

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

**KADMİYUMLA LİPİD PEROKSİDASYON
OLUŞTURULAN RATLARDA KETEN TOHUMU
YAĞININ ETKİLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Sedat KARACA**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Gökhan ERASLAN**

**Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Ağustos 2010
KAYSERİ**

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

**KADMİYUMLA LİPİD PEROKSİDASYON
OLUŞTURULAN RATLARDA KETEN TOHUMU
YAĞININ ETKİLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Sedat KARACA**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Gökhan ERASLAN**

**Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSY-09-753 no'lu proje ile desteklenmiştir.**

**Ağustos 2010
KAYSERİ**

II

Doç. Dr. Gökhan ERASLAN danışmanlığında **Sedat KARACA** tarafından hazırlanan “**Kadmiyumla Lipid Peroksidasyon Oluşturulan Ratlarda Keten Tohumu Yağının Etkileri**” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

17/09/2010

JÜRİ

İmza

Üye : Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN

Üye : Doç. Dr. Gökhan ERASLAN (Danışman)

Üye : Doç. Dr. Murat KANBUR

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

III

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sũresince bana her tũrlũ olanağı sağlayan ve tũm birikimlerini bana yansıtan danışman hocam Doç. Dr. Gũkhan ERASLAN, değerli hocalarım Doç Dr. Murat KANBUR ve Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN'a çalıőmamın tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç Dr. Mũrsel KARABACAK'a, Veteriner Hekim Zeynep SOYER SARICA'ya, Veteriner Hekim Mikail SUNGUR'a, yine çalıőmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Konya İl Kontrol Laboratuvarı Mũdũrũ Dr. M. Kũrőat IŐIK ve Mukadderat GŐKMEN'e, çalıőmalarımda gũrũőlerinden faydalandığım Veteriner Hekim Zafer KAYA'ya teőekkũr ederim.

KADMİYUMLA LİPİD PEROKSİDASYON OLUŞTURULAN RATLARDA KETEN TOHUMU YAĞININ ETKİLERİ

ÖZET

Bu çalışmada kadmiyum ile subakut zehirlenme oluşturulan ratlarda keten tohumu yağının oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisi araştırıldı.

Her bir grupta 12 erkek Wistar Albino ırkı rat bulunan toplam 48 adet rat kullanıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı (Grup 1). Grup 2, 3 ve 4'e sırasıyla sonda ile mideye 0,1 ml/hayvan/gün dozunda keten tohumu yağı (Grup 2); içme suyu içerisinde ve *ad libitum* olarak 50 ppm kadmiyum (Grup 3); içme suyu içinde 50 ppm kadmiyum ile birlikte 0,1 ml/hayvan/gün dozunda keten tohumu yağı 30 gün süreyle verildi.

Çalışmanın sonunda, kan ve doku (karaciğer, dalak, beyin, kalp, akciğer, dalak ve testis) örnekleri alındı. Numunelerde malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyi ile katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ölçüldü.

Kadmiyum ile keten tohumu yağının birlikte verildiği grupta (Grup 4) yalnızca kadmiyum verilen gruba göre (Grup 2), MDA düzeyinde karaciğer, böbrek, beyin, dalak ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir düşüş gerçekleşti. SOD aktivitesinde, karaciğer ve beyin dokusu ile eritrositte önemli bir artış; akciğer, böbrek ve kalp dokusunda önemli bir düşüş tespit edildi. CAT aktivitesinde akciğer, beyin, dalak, testis, dokusu ile eritrositte artış; kalp dokusunda düşüş gözlemlendi. GSH-Px aktivitesinde, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir artış bulundu; akciğer, kalp ve dalak dokusunda ise önemli bir düşüş vardı. NO düzeyinde ise karaciğer, böbrek, beyin, kalp, dalak ve testis dokusu ile plazmada önemli bir düşüş tespit edildi.

Belirtilen süre ve dozda verilen keten tohumu yağı ratlarda antioksidan savunma sistemi üzerinde olumsuz bir etkiye yol açmadı; kadmiyum uygulaması eritrosit ve organlar üzerinde değişen oranlarda oksidatif strese sebep oldu; keten tohumu yağı kadmiyumun neden olduğu oksidatif stresin şiddetini azaltıcı etkiler gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Lipid Peroksidasyon, Keten Tohumu Yağı, Rat.

THE EFFECTS OF FLAX SEED OIL ON LIPID PEROXIDATION INDUCED WITH CADMIUM IN RAT

ABSTRACT

In this study, the effects of flax seed oil on oxidant-antioxidant system against subacute cadmium intoxication in rats were investigated.

Male Wistar Albino 48 rats were used and 12 rats in each group kept. No application was made to the control group (group 1). In group 2, 3 and 4, it was given at a dose of 0.1 ml/rat/day flax seed oil with gavage into stomach, 50 ppm cadmium via drinking water as *ad libitum* and 0.1 ml/rat/day flax seed oil with gavage into stomach plus 50 ppm cadmium via drinking water as *ad libitum* for 30 days, respectively. At the end of the study, malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities/levels were analyzed in blood and tissue (liver, spleen, brain, heart, lung, spleen and testes) samples, and also NO levels were assayed in plasma and tissue samples.

When compared to cadmium plus flax seed oil treated and control group, a significant increase in the MDA levels of liver, kidney, brain, spleen, testes and erythrocyte; a significant increase in the SOD activity of liver, brain and erythrocytes, a significant decrease in the SOD activity of lung, kidney and heart; a significant increase in the CAT activity of lung, brain, spleen, testes and erythrocyte, a significant decrease in the CAT activity of heart; a significant increase in the GSH-Px activity of liver, kidney, brain, testes and erythrocytes, a significant decrease in the GSH-Px activity of lung, heart and spleen; a significant decrease in the NO levels of liver, kidney, brain, heart, spleen, testes and plasma.

According to results, flax seed oil given at the specified dose and period in rat have not caused negative effects on antioxidant defense system, cadmium implementation has caused oxidative damage on erythrocyte and organs at different rates, flax seed oil has shown a reducing effects on severity of cadmium induced lipid peroxidation.

Key words: Cadmium, Flax Seed Oil, Lipid Peroxidation, Rat

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
KISALTMALAR.....	IX
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. KADMİYUM.....	2
2.1.1 Özellikleri ve Kaynakları.....	2
2.1.2. Toksikokinetik.....	3
2.1.3. Etki Şekli ve Zehirliliği.....	4
2.1.4. Klinik Belirti ve Lezyonlar.....	5
2.1.5. Tanı ve Sağaltım.....	7
2.2. OKSİDATİF STRES.....	8
2.2.1. Serbest Radikaller.....	9
2.2.1.1. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	10
2.2.1.1.1. Hücresel Kaynaklar.....	10
2.2.1.1.2. Metaller.....	10
2.2.1.1.3. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi.....	10
2.2.1.1.4. Fagositler.....	10
2.2.1.1.5. Çevresel Maruziyet.....	11
2.2.1.1.6. Besinsel Dengesizlik.....	11
2.2.2. Lipid Peroksidasyon.....	12

	<u>Sayfa No</u>
2.2.3. Antioksidan Savunma Sistemi.....	13
2.2.4. Lipid Peroksidasyonun Belirteçleri.....	15
2.2.5. Antioksidanların Klinik Uygulamaları.....	16
2.2.6 Oksidatif Stresin Sonuçları.....	17
2.3. KETEN TOHUMU YAĞI.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. KULLANILAN CİHAZ, GEREÇ VE KİMYASALLAR.....	20
3.1.1. Cihazlar ve Gereçler.....	20
3.1.2. Kimyasallar.....	21
3.2. YÖNTEM.....	22
3.2.1. Hayvan Materyali.....	22
3.2.2. Gruplar.....	23
3.2.3. Örneklerin Toplanması.....	23
3.2.4. Eritrositlerin Yıkınması ve Hemolizatların Hazırlanması.....	23
3.2.5. Doku Homojenatının Hazırlanması.....	23
3.2.6. Biyokimyasal Analizler.....	24
3.2.6.1 Eritrosit ve Doku MDA Ölçümü.....	24
3.2.6.2. Eritrosit Hemoglobin Düzeyi Ölçümü.....	25
3.2.6.3. Doku Protein Düzeyinin Ölçümü.....	25
3.2.6.4. Eritrosit ve Doku CAT Aktivitesi Ölçümü.....	25
3.2.6.5. Eritrosit ve Doku SOD Aktivitesi Ölçümü.....	26
3.2.6.6. Plazma ve Doku GSH-Px Aktivitesi Ölçümü.....	26
3.2.6.7. Plazma ve Doku NO Düzeyinin Ölçümü.....	27
3.3. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR.....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. KETEN TOHUMU YAĞI.....	28

VIII

	<u>Sayfa No</u>
4.2. KADMİYUM.....	28
4.3. KADMİYUM VE KETEN TOHUMU YAĞI.....	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	38
5.1. KETEN TOHUMU YAĞI.....	39
5.2. KADMİYUM.....	40
5.3. KADMİYUM VE KETEN TOHUMU YAĞI.....	41
6. KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ	
EKLER	

IX

KISALTMALAR

Cd	: Kadmiyum
CAT	: Katalaz
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik Oksit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
-SH	: Tiyol
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
TCA	: Triklorasetik Asit
XO	: Ksantin Oksidaz

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Canlı organizmasında şekillenen etkin gruplar.....	12
Tablo 2.2. Antioksidan savunma sisteminin unsurları.....	15
Tablo 2.3. Antioksidan tedavi esasları.....	17
Tablo 2.4. Deneysel ve klinik uygulamalarda antioksidan ilaçlar.....	17
Tablo 4.1. Kontrol ve deneme grubu karaciğer dokusu oksidatif stres parametreleri.....	30
Tablo 4.2. Kontrol ve deneme grubu akciğer dokusu oksidatif stres parametreleri.....	31
Tablo 4.3. Kontrol ve deneme grubu böbrek dokusu oksidatif stres parametreleri.....	32
Tablo 4.4. Kontrol ve deneme grubu beyin dokusu oksidatif stres parametreleri.....	33
Tablo 4.5. Kontrol ve deneme grubu kalp dokusu oksidatif stres parametreleri.....	34
Tablo 4.6. Kontrol ve deneme grubu dalak dokusu oksidatif stres parametreleri.....	35
Tablo 4.7. Kontrol ve deneme grubu testis dokusu oksidatif stres parametreleri.....	36
Tablo 4.8. Kontrol ve deneme grubu kan oksidatif stres parametreleri.....	37

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kadmiyum toksikolojik açıdan önemli metallere biridir. Günümüzde pek çok alanda yaygın olarak kullanılır. Bu sebeple de çevre kirliliği oluşturma riski oldukça yüksektir. Metalin çevreye yayılımında akarsular birincil rol oynar. Bu şekilde hem toprağın hem de yer altı sularının kirlenmesi kaçınılmaz bir hal alır. Toprakta yetişen tarımsal ürünler ve içme suları aracılığıyla bütün canlılara geçişi kontrolsüz kirlilik durumunda söz konusu olur. Diğer bileşiklerde olduğu gibi kadmiyum doz ve alım süresi ile ilişkili olarak organizmada yüksek düzeyde serbest radikal oluşturur. Serbest radikaller pek çok bileşik için zehirlilik mekanizması içinde yer alır.

Keten tohumu yağı yapısında pek çok bileşiği barındırır. Fenolik bileşikler içinde anılan lignan prekürsörleri ve esansiyel yağ asitleri esas farmakolojik etkiden sorumludur. Ürün bağışıklık sistemi, sindirim sistemi, solunum sistemi, ürogenital sistem ve sinir sistemi hastalıklarında; kanser tedavilerinde, deri hastalıklarında, gebelikte ve iskelet sistemi bozukluklarında sıkça kullanım alanı bulur.

Tez çalışmasında önemli bir çevre kirleticisi olan kadmiyumla lipid peroksidasyon oluşturulan ratlarda keten tohumu yağının etkilerinin araştırılması amaçlandı. Günümüze kadar kadmiyum zehirlenmelerine yönelik farklı sağaltım seçenekleri denenmesine karşın zehirlenme olgularında kadmiyumun özellikle de oksidatif stres oluşturma potansiyelinin önüne geçebilmek amacıyla keten tohumu yağının kullanıldığı bir çalışmaya ise rastlanmamıştır. Bu yönüyle çalışma özgün bir nitelik taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Metaller arasında yer alan selenyum, arsenik, molibden, kadmiyum, kurşun ve civa son derece zehirlidir. Bazılarının mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkileri de vardır. En önemlileri ise arsenik, civa, kadmiyum, kurşun, krom, nikel ve selenyumdur. Ağır metalin tanımlanmasında belirteç olarak kullanılan yoğunluğudur ve 5 g/cm^3 'den daha yoğun olan metal ağır metal olarak tanımlanır. Ağır metaller arasında, canlı sağlığı açısından araştırma yapılanların başında kadmiyum, kurşun, civa ve arsenik gelmektedir. Bu metaller insanlar tarafından yüzyıllardır kullanılmaktadır. Uzun zamandır sağlık açısından sakıncaları bilinmesine rağmen çeşitli amaçlarla kullanılmaya devam edilmesi sebebiyle maruziyet durumu günümüzde de önemli bir husustur. Ağır metallerin çevreye yayılımı sıklıkla hava, su ve toprak aracılığı ile olmaktadır. Canlılar belirtilen metalleri sıklıkla solunum, deri veya ağız yoluyla alırlar (1, 2).

2.1. KADMIYUM

2.1.1. Özellikleri ve Kaynakları

Kadmiyum periyodik cetvelde 48. elementtir ve 12. grubun bir üyesidir. Atom ağırlığı 112,41 olan IIB grubu metallere aittir. Okside olma kabiliyeti +2 değerlikli olanda daha yüksektir. Kadmiyum önemli çevre kirleticilerinden biridir. Yılda ortalama 13000 ton kadmiyum dünya genelinde çeşitli amaçlar için üretilmektedir. Çevre koruma örgütü (EPA) tarafından tanımlanan 126 önemli çevre kirleticisinden biridir. Doğal olarak yer kabuğunda mevcut olup kadmiyum oksit (CdO), kadmiyum klorit (CdCl_2) ve kadmiyum

sülfat ($CdSO_4$) tuzları şeklinde bulunmaktadır (3, 4). İnsan faaliyetleri ve fosil yakıtlarının yanması sonucu çevreye önemli miktarda kadmiyum geçişi söz konusudur. Özellikle lifli meyveler, tahıllar ve sebzeler yoluyla geçmektedir. İnsanlar için en önemli risklerden biri de tütün bitkisinde yüksek oranda birikme eğilimi göstermesidir. Günümüzde kullanımı genellikle nikelle birlikte olmaktadır. Pil fabrikaları, renklendiriciler, plastik koruyucuların bileşiminde bu metal bulunmaktadır (5, 6). Ayrıca, çeşitli metallerin aşınmasını engellemek için kaplayıcı olarak kabloların kaplanması amacıyla kurşunla alaşım şeklinde, cam endüstrisi ve pestisit üretiminde de sıklıkla kullanılmaktadır (1). Bu metal, canlılar için esansiyel özellik göstermeyen zehirli bir metal olmakla birlikte özellikle bitkiler tarafından topraktan yüksek oranda alınmakta ve biriktirmektedir (7, 8).

2.1.2. Toksikokinetik

Kadmiyuma sıklıkla ağız ve solunum yoluyla maruz kalınır. Deri yoluyla maruziyetin önemi ise daha azdır. Kadmiyum klorit ($CaCl_2$) yüksek oranda suda çözünen kadmiyumun başlıca formudur ve ağızdan emilimi oldukça yüksektir. Aksine, kadmiyum oksit (CaO) solunum yoluyla sıklıkla maruz kalınan şeklidir. Kadmiyumun emilimi sindirim sisteminden % 3-8 arasındadır. Diğer elementlerden Fe, Zn ve Ca ile protein içeriği kadmiyumun emilimini büyük oranda değiştirmektedir. Bağırsak mukozasından kadmiyumun emilimi, mukozada yüksek oranda birikim ve kontrollü olarak sistemik dolaşıma geçiş şeklindedir. Kadmiyumun emilimi ve ardından doku ve organlarda birikiminde metalotionein ve sistein ile yaptığı yapının önemi büyüktür (3). Solunum sistemi ile alınıp durumunda emilim oranı sindirim sistemi ile emilime göre oldukça yüksektir ve % 40'a kadar çıkmaktadır (9). Deri yoluyla emilim çok daha az sıklıkla görülmektedir. Deri yoluyla kadmiyumun topraktan % 8,8 sudan ise %12,7 oranında emildiği tespit edilmiştir. Toprak aracılığı ile plazmaya % 0,01 oranında geçiş söz konusu iken suyla plazmaya geçiş oranı ise % 0,07'dir. Emilimde iki mekanizma üzerinde durulmaktadır. İlki serbest kadmiyum iyonun epidermal keratinde bulunan sisteinin sülfidrid grubuna bağlanması ya da metalotionein kompleksinin oluşumudur (10).

Kadmiyumun bağırsak lumeninden eritrositler içine geçişi iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama luminal plazma membranına kadmiyumun bağlanması; ikinci aşama ise aktif taşıma ile luminal plazma membranından eritrositler içine geçiş

şeklindedir. Eritrositlere kadmiyum geçişinde özel taşıyıcı proteinler rol oynar. Kadmiyumun sistemik dolaşıma geçtikten sonra yüksek oranda eritrositlerde birikiyor olması sistemik dolaşımdaki serbest kadmiyum oranını sınırlandırır. Eritrositler dışına kadmiyum geçişinde de yine özel taşıyıcı proteinler önemli rol oynar (3). Serbest kadmiyum plazma proteinlerinden özellikle albümine bağlı olarak öncelikle karaciğere gelir ve yüksek oranda hepatositlerde birikim gösterir. Kadmiyumun hepatositlere geçişi de yine iki aşamalıdır. Yukarıda belirtildiği gibi sistemik dolaşımdaki kadmiyum ilk aşamada karaciğere geçtikten sonra yine özel taşıyıcı proteinleri (öncelikli olarak metallothionein ve sistein) yardımı ile böbrek, testis ve diğer dokulara da geçer. Karaciğerdeki hızlı birikim son derece zehirli olduğu diğer organlara (böbrek, testis) geçişi sınırlandırmaktadır (9).

Atılımı yüksek oranda böbrekler aracılığı ile olur. Çoğu organ için zehirsiz olan kadmiyum-metalothionein bileşiği, glomerüllerden filtre edilirken eş zamanlı olarak proksimal tubul epitellerinden geri alınır. Benzer şekilde, kadmiyum plazmada düşük ağırlıklı moleküllere bağlanarak (sistein, glutasyon) serbest ve sülfidrilli konjugatı şeklinde de proksimal tubul epitellerinden geri alınır (11). Biyoyararlanımının düşük olması sebebiyle ağızdan alınan kadmiyum memelilerde % 90 oranında doğrudan dışkı ile atılır. Parenteral uygulamalarda % 20 oranında safra aracılığı ile 3-4 gün içinde uzaklaştırılmaktadır. Safrayla uzaklaştırmada sıklıkla glutasyon ve sistein ile birleşme ilk sıralarda yer almaktadır (3).

2.1.3. Etki Şekli ve Zehirliliği

Kadmiyum, enzimlerde yer alan çinko gibi elementlerin etkinliğini engelleyerek enzim inhibisyonuna sebep olur. Öldürücü dozlarda hücrelerde mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu engelleyerek ölüme yol açar (7).

Kadmiyum, vitamin D'nin aracılık ettiği bağırsak kalsiyum geçişini engeller. Kemiklerde kalsiyum ve kadmiyum arasında etkileşim vardır. Kemik dokusunda birikerek kemiklerdeki kalsifikasyon ve dekalsifikasyonu engeller. Karaciğer ve böbrek epitel hücrelerindeki metallothioneine bağlanır. Bu yapının zehirsiz olduğu düşünülürse de plazmada kadmiyumu bağlayan metalothionein idrarla atılırken renal tubuller üzerinde zehirli etki oluşturur. Bu etki ile ilişkili olarak amino asit, glukoz, fosfat ve düşük molekül ağırlıklı protein geri emilimi azalır. Demir eksikliği mide-barsak kanalından kadmiyum emilimini artırır. Sindirim sisteminden kadmiyum emilimi ile kan ferritin

yoğunluğu arasında ters yönde bir ilişki vardır. Fakat bu ilişkinin mekanizması bilinmemektedir. Kadmiyum öncelikli olarak karaciğer ve böbrekte birikir. İnsanlarda yarılanma ömrü 17-30 yıldır. İnsanlarda *Itai-Itai* hastalığı yüksek düzeyde kadmiyum içeren pirinç yenilmesi ile besinsel kalsiyum, vitamin D, çinko ve demir eksikliği nedeniyle ortaya çıkan bir hastalıktır (5).

Kadmiyum buharı ile parçacıklarının solunması ölüme yol açmamakla birlikte sıklıkla akut pulmoner etkilere sebep olmaktadır. Kadmiyum maruziyeti kalp-damar sistemi hastalıklarına da neden olur (2). İnsanlar ortalama hava, gıda ve su ile sırasıyla günde 0,02 µg/gün, 50 µg/gün ve 10 µg/gün kadmiyuma maruz kalırlar. Eğer birey günde 20 sigara içiyorsa, kadmiyum alımı ortalama 20 µg/gün daha artar. Yapılan çalışmalarda, erkeklerin kadmiyumu tolare eden miktarları biyolojik yarı ömürleri uzun olması sebebiyle hafta olarak baz alınmış ve 400-500 µg/kişi/hafta veya 6,7-8,3 µg/kg.ca/hafta bulunmuştur. Günlük olarak hesaplandığında ise 57-71 µg/kişi veya 1,0-1,2 µg/kg bulunmuştur. Tüketilen gıdalar sınıflandırıldığında, alınan toplam kadmiyum için tahıllar (14 µg) ön sıralarda yer alır. Günlük tüketilen ürünlerden et, balık ve kanatlılar; patates ve lifli sebzeler, meyve ve içeceklerden 4-7 µg kadmiyum alımı söz konusudur. En düşük kadmiyum alımı ise lahana, bakliyat, köklü sebzeler, yağ ve şeker tüketimi aracılığı ile olmaktadır (12).

2.1.4. Klinik Belirti ve Lezyonlar

Akut zehirlenmelerde yüksek düzeyde kadmiyum ile kirlenmiş havanın solunması; solunumun yavaşlamasına, akciğer ödemeine, peumoniye ve bunun bir sonucu mukoz membranlarda yıkımlanmaya sebep olur. Solunumla alınmasını takiben ilk 4-10 saat içinde ateş, kusma, baş ağrısı, dispnea ve nosafarengal irritasyon gözlenir. Sunum yoluyla alınmasını takiben sistemik dolaşıma geçen kadmiyum oranı, kadmiyumun çözünürlüğü ve parçacık büyüklüğüne bağlıdır fakat hiçbir zaman % 90'nın üstüne çıkmamaktadır. Öldürücü doz 1 saat için 50 mg/m³ iken 5 saat için 9 mg/m³'dür. Düşük dozda uzun süreli ve yüksek dozda kısa süreli maruziyette kronik fibrozis baş gösterir. Kadmiyumla kirlenen besinlerin ağız yoluyla yüksek dozda alınmasıyla ilişkili olarak kusma ve ishal görülür. Ağızdan maruziyet nadiren ölümle sonuçlanır çünkü büyük oranda kusma ile sindirim sisteminden uzaklaştırılır (10, 13).

Kronik kadmiyum alımında asıl problem böbrek hasarıdır. Yukarıda da belirtildiği gibi kadmiyum-metallotionein bileşiği glomerüllerden süzülürken proksimal tubüllerden

tekrar emilir ve bu süreç böbrek dokusunda ileri derecede hasara sebep olur. Böbrek dokusu kadmiyum yükünün artışı aşırı kalsiyum atılımını beraberinde getirir (10).

Kadmiyum birkaç hormonun sentez ve salınımını etkileyerek hormonal sistemde bozukluklara sebep olur. Progesteron sentezini etkiler, uterus ve memede östrojenik reseptörleri aktive eder. Ayrıca androjenik reseptör sayısını değiştirerek androjenik etkiyi zayıflatır. Testosteron, LH ve FSH gibi birkaç hormonun kandaki düzeylerini değiştirir. Kadmiyum, testosteron üretimini de etkiler. Bazı düzenleyici proteinleri, LH reseptörlerinin sıklığını ve cAMP düzeyini düşürür. Farklı mekanizmalarla hipotalamik-hipofizer-testiküler yolağı etkileyerek hormon düzeyini değiştirir fakat etkisi doğrudan leydig hücreleri aracılığı ile değildir (14).

Kadmiyum kemiklerde ileri derecede bozukluğa sebep olur. Kemik dokusunda yüksek oranda birikerek kemik kalsiyum yoğunluğunu düşürür ve sonuçta osteoporos gelişir. Ayrıca doğrudan böbreklere etkisi sebebiyle vitamin D metabolizması ve etkinliğini değiştirir; idrarla kalsiyum ve fosfor atılımını hızlandırarak vücut kalsiyum yükünü düşürür (15, 16).

Kadmiyumun nörotoksik etkisi, merkezi sinir sisteminde biyojenik aminlerin ve amino asit nörotransmitterlerin sentez ve/veya metabolizmasındaki değişimlerin sonucudur. Bu beyinde yapılan özel çalışmalar sonucu ortaya konulmuştur. Kadmiyumun etkilediği beyin bölümleri arasında hipotalamus da bulunmaktadır. Bölgenin hormonal sistemin düzenlenmesi, otonomik sinir sistemi, vücut ısısının ayarlanması, açlık-tokluk ve duygusal davranışların düzenlenmesi gibi birçok görevi vardır. Kronik olarak kadmiyum maruziyeti sıklıkla baş ağrısı, uyku bozukluğu ve hafıza kaybına sebep olur. Bu hastalıklar gamma aminobütirik asit (GABA) ve seratonin gibi nörotransmitterlerdeki değişimler ile ilişkilidir (17).

Kadmiyum, EPA tarafından I. sınıfta yer alan karsinojen maddeler arasında sınıflandırılmaktadır. Özellikle akciğer, pankreas, prostat ve böbrek kanserine sebep olur. Yukarıda belirtilen etkileri dışında, anemi, hipertrofik olmayan amfizem, eizinozofilia ve kronik rinitise yol açar (4).

Kan ve idrar kadmiyum düzeyi ile hipertansiyon arasında doz bağımlı bir ilişki vardır. Kalp hastalıklarında da kadmiyum maruziyetine bağlı artış gözlenir. Ayrıca kadmiyum periodontal hastalıklara eğilimi artırmaktadır. Özellikle retinada birikerek göz bozukluklarına sebep olur (18).

2.1.5. Tanı ve Sağaltım

Kronik kadmiyum zehirlenmesinde proksimal tubül fonksiyon bozukluğunun değerlendirilmesi gerekir. Kadmiyum nefropatisinin en erken belirtisi mikroproteinlerin idrarla atılımının artmasıdır. En yaygın mikroprotein β_2 -mikroglobulin, retinol bağlayıcı protein ve α -mikroglobulindir (16). Proksimal tubul bozukluklarını ortaya koyan belirteçler arasında bazı enzimler de yer almaktadır. N-asetil- β -D-glukozamidaz (NAG), laktat dehidrojenaz (LDH) ve alkalın fosfataz (ALP) ile son zamanlarda α -glutasyon-S-transferaz (α -GST) bunlar arasında yer almaktadır. Kadmiyum, idrarda α -GST ve LDH atılımı ve aktivitesini artırır. NAG lizozomal bir enzimdir ve proksimal tubül epitel hücrelerinde yoğun olarak bulunur. Bu belirtecin avantajı, idrarda koruyucu kullanmaksızın uzun süre dayanıklılığını korumasıdır. Aksine α -GST aktivite ölçümü için ise koruyucu kullanmak zorunludur ve NAG ve LDH'dan daha önemli bir belirteçtir. α -GST, NAG ve LDH aktivitesi idrarda çok düşük yoğunluklarda da olsa tespit edilebilmekle birlikte hemoglobin LDH'ı, üre NAG'ni inhibe edebilmektedir (11). İdrarda vitamin D bağlayıcı protein, 8-hidroksiguanin ve böbrek hasarı molekülü-1 (KIM-1)'in idrarda tespiti kadmiyum kaynaklı böbrek hasarının erken belirteçlerindedir. Biyolojik materyallerde kadmiyum düzeyinin tespiti özellikle kronik zehirlenmelerde önemlidir. Eritrositlere ve keratinize dokulara yüksek düzeyde geçiş göstermesi sebebiyle tam kanda ve saçlarda kadmiyum düzeyi ölçülmelidir. Kadmiyuma bağlı böbrek hasarı geliştiğinde kadmiyumun idrarda atılımında artış olur fakat idrarla atılımı çoğunlukla metalotioneine bağlı gerçekleşmektedir (19, 20, 21). Böbreklerde depolanan ve glomerullardan filtre edilen kadmiyumun bir miktarı idrar aracılığı ile atılır. İdrarla birim zamanda atılan kadmiyum miktarı öncelikli olarak hücrelerdeki kadmiyum düzeyi ve böbrek tahribatı ile ilişkilidir. Dolayısıyla böbreklerdeki toplam kadmiyum (mg) ile idrardaki kadmiyum (μ g/24 saat) arasında yakın ilişki vardır fakat dışkıdaki günlük kadmiyum miktarı ile alınan kadmiyum miktarı arasında ise hiçbir bağlantı yoktur (22).

Yüksek şok proteini birkaç hücrel organel sisteminde lokalize olur ve sıklıkla metallere maruziyet durumunda değişkenlik gösterir. Isı şok proteinlerinin indüksiyon kalıbı zehirlere maruziyette erken hücrel cevabın belirteci olarak kullanılır. Bu parametrenin düşük doz metal maruziyeti ile ilgili risklerin değerlendirilmesinde önemi büyüktür (23).

Şelasyon tedavisi en başta tercih edilen yöntemdir. İdeal bir şelatör maddenin zehirliliği düşük olmalı, hücre zarından kolayca geçebilmeli, metalleri hızla vücuttan uzaklaştırmalı ve sudaki çözünürlüğü yüksek olmalıdır. Sağaltımda, kalsiyum disodyum EDTA (CaNa_2EDTA) ve mezo 2, 3-dimerkaptosüksinik asit (DMSA) kullanılmaktadır. Yeni şelatör ajanlardan, monoizoamil dimerkaptosüksinik asit (MiADMSA), monometil dimerkaptosüksinik asit (MmDMSA) ve monosikloheksil dimerkaptosüksinik asit (MCHDMSA) de tercih edilmektedir. Bunlardan ilki şelatör etkilerinin yanı sıra karaciğer ve böbrekte metalotionenin sentezi ile beyin ve karaciğerde glutasyon düzeyinde artış yapar (4).

Antioksidanlar substratın oksidasyonunu geciktirir veya engeller. En önemli antioksidan kaynağı besinlerdir. Besinsel antioksidanlar serbest radikalleri doğrudan etkisiz kılar, peroksit yoğunluğunu düşürür ve okside membranı onarır; reaktif oksijen türlerinin üretimini engellemek için demirin etkinliğini engeller, kısa zincirli serbest yağ asitleri ve kolesterol esterlerinin peroksidasyonunu engeller. Bunlardan vitamin E, vitamin C, β -karoten, N-asetil sistein (NAC), α -lipoik asit ve melatonin zehirlenmelerde sıklıkla kullanılan antioksidanlardandır. Son sıradaki bileşiğin serbest radikalleri yakalama potansiyeli diğerlerine göre daha yüksektir ve hipofiz bezinden sentezlenen bir hormondur. Lipid peroksidasyonun sebep olduğu hücre zarı akışkanlığının azalmasının önüne geçer. Ek olarak, bazı antioksidan enzimlerin (glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz) aktivitesini önemli oranda artırır. Vitamin E, yağda çözünür, zincir kırıcı antioksidandır ve serbest radikal reaksiyonların yayılımını engeller. Vitamin C, suda çözünen bir vitamindir ve serbest radikalleri tutucu etkisi vardır ve α -tokoferol'ün oluşumunda rol oynar. β -karoten, vitamin A'nın prekürsörüdür ve yağda çözünen bir vitamindir. Benzer şekilde serbest radikalleri tutar. Tiol grubu içeren yapıya sahip NAC, indirgenmiş glutasyon prekürsörüdür ve dolayısıyla hücre içi glutasyon sentezini artırır. Serbest radikallerin yakalanmasında rol alır; kalsiyumun sebep olduğu nefrotoksisiteye engel olur. Alfa lipoik asit, reaktif oksijen türlerini yakalayan yapı gösterir. Ayrıca, glutasyon üretimini artırır. Bu bileşiklerin biri veya bir kaç genelde şelatör maddelerle birlikte kullanılır (4).

2.2. OKSİDATİF STRES

Herhangi bir maddenin molekülleri atomlardan yapılmıştır. Atomun çekirdeğinde proton ve nötronlar birlikte bulunurken etrafı elektronlarla çevrilmiştir. Atomların

kimyasal aktivitesi elektronlarının durumu ile doğrudan ilişkilidir (24). Oksidatif stres terimi serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliği yansıtır (25). Etkin oksijen türleri oluşturma potansiyeli bulunan kimyasal bileşikler prooksidant olarak tanımlanır. Normal koşullarda hücrelerde prooksidant-antioksidant denge arasında uyum vardır. Fakat bu denge oksijen türlerinin üretimini arttığı durumda (örneğin ilaç veya belli kimyasalların alınmasını takiben) veya antioksidanların düzeyi düştüğünde prooksidanlara doğru kayar. İşte bu durum oksidatif stres olarak nitelendirilir. Oksidatif stres temelde iki mekanizma ile oluşur. İlki, antioksidanların yoğunluğunun düşmesi (antioksidan enzimlerin yapısının değişimi, toksinler ve doğal antioksidanların alımındaki azalma); ikincisi ise aktif fagositlerden salınan oksijen/nitrojen/karbon esaslı reaktif türlerin düzeyinde artış görülmesidir (kronik inflamasyon olguları) (26). Aslında ROS ve RNS normal hücre metabolizma ürünüdür. Bu ürünler hücreler için hem faydalı hem de zararlı olabilir. Birçok fizyolojik görev (damar tonusun düzenlenmesi, kötü huylu hücreler ile mikroorganizmaların işgaline karşı savunma, çeşitli fizyolojik süreçlerde membran reseptörlerinden sinyal geçişi: nörotransmisyon, üreme ve gelişme) redoks sorumlu sinyal yolağı ile kontrol edilir (27).

Oksidatif stres iki ana başlık altında incelenebilir. İlki, besinsel oksidatif stres; beslenme yetersizliği veya oksidatif yüklenmenin sonucu olarak, antioksidan savunma ve prooksidan yüklenme arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Besinsel antioksidanlar doğrudan serbest radikalleri tutan tokoferol, askorbat, karotenoidler, tiyoller, polifenoller ve diğerlerini (selenyum içeren aminoasit) içine alır. İkincisi ise beslenmeden sonra görülen oksidatif stresdir ve lipid ile karbonhidrat yönünden zengin gıdaların tüketiminden sonra oksidatif hasara karşı organizmanın duyarlılığının artması ile karakterizedir. Gıdalar organizmada redoks dengesi üzerinde doğrudan etkilidirler. Hiperglisemi ile hiperlipidemi, antioksidan durumu ve lipoproteinleri etkileyerek oksidatif hasara sebep olur. Beslenme sonrasında karbonhidrat ve lipid düzeyindeki yükselme oksidatif stresin artışını beraberinde getirir (28).

2.2.1. Serbest Radikaller

Genelde, biyolojik sistemde oksidatif strese aracılık eden etkin yapılar radikal olarak tanımlanır. Bir veya iki eşleşmemiş elektron içeren bu moleküller biyomoleküllere karşı oldukça etkilidirler. Özellikle de oksijenden köken alan fakat radikal olarak

nitelendirilmeyen hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), hipoklorit ($L(R)OOH$) ve singlet oksijen ($^1\Delta g$) gibi ürünler de bu gruba dahildir (Tablo 2.1) (29).

2.2.1.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

2.2.1.1.1. Hücresel Kaynaklar

Serbest radikaller çeşitli enzimler ve metabolik süreç aracılığı ile bütün aerobik hücreler tarafından üretilir. Ayrıca travma, infeksiyon, inflamasyon ve çevresel maruziyet gibi çeşitli patolojik olgularda benzer şekilde serbest radikal oluşumuna sebep olur (30).

2.2.1.1.2. Metaller

Çoğu metal iyonları, özellikle de demir ve bakır temel enzim kofaktörleridir. Biyolojik sistemde bu iyonların serbest formları protein, lipid ve DNA gibi duyarlı makromoleküllere elektron geçişini kolaylaştırır. Biyolojik sıvılardan serbest metal geçişinin sınırlandırılması organizma için önemlidir. Redoks aktif geçiş metallerine maruziyet özel şelasyon proteinleri ile kontrol edilir. Ayrıca, metal iyonları hidrojen peroksit, süperoksit anyonları, hidroksil serbest radikalleri ve metal-oksijen kompleksleri gibi son derece etkin türleri oluşturmak için tepkimeye girerler. Bu etkileşimler DNA hasarı oluşturur ve kimyasal karsinogenezise sebep olur (30, 31).

2.2.1.1.3. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi

Mitokondri serbest radikal oluşumuna yol açan organeldir. Serbest radikal üretimi mitokondriyal oksijen kullanımı ile orantılıdır fakat çeşitli patolojik bozukluklar (hipoksi, pH'daki değişimler, zehirli bileşikler) bu kullanımı önemli oranda değiştirir. Doğal oksijen kaynaklı radikaller bu sırada oluşur. Doğal oksijene, herhangi bir molekülden bir elektron aktarırsa süperoksit anyonu; iki elektron aktarımı durumunda peroksit iyonu oluşur. Son iyon süperoksitin bir iyon alması ile de şekillenir. Oluşan bu iyon ortamdaki hidrojen ile protonlanarak hidrojen peroksit oluşur. Diğer bir serbest radikal olan hidroksil, hidrojen peroksitin parçalanması sırasında, ayrıca Haber-Weiss ve Fenton tepkimeleri ile şekillenir. Hidroksil ($\cdot OH$) bilinen en etkin serbest radikaldir ve hücresel oluşumlarla büyük oranda etkileşir (30, 32, 33).

2.2.1.1.4. Fagositler

Etkin nötrofil ve fagositlerde yüksek oranda serbest radikal üretimi söz konusudur. Serbest radikal üretimi, işgalci organizmalar ve normal olmayan hücrelerin

öldürülmesinde önemli bir süreçtir. Fakat fagositik hücrelerden salınan serbest radikaller çevresel hücrelerde de tahribata sebep olur. Solunum patlamaları sonucunda makrofajlar ve granülositlerin hücre zarına bağlı enzimi olan NAD(P)H oksidaz etkinleşerek moleküler oksijenden süperoksit anyon grubu oluşur. Ardından izleyen tepkimelerle bu anyon grubundan hidroksil grubu şekillenir. İlk tepkimeye SOD, ikincisine geçiş metalleri (Fenton tepkimesi) aracılık eder (30, 34).

2.2.1.1.5. Çevresel Maruziyet

Oksidatif stres çevrede çeşitli bileşiklere maruziyetin bir sonucu olabilir. Kimyasal maddeler ve ilaçlar serbest radikal üretimine dolayısıyla biyolojik bileşiklerin oksidasyonuna sebep olur. İçsel olarak serbest radikal üretimine mitokondri, peroksizomlar, fagositler, ksantin oksidaz, araşidonat yolağı, metaller, egzersiz, yangı ve işemi sebep olmaktadır. Dışsal kaynaklar ise sigara dumanı, radyasyon, ilaçlar, etanol, kimyasal ayıraçlar, endüstriyel çözücüler ve kirliliktir (30).

2.2.1.1.6. Besinsel Dengesizlik

Organizmada, serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu hasarın önlenmesine yönelik birkaç mekanizması vardır. Glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi önemli enzimler dokulardaki çoğu zararlı oksidantların yoğunluğunu düşürür. Selenyum, demir, bakır, mangan, magnezyum ve çinko gibi esansiyel mineraller belirtilen enzim aktivitelerinden sorumludur. Bunlardan, mangan, bakır ve çinko SOD'un; demir CAT'ın ve selenyum GSH-Px'in yapısına girer. Savunma sisteminin diğer unsurları glutasyon, ubikuinol ve ürik asit gibi antioksidanlardır. Dört bin antioksidan tanımlanmasına rağmen en çok bilineni vitamin C, E ve karatenoidlerdir. Normal diyetle prooksidan-antioksidanlar arasında bir denge mevcuttur. Besinler aracılığı ile alınan flavonoidler ve polifenoller de önemli antioksidanlardandır (30, 35).

Tablo 2.1. Canlı organizmasında şekillenen etkin gruplar (35).

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	
<i>Radikaller</i>	<i>Radikal Olmayanlar</i>
Süperoksit, $O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $\cdot OH$	Hipokloroz asit, $HOCl$
Peroksil, RO_2^{\cdot}	Ozon, O_3
Alkoksil, RO^{\cdot}	Singlet oksijen, $^1\Delta g$
Hidroperoksil, HO_2^{\cdot}	Hipobromoz asit, $HOBr$
Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	
<i>Radikaller</i>	<i>Radikal Olmayanlar</i>
Nitrik oksit, NO	Nitroz asit, HNO_2
Nitrojen dioksit, NO_2	Nitrozil kation, NO^+
	Nitrozil anyon, NO^-
	Dinitrojen tetraksit, N_2O_4
	Dinitrojen trioksit, N_2O_3
	Peroksinitrit, $ONOO^-$
	Nitronium kadyon, NO_2^+
	Nitril klorit, NO_2Cl
	Alkil peroksinitrat, $ROONO^-$
	Nitroksil anyonu, NO^-
Reaktif klorin türleri (RCS)	
<i>Radikaller</i>	<i>Radikal Olmayanlar</i>
	Hipokloroz asid, $HOCl$
	Nitril klorit, NO_2Cl

2.2.2. Lipid Peroksidasyon

Hem doymamış yağ asitleri hem de kolesterol enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla okside edilir. Bu vücutta normal koşullar altında gerçekleştirilen peroksidasyondur. Doymamış yağ asitlerinin serbest radikal aracılı peroksidasyonu beş

temel reaksiyonda değerlendirilebilir. Bunlar, doymamış yağ asitlerinden radikal zincirine hidrojen atomu transferi, moleküler oksijen ile lipid radikalının reaksiyonu, lipid peroksit radikalının parçalara ayrılması, peroksil radikalının tekrar düzenlenmesi ve peroksil radikalının siklizasyonu'dur. Serbest radikal aracılı lipid peroksidasyon, serbest radikallerin lipid moleküllerini okside etmesiyle sonuçlanan bir dizi reaksiyonu içerir. Hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve demir iyonlarının reaksiyonu sonucu peroksinitritten oluşur (Fenton reaksiyonu). Alkoksil radikali, hidroperoksitlerin hem proteini ve bakır gibi metal iyonları aracılığıyla hidroperoksitlerin dekompozisyonu ile oluşur (Haber-Weiss reaksiyonu). Süperoksit ve nitrik oksit NADPH oksidaz, ksantin oksidaz ve nitrik oksit sentaz gibi enzimlerce üretilir. Süperoksit reaktif olarak tanımlanmaz fakat metal iyonların daha aktif şekillerine indirgenmesine aracı olarak serbest radikal oluşumunu hızlandırır. Nitrojen dioksit, nitrik oksitten oluşur. Etkin serbest radikal değildir fakat doymamış lipidlerin çift bağına eklenebilir. Serbest radikaller miyelo-peroksitler tarafından da oluşturulabilir. Singlet oksijen ile ozon serbest radikal aracılı ve enzimatik olmayan lipid peroksidasyonla lipidleri okside eder. Myelo-peroksitlerce salınan klorit ve bromit varlığında hidrojen peroksiti hipoklorik asit ve hipobromik asite çevirir. Güçlü bir oksidandır ve serbest radikal ile radikal olmayanları içine alan birkaç mekanizma ile biyolojik molekülleri okside eder. Hipoklorit, singlet oksijen vermek için hidrojen peroksitle; alkoksil ve peroksil radikalleri vermek için organik hidroperoksitlerle tepkimeye girer. Aminlerle tepkimeye girerek kloramin ve bromamin oluşturur. Lipid hidroperoksit, lipid peroksidasyon ürünlerinin ilki ve en dayanıklı olanıdır. Katalitik metal iyonlarının varlığında veya yokluğunda kısa ve uzun zincirli aldehit, fosfolid, kolesterol ve kolesterol esterlerinin oluşumuna yol açabilir. Enzimatik lipid peroksidasyon, lipooksijenaz ve siklooksijenaz ile araşidonik asitin hidroperoksieikozatetraenoik asit, prostaglandin, prostasiklin tromboksan ve lökotrienlere okside olması olarak bilinir (29, 36).

2.2.3. Antioksidan Savunma Sistemi

Serbest radikal hasarına karşı iki farklı mekanizma etkin olarak rol oynar. Birincisi enzimatik olmayan besinsel kaynaklı mekanizma diğeri enzimatik mekanizmadır. Enzimatik olmayan besinsel kaynaklı mekanizma glutasyon (GSH), vitamin E, vitamin C, beta-karoten ve vitamin A gibi düşük molekül ağırlıklı moleküllerin yanı sıra belli iz elementleri de içine alır. Vitaminler, serbest radikallerin taşıyıcısı veya sessiz reseptörü

olarak etkinken iz elementler antioksan enzimlerin aktivitelerini düzenler (24). Biyolojik açıdan, süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^\cdot) ve alkoksil (RO^\cdot) radikalleri endojen antioksidan bağlayıcıları tarafından hızla etkisiz hale getirilir. Yukarıda anılan antioksidanların bir kısmı hidrofilik tutucular olarak tanımlanır. Bunlar mitokondride, plazmada ve çekirdek sıvısında yüksek oranda bulunur. En önemlileri ise askorbat ve glutasyondur. Üçüncü bir hidrofilik bağlayıcı ise ergotionenin-2-merkaptο-Nα-trimetil-L-histidin'dir. Bu bileşik, mantar ve mikobakteriler tarafından sentezlenir ve bitki kökleri aracılığı ile topraktan bünyelerine alınır. Dolayısıyla, memeli hücrelerinde mevcut olan bu bileşiğin kaynağı gıdalardır. Hidrofilik moleküllerin en etkili olarak biliniyor ve singlet oksijeni önemli oranda bağlar. Hidrofobik bağlayıcılar (vitamin E, karoteneidler, ubikuinol ve koenzim Q'nun indirgenmiş formu), lipoprotein ve membranlarda bulunur; singlet oksijenden hidrojen peroksit oluşumunu bloke ederek ve peroksit radikallerini yıkımlayarak etki oluşturur. Vitamin E, fosfolipid tabakasında peroksil radikallerinin güçlü yakalayıcısıdır. Ubikuinol, lipoprotein oksidasyonlarının önüne geçen güçlü bir antioksidandır. Karotenoidler singlet oksijenin güçlü bağlayıcılarından (37). Hücre dışı antioksidan savunma sisteminin diğer unsurları protein-SH gruplarıdır. Plazmadaki toplam tiol grubu, albumin, L-sistein ve homosisteinin sülfidril gruplarını temsil eder. Fizyolojik koşullar altında -SH grupları kimyasal olarak son derece etkin gruplardır ve güçlü indirgeyici özellikleri vardır. Düşük molekül ağırlıklı antioksidanların temsilcisi olan; esasen plazmada bulunmakla birlikte hücre dışı ve hücre içi sıvılarda da yer alan glutasyon ve ürik asitte bu grubun temsilcilerindedir. Özellikle glutasyon oksidatif stres ve toksik ajanlara karşı hücreleri korumada önemli rol oynar. Bu rolü enzimatik reaksiyonlarda substrat, yardımcı substrat veya doğrudan etkisi ile ilişkilidir. Selenyum yetmezliği durumunda, karaciğer glutasyon sentezi artar. Bu durum hücresel sistein tükenmesini beraberinde getirir (24, 37). Dolaylı yoldan antioksidan etki oluşturan ve kofaktör olarak etkiyen iz elementler Tablo 2.2'de verilmiştir. Selenyum içeren glutasyon peroksidaz (GSH-Px); demir içeren katalaz; demir, bakır ve mangan içeren süperoksit dismutaz (SOD)'ın farklı tipleri yer alır. Aksine bu iz elementlerin yüksek oranda alınması reaktif ürün oluşumunu teşvik eder (24).

Tablo 2.2. Antioksidan savunma sisteminin unsurları (24).

Enzimatik Olmayan	Enzimatik
<i>İz Elementler</i>	<i>İlişkili Enzim Kofaktörü</i>
Selenyum	Glutasyon peroksidaz
Demir	Katalaz
Çinko	Sitozolik süperoksit dismutaz
Bakır	Sitozolik süperoksit dismutaz ve seruloplazmin
Manganez	Mitokondriyal süperoksit dismutaz
<i>Vitaminler</i>	
Vitamin A (retinol)	
Beta-karoten	
Vitamin C	
Vitamin E	
Vitamin K	
<i>Diğer Küçük Biyomoleküller</i>	
Glutasyon	
Ubikuinon	
Karnozin	
Ürik asit	
Bilirubin	

Enzimatik mekanizma SOD, CAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzimlerden oluşan mekanizmadır. SOD bakır, çinko ve mangan içeren enzimlerdir. Bu enzim süperoksit gruplarını daha az zararlı hidrojen peroksite çevirir. CAT peroksizomlarda bulunan bir enzimdir, hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya çevirir. GSH-Px mitokondri ile sitozolde bulunan ve selenyum içeren bir enzimdir. Glutasyonun aracılık ettiği tepkime ile hidrojen peroksit veya organik peroksit su veya alkole indirgenir (34).

2.2.4. Lipid Peroksidasyonun Belirteçleri

Reaktif oksijen türlerinin çeşitli hücre sel yapılarla tepkimesini ortaya koyan birçok yöntem bulunmaktadır. Protein oksidasyonunda, schiff bazların amino grupları ile

tepkimesi sonucunda MDA gibi aldehitler oluşur. MDA hücre membranı veya düşük yoğunluklu lipoproteinlerde lipid peroksidasyon son ürünlerinden biridir. Ürün floresans spektroskopisi ile tespit edilir. Fakat böyle floresans veren ürünlerin oluşumu protein oksidasyonunda oldukça önemli bir yolak değildir. Lipid peroksidasyonla serbest radikallerin muhtemel oluşturabileceği lipid peroksidasyon ürünlerinin tespiti çok önceden beri kullanılan yöntemlerdendir. Dien konjugatları lipid peroksidasyonun erken belirteci olarak kullanılır. Bu ürün biyolojik materyalin lipid ekstraktında tespit edilir. En yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri de tiobarbiturik asit (TBA) testtir. Yöntemin esası, test örneklerinin TBA ile düşük pH'da ısıtılması sonucu oluşan pembe renkli kromojenin (TBA-MDA kompleksi) 532 nm absorbansta ve 553 nm floresansda ölçümüne dayanır. Bir diğeri volatil hidrokarbonlardır. Pentan ve etan gibi uçucu hidrokarbonlar lipid peroksidasyonun yıkımlanması sırasında oluşur. Reaktif oksijen türleri nükleik asitlerde de yapısal değişikliklere sebep olur. Hem süperoksit hem de hidroksil radikalleri bu tarz değişimlere yol açar. Bu sırada 8-hidroksiguanin, 5-hidroksimetil urasil ve timin glikol şekillenir. Ayrıca biyolojik sıvılarda antioksidan durumun ortaya konulması için hücre koruyucu enzim aktiviteleri ve antioksidan içeriğinin analizine gidilir. Zira SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri ile antioksidan olarak tokoferol, karoten, askorbik asit ve glutasyon biyolojik materyallerde değerlendirilen parametreler arasında yer alır (33). Toplam antioksidan kapasitenin ölçümüne yönelik yöntemlerden toplam peroksil radikali yakalama gücü (TRAP) ile oksijen radikali absorbe etme kapasitesi (ORAC) tespiti; F₂ izoprostan ve lipid hidroperoksit analizi kullanılan diğer belirteçlerdendir (29, 38).

2.2.5. Antioksidanların Klinik Uygulamaları

Tedavide iki temel yöntem izlenir. Birincisi serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi, ikincisi ise antioksidan kapasitenin artırılması (Tablo 2.3) (27). Tedavi amaçlı kullanılan antioksidanlar doğal ya da sentetik olabilir. Bazı ilaçlar ilk aşamada antioksidan olarak düşünülmesine de daha sonra bu etkileri de olduğu kanıtlanmıştır. Fakat olumsuz etkileri de göz önüne alınarak doğrudan bu amaçla kullanılmaları söz konusu olmamıştır. Antioksidan olarak kullanılması düşünülen bazı bileşikler ise her ne kadar son derece güvenli olsa da farklı sebeplerden dolayı kullanılamamaktadır (Tablo 2.4) (39).

Tablo 2.3. Antioksidan tedavi esasları (27).

Serbest Radikal Oluşumunun Engellenmesi	Antioksidan Kapasitenin Artırılması
Araşidonik asit metabolizmasının inhibisyonu	Antiradikal savunmanın modifikasyonu
Fagosit aktivasyonunun inhibisyonu	İntra ve ekstrasellüler antioksidan düzeyin artışı
Ksantin oksidaz inhibisyonu	Lipolitik antioksidanların membrana geçişi
Nitrik oksit sentaz inhibisyonu	Reaktif oksijen türlerin bağlanması

Tablo 2.4. Deneysel ve klinik uygulamalarda antioksidan ilaçlar (27).

Etki	Kullanılan İlaçlar
<i>Demir Şelatörleri</i>	Desferroksamin, allopurinol
<i>Reaktif Oksijen Türlerinin Bağlayıcıları</i>	Melatonin, allopurinol, vitamin E, troloks, süperoksit dismutaz, katalaz, N-2-merkaptopropionilglisin, mannitol, edaravon.
<i>Lipid Peroksidasyon İnhibitörleri</i>	Trilazad, lazaroid, vitamin E, troloks, purpurogallin, triterpin, ginko bibola, kafeik asit.
<i>Serbest Radikal Oluşumunu Azaltan Ajanlar</i>	Rekombinant eritropoetin, ebselen.
<i>Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörleri</i>	7-nitroindazol, aminoguanidin, N(omega)-nitro-L-arjinin, N(omega)-nitro-L-arjinin metil ester.
<i>İnflamasyon Aracılı Antagonisler</i>	Trombosit aktive edici faktör antagonisti, BN-52021
<i>Diğer Antioksidan Etkililer</i>	Aminofilin, indometazin, bakır, çinko, magnezyum, selenyum, kannobinoidler, hipotermi.

2.2.6. Oksidatif Stresin Sonuçları

Lipidlerin hücre zarında önemli rolü vardır ve peroksidasyona oldukça duyarlıdır. Lipid hidroperoksitleri hücre zarının yapısı ve görevi için zararlıdır. Reseptör ve enzim gibi zar proteinlerini de tahrip eder. Doymamış yağ asitleri özellikle serbest radikal işgaline duyarlıdır. Protein oksidasyonu aminoasit zincirinde değişime sebep olur. Özellikle, OH radikali bu tarz bir etki oluşturur. Tiol (-SH) grupları özellikle pek çok serbest radikalle karşı duyarlıdır. Okside proteinlerin dayanıklılığı oldukça zayıftır; vücutta birçok biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonların kayıplarını da beraberinde getirir.

DNA yapısındaki değişimler oksidatif strese maruz kalan hücrelerde sıklıkla görülür. DNA hasarının ölçümünde komet testi kullanılır. Ayrıca kalsiyum iyonu hücre hasarında önemli bir araçtır. Hücre içi-dışı kalsiyum yoğunluğundaki değişimler hücre görevleri için ciddi sonuçları beraberinde getirir. Lizozomlar dışında kalan kalsiyum bağımlı proteazlar hücre içi kalsiyum yoğunluğunun artışı ile etkinleşir. Takiben bir dizi tepkime ile hidroksil (HO) ve hidrojen peroksit oluşur. Böylece lipid peroksidasyon ve hücre hasarı şekillenir. Serbest radikallerin sebep olduğu hasar iyon geçişinde rol alan taşıma sistemlerini doğrudan etkiler (30, 34).

2.3. KETEN TOHUMU YAğI

Keten (*Linum usitatissimum*) *Linacea* familyası içinde bulunmakta, özellikle Avrupa ve Güney Asya bölgelerinde yaygın olarak yetişmektedir (40). Bitkinin Türkiye’de Karadeniz, Marmara, Ege ve İç Anadolu Bölgelerinde kültürü yapılmaktadır (41). Keten 20-150 cm boyunda, yaprakları gri-yeşil renkli, tek yıllık bir bitkidir. Keten tohumu yağ (% 41), protein (% 20) ve lif (% 28) açısından zengindir. Yağın % 9’u doymuş yağ, % 18’i tekli doymamış yağ ve % 73’ü çoklu doymamış yağdır (42, 43). İçerdiği lifin çözünmeyen nitelikte olanı büyük oranda selüloz ve lignin içerirken, çözülebilen kısım ise zamktan oluşmaktadır (43). Keten tohumu yağı yüksek omega-3 yağ asitleri (özellikle alfa linoleik asit), tiamin, riboflavin, niasin, iz mineraller ve çeşitli biyolojik etkin maddeler içermektedir (44). Keten tohumu yağının 1 gramında yaklaşık olarak 550 mg alfa-linoleik asit, 170 mg linoleik asit, 60 mg palmitik asit, 40 mg stearik asit ve 180 mg oleik asit vardır. İçerdiği alfa-linoleik asit oranı balık yağından yüksektir. Bu bileşik doğrudan siklooksijenaz aracılığı ile gerçekteşen araşidonik asit oksidatif metabolizmasını doğrudan inhibe eder (43). Keten tohumu diğer bitkilere oranla 75-800 kat daha fazla memeli lignan prekürsörü sekoizolarisiresinol diglukozid (SRD) kaynağıdır. Lignanlar yüksek oranda lif içeren besinlerde bulunan difenolik bileşiklerdir (42, 45). Bitki lignanı kolon fakültatif aerobları (*Clostridia sp.*) aracılığı ile memeli lignanı olan enterodiol ve enterolaktone çevrilir. Bu dönüşüm sırasında sekoizolarisiresinol diglukozid ilk hidrolizi ile aglikon bitki lignanı sekoizolarisiresinole çevrilir. Bu daha sonra dehidroksilasyon ve demetilasyon ile enterodiolle dönüşür. Enterodiol, ardından enterolaktone çevrilir. Memeli lignanı aromatik halkada meta pozisyonunda fenolik hidroksil grubu kalıntısı içermesi sebebi ile bitki lignan prekürsörlerinden farklıdır. Antioksidan etki yönünden memeli vücutlarında oluşun

metabolitleri daha etkindir (46). Dięer lignanlardan matairesinol, izolarisiresinol ve pinoresinol keten tohumunda daha dūřuk oranda bulunmaktadı. Keten tohumunun antikarsinojenik ve antiöstrojenik etkisi bu lignalarla bağlantılıdır. Keten tohumunun antioksidan etkinliği ise sekoizolarisiresinol diglukozid ve memeli metaboliti olan enterodiol ve enterolaktin ile ilişkilidir ve reaktif oksijen türlerinin inhibisyonunda rol alırlar (47). Keten tohumu yağında yüksek oranda alfa linoleik asit bulunması nedeniyle kalp damar sistemi hastalıkları, yüksek tansiyon, ateroskleroz, hiperlipoproteinemi, insüline bağımlı diyabet, kanser (meme ve kolon kanseri), deri hastalıkları, böbrek yetmezliği, romatoid artrit ve multiple sklerozda yararlı etkileri olduğu; yine içeriğindeki n-3 çoklu doymamış yaę asiti bileşikleri sayesinde memeli hücrelerinde antiinflamatuvar etkili eikozanoidlerin üretimini teşvik edici; serum kolesterol ve trigliserit seviyelerini dūřürücü etkiler gösterdiği bilinmektedir (46, 48).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZ, GEREÇ VE KİMYASALLAR

3.1.1. Cihazlar ve Gereçler

1. UV-VIS Spektrofometre (Thermo Helios α)
2. Santrifüj (Sigma 3K30)
3. Su banyosu (Nüve BM402)
4. Vortex (Heidolph Reaxtop)
5. Santrifüj (Nüve NF 800R)
6. Derin Dondurucu Nofrost (Beko D9260NEF -20 °C).
7. Derin Dondurucu (Sanyo Ultra- MDF-U3086S -80 °C).
8. Derin pH metre (Metler Toledo)
9. Hassas terazi (Sartorius TE3102S)
10. Manyetik karıştırıcı (Elektro Mag-M21)
11. Homojenizatör (Heidolph Silient Crusher M)
12. Deiyonize su cihazı (Millipore)
13. Buz makinesi (Kale Buzzbar)
14. Buzdolabı (Profilo BD263TM)

15. Antikoagulantlı ve antikoagulantsız cam tüp

16. Kanül

3.1.2. Kimyasallar

1. Tiyobarbitürik asit (TBA) (Merck 108180)
2. n-Butanol (Merck 100988)
3. Sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck 106392)
4. Folin fenol (Merck 109001)
5. Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) (Merck 108087)
6. Bakır sülfat (CuSO_4) (Merck 102791)
7. Triklorasetik asit (TCAA) (Merck100810)
8. N-naftiletilendiamin dihidroklorür (NED) (Merck 106237)
9. Orto-fosforik asit (Merck 100563)
10. Sodyum nitrit (NaNO_2) (Merck 106549)
11. Sülfanilamid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) (Merck 11799)
12. Sodyum hidrojen karbonat (NaHCO_3) (Merck 106329)
13. Sodyum di hidrojenfosfat dihidrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) (Merck 106345)
14. Potasyum hekzo siyano ferrat ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) (Merck 104971)
15. Di-sodyum hidrojen fosfat dodesahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) (Merck 106573)
16. Sodyum hidroksit (NaOH) (Carlo Erba 480507)
17. Potasyum siyanid (KCN) (Merck 104965)
18. Sodyum azid (NaN_3) (Merck 106688)
19. Redükte glutasyon ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$) (Merck 104090)
20. Etilendiamin tetraasetik asit potasyum (EDTA) (Merck 814696)
21. Glutasyon redüktaz (NAD(P)H) (Sigma G3664-2,5KU)
22. Nikotinamid adenin di nükleotid fosfat tetra sodyum tuz NADPH+H (Sigma N6505)
23. Potasyum di hidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck 104873)

24. t-bütül hidroperoksit (t-BOOH) (Fluka 19995)
25. Hidrojen peroksit (H₂O₂) (Merck 108600)
26. Dodesil sulfat sodyum salt (C₁₂H₂₅OSO₂ONa) (Merck 113760)
27. Pridin (C₅H₅N) (Merck 107462)
28. 2-Tiyo barbitürik asit (C₄H₄N₂O₂S) (Merck 108180)
29. Glasiyel asetik asit (CH₃COOH) (Merck 100056)
30. Ksantin (C₅H₄N₄O₂) (Sigma X0626)
31. Nitro blue tetrazolium (C₄₀H₃₀N₁₀O₆ · 2Cl) (Sigma N6876)
32. Sığır albümini (Sigma A4503)
33. Ksantin oksidaz (Sigma X1875)
34. Bakır klorit di hidrate (CuCl₂ · 2H₂O) (Merck 102733)
35. Amonyum sülfat ((NH₄)₂SO₄) (Merck 101217)
36. Hemoglobin (Sigma H-2500)
37. Sodyum klorür (Merck 116224)
38. 1.1.3.3. tetraetoksipropan (Sigma, T 9889).
39. Kadmiyum klorür (Merck 2011.0100)
40. Keten Tohumu Yağı (GNC)

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hayvan Materyali

Çalışmada sağlıklı, 48 adet 150-200 g ağırlığında Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanılmıştır ve her bir grupta 12 rat olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunda tutulmuştur. Hayvanlar her kafeste 4 adet olacak şekilde polietilenden yapılmış rat kafeslerine yerleştirilmiştir. Yemleri ve suyu *ad libitum* olarak önlerinde bulundurulmuştur. Hayvanların barındığı ortamın ısısı 20-22 °C'de tutulmuştur. Deneme süresi boyunca, % 23 ham protein, % 5 ham selüloz ve 3100 Kcal/kg metabolik enerji içeren rat pellet yemi ile beslenmiştir.

3.2.2. Gruplar

Birinci Grup: Kontrol olarak tutulmuştur. Hayvanlara yem ve su dışında herhangi bir bileşik verilmemiştir.

İkinci Grup: Hayvanlara ağızdan sonda ile günde 0,1 ml/hayvan/gün dozunda keten tohumu yağı sonda ile mideye 30 gün süreyle verilmiştir.

Üçüncü Grup: Hayvanlara, içme suyu ile 50 ppm kadmiyum 30 gün süreyle *ad libitum* olarak verilmiştir.

Dördüncü Grup: Hayvanlara, bir taratan içme suyu ile 50 ppm dozunda kadmiyum *ad libitum* olarak verilmiş; diğer taraftan günde 0,1 ml/hayvan/gün dozunda keten tohumu yağı sonda ile mideye 30 gün süreyle uygulanmıştır.

3.2.3. Örneklerin Toplanması

Hayvanlardan deneme sonunda hafif eter anestezisi altında heparinli tüplere kan alınmıştır. Ardından ölümünü takiben akciğer, karaciğer, beyin, kalp, böbrek, dalak ve testis dokuları çıkarılmıştır.

3.2.4. Eritrositlerin Yıkınması ve Hemolizatların Hazırlanması

Kanın şekilli elemanlarını oluşturan kısma plazma alındıktan sonra üç kez eşit hacimde tuzlu fosfat tampon çözeltisi (pH 7,4) ilave edilmiştir. Tüpler 3000 devirde 10 dakika vortekslendikten sonra santrifüj edilmiştir. Her seferinde üst kısımda kalan eritrosit dışındaki lökosit ve trombosit tabakası alınmış ve işlem tekrarlanmıştır. Yıkınan eritrosit tabakasından 0,5 ml alınarak üzerine aynı hacimde tuzlu fosfat tampon çözeltisi ilave edilmiştir ve hafifçe çalkalanmıştır (49). Yıkınmış eritrosit süspansiyonu çalışmaya kadar -80 °C'de saklanmıştır. Analiz sırasında çözdürülerek üzerine 1/5 oranında buz soğukluğunda deiyonize su ilave edilmiş ve hızlıca çalkalanmıştır. Elde edilen hemolizat, hemoglobin düzeyi ile antioksidan enzimlerden CAT ve GSH-Px aktivitesinin ölçümü; hemolizatın kloroform/etanol ekstraktı ise SOD aktivitesi ölçümü için kullanılmıştır.

3.2.5. Doku Homojenatının Hazırlanması

Deney hayvanlarından çıkarılan dokular öncelikli olarak buz soğukluğunda deiyonize su ile yıkanarak kan, yağ ve bağ dokusu uzaklaştırılmıştır. Dokulardan 1 g alınarak 1/5 oranında hazırlanan tampon (140 mM KCl, 10mM NaHCO₃, 3mM KH₂PO₄ and 2mM

K_2HPO_4/L ; 950 ml deiyonize suda çözdürülerek 5 N NaOH ile pH'sı 7.2'ye ayarlanmış ve 1000 ml'ye tamamlanmıştır) ile homojenizasyonu yapılmıştır. Homojenat daha sonra 15000 rpm'de 45 dakika (+ 4 °C) santrifüj edilmiştir ve süpernatant ayrılmıştır.

3.2.6. Biyokimyasal Analizler

3.2.6.1. Eritrosit ve Doku MDA Ölçümü

Analiz için Yoshioka ve ark (50)'nin yöntemi kullanılmıştır. Yöntemin esası MDA ile tiyobarbitürik asitin reaksiyona girerek asit ortamda pembe renkli bir ürün oluşturmasına dayanır.

Vida kapaklı tüplere (numune ve standart tüpleri) 0,5 ml plazma veya standart çözeltilerden alınmış, üzerine 2,5 ml % 20'lik triklorasetik asit (TCA) ve 0,5 ml % 0,67'lik tiyobarbitürik asit (TBA) ilave edilmiştir. Kör olarak kullanılacak tüplere ise plazma yerine 3 ml triklorasetik asit ilavesi yapılmıştır. Bütün tüpler kaynar su banyosunda (95 °C'de) 30 dakika tutulmuş ve ardından buzlu su içerisinde hızla soğutulmuştur. Takiben 4 ml n-butanol ilave edilerek 30 saniye kadar vortekslenmiş ve 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan n-butanol tabakası alınmış ve 535 nm'de n-butanol körüne karşı ölçüm gerçekleştirilmiştir. Ölçülen absorbanslar, 1.1.3.3. tetraetoksipropan ile hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisi esas alınarak nmol/ml cinsinden hesaplanmıştır.

Doku MDA düzeyi ölçümü Ohkawa ve ark. (51) tarafından bildirilen yöntemle gerçekleştirilmiştir. Yöntem plazma MDA ölçümünde olduğu şekilde asit ortamda MDA'nın TBA ile tepkimesi sonucu oluşan kompleksin verdiği pembe rengin şiddetinin 535'de ölçülmesi esasına dayanır. Vida kapaklı tüplere, 0,2 ml homojenat süpernatantı, 200 µl sodyum loril sülfat (% 8,1'lik), 1,5 ml asetat tamponu, 1,5 ml TBA çözeltisi (% 0,8'lik) ve 600 µl deiyonize su konulmuş ve kapakları sıkıca kapatılmıştır. Karışım, 95 °C'lik su banyosunda 60 dakika beklemeye bırakılmıştır. Ardından hızla soğutulmuştur ve 1 ml deiyonize su eklenmiştir. 5 ml n-butanol/piridin (15/1) ilavesi ile 30 sn vortekslenmiş ve 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Şekillenen pembe renkli bileşiğin absorbansı 535 nm'de köre karşı okunmuştur. Sonuçların hesaplanmasında birim olarak nmol/ml veya nmol/mg-protein kullanılmıştır. Hesaplamalar 1.1.3.3. tetraetoksipropan kullanılarak hazırlanan kalibrasyondan yola çıkarak yapılmıştır.

3.2.6.2. Eritrosit Hemoglobin Düzeyi Ölçümü

Analiz, Fairbanks ve Klee (52)'nin yöntemine göre yapılmıştır. Yöntem belirli koşullarda oluşan siyanomethemoglobin ölçümüne dayanır.

Drabkin reaktifinden [0,2 g $K_3Fe(CN)_6$, 0,05 g KCN ve 1,0 g $NaHCO_3$ tartıldı ve hacmi deiyonize su ile 1 litreye tamamlandı] 6 ml alınmıştır. Ardından 40 μ l hemolizat üzerine eklenmiş ve 5 dakika oda koşullarında bekletilmiştir. Ölçümler Drabkin reaktifine karşı 540 nm'de gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar mgHb/ml hemolizat şeklinde hesaplanmıştır.

3.2.6.3. Doku Protein Düzeyinin Ölçümü

Analizlerde Lowry'nin (53) tanımladığı ve Miller (54) tarafından modifiye edilmiş metod kullanılmıştır. Bu yöntemin esası, alkali bakır ve fenol reaktifi ile tirozin ve triptofan artıklarının verdiği mavi renkli bileşiğin renk şiddetinin 540 nm'de ölçülmesine dayanır. Analiz için 50 μ l homojenat süpernatantı deiyonize su ile 1/20 oranında sulandırılmıştır. Ardından 1 ml bakır reaktifi eklenerek 30 sn vortekslenmiş ve oda koşullarında 10 dakika süre ile beklemeye bırakılmıştır. Sonra 3 ml folin fenol reaktifi (1/10) eklenerek tüpler 30 sn vortekslenmiş ve karışım 50 °C'lik su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir. Reaksiyon sonunda şekillenen mavi renkli kompleksin absorbansı 540 nm'de köre karşı okunmuştur. Hesaplamalar mg-protein/ml homojenat olarak yapılmış ve standart eğrisi hazırlanmasında sığır albümini kullanılmıştır.

3.2.6.4. Eritrosit ve Doku CAT Aktivitesi Ölçümü

Analizlerde, Luck (55) tarafından geliştirilen yöntem esas alınmıştır. Yöntemin prensibi, ortamdaki hidrojen peroksitin numunede bulunan katalaz tarafından yıkımlanmasına dayanır.

Kör küvetine 2,95 ml 50 mmol'lük pH 7'de fosfat tampon (3,522 g KH_2PO_4 ve 5,796 g Na_2HPO_4 eklenmiş ve hacim deiyonize su ile 1 litreye tamamlandı) konularak üzerine 50 μ l hemolizat veya süpernatant eklenmiştir. Eş zamanlı olarak numune küvetine fosfat tamponda hazırlanmış 10 mmol/L'lik hidrojen peroksit (100 ml fosfat tamponu üzerine 0,13 ml % 35'lik H_2O_2 çözeltisi ilave edildi ve 240 nm'de fosfat tampona karşı okunan absorbansı 0,500'e ayarlandı)'den 2,95 ml konulmuş ve üzerine 50 μ l hemolizat ilave edilmiştir. Ölçümler 240 nm'de kör küvete karşı (45 saniyedeki düşüş) yapılmış ve sonuçlar, k/mgHb ile k/mg-protein olarak hesaplanmıştır.

3.2.6.5. Eritrosit ve Doku SOD Aktivitesi Ölçümü

Analizlerde Sun ve ark (56)'nın bildirdiği yöntem kullanılmıştır. Yöntemin esası, numunede bulunan SOD'un, süperoksit radikallerinin ortamda bulunan nitroblue tetrazoliumu indirgememesini engellenmesi esasına dayanır. Süperoksit radikali tarafından renksiz NBT iyonu indirgendiğinde maksimum absorbanı 560 nm'de veren mavi renkli formazon oluşur. Bu sırada numunedeki SOD aktivitesi ile doğru orantılı olarak bir absorban düşüşü görülür.

Tüplere alınan 0,5 ml eritrosit hemolizati veya süpernatant üzerine aynı hacimde kloroform/etanol (3/5 v/v) karışımı ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Tüpler 3000 rpm'de soğutmalı santrifüjde (+4 °C) 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan berrak kısım analiz için kullanılmıştır. Deney tüplerine sırasıyla 0,5 ml numune ekstraktı ve 2,45 ml SOD reaktif karışımı [SOD reaktifi için 100 ml balon joje içerisine 20 ml ksantin çözeltisi (3 mmol/L), 10 ml EDTA (0,6 mmol/L) çözeltisi, 10 ml NBT (0,15 mmol/L) çözeltisi, 6 ml amonyum sülfat (2 mol/L) çözeltisi ve 3 ml sığır albümini (1 g/L)] katılmış; ardından 50 µl ksantin oksidaz çözeltisi (4,7 ml'sinde 50 U ksantin oksidaz bulunan çözeltiden 83 µl alındı ve 2 ml 2 M'lık amonyum sülfat çözeltisi içine katıldı) ilave edilmiştir. Su banyosunda (25 °C'lik) 20 dakika bekletilmiş süre bitimini takiben 1,0 ml CuCl₂ (0,8 mmol)'den ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Ölçümler 560 nm'de gerçekleştirilmiş ve sonuçlar U/mgHb ve U/mgHb cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.6.6. Eritrosit ve Doku GSH-Px Aktivitesi Ölçümü

Analizlerin gerçekleştirilmesinde Paglie ve Valentie (57)'nin bildirdiği yöntem esas alınmıştır. Metodun prensibi, indirgenmiş glutasyonun oksidasyonu esasına dayanır. Bu reaksiyona NADPH ve glutasyon redüktaz aracılık eder.

Analizde kör ve numune tüplerine sırasıyla 1 ml fosfat tampon (pH 7,0 ve 100 mmol/L), 0,1 ml EDTA (10 mmol/L), 0,1 ml NaN₃ (20 mmol/L), 0,1 ml NADPH+H⁺ (3 mmol/L), 0,1 ml redükte glutasyon (20 mmol/L) ve 0,2 ml aktivitesi ayarlanmış glutasyon redüktaz (2 U/numune) ilave edilmiştir. Numune tüplerine 0,05 ml hemolizat veya süpernatant, kör tüpüne 0,05 ml fosfat tampon eklenmiştir. Tüpler 2-3 dakika 37°C'de bekletilmiş ve üzerine yoğunluğu ayarlanmış 0,2 ml t-BOOH çözeltisi ilave edilerek 1

dakika süredeki 366 nm'deki absorbans düşüşü gözlenmiştir. Sonuçlar $\mu\text{mol NADPH}^+/\text{gHb}$ ve $\mu\text{mol NADPH}^+/\text{g-protein}$ cinsinden değerlendirilmiştir.

3.2.6.7. Plazma ve Doku NO Düzeyinin Ölçümü

Yöntemin esası Griess reaksiyonuna dayanmaktadır. Analizler Tracey ve ark (58)'nın bildirdiği yonteme göre gerçekleştirilmiştir. Bunun için, ependorf tüpleri içine sırasıyla 25 μl plazma veya doku süpernatantı, 8 μl NADPH (200 mikromol/L), 1 μl FAD (10 mikromol/L), 126 μl 20 mMol'lük fosfat tampon (pH 7,4), 40 μl nitrat redüktaz (U/ml) konulmuş ve vortekslenmiştir. Tüpler 37 °C'de 20 dakika bekletilmiştir ve üzerine 10 μl çinko sülfat çözeltisi (300 mg/L) konulmuştur. Ardından soğutmalı santrifüjde (+4 °C) 10000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlardan 50 μl ELISA mikropleytlerine alınmıştır ve üzerine 50 mikrolitre Griess Reaktifi [NEDD (1 mg/ml) ve sülfanilamid (20 mg/10 ml fosforik asit çözeltileri) 1:1] ilave edilmiştir. Mikropleyt karanlıkta oda ısısında 10 dakika bekletilmiştir ve ELISA okuyucuda 540 nm'de köre karşı okunmuştur. Sonuçlar, hazırlanan kalibrasyona göre $\mu\text{mol}/\text{mg-protein}$ ve $\mu\text{mol}/\text{mgHb}$ cinsinden hesaplanmıştır.

3.3. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR

İstatistiksel hesaplamalarda SPSS 13,0 istatistik programı kullanılmıştır. Çalışmada veriler aritmetik ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans (ANOVA) analiziyle yapılmıştır. Farklılık gösteren gruplar ise DUNCAN testi ile tespit edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. KETEN TOHUMU YAĞI

Kontrol grubuna göre, SOD aktivitesinde, akciğer, böbrek, kalp, dalak, testis ve eritrositte önemli bir artış; CAT aktivitesinde, beyin, dalak ve testiste önemli bir düşüş, eritrosit ve karaciğerde önemli bir artış tespit edilmiştir. Diğer taraftan bütün dokular ve eritrosit/plazma MDA, NO ve GSH-Px değerlerinde; karaciğer ve beyin SOD aktivitesinde; akciğer, böbrek ve kalp CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli bir değişim söz konusu olmamıştır.

4.2. KADMİYUM

Kontrol grubuna göre, MDA düzeyinde karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, dalak ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir artış gözlenmiş; SOD aktivitesinde akciğer, böbrek, kalp, dalak ve testiste önemli bir artış, beyin, karaciğer ve eritrositte önemli bir düşüş söz konusu olmuştur. CAT aktivitesinde yine kontrol grubuna göre karaciğer, beyin, dalak ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir düşüş kalpte ise önemli bir artış bulunmuştur. GSH-Px aktivitesinde, karaciğer ve böbrek dokusu ile eritrositte önemli bir düşüş, akciğer, kalp ve dalakta önemli bir artış mevcuttur. Son olarak, NO düzeyinde, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, kalp, dalak ve testis ile plazmada önemli bir artış gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre CAT aktivitesinde akciğer ve böbrek; GSH-Px aktivitesinde beyin ve testis dokusunda; MDA düzeyinde kalp dokusunda önemli bir değişim yoktur.

4.3. KADMIYUM VE KETEN TOHUMU YAĞI

Kontrol grubuna göre, MDA düzeyinde, akciğer, beyin ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir artış tespit edilmiştir. SOD aktivitesinde ise akciğer, böbrek, kalp, dalak ve testis dokusunda önemli bir artış, eritrositte ise önemli bir düşüş vardır. CAT aktivitesinde, karaciğer ve beyinde önemli bir düşüş, akciğerde önemli bir artış bulunmuştur. GSH-Px aktivitesi yönünden beyinde önemli bir artış gözlenirken eritrositte önemli bir düşüş vardır. Son olarak, NO düzeyindeki değişimler karaciğer, beyin ve kalp dokusunda önemli bulunmuştur.

Değerlendirme yalnızca kadmiyum verilen gruba göre yapıldığında, MDA düzeyindeki değişimler karaciğer, böbrek, beyin, dalak ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir düşüş şeklinde gerçekleşmiştir. SOD aktivitesinde, karaciğer ve beyin dokusu ile eritrositte önemli bir artış, akciğer, böbrek ve kalp dokusunda önemli bir düşüş tespit edilmiştir. CAT aktivitesinde akciğer, beyin, dalak, testis, dokusu ile eritrositte artış, kalp dokusunda düşüş söz konusu olmuştur. GSH-Px aktivitesi açısından, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir artış bulunmuştur. Akciğer, kalp ve dalak dokusunda ise önemli bir düşüş mevcuttur. NO düzeyinde karaciğer, böbrek, beyin, kalp, dalak ve testis dokusu ile plazmada önemli bir düşüş tespit edilmiştir.

Kontrol grubuna göre MDA düzeyi için karaciğer, böbrek, kalp ve dalak; SOD aktivitesi için karaciğer ve beyin; CAT aktivitesi için böbrek, kalp, dalak ve testis dokusu ile eritrositte; GSH-Px aktivitesi için karaciğer, akciğer, böbrek, kalp, dalak ve testis dokusu; NO düzeyi için akciğer, böbrek, dalak ve testis dokusu ile plazmada önemli bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.1. Kontrol ve deneme grubu karaciğer dokusu oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mg-protein)	2,48±0,50a	2,41±0,46a	4,25±0,92b	3,03±0,91a
SOD (U/mg-protein)	2,99±1,18ab	2,32±0,61b	1,38±0,53c	3,55±1,23a
CAT (k/g-protein)	1511,77±329,88a	2133,56±815,45b	425,97±128,08c	684,38±153,24c
GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}^+/\text{g-protein}$)	71,73±31,68a	83,82±21,27a	49,73±19,98b	76,94±14,16a
NO ($\mu\text{mol/mg-protein}$)	0,47±0,12a	0,47±0,09a	0,71±0,15c	0,58±0,05b

a,b,c. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.2. Kontrol ve deneme grubu akciğer dokusu oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mg-protein)	3,15±0,70a	3,61±1,14a	6,23±1,65b	5,56±1,21b
SOD (U/mg-protein)	5,29±2,88a	8,54±1,48b	17,42±4,92c	13,03±3,62d
CAT (k/g-protein)	71,30±13,00a	66,04±12,96a	54,09±18,60a	93,27±30,91b
GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}^+/\text{g-protein}$)	79,03±20,72a	62,14±27,34a	109,54±23,91b	82,43±31,96a
NO ($\mu\text{mol/mg-protein}$)	0,54±0,07a	0,56±0,14a	0,82±0,44b	0,70±0,15ab

a,b,c,d. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.3. Kontrol ve deneme grubu böbrek dokusu oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mg-protein)	3,13±0,54ab	2,28±0,41a	4,80±1,45c	3,92±1,31b
SOD (U/mg-protein)	2,81±0,48a	4,72±1,15b	7,03±2,21c	4,87±0,88b
CAT (k/g-protein)	234,10±76,46	269,87±142,67	173,21±34,74	194,28±70,68
GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}^+/\text{g-protein}$)	98,88±36,48a	88,76±16,59a	55,55±11,32b	89,17±12,01a
NO ($\mu\text{mol/mg-protein}$)	0,28±0,04a	0,26±0,04a	0,38±0,10b	0,23±0,09a

a,b,c. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.4. Kontrol ve deneme grubu beyin dokusu oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mg-protein)	2,96±0,53a	3,70±1,60a	12,95±2,44c	8,19±1,48b
SOD (U/mg-protein)	10,70±1,64a	9,24±4,30a	6,15±1,66b	11,00±1,16a
CAT (k/g-protein)	102,91±39,40a	14,87±5,87b	18,34±8,64b	51,82±21,05c
GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}^+/\text{g-protein}$)	35,82±13,84a	31,23±12,78a	25,98±8,11a	70,01±17,18b
NO ($\mu\text{mol/mg-protein}$)	0,07±0,02a	0,08±0,02a	0,24±0,06b	0,16±0,04c

a,b,c. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.5. Kontrol ve deneme grubu kalp dokusu oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mg-protein)	3,60±1,20	3,81±1,04	6,07±4,89	4,62±1,98
SOD (U/mg-protein)	4,24±1,08a	7,32±2,94b	9,78±1,59c	6,79±1,84b
CAT (k/g-protein)	82,13±38,36a	87,01±25,29a	180,28±56,68b	76,77±15,42a
GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}^+/\text{g-protein}$)	99,06±27,73a	114,52±16,87a	233,49±69,26b	127,12±43,67a
NO ($\mu\text{mol/mg-protein}$)	0,26±0,08a	0,30±0,07ab	0,51±0,12c	0,35±0,09b

a,b,c. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.6. Kontrol ve deneme grubu dalak dokusu oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mg-protein)	3,76±0,87ab	3,43±0,69a	5,45±0,62c	4,22±1,25b
SOD (U/mg-protein)	1,98±0,64a	5,27±0,95b	4,58±0,67b	4,62±1,37b
CAT (k/g-protein)	74,87±19,10a	38,03±9,30b	36,03±12,12b	75,23±19,84a
GSH-Px (µmol NADPH⁺/g-protein)	38,77±18,80a	55,43±24,34a	124,36±34,79b	49,51±10,89a
NO (µmol/mg-protein)	0,52±0,10a	0,61±0,12ab	0,65±0,08b	0,54±0,09a

a,b,c. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Tablo 4.7. Kontrol ve deneme grubu testis dokusu oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mg-protein)	3,61±1,08a	4,48±2,00ab	15,40±2,41c	5,72±0,84b
SOD (U/mg-protein)	2,26±1,58a	5,79±1,49b	6,91±2,13b	5,64±1,68b
CAT (k/g-protein)	71,14±15,27a	48,32±18,85b	29,92±6,80c	63,42±27,39ab
GSH-Px (µmol NADPH⁺/g-protein)	43,71±21,51ab	49,71±21,58ab	35,38±19,74a	57,61±12,96b
NO (µmol/mg-protein)	0,18±0,09a	0,22±0,06a	0,32±0,16b	0,17±0,05a

a,b,c. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Tablo 4.8. Kontrol ve deneme grubu kan oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Keten Tohumu Yağı)	Grup 3 (Kadmiyum)	Grup 4 (Kadmiyum+ Keten Tohumu Yağı)
MDA (nmol/mgHb)	0,31±0,08a	0,34±0,08a	0,51±0,09c	0,44±0,06b
SOD (U/mgHb)	2,03±0,16a	2,32±0,20b	1,47±0,20c	1,78±0,18d
CAT (k/gHb)	63,21±9,19b	74,79±14,38a	41,00±11,26c	62,95±8,34b
GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}^+/\text{gHb}$)	64,48±10,66a	60,97±6,78a	39,97±10,96b	51,98±12,13c
NO ($\mu\text{mol/ml}$)	1,72±0,39a	1,46±0,45a	2,61±0,41b	1,68±0,31a

a,b,c. Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Metallerin karsinojenik ve mutajenik etkilerini açıklamada en önde gelen hipotezlerden biri oksidatif stresdir. Karsinojenik metal iyonları biyolojik sistemde redoks tepkimeleri oluşturma kabiliyetine sahiptir. Böylece memeli hücrelerinde in-vitro ve in-vivo reaktif oksijen ve hidrojen oluşumuna yol açarlar. Haiber-Weiss ve Fenton tipi reaksiyonlar sonucu oluşan hidroksil radikalleri lipid, protein ve DNA'da oksidatif hasara sebep olur. (59). Oksidatif stres hücrel redoks dengesinin pro-oksiant lehine değişimi ve hücrel makromoleküllerin bozulmasıdır. Bu metal iyonlarının tiol gruplarına yüksek oranda bağlanma duyarlılığı olması sebebiyle hücrelerde glutasyon depolarını boşaltır ve bu şekilde oksidatif ortamdaki redoks dengesini bozar. Ek olarak serbest radikal oluşturma mekanizmaları arasında kupfer hücre aktivasyonu ile inflamasyon da yer almaktadır (60, 61). Kadmiyum hücrel düzeyde pek çok organda (karaciğer, böbrek, akciğer, testis, plasenta ve kemik) oksidatif strese sebep olmaktadır. Diğer metallerin aksine kadmiyum süperoksit, hidroksil ve nitrik oksit gibi serbest radikalleri dolaylı yoldan oluşturur. Serbest radikallerin önemli kaynağı olan ve radikal olmayan hidrojen peroksit Fenton reaksiyonu sonucunda şekillenir. Kadmiyum, ferritin gibi sitoplazmik ve membran proteinlerinden demir ve bakırın yer değişimine yol açar; böylece serbest demir ve bakır iyon yoğunluğu artar. Bu serbest iyonlar Fenton reaksiyonları aracılığı ile oksidatif stresin oluşmasına aracı olur. Kadmiyum farklı mekanizmalarla antioksidan enzim aktivitesini değiştirmektedir. Metal SOD'daki imidazol grubuna bağlanarak

hidrojen peroksitin yıkımlanmasını engeller. Antioksidan enzim aktivitesinde iki yönlü değişim yapar. Karaciğer MnSOD aktivitesinde Mn iyonunu enzimden kopararak enzim inhibisyonuna sebep olur. Dolayısıyla da MDA düzeyi normalin üzerine çıkar. Kadmiyum antioksidan enzim aktivitesini doz ve maruziyet süresi ile ilişkili olarak değiştirmektedir (artma/azalma) (4, 60).

Keten tohumu yağı yüksek oranda lignan (en önemlisi sekoizolarisiresinol diglukozid) içerir. Lignanlar antioksidan etkiye sahip lifçe zengin gıdalarda bulunan fenolik bileşiklerdir. Sindirim kanalında enzimatik yıkımlanma ile oluşan metabolitleri (enterodiol ve enterolakton), ana bileşik ile birlikte serbest radikalleri etkisiz kılarak lipid peroksidasyonun önüne geçer. Diğer taraftan benzer şekilde alfa linoleik asitte, vücutta pek çok yararlı etkileri olan eikozapentanoik asit ve dokozaheksanoik asite dönüşür. Keten tohumu yağı antioksidan vitaminler (Vit A ve E) yönünden de oldukça zengindir (42, 46, 62-65).

Lipid peroksidasyon sırasında pek çok ürün şekillenir. Bu ürünlerin biyolojik sistemde tespiti serbest radikallerin oluşturabileceği muhtemel hücrel hasarın boyutu hakkında önemli bilgi verir. MDA ve ikincil olarak NO en fazla kullanılan ve değerlendirilen değişkenler arasındadır. Oksidatif stresin ve dolaylı olarak da lipid peroksidasyonun değerlendirilmesinde kullanılan parametreler arasında, SOD, CAT ve GSH-Px yer almaktadır. Bu üç parametre oksidatif stresin önüne geçilmesinde diğer antioksidan enzimlere göre daha fazla rol alır (25-30, 66-70).

Çalışmada lipid peroksidasyonun değerlendirilmesinde MDA yanında NO düzeyleri ile eritrosit CAT, SOD ve GSH-Px aktiviteleri de ölçülmüş; lipid peroksidasyon olgusu tüm bu parametrelerin ışığında değerlendirilmiştir.

5.1. KETEN TOHUMU YAĞI

Çalışmada, keten tohumu yağı uygulanan grupların doku ve kan MDA düzeyi ile NO düzeyinde önemli bir değişim gözlenmezken, kontrol grubuna göre, SOD aktivitesinde, akciğer, böbrek, kalp, dalak, testis ve eritrositte ve karaciğerde önemli bir artış; CAT aktivitesinde, beyin, dalak ve testiste önemli bir düşüş, eritrosit ve karaciğerde önemli bir artış tespit edilmiştir. MDA ve NO düzeyinde önemli bir değişim gözlenmemesi belirtilen süre ve dozda uygulanan keten tohumu yağının antioksidan savunma sistemi üzerinde olumsuz bir etki oluşturmadığını ortaya koymaktadır. Aksine, MDA ile NO düzeyinde olumsuz bir değişim söz konusu değilken antioksidan enzimlerden SOD ve

CAT aktivitesindeki artış, enzimlerin serbest radikalleri detoksifikasyon potansiyelini artırdığını düşündürmektedir. Bu bileşiğin antioksidan etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda etki mekanizması ortaya konulmuş içerdiği bazı bileşiklerin antioksidan etkide hayati öneme sahip olduğu anlaşılmıştır (42, 46, 62-65). Keten tohumu yağı fenolik bileşikler yönünden oldukça zengindir. Flavinoid, kateşin, kuarsetin ve diğer bileşikleri yüksek düzeyde içermektedir. Zira alfa-linoleik asit ve major lignan sekoizolarisiresinol diglukozid bunlar arasında yer alır. Yapısında, omega 3 ve omega 6 yağ asitleri de bulunmaktadır. Sekoizolarisiresinol diglukozid dışında diğer lignanlardan biyolojik olarak aktif matairesinol ve pinoresinolü de içermektedir. Sekoizolarisiresinol diglukozid ve diğer lignanların radikal bağlayıcı etkinlikleri yüksektir. Ayrıca bireysel anlamda da antioksidan enzim aktivitelerini de artırmaktadır. Ayrıca, antioksidan etkiden doğrudan veya dolaylı sorumlu olabilen unsurlardan magnezyum, demir, bakır, çinko ve çeşitli vitaminler ile protein ve amino asitleri içerir; karoten, Vit B₁, Vit B₂, Vit C, Vit E, lesitin ve fosfolipidlere sahiptir. Esansiyel yağ asitleri yönünden de zengindir (42-48, 62-65). Bu özelliklerin tümü hem serbest radikal oluşumunu hem de oluşan serbest radikallerin enzimatik veya enzimatik olmayan mekanizmalar ile etkisiz kılınmasına katkı sağlar.

5.2. KADMIYUM

Belirtilen süre ve dozda içme suyu ile verilen arseniğin hayvanlarda oksidatif strese sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, özellikle NO ve MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli artışların gözlenmesi ile anlaşılmıştır. Zira MDA düzeyinde kontrol grubuna göre, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, dalak, testis ve eritrositte önemli bir artış vardır. NO düzeyinde de karaciğer, böbrek, kalp, dalak ve testiste önemli bir artış söz konusudur. Bu durum kadmiyumun dolaylı yolla yukarıda ayrıntısı ile değinildiği gibi serbest radikallerde artışa sebep olduğu; serbest radikallerin de hücre membranını peroksidasyona uğrattığı göstermektedir. Antioksidan enzimlerde iki yönlü önemli değişimlerin gözlenmesi hücre savunma sisteminin muhtemel oluşan serbest radikalleri ortadan kaldırması ve daha az zararlı bileşiklere dönüştürülmesine ilişkin biyolojik tepki olarak değerlendirilebilir. Aynı zamanda kadmiyum doğrudan antioksidan enzim aktivitelerinde değişime sebep olmaktadır (4, 60). Zira değişimler SOD aktivitesinde akciğer, böbrek, kalp, dalak ve testis dokusunda önemli bir artış, karaciğer, beyin ve eritrositte önemli bir düşüş; CAT aktivitesinde karaciğer, beyin,

dalak ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir düşüş, kalp dokusunda önemli bir artış; GSH-Px aktivitesinde, karaciğer ve böbrek dokusu ile eritrositte önemli bir düşüş, akciğer, kalp ve dalak dokusunda önemli bir artış şeklinde seyretmiştir.

Konuyla ilgili yapılan çalışmalardan, Chater ve ark (71), dişi ratlara 13 gün boyunca 3 mg/kg dozunda kadmiyum vermiş ve karaciğer ile böbrek dokusu antioksidan parametreleri incelemiştir. Buna göre, MDA düzeyinde artış diğer taraftan GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerinde düşüş söz konusu olmuştur. Kumar ve ark (72)'nin ratlara 0,4 mg/kg dozunda 30 gün boyunca verdikleri kadmiyum beyin dokusu MDA düzeyinde önemli bir artışa yol açmıştır. Shukla ve ark (73), 10 ppm dozunda 90 gün süreyle kadmiyum verdikleri ratların SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde önemli oranda artış bulmuşlardır. Sarkar ve ark (74), ratlara 0,4 mg/kg tek doz kadmiyum enjeksiyonundan sonra 9 saat içinde kalp, böbrek ve karaciğerde SOD aktivitesinde önemli bir artış, kalpte CAT aktivitesi ile bütün dokulardaki lipid peroksit düzeyinde önemli bir artış tespit etmişlerdir. Koyu ve ark (75), ratlara 15 ppm dozunda 30 gün süreyle verdikleri kadmiyumun karaciğer dokusu üzerine etkilerini incelemişler doku MDA düzeyinde yükselme, SOD ve CAT aktivitesinde düşüş bulmuşlardır. Elde edilen sonuçlardan, farklı dozlarda farklı dönemlerde uygulanan kadmiyum ratlarda oksidatif stres parametrelerinde olumsuz değişikliklere sebep olduğu anlaşılmıştır. Bu değişimler mevcut çalışma için de söz konusudur. Bu sebeple daha önce yapılan çalışmalar ile bu çalışma arasında benzerlik mevcuttur.

5.3. KADMIYUM VE KETEN TOHUMU YAĞI

Kadmiyum ile keten tohumu yağının beraber verildiği grupta oksidatif stres belirteçlerinin pozitif yönde değişim gösterdiği yani değerlerin kontrol grubu değerlerine doğru yaklaştığı tespit edilmiştir. Bireysel değerlendirme yapıldığında, kontrol grubuna göre, MDA düzeyinde, akciğer, beyin ve testis ile eritrositte önemli bir artış; SOD aktivitesinde, akciğer, böbrek, kalp, dalak ve testis dokusunda önemli bir artış, eritrositte önemli bir düşüş; CAT aktivitesinde karaciğer ve beyin dokusunda önemli bir düşüş, akciğer dokusunda önemli bir artış; GSH-Px aktivitesinde, beyin ve kalp dokusunda önemli bir artış, eritrositte önemli bir düşüş; NO düzeyinde, karaciğer, beyin ve kalp dokusunda önemli bir artış olduğu anlaşılmıştır. Değerlendirme yalnızca kadmiyum verilen gruba göre yapıldığında, MDA düzeyinde karaciğer, böbrek, beyin, dalak ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir düşüş; SOD aktivitesinde, karaciğer ve

beyin ile eritrositte önemli bir artış, akciğer, böbrek ve kalp dokusunda önemli bir artış; GSH-Px aktivitesinde, karaciğer, böbrek, beyin ve testis dokusu ile eritrositte önemli bir artış, akciğer, kalp ve dalak dokusunda önemli bir düşüş; NO düzeyinde, karaciğer dokusunda önemli bir artış, böbrek, beyin, kalp, dalak, testis ve plazmada önemli bir düşüş şeklinde gerçekleşmiştir. Bu durum, doğrudan metalin kullanılan bileşik tarafından bağlanmasının yanı sıra daha kuvvetle muhtemel, arseniğin oluşturduğu serbest radikallerin keten tohumu yağı içinde yer alan lignanlarla etkileşimi sonucu peroksidasyonun geriletilmesi şeklinde açıklanabilir. Böylece kadmiyumun oksidatif stres sonucu şekillenebilecek etkileri hafiflemiştir. Ayrıca keten tohumu yağına bulunan pek çok mineral, amino asit, esansiyel yağlar ve vitamin (42-48, 62-64) de antioksidan enzim etkinliğinde ve stabilitesinde rol almış olabilir. Aynı zamanda bu bileşikler serbest radikal oluşumunu engeleyebileceği gibi muhtemel oluşan serbest radikaller için süpürücü görevi de üstlenebilir.

Konuyla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, Said ve ark (76), ratlara 200 ppm dozunda 5 hafta süreyle içme suyu ile verdikleri kadmiyumun testis dokusu MDA düzeyini artırdığını diğer taraftan, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Aynı zamanda kadmiyumla birlikte detoksifikasyon amaçlı verdikleri selenyum ve çinkonun tek ve birlikte verildikleri gruplarda değerler kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Ognjanovic ve ark (77)'nin ratlara 0,4 mg/kg dozunda tek sefer kadmiyum vermesinin ardından testis dokusu çıkarılmış ve doku MDA düzeyinde artış, CAT, SOD ve GSH-Px aktivitesinde düşüş tespit edilmiştir. Kadmiyum verilmeden önce koenzim Q10 ve vit E verilmesi sonucu değerler kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. El-Sokkary ve ark (78), ratlara 22 gün boyunca periton içi 5 mg/kg dozunda kadmiyum verdiği çalışmasında karaciğer MDA düzeyinde artış SOD aktivitesinde düşüş gözlemişlerdir. Koruyucu olarak melatonin verilen hayvanlarda değerlerde iyileşme tespit etmişlerdir. Messaoudi ve ark (79), ratlara 35 gün süreyle 200 ppm kadmiyum vermişler ve eritrosit ile böbrek MDA düzeyi ile SOD aktivitesinde artış diğer taraftan CAT ve GSH-Px aktivitesinde düşüş gözlemişlerdir. Aynı zamanda kadmiyumun yanı sıra selenyum ve çinkonun tek başına ve birlikte verildiği gruplarda değerler kontrol grubu değerlerine doğru yaklaşmıştır. Jihen ve ark (80), ratlara 35 gün boyunca 200 ppm dozunda kadmiyum vermiş karaciğer MDA düzeyinde artış, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde düşüş gözlemişken, kadmiyumun yanı sıra selenyum ve çinkonun tek başına ve birlikte verildiği gruplarda değerler kontrol grubu değerlerine

doğru yaklaşmıştır. Wang ve ark (81), ratlara 50 ppm dozunda verdikleri kadmiyumun böbrek dokusu MDA düzeyinde artışa antioksidan enzimlerde önemli değişimlere sebep olduğu N-asetil sistein'nin ise bu parametrelerde tam iyileşme sağlamasa da oksidatif stresin şiddetini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Daha önce kadmiyum verilip zehirlenme oluşturulup eş zamanlı sağaltım denemelerinin yapıldığı ve oksidatif stres parametrelerinin değerlendirildiği çalışmalar ile mevcut çalışma karşılaştırıldığında sonuçların benzerlik gösterdiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak belirtilen süre ve dozda verilen kadmiyum, ratların antoksidan savunma sisteminde bozukluğa neden olmuştur. Diğer taraftan, tek başına verilen keten tohumu yağı hayvanlarda olumsuz bir etkiye sebep olmamıştır. Aslında bazı doku ve eritrosit antioksidan enzim aktiviterinde artışa yol aması ise bu bileşiğin antioksidan savunma sisteminde destekleyici rol oynadığını akla getirmektedir. Kadmiyumla birlikte keten tohumu yağı verilen gruplarda ise oksidatif stresin şiddetinin azaldığı, dolayısıyla kadmiyumun oluşturabileceği muhtemel olumsuz etkilerin hafiflediği gözlenmiştir. Bu durum lipid peroksidasyon belirteçlerinden olan MDA ve NO düzeyindeki düşüş ile antioksidan enzimlerin kontrol grubu değerlerine doğru yaklaşmasıyla da anlaşılmaktadır. Böylelikle çalışılan bileşiğin kadmiyum zehirlenmelerinde birincil sağaltım seçeneklerinin yanında destekleyici olarak kullanılabilenleceği; zehirlenme riski bulunması durumunda ise koruyucu amaçla doğrudan veya gıda katkı maddesi olarak tercih edilebileceği kanaatine varılmıştır. Fakat kullanılması düşünüldüğünde keten tohumu yağının muhtemel olumsuz etkilerinin de olabileceği değerlendirilmeli, bu bağlamda doz ve kullanım süresine dikkat edilmelidir.

6. KAYNAKLAR

1. Kaya S, Akar F. Metaller ve Diğer İnorganik ve Radyoetkin Maddeler. İçinde: Kaya S, Pirini İ, Bilgili A (Ed), Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, Medisan Yayınları, 2002; ss 207-250.
2. Järup L. Hazards of heavy metal contamination. Br Med Bull 2003; 68: 167-182.
3. Zalups RK, Ahmad S. Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. Toxicol Appl Pharm 2003; 186: 163-188.
4. Flora SJS, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. Indian J Med Res 2008; 128: 501-523.
5. Goyer RA. Nutrition and metal toxicity. Am J Clin Nutr 1995; 61: 646-650.
6. He L, Wang B, Hay E, Nebert DW. Discovery of ZIP transporters that participate in cadmium damage to testis and kidney. Toxicol Appl Pharm 2009; 238: 250-257.
7. Neathery MW, Miller WJ. Metabolism and toxicity of cadmium, mercury, and lead in animals: a review. J Dairy Sci 1975; 58: 1767-1781.
8. Abad AK, Khara J. Effect of cadmium toxicity on the level of lipid peroxidation and antioxidative enzymes activity in wheat plants colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. Pak J Biol Sci 2007; 10: 2413-2417.
9. Cannino G, Ferruggia E, Luparello C, Rinaldi AM. Cadmium and mitochondria. Mitochondrion 2009; 6: 377-384.

10. Godt J, Scheidig F, Grosse-Siestrup C, Esche V, Brandenburg P, Reich A, Groneberg DA. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *J Occup Med Toxicol* 2006; 1: 22.
11. Prozialeck WC, Edwards JR. Early biomarkers of cadmium exposure and nephrotoxicity. *Biometals* 2010, DOI 10.1007/s10534-010-9288-2.
12. Fox MRS. Effect of essential minerals on cadmium toxicity. *J Food Sci* 1974; 39: 321-324.
13. Hayes RB. The carcinogenicity of metals in humans. *Cancer Causes Control* 1997; 8: 371-385.
14. Siu ER, Mruk DD, Porto CS, Cheng CY. Cadmium-induced testicular injury. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 240-249.
15. Järup L. Cadmium overload and toxicity. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 35-9.
16. Bernard A. Cadmium & its adverse effects on human health. *Indian J Med Res* 2008; 128: 557-564.
17. Lafuente A, Cabaleiro T, Caride A. Melatonin and cadmium toxicity. *EJE AFC* 2008; 7: 3363-3371.
18. Satarug S, Garrett SH, Sens MA, Sens DA. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. *Environ Health Persp* 2010; 118: 182-190.
19. Lauwerys RR, Bernard AM, Roels HA, Buchet JP. Cadmium: exposure markers as predictors of nephrotoxic effects. *Clin Chem* 1994; 40: 1391-1394.
20. Fowler BA. Monitoring of human populations for early markers of cadmium toxicity: a review. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 294-300.
21. Wright RO, Baccarelli A. Metals and neurotoxicology. *J Nutr* 2007; 137: 2809-2813.
22. Friberg L. Cadmium and the kidney. *Environ Health Perspect* 1984; 54: 1-11.
23. Wang G, Fowler BA. Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 233: 92-99.
24. Opara EC. Oxidative stress. *Dis Mon* 2006; 52: 183-198.
25. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 1147-1150.
26. Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, et al. Antioxidant measurements. *Physiol Meas* 2007; 28: 41-55.
27. Buonocore G, Groenendaal F. Anti-oxidant strategies. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007; 12: 287-295.

28. Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* 2005; 135: 969-972.
29. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306: 1-17.
30. Zadák Z, Hyspler R, Tichá A, Hronek M, Fikrová P, Rathouská J, Hrnčiariková D, Stetina R. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res* 2009; 58: 13-17.
31. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg* 2004; 15: 91-96.
32. Tamer L, Polat G, Eskandari G, Ercan B, Atik U. Serbest Radikaller. *Mersin Üniv Tıp Fak Derg* 2000; 1: 52-58.
33. Ward RJ, Peters TJ. Free radicals. In: Marshall WJ, Bangert SK (Eds) *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. Churchill Livingstone, New York 1995; pp 765-777.
34. Kaya S, Ünsal A. Zehirlerin etki şekilleri ve koruyucu mekanizmalar. İçinde: *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A (Ed), Medisan Yayınevi, 2. Baskı, Ankara, ss 149-179.
35. Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr* 2001; 85: 67-74.
36. Niki E. Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 469-84.
37. Chaudière J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms *Food Chem Toxicol*. 1999; 37: 949-962.
38. Ogino K, Wang DH. Biomarkers of oxidative/nitrosative stress: an approach to disease prevention. *Acta Med Okayama* 2007; 61: 181-189.
39. Halliwell B, Gutteridge JMC. Ageing, nutrition, disease and therapy: a role for antioxidants? In: *Free radicals in biology and medicine*. 3rd edition, Oxford University Press, 2000 pp 784-859.
40. Berti M, Fischer S, Wilckens R, Buchet JP. Flaxseed response to N, P, and K fertilization in South Central Chile. *Chilean J Agric Res* 2009; 69: 145-153.
41. Orhan İ. Keten. İçinde: *Tedavide Kullanılan Bitkiler*. Demirezer Ö (Ed), Özyurt Matbaacılık, Ankara, 2007, pp 147-158.
42. Shakir KAF, Madhusudhan B. Effects of Flaxseed (*Linum usitatissimum*) chutney on gamma-glutamyl transpeptidase and micronuclei profile in azoxymethane treated rats. *IJCB* 2007; 22: 129-131.

43. Williams DS, Verghese M, Walker LT, Boateng J, Shackelford LA, Guyton M. Chemopreventive effects of flax seed oil and flax seed meal on azoxymethane-induced colon tumors in fisher 344 male rats. *Int J Canc Res* 2008; 4: 28-40.
44. Hartman J, Maryland B. What about Flaxseed. *Post-Polio Health* 2005; 21, 8-9.
45. Tou JC, Thompson LU. Exposure to flaxseed or its lignan component during different developmental stages influences rat mammary gland structures. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1831-5.
46. Hu C, Yuan YV, Kitts DD. Antioxidant activities of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside, its aglycone secoisolariciresinol and the mammalian lignans enterodiol and enterolactone in vitro. *Food Chem Tox* 2007; 45: 2219-2227.
47. Rajesha J, Murthy KN, Kumar MK, Madhusudhan B, Ravishankar GA. Antioxidant potentials of flaxseed by in vivo model. *J Agric Food Chem* 2006; 31: 3794-3799.
48. Vijaimohan K, Jainu M, Sabitha KE, Subramaniyam S, Anandhan C, Shyamala Devi CS. Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sci* 2006; 79: 448-54.
49. Witterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 1975; 55: 337-341.
50. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135: 372-376.
51. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbutiric acid. *J Lipid Res* 1978; 19: 1053-1057.
52. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of haematology. In: Tietz, N.W. (Eds), *Fundamentals of Clinical Chemistry*. WB Saunders, Philadelphia 1987; pp 803-806.
53. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
54. Miller GL. Protein determination for large numbers of samples. *Anal Chem* 1959; 31: 964.
55. Luck H. Catalase. In: Bergmeyer H (Ed). *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, 1965; pp 885-894.
56. Sun Y, Oberley LW, Li Y. Simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.

57. Paglie DE, Valentie WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Med* 1967; 70: 158-169.
58. Tracey WR, Tse J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272: 1011-1015.
59. Beyersmann D, Hartwig A. Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch Toxicol* 2008; 82: 493-512.
60. Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozefczak M, Keunen E, Gielen H, Opdenakker K, Nair AR, Munters E, Artois TJ, Nawrot T, Vangronsveld J, Smeets K. Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals* 2010 DOI: 10.1007/s10534-010-9329-x.
61. Liu J, Qu W, Kadiiska MB. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 209-14.
62. Medina LSA. Phenolic compounds: Their role during olive oil extraction and in flaxseed-transfer and antioxidant function. PhD Thesis, University of Lleida, 2010.
63. Thompson LU, Rickard SE, Orcheson LJ, Seidl MM. Flaxseed and its lignan and oil components reduce mammary tumor growth at a late stage of carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 1996; 17: 1373-6.
64. Adkins Y, Kelley DS. Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega 3 polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem* 2010; 21: 781-92.
65. El-Beltagi HS, Salama ZA, El-Hariri DM. Evaluation of fatty acids profile and the content of some secondary metabolites in seeds of different flax cultivars (*Linum usitatissimum L.*). *Gen Appl Plant Physiol* 2007; 33: 187-202
66. Şimşek F. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve lipid peroksidasyonu. *J Pediatr* 1999; 8: 42-47.
67. Çelikezen FÇ, Ertekin A. Ratlarda akciğer fibrozisinde lipid peroksidasyonu (MDA), antioksidan madde (glutatyon, seruloplazmin) ve bazı antioksidan vitamin (b-karoten, retinol) düzeylerinin incelenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg* 2008; 2: 17-20.
68. Guéraud F, Atalay M, Bresgen N, Cipak A, Eckl PM, Huc L, Jouanin I, Siems W, Uchida K. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radic Res* 2010; 44: 1098-124.
69. Yarsan E. Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. *YYÜ Vet Fak Derg* 1998; 9: 89-95.

70. Vladimirov YA, Proskurnina EV. Free radicals and cell chemiluminescence. *Biochemistry (Moscow)*. 2009; 74: 1545-1566.
71. Chater S, Douki T, Garrel C, Favier A, Sakly M, Abdelmelek H. Cadmium-induced oxidative stress and DNA damage in kidney of pregnant female rats. *C R Biol* 2008; 331: 426-32.
72. Kumar R, Agarwal AK, Seth PK. Oxidative stress-mediated neurotoxicity of cadmium. *Toxicol Lett* 1996; 89: 65-69.
73. Shukla A, Shukla GS, Srimal RC. Cadmium-induced alterations in blood-brain barrier permeability and its possible correlation with decreased microvessel antioxidant potential in rat. *Hum Exp Toxicol* 1996; 15: 400-5.
74. Sarkar S, Yadav P, Trivedi R, Bansal AK, Bhatnagar D. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues. *J Trace Elem Med Biol* 1995; 9: 144-149.
75. Koyu A, Gokcimen A, Ozguner F, Bayram DS, Kocak A. Evaluation of the effects of cadmium on rat liver. *Mol Cell Biochem* 2006; 284: 81-85.
76. Saïd L, Bani M, Kekreni A, Saïd K, Messaoudi I. Influence of combined treatment with zinc and selenium on cadmium induced testicular pathophysiology in rat. *Food Chem Tox* 2010; 48: 2759-65.
77. Ognjanović BI, Marković SD, Ethordević NZ, Trbojević IS, Stajn AS, Saicić ZS. Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidant defense system in the rat testes: protective role of coenzyme Q(10) and vitamin E. *Reprod Toxicol* 2010; 29: 191-197.
78. El-Sokkary GH, Nafady AA, Shabash EH. Melatonin administration ameliorates cadmium-induced oxidative stress and morphological changes in the liver of rat. *Ecotoxicol Environ Safe* 2010; 73: 456-63.
79. Messaoudi I, Banni M, Saïd L, Saïd K, Kerkeni A. Involvement of selenoprotein P and GPx4 gene expression in cadmium-induced testicular pathophysiology in rat. *Chem Biol Interact* 2010; 188: 94-101.
80. Jihen H, Imed M, Fatima H, Abdelhamid K. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver of the rat: effects on the oxidative stress. *Ecotoxicol Environ Safe* 2009; 72: 1559-1564.

81. Wang L, Chen D, Cao J, Liu Z. Protective effect of N-acetylcysteine on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in immature female rats. *Hum Exp Toxicol* 2009; 28: 221-229.

ÖZGEÇMİŞ

01.03.1977 de Niğde ili Bor ilçesi Obruk köyünde doğdu. İlkokulu Obruk Köyü ilkokulunda, ortaokul ve lise eğitimini Aksaray'da tamamladı. 1998 yılında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı ve 2003 yılında mezun oldu. 2006 yılında Bingöl İl Tarım Müdürlüğünde göreve başladı. 2008 yılında tayin ile Konya İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde göreve başladı, halen aynı kurumda görevime devam etmektedir.

Konya İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü/KONYA

e-mail: karacabey68@hotmail.com