

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FAREDE (*Mus musculus*) KURŞUN TOKSİSİTESİNE KARŞI KAFEİK
ASİT FENETİL ESTERİN (CAPE) KORUYUCU ETKİSİNİN
HİSTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Neslihan MUTLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN

HAZİRAN – 2009
KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FAREDE (*Mus musculus*) KURŞUN TOKSİSİTESİNE KARŞI KAFEİK
ASİT FENETİL ESTERİN (CAPE) KORUYUCU ETKİSİNİN
HİSTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Neslihan MUTLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN

HAZİRAN - 2009
KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Neslihan MUTLU' nun Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN'ın danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Farede (*Mus musculus*) Kurşun Toksisitesine Karşı Kafeik Asit Fenetil Esterin (CAPE) Koruyucu Etkisinin Histopatolojik Olarak Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek ile kabul edilmiştir.

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

	Adı Soyadı	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Hacali NECEFOĞLU
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Muhitdin YILMAZ

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../2009 gün ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Abdullah DOĞAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince ve tez çalışmamda bana her türlü desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN'a, çalışmalarımın gerçekleştirilmesi için gerekli malzemelerin temin edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'e, laboratuvar çalışmalarında bana yol gösteren Evren KOÇ'a, bu vesileyle sevgisiyle ve desteğiyle hep yanımda olan hayat arkadaşım Levent MUTLU'ya ve her zaman desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Kars – 2009

Neslihan MUTLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ağır metaller	4
2.2. Kurşunla ilgili genel bilgiler	5
2.3. Kurşuna Maruz Kalma Yolları	6
2.3.1. İnhalasyon Yoluyla	6
2.3.2. Yutularak Maruziyet	8
2.3.3. Çeşitli Yollarla Maruziyet	10
2.4. Kurşunun Metabolizması	10
2.5. Kurşunun Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri	12
2.6. Kafeik Asit Fenetil Esterin Yapısı ve Özellikleri	15
2.7. CAPE'nin Antioksidan Etkisi	16
3. MATERYAL VE METOD	17
3.1. Deney Düzeneği	17
3.2. Histopatolojik İncelemeler	17

4. BULGULAR	18
4.1. Makroskopik Bulgular	18
4.2. Mikroskopik Bulgular	19
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	22
6. KAYNAKLAR	25
7. ÖZGEÇMİŞ	35

ÖZET

Bu çalışmada, *Mus musculus* bireyleri üzerine karşı kurşunun toksik etkisine karşı CAPE' nin koruyucu etkisi histopatolojik yöntemlerle araştırıldı.

Çalışmamızda rastgele seçilen 25 fare alınarak her grupta 5 fare olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. İntraperitoneal yolla 5 gün boyunca birinci gruba serum fizyolojik, ikinci gruba %1 etanol, üçüncü gruba CAPE, dördüncü gruba kurşun, beşinci gruba CAPE uygulaması 3 gün önce başlayacak şekilde CAPE+Kurşun enjekte edildi. Son enjeksiyondan 24 saat sonra hayvanların yaşamına son verilerek karaciğer dokuları alınıp %10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlanarak 3-5µ kalınlığında kesitler alınıp hematoksilin-eozin boyama metoduna göre boyandı. Bu kesitler ışık mikroskobu (Olympus BX51) ile histopatolojik olarak incelendi.

Işık mikroskop incelemesinde %1 Etanol ve CAPE uygulanan grupların karaciğer dokuları kontrol grubuyla benzer görünümdeydi. Kurşun uygulanan grupta orta derecede dejenerasyon ve nekrozlar tespit edildi. Kurşunla birlikte CAPE uygulanan grupta ise bu nekroz ve dejenerasyonların şiddeti daha az gözlemlendi.

Bu bulgular CAPE' nin kurşun toksisitesine karşı koruyucu etkisi olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Kurşun, CAPE, histopatoloji, karaciğer.

ABSTRACT

In this study, CAPE's protective effect against the toxic of lead on *Mus musculus* individuals investigated by histopathological methods.

In our study, 25 mice selected randomly and divided into 5 groups including 5 mice. During five days, serum physiologic to the 1st group, 1% ethanol to the 2nd group, CAPE to the 3th group, lead to the 4th group and CAPE treated with lead which was to be started 3 days before, to the 5th group were injected. After 24 hours since the last injection, animals tissues of liver were taken and fixed in the 10% formaldehyde. Parafin blocks were prepared by histological methods and in the tickness of 3-5 μ sections were taken and stained with hematoxylin and eosin. These sections investigated under a light microscope (Olympus BX51).

In the investigation of light microscope, livers of animals which were treated with 1% ethanol and CAPE were similar to control group. In the group which was treated with lead some degenerations and necrosis were observed. In the group which was treated with CAPE and lead, levels of necrosis and degenerations was observed in less degree.

These findings make one think that CAPE has protective effect against the lead toxicity.

Key words: Lead, CAPE, histopathology, liver.

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. Kurşuna ait temel bilgiler	5
Çizelge 2.2. Çocuklarda ve Erişkinlerde Kurşunun Sağlığa Bazı Etkileri ile Etkinin Görülmeye Başladığı En Düşük Kan Kurşun Düzeyleri	13

RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 2.1. Kafeik asit fenetil ester (CAPE)' in kimyasal yapısı	16
Resim 4.1. Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer dokularının makroskopik görünümü	18
Resim 4.2. 8,5 mg/kg dozunda CAPE uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu	20
Resim 4.3. %1'lik Etanol uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu	20
Resim 4.4. 50 mg/kg dozunda kurşun uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu	21
Resim 4.5. 50 mg/kg dozunda kurşunla birlikte 8,5 mg/kg CAPE uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu	21

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GSH	:	Glutasyon
OH⁻	:	Hidroksil Radikali
NO⁻	:	Nitrik Oksit
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
GSH-Px	:	Glutasyon Peroksidaz
MDA	:	Malondialdehit
CAPE	:	Kafeik Asit Fenil Etil Ester
µmol	:	Mikromol
nmol	:	Nanomol
ng	:	Nanogram
µg	:	Mikrogram
Pb	:	Kurşun
L	:	Litre
Cu	:	Bakır
Cr	:	Krom
Fe	:	Demir
Mn	:	Mangan
Mo	:	Molibden
Zn	:	Çinko
Ni	:	Nikel
g	:	Gram
cm³	:	Santimetreküp
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
cm	:	Santimetre
dl	:	Desilitre
IgM	:	İmmunglobulin M
IgG	:	İmmunglobulin G

1. GİRİŞ

Önemli çevre kirleticileri olmaları nedeniyle ağır metal ve metal bileşiklerinin insan ve hayvan sağlığı üzerindeki etkileri son yıllarda giderek daha fazla ilgi çekmektedir [1]. Ağır metaller normal koşullarda yağmur, rüzgar ve erozyon gibi doğal olaylar sonucunda sucul ekosistemlerde ng/L veya µg/L düzeyinde bulunurlar [2]. Günümüzde aşırı nüfus artışı ve endüstrileşmeye bağlı olarak toprak kirlenmesi ve buna bağlı olarak su kaynaklarındaki kirlenme ciddi boyutlara varmıştır [3]. Ağır metallerin neden olduğu çevre kirliliği çoğu canlıda birçok patojenitenin nedenidir[4].

Canlılarda enzimatik aktivite için bazı ağır metallere sadece belli konsantrasyonlarda ihtiyaç vardır ve bu elementler eser elementler ya da iz elementler olarak da adlandırılmaktadırlar. Bu elementler bakır, krom, demir, mangan, molibden, kobalt, çinko ve nikel' dir. Eser elementler, konsantrasyon düzeylerinin arttığı durumlarda toksik etki yapmaktadırlar [5]. Bununla birlikte kadmiyum, krom, civa ve kurşun gibi ağır metaller canlılar için esansiyel olmayıp çok düşük konsantrasyonlarda dahi toksik etkiye neden olmaktadır. Ağır metal stresinin tüm fizyolojik süreçler üzerine doğrudan ve dolaylı etkileri bulunmaktadır [6].

Ağır bir metal olan kurşun canlı organizmalar için oldukça zehirlidir fakat toksisitesinin tam olarak çalışılmadığı bildirilmiştir [7].

Günümüzde kurşunun insan vücudundaki miktarı endüstrileşmeye bağlı olarak artmaktadır [8] ve normal fizyoloji için gerekli olmayan bir maddedir [9]. Kurşun ve bileşikleri modern endüstride önemli role sahiptirler ve en önemli risk grubu mesleki maruziyet altındakilerdir [10].

Kurşun, madencilik endüstrisi, fosil yakıtlarının kullanımı, üretimsel ve kentsel atıkların imha edilmesi uygulamaları [11], boya üretimi, akümülatör imalatı ve yenileştirilmesi, şehir su şebekesi, seramikçilik, kauçuk üretimi, matbaacılık ve pestisitlerde ve benzin katkı maddesi olarak geniş ölçüde kullanılmaktadır [12]. Endüstriyel atıkların sulara kontaminasyonu ile doğaya salınırlar. Kurşun gibi esansiyel olmayan metallerin deniz canlılarında düşük konsantrasyonlardaki sürekli

maruziyeti, biyoakümüilasyon ve sonrasında besin zinciriyle insanlara transferiyle sonuçlanabilir [13]. Kurşun çevreye salındıktan sonra biyolojik olarak aktiftir yani bozunmaya uğramamaktadır ve sürekli olarak var olan miktara eklenerek konsantrasyonu artmaktadır [14].

Birçok ağır metalin toksisitesi, dokularda oksidatif hasara neden olabilmesine bağlıdır. Bu hasar, yükselmiş lipit peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein sülfhidril gruplarının oksidasyonunu kapsar [15]. Kurşunun lipit peroksidasyonunu arttırdığı [16], protein molekülleriyle karşılıklı olarak etkileşerek toksisite gösterdiği kaydedilmiştir. Protein sentez süreci, kurşun iyonları için ilk hedeflerden biridir ve kurşun doza bağlı olarak belli proteinlerin sentezini uyarabilmekte ya da baskılayabilmektedir [17].

Kurşun doza bağlı olarak fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal fonksiyon bozukluklarına neden olabilmektedir [18]. Kurşunun başlıca hedefleri hematopoetik sistem, sinir sistemi ve renal sistemdir. Üreme sistemi ve immün sistemin de metalden hasar gördüğü kaydedilmiştir [19]. Ayrıca solunum ve görmeyle ilgili, hepatik sistem ve üremeyle ilgili istenmeyen etkilere sahip olduğu bilinmektedir [20].

Kafeik asit fenetil ester (CAPE) yapıcı flavonoidlere benzeyen, bal arısı propolisinin aktif bir bileşenidir [21]. Uzak doğu ülkelerinde alternatif tıpta yıllardır kullanılmaktadır [22]. CAPE'nin antioksidan [23], antiinflamatuvar [24], antikanserojen [25], antiviral [26], immünomodülatör [27], hepatotoksisiteye karşı koruyucu [28], nöroprotektif [29] ve antiaterosklerotik [30] özellikleri olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Şimdiye kadar CAPE' nin normal hücreler üzerine hiçbir zararlı etkisi bildirilmemiştir [29].

Kurşuna maruz kalan kişilerde serbest radikaller artarak dokularda hasar oluşmaktadır. Bilinen bir yan etkisi olmayan CAPE' nin ise antioksidan etkisi birçok dokuda gösterilmiştir.

Bu çalışmada farelere kurşun asetat verilerek hepatotoksisite oluşturulması ve CAPE' nin, hepatotoksisitede oluşan hasarı tedavi etmede etkinliğini göstermek için

farelerin karaciğerleri histopatolojik yöntemlerle incelendi. Böylelikle kurşuna maruz kalan kişilerde gelişecek hasarı önlemede CAPE'nin bir tedavi şekli olup olmayacağı hakkındaki soru işaretleri aydınlatılabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağır metaller

Endüstriyel gelişme ve nüfus artışı ile ağır metallerin kullanım alanları artmış, çevreyi ve insan sağlığını tehdit edecek boyutlara ulaşmıştır. Ağır metaller, insan faaliyetleri sonucu veya doğal kaynaklardan çevreye salınırlar [31]. Yapılan araştırmalar, selenyum, demir, mangan, kobalt gibi elementlerin doğal olarak yer kabuğundan sulara karıştığını, magnezyum, potasyum, kalsiyum elementlerinin deniz suyunun doğal bileşenleri olup, hava ortamına denizlerden geçtiğini, buna karşılık çinko, bakır, kadmiyum, civa, antimon, gümüş, arsenik, kurşun, krom ve selenyum gibi kronik ve akut zehirliliği yüksek elementlerin insan faaliyetleri sonucunda oluşup, atmosfere ve alıcı ortamlara ulaştıklarını ortaya koymaktadır [32].

Bir çok ağır metal, d orbitallerinin dolu olması nedeniyle geçiş elementleridir. Bu d orbitalleri ağır metal katyonlarına redoks tepkimelerine girebilen veya giremeyen herhangi bir bileşik ile karmaşık yapı oluşturmasını sağlamaktadır. Bu nedenle ağır metaller iz element olarak birçok biyokimyasal reaksiyonda rol oynamaktadır [33].

Canlıların metabolizması için iz elementlere ihtiyaç vardır. Bu amaçla en fazla gereken iz elementler demir, çinko ve mangandır. Bu elementler bazı iz elementlerde kofaktör olup, metabolizmayı düzenleyici rol oynarlar. Bazı özel durumlarda gereken iz elementler ise bakır, kobalt, molibden, sodyum, klorür, kalsiyum, nikel ve selenyumdur. Bu elementlerden bakır, enzim elektron aktarım zinciri elemanlarında yer alır. Nikel ise metanojenler tarafından kullanılır [34].

2.2. Kurşunla ilgili genel bilgiler

Çizelge 2.1. Kurşuna ait temel bilgiler [35]

Sembol	Pb
Atom numarası	82
Atom ağırlığı	207,2 atomik kütle birimi
Erime noktası	327,5 °C
Kaynama noktası	1740,0°C
Proton ve elektron sayısı	82
Nötron sayısı	125
Sınıflandırma	Ağır metal
Yoğunluk	11,34 g/cm ³
Renk	Mavimsi

Kurşun mavimsi veya gümüş grisi renkte olup periyodik cetvelin IVA grubunda karbon, silisyum, germanyum ve kalayla birlikte yer alır.

Biyosfere insan faaliyetlerine bağlı olarak önemli oranda yayılan kurşun, günümüzden 4000-5000 yıl öncesinde, antik uygarlıklar tarafından gümüş üretimi esnasında yan ürün olarak keşfedilmiş ve tarih boyunca kurşun üretimi ve kullanımı giderek artış göstermiştir. Kurşun insan faaliyetleri ile ekolojik sisteme en önemli zararı veren ilk metal olma özelliğini taşımaktadır. 1920' lerde kurşun bileşikleri benzine ilave edilmeye başlanmıştır ve bu kullanım alanı kurşunun ekolojik sisteme yayılmasında önemli rol oynamıştır. Kurşun 20.y.y.' da yüksek oranlarda paslanmaya karşı oksit boya hammaddesi olarak kullanılmıştır [36].

Kurşun, vücutta hiçbir görevi olmayan toksik bir metaldir. Madenlerin yeryüzüne çıkartılıp kullanılmasıyla biyosfere yayılmış ve endüstrileşmeye paralel olarak insan vücudundaki miktarı anlamlı olarak artmıştır [37]. Yumuşak, tava gelen, şekil verilmeye müsait ve bulunduğu yerden itilip çıkarılabilme özelliklerine sahip olması nedeniyle sanayide geniş bir kullanım alanına sahiptir [38-39]. Kurşunun yaygın

kullanımıyla, bir yandan ekolojik dengenin bozulması, diğer yandan da besin zincirine girerek insanlara yönelik önemli sağlık sorunları oluşturmaları söz konusudur [12]. 1990'lı yıllarda 5,5 milyon ton olan kurşun tüketiminin 1995'den itibaren önemli bir artış oranıyla 1998'de 6,0 milyon tona ulaştığı bildirilmiştir [40]. En önemli kurşun kontaminasyon kaynakları; benzine eklenmiş kurşun, kurşun bazlı boyalar, kurşun lehimli konserve kutuları, seramik sırlar ve endüstriyel kirlenmelerdir [41]. Doğada yaygın olarak bulunan ve de endüstride fazlaca tüketilen kurşun, insan ve hayvanlarda zehirlenme kaynağı oluşturan metallerin başında yer alır. Genellikle kolay çözünen kurşun bileşiklerinin toksisitesi daha yüksektir. Buna göre kurşun nitrat, kurşun klorür, kurşun asetat, kurşun oksit, kurşun sülfür ve kurşun fosfat bileşiklerinin toksik etkileri çoktan aza doğru sıralanabilir [1]. Biyolojik çözünürlüğünün olmaması nedeniyle kurşun, başta toz ve toprak olmak üzere doğada ve biyolojik sistemlerde birikmektedir [42].

2.3. Kurşuna Maruz Kalma Yolları

2.3.1. İnhalasyon Yoluyla

a. Hava

Çevresel kurşun dağılımının en önemli yoludur. Havadaki kurşun kaynakları; kurşun ilave edilmiş petrolün yanma ürünleri, maden tasfiyehaneleri ve yanmış fosil yakıtlardır [19]. Biyosferde bulunan kurşunun %85' i benzinin yanması sonucu eksozlardan çıkan inorganik kurşundur. %10' u ise endüstriyel kurşun kullanım alanlarından kaynaklanmaktadır. Bir çok ülkede kurşunlu benzin kullanımı büyük ölçüde azaltılsa da, kurşun biyodegradasyona uğramadığı için halen potansiyel maruziyet kaynağı oluşturmaktadır [43].

b. Kapalı Ortam Havası

İkamet edilen evin havası sigara içenlerin varlığından ve kurşunlu boyaların kullanılmasından etkilenir. Ayrıca ev içi kurşun konsantrasyonu, dış ortam kurşun konsantrasyonu ile yüksek aranda uyum içindedir ve iç ortamdaki kurşun miktarının yaklaşık %60' ı dış ortam havasından kaynaklanır [19-44].

c. Çalışma Ortamındaki Hava

Çalışma ortamı havasındaki kurşun konsantrasyonu endüstri tipine göre farklılık gösterir. En fazla kurşun maruziyetine neden olan iş kollarının başında akümülatör yapımı ve yenileştirilmesi, pil üretimi, boyacılık, matbaacılık, kaynakçılık ve kurşun elde etme endüstrileri gelmektedir.

Kurşun endüstrileri [45]:

1. Kurşun madenlerinden metalik kurşun elde edilmesi.
2. Kurşun içeren eski metallerin, kurşun geri kazanımı amacıyla ergitilmesi ve işlenmesi.
3. Kurşun içeren atıkların külleri ve diğer tozlu materyallerin taşınması, yüklenmesi ve boşaltılması.
4. Kurşunun rafine edilmesi.
5. Kurşunlu boyaların, kurşunlu her tür bileşiklerin ve alaşımların üretilmesi.
6. Kurşun kaplama işleri.
7. Kurşun içeren cam, emaye, seramik yapım ve hamurunun hazırlanması, sırlanması ve süslenmesi.
8. Toz şeklinde kurşun bileşiklerinin boya, akümülatör ve plastik eşya yapımında kullanılması.
9. Kurşunlu boyaların püskürtülmesi.
10. Akümülatör endüstrisinde plaka yapımı, taşınması ve kaynakla birleştirilmesi.
11. Kurşun içeren tabakaların kazınması.
12. Kurşunlu boya ya da kurşunlu boya ile boyanmış metallerin kaynak ya da lehimli veya kaynak ile kesilmesi, parçalanması.

13. Kurşunlu kaplamaların, kurşun plakaların, yüzeyi kurşunlanmış materyalin düzeltilmesi, aşındırılması.

14. Kurşun ve çinko metalürji sanayi.

15. Metal dökümcülüğü.

16. Kablo kaplanması işlemleri.

Bu iş yerlerinde çalışan kişiler kurşuna maruz kalmakta ve kurşun toksisitesi için en önemli risk grubunu oluşturmaktadırlar.

2.3.2. Yutularda Maruziyet

a. Su

Yüzeyel ve yeraltı sularında doğal kurşun düzeyi genellikle çok düşüktür. İçme sularının kurşunla kontaminasyonunun majör kaynakları su depoları ve taşıma tankerleridir. 1993' de WHO içme suyundaki maksimum kurşun konsantrasyonunu 50 µg/l' den 10 µg/l' ye düşürmüştür [19].

İçme suyunun kurşunla kontaminasyonu beş şekilde olur [45]:

1. Kurşun bağlantıları.
2. Kurşun servis hatları ya da boruları.
3. Bakır borulardaki kurşun lehimler.
4. Kurşun içeren su kaynakları ya da soğutucular.
5. Kurşun içeren piring çeşmeler ve diğer eşyalar.

Bu kontaminasyonun derece ve hızını suyun PH ve mineral içeriği, kurşunlu boruların ya da kurşunla yapılmış kaynakların yaşı (genellikle yeni olanlar daha fazla risk taşır), kullanılan kurşun materyalinin miktarı ve yüzey alanı, suyun kurşunlu yüzey ile temas ettiği süre ve sıcaklık gibi faktörler etkilemektedir [46].

b. Gıdalar

Erişkinlerde mesleksi olmayan maruziyet için en büyük kaynak gıdalardır. Besinler çeşitli şekillerde kurşunla kontamine olmaktadır [47]:

1. Atmosferdeki kurşunun besin yüzeylerine çökmesi.
2. Toprakta emilen kurşunun başta kökler olmak üzere meyve ve sebzelerde birikmesi.
3. Tarımda insektisit olarak kurşun arsenatın kullanılması.
4. Besin hazırlanmasında kurşunla kontamine olmuş su kullanılması.
5. Yiyecek ve içeceklerin hazırlandığı kapların kurşun içermesi.

Toprakta bulunan kurşun yiyecek ürünlerinin yetişmesi sırasında bitkilere transfer olur ve en çok kök, gövde ve yapraklarda birikir. Kök, gövde ve yapraklara göre daha fazla kurşun içerir, tohum ve meyvelerde ise en düşük konsantrasyondadır. Havada bulunan kurşun yapraklara yapışabilmektedir. Şehir merkezine yakın bölgelerdeki bitkilerde kurşun konsantrasyonu daha fazladır [19].

Alkollü içecekler, saklandıkları fıçı ve varillerde kullanılan kurşun lehimler, kurşun içeren tıkaçlar ya da üzüm yetiştirilirken toprağa atılan kurşun arsenat pestisitleri ile kontamine olurlar. Alkollü içecekler asidik oldukları için hazırlanmaları, depolanmaları ve servisleri sırasında çözünebilmektedirler [19].

c. Toz

İnsan sağlığı bakımından zararlı bir element olan kurşun ve kurşunlu maddelerin toz ve buharları ağızdan solunum yoluyla vücuda girmekte, vücut için yararlı elementler olan kalsiyum ve demir gibi normal karşılanıp vücuda dağıtılmaktadır (48).

d. Toprak

Havadan toprağa ulaşan kurşun, genellikle toprağın en üst 2-5 cm' lik tabakasında bulunur. Toprakla kurşuna maruziyet özellikle sürekli dışarıda, toprakla temas

halinde oyun oynayan ve çoğunlukla elini ağzına götürme alışkanlığı olan küçük yaştaki çocuklarda önemli boyutlara ulaşabilmektedir [46]. Topraktaki ağır metal kirliliği tarımsal alanları da giderek tehdit etmekte ve besin zinciriyle insan sağlığına önemli düzeyde zarar vermektedir [49]. Topraktaki ağır metaller yeşil bitkilerin kök, gövde ve yapraklarında birikerek, bazı hallerde öngörülen sınırın üzerine çıkarlar. Bu birikim ürünü etkileyerek insan sağlığını tehdit eder [50]. Genellikle topraktaki kurşun konsantrasyonu trafiğin yoğun olduğu yol kenarlarında fazla olmaktadır [44].

2.3.3. Çeşitli Yollarla Maruziyet

Yaygın olmamakla birlikte kurşuna maruz kalmaya neden olan başka kaynaklar da vardır. Latin Amerika ülkelerinde yüksek konsantrasyonda kurşun içeren geleneksel ilaçlar kullanılmaktadır [19]. Bazı doğu ülkelerinde kullanılan sürmeler %16-80 oranında kurşun içerebilmektedir [51]. Hobi amacıyla mobilya boyama, çömlek yapımı ya da resim yapımında kurşun içeren boyaların kullanımı, kurşuna maruziyete neden olabilmektedir. Silahla yaralanmalar da kurşun zehirlenmesine neden olabilecek bir maruziyet kaynağıdır [52].

2.4. Kurşunun Metabolizması

İnorganik kurşun bileşikleri vücuda solunum ve sindirim yolu ile, organik kurşun bileşikleri ise solunum, sindirim ve deri yoluyla alınır. Solunum yolu ile maruziyette, 0,01-5 mikron büyüklüğündeki partiküllerin %10-60' ı alveolar bölgede birikirler. Atmosfer havasındaki partiküllerin %90' ından fazlası akciğerlerde tutulabilecek kadar küçüktür. Alveollerde tutunmuş kurşunun emilimi tam ve etkindir. Daha büyük partiküller ise burun, ağız ve üst solunum yollarında tutulurlar. Buralarda tutulan kurşunu büyük kısmı dışarı atılır ya da yutulur [53].

Kurşunun yetişkinlerde gastrointestinal kanalda absorpsiyonu yaklaşık olarak %10-15 iken, çocuklarda oral yoldan absorpsiyonu yetişkinlere göre daha fazladır. Bu oran açlık durumunda daha yüksek, kalsiyum, fosfat, çinko ve demir varlığında daha yüksektir [41]. D vitaminin ve süt içiminin ise kurşun absorpsiyonunu arttırdığı bildirilmiştir [54-55]. Bununla birlikte immatür gastrointestinal sistem kurşuna daha

permeabldir ve küçük çocuklarda yapılan çalışmalar, oral alımın %30-50 oranında absorpsiyonla sonuçlandığını göstermiştir [19, 41].

Kurşun ilk olarak plazmaya ve daha sonra, birkaç dakika sonra eritrositlere geçer. Kandaki kurşunun %99' u eritrositler içinde bulunur [56]. Eritrositlerdeki kurşunun iki önemli komponenti eritrosit membranı ve hemoglobindir. Kurşun, plazma ile eritrositler arasında bir denge içinde bulunur. Kan kurşun düzeyi 100 µg/dL olduğunda plazmadaki kurşun %1'den daha azdır. Plazma kurşunu plazma proteinine bağlı fraksiyon ve diffisibil plazma kurşunu olmak üzere iki fraksiyon halinde bulunur. Diffisibl plazma kurşunu vücut kurşun yükünün metabolik aktivite merkezidir. Vücuttaki toplam kurşun, biri iskelet diğeri yumuşak doku olmak üzere iki büyük kinetik havuza bölünebilir [38, 39]. Erişkinlerde kurşunun %95' i iskelette depolanır. Büyük miktardaki kurşun yumuşak dokularda bulunur ve yarılanma ömrü 2 aydır. Beyin bir istisna teşkil eder, kurşun kan-beyin bariyerini yavaş geçer ve biyolojik yarı ömrü 1yıldan fazladır. Kemiklerdeki yarılanma ömrünün ise 10-20 yıl olduğu fakat büyüme çağındaki çocuklarda bu sürenin daha kısa olduğu bilinmektedir. Kurşunun yumuşak dokuda en çok biriktiği yerler karaciğer ve böbrekler olmasına rağmen vücuttaki bütün dokularda bulunur [57]. Kurşun yumuşak dokularda oldukça labildir ve buralardan, daha çok birikme eğilimi olan kemiğe geçer. Plasenta kurşun geçişinde bir bariyer değildir ve fetüs anneden geçen kurşuna maruz kalır [41]. İnorganik kurşunun deri yoluyla absorpsiyonu çok düşüktür (54).

Kurşunun farklı enzim sistemleri ile etkileşim göstermesi nedeniyle birçok organ veya sistem, kurşun birikimi için odak noktalarını oluştururlar [58].

Absorbe olan kurşunun atılım hızı çok yavaştır ve bu nedenle hayat boyunca vücutta birikir. Absorbe olan kurşun kana geçerek kısa sürede dengeye ulaşır, kan dolaşımı yoluyla aort, kıkırdak, böbrek, pankreas, akciğer, dalak ve kaslara dağılır. Ayrıca yaş ilerledikçe kemiklerde birikme oranı daha çok artar. Kurşun kimyasal olarak kalsiyuma benzemektedir ve vücut kurşunu kalsiyummuş gibi kullanır. Kurşunun kemiklerde tutulması, kemikten kana geçmesi kalsiyum metabolizmasına benzemektedir. Kalsiyumun önemli rol oynadığı yerlere dağılır. Kemikler dışında

böbrek ve karaciğerdeki kurşun konsantrasyonu önemlidir. Böbrek ve bazı dokularda kurşun proteine bağlanarak kurşunca zengin hücre içi inklüzyonlar oluşturur [59].

Absorbe olmayan kurşun dışkı ile, absorbe olan kurşunun %50-60' ı idrarla geri kalanı ise safra veya diğer yollarla vücuttan atılır [58-59].

2.5. Kurşunun Biyolojik Sistemler Üzerine Etkileri

Kurşun toksisitesi tümüyle moleküler ve hücresel düzeyde meydana gelir. Çeşitli enzim sistemleri üzerine etkili olur. Kurşunun insanlar üzerindeki toksik etkileri, kurşuna maruz kalınan süreye ve düzeyine bağlıdır. Kurşun proteinlerin sülfidril (SH) grubuna bağlanarak veya diğer metal iyonlarıyla yer değiştirerek bazı enzimlerin aktivitelerini azaltır [19, 60].

Kurşun doza bağlı olarak fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. Kurşunun nörolojik, davranışsal, solunumla ilgili, görmeyle ilgili, gelişimi geciktirici, hematolojik, immunolojik, renal, hepatik ve üremeyle ilgili istenmeyen etkilere sahiptir. Kurşunun başlıca hedefleri arasında hematopoetik sistem ve immün sistemde bulunmaktadır. Kurşunun lipit peroksidasyonunu da arttırdığı kabul edilmiştir [18, 20].

Çizelge 2.2. Çocuklarda ve Erişkinlerde Kurşunun Sağlığa Bazı Etkileri ile Etkinin Görülmeye Başladığı En Düşük Kan Kurşun Düzeyleri [61].

Sağlığa Etkiler	Etkinin Görülmeye Başladığı Kan Kurşun Düzeyi(µg/dL)	
	Çocuklar	Erişkinler
Nörolojik		
Ensefalopati	100-120	80-100
Sinir İleti Hızında Düşüş	40	40
İşitme yetersizliği	-	20
IQ yetersizliği	-	10-15
Uterusa etkileri	-	10-15
Hematolojik		
Anemi	80-100	80-100
U-ALA yüksekliği*	40	40
B-EP yüksekliği**	15	15
ALA-D düşüklüğü***	10	10
Renal		
Nefropati	40-60	40
Vitamin D metabolizmasında bozulma	-	<30?
Kan basıncı artışı	30?	
Üreme Sistemi		
Erkek	40	
Kadın	?	
* U-ALA =İdrarda Delta Amino Levulinik Asit, B-EP=Eritrositlerde Protoporfirin, ALA-D= Eritrositlerde Delta Amino Levulinik Asit Dehidraz..		

Kurşunun merkezi sinir sistemi üzerine olan etkileri insan sağlığı açısından çok önemlidir. Merkezi sinir sistemi etkileri ensefalopati ve periferik nöropati şeklinde ortaya çıkar. Ensefalopati genellikle çocukluk döneminde ataksi, uyuşukluk, konvülsiyon ve koma ile seyrederek kronik kurşun ensefalopatisinde yaygın doku harabiyeti ve venlerin duvarında kalınlaşmalar görülür [62, 63]. Periferik sinir sistemi tutulumu erişkinlerde çocuklara göre daha sık görülür. Genellikle bilateral el bileği düşüklüğü, bazen bilateral ayak bileği düşüklüğü veya fasikülasyonlar ve distal atrofi ile beraber genel bir zayıflık halinde görülür [39].

Hematopoeitik sistem bulguları kurşun intoksikasyonlarının erken teşhisinde önemlidir. Kurşun intoksikasyonu sonucu hemoglobin sentezinde inhibisyon ve eritropoez stimülasyonu sonucu eritrositlerin yaşam süresinde kısalma meydana gelir. Bu nedenle kan ve idrarda Hem oluşmasından önceki maddelerin aranması kurşunun metabolik etkisini göstermesi bakımından önemlidir. Kurşunun, sülfidril grubu içeren enzimleri (Delta Amino Levulinik Asit Dehidrataz, Koprogenaz ve Hem Sentetaz) inhibe ederek Hem sentezini engellediğine dair bulgular vardır. Hem sentezinin inhibisyonu ve hemoliz sonucu anemi meydana gelir. Çoğunlukla hipokrom mikrositer tipte olmakla birlikte nadiren normokrom normositer de olabilir [39, 64].

Kurşun kemiklere kalsiyumun bağlanma bölgelerinden bağlanabilir. Kurşun doğrudan osteoblastların ve osteoklastların hormonal düzene cevap yeteneklerini bozarak etki gösterir. Dolaylı olarak da D3 vitamini aktivite inhibisyonu ve renal disfonksiyon yapar [65].

Kurşunun absorpsiyonun sonrasında ilk biriktiği yer böbreklerdir. Kurşun glomerüler filtrasyon ve reabsorpsiyon ile böbrek tarafından alınır [66]. Uzun süreli ve yoğun bir şekilde kurşuna maruziyet, ilerleyici ve geri dönüşümü olmayan böbrek hastalıklarına neden olur. Kurşun nefropatisi, böbrek fonksiyonlarının ilerleyici bir şekilde bozulması ile karakterize olup, tekrarlayan şiddetli akut intoksikasyonlardan kısa bir süre sonra da gelişebilir [39].

Akut kurşun maruziyeti karaciğer fonksiyonlarını bozar fakat bu etki reversibldır. Kronik maruziyette hiperürisemi ve kreatinin klirensinde azalma görülebilir ve hipertansiyon ve gut ile bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir [41,67]. Kurşun intoksikasyonunda metallothioneinlerden (MT) de önemli rolü vardır. Metallothioneinler kurşun, kadmiyum ve çinko gibi ağır metallere bağlanabilen ve bu metallerin biyoyararlanımını düşüren proteinlerdir. Böbrek ve karaciğerde birikmiş olan metallere bağlanarak metal toksisitesine karşı hücrel cevabı uyarırlar. Kurşun ve diğer ağır metaller bu proteinlerin sentezine etki ederek yapısal olarak bozuk metallothionein sentezine neden olurlar [13,68]. Ayrıca hepatik glutatyon içeriğinin doza bağlı olarak kurşun uygulamasından sonra düştüğü bildirilmiştir [69].

Kurşunun kadın ve erkek üreme sistemlerinde toksik etkilerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Spontan abortus ve ölü doğumlarda artış ilk olarak kurşunla çalışan kadın işçilerde bildirilmiştir [37]. Erkeklerde maruziyete bağlı olarak hiperspermi, teratospermi, asthenospermi ve hipogonadizm olabilmektedir [19].

Gastrointestinal sistem semptomları anoreksia, disfaji, konstipasyon, bazen ishaldir. Şiddetli zehirlenmelerde kolik ağrısı görülebilir [19].

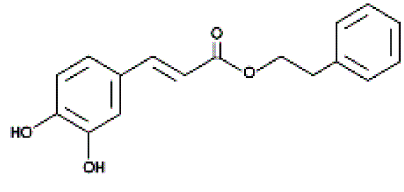
Kurşunun immün sistem fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir. Kurşun maruziyetine bağlı olarak IgG ve IgM düzeylerinde anlamlı azalma, nötrofil fonksiyonlarında azalma, üst solunum yolu enfeksiyonlarına sık yakalanma görülmektedir [57].

Yapılan bazı çalışmalarda kurşunun kanserojen etkisi olduğu gösterilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü sınıflandırmasına göre (1995) kurşun 2. sınıf kanserojen gruptadır [70].

2.6. Kafeik Asit Fenetil Esterin Yapısı ve Özellikleri

Kafeik asit fenetil ester propolis içeriğinde bulunan ve izole edilen çok geniş spektrumlu etkileri bulunan bir maddedir. Fenolik bir bileşik olan CAPE propolisin aktif bileşenlerinden biri olmakla birlikte, çeşitli sistemlerdeki koruyucu etkileri birçok çalışmada gösterilmiş bir bileşiktir.

CAPE' nin iki halkasal yapısı vardır. Bu halkasal yapıdan bir tanesi, CAPE molekülünün neredeyse tüm kimyasal özelliklerinin gösteren ve fonksiyonel olan iki OH⁻ grubu taşır (Şekil 2.1). Bu hidroksil grupları, elektronları aktif bir şekilde alıp verir ve bu sayede oksitleyici ve redükleyici özellik gösterir [71,72]. CAPE lipofilik yapıda olduğundan hücre membranından kolaylıkla geçmektedir ve etki göstereceği bölgeye ulaşmaktadır [73]. Bu özelliği ile bazı enzimleri (ornitin karboksilaz, proteaz, 5- α redüktaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, HIV-1 integraz) inhibe etmektedir [74-76].



Resim 2.1. Kafeik asit fenetil ester (CAPE)' in kimyasal yapısı (71).

2.7. CAPE'nin Antioksidan Etkisi

Propolis bileşenlerinden biri olan galanginin ve CAPE' nin antioksidan özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada her iki bileşeninde reaktif oksijen türlerini temizlediği gösterilmiştir. Ayrıca CAPE' nin oksijen radikallerini, ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini galanginden daha iyi temizlediği ve ortamdaki MDA seviyesini galangine göre daha fazla düşürdüğü gösterilmiştir [72].

Natarajan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CAPE' nin doza ve zamana bağlı olarak tümör nekroz faktör (TNF)' ün neden olduğu NF-κB aktivasyonunu tamamen bloke ettiği gösterilmiştir. CAPE' nin yalnızca TNF ile değil, phorbol ester, ceramide, hidrojen peroksit ve okadaik asit gibi diğer inflamatuvar ajanlarla uyarılan NF-κB aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir [77].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Düzenegi

Araştırmada 10-12 haftalık 30-35 gram ağırlığa sahip 25 adet erişkin fare kullanıldı. Bütün hayvanlar deney süresince normal oda ısısında ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) ve 12/12 saat gece/gündüz periyodunda tutuldu ve standart fare yemi ve normal su ile *ad libitum* olarak beslendi. Her bir grupta 5'er adet fare bulunan 5 grup oluşturuldu. Bu gruplardan 1. gruba 1 ml serum fizyolojik, 2. gruba 1 ml %1'lik etanol, 3. gruba 8,5 mg/kg dozunda CAPE, 4. gruba 50 mg/kg dozunda kurşun (kurşun asetat şeklinde) intraperitoneal olarak 5 gün boyunca enjekte edildi. 5. gruba ise deneyden 3 gün öncesinden başlanarak 8,5 mg/kg dozunda CAPE ve 5 gün boyunca da CAPE ile birlikte kurşun enjekte edildi.

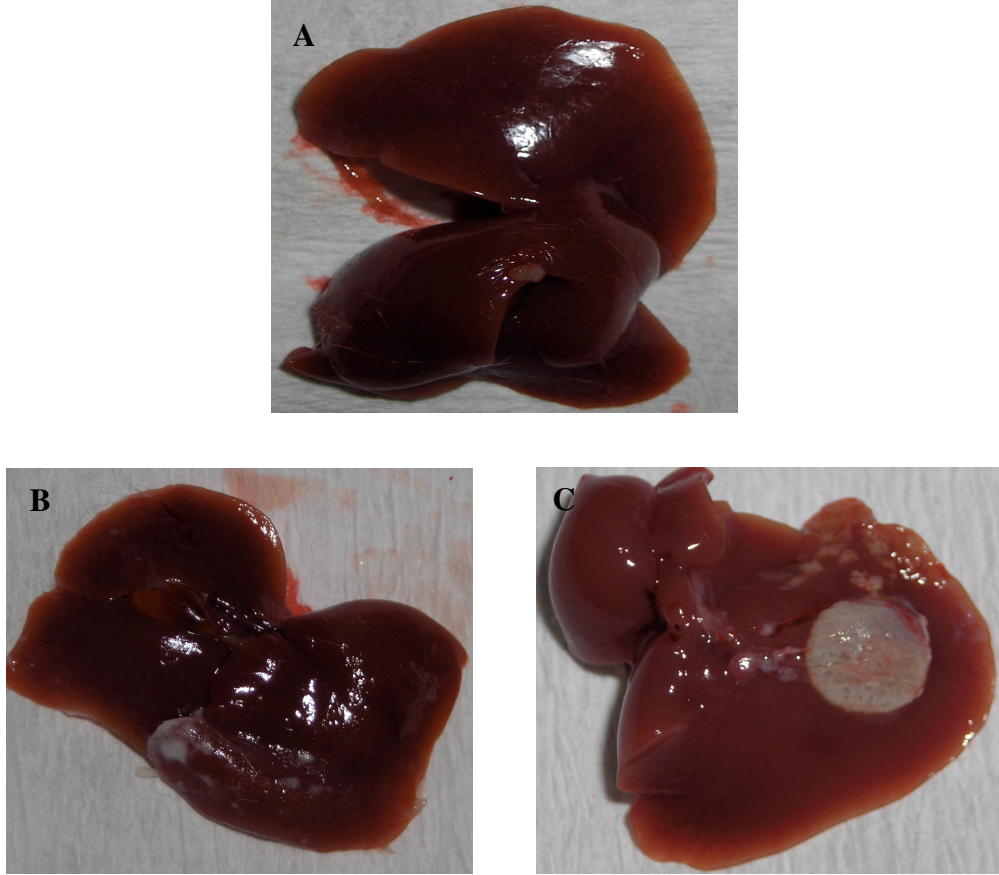
3.2. Histopatolojik İncelemeler

Deney sonunda hayvanlardan alınan karaciğer dokuları %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edildikten sonra rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlandı. Daha sonra bu bloklardan 3-5 μ kalınlığında kesitler alınarak hematoksilen-eozin boyama yöntemiyle boyayıp histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopunda incelendi.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

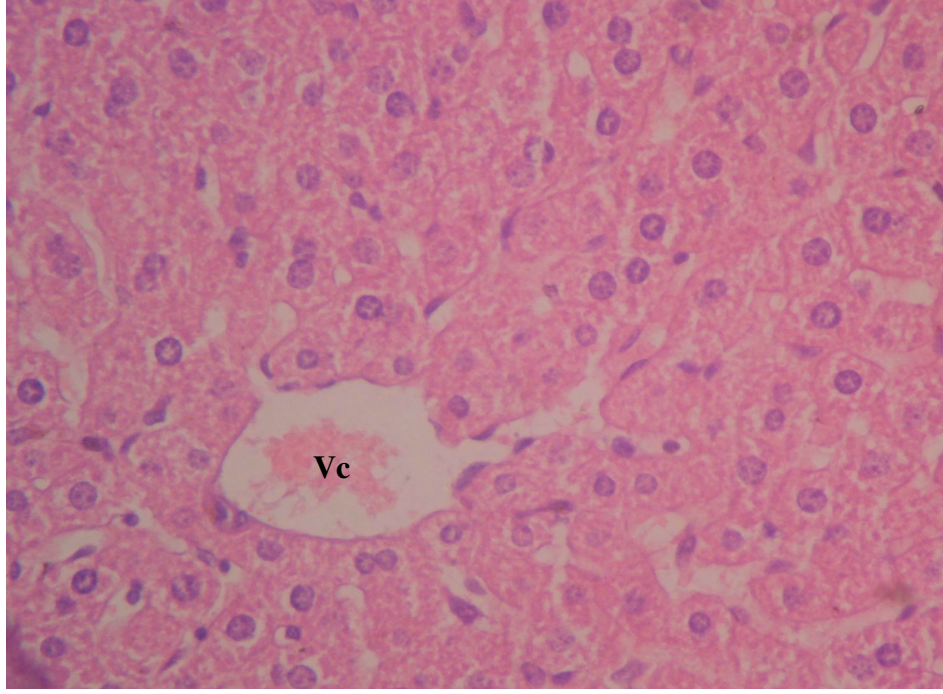
Makroskopik incelemede kurşun uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokularında tomurcuk şeklinde ödem benzeri oluşumlar meydana geldiği ayrıca dokunun renginin normale göre daha açık olduğu, kurşunla birlikte CAPE uygulanan grupta ise bu yapıların daha az oluştuğu ve karaciğerin renginin de kontrole yakın görünümde olduğu saptandı (Resim 1).



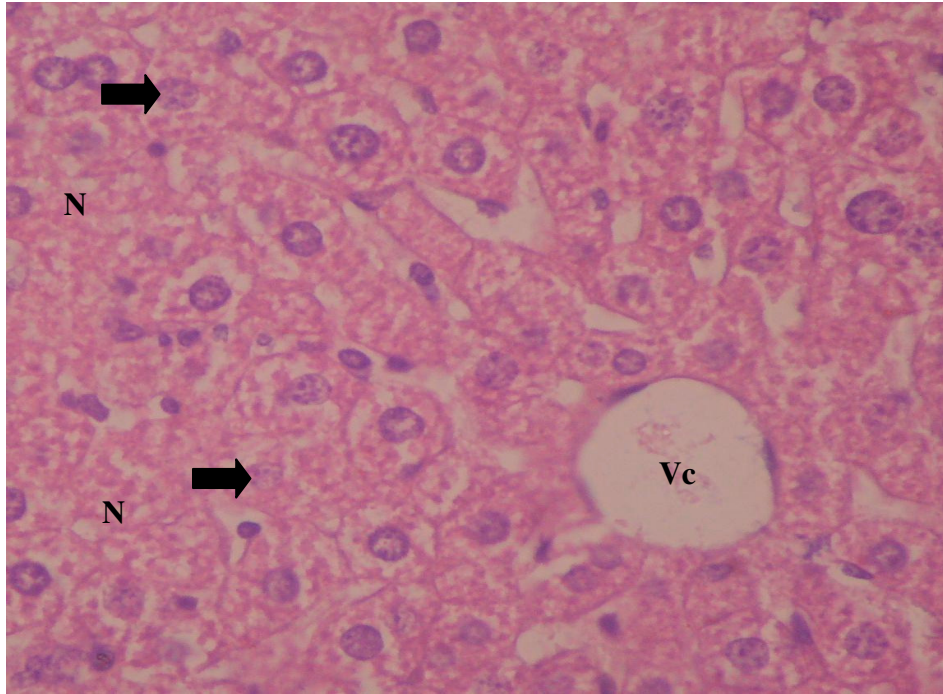
Resim 4.1. Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer dokularının makroskopik görünümü. A- Kontrol grubu, B- Kurşun + CAPE grubu, C- Kurşun grubu

4.2. Mikroskopik Bulgular

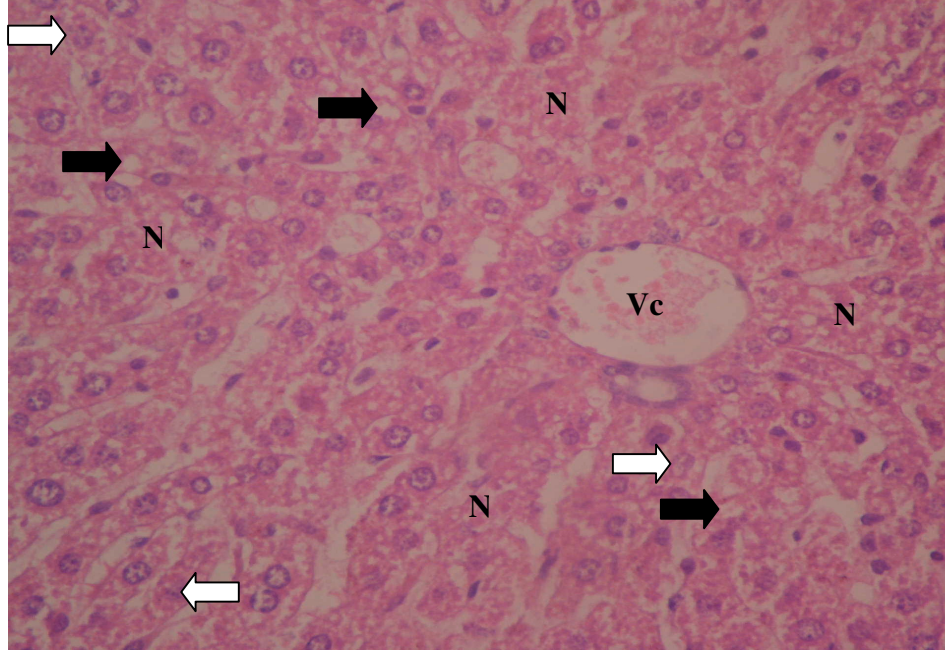
Elde edilen preparatların ışık mikroskopik incelemelerinde CAPE uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokularının normale yakın görünümde olduğu (Resim 4.2.), %1'lik Etanol uygulanan gruptaki karaciğer dokularında alkol uygulamasına bağlı olarak hafif dejenerasyon ve nekroz tespit edilmiştir (Resim 4.3.). Sadece kurşun uygulanan gruptaki hayvanlarda ise şiddetli dejenerasyon, yaygın nekroz alanları ile hidropik ve vakuolar dejenerasyon gözlemlenmiştir (Resim 4.4.). Kurşunla birlikte CAPE uygulanan grupta ise bu dejenerasyonların şiddetinin azaldığı görülmüştür (Resim 4.5.).



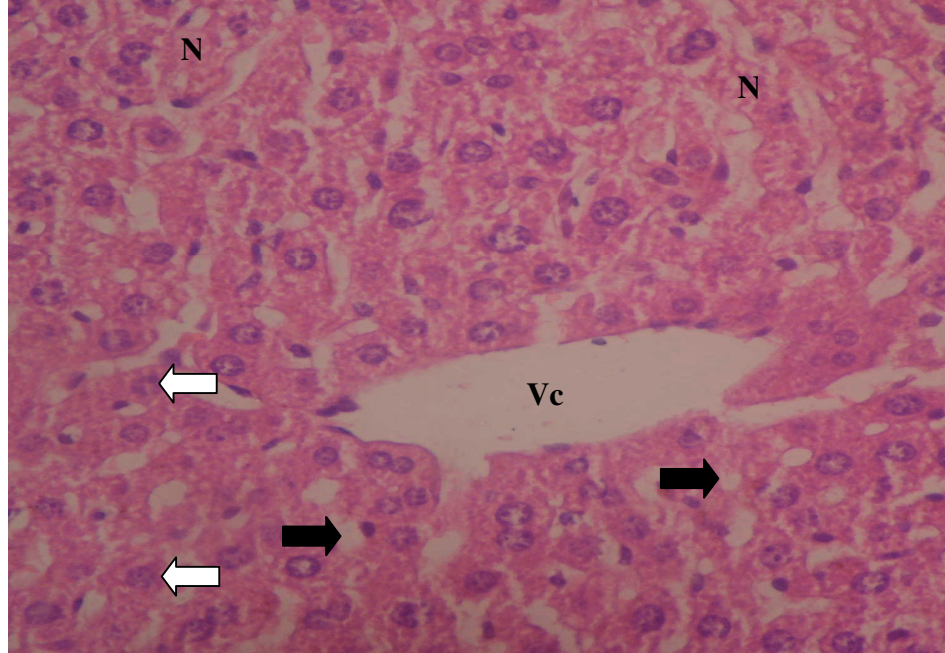
Resim 4.2. 8,5 mg/kg dozunda CAPE uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu. Hepatositler ve sinozoidal yapı normal görünümde (Vc: Vena centralis). H-E x40



Resim 4.3. %1'lik Etanol uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu. Fokal nekroz alanları (N) ve hidropik dejenerasyon (oklar). (Vc: Vena centralis). H-E x40



Resim 4.4. 50 mg/kg dozunda kurşun uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu. Şiddetli dejenerasyon, yaygın nekroz alanları (N) ile hidropik (beyaz oklar) ve vakuolar dejenerasyon (siyah oklar) alanları. (Vc: Vena centralis). H-E x40



Resim 4.5. 50 mg/kg dozunda kurşunla birlikte 8,5 mg/kg CAPE uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen karaciğer dokusu. Kurşunun sebep olduğu dejenerasyonun şiddetinin azaldığı gözlenmekte, bununla birlikte fokal nekroz alanlarıyla birlikte (N) bazı bölgelerde hidropik (beyaz oklar) ve vakuolar dejenerasyon (siyah oklar) alanları. (Vc: Vena centralis). H-E x40

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmamızda farelerde (*Mus musculus*) intraperitoneal kurşun maruziyetine karşı CAPE uygulamasıyla kurşun toksisitesine bağlı dejenerasyonların şiddetinin azaldığı görülmüştür. Kurşun toksisitesi birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve farklı doku ve organlar üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Özellikle antioksidan sistem üzerine olan etkileri açıkça ortaya konmuştur. Sieg ve Billings (1997) kurşun maruziyetinin hepatositlerde hafif derecede oksidatif strese sebep olduğunu bildirmişlerdir [78]. Daggett ve ark. (1998)'da kurşun uygulamasının rat böbrek dokusunda oksidatif stres üzerine etkisinin olmadığını, karaciğer dokusunda ise GSH seviyesinin azalmasına MDA seviyesinin artmasına neden olduğunu saptamışlardır [79]. Nakagawa (1989) kurşuna bağlı olarak GSH seviyesinin azaldığını tespit etmiştir (71). Başka bir çalışmada da Wang ve ark. (2007) subkronik kurşun maruziyetinin kanda hemoglobin, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), SOD seviyelerinde ve karaciğer hücrelerinde GSH seviyesinde azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir [71]. Carmignani ve ark. (2000)'da kurşun uygulamasına bağlı olarak NO seviyesinin azaldığını bulmuşlardır [80].

Yine histopatolojik olarak da kurşun toksisitesi oluşturulan hayvan modellerinde kurşunun etkileri belirlenmiştir. Shalan ve ark. (2005) kurşun maruziyetine bağlı olarak karaciğer dokusunda sinuzoidal boşluklarda genişleme, mononükleer hücre infiltrasyonu ve fokal nekroz alanlarının oluştuğunu belirtmişlerdir (20). Yine El-Sokkary ve ark. (2005) 100 mg/kg dozunda kurşun uygulanan rat karaciğerler dokusunda nekroz ve sitoplazmik vakuolizasyona neden olduğu böbrek dokularında ise farklı dejenerasyon ve nekrozlar gözlendiğini bildirmişlerdir (11). Carmignani ve ark. (2000) ise içme suyuyla 15-60 ppm dozlarında verdikleri kurşunla oluşturdukları intoksikasyon sonucunda karaciğer dokusundaki hepatositlerin aktivitesinde artış olduğunu ve kontrol grubuna göre daha yoğun alanlar tespit etmişlerdir [80]. Yapmış olduğumuz araştırmada da yukarıdaki literatürlerle uyumlu şekilde kurşun maruziyetine bağlı olarak karaciğer dokusunda dejenerasyon ve nekroz alanları tespit edilmiştir.

CAPE'nin antioksidan sistem ve farklı dokular üzerindeki koruyucu rolü de farklı araştırmalarla ortaya konulmuştur. Cüre (2007) ratlarda aşırı demir yüklemesi ile oluşan oksidatif strese karşı CAPE'nin koruyucu rolünü araştırmış ve demir uygulamasıyla LPO'nun son ürünü olan MDA seviyesindeki artışın CAPE uygulamasına bağlı olarak azaldığını bildirmiştir [21]. Lee ve ark. (2008) CAPE'nin karbon tetraklorürle oluşturulan oksidatif hasara karşı koruyucu etkisini araştırmışlar ve karbon tetraklorür uygulanan grupta MDA düzeyinin arttığını GSH düzeyinin azaldığını, CAPE uygulamasıyla birlikte, oluşan bu oksidatif hasarın etkisinin azaldığını, histopatolojik incelemelerde ise karaciğer dokusunda karbon tetraklorürle hepatositlerde ve hepatik kordonlarda dejenerasyonlarla birlikte fokal nekroz alanlarının oluştuğunu CAPE uygulamasının da yine oluşan bu etkilerin şiddetinin azalmasını sağladığını tespit etmişlerdir [28]. Başka bir araştırmada sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlara ait prefrontal korteks örneklerinde, moleküler tabakada vakuolizasyon, nöroglial hücre infiltrasyonu ve piknotik hücreler tespit etmişler, buna karşın, sigara maruziyeti ile birlikte CAPE enjekte edilen sıçanlarda ise, sigara maruziyetinin neden olduğu yapısal değişikliklerin büyük oranda azaldığını belirtilmiştir [81]. Mollaoğlu ve ark. (2006)'da kadmiyum etkisiyle MDA seviyesinin arttığını NO seviyesinin azaldığını fakat kadmiyumla birlikte CAPE uygulandığında ise NO seviyesinin artmaya MDA seviyesinin ise azalmaya başladığını saptamışlardır [82]. Yine benzer bir çalışmada Parlakpınar ve ark. (2005)'da gentamisin (GEN) uygulamasının MDA ve NO seviyelerinde artışa SOD, CAT ve GSH seviyelerinde azalmaya neden olduğunu, GEN ile birlikte CAPE uygulandığında ise MDA ve NO seviyelerinin azaldığını, SOD, CAT ve GSH seviyelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Histopatolojik olarak böbrekler incelendiğinde ise belirgin şekilde tübüler nekrozların oluştuğunu GEN ile birlikte CAPE uygulandığında bu nekrozların şiddetinin daha aza indirgenmiş olduğunu belirtmişlerdir [83]. Yapmış olduğumuz araştırmada da kurşunla birlikte CAPE uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokularındaki dejenerasyonların şiddetinin azaldığı saptanmıştır. Bu koruyucu etkinin de CAPE'nin antioksidan sistemi indükleyerek oksidatif hasarı azaltmasıyla gerçekleştiği düşünölmektedir.

Sonuç olarak; çevrede yaygın bir şekilde bulunan kurşunun 50 mg/kg dozunda toksik olduğu, bu toksikasyona karşı da CAPE'nin koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Bu veriler doğrultusunda kurşun zehirlenmeleri sonucu insan ve diğer canlılarda oluşabilecek zararlı etkilere karşı CAPE'nin tedavi amaçlı olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Özçelik, D., Toplan, S., Darıyerli, N., Gülyaşar, T., Dursun, Ş., “The effect of lead concentration on blood viscosity and erythrocyte osmotic resistance”. *Cerrahpaşa J Med.*, 31 (3): 129-133 (2000).
2. Nuseey, D., Van Vuren, J.H.J., Du Preez, H.H., “Effect of copper on haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae)”, *Comp. Biochem. Physiol.*, 111(C): 369-380 (1995).
3. Veli, S., Ayberk, S., Çeliker, B., Akyüz, B., “Investigation of soil contaminated by lead, cadmium, mercury and nickel”, *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 1: 141-146 (2005).
4. Romero, D., Herná'ndez-Garcı'a, A., Tagliati, C.A., Martı'nez-Lopez, E., Garcı'a-Ferna'ndez, A.J., “Cadmium- and lead-induced apoptosis in mallard erythrocytes (*Anas platyrhynchos*)”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 37-44 (2009).
5. Kayhan, F. E., “Su ürünlerinde cadmiyum birikimi ve toksisitesi”, *E. Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23/1-2: 215-220 (2006).
6. H. W. Woolhouse, “Encyclopedia of Plant Physiology” Vol. 12C, “Physiological Plant Ecology II”, (eds O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler), pp. 254-300. *Springer-Verlag*, Berlin, 1983.
7. Rodovičius, H., Viežalienė, D., Stanevičienė, I., Sadauskienė, I., Kašauskas, A., Ivanov, L., “The effects of lead ions on activities of tRNA^{Leu} and leucyl-tRNA synthetase from mice liver”, *Medicina Vol.*, 39/7: 683-687 (2003).
8. Sevinç, E., Kösecik, M., Koçyiğit, A., Soran, M., Baz, M.T., Ertaş, M., Karazeybek, A.H., “Şanlıurfa ilinde oto tamir atölyelerinde çalışan

- çıraklarda saç ve kan kurşun düzeyleri ve hematolojik değerler üzerine etkileri”. *Harran Tıp Fak. Der.*, 1(4): 33-37 (2004).
9. Kutlu, M., İşcan, A., Tanatmış, M., “Structural changes of *Artemia parthenogenetica* (Bowen and Sterling, 1978) (Branchiopoda-Anostraca) exposed to lead acetate”. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3770–3773 (2008).
 10. Fracasso, M.E., Perbellini, L., Solda, S., Talamini, G., Franceschetti, P., “Lead induced DNA strand breaks in lymphocytes of exposed workers: role of reactive oxygen species and protein kinase C”. *Mutat. Res.*, 515 (1–2): 159–169 (2002).
 11. El-Sokkary, G.H., Abdel-Rahman, G.H., Kamel, E.S., “Melatonin protects against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats”. *Toxicology*, 213: 25–33 (2005).
 12. Yarsan, E., Özdemir, M., Turhan, E., “Sığırlarda Kurşunla Akut Zehirlenme Olgusu”. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 43: 277-279 (1996)
 13. Henczová, M., Deer, A.K., Filla, A., Komlosi, V., Mink, J., “Effects of Cu^{2+} and Pb^{2+} on different fish species: Liver cytochrome P450-dependent monooxygenase activities and FTIR spectra”. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 148: 53–60 (2008).
 14. Dutkiewicz, T., Swiadczak, J., “Lead in environment. Toxic action of lead in Poland”, *Med. Pracy*, 44: 53–77 (1993).
 15. Stohs, S.J., Bagchi, D., “Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions”, *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 321–336 (1995).
 16. Upasani, C.D., Khera, A., Balaraman, R., “Effect of lead with Vitamins E, C, or Spirulina on malondialdehyde: conjugated dienes and hydroperoxides in rats”, *Indian J. Exp. Biol.*, 39 (1): 70–74 (2001).

17. Goering, P., “Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity”, *Neurotoxicology*, 14: 45-60 (1993).
18. Rosenberg, C.E., Fink, N.E., Arrieta, M.A., Salibian, A., “Effect of lead acetate on the in vitro engulfment and killing capability of toad (*Bufo arenarum*) neutrophils”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 136 : 225–233 (1993).
19. World Health Organization, 1995. “Inorganic Lead. WHO”, *Geneva Environmental Health Criteria 165*.
20. Shalan, M.G., Mostafa, M.S., Hassouna, M.M., Hassab El-Naci, S.E., El-Refaie, A., “Amelioration of lead toxicity on rat liver with Vitamin C and silymarin supplements”, *Toxicology*, 206: 1–15 (2005).
21. Cüre, E., “Ratlarda Demir Yüklenmesi İle Oluşturulan Oksidatif Stresin Önlenmesinde Kafeik Asit Fenetil Ester’in Etkinliğinin Araştırılması”, Uzmanlık Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 2007.
22. Grunberger, D., Banerjee, R., Eisinger, K., Oltz, E.M., Efros, L., Caldwell, M., Estevez, V., Nakanishi, K., “ Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis”, *Experientia*, 44: 230–232 (1998).
23. Michaluart, P., Masferrer, J.L., Carothers, A.M., Subbaramaiah, K., Zweifel, B.S., Koboldt, C., Mestre, J.R., Grunberger, D., Sacks, P.G., Tanabe, T., Dannenberg, A.J., “ Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in rat model of inflammation”, *Cancer Res.*, 59: 2347–2352 (1999).
24. Orban, Z., Mitsiades, N., Burke Jr., T.R., Tsokos, M., Chrousos, G.P., “Caffeic acid phenethyl ester induces leukocyte apoptosis, modulates

- nuclear factor-kappa B and suppresses acute inflammation”, *Neuroimmunomodulation*, 7: 99–105 (2000)
25. Fesen, M.R., Pommier, Y., Leteurtre, E., Hiroguchi, S., Yung, J., Kohn, K.W., “Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds”, *Biochem. Pharmacol.*, 48: 595–608 (1994).
26. Sudina, G. F., Mirzoeva, O. K., Pushkareva, M. A., Korshunova, G. A., Sumbatyan, N. V. and Varfolomeev, S. D., “Caffeic acid ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties”, *Febs Letters*, 329: 21–24 (1993).
27. Park, J.H., Lee, J.K., Kim, H.S., Chung, S.T., Eom, J.H., Kim, K.A., “Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice”, *Int. Immunopharmacol*, 4: 429–36 (2004).
28. Lee, K.J., Choi, J.H., Khanal, T., Hwang, Y.P., Chung, Y.C., Jeong, H.G., “Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice”, *Toxicology*, 248: 18–24 (2008).
29. Ilhan, A., Iraz, M., Gurel, A., Armutcu, F., Kyol, O., “Caffeic acid phenethyl ester exerts a neuroprotective effect on CNS against pentylenetetrazol-induced seizures in mice”, *Neurochem. Res.*, 29: 2287–2292 (2004).
30. Hishikawa, K., Nakaki, T., Fujita, T., “Oral flavonoid supplementation attenuates atherosclerosis development in apolipoprotein E-deficient mice”, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 25: 442–446 (2005).
31. Kaynak, A. G., Taşdemir, Y., “Anaerobil stabilizasyon havuzlarında ağır metal giderimi: Bursa örneği”, *Çev-Kor*, 12/46: 1-7 (2003).

32. Şengül, F., Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, İzmir (1993).
33. <http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702080203.pdf> (Erişim tarihi: Nisan 2009).
34. Kargı, F., “Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler”, *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi*, 2. Baskı, İzmir, 1995.
35. DüNDAR, Y., ASLAN, R., “Yaşamı kuşatan ağır metal kurşunun etkileri”, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 6: 1-5 (2005).
36. http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf (Erişim tarihi: Nisan 2009).
37. Yüksel, L., “Kurşun ve çocuk”, *İstanbul Çocuk Klin. Derg.*, 31: 218-227 (1996).
38. Akü ve Matbaa İşçilerinde Kurşun Zehirlenmesi Taranması, İkinci Aşama, *İSGÜM Basımevi*, Ankara, 1986.
39. Akdur, R., Çöl, M., Işık, A., İdil, A., Durmuşoğlu, M., Tunçbilek, A., “Halk Sağlığı Kitabı”, *Antip A.Ş.*, Ankara, 1998.
40. DTP sekizince beş yıllık kalkınma planı, Madencilik Özel İhtisas Komisyonu Raporu Metal Madenler Alt Komisyonu, *Kurşun-Çinko-Kadmiyum Çalışma Grubu Raporu*, Ankara, 2001.
41. Grandjean, P., “Health Significance of Metals-Lead”, Maxcy-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine. *Ed. Last JM*, Wallace RB., 13. Baskı, 1992.
42. Tüzün, D., “Kurşuna Maruz Kalan İşçilerin Tadevisinde Kullanılan Şelatör Ajanların Değerlendirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2007.

43. Girgin, G., “Kurşuna Maruziyetin Esansiyel Elementler Üzerine Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2003.
44. Rooney , B.L., Hayes, E.B., Allen, B.K., Strutt, P.J., “Development of a screening tool for prediction of children at risk for lead exposure in a Midwestern Clinical Setting”, *Pediatrics*, 93: 183-187 (1994).
45. Tonguç E. Meslek hastalıkları klavuzu. *TTB Yayınları.*, Ankara,1992.
46. Centers for Disease Control and Prevention, “Preventing Lead Poisoning in Young Children”, A Statement by the Centers for Disease Control, Atlanta, October 1991. *GA: US Dept of Health and Human Services*, 1991.
47. Göker, Ş., “İstanbul Çocuklarında Kan Kurşun Taranması”, Uzmanlık Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*, 1996.
48. Karasu, B., Sertkaya, A., “Seramik sektöründe karşılaşılan belli başlı sağlık problemleri, nedenleri ve alınması gereken tedbirler”, *Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 13: 22-24 (2001).
49. Schicker, H., Haddar, C., “Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of genus *Alyssum*”, *Physiol. Plant.*, 105: 39-44 (1999).
50. Spona, K.D., Baum, G., “Untersuchungen zur Planverfolgbarkeit von Blei Cadmium, Kupfer und Zink auf Kontaminierten Böden den in Enimen Industriellen Ballungsgebeit”, *Duseldörfer Geographische Schriften*, 203-222 (1993).
51. Juberg, D.R., Kleiman, C.F., Kwon, S.C., “Position Paper of the American Council on Science and Health: Lead and human Health”, *Ecotoxicol. Environ. Toxicol.*, 38: 162-180 (1997).

52. Ellenhorn, M.J., Barceloux, D., “Ellenhorn’s Medical Toxicology”, Baltimore, 1997.
53. Chang, L.W., “Toxicology of Metals”, **CRC Pres**, USA, 1996.
54. Timbrell, J.A., “Lead Pollution Introduction to Toxicology”, **Taylor&Francis Ltd.**, Philadelphia, 1989.
55. Humphreys, D.J., “Effect of exposure to excessive quantities of lead on animals”, **Br Vet. J**, 147: 18-30 (1991).
56. De Silva, P.E., “Determination of lead on plasma and studies on its relationships to lead erythrocytes”, **Brit. J. Indust. Med.**, 38: 209-217 (1981).
57. Goyer, R.A., Clarkson, T.W., “Casaret and Doull’s Toxicology, The Basic Science of Poisons” **McGraw-Hill Companies, Medical Publishing Division**, USA, 2001.
58. <http://www.rshm.gov.tr/hki/pdf/hava.pdf> (Erişim tarihi: Nisan 2009).
59. Denizli, A., “Atatürk Üniveristesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları”, **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi**, Erzurum, 2008.
60. Macsi, O., Carelli, G., Vinci, F., Castellino, N., “Blood lead concentration on biological effects in workers exposed to very low lead levels”, **J. Occup. Environ. Med.**, 40: 886-894 (1998).
61. Ünsal, A.,Tözün, M., “Kurşun ve Sağlığa Etkileri”, **Osmangazi Tıp Dergisi**, 29(1): 61-67 (2007).
62. Cheville, N.F., “Cell Pathology”, **The Iowa State University, Ames**, Iowa, 1983.
63. Klassen, C.D., Amdur, M.O., Doull, J., “Toxicology”, 3th ed., **Macmillan Publishing Company**, Newyork, 1986.

64. Cecil, R.L., "Cecil's Textbook of Medicine", *W.B. Saunders Co.*, Philadelphia, 1996.
65. Valter, M., Berglung, M., Akesson, A., Liden, C., "Metals and women health", *Environ. Res.*, A. 88: 145-155 (2002).
66. Nolan, C.V., Shaikh, Z.A., "Lead nephrotoxicity and associated disorders: biochemical mechanisms", *Toxicology*, 73: 127-146 (1992).
67. World Health Organization, 1992. "Major poisoning episodes from environmental chemicals", 3-15, Geneva
68. Lavery, T.J., Kemper, C.M., Sanderson, K., Schultz, C.G., Coyle, P., Mitchell, J.G., Seuront, L., "Heavy metal toxicity of kidney and bone tissues in South Australian adult bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*)", *Marine Environ. Research*, 67: 1-7 (2009).
69. Nakagawa, K., "Hepatic glutathione metabolism in mice acutely treated with lead acetate", *Japan. J. Pharmacol.*, 51: 173-179 (1989).
70. European Commission DG ENV. E3 Project ENV. E.3/ETU/2000/0058, "Heavy Metals in Waste", Danimarka, Şubat 2002.
71. Wang, X., Bowman, P.D., Kerwin, S.M., Stavchansky, S., "Stability of caffeic acid phenethyl ester and its fluorinated derivative in rat plasma", *Biomed. Chromatogr.*, 21: 343-350 (2007).
72. Russo, A., Longo, R., Vanella, A., "Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin", *Fitoterapia*, 73: 21-29 (2002).
73. Song, Y.S., Park, E.H., Hur, M.H., Ryu, Y.S., Lee, Y.S., Kim, Y.M., Jin, C., "Caffeic acid phenethyl ester inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activation", *Cancer Letters*, 175: 53-61 (2002).

74. Jaiswal, A.K., Venogopal, R., Mucho, J., Carothers, A., Grunderberger, D., “Caffeic acid phenethyl ester stimulates human antioxidant response element-mediated expression of the NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1) gene. *Cancer Res*, 57: 440-446 (1997).
75. Huang, M.T., Ma, W., Yen, P., Xie, J.G., Han, J., Frenkel, K., Grunderberger, D., Conney, A., “Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells”, *Carcinogenesis*, 17: 761-765 (1996).
76. Son, S., Lobkowsky, E., Lewis, B.A., “Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): synthesis and x-ray crystallographic analysis”, *Chem. Pharm. Bull.*, 49: 236-238 (2001).
77. Natarajan, K., Singh, S., Burke, T.R., Grunderberger, D., Aggarwal, B.B., “Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF- κ B”, *Immunology*, 93: 9090-9095 (1996).
78. Sieg, D. J., Billings, R. E., “Lead/Cytokine-Mediated Oxidative DNA damage in cultured mouse hepatocytes”, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142: 106–115 (1997).
79. Daggett, D. A., Oberley, T. D., Nelson, S. A., Wright, L. S., Kornguth, S. E., Siegel, F. L., “Effects of lead on rat kidney and liver: GST expression and oxidative stress”, *Toxicology*, 128: 191–206 (1998).
80. Carmignani, M., Volpe, A. R., Boscolo, P., Qiao, N., Gioacchino, M. D., Grilli, A., Felaco, M., “Catecholamine and nitric oxide systems as targets of chronic lead exposure in inducing selective functional impairment”, *Life Sciences*, 68: 401–415 (2000).
81. Pekmez H., Kuş İ., Çolakoğlu N., Zararsız İ., Ögetürk M., Sarsılmaz M., “Sıçanlarda sigara inhalasyonu sonucu prefrontal kortekste oluşan yapısal

değişiklikler üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in etkisi”, *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(3): 18-25 (2004).

82. Mollaoglu H., Gokcimen A., Ozguner F., Oktem F., Koyu A., Kocak A., Demirin H., Gokalp O, Cicek E., “Caffeic Acid Phenethyl Ester prevents cadmium-induced cardiac impairment in rat”, *Toxicology*, 227: 15–20 (2006).

83. Parlakpınar H., Tasdemir S., Polat A., Bay-Karabulut A., Vardi N, Ucar M, Acet A., “Protective role of caffeic acid phenethyl ester (cape) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats”, *Toxicology*, 207: 169–177 (2005).

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Neslihan Mutlu

Doğum Yeri: Ankara / Beypazarı

Doğum Tarihi:18.02.1981

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Nurettin Karaoğuz Vakfı Beypazarı Anadolu Lisesi (1999)

Lisans: Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2005)

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Halen)