamanlı olarak gastrik gavaj yoluyla 32 gün boyunca uygulanmış, genel klinik durumları ve davranışları takip edilerek gözlenen bulgular kaydedilmiş, biyokimyasal, makroskobik, histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. Çalışmada, sadece arsenik verilen Grup 3, Grup 8 (*Cistus laurifolius* L. bitkisinin n-hekzan ekstresi+sodyum arsenit verilen) ve Grup 9 (*Cistus laurifolius* L. bitkisinin dietil eter ekstresi+sodyum arsenit verilen)'da yer alan ratlarda klinik, makroskobik ve mikroskobik bulgular şekillenmiş, biyokimyasal analiz sonuçlarının patolojik bulguları destekler nitelikte olduğu görülmüştür. Grup 11 (*Cistus laurifolius* L. bitkisinin metanol ekstresi+sodyum arsenit verilen)'de yer alan ratlarda ise, sözü edilen bulguların daha hafif şiddette olduğu dikkati çekmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre; arsenik ile eş zamanlı olarak *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin etil asetat ekstresinin uygulandığı 10. Gruptaki ratlarda hiçbir klinik, makroskobik, mikroskobik ve immunohistokimyasal bulgunun şekillenmemiş olması, ayrıca bu gruptaki ratlarda biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerin de fizyolojik sınırlarda olması nedeniyle, ratlarda *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin etil asetat ekstresinin arsenik zehirlenmesinin önlenmesi veya tedavi edilmesi amacıyla kullanılabileceği kanaatine varılmıştır. Çalışmada elde edilen bulgular ışığında, *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin etil asetat ekstresinin ratlarda hangi mekanizma ya da mekanizmalarla arsenik zehirlenmesinin önlenmesi veya tedavi edilmesinde kullanılabilirliği ile ilgili olarak, diğer deney hayvanlarında da başka fitokimyasal, biyokimyasal ve patolojik çalışmaların yapılmasının yararlı olabileceği düşünülmüş, ayrıca *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisi ekstrelerinin arsenik zehirlenmesinin önlenmesi veya tedavi edilmesi amacıyla, bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda doku arsenik düzeyi analizlerinin yapılmasının daha yararlı olabileceği düşünülmüştür.

ÖZET

Ratlarda Deneysel Arsenik Toksikasyonunun Patolojisi ve Eş Zamanlı Uygulanan *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) Bitkisinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması

Bu çalışma, arsenik verilen ratlarda oluşan patomorfolojik bulguları saptamak ve arsenik ile eş zamanlı olarak uygulanan *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarından (bitkinin çiçek, yaprak ve gövdesi) hazırlanan çeşitli polaritedeki ekstrelerin ve fraksiyonların, arseniğin toksik etkisine karşı, dokularda morfolojik olarak koruyucu etki gösterip göstermediğini araştırmak için yapılmıştır. Çalışmada, 4-6 aylık Sprague - Dawley ırkı, toplam 108 adet erkek rat kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan *Cistus laurifolius* L. bitkisinin toprak üstü kısımları yöremizdeki dağların yamaç ve eteklerinden toplanmış, çeşitli polaritelerdeki ekstreleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır. Çalışmada ratlar, her grupta 9 adet olacak şekilde 12 gruba ayrılmıştır. Çalışmada, negatif kontrol grubu (Grup 1), kontrol grubu (Grup-2) ve pozitif kontrol grubu (Grup 12) olmak üzere 3 kontrol grubu kullanılmıştır. 1. Gruba sadece standart rat yemi, 2. Gruba % 0,5'lik CMC, 12. Gruba alfa lipoik asit (70 mg/kg) ile birlikte sodyum arsenite (5 mg/kg) verilmiştir. Üçüncü gruba, distile su içerisinde sadece sodyum arsenite (5 mg/kg) verilmiştir. Taşıt madde olarak kullanılan CMC içerisinde olmak üzere; 4. Gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin n-hekzan ekstresi (500 mg/kg); 5. Gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin dietil eter ekstresi (500 mg/kg); 6. Gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin etil asetat ekstresi (500 mg/kg); 7. gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin metanol ekstresi (500 mg/kg); 8. Gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin n-hekzan ekstresi (500 mg/kg) ile birlikte sodyum arsenite (5 mg/kg); 9. Gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin dietil eter ekstresi (500 mg/kg) ile birlikte sodyum arsenite (5 mg/kg); 10. Gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin etil asetat ekstresi (500 mg/kg) ile birlikte sodyum arsenite (5 mg/kg) ve 11. Gruba *Cistus laurifolius* L. bitkisinin metanol ekstresi (500 mg/kg) ile birlikte sodyum arsenite (5 mg/kg) verilmiştir. Bu uygulamalara 32 gün boyunca devam edilmiştir. Çalışmada, haftalık olarak ve denemenin sonunda ratların canlı ağırlıkları tartılmıştır. Çalışma süresince ratların genel klinik durumları ve davranışları takip edilerek gözlenen bulgular kaydedilmiştir. Çalışmanın sonunda, ratlar genel anesteziye alınmış ve intrakardiyak kan alımını takiben ötanazileri yapılmıştır. Sistemik nekropsileri yapılan ratların; organ ağırlıkları tartılmış, histopatolojik muayeneler için dokulardan örnekler alınmıştır. Biyokimyasal, makroskobik, histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. Çalışmada grup 3, grup 8, grup 9'da yer alan ratlarda klinik bulgular ve ölüm şekillenmiştir. Makroskobik ve mikroskobik olarak kontrol grupları (Grup 1, Grup 2 ve Grup 12) ile Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 7'de yer alan ratlarda herhangi bir bulguya ratlanmamıştır. *Cistus laurifolius* L. bitkisinin etil asetat ekstresi ile birlikte arsenik verilen 10. gruptaki ratlarda, kontrol gruplardakine benzer olarak, incelenen dokuların tamamında herhangi bir makroskobik, mikroskobik ve

immunohistokimyasal bulguya rastlanmamıştır. Onbirinci gruptaki ratlarda makroskobik lezyonlar kayda değer olmamakla birlikte, histopatolojik bulgular dikkati çekmiştir. Makroskobik ve mikroskobik bulgular, Grup 3, Grup 8 ve Grup 9'daki ratlarda saptanmıştır. Biyokimyasal olarak kan ve doku analiz sonuçlarının patolojik bulguları destekler nitelikte olduğu görülmüştür. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre; arsenik ile eş zamanlı olarak *Cistus laurifolius* L. bitkisinin etil asetat ekstresinin uygulandığı 10. gruptaki ratlarda hiçbir klinik, makroskobik, mikroskobik ve immunohistokimyasal bulgunun şekillenmemiş olması, ayrıca bu gruptaki ratlarda biyokimyasal parametrelerde de değişimlerin olmaması nedeniyle, *Cistus laurifolius* L. bitkisinin etil asetat ekstresinin arsenik toksikasyonunun önlenmesi veya tedavi edilmesi amacıyla kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Arsenik, Toksikasyon, *Cistus laurifolius* L. (Cistacea), Patoloji, Rat

SUMMARY

Pathology of Experimental Arsenic Toxication on Rats and Research on Protective Effect of Simultaneously Administered *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae)

This study aimed to determine pathomorphological signs in the arsenic-applied rats as well as investigating whether extracts and fractions prepared from the tops (its flowers, leaves and trunks) in various polarities of the plant, *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) that is applied simultaneously with arsenic has a protective effect against arsenic's toxicity in the tissues morphologically. In this study, a total of 106 Sprague - Dawley male rats at the age of 4-6 months old were used. The plant tops of *Cistus laurifolius* L. used for this study were collected from the skirts and slopes of the mountains in Afyon region, and the extracts in various polarities were prepared in the Department of Pharmacognosy of Faculty of Pharmacy at Gazi University. The rats were divided into 12 groups each having 9 rats. Also 3 groups were used as controls namely: negative control group (Group 1), control group (Group 2) and positive control group (Group 12). For groups 1, 2 and 12, the followings were given respectively: Standard rat food, 0,5% CMC and alpha lipoic acid (70mg/kg) plus sodium arsenite (5 mg/kg). Üçüncü gruba, distile su içerisinde sadece sodyum arsenite (5 mg/kg) verilmiştir. As a carrier substance all in CMC the followings were given: Taşıt madde olarak kullanılan CMC içerisinde olmak üzere; n-hexan extract of the plant *Cistus laurifolius* L. (500 mg/kg) to group 4; diethyl ether extract of *Cistus laurifolius* L. plant (500 mg/kg) to group 5; ethyl acetate extract of *Cistus laurifolius* L. plant (500 mg/kg) to group 6; methanol extract of *Cistus laurifolius* L. plant (500 mg/kg) Group 7; n-hexan extract of *Cistus laurifolius* L. plant (500 mg/kg) plus sodium arsenite (5 mg/kg) to group 8; diethyl ether extract of *Cistus laurifolius* L. plant (500 mg/kg) plus sodium arsenite (5 mg/kg) to group 9; ethyl acetate extract of *Cistus laurifolius* L. plant (500 mg/kg) plus sodium arsenite (5 mg/kg) to group 10 and methanol extract of *Cistus laurifolius* L. plant (500 mg/kg) plus sodium arsenite (5 mg/kg) group 11. These stuff were applied for 32 days to the rats. During the study, the rats were weighed weekly and at the end. The general clinical conditions and behaviours of the rats were tracked and the observations were recorded throughout the study. At the end of the study, a general anesthetic was applied to the rats and euthanized after the blood samples were taken from intracardiac vessels from each rat. Systemic necropsies were carried out followed by; organ weight were done and tissue samples were taken for histopathological examinations and biochemical, macroscopic, histopathologic and immunohistochemical analyses were performed. In the study, clinical signs and deaths were observed in the rats of group 3, group 8, and group 9. No clinical symptoms and no other findings were observed for the rats in control groups (Group 1, Group 2 ve Group 12) as well as groups 4, 5, 6 and 7 neither macroscopically nor microscopically. The plant *Cistus laurifolius* L. ethyl acetate extract plus arsenic applied rats in group 10, similar to the rats in control groups, neither macroscopic nor microscopic as well as

immunohistochemical signs were observed in all tissues examined. For the rats in group 11, histopathological findings were significant though the macroscopic lesions were insignificant. Macroscopic and microscopic findings were observed in rats of Group 3, Group 8 and Group 9. Biochemically, the results for analyses of blood and tissue samples were found to be supportive to the pathological findings. According to the results obtained from this study; since no clinical, macroscopic, microscopic and immunohistochemical findings were observed for the rats in group 10 in which the ethyl acetate extract of *Cistus laurifolius* L. plant and arsenic are applied simultaneously as well as the absence of changes in biochemical parameters for the rats in this group, it can be suggested that ethyl acetate extract of *Cistus laurifolius* L. plant can be used to prevent or treat arsenic toxicity.

Key word: Arsenic, Toxication, *Cistus laurifolius* L. (Cistacea), Pathology, Rat

KAYNAKLAR

- ABERNATY, C., (2001). United Nations Synthesis Report on Arsenic in Drinking Water, Chapter3: Exposure Andhealth Effects. *World Health Organization*, Genova.
- AEBI, H. (1974). Catalase in vitro. In: Bergmeyer HU (ed)Methods of Enzymatic Analysis. New York and London: Academic Press, pp.673-677.
- AHMAD, S.A., SAYED, M.H., BARUA, S., KHAN, M.H., FARUQUEE, M.H., JALIL, A., HADI, S.A., TALUKDER, H.K. (2001). Arsenic in drinking water and pregnancy outcomes. *Environ. Health. Persp.*, **109** (6): 629-631.
- AHMAD, I., HUSSAIN, T., KHALID MAHMOOD AKTHAR, K.M., (2008). Arsenic Induce Microscopic Changes In Rat Testis. *Professional Med. J.*, **15**(2): 287-291.
- AKAGI, S., NAGAKE, Y., KASAHARA, J., SARAI, A., KIHIRA, T., MORIMOTO, H. (2003). Significance of 8-hydroxy-20-deoxyguanosine level in patients with chronic renal failure. *Nephrology*, **8**:192-5.
- AKAHORI A., GABRYELAK, T., JOWLAK, Z. (1999). Zinc induced damage to carperythrocytes in vitro. *Biochem Mol. Biol. Int.* **47**: (1): 89-98.
- AKDENİZ, İ. (2002). Toprak ve Su Gibi Çevre Örneklerinde Arsenik Tayini ve Spesiyasyonu (Türlemesi)", Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- AKKUŞ, İ. (1995). SERBEST RADİKALLER ve FİZYOLOGİK ETKİLERİ. *Mimosa yayınları*, Kuzucular ofset, Konya.
- ALAIN, G., TOUSIGNANT,J., ROZENFARB, E. (1993). Chronic arsenic toxicity. *Int. J. Dermatol.*, **32**(12): 899-901.
- AL-ATTAR, A.M. (2011). Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **18**: 63-72
- ALBORES, A., CEBRIAN, M.E., GARCIA VARGAS, G.G., CONNELLY, J.C., PRICE, S.C., HINTON, R.H., BACH, P.H., BRIDGES, J.W. (1996). Enhanced arsenite induced hepatic morphological and biochemical changes in phenobarbital pretreated rats. *Toxicol. Pathol.*, **24**: 172-80.

- ALOIA, T.A., HARPOLE, D.H., REED, C.E., ALLEGRA, C., MOORE, M.B., HERNDON, J.E., D'AMICO, T.A. (2001). Tumor marker expression is predictive of survival in patients with esophageal cancer. *Ann Thorac Surg.*, **72**: 859-866.
- Anonim, 2010. Erişim: [<http://www2.aku.edu.tr/~mkonuk/Metal-toksikolojisi.pdf>]. Erişim tarihi: 30.11.2010;
- Anonim2011a.Erişim:[www.umweltbundesamt.de/uba-info-daten/t/daten/umweltkatastrophen.htm}. Erişim tarihi: (15.12.11).
- Anonim2011b. İçme Kullanma Suları Danışma Kurulu Toplantı Tutanağı. (2007).
- Anonim2011c. İçme Kullanma Suları Danışma Kurulu Toplantı Tutanağı, 19.08.2008.
- Anonim 2012a. Erişim: [<http://tr.scribd.com/doc/49090816/metalin-cevresel-etkileri>]. Erişim tarihi: (10.11.11).
- Anonim2012b.Erişim:[http://www.medicine.ankara.edu.tr/internal_medical/forensic_medicine/arsenik.html]. Erişim tarihi: (01.03.12).
- Anonim2012cErişim:[<http://tr.wikipedia.org/wiki/Laden>;http://tr.wikipedia.org/wiki/Defne_yaprakl%C4%B1_laden]. Erişim Tarihi: 26.06.2012.
- Anonim 2012d [Erişim: <http://www.agaclar.net/forum/ege-bolgesi/5109.htm>]. Erişim Tarihi: 12.01.2012.
- ANSARI, F.L., QURESHI, R., QURESHI, M. L. (1998). Electrocyclic reactions: from Fundamentals to research, Wiley-VCH, 2 p.,
- AOKI, A., HOFFER, A.P. (1978). Reexamination of the lesions in rat testis caused by cadmium. *Biol Reprod.*, **18**: 579-91.
- ARMSTRONG, C.W., STROUBE, R.B., RUBIO, T., SIUDYLA, E.A, MILLERGB, J.R. (1984). Out break of fatal arsenic poisoning caused by contaminated drinking water. *Arch. Environ. Health*, **39(4)**: 276-279.
- ARK,M., USTUN,O.,YESİLADA,E. (2004). Analgesic activity of *Cistus Laurifolius* in Mice. *Pharm. Biol*, **42**: 176-178

- ATLI, G., ALPTEKIN, Ö., TUKEL, S., CANLI, M. (2006). Response of catalase activity to Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **143**: 218-224.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2000). Toxicologic Profile for Arsenic (update). U.S. Department of Health & Human Services, Washington, D.C. III.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Arsenic, Eylül 2000.
- ATSDR. (2007). Toxicological Profile For Arsenic, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA.
- ATTAGUILE, G., RUSSO, A., CAMPISI, A., SAVOCA, F., ACQUAVIVA, R., RAGUSA, N., VANELLA, A. (2000). Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. *Cell Biol Toxicol.*, **16**: 83-90.
- ATTAGUILE, G., PERTICONE, G., MANIA, G., SAVOCA, F., PENNISI, G., SALOMONE, S. (2004). *Cistus incanus* and *Cistus monspeliensis* inhibit the contractile response in isolated rat smooth muscle. *J Ethnopharmacol.*, **92**: 245-250.
- AZIZ, M., TAB, N., KARIM, A., MEKHFI, H., BNOUHAM, M., ZIYYAT, A., MELHAOUI, A., LEGSSYER, A. (2006). Relaxant effect of aqueous extract of *Cistus ladaniferus* on rodent intestinal contractions. *Fitoterapia*, **77**: 425-428.
- BAE, A., HAN, M.J., KIM, D.H. (1999). In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of some flavonoids and their metabolites. *Planta Med.*, **65**: 442-443.
- BAKAR, C., BABA, A. (2009). Meteller ve İnsan Sağlığı: Yirminci Yüzyıldan Bugüne ve Geleceğe Miras Kalan Çevre Sağlığı Sorunu, *1. Tıbbi Jeoloji Çalıştayı*, Ürgüp/ NEVŞEHİR.
- BALAKUMAR, B.S., RAMANATHAN, K., KUMERASAN, S., SURESH, R. (2010). DNA damage by sodium arsenite in experimental rats: ameliorative effects of antioxidant vitamins C and E. *Indian Journal of Science and Technology*, **3(3)**: 322-327.

- BARBER, D.A., HARRIS, S.R. (1994). Oxygen Free Radicals and Antioxidants: A review. *American Pharmacy*, **9**: (26-35).
- BARBIER, O., JACQUÏLLET, G., TAUC, M., COUGNON, M., POUJEOL, P. (2005). Effect of heavy metalson, and handling by, the kidney. *Nephron Physiol.*, **99**: 105-110.
- BARTOLOME, B., CORDOBA, S., NIETO, S., FERNANDEZ-HERRERA, J., GARCIA DIEZ, A. (1999). Acute arsenic poisoning: Clinical and histopathological features. *Br. J. Dermatol.*, **141**: 1106-1109.
- BASHIR, S., SHARMA, Y., IRSHAD, M., DUTTAGUPTA, S., DOGRA, T.D., (2006). Arsenic induced cell death in liver and brain of experimental rats. *Basic Clin. Pharmacol.*, **98**: 38-43.
- BASKAN, M.B., PALA, A. (2009). İçme sularında arsenik kirliliği: ülkemiz açısından bir değerlendirme. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **15 (1)**: 69-79.
- BATES, MN., REY, OA., BIGGS, ML., HOPENHAYN, C., MOORE, L.E., KALMAN, D., STEINMAUS, C., SMITH, AH. (2004). Case-control study of bladder cancer and exposure to arsenic in Argentina. *Am J Epidemiol.*, **159(4)**: 381-389.
- BEANE FREEMAN, L.E., DENNIS, L.K., LYNCH, C.F., THORNE, P.S., JUST, C.L. (2004). Toenail arsenic content and cutaneous melanoma in Iowa. *Am. J. Epidemiol.*, **160(7)**: 679-687.
- BECKETT, W.S., MOORE, J.L., KEOGH, J.P., BLEECKER, M.L. (1986). Acute encephalopathy due to occupational exposure to arsenic. *Br. J. Ind. Med.*, **43**: 66-67.
- BELL, R.R., EARLY, J.L., NONAVINAKERE, V.K., MALLORY, Z. (1990). Effect of cadmium on blood glucose level in the rat. *Toxicol Lett.*, **54**: 199-205.
- BELFIELD, K.D., CORREDOR, C.C., MORALES, A.R., DESSOURCES, M.A., HERNANDEZ, F.E. (2006). Synthesis and characterization of new fluorene-based singlet oxygen sensitizers. *J Fluoresc.*, **16(1)**: 105-10.
- BELMOKHTAR, M., BOUANANI, N.E., ZIYYAT, A., MEKHFI, H., BNOUHAMA, M., AZIZ, M., MATEO, P., FISCHMEISTER, R., LEGSSYER, A. (2009). Antihypertensive and endothelium-dependent vasodilator effects of aqueous extract of *Cistus ladaniferus*. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, **389**: 145-149.

- BENT, H.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.*, **96**: 67-202.
- BENTLEY, R., CHASTEEN, T.G. (2002). "Arsenic curiosa and humanity". *The Chemical Educator*, **7(2)**: 51.
- BERA, A.K., RANA, T., DAS, S., BANDYOPADHYAY, S., BHATTACHARYA, D., PAN, D., DE, S., DAS, S.K. (2010). L-Ascorbate protects rat hepatocytes against sodium arsenite--induced cytotoxicity and oxidative damage. *Hum. Exp. Toxicol.*, **29(2)**: 103-11.
- BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, B.M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **61**: 882-888.
- BHATTACHARYA, P., WELCH, A.H., STOLLENWERK, K.G., MCLAUGHLIN, M.J., BUNDSCHUH, J., PANAUULLAH, G. (2007). Arsenic in the environment: *Biology and Chemistry. Sci. Total Environ.*, **379**: 109-120.
- BIEWENGA, G.P., HAENEN, G.R.M.M., BAST, A. (1997). The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmac.*, **29**: 315-331.
- BILSKA, A., WLODEK, L., (2005). Lipoic acid - the drug of the future? *Pharmacol. Rep.*, **57**: 570-77.
- BISSEN, M., FRITZ, H.F. (2003). Arsenic a Review Part I: Occurrence Toxicity Speciation Mobility, *Acta Hydrochim. Hydrobio*, **31: (1)** 9-18.
- BISSEN, M., FRIMMEL, F.H. (2003). Arsenic A review Part I: occurrence, toxicity, speciation, mobility. *Acta Hydrochim. Hydrobiol*, **31**: 9-18.
- BLAYLOCK, R.L. (1998). Neurodegeneration and aging of the central nervous system: Prevention and treatment by phytochemicals and metabolic nutrients. *Integrative Med.*, **1(3)**: 117-133.
- BOUAMAMA, H., VILLARD, J., BENHERREF, A., JANA, M. (1999). Antibacterial and antifungal activities of *Cistus incanus* and *C. Monspeliensis* leaf extracts. *Therapie*, **54**: 731-733.
- BREGANTE, U.M.A., MARTI, C.M., GASSEDAT, M.B., GONZALVO, M.M.J. LAMUELA, M.R.M. (1984). Oral Therapeutics for the convulsive syndrome induced by *Cistus laurifolius* flavanoids, *An. Fac. Vet.*, **18**: (131-4). Ref. C.A. **105 (147720c)**, (1986).

- BREMNER, I. (1987). Nutritional and physiological significance of metallothionein. *Experientia*. **52**: 81-107.
- BROWN, M.M., RHYNE, B.C., GOYER, R.A. (1976). Intracellular effects of chronic arsenic administration on renal proximal tubule cells. *J Toxicol Env Health*, **1**: 505-14.
- BROWN, K.G. (2002). Arsenic, Drinking Water, and Health, A Report Prepared for ACHS, USA.
- BUKE, T., KONE, A.Ç. (2006). Sürdürülebilir Kalkınma Kavramı Çerçevesinde Türkiye'nin Enerji Tüketiminin Analitik Şebeke Yöntemiyle İncelenmesi, *Türkiye 10. Enerji Kongresi*, İstanbul.
- CARREO, P.E., TYSON, J. F. (1998). Speciation of Organic and Inorganic Arsenic in Water by Flow Injection Hydride Generation Electrothermal Atomization Atomic Absorption Spectrometry with InFAAtomizer Trapping and Successive Retention of As(v) and Tetrahydroborate(III) on an Anion Exchange Resin, Unpublished Data, University of Massachusetts, Amherst, USA,
- CELIK, E.Ş. (2006). Balıkların kan parametreleri üzerine ağır metallerin etkisi, E. U. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, **23**: 49-55.
- CENTENO, J.A., MULLICK, F.G., MARTINEZ, L., PAGE, N.P., GIBB, H., LONGFELLOW, D., THOMPSON, C., LADICH, E.R. (2002). Pathology Related to Chronic Arsenic Exposure. *Environ. Health Persp.*, **110(5)**: 883-886.
- CHANG, C.C., HO, S.C., TSAI, S.S., YANG, C.Y. (2004). Ischemic heart disease mortality reduction in an arseniasis endemic area in South western Taiwan after as witch in the tap water supply system. *J.Toxicol. Environ Health*, **67(17)**: 1353-1361.
- CHATTERJEE, A., DAS, D., CHATTERJEE, D. (1993). The study of ground water contamination by arsenic in the residential area of Behala, due to industrial pollution. *Environ pollut.*, **80**: 57-65.
- CHEESEMAN, K.H., SALATER, T.F. (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Brit. Med. Bull.*, **49(3)**: 481-493.
- CHEN, Y.C., GUO, Y.L., SU, H.J., HSUEH, Y.M., SMITH, T.J., RYAN, L.M., LEE, M.S., CHAO, S.C., LEE, J.Y., CHRISTIANI, D.C. (2003). Arsenic

- methylation and skin cancer risk in southwestern Taiwan. *J Occup Environ Med.*, **45(3)**: 241-248.
- CHERIAN M.G., JAYASURYA, A., BAY, B.H. (2003). Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis. *Mutat Res.*, 10; **533(1-2)**: 201-9.
- CHINO, I., DEMETZOS, C., HARVALA, C., ROUSSAKIS, C., VERBIST, J.F. (1994). Cytotoxic and antibacterial labdane-type diterpenes from the aerial parts of *Cistus incanus* subsp. *Creticus*. *Planta Med.*, **60**: 34-36.
- CHIOU, H.Y., HUANG, W.I., SU, C.L., CHANG, S.F., HSU, Y.H., CHEN, C.J. (1997). Dose response relationship between prevalence of cerebrovascular disease and ingested inorganic arsenic. *Stroke*, **28(9)**: 1717-1723.
- CHITHRA, P., SAJITHLAL, G.B., CHANDRAKASAN, G. (1998). Influence of Aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *J Ethnopharmacol*, **59**: 179-186.
- CHOU, H.S.J., ROSA, C.T.D. (2003). Case studies-arsenic, *Int. J. Hyg. Envir. Heal.*, **206**: 381-386.
- CIMANGA, K., YING, L., DEBRUYNE, T., APERS, S., COS, P., HERMANS, N., BAKANA, P., TONA, L., KAMBU, K., KALENDA, D.T., PIETERS, L., VANDENBERGHE, D., VLIETINCK, A.J. (2001). Radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity of phenolic compounds from *Bridelia ferruginea* stem bark. *J. Pharm. Pharmacol.*, **53**: 757-761.
- CIRICO, T.L.; OMAJE, S.T. (2006). Additive or Synergetic Effects of Phenolic Compounds on Human Low Density Lipoprotein Oxidation", *Food Chem. Toxicol.*, **44**: 510-516.
- CIVANTOS, D.P., RODRIGUEZ, A.L., AGUADO-BORRUEY, J.M., NARVAEZ, J.A. (1995). Fulminant malignant arrhythmia and multiorgan failure in acute arsenic poisoning. *Chest*, **108(6)**: 1774-1775.
- COLAKOGLU, N., KUKNER, A., KARA, H., OZAN, E. (2004). Structural changes induced by cadmium chloride and effects of metallothioneine on these changes in rat testicular tissue, a light microscopic study. *T Clin J Med Sci.*, **24**: 201-06.
- COOK, N.C., SAMMAN, S. (1996). Flavonoids Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources", *J. Nutr. Biochem.* **7**: 66-76.

- COTELLE, N., BERNIER, J.L., CATTEAU, J.P., POMMERY, J., WALLET, J.C., GAYDOU, E.M. (1996). Antioxidant properties of hydroxy-Flavones. *Free Radical Bio. Med.*, **20**: 35-43.
- COZZI, R., RICORDY, R., BARTOLINI, F. (1995). Taurine and ellagic acid: two differently-acting natural antioxidants. *Environ. Mol. Mutagen*, **26**: 248-254.
- CULLEN, N.M., WOLF, L.R., ST CLAIR, D. (1995). Pediatric arsenic ingestion. *Am J Emerg Med.*, **13(4)**: 432-435.
- CUI, X., OKAYASU, R. (2008). Arsenic accumulation, elimination, and interaction with copper, zinc and manganese in liver and kidney of rats. *Food Chem. Toxicol.*, **46**: 3646-3650.
- CUI, X., LI, S., SHRAIM, A., KABAYASHI, Y., HAYAKAWA, T., KANNO, S., YAMAMOTO, M., HIRANO, S. (2004). Subchronic exposure to arsenic through drinking water alters expression of cancer related genes in rat liver. *Toxicol. Pathol.*, **32**: 64-72.
- DANIELSON, K.G., OHI, S., HUANG, P.C. (1982). Immunochemical detection of metallothionein in specific epithelial cells of rat organs. *Proc Natl Acad Sci.*, **79**: 2301-04.
- DAS, D.K. (1994). Naturally occurring flavonoids: Structure, chemistry and high performance liquid chromatography methods for separation and characterization. *Method in Enzymol.*, **234**: 410-419.
- DAS, J., GHOSH, J., MANNA, P., SINHA, M., C.SIL, P. (2009). Taurine protects rat testes against NaAsO₂ induced oxidative stress and apoptosis via mitochondrial dependent and independent pathways. *Toxicol. Lett.*, **187**: 201-210.
- DAS, A.K., SAHU, R., DUA, T.K., BAG, S. GANGOPADHYAY, M., SINHA, M.K., DEWANJEE, S. (2010). Arsenic-induced myocardial injury: Protective role of *Corchorus olitorius* leaves. *Food Chem Toxicol.*, **48**: 1210-1217.
- DAVIS, S.R., COUSINS, R.J. (2000). Metallothionein expression in animals: A physiological perspective on function. *The Journal of Nutrition*, **130(5)**: 1085-1088.
- DING, W., HUDSON, L.G., LIU, K.J. (2005). Inorganic arsenic compounds cause oxidative damage to DNA and protein by inducing ROS and RNS generation in human keratinocytes. *Mol Cell Biochem.*, **279**: 105-12.

- DIZDAROĞLU, M., JARUGA, P., BIRINCIOĞLU, M., RODRIGUEZ, H. (2002). Free Radical Induced Damage to DNA: Mechanism and Measurement. *Free Radical Bio. Med.*, **32(11)**: 1102-1115.
- DOK-GO, H., LEE, K.H., KIM, H.J., LEE, E.H., LEE, J., SONG, Y.S., LEE, Y.H., JIN, C., LEE, Y.S., CHO, J. (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin,(1)-dihydro quercetin and quercetin 3-methyl-ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* varsaboten. *Brain Res.*, **965**: 130-136.
- DOKMECI, İ., DOKMECI, A.H. (2005). TOKSİKOLOJİ ZEHİRLENDİRMEDE TANI ve TEDAVİ, 4.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri.
- DRAPER, H.H., HARDLEY, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, **186**: 421-431.
- DRÖGE, W. (2002). Free radical sinthe physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, **82**: 47-95.
- DU, W.D., ZHANG, Y.E., ZHAI, W.R., ZHOU, X.M. (1999) Dynamic changes of typecn ,co and co collagen synthesis and distribution of collagen producing cells in carbontetrachloride induced rat liver fibrosis. *World J. Gastroenterol.*, **5**: 397-403.
- DUARTE, T.L., LUNEC, J. (2005). Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radical Res.*, **39(7)**: 671-86.
- DUFFUS, J.H., WORTH, H.G.J. (1996). Fundamental toxicology for chemists, Cambridge, UK. Royal Society of Chemistry Information Services,
- DUFFUS, J.H. (2002). Heavy metals-A Meaningless Term? (IUPAC Technical Report) **74 (5)**: 793-807.
- DUNDAR, S.P. (2010). Sazan Balıklarında Arsenik Uygulaması Sonucu Biyokimyasal, Histopatolojik, Mikrobiyolojik ve Hematolojik Parametrelerde Meydana Gelen Değişiklikler Üzerine Propolisin Etkileri. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- DURAN, A., TALAS. Z.S. (2009). Biochemical changes and sensory assessment on tissues of carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) during sale conditions, *Fish Physiol. Biochem.*, **35**: 709–714.

- DUVOIX, A., BLASIUS, R., DELHALLE, S., SCHNEKENBURGER, M., MORCEAU, F., HENRY, E., DICATO, M., DIEDERICH, M. (2005). Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett.*, **223**: 181-190.
- EDENHARDER, R., VON PETERSDORFF, I., RAUSCHER, R. (1993). Antimutagenic effects of flavonoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino-3 methylimidazol [4,5-f] quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. *Mutat Res.*, **287**: 261-74.
- 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.
- EL-DEMERDASH, F.M., YOUSEF, M.I., RADWAN, F.M.E. (2009). Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food Chem Toxicol.*, **47**: 249-254.
- ENOMOTO, S., OKADA, Y., GUVENC, A., ERDURAK, C.S., COSKUN, M., OKUYAMA, T. (2004). Inhibitory effect of traditional Turkish folk medicines on aldose reductase (AR) and haematological activity, and on AR inhibitory activity of quercetin-3-O-methyl-ether isolated from *Cistus laurifolius* L. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **27**: 1140-1143.
- ERASLAN, G., KANBUR, M., SILICI, S. (2007). Evaluation of propolis effects on some biochemical parameters in rats treated with sodium xuoride. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **88**: 273-283.
- ERDEM, T. (2010). Ratlarda Tek Doz Uygulanan Kadmiyum Toksikasyonunun Patolojisi ve Eş Zamanlı Uygulanan Klorpromazinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi. Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ERKAN, C. (1984). İŞ SAĞLIĞI VE MESLEK HASTALIKLARI. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No: 441.
- FANG, Y.Z., YANG, S., WU, G. (2002). Free radicals, antioxidants ve nutrition. *Nutrition*, **18**: 872-879.
- FAUST, S.D., ALYLY, O.M., (1998). Chemistry of Water Treatment, Lewis Publishers. U.S.A.

- FDA FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (2000) FDA approves arsenic trioxide for leukemia treatment in record time for a cancer drug development program. Erisim: [<http://www.fda.gov/bbs/topics/ANSWERS/ANS01040.html>]. Erişim Tarihi: 06.12.1011.
- FEMANDEZ-REAL, J.M., LOPEZ BERMEJO, A., RICART, W. (2002). Cross talk between iron metabolism and diabetes. *Diabetes*, **51**: 2348-2354.
- FERRECCIO, C., GONZALEZ, C., MILOSAVJEVIC, V., MARSHALL, G., SANCHA, A.M., SMITH, A.H. (2000). Lung Cancer and Arsenic Concentrations in Drinking Water in Chile. *Epidemiology*, **11(6)**: 673-679.
- FERZAND, R., GADAH, J.A., SALEHA, S., ALI, Q. (2008). Histological and Haematological Disturbance Caused by Arsenic Toxicity in Mice Model. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **11(11)**: 1405-1413.
- FINCHER, R., KOERKER, R.M. (1987). Long-term survival in acute arsenic encephalopathy: Follow-up using newer measures of electrophysiologic parameters. *Am J Med.*, **82**: 549-552.
- FLORA, S.J., PANT, S.C., MALHOTRA, P.R., KANNAN, G.M. (1997). Biochemical and histopathological changes in arsenic-intoxicated rats coexposed to ethanol. *Alcohol*, **14**: 5638.
- FLORA, S.J.S. (1999). Arsenic-induced oxidative stress and its reversibility following combined Administration of N-acetylcysteine and meso 2,3-dimercaptosuccinic acid in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. P.*, **26**: 865-9.
- FLORA, S.J.S., BHADOURIA, S., KANNAN, G.M., SINGH, N. (2007). Arsenic induced oxidative stress and the role of antioxidant supplementation during chelation: A review; *Journal of Environmental Biology*, **28(2)**: 333-347.
- FRANZBLAU, A., LILIS, R. (1989). Acute arsenic intoxication from environmental arsenic exposure. *Arch. Environ. Occup. H.*, **44(6)**: 385-390.
- FRIDOVICH, I. (1997). Superoxide anion radical, superoxide dismutases and related matters. *J Biol Chem.*, **272**: 18515-18517.
- FOLSOM, A.R., NIETO, F.J., MCGOVERN, P.G., TSAI, M.Y., MALINOW, M.R., ECKFELDT, J.H., HESS, D.L., DAVIS, C.E. (1998). Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*, **98**: 204-210.

- GAO, Z., HUANG, K., YANG, X., XU, H. (1999). Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoid sex tracted from the radix of sutellariabai calensis Georgi. *Biochim. Biophys. Acta*, **1472**: 643-650.
- GAO, Z., XU, H., CHEN, X., CHEN, H. (2003). Antioxidant Status and Mineral Contents in Tissues of Rutin and Baicalin Fed Rats”, *Life Sci.*, **73**: 1599-1607.
- GARG, A., GARG, S., ZANEVELD, L.J., SINGLA, A.K. (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother Res*, **15(8)**: 655-69.
- GASSEN, M., YODIM, M.B. (1997). The potential role of iron chelators in the treatment of Parkinson's disease and related neuro-logical disorders. *Pharmacol Toxicol.*, **80**: 159-66.
- GELMAN, B.B., MICHAELSON, I.A., BUS, J.S., (1978). The effect of lead on oxidative hemol-ysis and erythrocyte defense mechanisms in the rat. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **45**: 119-129.
- GERR, F., LETZ, R., RYAN, P.B., GREEN, R.C. (2000). Neurological effects of environmental exposure to arsenic in dust and soil among humans. *Neurotoxicology*, **21(4)**: 475-87.
- GHOSH, D., GHOSH, S., SARKAR, S., GHOSH, A., DAS, N., SAH,K., MANDAL,A.K.. (2010). Quercetin in vesicular delivery systems: Evaluation in combating arsenic-induced acute liver toxicity associated gene expression in rat model. *Chem-Biol. Interact.*, **186**: 61-71.
- GIROTTI, A.W. (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover and effector action in biological systems. *The Journal of Lipid Research*, **39**: 1529-1542.
- GLAZENER, F.S., ELLIS, J.G., JOHNSON, P.K. (1968). Electrocardiographi findings with arsenic poisoning. *Calif.Med.*, **109(2)**: 158-162.
- GOERING, P.L., APOSHIAN, H.V., MASS, M.J., CEBRIAN, M., BECK, B.D., WAALKES, M.P. (1999). The enigma of arsenic carcinogenesis: role of metabolism. *Toxicol. Sci.*, **49**: 5-14.
- GOLDSMITH, S., FROM, AH. (1986). Arsenic-induced atypical ventricular tachycardia. *New Engl. J. Med.*, **303**: 1096-1097.

- GOOD, P.F., WERNER, P., HSU, A., OLANOW, C.W., PERL, D.P. (1996). Evidence of neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.*, **149**: 21-8.
- GOYER, R.A., CLARKSON, T.W. (2001). Toxic effects of metals In: Klaassen CD(ed) Casarettan Doull's toxicology: the basic science of poisons, 6th ed. McGraw-Hill, New York, 811-867.
- GRIEVE, M. (1967). A modern herbal, Cilt I, Hafner publishing Co., New York.
- GRINDLAY, G., REYNOLDS, T. (1986). The Aloe vera phenomenon. A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *J Ethnopharmacology*, **16**: 117-151.
- GUHA MAZUMDER, D.N., CHAKRABORTY, A.K., GHOSE, A., GUPTA, J.D., CHAKRABORTY, D.P., DEY, S.B., CHATTOPADHYAY, N. (1988). Chronic arsenic toxicity from drinking tubewell water in rural west Bengal. *Bull WHO* **66(4)**: 499-506.
- GUNN, S.A., GOULD, T.C., ANDERSON, W.A.D. (1970). Comparative mechanisms of action on monochlorhydrin and cadmium induced necrosis of the caput epididymis of the rat. *Biol Reprod.*, **3**: 35-42.
- GUO, X., FUJINO, Y., KANEKO, S., WU, K., XIA, Y., YOSHIMURA, T. (2001). Arsenic contamination of groundwater and prevalence of arsenical dermatosis in the Hetao plain area, Inner Mongolia, China. *Mol Cell Biochem.*, **222(1-2)**: 13-140.
- GUPTA, R.K., BARNES, G.W. SKELTON, F.R. (1967). Light-microscopic and immunopathologic observations on cadmium chloride-induced injury in mature rat testis. *American Soc Invest Pathol.*, **51(2)**: 191-205.
- GUPTA, S., AHMAD, N., HUSAIN, M.M., SRIVASTAVA, R.C. (2000). Involvement of nitric oxide in nickel-induced hyperglycemia in rats. *Nitric Oxide-Biolch.*, **4**: 129-138.
- GUPTA, R., FLORA, S.J.S. (2005). Protective Value of Aloe vera against Some Toxic Effects of Arsenic in Rat. *Phytother. Res.*, **19**: 23-28.
- GUPTA, S., GUPTA, H.K., SONI, J. (2005). Effect of Vitamin E and selenium supplementation on concentrations of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxides and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. *Theriogenology*, **64(6)**: 1273- 86.

- GUTTERIDGE, J.M.C., (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin.Chem.* **41**: 1819-1828.
- HABASHI, F. (1997). Handbook of Extractive Metallurgy, Volume II, WILEY-VCH, Germany,
- HAKKINEN, S. (2000). Flavonols and Phenolic Acids in Berries and Berry Products ,Kupio University Publications D. Medical Sciences
- HALEM, D.V., BAKKER, S.A., AMY, G.L., DIJK, J.C.V. (2009). Arsenic in drinking water: a worldwide water quality concern for water supply companies. *Drink. Water Eng. Sci.*, **2**: 29-34.
- HALLIWELL, B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, **344**: 721-4.
- HALLIWELL, B. (1996). Vitamin C: Antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radical Res.*, **25**: 439-454.
- HANLON, D.P., FERM, V.H. (1977). Placental permeability of arsenate ion during early embryogenesis in the hamster. *Experientia* **33(9)**: 1221-1222.
- HATHCOCK, J.N., AZZI, A., BLUMBERG, J., BRAY, T., DICKINSON, A., FREI, B. (2005). Vitamins E and C are safe across a broad range of intakes. *Am. J. Clin. Nutr.*, **81(4)**: 736-45.
- HEATH, A. (1995). WATER POLLUTION AND FISH PHYSIOLOGY. 2. Edit., CRC press, New York, USA, 359.
- HERNANDEZ-ZAVALA, A., DEL RAZO, L.M., AGUILAR, C., GARCIA-VARGAS, G.G., BORJA, V.H., CEBRIAN, M.E. (1998). Alteration in bilirubin excretion in individuals chronically exposed to arsenic in Mexico. *Toxicol. Lett.*, **99**: 79-84.
- HERTOG, M.G., FESKENS, E.J, HOLLMAN, P.C, KATAN, M.B., KROMHOUT, H. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study, *Lancet* **342**: 1007-1011.
- HERTOG, M.G.L., KROMHOUT, D., ARAVANIS, C. (1995). Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in these seven countries study. *Arch. Intern. Med.*, **155**: 381-6.

- HISHIKAWA, Y., KOHNO, H., UEDA, S., KIMOTO, T., DHAR, DK., KUBOTA, H., TACHIBANA, M., KOJI, T., NAGASUE, N. (2001). Expression of metallothionein in colorectal cancers and synchronous liver metastases. *Oncology- Basel.*, **61**: 162-167.
- HIURA, T., KHALID, H., YAMASHITA, H., TOKUNAGA, Y., YASUNAGA, A., SHIBATA, S. (1998). Immunohistochemical analysis of metallothionein in astrocytic tumors in relation to tumor grade, proliferative potential, and survival. *Cancer*, **83**: 2361-2369.
- HODEK, P.; TREFIL, P., STIBOROVA, M. (2002) Flavonoids-Potent and Versatile Biologically Active Compounds Interacting with Cytochromes P450", *Chem-Biol. Interact.*, **139**: 11-21.
- HOFSETH, L.J., SAITO, S., HUSSAIN, S.P., ESPEY, M.G., MIRANDA, K.M., ARAKI, Y., JHAPPAN, C., HIGASHIMOTO, Y., HE, P., QUEZADO, M.M., ZURER, I., ROTTER, V., WINK, D.A., APPELLA, E., HARRIS, C.C. (2003). Nitric oxide-induced cellular stress and p53 activation in chronic inflammation. Erişim:[<http://www.pnas.org/cgi/content/full/100/1/143>]. Erişim Tarihi 22.06.2012.
- HOLLMAN, P.C., HERTOEG, M.G.; KATAN, M.B. (1996). Role of Dietary Flavonoids in Protection Against Cancer and Coronary Heart Disease, *Biochem. Soc. T.*, **24**: 785-789.
- HOULT, J.R.S., MORONEY, M.A., PAYA, M. (1994). Action of flavonoids and coumarins on lipoxygenase and cyclooxygenase. *Method. Enzymol.*, **234**: 443-55.
- HSU, P.C., GUO, Y.L. (2002). Antioxidant nutrient and lead toxicity. *Toxicology*, **180**: 33-44.
- HUGHES, D.A. (2000). Dietary antioxidants and human immune function. *Founda Brit. J. Nutr.*, **25**: 35-41.
- HUGHES, M.F. (2002). Arsenic toxicity and potential mechanisms of action", *Toxicol. Lett.*, **133**: 1-16.
- HUSSAIN, S., SLIKKER, W.J.R., ALI, S.F. (1996). Role of metallothionein and other antioxidants in scavenging superoxide radicals and their possible role in neuroprotection. *Neurochem. Int.*, **29**: 145-152.
- International Labour Organisation, Encyclopaedia of Occupational Health and Safety, Fourth Edition, Switzerland, 1998.

- ISLAM, M.Z., AWAL, M.A., MOSTOFA, M., GHOSH, A., KHAIR, A. (2009). Effect of spinach against arsenic toxicity in rats. *Bangl. J. Vet. Med.*, **7(2)**: 358-363.
- JACOBSEN, D.W. (1998). Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin. Chem.*, **44**: 1833-1843.
- JADESKI, L.C., CHAKRABORTY, C., LALA, P.K. (2002). Role of nitric oxide in tumour progression with special reference to a murine breast cancer model^{1,2}. *Can. J. Physiol. Pharm.*, **80**: 125-135.
- JADHAV, S.H., SARKAR, S.N., PATIL, R.D., TRIPATHI, H.C. (2007a). Effects of Subchronic Exposure via Drinking Water to a Mixture of Eight Water Contaminating Metals: A Biochemical and Histopathological Study in Male Rats. *Arch. Environ. Con. Tox.*, **53**: 667-677.
- JADHAV, S.H., SARKAR, S.N., AGGARWAL, M., TRIPATHI, H.C. (2007b). Induction of oxidative stress in erythrocytes of male rats subchronically exposed to a mixture of eight metals found as groundwater contaminants in different parts of India. *Arch. Environ. Con. Tox.*, **52**: 145-151.
- JAIN, C.K., ALI, I. (2000). Arsenic Occurrence, Toxicity and Speciation Techniques, *Waters. Research*, **34**: 4304-4312.
- JAYASURYA, A., BAY, B.H., YAP, W.M., TAN, N.G., TAN, B.K. (2000). Proliferative potential in nasopharyngeal carcinoma: correlations with metallothionein expression and tissue zinc levels. *Carcinogenesis*. **21**: 1809-1812.
- JIA, G., GU, Y.Q., CHEN, K.T., LU, Y.Y., YAN, L., WANG, J.L., SU, Y.P., WU, J.C. (2004) Protective role of metallothionein (I/II) against pathological damage and apoptosis induced by dimethylarsinic acid. *World J Gastroentero.*, **10(1)**: 91-5.
- JIN, R., CHOW, V.T., TAN, P.H., DHEEN, S.T., DUAN, W., BAY, B.H. (2002). Metallothionein 2A expression is associated with cell proliferation in breast cancer. *Carcinogenesis*. **23**: 81-86.
- JONES, D.P., (2002). Redox potential of GSH /GSSG couple: assay and biological significance. *Method. Enzymol.*, **348**: 93-112.
- JOSEPH, M.G., BANERJEE, D., KOCHA, W., FELD, R., STITT, L.W., CHERIAN, M.G. (2001). Metallothionein expression in patients with small cell

carcinoma of the lung: correlation with other molecular markers and clinical outcome. *Cancer*, **92**: 836-842.

JOWITA, O.G., IZABELLA, S., JERZY, K., HANA, R., KATARZYNA, U.W., MAREK, T. (2003). Identification of Natural Dyes in Archeological Coptic Textiles by Liquid Chromatography with Diode Array Detection. *Journal of Chromatography*, **989**: (2) 239-248.

JUAREZ-REYES, A., María E. JIMENEZ-CAPDEVILLE, M.E., DELGADO, J.M., PEREZ, D.O. (2009). Time course of arsenic species in the brain and liver of mice after oral administration of arsenate. *Arch Toxicol.*, **83**: 557-563.

KAGAN, V.E., SHVEOVA, A., SERBINOVA, E., KHAN, S., SWANSON, C., POWELL, R., PACKER, L. (1992). Dihydrolipoic acid -a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem. Pharmacol.*, **44**: 1637-1649.

KAGI, J.H., HIMMELHOCH, S.R., WHANGER, P.D., BETHUNE, J.L., VALLEE, B.L. (1974). Equine hepatic and renal metallothioneins. Purification, molecular weight, amino acid composition, and metal content. *J. Biol. Chem.* **249**: 3537-3542.

KAHRAMAN, A., ERKASAP, N., KOKEN, T., SERTESER, M., AKTEPE, F., ERKASAP, S. (2003). The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. *Toxicology*, **183**: 133-142.

KAHVECİOĞLU, Ö., KARTAL, G., GÜVEN, A., TİMUR, S. (2004). Metallerin çevresel etkileri-I. *Metalurji Dergisi*, **136**: 47-53. Erişim: [http://www.metalurji.org.tr/dergi136/d136_4753.pdf]. Erişim Tarihi: 05.06.2012

KALEAGASIOĞLU, F., ÜNLÜ, S., AYTUG, B., BILGE, N., MERİÇLİ, A.H., GÜVEN, K.C. (1995). Research on *Cistus laurifolius* L. 1. Cytotoxicity and Lethal Toxicity, *Acta Pharm. Turcica*, **37**: 25.

KAMINSKI, M.D., NUNEZ, L. (2003). Review of Arsenic Removal Technologies for Contaminated Groundwaters. *Chemical Engineering Division*.

KANG, Y.J. (1999). The antioxidant function of metallothionein in the heart. *Exp. Biol. Med.*, 263-273.

KAPLAN, K.A. (2009). Ratlarda İndometazin ile Oluşturulan Gastrik Hasarlar Üzerine Alfa Lipoik Asitin Gastroprotektif Etkilerinin ve Bu Etkilerin

Antioksidan Sistem ile İlişkisinin Belirlenmesi. Biyokimya ABD, Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- KARAGAS, M.R., TOSTESON, T.D., MORRIS, J.S., DEMIDENKO, E., MOTT, L.A., HEANEY, J., SCHNED, A. (2004). Incidence of transitional cell carcinoma of the bladder and arsenic exposure in New Hampshire. *Cancer Cause. Control.*, **15**: 465- 472.
- KARATAS, S., ERDEM, C., CİCIK, B. (2005). Effect of cadmium on levels of sera aspartate aminotransferase alanine aminotransferase and glucose Cyprinus carpio (L. 1758) (in Turkish). *Ekoloji*, **14 (55)**: 18-23.
- KASPRAZAK, K. (2002). Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis. *Free Radical Bio. Med.*, **32(10)**: 958-967.
- KAUR, P., BANSAL, M.P. (2004). Effect of experimental oxidative stres on steroidogenesis and DNA damage in Mouse testis. *J. Biomed. Sci.*, **11**: 391-397.
- KAYA, S., PİRİNCCI, İ., BİLGİLİ, A. (2002) VETERİNER HEKİMLİĞİNDE TOKSİKOLOJİ 2. Baskı. Medisan Yayınevi, Ankara.
- KHANDAKER, N.R., BRADY, P.V., KRUMHANS�; J.L. (2009). Arsenic removal al from drinking water A HANDBOOK FOR COMMUNITIES.
- KIM, E., NA, K.J. (1990). Acute toxic effect of sodium dichromate on metabolism. *Arch Toxicol.*, **64**: 644-649.
- KININGHAM, K., KASARSKIS, E. (1998). Antioxidant function of metallothioneins. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine.* **11**: 219-226.
- KIRKMAN, M.N., GAETANI, G.F. (1984). Catalase: atetrameric enzyme with fourtightly bound molecules of NADPH. *Proc.Natl. Acad. Sci.*, **81**: 4343-4347.
- KLUWE, W.M. (1981). Renal function tests as indicators of kidney injury in subacute toxicity studies. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **57**: 414-424.
- KNEKT, P., JÄRVINEN, R., REUNANEN A. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *J. Br. Med.*, **312**: 478-481.

- KO, W.C., KUO, S.W., SHEU, J.R., LIN, C.H., TZENG, S.H., CHEN, C.M. (1999). Relaxant effects of quercetin-methyl-ether derivatives in isolated guinea pig trachea and their structure-activity relationships. *Planta Med.*, **5**: 273-275.
- KOKILIVANI, V., DEVI, M.A., SIVARAJAN, K., PANNEERSELVAM, C. (2005). Combined efficacies of dL-lipoic acid and meso 2,3 dimercaptosuccinic acid against arsenic induced toxicity in antioxidant systems of rats. *Toxicol. Lett.*, **160**: 1-7.
- KOKOĞLU, E. (1998). Serbest radikal reaksiyonlarının kanserdeki rolü. *Klinik Gelişim*, **11(1-2)**: 358-364.
- KORKINA, L.G., AFANAS'EF, I.B., DIPLOCK, A.T. (1993). Antioxidant therapy in children affected by irradiation from the Chernobyl nuclear accident. *Biochem. Soc. T.*, **21**: 314.
- KOTSANIS, N., IIOPOULOU-GEORGUDAKI, J. (1999). Arsenic Induced Liver Hyperplasia and Kidney Fibrosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Microinjection Technique: A Sensitive Animal Bioassay for Environmental Metal-Toxicity. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **62**: 169-178.
- KRINSKY, N.I. (1980). Membrane antioxidants discussion. *Ann N Y Acad Sci.*, **551**: 17-32; 32-3.
- KUAN-SEONG, N., UJANG, Z., LE-CLECH, P. (2004). Arsenic Removal Technologies for Drinking Water Treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio*, **3**: 43-53.
- KUPELI, E., YESILADA, E. (2007). Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures, *J. Ethnopharmacol.*, **112**: 524-530.
- KUPELI, E., ORHAN, D.D., YESILADA, E. (2006). Effect of *Cistus laurifolius* L. leaf extracts and flavonoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *J. Ethnopharmacol.*, **103**: 455-460.
- LAGERKVIST, B., LINDERHOLM, H., NORDBERG, G.F. (1986). Vasospastic tendency and Raynaud's phenomenon in smelter workers exposed to arsenic. *Environ. Res.*, **39**: 465-474.

- LAMM, S.H., ENGEL, A., KRUSE, M.B., FEINLEIB, M., BYRD, D.M., LAI, S., WILSON, R. (2004). Arsenic in drinking water and bladder cancer mortality in the United States: An analysis based on 133 u.s. counties and 30 years of observation. *J Occup Environ Med.*, **46(3)**: 298-306.
- LANDIS, G.W., YU, M.H. (1999). Heavy Metals, Environ. *Toxicol.*, Lewis Pub., USA. 171.
- LANNING, L.L., CREASY, D.M., CHAPIN, R.E., MANN, P.C., BARLOW, N.J., REGAN, K.S., GOODMAN, D.G. (2002). Recommended approaches for the evaluation of testicular and epididymal toxicity. *Toxicol. Pathol.*, **30**: 507-20.
- LAUGHTON, M.J., EVANS, P.J., MORONEY, M.A., HOULT, J.R.C., HALLIWELL, B. (1991). Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem Pharmacol.*, **42**: 1673-81.
- LEE, P.J., CHOI, A.M.K. (2003). Pathways of cell signaling in hyperoxia. *Free Radical. Bio. Med.*, **35**: 341-350.
- LEE, E.S., LEE, H.E., SHIN, J.Y., YOON, S., MOON, J.K. (2003) The flavonoid quercetin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats, *J. Pharm. Pharmacol.*, **55**: 1169-1174.
- LEE-FELDSTEIN, A.(1983). Arsenic and respiratory cancer in man: FollowUp of an Occupational study. In: Lederer W, Fensterheim R, eds. Arsenic: Industrial, Biomedical and environmental perspectives. New York, NY: Van Nostrand Reinhold, 245-265.
- LERMAN, S., CLARKSON, T.W., GERSON, R.J. (1983). Arsenic uptake and metabolism by liver cells is dependent on arsenic oxidation state. *Chem-Biol. Interact.*, **45**: 401-406.
- LEVIN-SCHERZ, J.K., PATRICK, J.D., WEBER, F.H., GARABEDIAN, C.J.R. (1987). Acute arsenic ingestion. *Ann. Emerg. Med.*, **16(6)**: 702-704.
- LIEBSCHER, K., SMITH,H. (1968). Essential and nonessential trace elements: A method of determining whether an element is essential or nonessential in human tissue. *Arch. Environ. Occup H.*, **17**: 881-890.

- LIN, L., WANG, J., CARUSO, J. (1995). Arsenic Speciation Using Capillary Zone Electrophoresis With indirect Ultraviolet Detection, *Journal of Chromatography Science*, **33**: 177-180.
- LIN, C.N., LU, C.M., LIN, H., KO, F.N., TENG, C.M. (1995). Novel antiplatelet naphthalene from *Rhamnusnakaharai*. *J. Nat. Prod.*, **58**: 1934-1940.
- LINDGREN, A., DANIELSSON, BRG., DENCKER, L., VAHTER, M. (1984). Embryotoxicity of arsenite and arsenate: Distribution in pregnant mice and monkeys and effects on embryonic cells in vitro. *Acta Pharmacol Toxicol.*, **54**: 311-320.
- LITTLE, R.E., KAY, G.N., CAVENDER, J.B., EPSTEIN, A.E., PLUMB, V.J. (1990). Torsadede pointes and T-U wave alternans associated with arsenic poisoning. *PACE*, **13**:164-170.
- LIU, J., LIU, Y., GOYER, R.A., ACHANZAR, W., WAALKES, M.P. (2000a). Metallothionein I/I null mice are more sensitive than wild type mice to the hepatotoxic and nephrotoxic effects of chronic oral or injected inorganic arsenicals. *Toxicol. Sci.*, **55**: 460-7.
- LIU, J., LIU, Y., HABEEBU, S.M, WAALKES, M.P., KLAASSEN, C.D. (2000b). Chronic combined exposure to cadmium and arsenic exacerbates nephrotoxicity, particularly in metallothionein I/II null mice. *Toxicology*, **147**: 157-166.
- LIU, J., ZHENG, B., APOSHIAN, H.V., ZHOU, Y., CHEN, M.L., ZHANG, A., WAALKES, M.P. (2002) Chronic arsenic poisoning from burning high-arsenic-containing coal in Guizhou, China. *Environ. Health Persp.*, **110**: 119-122.
- LIU, C.M., MA, J.Q., SUN, Y.Z. (2010a). Quercetin protects the rat kidney against oxidative stress mediated DNA damage and apoptosis induced by lead. *Environ. Toxicol. Phar.*, **30**: 264-271.
- LIU, Z., PIAO, F., LIU, S., WANG, Y., QU, S. (2010b). Subchronic exposure to arsenic trioxide-induced oxidative DNA damage in kidney tissue of mice. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **62**: 543-547
- LONG, C.A., BISLSKL, H.J. (1980) Rate of reaction of superoxide radical with chloride-containing species. *J. Phys. Chem.*, **84**: 555-557.

- LUBIN, J.H., POTTERN, L.M., STONE, B.J., FRAUMENI, J.F.R. (2000). Respiratory cancer in a cohort of copper smelter workers: Results from more than 50 years of follow-up. *Am. J. Epidemiol.*, **151(6)**: 554-565.
- LUCK, H. (1955). Catalase. In: Bergmeyer HU (ed) *Methods in Analysis*. London: Academy Press.
- MA, N., SASOH, M., KAWANISHI, S., SUGIURA, H., PIAO, F. (2010). Protection effect of taurine on nitrosative stress in the mice brain with chronic exposure to arsenic. *J. Biomed. Sci.*, **17 (Suppl 1)**: 7.
- MADDEN, E.F., FOWLER, B.A. (2000). Mechanisms of nephrotoxicity from metal combinations. *Drug. Chem. Toxicol.*, **23**: 1-2.
- MAES, D., PATE, D.B. (1977). The absorption of arsenic in to single human head hairs. *J. Forensic. Sci.*, **22**: 89-94.
- MANDAL, B.K., SUZUKI, K.T. (2002). Arsenic round the world: A Review. *Talanta*, **58(1)**: 201-235.
- MANDAL, A.K., DAS, S., BASU, M.K., CHAKRABARTI, R.N., DAS, N. (2007). Hepatoprotective Activity of Liposomal Flavonoid against Arsenite-Induced Liver Fibrosis. **320 (3)**: 994-101.
- MANIKANDANA, P., SUMITRA, M., AISHWARYA, S., MANOHAR, B.M., LOKANADAM, B., PUVANAKRISHNAN, R. (2004). Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **36**: 1967-1980.
- MANIMARAN, A., SARKAR, S.N., SANKAR, P. (2009). Repeated Oreexposure or Coezposure to Arsenic Differentially Alters Acetaminophen-Induced Oxidative Stress in Rat Kidney, *Enviromental Toxicology.*, **4**: 1-10.
- MANNA, P., SINHA, M., SIL, P.C., (2008). Arsenic induced oxidative myocardial injury: protective role of arjunolic acid. *Arch.Toxicol.*, **82**: 137-149.
- MARKHAM, K.R. (1982). *Techniques of Flavonoid Identification*, Academic Pres, London,
- MARNETT L.J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res.*, **424**: 83-95.

- MARTINI N.D., KATERERE, D.R.P., ELOFF, J.N. (2004). Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae), *J Ethnopharmacol.*, **93(2-3)**: 207-212
- MATES, J.M., SANCHEZ-JIMENEZ, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front. Biosci-Landmrk.*, **4**: 339-345.
- MATSCHULLAT, J. (2000). Arsenic in the geosphere a review. *Sci. Total Environ.*, **249**: 297-312.
- MATSUO, N., YAMADA, K., YAMASHITA, K. SHOJI, K., MORI, M., SUGANO, M. (1996). Inhibitory effect of tea polyphenols on histamine and leukotriene B4 release from rat peritoneal exudate cells. *InVitro Cell Dev. Biol.* **32**: 340.
- MCCORD, J.M., KEELE, B.B., FRIDOVICH, I., (1976). An enzyme based the or yofobligate anaerobis; the physiological functions of superoxide dismutase. *Proc.Natl.Acad.Sci.*, **68**: 1024-1031.
- MEHTA,A.,FLORA,S.J.S.(2001).Possible role of metal redistribution,hepatotoxicity and oxidative stress in chelating agentsinduced hepatic and renal metallothionein in rats. *Fd ChemToxicol.*, **39**: 1029-1038.
- MEOTTI, F.C., STANGHERLIN, E.C., ZENI, G., NOGUERIA, C.W. ROCHA, J.B.T. (2004). Protective role of arkyl diselenides on lipid peroxidation, *Enciron. Res.*, **94**: 276-282.
- MERTZ, W. (1986). Trace elements in human and animal nutrition. 5th Ed. Vol. II. Academic press, Inc, USA.
- METEOGLU, İ., ÇAGLAYAN, O., KOCYIGIT, A. (2007). KLİNİK BİYOKİMYA LABORATUVARI EL KİTABI, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 148-149
- MICHAUD, D.S., WRIGHT, M.E., CANTOR, K.P., TAYLOR, P.R., VIRTAMO, J., ALBANES, D. (2004). Arsenic concentrations inprediagnostic toenails and the risk of bladder cancer in a cohort study of male smokers. *Am. J. Epidemiol.*, **160(9)**: 853- 859.
- MILES, A.T., M.HAWKSWORTH, G., BEATTIE, J.H., RODILLA, V. (2000). Induction, Regulation, Degradation, and Biological Significance of Mammalian Metallothioneins. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology.* **35(1)**:35-70.

- MOHANA, D., PITTMAN, C.U. (2007). Review Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents-A critical review. *J. Hazard. Mater.*, **142**: 1-53.
- MOINI, H., PACKER, L., SARIS, N.E. (2002). Antioxidant and prooxidant activities of α -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol Appl Pharm.*, **182**: 84-90.
- MOORE, M.M., HARRINGTON-BROCK, K., DOERR, C.L. (1994). Genotoxicity of arsenic and its methylated metabolites. *Environ. Geochem. Hlth.*, **16**: 191-198.
- MORTON, WE., CARON, GA. (1989). Encephalopathy: An uncommon manifestation of workplace arsenic poisoning? *Am. J. Ind. Med.*, **15**: 1-5.
- MUKHERJEE, S., DAS, D., DARBAR, S., MUKHERJEE, M., DAS, A.S., MITRA, C. (2004). Arsenic trioxide generates oxidative stress and islet cell toxicity in rabbit. *Current Science*, **86 (6)**: 25.
- MUMFORD, JL., WU, K., XIA, Y., KWOK, R., YANG, Z., FOSTER, J., SANDERS, WE. (2007) Chronic arsenic exposure and cardiac repolarization abnormalities with QT interval prolongation in a population-based study. *Environ. Health Persp.*, **115(5)**: 690-694.
- NAVARI-IZZO, F., QUARTACCI, M.F., SGHERRI, C. (2002). Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *Plant Physiol. Biochem.*, **40**: 463-470.
- NAVAS-ACIEN, A., SILBERGELD, E.K, STREETER, R.A., CL, J.M., BURKE, T.A., GUALLAR, E. (2006). Arsenic exposure and type 2 diabetes: a systematic review of the experimental and epidemiologic evidence. *Environ Health Persp.*, **114**: 641-648.
- NEVES, R.N.P., CARVALHO, F., CARVALHO, M., FERNANDES, E., SOARES, E., BASTOS, M.L., PEREIRA, M.L. (2004). Protective Activity of Hesperidin and Lipoic Acid Against Sodium Arsenite Acute Toxicity in Mice *Toxicol. Pathol.*, **32**: 527-535.
- NICKSON, R., MCARTHUR, J., BURGESS, W., AHMED, KM. (1998). Arsenic Poisoning of Bangladesh ground water. *Nature*, **395**: 338.
- NORDBERG, G.F. (1989). Modulation of metal toxicity by metallothionein. *Biol. Trace Elem. Res.*, **21**: 131-135.

- NORDBERG, M. (1998). Metallothioneins: historical review and state of knowledge. *Talanta*, **46**: 243-254.
- NORDBERG, J., ARNER, E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Bio. Med.*, **31**: 1287-1312.
- NRIAGU, J.O. (1994). Arsenic in the Environment; Part I: Cycling and Characterization", John Wiley Sons, Inc., 1-15.
- O'DAY, P. A. (2006). Chemistry and Minerology of Arsenic. *Elements*, **2**: 77-83.
- OHKAWA, H., OHISHI, N., YAGI, K. (1979). Assay for lipidperoxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, **95**: 351-358.
- OHSAKI, A., TAKASHIMA, J., CHIBA, N., KAWAMURA, M. (1999). Microanalysis of a selective potent anti-Helicobacter pylori compound in a Brazilian medicinal plant Myroxylon peruiferum and the activity of analogues. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **9**: 1109-1112.
- OKADA, F. (2002). Inflammation and free radicals in tumor development and progression. *Redox Rep.*, **7(6)**: 357-368.
- OSORIO, M.T., ZUMALAXARREGUI, J.M., CABEZA, E.A., FIGUERIA, A, MATEO, J. (2008) Effect of rearing system on some meat quality traits and volatile compounds of suckling lamb meat, *Small Ruminant Res.*, **78**: 1-12.
- PACKER, L., WITT, E.H., TRITSCHLER, H.J. (1995). Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Bio. Med.*, **19**: 227-250.
- PACKER, L., TRITSCHLER, H., WESSEL, K. (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radical Bio. Med.*, **22(1-2)**: 359-78.
- PACKER, L. (1998). Alpha Lipoic acid: a metabolic antioxidant which regulates NF-kappa B signal transduction and protects against oxidative injury. *Drug Metab. Rev.*, **30(2)**: 245-275.
- PACKER, L., KRAEMER, K., RIMBACH, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, **17**: 888-895.

- PAL, S., CHATTERJEE, A.K. (2006). Possible beneficial effects of melatonin supplementation on arsenic induced oxidative stress in Wistar rats. *Drug Chem. Toxicol.*, **29(4)**: 423-33.
- PARK, J.D., CURTIS, Y.L., KLAASSEN, D. (2001a). Protective effect of metallothionein against the toxicity of cadmium and other metals. *Toxicology*, **163**: 93-100.
- PARK, J.D., LIU, Y., KLAASSEN, C.D. (2001b). Protective effect of metallothionein against the toxicity of cadmium and other metals. *Toxicology*, **163**: 93-100.
- PERES, W., TUNON, M.J., COLLADO, P.S., HERRMANN, S., MARRONI, N.N., GONZALEZ-GALLEGO, J. (2000). The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J. Hepatol.*, **33**: 742-750.
- PETRICK, J.S., AYALA-FIERRO, F., CULLEN, W.R., CARTER, D.E., APOSHIAN, H.V. (2000). Monomethylarsonous acid (MMAIII) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **163**: 203-207.
- PIKULSKI, M., BRODBELT, J.S., (2003). Differentiation of Flavonoid Glycoside Isomers by Using Metal Complexation and Electrospray Ionization Mass Spectrometry”, Department of Chemistry and Biochemistry; Austin, Texas, USA.
- PINEIRO-CARRERO, V.M., PINEIRO, E.O. (2004). *Liver. Pediatrics*, **113**: 1097-1106.
- PRICE, K.R., CASUSUCELLI, F., COLQUHOUN, I.J., RHODES, M.J. (1998a). Composition and Content of Flavonol Glycosides in Broccoli Florets (Brassica Oleracea) and their Fate During Cooking. *J. Sci Food Agr.*, **77**: 468-472.
- PRICE, K.R.; COLQUHOUN, I.J., BARNES, K.A., RHODES, M.J. (1998b) Composition and Content of Flavonol Glycosides in Green Beans and Their Fate During Processing, *J. Agr. Food Chem.*, **46**: 4898-4903.
- QUATREHOMME, G., RICQ, O., LAPALUS, P., JACOMET, Y., OLLIER, A. (1992). Acute arsenic intoxication: Forensic and toxicologic aspects (an observation). *J Forensic Sci.*, **37(4)**: 1163-1171.

- RAHMAN, M.M., NG, J.C., NAIDU, R. (2009). Chronic exposure of arsenic via drinking water and its adverse health impacts on humans. *Environ. Geochem. Hlth.*, **31**:189-200.
- RAHMAN, M.F., MISBAHUDDIN, M. (2010). Effect of folic acid and tetrahydrofolate on tissue arsenic level in rat. M. Bangladesh. *J Pharmacol.*, **5**: 25-29.
- RATNAIKE, R. N. (2003). Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad. Med. J.*, **79**: 391-396.
- REED, D.J. (1998). Evaluation of chemical induced oxidative stress as a mechanism of hepatocyte death. In: Plaa GL, Hewitt WR (eds) *Toxicology of the liver*. 2nd ed. Taylor and Francis, Washington, DC, pp 187-220
- REYNOLDS, T., DWECK, A.C. (1999). Aloe vera leaf gel: a review update. *J Ethnopharmacol.*, **68**: 3-37.
- RHOADS, K., SANDERS, CL. (1985). Lung clearance, translocation and acute toxicity of arsenic, beryllium, cadmium, cobalt, lead, selenium, vanadium, and ytterbium oxides following deposition in rat lung. *Environ. Res.*, **36**: 359-378.
- RIMM, E.B., KATAN, M.B., ASCHERIO, A., STAMPER, M.J., WILLET, W.C. (1996). Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann. Intern. Med.*, **125**: 384-9.
- RINNE, T., MUTSCHLER, E., WIMMER-GREINECKER, G., MORITZ, A., OLBRICH, H.G. (2000). Vitamin C and E protect isolated cardiomyocytes against oxidative damage. *Int J Cardiol.*, **75(2,3)**: 275-81.
- ROUSSELOT, P., LABOUME, S., MAROLLEAU, J.P., LARGHERO, T., NOGUERA, M.L., BROUET, J.C., FERMAND, J.P. (1999). Arsenic trioxide and melarsoprol induce apoptosis in plasma cell lines and in Plasma cells from myeloma patients. *Cancer Res.*, **59**: 1041-1048.
- ROY, P., SAHA, A. (2002). Metabolism and toxicity of arsenic: A Human Carcinogen. *Current Sci.*, **82(1)**: 38-4.
- ROY, S., BHATTACHARYA, S. (2006). Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of *Channa punctatus*. *Environ. Toxicol.*, **65 (2)**: 218-229.

- SAAD, S.Y., ALKHARFY, K.M., ARAFAH, M.M. (2006). Cardiotoxic effects of arsenic trioxide/imatinib mesilate combination in rats. *Jornal of pharmacy and pharmacology*, **JPP 58**: 567-573.
- SADHU, A.K., OKUYAMA, E., FUJIMOTO, H., ISHIBASHI, M., YESILADA, E. (2006). Prostaglandin inhibitory and antioxidant components of *Cistus laurifolius*, a Turkish medicinal plant. *J. Ethnopharmacol.*, **108**: 371-378
- SADIQ, M., LOCKE, A., SPIERS, G., PEARSON, D.A.B. (2002). Geochemical behavior of arsenic in Kelly Lake, Ontario. *Water Air Soil Poll*, **141**: 299-312.
- SAINZ, R.M., REITER, R.J., MAYO, J.C., CABRERA, J., TAN, D.X., QI, W., GARCIA, J.J. (2000). Changes in lipid peroxidation during pregnancy and after delivery in rats: effect of pinealectomy. *Journal of Reproduction and Fertility*, **119**: 143-149.
- SAKURAI, T., KOJIMA, C., OCHIAI, M., OHTA, T., FUJIWARA, K. (2004). Evaluation of in vivo acute immunotoxicity of a major organic arsenic compound arsenobetain in seafood. *Int. Immunopharmacol.*, **4 (2)**: 179-184.
- SAMBU, S., WILSON, R. (2008). Arsenic in food and water a brief history. *Toxicol. Ind. Health*, **24**: 217.
- SANDSTROM, A.I.M., WALL, S.G.I., TAUBE, A. (1989). Cancer incidence and mortality among Swedish smelter workers. *Br J Ind Med.*, **46**: 82-89.
- SANTRA, A., MAITI, A., DAS, S., LAHIRI, S., CHARKABORYT, S.K., MAZUMDER, D.N. (2000). Hepatic damage caused by chronic arsenic toxicity in experimental animals. *Clin. Toxicol.*, **38**: 395-405.
- SANTRA, A., CHOWDHURY, A., GHATAK, S., BISWAS, A., KRISHNA, G. (2007). Arsenic induces apoptosis in abrogated by N-acetylcysteine. *Gastroenterology*, **220 (2)**: 146-155.
- SANTOS, K.F.R., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., PINTO, A.S., OLIVERIA, M.G.A. (1999). Hypolipidaemic Effects of Naringenin, Rutin, Nicotinic Acid and Their Associations. *Pharmacol. Res.*, **40: (6)** 493-496.
- SARE, M., HAMAMCI, D., YILMAZ, I., BIRINCI OGLU, M., MENTES, B.B., ÖZMEN, M., YESILDAG, Ö. (2002). Effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on free radical formation in lung and liver tissues. *Surg. Endose.*, **16**: 88-192.

- SATO, M, BREMNER, I. (1993). Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Radical. Bio. Med.* **14(3)**: 325-37.
- SEIDELL, J.C. (2000). Obesity, insulin resistance and diabetes—a worldwide epidemic. *Brit. J. Nutr.*, **83**: Suppl.1,S5-S8.
- SEVEN, A., CANDAN, G. (1995). Radikali ve lipid peroksi düzeyini artıran etkenler. *Biyokimya Dergisi*, **4**: 43-56.
- SEVEN, İ., AKSU, T., SEVEN, P.T. (2007). Propolis ve hayvan beslemede kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **18**: 79-84.
- SHAIKH, Z.A., VU, T.T., ZAMAN, K. (1999). Oxidative stres as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **154**: 256-263.
- SHARMA, H. (1998). HASTALIKLARDAN KURTULUŞ. Çeviren: Erk Özkaya. Sistem Yayıncılık, İstanbul.
- SHILA, S., KOKILIVANI, M., SUBATHRA, C., PANNEERSELVAM, C. (2005a). Brain regional responsesin antioxidant system to alfa lipoik acid in arsenic intoxicated rat. *Toxicology*, **210**: 25-36.
- SHILA, S., SUBATHRA, M., DEVI, M.A., PANNEERSELVAM, C. (2005b). Arsenic intoxication-induced reduction of glutathione level and of the activity of related enzymes in rat brain regions: reversal by DL-alpha-lipoic acid. *Arch Toxicol.* **79(3)**:140-6.
- SIMERAY, J., CHAUMONT, J.P., BEVALOT, F., VAQUETTE, I. (1982). Lespropriétés antifongiquesdes Cistacée setplus particulièrementde Cistuslauri-folius L.;R^ olede stanins nonhydrolisables. *Fitoterapia*, **53**: 43-48.
- SMEDLEY, P.L., KINNIBURGH, D.G. (2001). Source and behaviour of arsenic in natural waters” in “United Nations Synthesis Report on Arsenic in Drinking-Water”, *British Geological Survey*, Wallingford, Oxon OX10 8BB, U.K.
- SMEDLEY, P.L., KINNIBURGH, D.G., (2002). A Review of The Source, Behaviour and Distribution of Arsenic In Natural Waters. *Appl. Geochem.*, **17**: 517-568.
- SMITH, A.H., LOPIPERO, P.A., BATES, M.N., STEINMAUS, CM. (2002). Arsenic Epidemiology and Drinking Water Standarts. *Science*, **296**: 2145

- SINICROPI, M.S., AMANTEA, D., CARUSO, A., SATUMINO, C. (2010). Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning. *Arch Toxicol.*, **84**: 501-520.
- SOHINI, S., RANA, V.S. (2007). Possible Beneficial Effects of Melatonin Supplementation on Arsenic-Induced Oxidative Stress in Wistar Rats. *Indian J. Exp. Biol.*, **45**: 371-375.
- SOMIA, B., SHARMA, Y., IRSHAD, S., GUPTA, S., DOGRAL, T.D. (2006). Arsenic-induced cell death in liver and brain of experimental rats. *Basic Clin. Pharmacol.*, **98 (1)**: 38-43.
- SON, Y.O., LEE, K.Y., KOOK, S.H., LEE, J.C., KIM, J.G., JEON, Y.M., JANG, Y.S. (2004). Selective effects of quercetin on the cell growth and antioxidant defense system in normal versus transformed Mouse hepatic cell lines. *Eur. J. Pharmacol.*, **502**: 195-204.
- SORG, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *CR Biol.*, **327**: 649-662.
- STEINMAUS, C., YUAN, Y., BATES, M.N., SMITH, A.H. (2003). Case-control study of bladder cancer and drinking water arsenic in the western United States. *Am. J. Epidemiol.*, **158 (12)**: 1193-1201.
- STRETY, T.V.S., MADHAVA RAO, K.V. (1999). Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeon pea. *Environ. Exp. Bot.*, **41**: 3-13.
- STYBLO, M., DEL RAZO, L.M., VEGA, L., GERMOLEC, D.R., LE CLUYSE E.L., HAMILTON, G.A., REED, W., WANG, C., CULLEN, W.R., THOMAS, D.J. (2000). Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. *Arch Toxicol.*, **74**: 289-299.
- SUN, Y., OBERLEY, L.W. LI, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, **34**: 497-500.
- SZYMANSKA-CHABOWSKA, A., ANTONOWICZ-JUCHNIEWICZ, J., ANDRZEJAK, R. (2002). Some Aspects of Arsenic Toxicity and Carcinogeny in living organism with special regard to its influence on cardiovascular system, blood and bone marrow. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, **15 (2)**: 101-116.

- TAKABA, K., SAEKI, K., SUZUKI, K., WANIBUCHI, H., FUKUSHIMA, S. (2000). Significant overexpression of metallothionein and cyclin D1 and apoptosis in the early process of rat urinary bladder carcinogenesis induced by treatment with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine or sodium L-ascorbate. *Carcinogenesis*, **21**: 691-700.
- TALAS, Z.S., GULHAN, M.F. (2009). Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotox. Environ. Safe.*, **72**: 1994-1998.
- TAN, Y., SINNIAH, R., BAY, B.H., SINGH, G. (1999). Metallothionein expression and nuclear size in benign, borderline, and malignant serous ovarian tumours. *J Pathol.*, **189**: 60-65.
- TAY, C., SEAH, C. (1975). Arsenic poisoning from antiasthmatic herbal preparations. *Med. J. Australia*, **2**: 424-428.
- TCHOUNWOU, P.B., PATLOLLA, A.K., JOSE, A., CENTENO, J.A. (2003). Invited Reviews: Carcinogenic and Systemic Health Effects Associated with Arsenic Exposure A Critical Review. *Toxicol Pathol.*, **31**: 575.
- “THE MERCK INDEX, (2001). Thirteenth Edition, Merck & Co Inc., White House Station, New Jersey, 737 123.
- THIRUNAVUKKARASU, C., SAKTHISEKARAN, D. (2003). Sodium selenite, dietary micronutrient, prevents the lymphocyte DNA damage induced by N-nitrosodiethylamine and phenobarbital promoted experimental hepatocarcinogenesis. *J. Cell Biochem.*, **88**: 578-88.
- THIRUNAVUKKARASU, O. S., VIRARAGHAVAN, T., SUBRAMANIAN, K.S. (2003). Arsenic removal from drinking water using granular ferric hydroxide. *Water SA*, **29**: 161-170.
- THOMAS, D.J., STYBLO, M., LIN, S. (2001). The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **176**: 127-144.
- TOPAL, F. (2009). İçme sularından arsenik giderimi (Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul).
- TRAVLOS, G.S, MORRIS, R.W., ELWELL, M.R., DUKE, A., ROSENBLUM, S., THOMPSON, M.B. (1996). Frequency and relationships of clinical chemistry and liver and kidney histopathology findings in 13-week toxicity studies in rats. *Toxicology*, **107**: 17-29.

- TSAI, S.M., WANG, T.N., KO, Y.C. (1999). Mortality for certain diseases in areas with high levels of arsenic in drinking water. *Arch. Environ. Occup. H.*, **54(3)**: 186-193.
- TSENG, C.H., CHONG, C.K., TSENG, C.P., HSUEH, Y.M., CHIOU, H.Y., TSENG, C.C., CHEN, C.J. (2003). Long term arsenic exposure and ischemic heart disease in arseniasis hyperendemic villages in Taiwan. *Toxicol. Lett.*, **137(12)**: 15-21.
- TSUKAMOTO, H., PARKER, H.R., GRIBBLE, D.H., MARIASSY, A., PEOPLES, S.A. (1983). Nephrotoxicity of sodium arsenate in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **44**: 2324-30.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), (2002). Arsenic treatment technologies for soil, waste, and water, U.S. EPA/National Service Center for Environmental Publications, Cincinnati.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), (2003a). Workshop on Managing Arsenic risks to the Environment: Characterization of Waste, Chemistry, and Treatment and Disposal.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), (2003b). Design Manual: Removal of arsenic from drinking water by ion Exchange.
- USTUN, O., OZCELIK, B., AKYON, Y., ABBASOGLU, U., YESILADA, E. (2006). Flavonoids with anti-Helicobacter pylori activity from *Cistus laurifolius* leaves. *J. Ethnopharmacol.*, **108**: 457-461.
- VAHIDNIA, A., ROMIJN, F., VANDER VOET, G.B., deWOLFF, F.A. (2008). Arsenic-induced neurotoxicity in relation to toxicokinetics: Effects on sciatic nerve proteins, *Chem-Biol Interact.*, **176**: 188-195.
- VAHTER, M., (2002). Mechanisms of arsenic biotransformation. *Toxicology*, **181**: 211-217.
- VALKO, M, MORRIS, H., CRONIN, M.T.D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.*, **12**: 1161-1208.
- VALLEE, B.L. (1995). The function of metallothionein. *Neurochem. Int.*, **27**: 23-33.
- VANDENBERGHE, D.A., VLIETINCK, A.J., VANHOOF, L. (1986). Plant products as potential antiviral agents. *Bulletin DeL' Institut Pasteur*, **84**: 101-147.

- VERNET, P., AITKEN, R.J., DREVET, J.R. (2004). Antioxidant strategies in the epididymis. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **216**: 31-39.
- WANG, S., MULLIGAN, C. (2006). Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior and distribution. *Science of the Total Environment*, **366**: 701-721.
- WANG, T.S., KUO, C.F., JAN, K.Y., HUANG, H. (1996). Arsenite induces apoptosis in Chinese hamster ovary cells by generation of reactive oxygen species. *J. Cell. Physiol.*, **169**: 256-288.
- WANG, T.C., JAN, K.Y., WANG, A.S., GURR, J.R. (2007). Trivalent arsenicals induce lipid peroxidation, protein carbonylation, and oxidative DNA damage in human urothelial cells. *Mutat. Res.*, **615**:75-86.
- WASOWICZ, W., NEVE, J., PERETZ, A. (1993). Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbuturic acid-reactive substance in serum: Importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. *Clin. Chem.*, **39**: 2522-2526.
- WEBB, M. (1987). Toxicological significance of metallothionein. *Experientia*. **52**: 109-134.
- World Health Organization (WHO), 1993. Guidelines for Drinking Water Quality. 2nd Edition. Geneva.
- World Health Organization (WHO), Trace Elements in Human Nutrition and Health, Geneva, 1996
- World Health Organization (WHO) (2004). Guidelines for drinking water quality recommendations. vol 1. WHO, Geneva, p 515
- WOLLIN, S.D., JONES, P.J.H. (2003). a-lipoic acid and cardiovascular disease. *J. Nutr.*, **133**: 3327-3330.
- WU, M.M., CHIOU, H.Y., WANG, T.W., HSUEH, Y.M., WANG, I.H., CHEN, C.J., LEE, T.C. (2001). Association Of Blood Arsenic Levels With increased Reactive Oxidants and Decreased Antioxidant Capacity in a Human Population of Northeastern Taiwan. *Environ. Health Persp.*, **109**: 1011-1017.

- XIA, Q., YIN, J.J., CHERNG, S.H., WAMER, W.G., BODDREAU, M., HOWARD, P.C. (2005). UVA photoirradiation of retinyl palmitate-formation of singlet oxygen and superoxide, and their role in induction of lipid peroxidation. *Toxicol. Lett.*, **163(1)**: 30-43.
- YADAV, R.S., SHUKLA, R.K., SANKHWAR, M.L., PATEL, D.K., ANSARI, R.W., PANT, A.B., ISLAM, F., KHANNA, V.K. (2010). Neuroprotective effect of curcumin in arsenic-induced neurotoxicity in rats. *Neurotoxicology*. **31(5)**: 533-9.
- YAGMUR, F., HANCI, H. (2002). Arsenik, Sürekli *Tıp Eğitimi Dergisi*, **11(7)**: 250-251.
- YAMANAKA, K., HESEGWA, A., SAWAMUNA, R., OKADA, S., (1991). Cellular response to oxidative damage in lung induced by the administration of dimethylarsinic acid, amaj or metabolite of inorganic arsenics, in mice. *Toxicol.Appl.Pharm.*, **108**: 205-213.
- YANG, J.L., CHEN, C. (2003). Effects of gallium on common carp (*Cyprinus carpio*): acute test, serum biochemistry, and erythrocyte morphology, *Chemosphere*, **53**: 877-882.
- YANG, C.Y., CHIU, H.F., WU, T.N., CHUANG, H.Y., HO, S.C. (2004). Reduction in kidney cancer mortality following installation of atap water supply system in an arsenic endemic area of Taiwan. *Arch. Environ. Occup. H.*, **59**: 484-8.
- YESILADA, E., GURBUZ, I., ERGUN, E. (1997a). Effects of *Cistus laurifolius* L. flowers on gastric and duodenal lesions. *J. Ethnopharmacol.*, **55**:201-211.
- YESILADA, E., USTUN, O., SEZİK, E., TAKAISHI, Y., ONO, Y., HONDA, G. (1997b). Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1alpha, interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha. *J. Ethnopharmacol.*, **58**: 59-73.
- YILMAZ, O., EKİCİ, K. (2004). Van Yöresinde İçme Sularında Arsenikle Kirlenme Düzeyleri. *YYÜ Vet Fak Derg.*, **15(1-2)**: 47-51.
- YOSHIDA, T., YAMAUCHI, H., SUN, G.F. (2004). Chronic health effects in people exposed to arsenic via the drinking water: Dose-Response Relationships in Review. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **198**: 243-252.

- YOU, K.M., JONG, H.G., KIM, H.P. (1999). Inhibition of cyclooxygenase/lipoxygenase from human platelets by polyhydroxylated/methoxylated flavonoids isolated from medicinal plants. *Arch. Pharm. Res.*, **22**: 18-24.
- YU, B.P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.*, **74**(1): 139-62.
- YUCER, M.M. (2008). Ruhsatlı tarım ilaçları. Hasat Yayıncılık, İstanbul, sy. 355.
- YURDAKUL, Z. (2003). Oksijenvecanlılar: Erişim: [<http://www.biyokimya.8m.net/oksiyen.html>]. Erişim Tarihi: 15.02.2012.
- ZHANG, X.H., TAKENAKA, I. (1998). Incidence of apoptosis and metallothionein expression in renal cell carcinoma. *Int. Braz. J. Urol.*, **81**: 9-13.
- ZHANG, Q., HUANG, X. (2003). Induction of interleukin-6 by coal containing bioavailable iron is through both hydroxyl radical and ferryl species. *J. Biosciences.*, **28**(1): 95-100.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: HASAN HÜSEYİN

Soyadı: DEMİREL

Doğum Yeri ve Tarihi: Sandıklı-Afyonkarahisar, 21.06.1983.

Uyruğu: TC

Medeni Durumu: Bekar

Askerlik Durumu: Yapmadı

İletişim Adresi ve Tel: Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Patoloji Anabilim Dalı

Cep tel: 05354238866

e-mail: hdemirel@aku.edu.tr

demirel003@hotmail.com

II- Eğitimi

1989-1994: Ali Çetinkaya İlkokulu- Sandıklı/Afyonkarahisar.

1994-1997: Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu- Sandıklı/Afyonkarahisar.

1997-2000: Sandıklı Lisesi- Sandıklı/Afyonkarahisar.

2000-2005: Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi- Afyonkarahisar.

2006-2012: Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Doktora- Afyonkarahisar.

Doktora Tez Konusu: Ratlarda Deneysel Arsenik Toksikasyonunun Patolojisi ve Eş Zamanlı Uygulanan *Cistus Laurifolius* L.(Cistacea) Bitkisinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması.

Doktora Danışmanı: Prof. Dr. Erkan KARADAŞ.

Yabancı Dili:

İngilizce

III. Ünvanları

Veteriner Hekim: 2005.

Araştırma Görevlisi: 23.09.2005-

IV. Mesleki Deneyimi

-

V. Bilimsel İlgi Alanları (Yayımları)

Sci-Expanded, SSCI veya AHCI Kapsamındaki Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- YUKSEL, H., KARADAS, E., KELES, H. ve **DEMİREL, H.H.** (2009). Effects of Hexachlorocyclohexane (HCH-gamma-Isomer, Lindane) Intoxication on the Proliferation and Apoptosis in Rat Testes. *Acta Veterinaria Brno*, **78 (4)**: 615-U71.
- KELES, H., INCE, S., KUCUKKURT, I., TATLI, LL., AKKOL, E.K., KAHRAMAN, C., **DEMİREL, H.H.** (2012). The effects of Feijoa sellowiana fruits on the antioxidant defense system, lipid peroxidation, and tissue morphology in rats. *Pharmaceutical Biology*, **50 (3)**: 318-315.

Projeleri ve Bu Projelerdeki Görevleri

- YÜKSEL, H., KARADAŞ, E., SEVİMLİ, A., KELEŞ, H. ve **DEMİREL, H.H.** (2006). Hexachlorocyclohexane (HCH-Lindane) Toksikasyonunun Rat Testisindeki ProliferatifAktivite ve Apoptozis Üzerine Etkilerinin Patolojik ve Immunohistokimyasal Olarak İncelenmesi. Yardımcı Araştırmacı. AKÜBAPK. 06.VF.19, 2006. Sonuçlandı.
- KARADAŞ, E., **DEMİREL, H.H.** (2010). Ratlarda Deneysel Arsenik Toksikasyonunun Patolojisi ve Eş Zamanlı Uygulanan *Cistus Laurifolius* L.Bitkisinin Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Yardımcı Araştırmacı. AKÜBAPK. 10.VF.19. Sonuçlandı.
- SEVİMLİ, A., SEVİMLİ, F.K., ŞEKER,E., ULUCAN, A., **DEMİREL, H.H.** (2010). Sığırların Kist Hidatik ve Distomatoz Etkenlerine Karşı Akut Faz protein ile Sitokinlerin Rolü. Yardımcı Araştırmacı. AKÜBAPK. 10.VF.03. Halen devam ediyor.
- UĞUZ, C., ERDOĞAN, M., KÜÇÜKKURT, İ., KELEŞ, H., İNCE, S., **DEMİREL, H.H.** (2010). Ratlarda Kronik Nonilfenol ve C Vitamini Uygulamasının Moleküler Genetik, Biyokimyasal ve Histopatolojik Etkilerinin Araştırılması. Yardımcı Araştırmacı. AKÜBAPK,10.VF. 20. Halen devam ediyor.
- ÖZDEMİR, A., KÜÇÜKKURT, İ, İNCE, S., KELEŞ, H., **DEMİREL, H.H.** (2010). Hiperkolesteremik ve Hiperlipidemik Farelerde Farklı Menthe Spicata Labiatea ekstraktlarının Etkilerinin Biyokimyasal ve Patolojik Yönden İncelenmesi. Yardımcı Araştırmacı. UÜBAPK. 2010/ SB001. Sonuçlandı.

VI. Bilimsel Etkinlikleri

Ödüller

- Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi 2004-2005 Eğitim Öğretim Yılı fakülte ikinciliği. (3,09-76,8).
- Fakülte eğitim öğretim süreci içerisinde derslerdeki üstün başarısı nedeniyle Afyon Kocatepe Üniversitesi Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin 29. maddesi uyarınca 2004-2005 öğretim yılında verilen Onur Belgesi.

Seminerler

- Normal Hücre Siklusu ve Kanser Biyolojisi. 2007, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

VII. Diğer Bilgiler

Aldığı Kurslar ve Katıldığı Eğitim Seminerleri

- “Sığırlarda Rekto-Vaginal Metodla Suni Tohumlama Kursu” sertifikası T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü. Afyonkarahisar. 25-29 Temmuz 2005.
- “ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi (HACCP) Eğitimi” katılım belgesi ve sertifikası. Afyonkarahisar. 08.05.2007.
- Afyon Kocatepe Üniversitesi “Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası”. Afyonkarahisar. 5-13 Haziran 2009
- “Tıbbi Atıkların Kontrolü Yerel Eğitim Programı” katılım belgesi ve sertifikası. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Afyonkarahisar İl Çevre ve Orman Müdürlüğü. 28.06.2007.
- Afyon Kocatepe Üniversitesi “Gıda Güvenliği ve Hijyeni” katılım belgesi ve sertifikası. Afyonkarahisar. 20-24 Temmuz 2009.
- “Çevre Toksikolojisinde Hızlı Tarama Testleri” Kursu katılım belgesi ve sertifikası. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. Ankara. 2010.
- “Gıda Mikrobiyolojisi Kursu” katılım sertifikası. Afyonkarahisar. 24 Mayıs 2012.
- “Uygulamalı İmmunohistokimya Kursu”. Kurs Düzenleme Kurulu üyesi. Afyonkarahisar. 30 Haziran-1 Temmuz 2012.