

T.C  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARELERİN KARACİĞER, KALP VE BÖBREKLERİNDE  
KOBALTIN İNDÜKLEDİĞİ OKSİDATİF HASARA KARŞI  
LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ

SERKAN KÖKSOY  
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN  
Doc. Dr. EBRU BEYTUT

2008-KARS



T.C  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARELERİN KARACİĞER, KALP VE BÖBREKLERİNDE  
KOBALTIN İNDÜKLEDİĞİ OKSİDATİF HASARA KARŞI  
LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ

SERKAN KÖKSOY  
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN  
DOC DR EBRU BEYTUT

2008-KARS



KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programı çerçevesinde Serkan KÖKSOY tarafından hazırlanmış olan “KOBALT TOKSİKASYONUNA MARUZ KALAN FARELERİN KARACİĞER, BÖBREK VE KALPLERİNDEKİ LİPİT PEROKSİDASYONU ÜZERİNE LİKOPENİN ETKİLERİ” Adlı çalışma, yapılan tez savunma sınavı sonunda jüri üyeleri tarafından Lisan Üstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek OY..... ile ..... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi  
...../...../2008

	<b>Adı Soyadı</b>	<b>İmza</b>
<b>Başkan</b> :		.....
Üye :		.....
Üye :		.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../2008 gün ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>İÇİNDEKİLER</b>	i
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	v
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	vii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	viii
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b>	ix
<b>ÖNSÖZ</b>	x
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
1.1. Kobalt (Co)	3
1.1.1. <b>Kobaltın Kullanıldığı Alanlar</b>	3
1.1.2. <b>Kobaltın Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri</b>	8
1.1.3. <b>Kobaltın Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri</b>	9
1.1.4. <b>Kobaltın Kas-İskelet Sistemi Üzerine Etkileri</b>	9
1.1.5. <b>Kobaltın Hematolojik Sistem Üzerine Etkileri</b>	9
1.1.6. <b>Kobalt ın Karaciğer ve Böbrek Üzerine Etkileri</b>	9
1.1.7. <b>Kobaltın Endokrin Sistem Üzerine Etkileri</b>	10
1.1.8. <b>Kobaltın Göz Üzerine Etkileri</b>	10
1.1.9. <b>Kobaltın Vücut Ağırlığı Üzerine Etkileri</b>	10



1.1.10.	<b>Kobaltın Kanserle Olan İlgisi</b>	11
1.1.2.	Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler	12
1.2.1	Serbest Radikaller	12
1.2.1.1.	<b>Serbest Radikaller 3 Şekilde Oluşabilir</b>	13
1.2.1.2.	<b>Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hastalıklar</b>	15
1.3.	Antioksidan Sistemler	17
1.3.1.	<b>Doğal Antioksidanlar</b>	21
1.4.	Karotenoidler	23
1.5	Likopen ve Özellikleri	24
1.5.1.	Likopenin Antioksidatif Etkisi	29
1.5.2.	Likopenin Antikanserojen Etkisi ve Hücrel Döngüyü Durdurucu Etkisi	30
1.5.3.	<b>Hücrelerarası Birleşme Yerlerindeki Haberleşmeyi Arttırıcı Etkisi</b>	30
1.5.4.	Likopenin IGF -1 Sinyal İletimini İnhibe Edici Etkisi	30
1.5.5.	Likopenin Antienflamatuvar Etkisi	31
2.	MATERYAL ve METOD	32
2.1.	Materyal	32
2.1.1.	Hayvan Materyali	32
2.1.2.	Yem Materyali	32
2.1.3.	<b>Çalışmada Kullanılan Aletler</b>	33



2.1.4.	<b>Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler</b>	33
2.1.5.	<b>GSH Analizinde Kullanılan Çözeltiler</b>	34
2.1.6.	<b>MDA Analizinde Kullanılan Çözeltiler</b>	34
2.1.7.	<b>E Vitamini ve <math>\beta</math>-karoten Analizinde Kullanılan Çözeltiler</b>	34
2.2.	<b>METOD</b>	35
2.2.1.	Uygulanan Genel Metod	35
2.2.2.	MDA Düzeyi Tayini	36
2.2.2.1.	MDA Düzeyi Tayininin Prensibi	36
2.2.2.2.	MDA Düzeyi Tayininin Metodu	36
2.2.3.	<b>E vitamini ve <math>\beta</math>-Karoten Düzeyi Tayini</b>	37
2.2.3.1.	<b>E vitamini ve <math>\beta</math>-Karoten Düzeyi Tayininin Prensibi</b>	37
2.2.3.2.	<b>E vitamini ve <math>\beta</math>-Karoten Düzeyi T ayininin Metodu</b>	37
2.2.4.	GSH Düzeyi Tayini	37
2.2.4.1.	GSH Düzeyi Tayininin Prensibi	38
2.2.4.2.	GSH Düzeyi Tayininin Metodu	38
2.3.	<b>İstatistikî Hesaplamalar</b>	38
3.	<b>BULGULAR</b>	39
3.1.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer GSH Düzeyleri</b>	39
3.2.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Börbek GSH Düzeyleri</b>	40



3.3.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Kalp GSH Düzeyleri</b>	41
3.4.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer MDA Düzeyleri</b>	42
3.5.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Böbrek MDA Düzeyleri</b>	43
3.6.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Kalp MDA Düzeyleri</b>	44
3.7.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer E Vitamini Düzeyleri</b>	45
3.8.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Böbrek E Vitamini Düzeyleri</b>	46
3.9.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer <math>\beta</math>-karoten Düzeyleri</b>	47
3.10.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Böbrek <math>\beta</math>-karoten Düzeyleri</b>	48
3.11.	<b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Kilo Kaybı Düzeyleri</b>	49
4.	TARTIşMA ve SONUÇ	50
5.	ÖZET	55
6.	SUMMARY	57
7.	KAYNAKLAR	59
8.	ÖZGEÇMİş	74



## SİMGELER ve KISALTMALAR

$O_2^-$	: Süperoksit
$OH^-$	: Hidroksil
NO	: Nitrik Oksit
$H_2O_2$	: Hidrojen Peroksit
DNA	: Dezoksiribonükleik Asit
$H^+$	: <b>Hidrojen İyonu</b>
Co	: Kobalt
$^{59}Co$	: <b>Kobaltın Radyoaktif İzotopu</b>
Hb	: Hemoglobin
$T_3$	: Triiodotronin
$T_4$	: Troksin
ATP	: Adenosintrifosfat
$H_2O$	: Su
$Fe^{2+}$	: Ferro iyonu
HOCl	: Hipokloröz asit
cGMP	: Siklik guanozinmonofosfat
ONOOH	: Peroksinitrit
O	: Singlet oksijen
$L^{\cdot}$	: Lipit radikali





LOO <sup>·</sup>	: Lipit peroksil radikali
MDA	: Malondialdehit
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	: Bikarbonat
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
Mn SOD	: Mitokondriayl süperoksit dismutaz
Zn SOD	: Çinko süperoksit d ismutaz
GSH	: Glutasyon
GSSH	: Okside glutasyon
NO <sub>2</sub>	: Azot dioksit
IGF -1	: <b>İnsülin benzeri büyüme faktörü</b>
CRP	: C reaktif protein
c.a	: <b>Canlı ağırlık</b>



## TABLOLAR DİZİNİ

TABLO ADI	SAYFA NO
Tablo I. <b>Bazı Kobalt ve İnorganik Kobalt Bileşiklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri</b>	6
Tablo II. <b>Reaktif O ksijen Türleri</b>	16
Tablo III. <b>Farklı Sanayi Kuruluşlarından Alınan Metallerin Etkileri</b>	17
Tablo IV. <b>Enzimatik Antioksidanlar</b>	18
Tablo V. <b>Enzimatik Olmayan Antioksidanlar</b>	19
Tablo VI. <b>Domates, Domates Kaynaklı Gıda Ürünleri ve Bazı Meyve ve sebzelerdeki Karotenoid Pr ofilleri Miktarları</b>	28
Tablo VII. <b>Farelere Verilen Gıdaların Bileşimi</b>	32



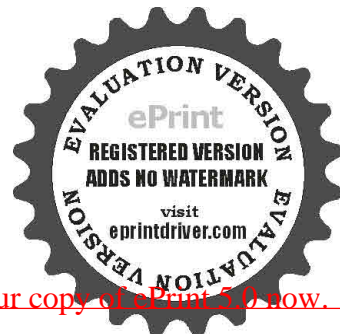
## ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL ADI	SAYFA NO
Şekil I. B12 Vitamini	7
Şekil II. Aktif Oksijen To plama Yetenekleri Çalışılmış Bazı Karotenoitlerin Kimyasal Yapıları	25
Şekil III. Likopenin Kimyasal Yapısı	26
Şekil IV. İnsanlarda Likopen Oksidasyonunun Olası Metabolik Yolları	27



## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>GRAFİK ADI</b>	<b>SAYFA NO</b>
Grafik 1.I. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer GSH Düzeyleri</b>	39
Grafik 1.II. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Börbek GSH Düzeyleri</b>	40
Grafik 1.III. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Kalp GSH Düzeyleri</b>	41
Grafik 1.IV. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer MDA Düzeyleri</b>	42
Grafik 1.V. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Böbrek MDA Düzeyleri</b>	43
Grafik 1.VI. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Kalp MDA Düzeyleri</b>	44
Grafik 1.VII. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer E Vitamini Düzeyleri</b>	45
Grafik 1.VIII. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Böbrek E Vitamini Düzeyleri</b>	46
Grafik 1.IX. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Karaciğer <math>\beta</math>-karoten Düzeyleri</b>	47
Grafik 1.X. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Böbrek <math>\beta</math>-karoten Düzeyleri</b>	48
Grafik 1.XI. <b>Kobalt Toksikasyonu Oluşturulan Farelerde Kilo Kaybı Düzeyleri</b>	49



## ÖNSÖZ

18. yüzyılın ikinci yarısıyla 19. yüzyılın ilk yılları arasında bir seri buluşun, enerji, tekstil, demir, çelik ve ulaştırma üretimlerini etkilemek yoluyla İngiltere'nin üretim karakterinde meydana getirdiği olaylar silsilesine sanayi devrimi adı verilmiştir. Yapılan bu devrimle, insanoğlu sanayilerin hammadde ihtiyacını karşılayabilmek için çeşitli arayışlara girmiş ve bunun sonucu olarak bir sürü maden ocağı açılmış ve bu madenlerde sayısız insan sağlıksız koşullarda çalışmak zorunda kalmıştır. Sağlıksız koşullarda çalışılan bu madenlerin çoğu ağır metal içerikli madenlerdir.

Çalışmamızda kullanılan ve çok toksik ağır bir metal olan kobalt; 1742 yılında metal olarak tanımlanmış ve 1780 yılında element sınıfına alınmıştır. Bu başlangıçtan itibaren kobaltın insanoğluna verdiği zararlar 1960'lı yıllara kadar keşfedilememiştir. Zararlarının keşfiyle birlikte günümüze kadar yaşanan süreçte; gelişmiş ülkeler, kobalt madenlerine gereken ilgiyi göstermemiş ve 3. dünya ülkelerindeki insan ölümlerine tepkisiz kalmıştır.

1970'li yıllara gelindiğinde kobalt madenlerinde çalışan işçilerde meydana gelen ölümlerin sebebini araştırmak amacıyla birkaç bilim adamı konuyla ilgili olarak araştırma yapmış ve kobaltın vücut için son derece toksik bir element olduğu kanısına ulaşmışlardır. Bu olayın tıbbi literatürlere girmesine rağmen, kobaltın en büyük üreticisi olan Zaire'de; sağlıklı çalışma şartları oluşturulmamış ve bu madenlerde çalışan insanlar çeşitli hastalıklarla uğraşmak zorunda kalmışlardır.

Çalışmamızda oluşturulan kobalt toksikasyonunun dokular üzerindeki olumsuz etkilerini likopen gibi güçlü bir antioksidanla azaltmanın mümkün olup olmayacağını araştırmayı amaçladık. Sonuçta kobalt toksikasyonu ile oluşan olumsuzlukların likopenle belirli bir oranda giderilebileceği kanaatine vardık.

Yüksek lisans programının her döneminde ve özellikle tez çalışmaların esnasında, benden zamanını ve desteğini hiç esirgemeyen danışmanım Doc. Dr. Ebru BEYTUT hocama, çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen anabilimdalı öğretim üye ve elemanlarına, laboratuvar analizlerinin yap



**çok büyük destekçim olan Doç. Dr. Muzaffer ALKAN'a, Aytekin ALİBEYOĞLU'na, Evren KOÇ'a, istatistiksel hesaplamalar konusunda yardımcı olan Yard. Doç. Dr. Muammer TİLKİ'ye, tezimi yazarken bana yardımcı olan değerli arkadaşım Gülşen ERİŞEN'e, yasal prosedürlerde yol gösterici olan Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına, ayrıca yüksek lisansımın ilk başlangıcında benden sevgisini esirgemeyen Annem'e ve kardeşlerime en içten teşekkürlerimi sunarım.**



## 1.GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

Son yıllarda toksik ve ağır metallerin tarımsal alanlarda yoğun miktarlarda kullanımı, bunların kimyasal ve endüstriyel faaliyetler esnasında ortaya çıkışı ile çevre kirliliği birçok bölgede canlı organizmalar için tehdit edici boyutlara ulaşmıştır. Çevre kirleticileri arasında otomobil eksoz gazları ve mineral yağları, maden ocaklarının tozları, elektronik ve demir-çelik üretimi gibi endüstriyel faaliyetler sonucu açığa çıkan ve çevreye yayılan atıklar, tarım ve hayvancılıkta kullanılan pestisit ve insektisitler, doğal kaynaklar veya toksik maddelerin depolandıkları alanlardan sızıntılar örnek verilebilir (Kaya ve ark., 1998). İnsan ve hayvanlar doğrudan solunum yolu veya besin zinciri aracılığıyla çevre kirleticilerine maruz kalarak önemli sağlık problemleri ile karşı karşıya kalabilirler (WHO, 1992).

Ağır metaller gibi birçok stres oluşturucu faktörler, organizmada oksidatif strese neden olarak süperoksitoksit ( $O_2^-$ ), hidroksil ( $OH^-$ ), nitrik oksit (NO) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasına, özellikle membran lipitlerinde peroksidasyona (Neckardien ve ark., 1991, Leon ve ark., 1998), antioksidan savunma sisteminin bozulmasına, proinflamatuvar (yangı teşvik edici moleküller) sitokinlerin sentezine bağlı yangının ortaya çıkışına, protein yapı bozukluklarına, nükleik asitlerin oksidasyonuna ve DNA tamir mekanizmasının olumsuz yönde etkilenmesine neden olur (Leon ve ark., 1998). Kobalt serbest oksijen radikal türlerinin üretimine doğrudan olmasada dolaylı olarak katkıda bulunan çok kuvvetli toksik bir metal olmakla beraber fenton reaksiyonları ile önemli serbest radikal kaynaklarına dönüşebilen  $H_2O_2$  (radikal olmayan) üreticisi olduğu bazı deneylerle kanıtlanmıştır (Neckardien ve ark., 1991). Kobaltın insanlarda kardiyomyopati, tiroid komplikasyonları, hematolojik değişiklikler ve immunolojik sisteme zarar verdiği ve izotoplarının bazı organlarda kanser gelişimine neden olduğu yapılan bazı araştırmalarla ortaya konmuştur (Horowitz ve ark., 1988; Leon ve ark.,1998).



Karotenoitler,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{O}^{2-}$  ve peroksil radikalleri ile etkileşime geçerek mükemmel bir radikal süpürücüsü olarak iş görürler. Yapılarındaki çift bağların yerleşik olmayan eşleşmemiş elektronlara bağlanması sonucu antioksidan aktivitesi gösterirler (Mortensen ve ark., 2001). Yüksek konsantrasyonlarında lipitleri peroksidasyon zararından korurlar. Serbest radikaller ile karotenoidler arasındaki etkileşimin açıklanmasında genel olarak üç mekanizma ileri sürülmektedir:

- 1-Serbest radikallere yeni bir radikal ekleme,
- 2-Yapısından bir  $\text{H}^+$  kopararak radikali etkisiz hale getirme,
- 3-Yapısından bir elektron transfer ederek radikali yüksüzleştirme şeklindedir (El-Agamey ve ark., 2004).

Likopen, çeşitli etkenlere bağlı olarak gelişen oksidatif stres sonucu açığa çıkan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında önemli bir antioksidan bileşiktir. Likopen  $\beta$ -karoten yapısında olup hidrokarbon zincirinin sonundaki asiklik halkanın açık olması sebebiyle etki yönünden diğer karotenoit bileşiklerden daha kuvvetlidir. Likopenin antioksidan, yangı giderici ve antikanserojen gibi önemli etkilerinin olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. (Lingen ve ark., 1959; Levy ve ark., 1995; Rao ve Agarwal, 1999). Likopen ayrıca kanser hücrelerinde kontrolsüz bir şekilde sentezlenen büyüme hormonu reseptörlerine bağlanarak, hücrelerin normal durumlarına geri dönmesini uyardığı ve enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek antienflamatuar etkili olduğu saptanmıştır (Rao ve Agarwal, 1999).

Plazma antioksidan kapasitesi, antioksidan bileşiklerin konsantrasyonlarına ve sinerjilerine bağlıdır. Bu olay özellikle oksidatif hasara karşı savunmada rol alan hidrofilik ve lipofilik antioksidanlar arasında bulunan etkileşimlerden oluşur (Osima ve ark., 1996; Harats ve ark., 1998). Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada; deneysel olarak akut kobalt toksikasyonu oluşturulan farelerin dokularında oksidatif hasarın oluşup oluşmadığını; aynı zamanda kobalt toksikasyonuna bağlı olarak oluşa





olumsuz etkilerin likopen gibi güçlü bir antioksidan tarafından ne ölçüde önlenebileceğini ortaya koymak amaçlanmıştır.

### 1.1.Kobalt (Co)

Kobalt, adını ortaçağda avrupa madencilerinin kurşun ve kalay madenlerinin üretimi esnasında oluşan, ergimeyen ve metalin aşınmasını engelleyen katı yapısı nedeniyle maden ruhu, şeytan anlamına gelen “**Kobold**” tanımlamasından almıştır. M.Ö. 2000’li yıllardan beri kobalt bileşikleri cam ve emayede mavi boya olarak kullanılmasına rağmen, element olarak 1742 yılında İsveçli araştırmacı G. Brant tarafından yeni bir metal olarak ve 1780’de Torbern Bergman tarafından bir element olarak tanımlanmıştır (Habashi, 1997; Sibley, 1975; Küchler ve Varlag, 1986). Yeryüzünde 25 mg/ton ortalama ile kobalt en az sıklıkla bulunan elementler grubundadır. Okyanus diplerinde bulunan mangan yumruları (% 0,25 Co) dışında, tahmini rezerv  $5,7 \times 10^6$  ton olarak tahmin edilmektedir (Sibley, 1975).

Kobalt (CAS No:7440–48–4) oda ısısında sert gümüş grisi görünümündedir. Dünya yüzeyinde en çok bulunan elementler arasında 33. sırada bulunan bir elementtir. Bu element her noktada değişik oranlarda bulunmaktadır. Hava, suların yüzeyi, tehlikeli atık sularda, yer altı sularında, çökeltilerde, çöplerde vs. bulunmaktadır (Sibley, 1975).

Kobalt (Atom Numarası:27) doğal olarak oluşan sabit izotoplu bir elementlidir ( $^{59}\text{Co}$ ) ve bilinen 26 radyoaktif izotopa sahiptir. Kobalt 3 değişik yük durumuna sahiptir. Çünkü kobaltın radyoaktif izotoplarının oluşabilmesi için ionize radyasyon yapılması gerekmektedir (Küchler ve Varlag, 1986).

#### 1.1.1.Kobaltın Kullanıldığı Alanlar

Kobalt stratejik ve endüstriyel uygulamalarda ve askeri alanda önem alanlarına sahiptir. Kobalt, en çok süper alaşım olarak jet motor tü



kullanılırken, malzemelere manyetiklik özelliği kazandırma, korozyondan korunma ve mekanik özelliklerin iyileştirilmesi amacıyla alaşımlarda, yüksek hız çeliklerinde, elmas takımlarında ve kesici uçlarda alaşım elementi olarak da kullanılır. Bileşikleri ise petrol ve seramik endüstrisinde katalizör ve boyalarda pigment, mürekkep ve verniklerde kurutma maddesi olarak kullanılır. Ayrıca pil elektrotlarında, her tip manyetik malzemelerde ve kayıt cihazlarında kullanılmaktadır (Shedd, 1995).

Günümüzde kobalt elementinin en büyük üreticisi Zaire'dir (%52). Kobaltı en çok kullanan ülke ise Amerika Bileşik Devletleri'dir (Shedd, 1995).

Havada bulunan toz halindeki kobaltın solunması ve kobalt tuzlarına deri teması neticesinde kobalt zehirlenmesi gerçekleşir. Toz halinde alınan element kobalt akciğerlerde çözünerek kana ve idrara karışır (Scansetti ve ark., 1985). Hayvanlarda yapılan deneylerde ince partiküllerin (20 nm) yarım saatte, kaba partiküllerin (11µm) 3-4 günde yarı yarıya çözüldüğü ortaya konulmuştur. Suda çözünürlüğü olmayan kobaltoksit (Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) solunum yolu ile alındığında vücut tarafından çok iyi emilmekte ve hücrelerde bir kaç günde çözünerek kana karışmaktadır. Suda çözünür kobalt bileşikleri ağız yolu ile alındığında % 75'i atılırken geriye kalan kobalt; kan, karaciğer, akciğer, böbrek, testisler ve bağırsaklarda toplanmaktadır (Swennen ve ark., 1993). Uzun süre kobalt tozuna maruz kalındığında, alerjik tepkilere ve kronik bronşite neden olmasına rağmen kobalt kaynaklı deri tahrişi ve hastalıklar çok nadir gözlenir ve etki iki ayrı gruba ayrılabilir. Birinci grup; vücudun bazı bölgelerinde meydana gelen kızarıklıklar (eritem) şeklinde; özellikle sıcak havalarda, ellerde kobalt temasından kısa süre sonra oluşur. İkinci grup; uzun yıllar kobalt bileşikleri ile temas sonucunda ortaya çıkan egzamadır (Demedts ve ark., 1994). Kobalt ve kobalt bileşiklerinin insanlar üzerinde kansere neden olduğuna dair henüz kesin bulgular olmamasına rağmen, kobalt bileşikleri risk teşkil etmektedirler ve kanserojen madde gibi muamele görürler. Kobalt içeren implant takılan bölgelerde tümör oluşumuna da rastlanmış ve hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, kobalt metalinin, suda çözünür kobalt bileşiklerinin kansere kanıtlanmıştır (National Toxicology Program, 1998). Buna rağmen kobalt



molibden içeren alaşımların, kobalt (II) sülfat ve kobalt (II) klorürün, kobalt–alüminyum–krom spinel oksitin, kobalt (II,III) oksit, kobaltnaftanat ve kobalt (III) asetatın kansere sebep olduğunu gösteren kesin veriler mevcut değildir (Habashi, 1997). Kobalt–oksitler ( $\text{CoO}$ ,  $\text{Co}_3\text{O}_4$ ), Kobaltkarbonat ( $\text{CoCO}_3$ ), kobaltklorürhegzahidrat ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), kobaltnitrathegza hidrat ( $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ) ve kobaltasetattetrahidrat ( $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) için akut oral zehirlenme sınırları sırasıyla; 1750, 630, 766, 691 ve 821 mg/kg’ dır (Habashi, 1997).

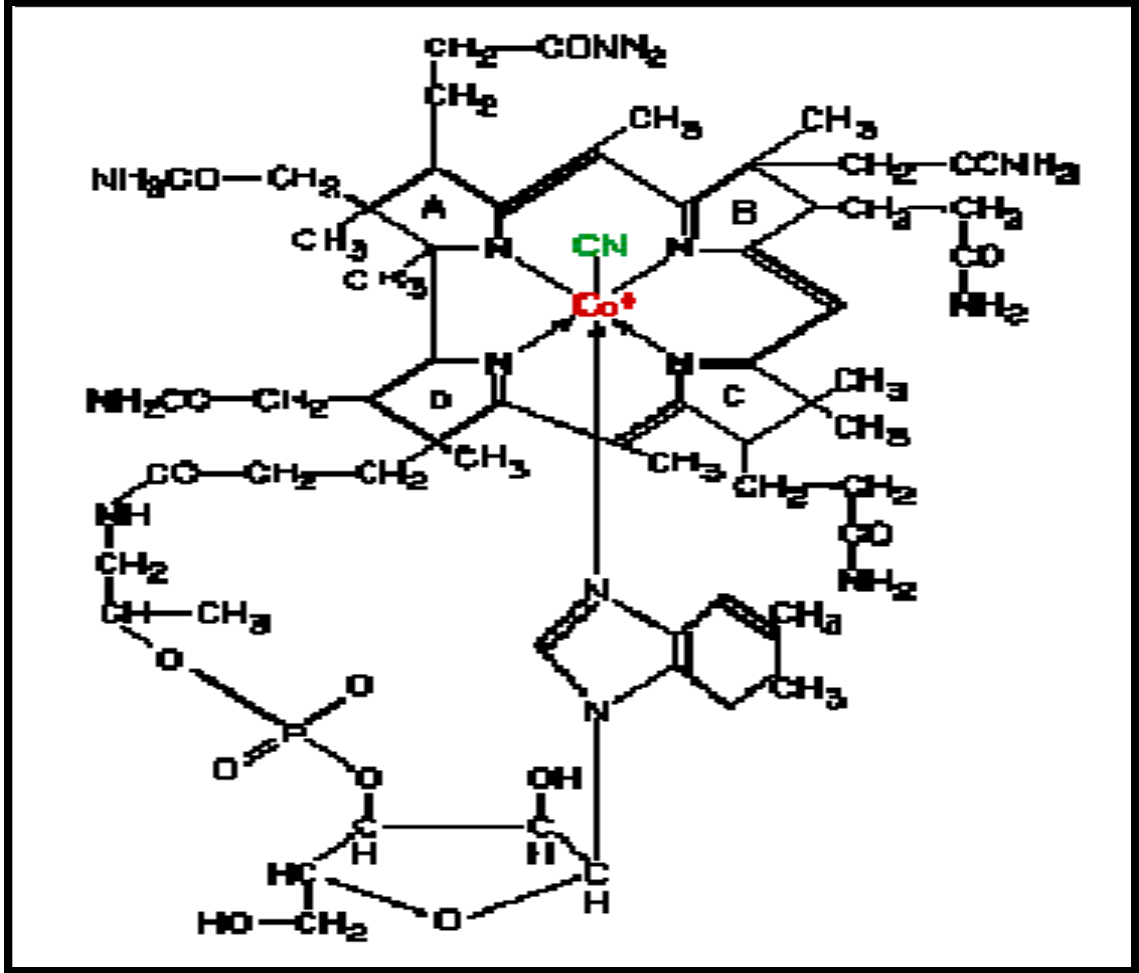
Günlük diyetle yaklaşık olarak 250  $\mu\text{g}$  kobalt alındığı bilinmektedir. Günlük besin ihtiyacımızda çok küçük bir yer teşkil eden kobalt, kırmızı kan hücrelerini üretiminin ve sinir düzenlenmesinde kullanılan  $\text{B}_{12}$  vitaminin bileşenidir (Mertz, 1987; Kendrick, 1992). İnsan vücudunda düşük konsantrasyonda bulunan  $\text{B}_{12}$  vitamininin (kobalamin) yapısı Şekil 1’de verilmiştir. Kobaltın vücuttaki normal miktarı 80–300  $\mu\text{g}$ ’ dır ve kırmızı kan hücrelerinde, karaciğerde, dalakta, böbrekte, pankreasta depolanır. Et, karaciğer, böbrek, midye, istiridye, süt, balık ve deniz yosunları ve daha düşük miktarda olmakla beraber kara sebzeleri (bakla tohumu, ıspanak, lahana, salata, pancar, incir) de kobalt içerir. Diğer taraftan sigara dumanında da kobalt bulunmaktadır.



**Tablo I.** Bazı kobalt ve inorganik kobalt bileşiklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri (WHO, 2006)

Species	CAS No.	Relative molecular mass	Molecular formula	Melting point	Solubility
Cobalt	7440-48-4	58.93	Co	1493 °C	Insoluble in water
Cobalt(II) acetate	71-48-7	177.03	Co(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	No data	Soluble in water, 2.1 g/100 g methanol
Cobalt(II) acetate tetrahydrate	6147-53-1	249.1	Co(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	140 °C	Very soluble in water
Cobalt(III) acetate	917-69-1	236.07	Co(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	Decomposes at 100 °C	Soluble in water, alcohol, acetic acid
Cobalt(II) carbonate	513-79-1	118.94	CoCO <sub>3</sub>	Decomposes	0.18 g/100 g water
Cobalt carbonyl	10210-68-1	341.9	Co <sub>2</sub> (CO) <sub>8</sub>	51 °C	Insoluble in water; soluble in ether
Cobalt(II) chloride	7646-79-9	129.84	CoCl <sub>2</sub>	724 °C	450 g/l water, 544 g/l ethanol, 86 g/l acetone
Cobalt(II) hydroxide	21041-93-0	92.95	Co(OH) <sub>2</sub>	No data	0.0032 g/l water
Cobalt(II) mesoporphyrin	21158-51-0	621.2	C <sub>34</sub> H <sub>34</sub> CoN <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	No data	No data
Cobalt(II) naphthenate	61789-51-3	407.0	Co(C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	140 °C	Insoluble in water
Cobalt(II) nitrate	10141-05-6	182.96	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Decomposes at 100–105 °C	Soluble in water (133.8 g/l), ethanol, acetone
Cobalt(II) nitrate hexahydrate	10026-22-9	291.03	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	55 °C	133.8 g/100 ml water at 0 °C
Cobalt(II) oxide	1307-96-6	74.93	CoO	1935 °C	Insoluble in water
Cobalt(III) oxide	1308-04-9	165.86	Co <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Decomposes at 895 °C	Insoluble
Cobalt(II,III) oxide	1308-06-1	250.80	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	-O <sub>2</sub> at 900–950 °C	Insoluble
Cobalt(II) sulfate	10124-43-3	154.99	CoSO <sub>4</sub>	Decomposes at 735 °C	36.2 g/100 ml water at 20 °C
Cobalt(II) sulfate heptahydrate	10026-24-1	281.1	CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	96.8 °C	60.4 g/100 ml water at 3 °C
Cobalt sulfide	1317-42-6	91.0	CoS	>1116 °C	Insoluble in water



Şekil I. B<sub>12</sub> Vitamini

Kobalt vücutta yapı taşı olarak bulunur ve anemiye engeller, ayrıca B<sub>12</sub> vitaminin yorgunluk, sindirim kolaylığı ve kas problemlerinin giderilmesine faydası vardır. Yetersiz kobalt alınımında pernisiyöz (zararlı) anemi ve sinirlerde bozukluk gibi pek çok problemler ve semptomlar ortaya çıkar. Ancak yeterli B<sub>12</sub> vitamini alınarak etkiler ortadan kaldırılabilir. Vejeteryen insanların yeterli B<sub>12</sub> ve kobalt alıp-almadıklarına ve yaşadıkları bölgede toprak seviyesindeki kobalt miktarına bağlı olarak bitkilerde bulunan kobalt miktarının azaldığına özellikle dikkat edilmelidir (Kendrick, 1992).



### 1.1.2.Kobaltın Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Yaptıkları iş sebebiyle toz veya katı haldeki kobalta maruz kalan ağır metal işçilerinde; kalp hipertrofisi (Jarvis ve ark., 1992; Barborik ve Dusek., 1972) ve\veya ventriküllerdeki fonksiyonel bozukluklarla (Horowitz ve ark., 1988) kendini gösteren kardiyomiyopati oluştuğu görülmüştür. Fakat insanlarda solunum yoluyla alınan kobaltın oluşan bu kardiyak etkilerine karşılık, kişilerin kobalta maruziyet seviyesi tespit edilememiştir. Yine kobalta inhalasyon yoluyla maruz kalan bir grup işçide, kobaltın neden olduğu interstitial akciğer hastalığının bağlı olarak olduğu anlaşılmıştır (Demedts ve ark., 1994).

Jarvis, (1992) tarafından rapor edilen ve kardiyak rahatsızlıkları nedeniyle acile alınan iki hastanın (maruziyet tarihi belirtilmemiş), tarafından rapor edilen rahatsızlıkların kobalta maruz kalınmasıyla ilgili olabileceği bildirilmiştir. Barborik ve Dusek, (1972) tarafından bildirilen bir çalışmada, kobalta mesleki sebepler dolayısıyla maruz kalan ve kalp yetmezliği sebebiyle hastaneye yatırılan 41 yaşındaki bir hastanın kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve dalaktaki kobalt bileşiklerinin, kontrol grubu adı altındaki diğer iki hastaya göre yüksek olduğunu tespit edilmiştir. Horowitz, (1988) ağır metal işinde çalışan 30 kişilik bir işçi grubu ile ilgili bir raporunda kontrol grubu olarak adlandırılan sağlıklı bireylerin akciğer filmleriyle işçi grubunun verileri karşılaştırdığında işçi grubunun tamamında sağ ventrikül ejeksiyonunda önemli bir düşüş olduğunu gözlemlemiştir. Kobaltın kalp üzerine yaptığı bu etkiler irdelendiğinde; solunum yoluyla alınan kobaltın kalbide etkileyebildiğini ve kobaltın kardiyomiyopatik bir ajan olduğunu söylemek mümkündür. Hem insan hem de hayvanlarda oral yolla maruz kalınmanın ardından oluşan kardiyomiyopati kobaltın ayırt edici toksik bir etkisidir.



### 1.1.3.Kobaltın Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri:

Kobaltın inhalasyon yoluyla alınabildiğinin ve vücutta özellikle kalbe zarar verdiğinin anlaşıldığı süreye kadar gastrointestinal sistem üzerine herhangi bir çalışma yapılmamıştır. 104 hafta 1,14mg/kg kobalt, 13 hafta 11,4mg/kg kobalt ve 76mg/kg ya da bu miktardan daha az kobaltın 16 günden az uygulanmasında bile erkek ve dişi farelerin rektum, kolon, çekum, jejunum, ileum, duodenum, mide ve özofaguslarında hiçbir histolojik lezyon tespit edilmemiştir ( National Toxicology Program, 1991).

### 1.1.4.Kobaltın Kas-İskelet Sistemi Üzerine Etkileri:

Erkek ve dişi farelere farklı doz ve sürelerde uygulanan kobaltın kemik ilikleri de dahil, sternumda hiçbir dokusal lezyona neden olmadığı tespit edilmiştir (National Toxicology Program, 1991).

### 1.1.5.Kobaltın Hematolojik Sistem Üzerine Etkileri:

82 kişilik bir işçi grubunun inhalasyon yoluyla maruz kaldığı kobalt toksikasyonu sonucu, işçilerin hemoglobin (Hb) ve eritrosit sayısında önemli azalışlar tespit edilmiştir (Swennen ve ark., 1993). Başka bir çalışmada (Palmer ve ark., 1959) 9 mg/kg Hidrokarbonil kobalta 3 ay boyunca maruz kalan kobay ve ratlarda hemoglobin, monosit ve bazofil miktarlarında artış gözlemlenmiştir. Yine 1,14 mg/kg kobalt sülfata 13 hafta süre ile maruz kalan ratlarda polistemi rapor edilmiştir (National Toxicology Program, 1991).

### 1.1.6.Kobaltın Karaciğer ve Böbrek Üzerine Etkileri:

4 yıl süre ile kobalta maruz kalan bir metal işçisinin otopsisinde ölüm nedeni kardiyomiyopati olarak tanımlanmakla birlikte karaciğerinde hematoma gözlemlenmiştir (Barborik ve Dusek, 1972). Yine 0,11mg/kg kobalt sülfat



erkek ratların böbrek ağırlıklarında önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir (National Toxicology Program, 1991). Bununla birlikte farklı doz ve sürelerde kobalta maruz bırakılan farelerle ilgili bir çalışmada (Bucher ve ark., 1990), yapılan histolojik incelemeler sonucu farelerin böbreklerinde herhangi bir histopatolojik bozukluğa rastlanılmadığı ifade edilmiştir. Benzer şekilde 3 ay boyunca 1 mg/kg kobalt sülfat uygulanan domuzların böbreklerinde hiçbir olumsuzluğa rastlanılmadığı bildirilmiştir (Kerfoot ve ark., 1975).

### 1.1.7.Kobaltın Endokrin Sistem Üzerine Etkileri

Mesleki sebeple kobalt çinko esterine maruz kalan bir grup bayan işçide, triiodotronin (T<sub>3</sub>) düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken, troksin (T<sub>4</sub>) miktarlarında ise önemli artışlar olduğu bildirilmiştir (Prescott ve ark., 1992). Bunun aksine Swennen ve ark., (1993) yapmış olduğu bir çalışmada, kobalt tuzu ve kobalt oksidasyonlarına maruz kalan işçilerin T<sub>3</sub> seviyelerinde önemli azalışlar kaydedilirken, T<sub>4</sub> miktarlarında herhangi bir değişiklik olmadığı ifade edilmiştir.

### 1.1.8.Kobaltın Göz Üzerine Etkileri

4 yıl boyunca kobalta maruz kalan bir metal işçisinin yapılan otopsisinde gözlerinde konjuktif hematom bildirilmekte birlikte, ölüm nedeninin kardiyomyopati olduğu belirlenmiştir (Barborik ve Dusek, 1972). Bununla birlikte farklı konsantrasyonlarda kobalt sülfata akut ve kronik olarak maruz kalan fare ve ratların deri ve gözlerinde herhangi bir histolojik lezyon bildirmemişlerdir (National Toxicology Program, 1998).

### 1.1.9.Kobaltın Vücut Ağırlığı Üzerine Etkileri

Fakat kobalta ne kadar maruz kaldığı rapor edilmemiştir. Kobalta (kobalt sülfat halinde) 13 hafta süre ile 11,4 mg/kg ve 16 günden fazla süre ile 19 mg<sup>”</sup> bırakılan fare ve ratlarda rapor edilmiştir (National Toxicology Program, 19





13 hafta süre ile 11,4 mg/kg kobalt uygulanan erkek ratların kürklerinde döküntüler bildirmiştir (Bucher ve ark., 1990). Ancak bununla birlikte 1,14 mg/kg kobalta kronik olarak maruz kalan fare ve ratların vücut ağırlığında herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir (National Toxicology Program, 1998). 3 ay boyunca 9mg/kg kobalt hidrokarbonile maruz kalan köpeklerde kilo kaybı bildirilmekle birlikte, kobay ve sıçanlarda herhangi bir kilo kaybı tespit edilmemiştir (Palmer ve ark., 1959). Yine aynı miktardaki kobalt oksite yaşam boyunca maruz bırakılan hamsterlerin, vücut ağırlıklarında herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Wehner ve ark., 1977).

### 1.1.10.Kobaltın Kansere Olan İlgisi

Rafine edilmiş ve geliştirilmiş kobalt ve sodyum bulunan bir fabrikadaki 1143 çalışanın ölüm sebepleri incelenmiş ve bu incelemede Fransa Ulusal Ölüm Oranı bilgileri referans olarak kullanılmıştır. Kobalta maruz kalan işçilerde yaygın olarak görülen nonneoplastik akciğer kanseri ölüm oranının % 4,66 olduğu rapor edilmiştir (Mur ve ark., 1987).

Lasfergues ve ark., (1998) yapmış olduğu bir çalışmada Fransız Ulusal Erkek Nüfusu Oranlarını kullanarak, ağır metal fabrikasında çalışan 709 erkek işçinin ölüm nedenini araştırmış ve akciğer, bronş ve trakea kanserleri nedeniyle ölenlerin oranında önemli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Bunun nedeninin ise üretilen kobalt metalinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Yine mesleki nedenle kobalt ve tungstene maruz kalan farklı sayıdaki metal işçilerinin akciğer kanserinden ölüm oranlarının yüksek olduğu, bunun nedeninin de büyük oranda kobalt toksikasyonundan kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır (Moulin ve ark., 2001).

Ancak yapılan başka çalışmada ise (Wehner ve ark., 1977), yaşamları boyunca belirli aralıklarla kobalt oksite 7,9 mg/kg dozunda maruz kalan hamsterler veya malign tümör artışına rastlanılmadığı ifade edilmiştir.



## 1.2.Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler

### 1.2.1.Serbest Radikaller

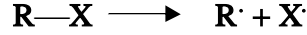
Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama eğer zincir reaksiyonlar kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur. Bilim adamları 1954'den beri serbest radikallerin yaşlanma ve dejeneratif hastalıklara neden olduğunu bilmektedirler.

Moleküllerin çoğu çift elektronlu, az sayıdaki molekül ise tek elektronludur. Tek, yani eşleşmemiş elektronlu olan bu moleküller, bulabilecekleri herhangi bir molekül ile etkileşime girerek bu molekülden elektron alır ya da ona bir elektron verirler. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere "serbest radikaller", "oksidan moleküller" ya da "reaktif oksijen türleri" denir (Halliwell ve Chirico, 1993). Serbest radikal, en dış orbitalinde eşleşmemiş bir elektron içeren herhangi bir atom, atom grubu ya da moleküldür (örneğin: nitroz oksid [NO] ya da azot dioksid [NO<sub>2</sub>]). Bir radikal, dış orbitallerinde eşleşmemiş iki elektron içerir (örneğin: moleküler oksijen [O<sub>2</sub>]). Radikal iyon ise pozitif (örneğin:[H<sub>3</sub>N<sup>+</sup>]) ya da negatif (örneğin: [O<sub>2</sub><sup>-</sup>]) bir yük taşıyan serbest radikaldır (Pryor, 2000). Atomik ya da moleküler yapıda eşleşmemiş tek elektron içeren bu bileşikler reaktif özellik taşırlar. Serbest radikaller, negatif yüklü elektron sayısının çekirdekdeki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküller oldukları için stabil değildirler ve elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengelemeleri gerektiğinden çok reaktiftirler. Oksijen radikali serbest elektronunu eşleştirmek için başka bir molekülden elektron aldığında diğer molekülü kararsız hale getirir. Bu nedenle, serbest radikaller vücutta önemli moleküllere zarar veren bir seri tepkimeyi başlatabilirler (Cheeseman ve Slater, 1993; Halliwell ve Chirico, 1993).

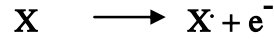


### 1.2.1.1. Serbest radikaller üç şekilde oluşabilir (Cheeseman ve Slater, 1993):

1- Kovalent bağı oluşturan elektronlardan birinin bağ atomlarından birinde, diğerinin ötekisinde kalmasıyla sonuçlanan homolitik bağ kırılmasıyla;



2- Bir molekülden bir elektronun ayrılmasıyla;



3- Bir moleküle bir elektronun katılmasıyla;

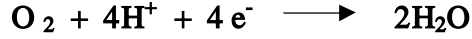


Moleküler oksijen, bir radikal olarak nitelendirilir, her biri farklı orbitallerde yer alan fakat aynı spin kuantum sayılarına sahip olan iki eşleşmemiş elektron içerir. Bu paralel spinli eşleşmemiş elektronlardan dolayı, moleküler oksijeninin reaktif diğer radikallere kıyasla aktifliği düşük, stabilitesi yüksektir (Fridovich, 1997; Reiter, 1998). Oksijen hem tek hem de dört elektron olarak indirgenmeye uğrayabilir. Oksijenin tek elektronlu indirgenmesi ve oksijenin suya dönüşümü esnasında birçok serbest radikal ürünü ve oldukça reaktif türler oluşur (McCord, 1974; Cheeseman ve Slater, 1993). Anaerobik canlılar da dahil olmak üzere her canlıda toksik etkili olan doğrudan moleküler oksijen değil, oksijenin tam olmayan indirgenmesi ile oluşturulan bu oksijen radikalleridir.

Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağı, elektron transport zincirinden elektron sızıntısıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fo:

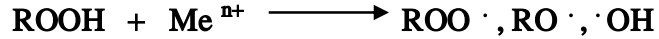


zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondrial süperoksit radikali üretimi artar. İnsan hücrelerine giren oksijenin %90'ından fazlası, mitokondrial sitokrom oksidaz tarafından enerji üretimi için kullanılır; iki su molekülünün oluşumu ile sonuçlanan bu işlemler süresinde, her bir oksijen molekülü 4 e<sup>-</sup> ilavesiyle indirgenir.



Ancak, hücre içine alınan oksijenin tahminen %1-4'ünün kısmen indirgenmiş oksijen türlerine yani reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüştüğü bilinmektedir (Floyd, 1999).

Metal iyonları, hidroperoksitlerin yıkımında katalizör olarak davranarak çok sayıda radikal ve toksik türlerin oluşumuna neden olurlar.



Biyolojik sistemler için oldukça reaktif ve toksik maddeler olan serbest radikaller, oksijenin toksik etkisinin gerçek nedenini oluştururlar. Serbest radikal, eşleşmemiş tek elektronunu bir başka moleküle vererek onu indirgeyebilir ya da bir başka molekülden elektron alıp onu yükseltgeyerek yapısında yeni bir elektron çifti oluşturabilir. İki serbest radikalın tepkimesi sonucunda radikal özellik ortadan kalkar. Ancak bir radikal, radikal olmayan bir moleküle tepkimeye girerse başka bir radikal oluşur. Bu özellik, radikallerin zincir tepkimelerde rol oynamasına neden olur. ROS, özellikle OH<sup>-</sup> ve ONOO<sup>-</sup>, lipid, protein ve DNA'da fonksiyonel değişikliklere neden olabilir. Poli doymamış yağ asitlerindeki moleküler oksijen, OH<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksil ve alkoksil radikallerini içeren ROS'un olduğu bir zincir reaksiyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan oksidatif lipid hasarı, membran akışkanlığında ileri derecede kayba neden olur, membran potansiyelini indirger ve Ca<sup>2+</sup> gibi iyonların geçirgenliğini artırır. Sonuçta hücre ölümü gerçekleşir (Reiter, 1998).



ROS, proteinlere de zarar verebilir.  $Fe^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  gibi redoks döngüsündeki katyonlar, proteinlerin katyon bağlanma bölgelerine bağlanabilir, bu bölgeler daha sonra  $H_2O_2$  ve  $O_2^- \cdot$  saldırısına maruz kalır ve böylece aminoasitlerdeki amin grupları karbonillere dönüştürülür. Oksidatif hasar, enzimleri ya aktive ya da inaktive eder. Enzimlerdeki oksidatif hasar, onların proteolize karşı hassasiyetini arttırabilir (Mascio ve ark., 1991; Cheeseman ve Slater, 1993).

ROS, ayrıca DNA hasarına da neden olabilir.  $OH\cdot$ , riboz fosfatları, pirimidin nükleozid ve nükleotitlerini modifiye eder ve DNA'nın bel kemiği olan şeker fosfatı ile reaksiyona girer. Oksidatif DNA hasarının bir ölçütü olan 8-hidroksideoksiguanosin (8-OHDG) miktarını artırır (Cross ve ark., 1987; Karbownik ve Reiter, 2000).

#### **1.2.1.2.Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hastalıklar:**

- Kanser
- Hipertansiyon
- Yüksek kolesterol
- Parkinson
- Romatoid artrit
- Deri Hastalıkları
- Kas Hastalıkları
- Göz Hastalıkları
- Damar Hastalıkları
- Alzheimer
- Ateroskleroz
- Diabet
- Kalp Hastalıkları
- Yaşlanma



Reaktif oksijen türleri, iki ana başlık altında incelenmektedir (Tablo II).

**Tablo II:** Reaktif oksijen türleri

<b>Radikaller</b>	<b>Radikal Olmayanlar</b>
Süperoksit anyon radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil radikali ( $OH\cdot$ )	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil radikali ( $ROO\cdot$ )	Hipohalöz asit (HOX)
Alkoksil radikali ( $RO\cdot$ )	N Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikali ( $HQ\cdot$ )	Singlet oksijen ( $^1O_2$ )
	Ozon ( $O_3$ )
	Azotdioksit ( $NO_2$ )

Serbest radikaller, iyonizan radyasyon, stres yapıcı durumlar, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda vücuttaki biyolojik fonksiyonların yan ürünü olarak oluşurlar (Akkuş, 1995).

Serbest radikal oluşumuna sigara, pestisitler, çözücüler, petrokimya yan ürünleri, ilaçlar, alkol, güneş ışınları, X-ışınları, hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler neden olur. Hatta ve hatta ağır bedensel aktiviteyle de oksijen kullanımındaki artışla beraber serbest radikal oluşumuna neden olur. Hücrelerde serbest radikal üretimi, bazı yabancı toksik maddeler tarafından da büyük oranda artırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler veya antioksidan aktiviteyi düşürürler (Cross ve ark., 1987). Son yıllarda yapılan çalışmalar (Wang ve ark., 1993; Scansetti ve ark., 1985), önemli endüstriyel ve çevresel kirleticilerden esansiyel olmayan toksik ağır metallerin oksidatif hasarda etkin rol oynadığını göstermektedir.

Metaller insan faaliyetlerinin sonucu olarak doğal çevrimler dışında atmosfere, hidrosfere ve pedosfere yayılmaya başlamışlardır. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metalleri etkilerini bilmeden takı, silah, su borusu vb çeşitli amaçlar için kullanmışlardır. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlanması i bölgelerindeki ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmıştır.



**Tablo III** : Farklı sanayi kuruluşlarından kaynaklanan metal kirlilikleri

Endüstri	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
<b>Kâğıt Endüstrisi</b>	-	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<b>Klor -Alkali Üretimi</b>	+	-	+	-	+	+	-	+	+
<b>Gübre Sanayi</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+
<b>Metal San ayi</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Enerji Üretimi</b>	+	-	+	+	+	+	-	+	+
<b>Gıda Sanayi</b>	+	+	-	+	+	+	-	-	+

Birçok metal içme sularıyla alınır. Bazı metaller ise kirliliklerle ve gıdalarla alınabilir. Yeraltı suları mineral yataklarından geçerken metaller suda çözünür ve zararlı hale gelirler. Ağır metaller konsantrasyon sınırını aştıkları zaman toksik etki gösterirler. Ağır metallerin, elektron paylaşım afinitesi yüksektir ve kovalent bağ yapma yeteneğine sahiptirler. Bu bağ, ağır metallerle sülfidril bağı içeren proteinler arasında oluşur. Metallerin toksik etkilerinin asıl nedeni de budur.

### 1.3.Antioksidan Sistemler

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” ya da kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Bu moleküller, serbest oksijen radikallerine bir hidrojen iyonu vererek, bu radikalleri kendilerine bağlayarak ya da onları daha zayıf bir moleküle çevirerek radikal hasarını önlerler.



Antioksidanların yararlarını;

- Bağışıklık sistemini güçlendirme
- Kan dolaşımını düzenleme
- Kalp-damar sağlığını koruma
- Yaşlanma etkilerini azaltma
- Bağı dokusunu güçlendirerek cilt sarkmasına engelleme
- Kırışıklıkları giderme
- Eklemelerde bükülme zorluğuna karşı hareketliliği kolaylaştırma
- Yaralarda hızlı iyileşmeyi sağlama
- Cildi dış etkilere koruma (kozmetik alanında)
- Romatizma ve eklem ağrılarını giderme
- Ateroskleroza ve kötü huylu kolesterolü engelleme şeklinde sıralayabiliriz.

Antioksidanlar, **enzimatik** ve **enzimatik** olmayanlar şeklinde ikiye ayrılırlar.

**Tablo IV** : Enzimatik antioksidanlar

<b>Süperoksit dismutaz</b>	Süperoksit anyonunun detoksifikasyonu
<b>Glutasyon Peroksidaz</b>	Hidrojen peroksidin detoksifikasyonu
<b>Katalaz</b>	Hidrojen peroksidin detoksifikasyonu
<b>Glutasyon -S-transferaz</b>	Lipid peroksidlerinin detoksifikasyonu





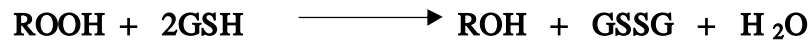
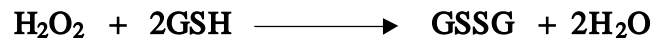
**Tablo V** : Enzimatik olmayan antioksidanlar

<b>Glutasyon</b>	Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlar.
<b><math>\alpha</math>-tokoferol</b>	Lipid peroksidasyon zincirini kırar.
<b>Askorbik asit</b>	Radikal tutucu etki gösterir.
<b>Sistein</b>	Elektron vererek organik molekülleri indirger.
<b>Transferin</b>	Dolaşımdaki demir iyonlarını bağlar.
<b>Seruloplazmin</b>	O <sub>2</sub> 'nin detoksifikasyonu sağlar, bakır iyonlarını bağlar.

Süperoksit dismutaz (SOD, E C. 1.15.1.1), süperoksit anyon radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (McCord ve ark., 1969; Beauchamp ve ark., 1971; Heikkila ve ark., 1976; Shimizu ve ark., 1984; Reddyve ark., 1988) .

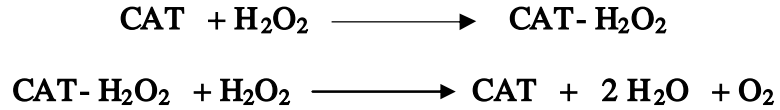
**SOD**

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px; EC. 1.11.1.9), hem hidrojen peroksidi detoksifiye eder hem de lipid hidroperoksitlerin toksik olmayan alkollere indirgenmesini katalizler (Wheeler ve ark:1990).

**GSH-Px****GSH-Px**

GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.

Katalaz (CAT; EC 1. 1. 1. 6), hidrojen peroksidin oksijen ve suya dönüşümünü katalizler (Shimizu ve ark., 1984)



Glutatyon-S-transferaz (GST; EC 2. 5. 1. 18 ), antioksidan özelliği olan bir diğer enzimdir. Glutatyon-S-transferaz, herbiri iki alt birimden oluşan bir dimerik enzimdir ve başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı bir savunma mekanizması oluşturur (Ceballos ve ark., 1992).



Karaciğerde genetik bilgiye gereksinim olmadan sentezlenebilen ve bir tripeptid olan glutatyon ( $\gamma$ -Glu-Cys-Gly; GSH), hem indirgenmiş (sülfidril) hem de yükseltgenmiş (disülfid) formda bulunabilir. Ancak, glutatyon redüktaz (GR) enziminin fonksiyonu nedeniyle in vivo'da baskın olarak indirgenmiş formda bulunur.



Glutasyon hem nükleofilik hem de indirgen özellik göstermesi nedeniyle, elektrofilik ve oksitleyici moleküllerle reaksiyona girerek nükleik asit ve proteinleri radikal hasarına karşı korur (Bump ve ark., 1990; Cereser ve ark.,2001).

### 1.3.1. Doğal Antioksidanlar

Antioksidan Besinler; Beta karoten (Vitamin A) , Vitamin C, Vitamin E, selenyum ve manganez içerir . Beta Karoten, oksijen molekülünden serbest radikallerin oluşumunu önler. Yağda çözünen vitamin E, antioksidan bir enzim gibi çalışıp hücre zarının parçalanmasına engel olur. Selenyum, peroksit olarak isimlendirilen serbest radikalleri çoklu-doymamış yağlara dönüştüren ve antioksidan etkili bir elementtir. Suda çözünen vitamin C, hücrelerdeki zararlı reaksiyonların oluşmasını engeller. Bu yolla antioksidan gıdalar; kalp hastalıklarına, kalp krizine, kansere ve erken yaşlanmaya karşı etkili bir koruyucu olarak görev yaparlar (Kojjo, 2004; Burton ve Ingold, 1989; Pryor, 2000).

Yağda çözünen en önemli antioksidan E vitamini, elektron donörü gibi iş görerek, E vitamini radikalini tekrar redükleyerek E vitamini haline getirir. Vitamin A ve beta-karoten bazı durumlarda antioksidan gibi davranır. Ayrıca biyoflavonoidler de antioksidan özelliğe sahiptir. Koenzim Q bir fenoldür ve o da pek çok dokuda E vitamini gibi davranır. Lipoik asit ve glutasyon kükürt içerikli bileşiklerdir, hidrojen atomu donörü gibi davranarak fenoller gibi görev yaparlar (Carr ve Frei, 1999).

E vitamini (Alfa-tokoferol) bir radikal tutucudur. Amerikalı uzmanların yaptıkları araştırmalara göre; hava kirliliği ve sigaraya bağlı olarak tahrip olan hücrelerin yenilenmesin dede önemli bir yere sahip olan E vitamini aynı zamanda beyin ve bağışıklık sisteminin yenilenmesinde de son derece etkili olduğu belirtilmektedir (Pryor, 2000).



Yıllardan beri yapılan pek çok araştırma, C vitamininin etkili bir anti-kanser ajanı olduğunu bulmuştur. Çalışmalar C vitamininin antioksidan özelliğinin kanseri yenmede birkaç yolla olduğunu savunmaktadır. Lipitlerin peroksidasyonunu önleyerek dejenerasyon ve yaşlanma olaylarında etkilidir. Yetişkin insanlarla yapılan bir çalışma bir yıl süreyle günlük 400 mg C vitamininin serumdaki lipit peroksidlerini azalttığını göstermiştir. Vitamin C aynı zamanda DNA'ya verilebilecek serbest radikal hasarlarını da engellemektedir. Ayrıca vitamin C'nin genetik değişiklikleri ve kromozom bozulmalarını engellediğini göstermektedir (Burton ve Ingold, 1989).

Flavonoidler dışında hiçbir bitki bileşik grubu farmasötik bakımdan bu kadar geniş spektrumlu bir potansiyel oluşturmamıştır. Flavonoidler, potansiyel antioksidanlar olarak serbest radikal sönmeyicileri ve metal şelatörleridir. Lipid peroksidasyonunu durdururlar ve anti-alerjik, anti-karsinolitik, anti-hipertansif, anti-artirik aktiviteler gibi çeşitli fizyolojik aktiviteler gösterirler. Ayrıca, flavonoidler, kan-damar etkileşimi ve geçirgenliği, tümörlerin hücrede yayılımı ve antiviral etkiler gibi birçok kronik hastalığın ilerlemesini engelleyen terapötik etkilere sahiptirler (Das ve ark., 1994; Robards ve ark., 1997).



#### 1.4.Karotenoidler

Karotenoidler tetraterpen ailesinden olup 600'den fazla doğal çeşidi bulunur. Hayvan ve insanlarda sentezlenmeyip dışarıdan besinler ile alınır. Bitki, bakteri, alg ve mantarlar tarafından sentezlenebilir. Karotenoidler yapısal olarak iki sınıfa ayrılır: yalnız hidrojen ve karbon atomu içeren karotenoidler ve yapılarında en az bir oksijen atomu taşıyan oksokarotenoidlerdir. Çift bağ numaralarına göre; belirli moleküller için birkaç *cistrans* konfigürasyonu olabilir. Örneğin bakterilerde çift bağ *trans* konfigürasyonunda iken bitkilerde ve mantarlarda *cis* konfigürasyonundadır.

İnsan ve hayvanlarda, özellikle likopen ve â-karoten olmak üzere karotenoidler, diğer antioksidanlarla beraber veya onları tetikleyerek peroksil ve singlet oksijen radikallerinin etkisi ile oluşan fotooksidatif sürece karşı koruyucu rol oynarlar. Karotenoidlerin, yapılan hayvan denemeleri (Giron ve ark., 1997; Kim ve ark., 1998; Okijima ve ark., 1998) ve insanlarda *in vitro* kanser hücrelerinin inhibisyonunda (Pastori ve ark., 1998; Amir ve ark., 1999) rol oynadığı saptanmıştır. Likopenin akciğer, kolon, göğüs ve prostat kanserlerinin oluşumunu engelleyen besinlerden olduğu birçok araştırmacı tarafından kabul edilmiştir (Van Poppel, 1993; Van Poppel ve Gloodbohm, 1995; Giovanucci, 1999). Bu çalışmada bir karotenoid türeviden olan likopen kullanıldığı için ayrı bir başlık olarak geniş bir şekilde aşağıda ele alınmıştır.



### 1.5.Likopen ve Özellikleri

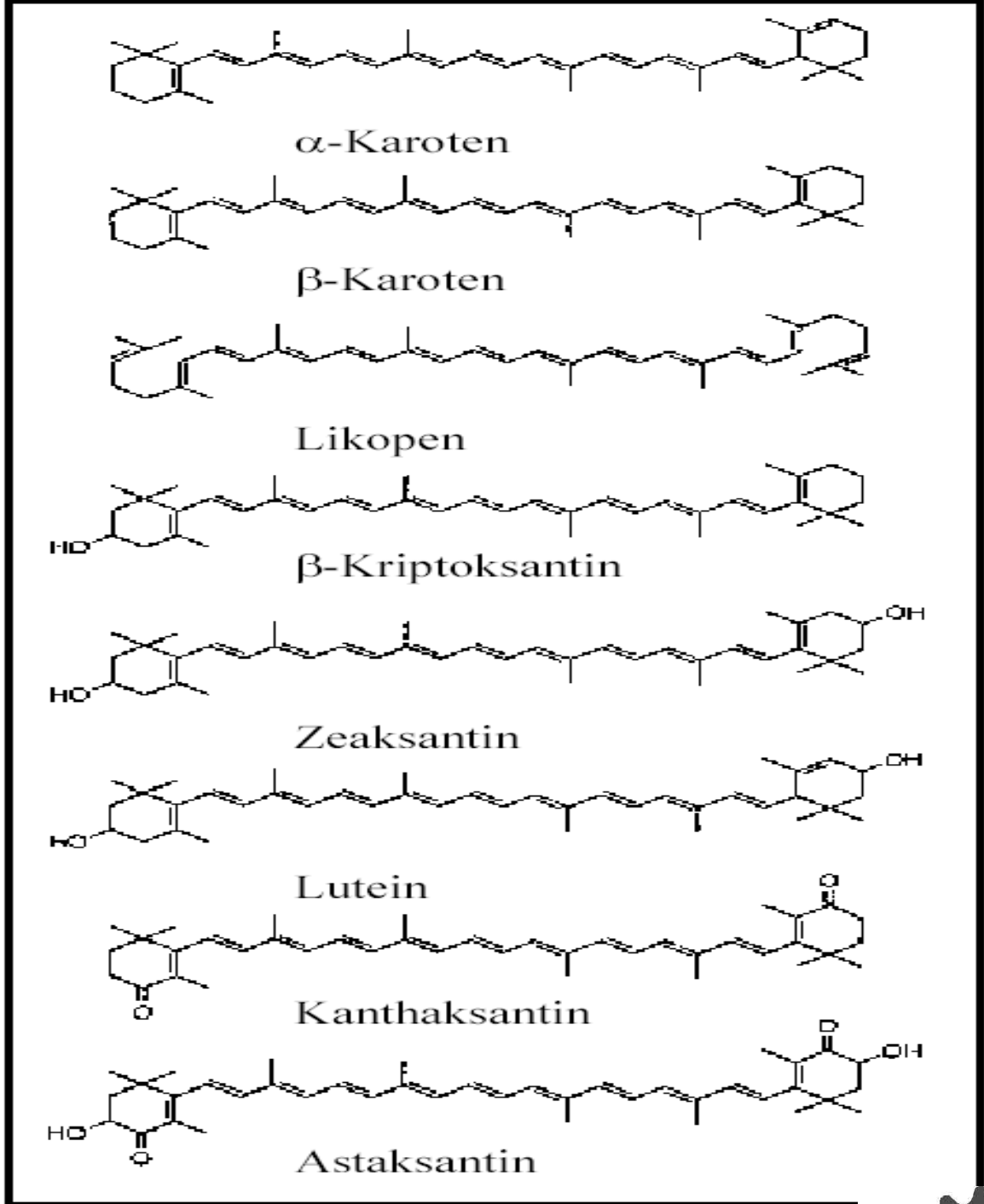
Önemli bir karotenoid olan likopen en fazla domates (*Lycopersicum esculentum*)’de olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunur ve onlara kırmızı rengini verir (Stahl ve Sies, 1996; Yaping ve ark., 2002). Karotenoidler ise en önemli kaynağı bitkiler olan doğal olarak görülen pigmentlerin geniş oranda dağılmış bir grubudur. Genellikle kırmızı, sarı ve turuncu renklidir. Parlak renkleri, yeşil sebze ve yapraklarda olduğu gibi klorofilik pigmentlerce maskelenmiştir. Olgun bitkilerde klorofil içeriğinin azalması sonucu domates, portakal, karpuz gibi çoğu meyvenin güzel renkleri ortaya çıkar. Karotenoidler, bitkilerin fotosentezi için ışık toplama, özellikle de yıkıcı fotooksidasyona karşı koruyucu olarak gereklidir. Karotenoidler çoğu ticari gıda maddesine kimyasal sentezle üretilen saf bileşikler ya da doğal ekstraktlar şeklinde renklendirici olarak ilave edilir (Cadenas ve Packer, 1996).

İnsanlar tarafından bitkisel besinlerle alınan karotenoidler, A-Vitamini prekürsörü olarak görev yaparlar, bunların başlıcaları  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten ve  $\beta$ -kriptoksantindir. En fazla bulunan ve en etkili olanı  $\beta$ -karotendir.  $\beta$ -karoten A vitamin prekürsörü olma özelliği yanında biyolojik önemi lipit antioksidanı olması ve özellikle singlet oksijen olmak üzere serbest radikalleri nötralize etmesidir (Şekil III) (Handelman, 2001).

Karotenoidler insan sağlığı için önemli bileşiklerdir. Karotenoidlerin özellikleri ve fonksiyonları onların kimyasal yapısına bağlıdır. Fotosentezde olduğu gibi enerji transfer reaksiyonlarında en önemli faktörün özellikle tekli ve konjuge çift bağlı bir sistemle 40 C ünيتينin [C=C] kuyruk kuyruğa bağlanması ile şekillenen tetraterpen yapısında uzamalarının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Molekülün bu özelliği singlet oksijen [ $1O_2\bullet$ ] toplamalarına izin verir. Karotenoidlerin bu radikal toplama özellikleri sayesinde, çoğu epidemiyolojik olan çalışmalarla, kanser, kalp rahatsızlıkları, ejeneratif göz hastalıkları gibi ciddi rahatsızlıklara karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir (Handelman, 2001; Canene-Adams ve ark., 2005; Stahl ve Sies,

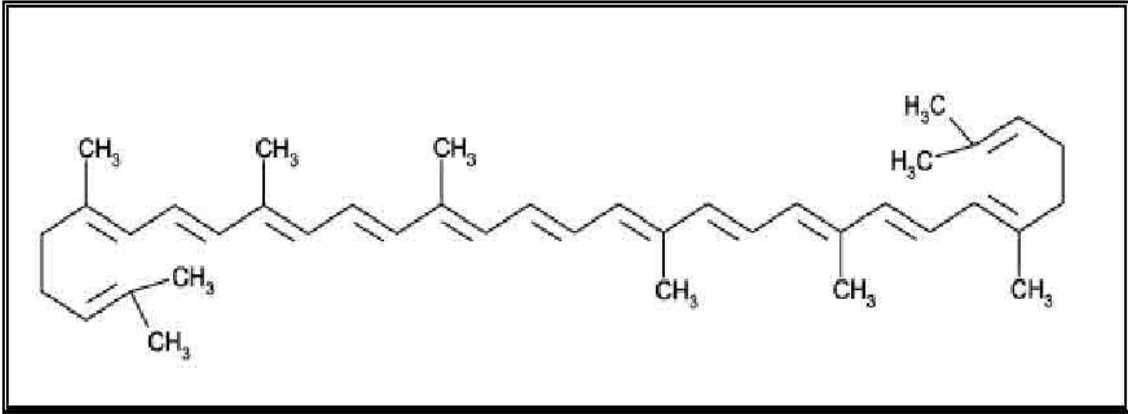


**Şekil II:** Aktif oksijen toplama yetenekleri çalışılmış bazı karotenoidlerin kimyasal yapıları (Kozuki ve ark., 2000).



Likopen tüm karotenoidlerde olduğu gibi asiklik  $C_{40}H_{56}$  yapısından türemiştir. 11 konjuge ve 2 konjuge olmayan çift bağlı açık zincirli bir hidrokarbondur (Şekil IV) (Bramley, 2000). Likopen pro-vitamin A aktivitesine sahip değildir, insan serumunda da bulunur. Likopen  $\beta$ -karotene göre in-vitro sistemlerde antioksidan olarak daha büyük radikal toplama aktivitesine sahiptir (Stahl ve Sies, 1992).

**Şekil III.** Likopen kimyasal yapısı (Kozuki ve ark., 2000).



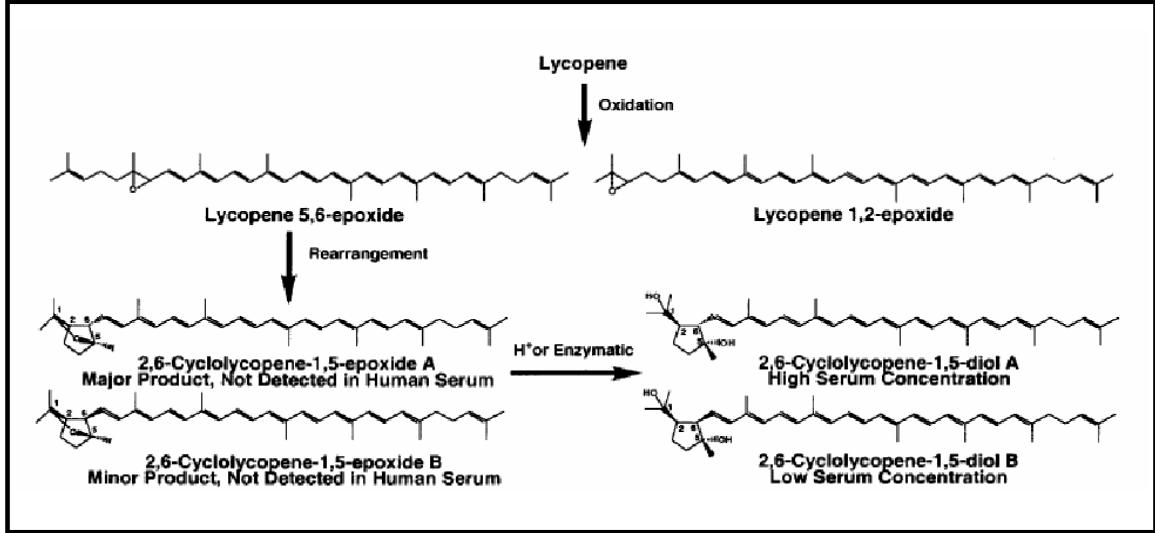
Son yıllarda deneysel verilerden sağlanan delillere göre insanlar 50 den fazla diyeteye bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilme yeteneğindedir.  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, lutein ve likopen insan kanında en bol bulunan karotenoidler arasındadır. Epidemiyolojik çalışmalardan sağlanan delillere göre yüksek oranda karotenoidce zengin sebze ve meyve alınımı insanları en yaygın görülen, kolon, mide ve prostat kanserine karşı korur (Giovanucci, 1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003). Karotenoidlerin antioksidan aktiviteleri multilamellar lipozomlarda lipit peroksidasyonun ölçülmesi ile belirlenmiştir. Etki oranları likopen >  $\alpha$ - tokoferol >  $\alpha$ -karoten >  $\beta$ -kriptoksantin> zeaksantin =  $\beta$ -karoten > lutein şeklinde sıralanabilir (Stahl ve ark., 2005). Bu güne kadar insan serumu ve sütünde 25 karotenoid ve dokuz metaboliti saptanmış ve tanımlanmıştır. İnsan karaciğeri, akciğerleri, memme göz ve





serviks gibi organları ve derisinde miktarları belirlenmiş, buralarda depolandığı gösterilmiştir (Khachik ve ark., 2002).

**Şekil IV:** İnsanlarda Likopen Oksidasyonun Olası Metabolik Yolları (Khachik ve ark., 2002).



İnsanlarda likopenin olası metabolik dönüşümü Şekil V’de gösterilmiştir. Likopenle m–kloroperbenzoik asid oksidatif reaksiyonları ile ilk ürünün 1,2 ve 5,6 pozisyonlarında okside olduğu saptanmıştır. Likopen 1,2–epoksit oldukça stabil özellikte iken 5,6 epoksit türevi anstabilidir ve kolayca siklize olarak 2,6 siklolikopen–1,5–epoksit A ve B karışımları haline gelir. Her ne kadar insan serumunda bu ilk türevler saptanamamışsa da uygun olan siklik dioller 2,6–siklolikopen1,5–diollerini tesbit edilmiştir. Bu likopen metabolitleri domates kökenli ürünlere bağlı olabilir. Ancak serumdaki bu metabolitlerin miktarı sadece çiğ domates ve domates kökenli ürünlerdeki düşük miktarlarla açıklanamaz. Bu nedenle şu anda insan serumundaki likopen metabolitlerinin kaynağı çok iyi anlaşılammaktadır (Tanumiharjo ve ark., 1990; Kaplan ve ark., 1990; Clinton ve ark., 1996). Domates salçası, domates suyu gibi sıklıkla tüketilen yiyeceklerde yüksek oranda likopen bulunur (Tablo III) (Canane- ark., 2005).



**Tablo VI:** Domates, Domates Kaynaklı Gıda Ürünleri ve Bazı Meyva ve Sebzelerdeki Karotenoid Profilleri Miktarları (Khalcik ve ark., 2002).

KAROTENOİD KONSANTRASYONLARI (MG/100G)*										
Gıdalar	likopen	$\alpha$ -karoten	$\beta$ -karoten	$\gamma$ -karoten	nörosporen	$\zeta$ -karoten	fitofluen	fitoten	lutein	Zeakksantin
Salça	55,45	0	1,27	9,98	6,95	0,84	3,63	8,36	0,34	0
Domates sosu	17,98	0	0,45	3,17	2,48	0,29	1,27	2,95	eser	0
Ketçap	17,23	0	0,59	3,03	2,63	0,33	1,54	3,39	0	0
Domates püresi	16,67	0	0,41	2,94	2,11	0,25	1,08	2,40	0,09	0
Makarna sosu	15,99	0	0,44	3,02	3,15	0,34	1,56	2,77	0,16	0
Domates suyu	10,77	0	0,27	1,74	1,23	0,18	0,83	1,90	0,06	0
Domates	9,27	0	0,23	1,50	1,11	0,21	0,82	1,86	0,08	0
Greyfurt	3,36	0	2,34	1,38	0,38	0	0,01	0,02	0	0
Papaya	2,52	0,02	0,22	0,01	0,05	0,19	0,44	0,68	0,02	0,02
Kayısı	0,01	0,02	1,59	0,08	0	0,04	0,36	0,59	0,09	0
Kuru Kayısı	0,86	1,60	8,56	0,13	0	0,14	2	2,27	0,36	0
Portakal	0	0,02	0,06	0,004	0,01	0,1	0,06	0,08	0,35	0,25

(\* : Likopen oranı iklim şartları, toprak yapısı ve ürünün çeşidine göre de değişiklik göstermektedir.)



Domates; domates suyu, sos, salça veya ketçap şeklinde işlendiği zaman, likopenin, kimyasal yapısı ısıya bağlı olarak değişmekte, bu da vücut tarafından daha kolay absorbe edilmesini sağlamaktadır. Buna göre işlenmiş yada pişirilmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha fazladır (Canane-Adams ve ark., 2005).

### 1.5.1.Likopen'in Antioksidatif Etkisi

Çeşitli stres faktörleri etkisi ile açığa çıkan reaktif oksijen ve nitrojen türleri lipidler, proteinler ve DNA gibi kritik hücrel biyomolekülleri etkileyerek osteoporoz, kardiyovasküler ve kanser gibi kronik hastalıklara yatkınlığı artırmaktadır. Bu sebeple antioksidanların diyetle alınması stratejik moleküllerin korunması ve oksidatif zarardan korunmada önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Ames ve ark., 1993; Witztum, 1994, Halliwell ve ark., 1994). Plazmanın antioksidan kapasitesinin antioksidan bileşiklerin konsantrasyonlarına ve sinerjilerine bağlı olduğu ve bu olayın özellikle oksidatif zarara karşı lipoproteinlerle savunmada suda çözünen ve lipofilik antioksidanlar arasında var olan etkileşimden kaynaklandığı saptanmıştır (Pincemail, 1995). Karotenoidlerin insan lenfositlerini singlet oksijen zararından koruduğu, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser çeşitlerini içeren bazı dejeneratif bozukluk risklerini düşürdüğü rapor edilmiştir. İnsan vücudunda bulunan karotenoidlerin % 30 kadarını oluşturan likopen, yapısında yer alan  $\beta$ -siklik halkanın açılmış olması nedeniyle daha yüksek kapasitede antioksidan etkiye sahiptir (Mayne, 1996, Miller ve ark., 1996). Likopenin sigara kullananlarda meydana gelen azotdioksit ( $\text{NO}_2$ ) ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'e karşı hücrel korumada  $\beta$ -karotenden daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Böhm ve ark., 2001). Karotenoidler diğer serbest radikallerin oluşumuna sebep olan singlet oksijeni ( $\cdot\text{O}_2$ ) ortadan kaldırmada etkilidir (Conn ve ark., 1991). Singlet oksijenin giderildiği süreçte enerji likopen molekülüne transfer edilir. Değişim sırasında enerji bakımından zengin bir bileşik oluşur. Bileşikteki likopen fiziksel sönme veya ısı şeklindeki enerji dağılması ile eski haline döner ve başka serbest radikalleri ortadan kaldırmak için hazır bir şekilde bileşikten ayrılır.



aynı zamanda biyolojik membran modelleri içinde lipozomlara benzeyen mükemmel bir O<sub>2</sub> temizleyicisi olduğunu göstermişlerdir (Stahl ve ark., 1998)

### **1.5.2.Likopenin Antikanserojen Etkisi Hücresel Döngüyü Durdurucu Etkisi**

Yapılan araştırmalarda likopenin prostat (Obermuller ve ark., 2003), uterus (Şahin ve ark., 2004) kanser hücrelerinin gelişimlerini inhibe ettiği ortaya konmuştur. Likopen, hücre gelişimindeki D1 döngüsünü düzenleyerek hücresel döngüdeki G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> fazı arasında tutukluğa öncülük ettiği saptanmıştır. G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> arasındaki tutukluk likopenle tedavi edilen lösemi hücrelerinde (Amir ve ark., 1999) ve endometrial kanser hücrelerinde (Nahum ve ark., 2001) gözlenmiştir.

### **1.5.3.Hücreler Arası Birleşme Yerlerindeki (Gap-junction ) Haberleşmeyi Artırıcı Etkisi**

Yapılan araştırmalar likopenin hücreler arası birleşme yerlerindeki haberleşmede etkisi bulunduğu ve doku homeostazisinde anahtar rol oynadığını ortaya koymuştur. Hücreler arası birleşme yerleri iki komşu hücre arasındaki bağlantı kanallarıdır. Bu kanallar sayesinde hücreler arası sinyal molekülleri ve besinler gibi küçük moleküllerin değiş dokuşu sağlanır (Saez ve ark., 2003).

### **1.5.4.IGF-1 Sinyal İletimini İnhibe Edici Etkisi**

Serum İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) konsantrasyondaki artış prostat kanseri gibi kanser tiplerinde risk artışı ile ilgilidir. IGF-1 kan seviyesinin yüksek oluşu akciğer, kolon, rektum ve prostat kanseri risklerinin artışı önceden haber veren belirteçlerdendir. Likopen, MCF-7 göğüs kanser hücrelerinde uyarılmış IGF-1 artışını önemli derecede düşürmüştür. İnhibisyon gelişimi G1/S hücre döngüsünün ilerlemesinin gecikmesiyle ilişkilidir. Bu etki IGF-1 bağlayan proteinlerin likopenle düzenlenmesi aracılığı ile olabilir (Karas ve ark., 2000). Rat prostat kanser modelinde



çalışmalarda besinlere 200 ppm likopen eklenmesi ile prostat tümörlerindeki lokal IGF-1 ekspresyonunun düşürüldüğü saptanmıştır (Siler ve ark., 2004).

### **1.5.5.Likopen'in Antienflamatuar Etkisi**

Likopen, retinol,  $\alpha$ .takoferol ve karotenoidlerin oksijen radikallerini yok etme kapasitesi önemli antioksidan özelliklerindedir. Likopen ve bazı antioksidan vitaminler ile C reaktif protein (CRP) seviyesini belirleyen sistemik enflamasyon tepkilerinin arasında ters bir ilişki bulunur. Yapılan araştırmalar kanser ve kardiyovasküler hastalıkların enflamasyon ve koagulasyon ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Likopen enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek antienflamatuar etki gösterir. Likopen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek pro-enflamatuar moleküllerden prostoglandin, prostosiklin, tromboksan ve lökotrien sentezini baskılar. Bu sebeple yangıya yol açan reaksiyonlar nlenmiş olur (Pruthi ve ark., 2003).



## 2.MATERYAL ve METOT

### 2.1.Materyal:

#### 2.1.1.Hayvan Materyali:

Bu araştırmada Kafkas Üniversitesi Fen ve Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilen, ağırlıkları 45–50 gr arasında değişen 3–4 aylık 30 adet Swiss Albino erkek fare kullanıldı. Fareler çalışmaya başlamadan 15 gün önce alınarak ortama adapte olmaları sağlandı. Fareler her grupta 10 adet olacak şekilde 3 (üç) gruba ayrıldı. Bu gruplar kontrol (plesebo), kobalt ve kobalt+likopen (kombine) şekilde adlandırıldı.

#### 2.1.2.Yem Materyali:

Yem olarak, Erzurum Bayramoğlu Yem Fabrikası'ndan temin edilen fare yemi kullanıldı. Farelere yem ve su *ad libitum* olarak verildi.

**Tablo VII. Farelere Verilen Yemin Bileşimi (1000 kg):**

Yem Maddeleri	Yüzdesi (%)
<b>Buğday</b>	10
<b>Mısır</b>	22
<b>Arpa</b>	15
<b>Kepek</b>	8
<b>Soya Küspesi</b>	26
<b>Balık Unu</b>	8
<b>Et-Kemik Unu</b>	5
<b>Melas</b>	5
<b>Tuz</b>	5
<b>*Vitamin Karması</b>	3
<b>**Mineral Karması</b>	3

**\*Vitamin Karması (2500 gr):** Vitamin A (12.000.000 IU), D<sub>3</sub> Vitamini (2.400.000 IU), K<sub>3</sub> Vitamini (2.500 mg), E Vitamini (30.000 mg), B<sub>1</sub> Vitamini (3.000 mg), B<sub>2</sub> Vitamini (7.000 mg), B<sub>6</sub> Vitamini (4.000 mg), B<sub>12</sub> Vitamini (15 mg) ile Nikotinamid (40.000 mg), Folik Asit (1000 mg), Biotin (15 mg) ve Kolinklorid'den (125.000 mg) oluşmuştur.

**\*\*Mineral Karması (2500 gr):** Zinc Basitrasin (100.000 mg), Mangan (80.000 mg), Demir (80.000 mg), Çinko (60.000 mg), Bakır (8.000 mg), İyot (500 mg), Kobalt (200 mg), Selenyum (150 mg), Kalsiyum (10.000 mg) oluşmuştur.



Araştırma Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve Fen ve Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde yürütüldü. Araştırmada her birisine 5 (beş) adet fare konulabilen özel kafesler kullanıldı.

Kafesler 12 saatlik karanlık\aydınlama uygulanmış oda sıcaklığı  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  olarak ayarlanmış bir ortamda tutuldu. Aynı zamanda, kafeslerin özel bölümüne uç kısmında damlalık bulunan şişeler farelerin devamlı olarak su içebilecekleri şekilde yerleştirildi ve kafesler düzenli olarak her gün temizlendi.

### 2.1.3.Çalışmada Kullanılan Aletler:

- Spektrofotometre (PG Instruments T80 Double Beam UV Visible Spectrophotometer, United Kingdom)
- Soğutmalı Santrifüj (Heraeus, Germany)
- Santrifüj (Hettich, Germany)
- Hassas Terazî (Precisa, 320XT,Switzerland)
- pH Metre (Orion, 420A, USA)
- Manyetik Karıştırıcı (Nüve, MK318, Türkiye)
- Derin Dondurucu (Arçelik, 2560, Türkiye)
- Deepfreeze (Sanyo, U 4086S, Japonya)
- Ayarlanabilir Otomatik Pipetler(100µl–1000µl, Eppendorf, Germany)
- Isı Ayarlanabilir Su Banyosu (NÜVE)
- Homojenizasyon Cihazı (IKA, DI 25 Basic Homojenizatör, Germany)

### 2.1.4.Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Maddeler:

- Tris-Buffer (Merck)
- DTNB(55'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (Merck)
- TCA (Trikloroasetik Asit) (Merck)
- TBA (Tiyobarbitürik Asit) (Merck)
- Perklorik Asit (Merck)



- Askorbik Asit (Sigma)
- KOH (Potasyum Hidroksil) (Merck)
- n-Hexan (Merck)
- Bathophenenthrolin (Merck)
- Fosforik Asit (Sigma)
- Metanol (Merck)
- Etanol (Merck)
- 1,5 ml'lik polietilen tüpler
- Otomatik pipet uçları (Mavi ve Sarı)
- 10 ml'lik cam tüpler

#### 2.1.5.GSH Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

- 4,846 gr Tris-Buffer (Distile su ile 100ml'ye tamamlanır (pH:8,9))
- 0.0198 gr DTNB (5 ml Etanolle çözülür)
- 3 gr TCA %3 ( Distile su ile 100ml'ye tamamlanır)

#### 2.1.6.MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler:

- 0,67 gr TBA (%10' luk Perklorik Asitte çözülür)
- 10 gr TCA % 10 (Distile su ile 100 ml'ye tamamlanır)

#### 2.1.7.E Vitamini ve $\beta$ -karoten Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler:

- 2 ml Askorbik Asit % 1
- 0,3 ml KOH %50' lik
- 0,5 ml n-Hexan
- 0,2 ml Bathophenenthrolin





## 2.2.METOD:

### 2.2.1.Uygulanan Genel Metod:

Araştırma üç grup üzerinde yürütülmüş ve tüm gruplarda farelere yem ve su *ad libitum* olarak verilmiştir.

**I.Grup (Kontrol Grubu n=10):** Kontrol grubu farelere deneme grubundaki farelere yapılan uygulama ile eşitlik sağlamak amacıyla 30 gün süresince 3 mg/gün serum fizyolojik enjeksiyonu ve 10mg/kg/gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yoldan verildi.

**II. Grup (Kobalt Grubu n=10):** Bu gruptaki farelere Singh ve Junnarkar'ın belirttiği gibi (1991) LD<sub>50</sub> değerine karşılık gelen 3mg/gün Kobalt klorid (CoCl<sub>2</sub>) intramüsküler (İ.M.) olarak verildi.

**III. Grup (Kombine Grubu n=10):** Bu gruptaki farelere 1 ay boyunca CoCl<sub>2</sub> LD<sub>50</sub> değerine karşılık gelen 3mg/gün dozda İ.M. olarak likopen ise Jonker ve ark., (2003) belirttiği şekilde 10mg/kg/gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra oral olarak gastrik gavaj ile verildi.

Hem kontrol hem de deneme gruplarındaki hayvanlar bu uygulamalardan sonra eterle uyutularak kalplerinden daha önceden heparinle (Nevparin 5.000 IU/ml) yıkanmış enjektörlere yaklaşık 2-3 ml kan örnekleri alınarak ölümleri sağlandı. Farelerin ölümünden hemen sonra abdominal boşlukları açılarak hızlı bir şekilde böbrek, kalp ve karaciğer alınarak soğuk deiyonize su ile yıkanarak analizler tayin edilinceye kadar 1 ay süre ile -86°C'lik deepfreezede saklandı. Homojenatların hazırlanması, her parametre için metodlarda belirlendiği şekilde yapıldı (Suzuki ve Kotoh, 1990, Kayden ve ark., 1973, Sedlak ve Lindsay, 1968, Placer ve ark., 1966,)



### 2.2.2.Doku Malondialdehit Tayini:

Dokularda malondialdehit (MDA) tayini, Placer ve ark., (1966) tanımladığı yönteme göre spektrofotometrik olarak tanımlandı.

#### 2.2.2.1.Prensip

pH'nın 3,4 olduğu aerobik bir ortamda Tiobarbitürik Asit (TBA) ile dokunun 100°C'de inkübasyonunu, lipid peroksidasyonun sekonder bir ürünü olan MDA'yı oluşturmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks yapar. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipid peroksidasyon saptanır.

Belirlenen absorbans değerleri MDA standart eğrisinden hesaplanan 0,092 sabit rakamına bölünerek doku MDA değeri  $\mu\text{mol/gr}$  protein olarak hesaplandı.

Standart eğrinin çizimi için 1.1.3.3 Tetraethoxypropane'den 10 $\mu\text{l}$  10 ml absoult etanolde çözülerek +4°C'de koyu bir şişede saklandı. Bu stok çözeltilerden farklı konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizildi.

#### 2.2.2.2.Metod

0,67 gr TBA %10'luk perklorik asitte çözüldü. 10 gr TCA tartılıp distile suyla 100ml'ye tamamlanıp oda sıcaklığında saklandı. MDA analizinde kullanılan renk reaktifi ise 3 kısım TCA ve 1 kısım TBA solüsyonundan oluşturuldu. 0,25 ml örnekten alınıp üzerine 2,25 ml renk reaktifi konulup 5 dk karıştırıldıktan sonra 100°C'de 15 dk kaynatıldıktan sonra 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmından 2ml alınıp, 0,25 ml serum fizyolojik+ 2,25 ml renk reaktifinden oluşan köre karşı 532 nm'de okundu.



### 2.2.3.E vitamini ve $\beta$ -Karoten Düzeylerinin Tayini:

E vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeylerini belirlemek için Kayden ve ark., (1973) tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

#### 2.2.3.1.Prensip

Askorbik asitle prespite edilen plazma lipoproteinlerinden hekzan ilavesi ile E vitamini ve  $\beta$ -karoten'in ayrılması esasına dayanır.

#### 2.2.3.2.Metod

Numuneden 1 ml alındı ve üzerine 2 ml askorbik asit ilave edildi. Ağzı kapatılarak hafifçe çalkalandı. Bu işlemden sonra 2 dk sıcak su banyosunda bırakıldı. Bunun üzerine 0,3 ml KOH konulduktan sonra elde hafifçe karıştırıldıktan sonra 90°C'de 1 saat bekletildi. Daha sonra musluk suyuna tutularak 20 dk buzdolabında bekletildi. Buzdolabından çıkarılan numunenin üzerine n-hexan konulup karıştırıldıktan sonra çökmesi için beklenildi ve süpernatant kısmından 0,5 ml alınarak temiz bir tüpe konuldu. Bu tüpe 0,2 ml bathophenonthrolin eklendi ve 460 nm'de köre (n-hexan:0,5 ml) karşı  $\beta$ -karoten değerleri okundu ve üzerine 0.2 ml ferriklorid solüsyonu eklendi ve 2 dk süre sonra üzerine 0,2 ml fosforik asit eklendi ve 535 nm'de köre (n-hexan:0,5 ml) E vitamini değerleri okundu.

### 2.2.4.GSH Düzeylerinin Tayin i

GSH düzeylerini belirlemek için Sedlak ve Lindsay, (1968) tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı.



### 2.2.4.1.Prensip

GSH'nin sülfidril grubunun asitte çözünerek, tiyol grubunun enzimatik veya kimyasal işlemler ile ölçülmesi bu bileşiğin miktar tayininin temelini oluşturdu. Belirlenen absorbands değerleri GSH standart eğrisinden  $\mu\text{mol}/\text{gr}$  protein olarak hesaplandı.

### 2.2.4.2.Metod

pH'nin 8.9 olduğu bir ortamda tris-bufffer kimyasalından 4,846gr alınarak 100ml distile suda çözüldü. 0,198gr DTNB 5 ml methanolde çözüldü. 3 gr TCA 100ml distile suda çözülüp çözeltiler oluşturuldu. Numuneden 0,5 ml alındıktan sonra %3 TCA ile karıştırıldı ve 3000rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Numune (2 ml tris -buffer + 1 ml numune + 0,1 ml DTNB) köre (Distile su) karşı 412 nm'de okundu.

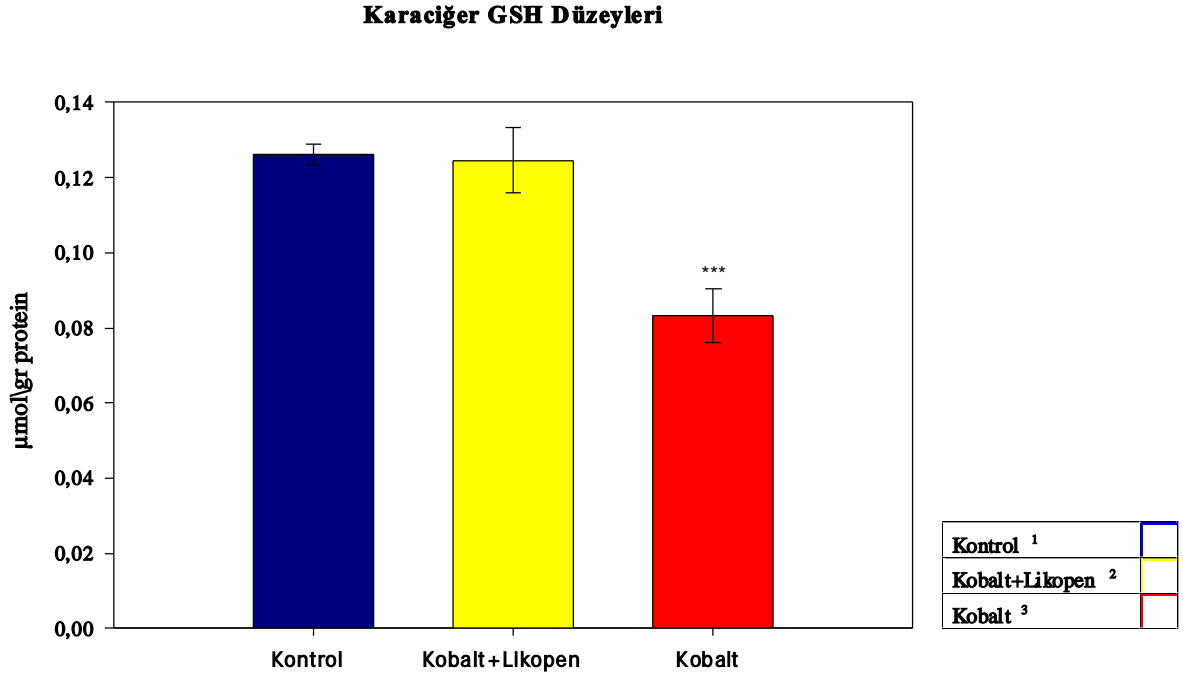
## 2.3.İstatistikî Hesaplamalar

Araştırmalarda elde edilen verilerin ortalamaları (X) ve standart hataları (s X) hesaplamak için SPSS istatistiksel programı (SPSS Inc. Chicago Versiyon:16.0 USA), dokulardaki GSH, MDA, E vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeylerini hesaplamak için varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



### 3. BULGULAR

**3.1. Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Karaciğer GSH Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g}$  protein):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm gruplardaki karaciğer GSH düzeyleri grafik I' de gösterilmiştir.



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

\*\*\*Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,001$

1- Farelere 30 gün boyunca  $3\text{mg/gün}$  serum fizyolojik İ.M. olarak,  $10\text{mg/kg/gün}$  serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

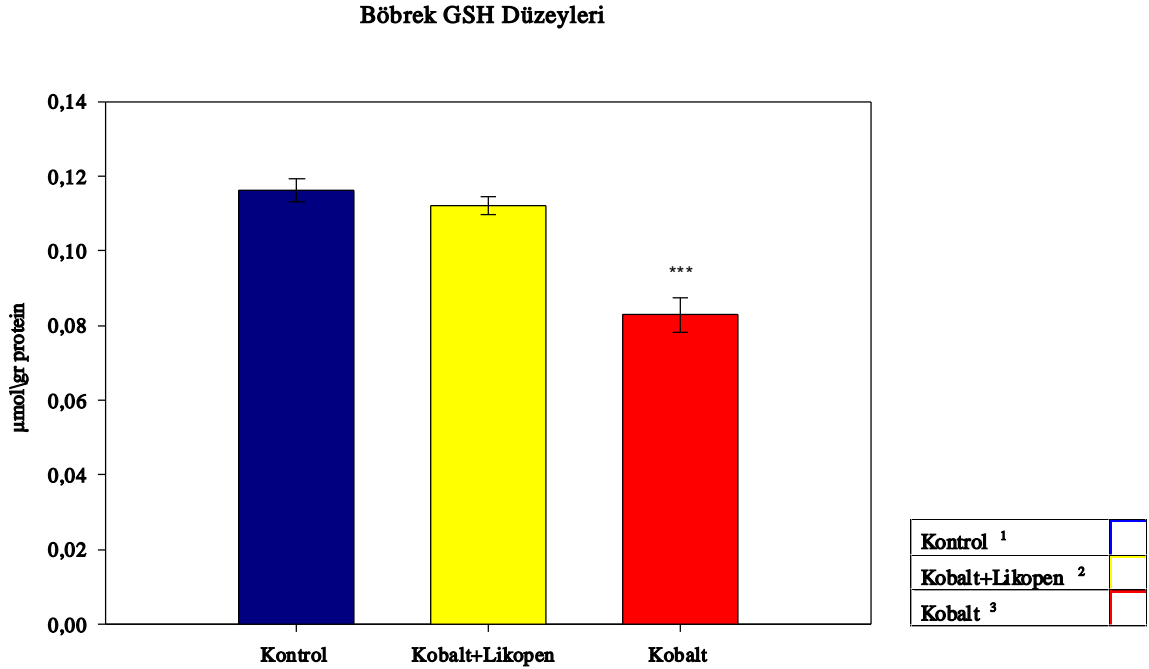
2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten  $3\text{mg/gün}$  İ.M olarak, likopen  $10\text{mg/kg/gün}$  dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen  $3\text{mg/gün}$   $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Deneme gruplarının karaciğer GSH düzeyleri, kontrol grubuna göre ayrı ayrı kıyaslandığında; sadece kobalt grubunun karaciğer GSH düzeylerinde istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir azalma görülmüştür. ( $p < 0,001$ ) (Grafik I). Kombine grubun karaciğer GSH düzeylerinin ise kontrollere oldukça yakın değerlerde olduğu gözlemlenmiştir.



**3.2. Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Böbrek GSH Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g protein}$ ):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm gruplardaki böbrek GSH düzeyleri grafik II’de gösterilmiştir.



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

\*\*\*Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,001$

1-Farelere 30 gün boyunca 3mg\gün serum fizyolojik İ.M. olarak, 10 mg\kg\gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

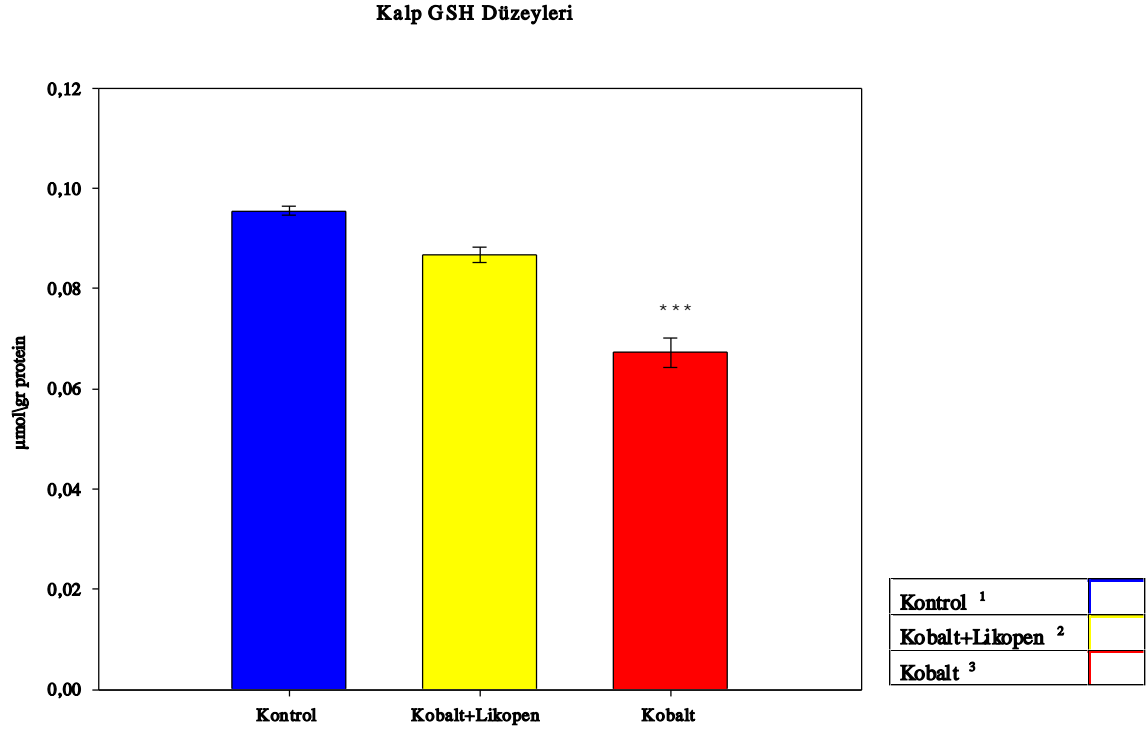
2-Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten 3 mg\gün İ.M olarak, likopen 10 mg\kg\gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3-Farelere  $\text{LD}_{50}$  değerine karşılık gelen 3mg\gün  $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Kobalt grubunun böbrek GSH düzeyleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grubun GSH düzeylerinde belirgin bir düşüş görülmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı olup  $p < 0,001$  düzeyinde bulunmuştur (Grafik II). Kombine grubun böbrek GSH düzeylerinde de kontrol grubuna kıyasla hafif bir düşüş tespit edilmiş ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Grafik II).



**3.3.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Kalp GSH Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g}$  protein):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm gruplardaki kalp GSH düzeyleri grafik III’de gösterilmiştir.



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

\*\*\*Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,001$

1- Farelere 30 gün boyunca  $3\text{mg/gün}$  serum fizyolojik İ.M. olarak,  $10\text{mg/kg/gün}$  serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

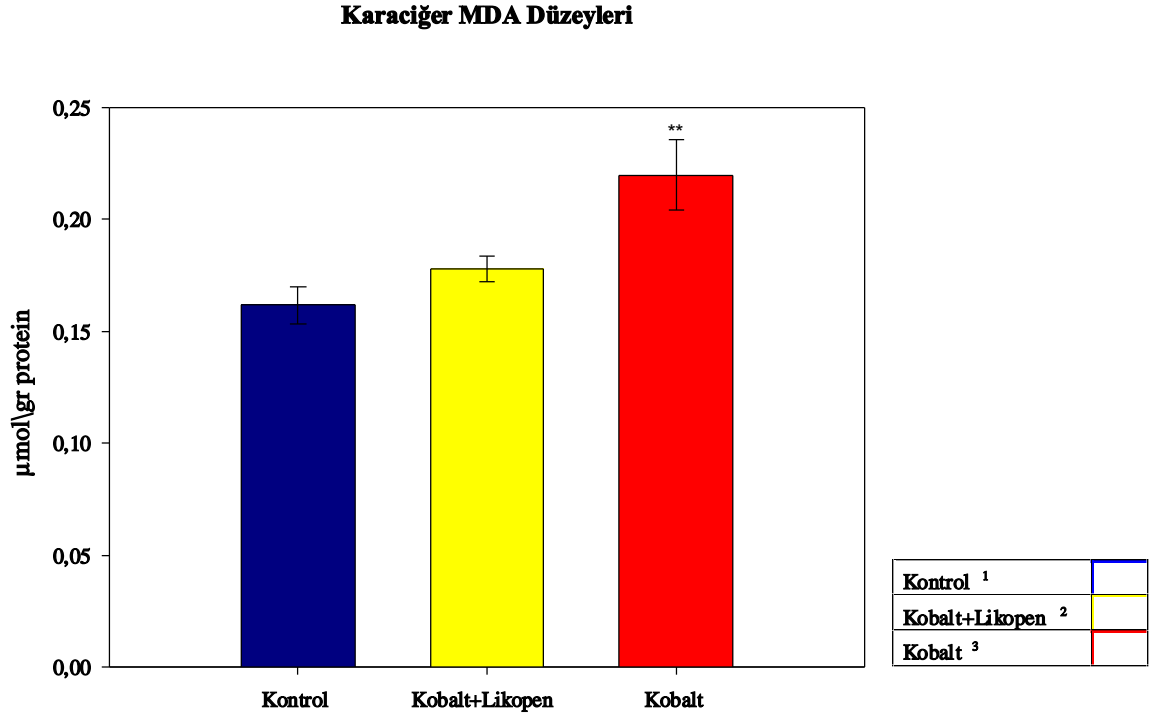
2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten  $3\text{mg/gün}$  İ.M olarak, likopen  $10\text{mg/kg/gün}$  dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen  $3\text{mg/gün}$   $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Kobalt grubunun kalp GSH düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde düşük bulundu. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0,001$ ) (Grafik III). Ancak kombine grubun kalp GSH düzeylerindeki düşüş, kontrollere göre anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik III).



**3.4. Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Karaciğer MDA Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g}$  protein):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm gruplardaki karaciğer MDA düzeyleri grafik IV’de gösterilmiştir:



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

**\*\***Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,01$

1- Farelere 30 gün boyunca  $3\text{mg/kg/gün}$  serum fizyolojik İ.M. olarak,  $10\text{mg/kg/gün}$  serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten  $3\text{mg/kg/gün}$  İ.M olarak, likopen  $10\text{mg/kg/gün}$  dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

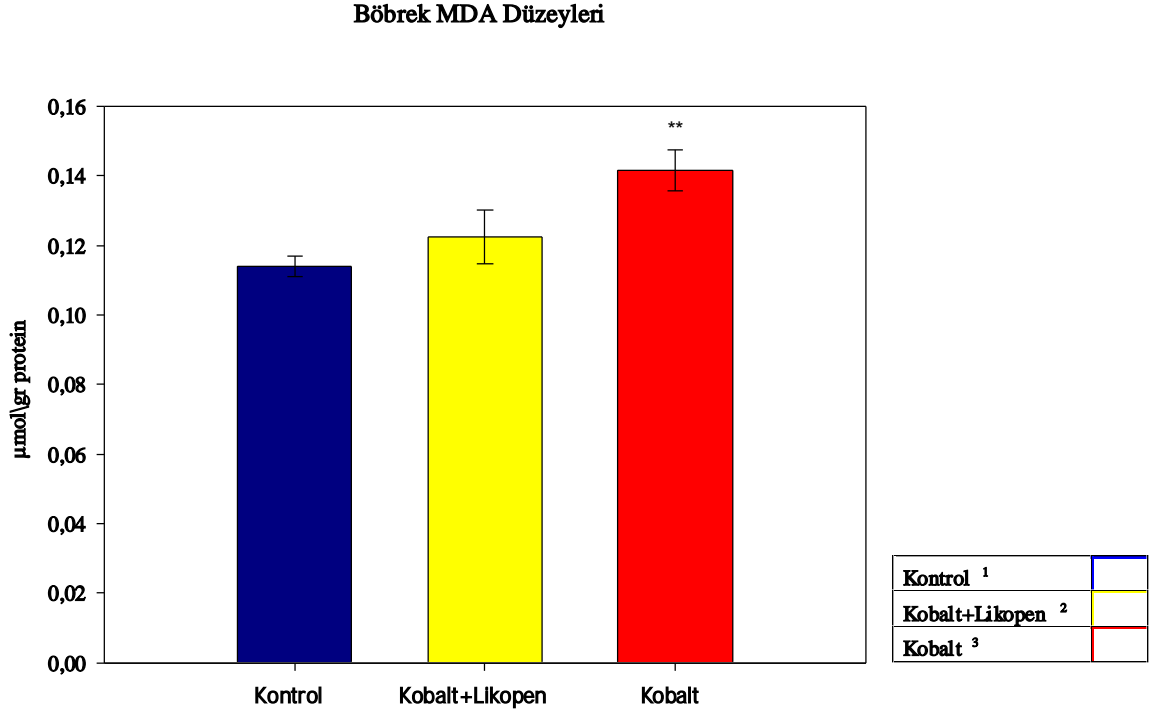
3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen  $3\text{mg/kg/gün}$   $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Kobalt grubunun karaciğer MDA düzeyleri kontrol ve kombine grubu ile karşılaştırıldığında; bu grubunun karaciğer MDA düzeylerindeki artış kobalt grubuna göre  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı bulunmakla birlikte bu grubun karaciğer MDA düzeylerindeki artış ise kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Grafik IV).





**3.5.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Böbrek MDA Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g protein}$ ):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm gruplardaki böbrek MDA düzeyleri grafik V’de gösterilmiştir:



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

**\*\***Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,01$

1- Farelere 30 gün boyunca 3mg/gün serum fizyolojik İ.M. olarak, 10 mg/kg/gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

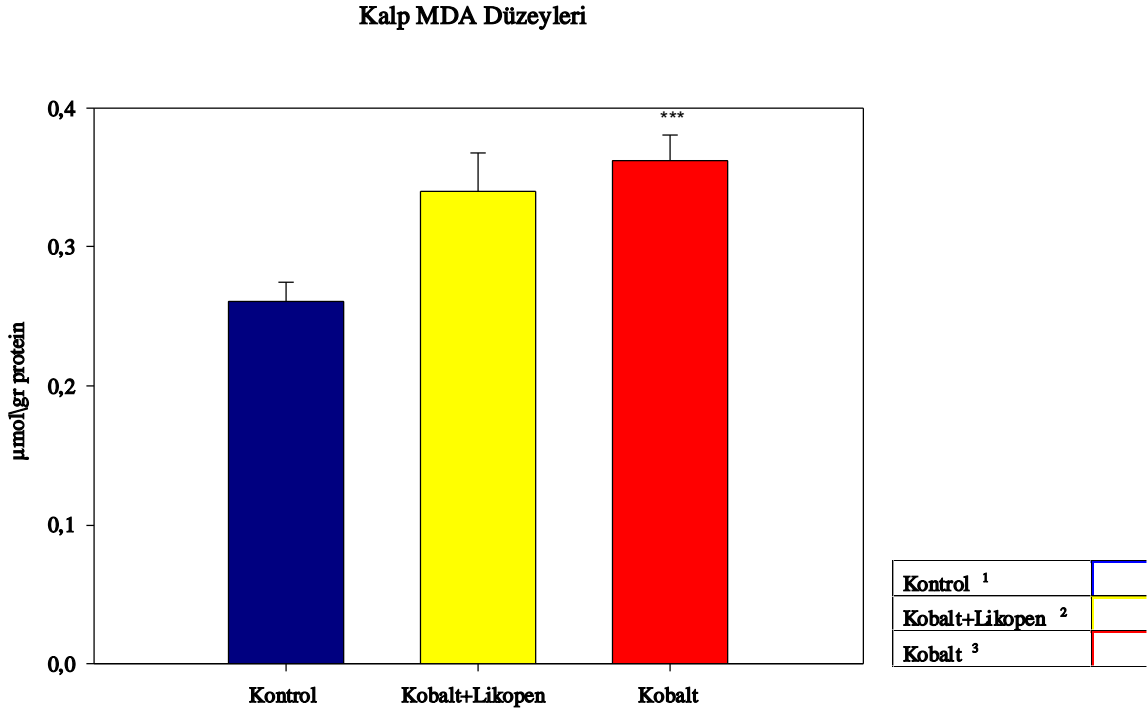
2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten 3 mg/gün İ.M olarak, likopen 10 mg/kg/gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen 3mg/gün  $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Grupların böbrek MDA düzeyleri birbirleriyle ayrı ayrı kıyaslanmıştır. Sonuç olarak; uygulama gruplarında kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. Bu artış kombine grupta önemsizken kobalt grubunda istatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Grafik V).



**3.6.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Kalp MDA Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g protein}$ ):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm gruplardaki kalp MDA düzeyleri grafik VI'da gösterilmiştir:



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

\*\*\*Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,001$

1- Farelere 30 gün boyunca  $3\text{mg/gün}$  serum fizyolojik İ.M. olarak,  $10\text{mg/kg/gün}$  serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

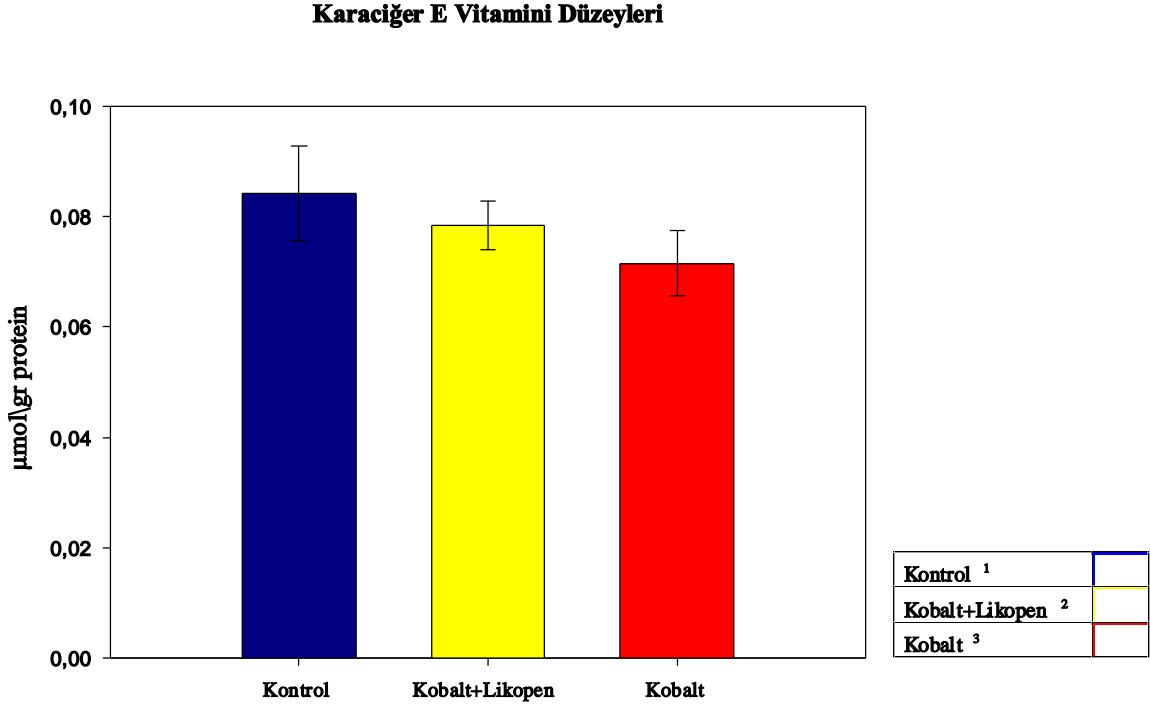
2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten  $3\text{mg/gün}$  İ.M olarak, likopen  $10\text{mg/kg/gün}$  dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen  $3\text{mg/gün}$   $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Deneme gruplarının kalp MDA düzeyleri kontroller ile kıyaslandığında, uygulama gruplarının MDA düzeylerinin belirgin şekilde yüksek olduğu tespit edildi. Bu yükseliş her iki grup için istatistiksel olarak anlamlı olmakla birlikte önemlilik  $p < 0,001$  düzeyinde bulundu (Grafik VI).



**3.7.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Karaciğer E Vitamini Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g}$  protein):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm grupların E vitamini düzeyleri grafik VII’de gösterilmiştir:



Not: Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

1- Farelere 30 gün boyunca  $3\text{mg/gün}$  serum fizyolojik İ.M. olarak,  $10\text{ mg/kg/gün}$  serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

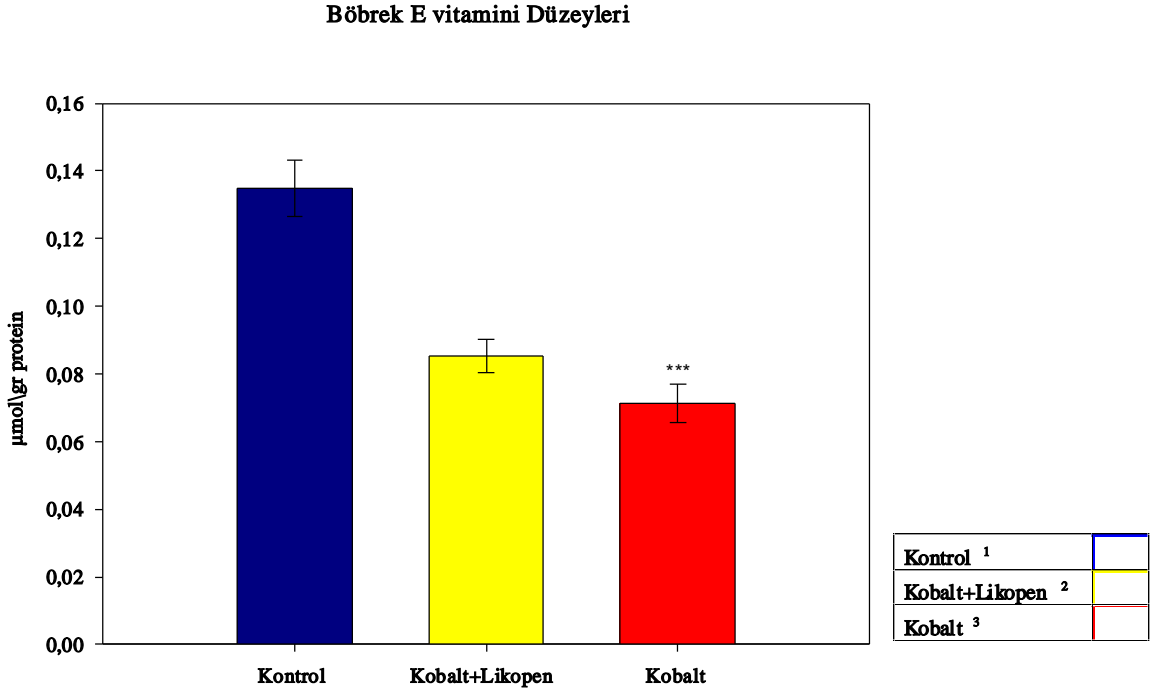
2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten  $3\text{ mg/gün}$  İ.M olarak, likopen  $10\text{ mg/kg/gün}$  dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen  $3\text{mg/gün}$   $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Uygulama gruplarının karaciğer E vitamini düzeylerinin kontrollere kıyasla düşük olduğu tespit edildi. Ancak bu düşüş hiçbir grup için istatistiksel olarak önemli değildi ( $p > 0,05$ ) (Grafik VII).



**3.8.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Böbrek E Vitamini Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g protein}$ ):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm grupların böbrek E vitamini düzeyleri grafik VIII’de gösterilmiştir:



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

\*\*\*Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,001$

1- Farelere 30 gün boyunca 3mg/gün serum fizyolojik İ.M. olarak, 10 mg/kg/gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten 3 mg/gün İ.M olarak, likopen 10 mg/kg/gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

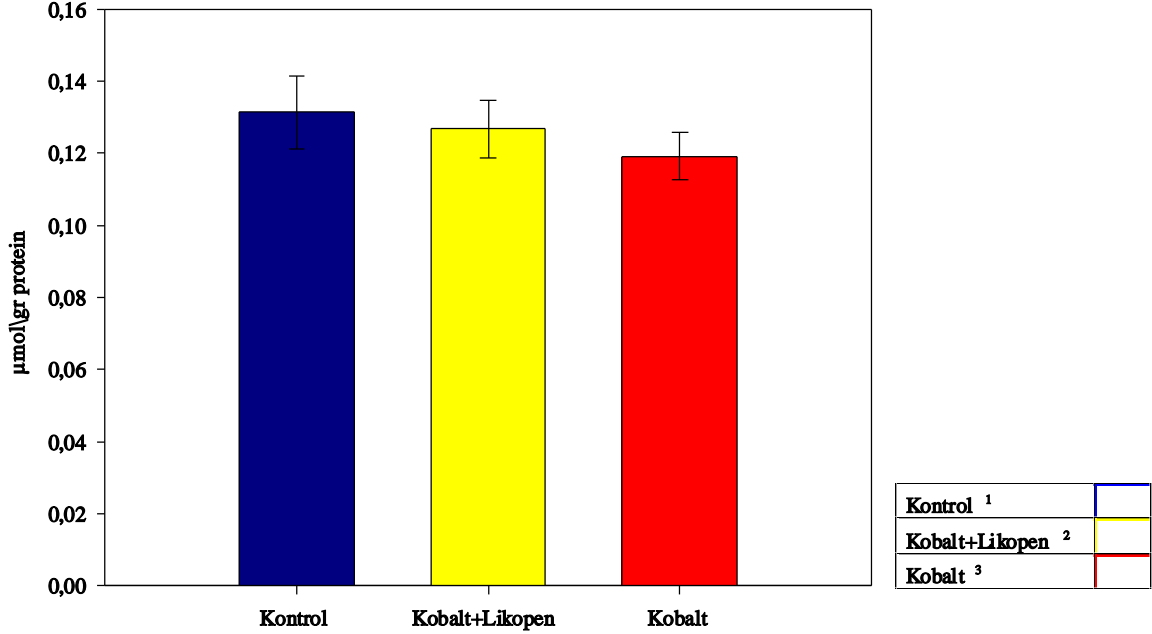
3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen 3mg/gün  $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Deneme gruplarının böbrek E vitamini düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla belirgin bir düşüş saptandı. Bu düşüş her iki deneme grubunda da oldukça önemli olup  $p < 0,001$  düzeyinde belirlenmiştir. Deneme grupları arasındaki fark ise anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Grafik VII).



**3.9.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Karaciğer  $\beta$ -karoten Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g protein}$ ):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm grupların karaciğer  $\beta$ -karoten düzeyleri grafik IX’da gösterilmiştir

**Karaciğer  $\beta$ -karoten Düzeyleri**



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

1-Farelere 30 gün boyunca 3mg/gün serum fizyolojik İ.M. olarak, 10 mg/kg/gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

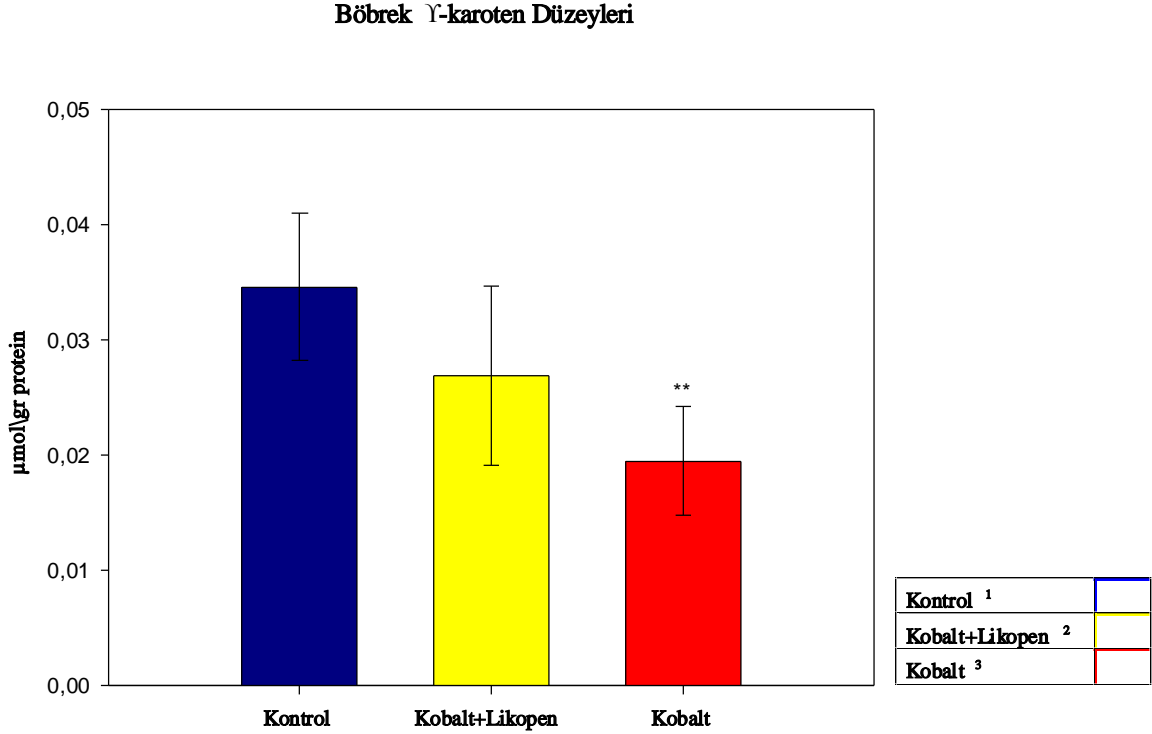
2-Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten 3 mg/gün İ.M olarak, likopen 10 mg/kg/gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3-Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen 3mg/gün  $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Uygulama gruplarının karaciğer  $\beta$ -karoten düzeylerinde kontrollere göre hafif bir düşüş belirlenmekle birlikte, bu düşüş istatistiksel olarak önemsizdi ( $p > 0,05$ ) (Grafik IX).



**3.10.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Böbrek  $\beta$ -karoten Düzeyleri ( $\mu\text{mol/g protein}$ ):** Kobalt toksikasyonuna maruz kalmış farelerin tüm dokuların böbrek  $\beta$ -karoten düzeyleri grafik X’da gösterilmiştir



**Not:** Değerler  $X \pm SE$  olarak verildi

**\*\***Gruplararası istatistiksel önemlilik  $p < 0,01$

1- Farelere 30 gün boyunca 3mg/gün serum fizyolojik İ.M. olarak, 10 mg/kg/gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

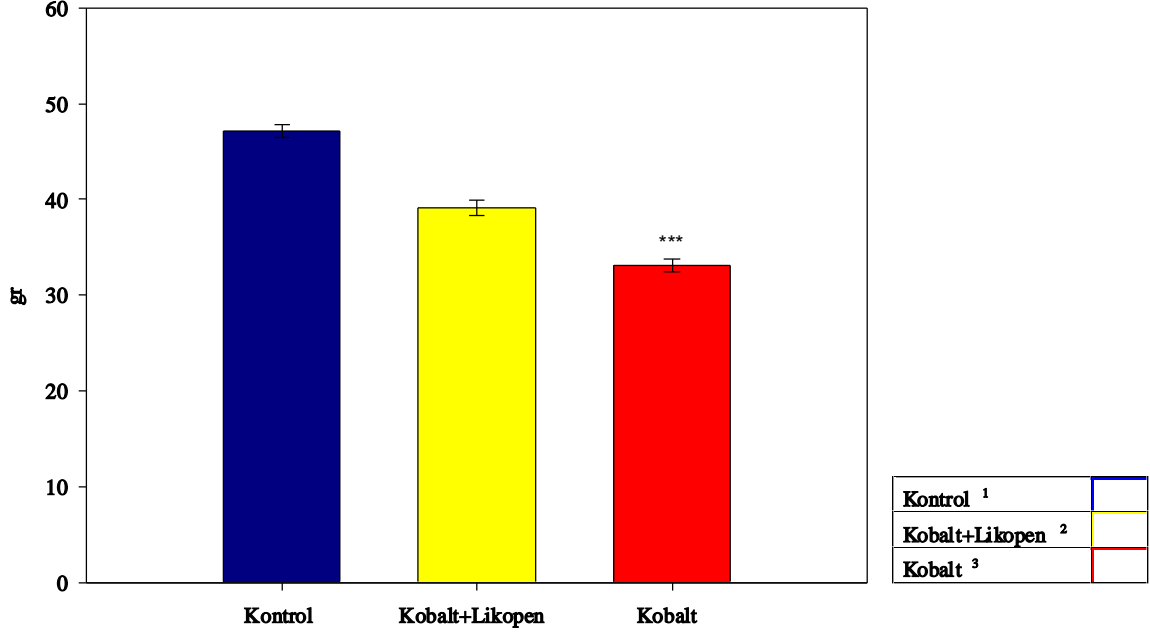
2- Farelere 30 gün  $\text{CoCl}_2$ 'ten 3 mg/gün İ.M olarak, likopen 10 mg/kg/gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3- Farelere  $LD_{50}$  değerine karşılık gelen 3mg/gün  $\text{CoCl}_2$  İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Kobalt grubunun böbrek  $\beta$ -karoten düzeylerinde kontrol ve kombine gruba kıyasla önemli düzeyde azalma gözlemlendi. Bu azalış kontrollere kıyasla istatistiksel olarak önemli ( $p < 0,05$ ) bulunmakla birlikte kombine gruba göre ise önemsiz olarak bulundu ( $p > 0,05$ ) (Grafik X).



**3.11.Kobalt Toksikasyonu Oluşturulmuş Farelerin Kilo Kaybı Düzeyleri:** Kobalt toksikasyonuna maruz kalan farelerin kilo kaybı düzeyleri grafik XI’da gösterilmiştir.



**Not:** Değerler X±SE olarak verildi

\*\*\*Gruplararası istatistiksel önemlilik p<0,001

1- Farelere 30 gün boyunca 3mg/gün serum fizyolojik İ.M. olarak, 10 mg/kg/gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yolla verildi.

2- Farelere 30 gün CoCl<sub>2</sub>'ten 3 mg/gün İ.M olarak, likopen 10 mg/kg/gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra gastrik gavaj yoluyla oral yolda verilmiştir.

3- Farelere LD<sub>50</sub> değerine karşılık gelen 3mg/gün CoCl<sub>2</sub> İ.M olarak 30 gün süresince verildi.

Deneyin sonunda farelerin ağırlıkları karşılaştırıldığında; kobalt grubundaki farelerin kontrol gruplarına göre önemli düzeyde (p<0,001) kilo kaybettikleri tespit edildi. Kombine gruptaki düşüş ise önemsiz olarak saptandı.



#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bilindiği gibi kobalt, çok toksik endüstriyel ve çevresel ağır metallere biridir. Farklı hayvanlarda yapılan deneylerle, kobaltın çeşitli organlardaki akut ve kronik toksisitesi birçok araştırmacı tarafından histolojik olarak gösterilmiştir (Barborik ve Dusek., 1972, Horowitz ve ark., 1988). Deneysel ve çevresel olarak bu ağır metale maruz kalınması halinde; kardiyomyopati, hepatik hasar, renal fonksiyon kaybı ve anemi gibi ciddi rahatsızlıklar oluşmaktadır (Horowitz ve ark., 1988, Neckardien ve ark., 1991, Bucher ve ark., 1999). Kobaltın çeşitli hücrelerin ince yapısı üzerindeki toksik etkileri ise nükleus membran hasarı, kromatin yoğunlaşması, mitokondri kristallerinde hasar ve sonunda hücre ölümüdür (Kasprzak ve ark., 1994). Kobaltın bu toksik etkilerinden antioksidan sistemler yoluyla korunmak mümkündür (Christova ve ark., 2001). Bu yüzden kobaltın oluşturduğu oksidatif strese karşı koruyucu amaçla antioksidan etkili ajanların verilmesinin etkili olabileceği ileri sürülmüştür (Christova ve ark., 2001, Shirivastava ve ark., 2007).

Yapılan literatür taramalarında akut kobalt toksikasyonunun dokularda oksidatif stresi arttırdığı bilinmekle birlikte, güçlü bir antioksidan olan likopenin hücreleri oksidatif hasara karşı koruduğuyla ilgili bilgilerin henüz yeni ve yetersiz olduğu dikkat çekmiştir.

Araştırmalar (Gonzales ve ark. 2005, Ewing ve ark. 1993, Wang ve ark. 1993, Shi ve ark. 1993, Kasprzak, 1995), kobalt toksikasyonunun kilo kaybını artırıcı yönde etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu bildirimler bizim bulgularımızı doğrular niteliktedir (Grafik XI). Çalışmamızda tüm grupların canlı ağırlıklarını incelediğimizde; kombine grubun canlı ağırlığında kontrollere göre önemli bir fark gözlenmezken; kobalt grubunda kontrollere kıyasla yaklaşık % 40 seviyesinde canlı ağırlık kaybı tespit edildi. Ancak Bucher ve ark. (1999) ise, uzun süre farklı konsantrasyonlarda kobalt sülfat toksikasyonuna maruz kalan fare ve ratlarda herhangi bir kilo kaybı tespit etmemiştir. Bulgularımızdaki bu azalışın, hücre hasarından sorumlu tutulan kobalt toksik





serbest radikal metabolizmasını etkilemek suretiyle, toksik oksijen radikallerini arttırıp, katabolik savunma enzimlerinin aktivitelerinde değişikliğe neden olduğu görüőü ile benzerlik içinde olduğu kanaatine varılmıştır.

Kombine gruptaki önemsiz canlı ağırlık kaybının ise, kobalt toksikasyonuna bağlı artan lipit peroksidasyon ürünleri üzerine likopenin antioksidan gücüyle indirgeyici bir etki oluőturması ile açıklamak mümkündür.

Kobalt toksikasyonunun dokularda oksidatif stres oluőturarak lipitlerde peroksidasyona neden olduğu ve ayrıca antioksidan dengeyi bozduğu yapılan çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (Nackerdien ve ark., 1991, Gonzales ve ark., 2005, Endoh ve ark., 2000). Pek çok araştırmada (Neckardien ve ark., 1991, Gonzales ve ark., 2005, Shi ve ark., 1993), kobalt toksikasyonunda lipit peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan MDA'nın belirgin şekilde yükseldiği ve antioksidan düzeylerinin ise düőtüęü ifade edilmektedir. Yine benzer şekilde bazı araőtırmacılar (Osinsky ve ark., 2004, Christova ve ark., 1991), kobalt toksikasyonu esnasında oluşan lipit peroksidasyonunu, hücrelerde artan oksidatif hasarın dokulardaki peroksit düzeyini arttırmakla birlikte antioksidan savunma sistemini zayıflattığını ifade etmektedir. Biz de çalışmamızda, kobalt grubunun tüm dokularında MDA düzeylerinde artış tespit etmekle birlikte, en belirgin artışın kalp dokusunda ( $p < 0,001$ ) olduğunu gözlemledik. Araştırmalar (Bucher ve ark., 1999; National Toxicology Program., 1991), 13 haftadan fazla kobalt sülfat toksikasyonuna maruz bırakılan ratlarda kardiyomyopati şekillendiğini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Kerfoot ve ark. (1975), 3 ay boyunca haftada 5 gün, günde 6 saat, 0,1 mg/kg kobalt sülfat toksikasyonuna maruz bıraktıkları domuzların elektrokardiyogramlarında ciddi ventriküler bozukluklar tespit etmişlerdir. Tespit ettiğimiz doku MDA düzeyindeki bu artışları kobalt toksikasyonuna bağlı olarak artan lipit peroksitlerin doku peroksit düzeylerini arttırmasına bağlayabiliriz. Ancak kombine grupta çalışmamızda MDA düzeylerinin düşük olmasının; likopenin kobalt gibi toksik bir maddenin neden olduğu lipit peroksidasyon ürünleri üzerinde indirgeyici bir etkiye sahip c' kaynaklandığını söyleyebiliriz (Grafik IV,V,VI).



Birçok ajanın GSH gibi tiyol gruplarına karşı yüksek affinitesi olduğu bilinmektedir. Önemli bir antioksidan olan GSH, kobalt gibi birçok toksik ajanın hücrelerde neden olduğu serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Peroksitlerin veya oksitlenmiş sülfidril gruplarının indirgenmesi ile oksijen ihtiyacının arttığı ve oluşan oksidatif stres sonucu GSH düzeyinin ise azaldığı bazı çalışmalarda (Gonzales, 2005, Christova, 20) ifade edilmektedir. Bununla birlikte, birçok çalışmada (Shirivastava ve ark 2007, Gonzales, 2005, Christova, 2002), kobalt toksikasyonu esnasında oluşan serbest radikallerin kandaki lipit peroksit düzeyini arttırdığı belirtilmekle birlikte, kobalt toksikasyonunun bir antioksidan olan GSH ile ilişkisinin tartışıldığı yayınların sınırlı olduğu belirlenmiştir.

Gianfranco ve ark. (2001), kobalt toksikasyonu esnasında GSH düzeylerinde düşüş bildirmekle birlikte, buna sebep olan mekanizmalar ile ilgili herhangi bir fikir ileri sürmemişlerdir. Fakat Tania ve ark. (2003) ise, GSH'nın kobalt toksikasyonuna bağlı olarak oldukça düşük düzeylere düştüğünü tespit etmişler ve bir antioksidan ajan olan GSH'nın seviyesindeki bu düşüşün özellikle kobalt toksikasyonuna bağlı oldukça yüksek düzeylere ulaşan lipit peroksidasyonundan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde bizim sonuçlarımızda da yine bazı araştırmacıların (Shirivastava ve ark 2007, Gonzales, 2005, Christova, 2002) belirttiği gibi, kobalt toksikasyonu esnasında GSH düzeylerinde belirgin azalışlar saptanmıştır (Grafik I,II,III). Ancak bu azalışın kombine grupta kontrollere kıyasla daha az olduğu dikkat çekmiştir. Bu bulgulara göre, lipit peroksidasyon ile ilişkili bir antioksidan ajan olan GSH düzeyinde, kobalt toksikasyonuna bağlı olarak gözlenen önemli düşüşler, ortamda lipit peroksidasyonu oluşumuna neden olacak düzeyde oksidatif hasarın meydana geldiği fikrini akla getirmektedir.

Organizmada hücrel dengein korunmasında vitaminler oldukça önemli rollere sahiptirler. Canlının yaşam özelliklerini desteklemede tüm vitaminler eşit önemli olmakla birlikte, hücreleri peroksitlerin zararlı etkilerine karşı koru



zincir kırıcı bir antioksidan olan E vitamini ve A vitamininin prekürsörü olan  $\beta$ -karoten güçlü bir singlet oksijen tutucusu olmasından dolayı önemli vitaminler olarak değerlendirilmektedir. Bunlar özellikle ağır metal toksikasyonları, enfeksiyon hastalıkları, kanser, her türlü travma, gebelik gibi organizmayı stres altına sokan bir çok durumda artan serbest radikallere karşı hücresel dengeyi korumada oldukça önemlidirler.

Yapılan literatür taramalarında E vitamini ve  $\beta$ -karoten'in ağır metal toksikasyonları üzerindeki etkileri bildirilmekle birlikte, özellikle bir antioksidan olan  $\beta$ -karoten'in hücreleri toksik ajanlara karşı koruduğu ile ilgili bilgilerin oldukça yetersiz olduğu dikkat çekmiştir. Bununla birlikte kobalt toksikasyonuna bağlı oluşan serbest radikal oluşumunun doku E vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeylerini ne şekilde etkilediğine dair herhangi bir bilgiye de rastlanılmamıştır.

Ratlarda yapılan bir çalışmada (Hanafy ve Soltan., 2004), Co, Pb ve Hg ile indüklenmiş böbrek tubul hücre dejenerasyonuna karşı E vitamini uygulamasının koruyucu olabileceği gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada (Asar ve ark., 2004), organizmanın E vitamini rezervi arttırılmış ve böylece lipid peroksidasyonunun yaygınlığı engellenebilmiş bunun sonucu olarak da oksidatif doku hasarının boyutu azaltılabilmektedir. Benzer şekilde başka bir çalışmada da (Yiin ve ark., 1999), E vitaminin antioksidatif mekanizmalar yoluyla kadmiyum toksisitesini azaltarak, sıçanların karaciğer ve böbreklerinde kadmiyum alımını ve dağılımının sınırlandığı gözlenmiştir. Bununla birlikte Beytut (2002) yaptığı bir çalışmada, plazma E vitamini ve  $\beta$ -karoten seviyelerinin kadmiyuma maruz kalan tavşanlarda daha düşük olduğunu bildirmiştir. Yine Beytut ve ark. (2003) yaptığı başka bir çalışmada, tavşanlarda kadmiyum toksikasyonuna bağlı olarak karaciğer ve böbrekte E vitamini seviyelerinde belirgin şekilde azalış tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda kombine ve kobalt grubunun böbrek E vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeylerinde kontrollere kıyasla önemli düşüşler tespit edilmiştir (Sırasıyla  $1.5 \pm 0.1$  ve  $1.2 \pm 0.1$ ).



$p < 0,05$ ). Bu düşüş, kobaltın süperoksit anyonları ve  $H_2O_2$  ile biyolojik sistemlerde hidroksil radikalleri ve metal-oksijen kompleksleri gibi reaktif türleri üreterek dokularda oksidatif hasarı oluşturduğu ve buna bağlı olarak da antioksidan savunmayı zayıflattığı görüşe ile açıklanabilir. Yine çalışmamızda görüleceği gibi (Grafik VII ve IX'da); kobalt grubunun karaciğer E vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeyleri kontrol ve kombine grup ile kıyaslandığında azalma belirlenirken, bu azalışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edildi. Bu çalışmada karaciğer E vitamini ve  $\beta$ -karoten seviyelerinin azalma eğilimi göstermesi; kobalt toksikasyonuna bağlı olarak ortamda lipit peroksidasyonu oluşumuna neden olacak düzeyde oksidatif hasarın meydana geldiğini bu antioksidan maddelerin konsantrasyonlarının artan oksidatif stres karşısında kendi seviyelerini böbreğe göre daha iyi koruduklarını, bunun da karaciğer rezervlerinin iyi olmasından kaynaklanabileceği fikrini akla getirmektedir.

Bulgularımızı genel olarak değerlendirdiğimizde;

Kobalt toksikasyonunun farelerde c.a kaybına neden olmakla birlikte, dokularda MDA seviyelerini yükselttiği gözlenmiştir. Aynı zamanda bu toksikasyonun doku MDA düzeylerini arttırırken, GSH, E vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeylerini düşürdüğü; buna karşılık likopen takviyesinin kombine grubun MDA düzeylerini azaltırken, GSH, E vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeylerini ise arttırdığı ve c.a. kaybını önlediği saptanmıştır.

Sonuç olarak, kobalt toksikasyonunun farelerin karaciğer, kalp ve böbrek gibi dokularda lipit perosit ürünlerini (MDA) arttırmakla birlikte, en belirgin artışın kalpte yaptığını, buna karşılık likopen ilavesinin kobalt toksikasyonunun neden olduğu lipit peroksit ürünleri üzerinde indirgeyici bir etkiye sahip olduğu ve dolayısıyla kobalt gibi ağır metal toksikasyonlarına bağlı olarak doku lipit peroksidasyonunun yükseldiği durumlarda oluşabilecek olumsuzluklar üzerinde koruyucu roller oynayabileceği; aynı zamanda da bu konuda yapılacak daha ileri çalışmalara temel oluşturacağı kanaatindeyiz.



## 5.ÖZET

### **Farelerin Karaciğer, Kalp ve Böbreklerinde Kobaltın İndüklediği Oksidatif Hasara Karşı Likopenin Koruyucu Rolü**

Bu araştırmada, önemli bir çevre kirleticisi olan kobalta (Co) maruz kalan farelerin karaciğer, böbrek ve kalplerindeki lipid peroksidasyon değişimi ve bunun üzerine antioksidan etkili karotenoidlerden likopenin etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla ağırlıkları 45–50 gr arasında değişen, 3–4 aylık toplam 30 adet Swiss Albino cinsi erkek fare kullanıldı. Tüm hayvanlar her grupta 10 fare olacak şekilde toplam 3 gruba ayrıldı Bütün gruplardaki farelere yem ve su *ad libitum* olarak verildi.

**1-Kontrol Grubu (n=10):** Kontrol grubu farelere deneme grubundaki farelere yapılan uygulama ile eşitlik sağlanması için 30 gün süresince 3 mg/gün serum fizyolojik enjeksiyonu ve 10mg/kg/gün serum fizyolojik ise gastrik gavaj ile oral yoldan verildi.

**2-Kobalt Grubu (n=10):** Bu gruptaki farelere LD<sub>50</sub> değerine karşılık gelen 3 mg/gün Kobalt klorid (CoCl<sub>2</sub>) intramüsküler (İ.M.) olarak 30 gün süre ile verildi.

**3-Kobalt+Likopen Grubu (Kombine) (n=10):** Bu gruptaki farelere CoCl<sub>2</sub> LD<sub>50</sub> değerine karşılık gelen 3mg/gün dozda İ.M. olarak likopen ise 10mg/kg/gün dozunda 2 ml mısır yağında çözüldükten sonra oral olarak gastrik gavaj ile 1 ay süre ile verildi.

Bu uygulamaların sonunda fareler eter anestezisi altında öldürülüp, karaciğer, kalp ve böbrek dokusu çıkarılarak serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra, bu dokulardan hazırlanan homojenatlardan malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), E vitamini ve β-karoten düzeylerine bakıldı.



Kobalt grubunun karaciğer ve böbrek dokularındaki MDA düzeyleri kontrol ve kombine grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeylerindeki artış  $p<0,01$  düzeyinde anlamlı bulundu. Bununla birlikte kobalt toksikasyonunun en çok kalpteki MDA düzeylerini arttırdığı, bu artışın  $p<0,001$  düzeyinde oldukça anlamlı olduğu tespit edildi.

Kobalt grubunun karaciğer, böbrek ve kalbindeki GSH düzeyleri kontrol ve kombine gruba kıyasla belirgin şekilde düşüktü. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı olup tüm dokularda  $p<0,001$  düzeyindeydi.

Kombine ve kobalt gruplarının karaciğer ve böbrek E vitamini düzeyleri kontrollere göre düşük olmakla birlikte, bu düşüş böbrekte önemli olurken ( $p<0,001$ ), karaciğerde önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

Yine kobalt grubunun karaciğer ve böbrek  $\beta$ -karoten düzeylerinde kontrol ve kombine gruba göre belirgin şekilde azalma gözlenirken bu azalışın böbrekte istatistiksel olarak önemli ( $p<0,05$ ), karaciğerde ise önemsiz ( $p>0,05$ ) olduğu tespit edildi.

Bu bulgulara göre; akut kobalt toksikasyonunun farelerin karaciğer, böbrek ve kalp gibi dokuların MDA düzeylerini arttırıp; GSH, E vitamini ve  $\beta$ -Karoten düzeylerini ise azalttığı gözlemlenmiştir. Ancak; likopen uygulaması ile birlikte GSH, E vitamini ve  $\beta$ -karoten gibi antioksidan düzeylerinde artış sağlanmasının, likopenin akut kobalt toksikasyonunun neden olabileceği serbest radikallerin (Örn: MDA artışı gibi) olumsuz etkilerini önlemede önemli rol oynayabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Kobalt klorid, likopen, fare, MDA, GSH, E vitamini,  $\beta$ -karoten, karaciğer, böbrek, kalp.



## 6.SUMMARY

### **The protective role of lycopene against the oxydative destruction which cobalt induced in mice's liver, heart and kidney**

The purpose of this study is to cast a light on the change of lipid proxydation in the liver, kidney and heart of the mice, which are are subject to cobalt(co), which contaminates the environment immensely. This study also aims to search the influence of lycopene (which belongs to korotenoid) upon this, which has the function as antioxidant. For this purpose, 30 Swiss albino type and 3-4 month oldmale mice, whose weights vary between 45 and 50 gr, were used. All these animals were subdivided in to 3 groups, each comprising of 10 mice. The mice in all the groups were given *ad libitum* as food and water.

**1-Control Group (n:10):** The mice in the conrol group were given 3/mg/kg/day serum physiological injection and 10/mg/kg/day serum physiological with gastric gavaj orally so as to be able to form an equality with the implementation conducted upon the experiment group.

**2-Cobalt Group (n:10) :** The mice in this group were given 3mg/day Cobalt Klorid as intramuscular for 30 days, which equals to LD<sub>50</sub> value.

**3-Cobalt + Lycopene Group (Combination) (n:10):** The mice in this group were given 3mg/day dosage of IM and as for lycopene, the mice were given 10mg/kg/day dosage of lycopene after it was solved in 2 ml of corn-oil with gastric guvaj orally for 30 days, which equals to CoCl<sub>2</sub> LD<sub>50</sub> value.

At the end of this process, after the mice were killed under aether anaesthesia, the level of malodialdehit (MDA), glutation (GSH), vitemin-E and  $\beta$  -karoten wer in the prepared homogenats.



When the level of MDA in the tissue of liver and kidney of the cobalt group was compared to that of combination and control group, the increase in the level of MDA was regarded as meaningful at the level of  $p < 0,01$ . However, it was found out that cobalt toxication increased the level of MDA in the heart most and this increase was at the level of  $p < 0,001$ .

Compared to that of control and combination group, the levels of GSH in the tissue of liver, kidney and heart of the cobalt group were apparently very low. This decrease is meaningful within the terms of statics and it was at the level of  $p < 0,001$ .

However the kidney and the liver vitamin E level of the both control and combination groups were very low according to the controls, this diminishment in kidney was important in regard ( $p < 0,001$ ) but not important in liver ( $p > 0,05$ ). In the same way, the liver-vitamin E level of the both experiment group was fixed as decreased in comparison with that of control group and this dimimnishment was trivial ( $p > 0,05$ ).

A vital drop was observed in the kidney  $\beta$ -karoten levels in comparison with that of control and combination groups. And this drop was important in regard to statics ( $p > 0,05$ ) but the decrease in the liver,  $\beta$ - karoten levels of the same group was evaluated as frivolous when compared to that of control group.

According to these findings, it has been observed that while acute cobalt toxication soars the levels of MDA of such tissues of mice as liver, kidney and heart. It dwindles the levels of GSH vitamin E and  $\beta$ -karoten. Consequently, it has been decided that lycopene can play a pivotal role in the prevention of the adverse impacts of free radicals (for instance: MDA increase), which can be caused by acute-cobalt toxication.

**Key words:** :Cobalt clorid, lycopene, mice, MDA, GSH, vitamin E,  $\beta$ -karoten, kidney, hearth





## 7.KAYNAKLAR

Akkuş, İ.: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, 1:3–10, 1. Baskı, 1995.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagan, T.M.:Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci USA., 90, 7915–7922,1993.

Amir, H., Karas, M., Giat, J., Danilenko, M., Levy, R., Yermiahu, T., Levy, J., Sharoni, Y.: Lycopene and 1,25–dihydroxyvitamin–D3 cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL–60 leukemic cells. Nutr Cancer., 33, 105–112. 1999.

Asar M, Kayisli UA, Izgut-Uysal VN, Akkoyunlu G. Immunohistochemical and ultrastructural changes in the renal cortex of cadmium-treated rats. Biol Trace Elem Res; 97: 249-263, 2004.

Barborik, M., Dusek, J.: Cardiomyopathy accompanying industrial cobalt exposure, British Heart Journal 34:113-116, 1972.

Beauchamp, C., Fridovich, I., Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. Analytical Biochemistry, 44, 276-287, 1971

Beytut, E.: Alterations in Erythrocyte Antioxidants and Plasma Lipid Peroxidation of Rabbits Exposed to Cadmium. Indian Veterinary Journal, 79:334-338, 2002.



Beytut, E., Yuce, A., Kamiloglu, N.N., Aksakal, M.,: Role of dietary vitamin E in cadmium-induced oxidative damage in rabbit's blood, liver and kidneys. *Int J Vitam Nutr Res.* Oct;73(5):351–5, 2003

Böhm, F., Edge, R., Burke, M., Truscott, T.G.,: Dietary uptake of lycopene protects human cells from singlet oxygen and nitrogen dioxide—ROS components from cigarette smoke. *J Photochem Photobiol.*, 64, 176–178, 2001.

Bramley, P.M.,: Is lycopene beneficial to human health., *Phytochemistry.*, 54(3):233-6, Review, 2000.

Bucher, J.R., Elwell, M.R., Thompson, M.B., Chou, B.J., Renne, R., Ragan, H.A.,: Inhalation toxicity studies of cobalt sulfate in rats and mice. *Fundam Appl Toxicol.*,15:357–372, 1990.

Bucher, J.R., Hailey, J.R., Roycroft, J.R., Haseman, J.K., Sills, R.C., Grumbein, S.L., Mellick, P.W., Chou, B.J.,: Inhalation toxicity and carcinogenicity studies of cobalt sulfate, *Toxicological Sciences*, vol 49, 56-67, 1999.

Burton, G.W., Ingold, K.U.,:Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann NY Acad Science.*, 570, 7–22, 1989.

Bump, A.E., Brown, J.M., Role of glutathione in the radiation response of mammalian cells in vitro and in vivo. *Pharmac. Ther.*, 47, 117- 136, 1990.

Ceballos-Picot, I., Triver, J.M., Nicole, A., Sinet, P.M., Thevenin, M., Age-correlated modification of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin. Chem.*, 38 (1), 66- 70, 1992.



Cadenas, E., Packer, L.,: Handbook of antioxidants. Marcel Dekker. Inc. New York., 1996.

Canene-Adams, K., Campbell, JK., Zaripheh S., Jeffery, E.H., Erdman, J,W., Jr.,: The tomato as a functional food. Journal Nutricians. 135(5):1226–30, 2005.

Carr, A., Frei, B.,: Does Vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions FASEB Journal, 13,1007–1024, 1999.

Cereser, C., Guichard, J., Drai, J., Bannier, E., Garcia, I., Boget, S., Parvaz, P., Revol, A., Quantitation of reduced and total glutathione at the femtomole level by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to red blood cells and cultured fibroblasts. J. Chromatography B., 752, 123- 132, 2001.

Clinton, S,K., Emenhiser, C., Schwartz, S,J., Bostwick. D,G., Williams A,W., Moore B,J., Erdman, J,W., J,r.,: Cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate Cancer Epidemiol Biomarkers Preview. 5(10):823–33, 1996.

Cheeseman, K,H., Slater, T,F.,:An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull. 49(3):481–93, Review., 1993.

Christova, T,Y., Duridanova, D,B., Setchenska, M, S.,: Enhanced heme oxygenase activity increases the antioxidant defense capacity of guinea pig liver upon acute cobalt chloride loading:comparison with rat liver, Comparative Biochemistry and Physiology Part C 131 177–184, 2002.

Conn, P,F., Schalch, W., Truscott, T,G.,:The singlet oxygen and carotenoid interaction. Photochem Journal, Photobiol, B 11, 41–47, 1991.



Cross CE, Halliwell B, Borish E, Pryor W, Ames BN, Saul R, Mc Cord JM, Harman D, Oxygen radicals and human disease. *Annals of Internal Medicine*, 107, 526-545, 1987.

DAS, D.K., Naturally occurring flavonoids: Structure, chemistry and high performance liquid chromatography methods for separation and characterization. *Methods in Enzymol.* 234, 410–419, 1994.

Demedts, M., Gheysens, B., Nagels, J., Verbeken, E., Lauweryns, J., Van Den Eeckhout, A., Lahaye, D., Gyselen, A.,: Cobalt lung in diamond polishers. *Am Review Respiratuar Disease.*, 130:130-135, 1994

Dorgan JF., Sowell A., Swanson CA., Potischman N., Miller R., Schussler N., Stephenson HE. Jr. Dose–response effects of lycopene on selected drug–metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett.* 30;154(2):201–10, 2000.

El–Agamey, A., Lowe, G.M., Mc Garvey, D.J., Mortensen, A., Phillip, D.M., Truscott, T.G.,: Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro–oxidant properties, *Arch Biochem Biophys*, 430, 37–48, 2004.

Endoh, H., Kaneko, T., Nakamura, H., Doi, K., Takahashi, E., :Improved cardiac contractile functions in hypoxia-reoxygenation in rats treated with low concentration Co2+. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 279, H2713–H2719, 2000.

Erhardt JG., Meisner C., Bode JC.: Lycopene, beta–carotene and colorectal adenomas. *Am J Clin Nutr.* 78(6):1219–24, 2003.

Ewing, J.E., Maines, M.D.,:Glutathione depletion induces heme oxygenase-1 (HSP32) mRNA and protein in rat brain. *J. Neurochem.* 60, 1512–1519, 1993.



Floyd, R.A., Antioxidants, oxidative stress and degenerative neurological disorders. *Experimental Biology and Medicine*, 222, 236- 245, (1999).

Fridovich I, Superoxide anion radical, superoxide dismutases and related matters. *J. Biological Chemistry*, 272(30), 18515-18525, (1997).

Gianfranco, O., Christian, H., Egemen., S., Chuong, L., Fides, M., Ginette B., Manfred, B., Müller-Spahn, Franz.,: Melatonin protects SHSY5Y neuroblastoma cells from cobalt-induced oxidative stress, neurotoxicity and increased  $\beta$ -amyloid secretion. *Journal of Pineal Research* Volume 31 Issue 4, 320 – 325, 2008.

Giovannucci, E.,: Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: review of the epidemiologic literature. *Journal National Cancer Institute*, 91, 317–331, 1999.

Giron, Y.E., Rise, M., Levy, J.,: Effects of lycopene enriched tomato oleoresin on 7,12-dimethyl-benz[a]anthracene-induced rat mammary tumors. *Cancer Detect Prevent*, 21, 118–123, 1997.

Gonzales, S., Polizio, A.H., Erario, M.A., Tomaro, M.L.,: Glutamine is highly effective in preventing in vivo cobalt-induced oxidative stress in liver. *World J. Gastroenterol.* 11 (23), 3533–3538, 2005.

Habashi, F.,: *Handbook of Extractive Metallurgy.*, WILEY-VCH, Vol. 2, Germany, 1997.

Halliwell, B., Chirico, S.,: Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr.*, 57(5 Suppl): 715–724; discussion 724–725, 1993.



Halliwell, B.,: Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet*, 344, 721–724, 1994.

Hanafy, S., Soltan, M.E.,: Effects of Vitamin E pretreatment on subacute toxicity of mixture of Co, Pb, and Hg nitrate-induced nephrotoxicity in rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Volume 17, Issue 3, 159-167, 2004.

Handelman, G.J.,: The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*. 17(10):818–22, 2001.

Harats, D., Chevion, S., Nahir, M., Norman, Y., Sagee, O., Berry, E.,: Citrus fruit supplementation reduces lipoprotein oxidation in young men ingesting a diet high in saturated fat: presumptive evidence for an interaction between vitamin C and E in vivo. *Am J Clin Nutr*, 67, 240–245, 1998.

Heikkila, R.E., Cabbat, F.,: A sensitive assay for superoxide dismutase based on the autoxidation of 6-hydroxydopamine. *Analytical Biochemistry*, 75, 356-362, 1976

Horowitz, S.F., Fischbein, A., Matza, D., Rizzo, J.N., Stern, A., Machac, J., Solomon, S.J.,: Evaluation of right and left ventricular function in hard metal workers. *Br J Ind Med*. 45:742–746, 1988.

Jarvis, J.Q., Hammond, E., Meier, R., Robinson, C.,: Cobalt cardiomyopathy. A report of two cases from mineral assay laboratories and a review of the literature. *Journal Occupational Med*;34:620-626, 1992.

Kaplan, L.A., Lau, J.M., Stein, E.A.,: Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. *Clin Physiol Biochem*. 8(1):1–10, 1988



Karas, M., Amir, H., Fishman, D., Danilenko, M., Segal, S., Nahum, A., Koifmann, A., Giat, Y., Levy, J., Sharoni, Y., Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signaling in mammary cancer cells. *Cancer Nutricaians*. 36, 101–111,2000.

Karbownik, M., Reiter, R.J., Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation. *Experimental Biology and Medicine*, 225, 9-22, 2000.

Kasprzak, K.S., Possible role of oxidative damage in metal-induced carcinogenesis. *Cancer Invest*. 13, 411–430, 1995.

Kasprzak, K.S., Zastawny, T.H., North, S.L., Riggs, C.V., Diwan, B.A., Rice, J.M., Dizdaroğlu, M.,: Oxidative DNA damage in renal, hepatic, and pulmonary chromatin of rats after intraperitoneal injection of cobalt (II) acetate. *Chem. Res. Toxicol*. 7,329-335, 1994

Kaya, S., Piriñçi, I., Bilgili, A.,: Çevre bilimi ve çevre toksikolojisi, Ankara, Medisan Yayınevi. 1998.

Kayden, H.J., Chow, C.K., Bjornson, L.K.,: Spectrophotometric method for determination of tocopherol in red blood cells, *Journal of Lipid Research*, Vol. 14, 533-540, 1973

Kendrick, M.J., May, M.T., Plishka, M.J., Robinson, K.D., :Metals in Biological Systems, 1992.

Kerfoot, E.J., Fredrick, W.G.,: Domeier E. Cobalt metal inhalation studies on miniature swine. *Am Ind Hyg Assoc J*. 36:17–25, 1975.



Khachik, F., Carvalho, L., Bernstein, P.S., Muir, G.J., Zhao, D.Y., Katz, N.B.,: Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med* (Maywood). 227(10):845–51, Review 2002.

Kim, Y.C., Araki, S., Kim, D.J., Park, C.B., Takasuka, N, Baba– Toriyama, H., Ota, T., Nir, Z., Khachik, F., Shimidzu, N., Tanaka, Y., Osawa, T., Uraji, T., Murakoshi, M, Nishino, H., Tsuda, H., :Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on Mouse colon carcinogenesis after 1,2–dimethylhydrazine initiation. *Carcinogenesis*, 19, 81–85. 1998.

Kozuki, Y., Miura, Y., Yagasaki, K.,: Inhibitory effects of carotenoids on the invasion of rat ascites hepatoma cells in culture. *Cancer Lett.* 3;151(1):111–5, 2000.

Kojo, S., :Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress, *Curr Med Chem*, 11, 1041–1064. 2004.

Küchler, W., Verlag, C.H.,: *Chemische Technology*, Band 4, , ISBN 3–446–13182–5. Wien, 1986

Lasfargues, G., Moulin, J.J., Wild, P., Romazini, S., Peltier, A., Bozec, C., Deguerry, P., Pellet E., Perdrix, A.,: Lung cancer risk in hard-metal workers, *American Journal of Epidemiology* Vol. 148, No. 3: 241–248, 1998.

Leon, T., Broeke, Van., Gra, Astrid., Lars, J., Nilsson, G., Wahlberg, J, E., Scheynius, A., Karlberg, A.T.,: Free radicals as potential mediators of metal-allergy:Ni - and Co -mediated free radical generation, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6 279–286, 1998





Levy, J., Bosin, E., Feldman, B., Giat, Y., Miinster, A., Danilanko, M., Sharoni, Y.,: Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either alpha-carotene or beta-carotene. *Nutr Cancer*, 24, 257–266. 1995

Lingen, C., Ernster, L., Lindberg, O.,: The promoting effect of lycopene on the nonspecific resistance of animals. *Exp Cell Res*, 16, 384–393, 1959.

Mascio, P.D., Murphy ME, Sies H, Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols and thiols. *Am. J. Clin. Nutrition*, 53, 194S-200S, 1991.

Mayne, S.T.,: Beta carotene, carotenoids and disease prevention in humans. *FASEB J*, 10, 690–701, 1996.

Mertz, W.,: Trace Elements In Human and Animal Nutrition–Fifth Edition. Vol. 1, Academic Pres, 1987

Mc Cord, J.M., Free radicals and inflammation: Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science*, 185, 529-531, (1974).

McCord, J.M., Fridovich, I., Superoxide dismutase. *J. Biological Chemistry*, 244(22), 6049-6055, 1969.

Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Bramley, P.M., Rice–Evans, C.A.,: Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett*, 384, 240–246. 1996.

Mortensen, A., Skibsted, L.H., Truscott, T.G.,:The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch Biochem Biophys*, 385, 13–19. 2001.



Moulin, J.J., Wild, P., Mur, J.M., Fournier-Betz, M., Mercier-Gallay, M.: A mortality study of cobalt production workers: An extension of the follow-up, *American Journal of Industrial Medicine*, Volume 23, Issue 2, Pages 281 – 288, 2001

Mur, J.M., Moulin, J.J., Charruyer-Seinerra, M.P., Lafitte, J.: A cohort mortality study among cobalt and sodium workers in an electrochemical plant. *Am J Ind Med*;11:75–81, 1987.

Nahum, A., Hirsch, K., Danilenko, M., Watts, C.K., Prall, O.W., Levy, J., Sharoni, Y.: Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27(Kip1) in the cyclin E–cdk2 complexes. *Oncogene*, 20,3428–3436, 2001.

National Toxicology Program. Toxicity studies of cobalt sulfate heptahydrate in rats and mice (CAS No. 10026–24-1). Springfield, VA:National Institutes of health and human services, 1991.

NTP (National Toxicology Program). Toxicology and carcinogenesis; studies of cobalt sulfate heptahydrate (CAS NO. 10026–24-1) in rats and mice NIH Publicaton No 98-3961 NTP TR 471 1-12, 1998.

Nackerdien, Z., Kasprzak, K.S., Rao, G., Halliwell, B., Dizdaroglu, M.,: Nickel(II)- and cobalt(II)-dependent damage by hydrogen peroxide to the DNA bases in isolated human chromatin, *Cancer Res.*;51(21):5837-42, 1991.

Obermuller–Jevic, U.C., Olano–Martin, E., Corbacho, A.M., Eiserich, J.P., Van Der Vliet, A., Valacchi, G., Cross, C.E., Packer, L.:Lycopene inhibits the growth of normal human prostate epithelial cells in vitro. *J Nutr*, 133, 3356–3360, 2003



Okijima, E., Tsutsumi, M., Ozono, S., Akai, H., Denda, A., Nishio, H.,: Inhibitory effect of tomato juice on rat urinary bladder carcinogenesis after N-butyl\_N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine initiation, Japan Journal Cancer Research, 89,22-26,1998.

Oshima, S., Ojima, F., Sakamoto, H., Ishiguro, Y., Terao, J., Supplementation with carotenoids inhibit singlet oxygen mediated oxidation of human plasma low-density lipoprotein. J Agric Food Chem, 44, 2306–2309, 1996.

Osinsky, S., Levitin, L., Bubnovskaya, L., Sigan, A., Ganusevich, L., Kovelskaya, A., Valkovskaya, N., Campanella, L., Wardman, P.,: Selectivity of effects of redox-active cobalt(III) complexes on tumor tissue, Exp Oncol. Jun;26(2):140-4, 2004

Palmes, E.D., Nelson, N., Laskin, S., Kuschner, M.,: Inhalation toxicity of cobalt hydrocarbonyl, Am Ind Hyg Assoc J., 20:453-68. 1959.

Pastori, M., Pfander, H., Boscoboinik, D., Azzi, A.,: Lycopene in association with  $\alpha$ -tocopherol inhibits at physiological concentrations proliferation of prostate carcinoma cells. Biochem Biophys Res Commun, 250, 582–585, 1998.

Pincemail, J.,: Free radicals and antioxidants in human disease. Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre J-L, Analysis of free radicals in biological systems. Basel, Switzerland, Birkhäuser Verlag, p. 83–98, 1995.

Placer, A.Z., Linda, L.C., Johnson, B., Estamination of product of lipid peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem, 16: 359-364, 1966.



Prescott, E., Netterstrom, B., Faber, J., Hegedus, L., Suadiciani, P., Christensen, J.M.: Effect of occupational exposure to cobalt blue dyes on the thyroid volume and function of female platepainters. *Scand J Work Environ Health*;18:101–104, 1992.

Pruthi, R.S., Derksen, E., Gaston, K.: Cyclooxygenase–2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors, a review. *J Urol*, 169, 2352–9, 2003.

Pryor, W.A.; Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trial. *Free Rad Biol Med*, 28,141–164, 2000.

Rao, A.V., Agarwal, S.: Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr Res*, 19, 199–203, 1999.

Reddy, S.V.K. ve Venkaiah, B., Chemical modification studies on isoenzymes of superoxide dismutase from bajra seedlings. *Phytochemistry*, 27(7), 1959-1960, 1988.

Reiter, R.J., Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. *Progress in Neurobiology*, 56, 359-384, 1998.

Robards, K. ve Antolovich, M., Analytical chemistry of fruit bioflavonoids ‘Critical Review’. *The Analyst* 122, 1R-34R, 1997.

Saez, J.C., Berthoud, V.M., Branes, M.C., Martinez, A.D., Beyer, E.C.: Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions. *Physiol Rev*, 83,1359–1400, 2003.

Sedlak, J., Lindsay, R.H.: Estimation of total protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with ellman’s reagent, *Anal. Biochem*, 25:192-200, 1956



Scansetti, G., Lamon, S., Talarico, S., Botta, G.C., Spinelli, P., Sulotto, F., Fantoni, F.: Urinary cobalt as a measure of exposure in the hard metal industry, *International Archives of Occupational and Environmental Health*, Volume 57, Number 1, 1985

Shedd, K.B.: Cobalt, *Geological Survey Minerals Yearbook*, 1995

Shi, X., Dalal, N.S., Kasprzak, K.S.: Generation of free radicals from model lipid hydroperoxides and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by Co(II) in the presence of cysteinyl and histidinyl chelators. *Chem. Res. Tox.* 6, 277–283, 1993.

Shimizu, N., Kobayashi, K., Hayashi, K., The reaction of superoxide radical with catalase. *J. Biological Chemistry*, 259(7), 4414–4418, 1984.

Shrivastava, K., Shukla, D., Bansal, A., Sairam, M., Banerjee, P.K., Ilavazhagan, G.: Neuroprotective effect of cobalt chloride on hypobaric hypoxia-induced oxidative stress, *Neurochemistry International* 52 368–375, 2008.

Sibley, S.F.: Cobalt in, *Mineral Facts and Problems*, Washington D.C. pp:269–280, 1975.

Siler, U., Barella, L., Spitzer, V., Schnorr, J., Lein, M., Goralczyk, R., Wertz, K., Lycopene and vitamin E interfere with autocrine/paracrine loops in the Dunning prostate cancer model., *The FASEB Journal Express*:10. 1096 .03 – 1116, 2004.

Singh, P.P., Junnarkar, A.Y.: Behavioural and toxic profile of some essential trace metal salts in mice and rats, *Indian J Pharmac*, 23 : 153–159, 1991.

Sies, H., Stahl, W., Sevanian, A., Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr*, 135, 969–972, 2005.



Stahl, W., Sies, H.,.: Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heatprocessed than from Unprocessed Tomato Juice in Humans, *Journal of Nutrition* Vol. 122 No. 11 pp. 2161-2166, 2005.

Stahl, W., Junghans, A., De Boer, B., Driomina, E,S., Briviba, K., Sies, H., Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Lett*, 427, 305–308, 1998.

Stahl, W., Sies, H., .: Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. *Arch Biochem Biophys*. 1;336(1):1–9, Review 1996

Suzuki, J,I., Katoh, N.,:A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle only a spectrophotometer, *Japan. Journal Vet. Sci*. 52(6):1281–1283,1990

Swennen, B., Buchet, J,P., Stanescu, D., Lison, D., Lauwerys, R.,.: Epidemiological survey of workers exposed to cobalt oxides, cobalt salts, and cobalt metal. *Br J Ind Med*;50:835-842, 1993.

Tania, Y., Christova, A., Galina, A., Gorneva, B., Svetoslav, I., Taxiroy, B., Dessislava, B., Duridanova, A., Milka, S. S.: Effect of cisplatin and cobalt chloride on antioxidant enzymesin the livers of Lewis lung carcinoma-bearing mice: protective role of heme oxygenase, *Toxicology Letters* 138: 235- 242, 2003.

Tanumihardjo, S,A,,, Furr, H,C., Amedee–Manesme, O., Olson, J,A,: Retinyl ester (vitamin A ester) and carotenoid composition in human liver. *Int J Vitam Nutr Res*. 60(4):307–13, 1990.



Van Poppel, G.,: Carotenoids and cancer: an update with emphasis on human intervention studies. *Eur J Cancer*, 29A,1335–1344, 1993.

Van Poppel, G., Gooldbohm, R,A.,: Epidemiologic evidence for  $\beta$ -carotene and cancer prevention. *Am J Clin Nutr*, 62, 1393S–402S, 1995

Wang, X.,Yokoi, I., Liu, J., Mori, A.,: Cobalt(II) and nickel(II) ions as promoters of free radicals in vivo: detected directly using electron 2 spin resonance spectrometry in circulating blood in rats. *Arch. Biochem. Biophys.* 306, 402–406, 1993

Wehner, A, P., Busch, R, H., Olson, R, J.,: Chronic inhalation of cobalt oxide and cigarette smoke by hamsters, *American Industrial Hygiene Association Journal*, Volume 38, Issue 7 , pages 338 - 346, 1977

Wheeler, C.R., Salzman, J.A., Elsayed, N.M., Omaye, S.T., Korte, D.W., Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Analytical Biochemistry*, 184, 193-199, 1990.

Witztum, J,L.,:The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, 344,793–5, 1994.

World Health Organisation, Cobalt. WHO , pp. 92–205. 1992

World Health Organisation, Cobalt and inorganic cobalt compaunds, 2006

Yaping, Z., Suping, Q., Wenli, Y., Zheng, X., Hong, S., Side, Y., Dapu, W.: Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical  $\text{CCl}_3\text{O}_2$ , 2002.

Yiin, S,J., Chern, Cl., Sheu, J,Yb,: Cadmium-induced renal lipid peroxidation in rats and protection by selenium. *Journal Toxicol Environ Health*; 57: 403-413, 1998



## 8.ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Eskişehir'in Mahmudiye ilçesinde dünyaya geldim. İlköğrenimimi Mahmudiyede tamamladım. 2001 yılında Çifteler Sağlık Meslek Lisesi'nde ortaöğretimimi tamamladım. 2001 yılında Kafkas Üniversitesi Kars Sağlık Yüksekokulu Sağlık Memurluğu bölümünü kazandım ve 2005 yılında mezun oldum. Aynı yıl Kars Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi'ne atandım ve halen bu hastanede çalışmaktayım.

