

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı**

**RATLARDA KURŞUN MARUZİYETİNE KARŞI
DİOSMİNİN ETKİSİ**

**Hazırlayan
Mehmet BOZDAĞ**

**Danışman
Prof. Dr. Gökhan ERASLAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Şubat 2019
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı**

**RATLARDA KURŞUN MARUZİYETİNE KARŞI
DİOSMİNİN ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Mehmet BOZDAĞ**

**Danışman
Prof. Dr. Gökhan ERASLAN**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TYL-2015-5859 no'lu proje ile desteklenmiştir.**

**Şubat 2019
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Mehmet BOZDAĞ

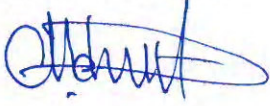


YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Ratlarda Kurşun Maruziyetine Karşı Diosminin Etkisi” adlı **Yüksek Lisans Tezi**,
Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak
hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Mehmet BOZDAĞ

**Danışman**

Prof. Dr. Gökhan ERASLAN

**Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı**

Prof. Dr. Gökhan ERASLAN



Prof. Dr. Gökhan ERASLAN danışmanlığında **Mehmet BOZDAĞ** tarafından hazırlanan “**Ratlarda Kurşun Maruziyetine Karşı Diosminin Etkisi**” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

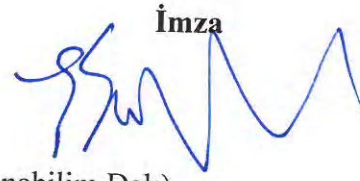
22/02/2019

JÜRİ

Üye : Prof. Dr. Gökhan ERASLAN (Danışman)

(Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı)

İmza



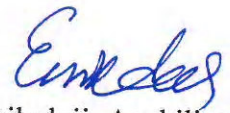
Üye : Doç. Dr. Mürsel KARABACAK

(Kayseri Üniversitesi Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksek Okulu Hayvan Sağlığı Bölümü)



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Emre ARSLANBAŞ

(Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı)

**ONAY**

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

.../.../...

Enstitü Müdürü**Prof. Dr. Bilal AKYÜZ**

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanması ve yürütülmesi aşamasında benden desteğini esirgemeyen Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı ve Danışman hocam Prof. Dr. Gökhan ERASLAN'a teşekkür ederim. Hayvan deneyi ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarından dolayı Doç. Dr. Mürsel KARABACAK, Dr. Zeynep SOYER SARICA ve Araş. Gör. Dr. Muhammet Yasin TEKELİ'ye teşekkür ederim.



RATLARDA KURŞUN MARUZİYETİNE KARŞI DİOSMİNİN ETKİSİ

Mehmet BOZDAĞ

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Şubat 2018
Danışman: Prof. Dr. Gökhan ERASLAN**

ÖZET

Çalışma kapsamında, ratlarda kurşun maruziyetinin oluşturduğu olumsuz etkilere karşı diosminin etkinliği araştırıldı. Bu amaçla Wistar Albino ırkı 2-3 aylık 150-200 g ağırlığında 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Biri kontrol 3'ü deneme olmak üzere 4 grup oluşturuldu. Kontrol grubundaki hayvanlara, diosmin uygulamasında taşıt madde olarak kullanılan dimetil sülfoksit verildi. Deneme grubundan Grup 2, 3 ve 4'e sırasıyla 50 mg/kg.ca dozunda diosmin, 1000 ppm dozunda kurşun asetat, 1000 ppm dozunda kurşun asetat ile birlikte 50 mg/kg.ca dozunda diosmin 6 hafta süreyle verildi. Kurşun asetat uygulaması içme suyu ile diosmin uygulaması ağızdan sonda ile yapıldı. Deneme süresinin sonunda, hafif eter anestezisi altında kalbe punksiyon yapılarak heparinli ve kuru tüplere kan alındı. Kan örnekleri alınmasını takiben ratların bazı organları (karaciğer, böbrek, beyin, kalp, testis) çıkarıldı. Serumda bazı biyokimyasal parametreler (glukoz, trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, LDH, AST, ALT, ALP, total protein, albumin) ölçüldü. Doku örneklerinde (karaciğer, böbrek, beyin, kalp, testis) ve kanda bazı oksidatif stres parametreleri (MDA, NO, SOD, CAT, GSH-Px, GSH) değerlendirildi. Ayrıca çalışma sonunda vücut ve doku (karaciğer, böbrek, beyin, kalp, testis) ağırlıkları alındı. Sadece diosmin uygulanan grupta incelenen parametrelerde kontrol grubuna göre önemli bir değişiklikler tespit edilmedi. Diğer taraftan kurşun uygulanan grubun değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı değişimler bulundu. Kurşun ile diosmin uygulanan grupta değerlerin kontrol grubu değerlerine yaklaştığı gözlemlendi. Sonuç olarak, 1000 ppm dozunda 6 hafta süreyle uygulanan kurşun doku hasarına yol açarken 50 mg/kg.ca dozunda uygulanan diosminin bu hasarın geriletilmesinde etkisi olduğu anlaşıldı.

Anahtar kelimeler: Kurşun, diosmin, oksidatif stres, biyokimyasal parametre, organ hasarı, rat.

THE EFFECT OF DIOSMIN AGAINST LEAD EXPOSURE IN RATS

Mehmet BOZDAĞ

**Erciyes University, Institute of Health Sciences
Department of Pharmacology and Toxicology
Master of Science Thesis February 2019
Thesis Advisor: Prof. Dr. Gökhan ERASLAN**

ABSTRACT

In this study, the effect of diosmin against the adverse effects of lead exposure in rats was investigated. For this purpose, Wistar Albino race 40 male rats weighing 150-200 g 2-3 months were used. A total of 4 groups were assigned, one of which was control and the other 3 were trial groups. The rats in the control group were treated with dimethyl sulfoxide, which was used only as a vehicle in diosmin administration. Group 2, 3 and 4 from the experimental group were given diosmin at a dose of 50 mg/kg.bw, lead acetate at the dose of 1000 ppm, lead acetate at the dose of 1000 ppm and diosmin at a dose of 50 mg/kg.bw for 6 weeks, respectively. Application of lead acetate with drinking water and also diosmin was performed by oral catheter. At the end of the experimental period, blood was taken to dry and with heparin by puncture to the heart under light ether anesthesia. Following the blood samples, some organs of the rats (liver, kidney, brain, heart, testis) were removed. Some biochemical parameters (glucose, triglyceride, cholesterol, BUN, creatinine, uric acid, LDH, AST, ALT, ALP, total protein, albumin) were measured in serum. Some oxidative stress parameters in tissue samples and blood (MDA, NO, SOD, CAT, GSH-Px, GSH) were evaluated. Body and organ (liver, kidney, brain, heart, testis) weights were also evaluated at the end of the study. No significant change was observed in the parameters examined in the diosmin alone treated group compared to the control group. On the other hand, significant changes were found in the values of lead acetate treated group compared to control group. It was observed that the values approached the control group values in the group with lead and diosmin. Consequently, exposure to lead acetate at a dose of 1000 ppm for 6 weeks causes organ damage, however the diosmin application at a dose of 50 mg/kg.bw had a positive effect on the regression of liver damage.

Key words: Lead, diosmin, oxidative stress, biochemical parameters, organ damage, rat.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
KABUL ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	x
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	.1
2. GENEL BİLGİLER.....	.4
2.1. KURŞUN	.4
2.1.1. Özellikleri ve Kaynakları	.4
2.1.2. Toksikokinetik.....	.4
2.1.2.1. Emilme	.4
2.1.2.2. Dağılım	.5
2.1.2.3. Metabolizma ve Atılım	.6
2.1.3. Etki Şekli.....	.6
2.1.4. Zehirliliği ve Klinik Belirtileri.....	.8
2.1.5. Tanı.....	.11
2.1.6. Zehirlenmelerde Sağaltım.....	.11
2.1.7. Geçmişte ve Yakın Zamana Kadar Kullanımı	.13
2.2. Diosmin.....	.14
2.3. Oksidatif Stres.....	.16

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. KULLANILAN CİHAZ, MALZEME VE KİMYASALLAR.....	19
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	19
3.1.2. Kimyasallar.....	20
3.2. YÖNTEM.....	21
3.2.1. Hayvan Materyali	21
3.2.2. Gruplar	21
3.2.3. Örneklerin Toplanması	22
3.2.4. Eritrositlerin Yıkınması ve Hemolizatların Hazırlanması.....	22
3.2.5. Doku Homojenatının Hazırlanması.....	23
3.2.6. Biyokimyasal Analizler	23
3.2.6.1. Plazma ve Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü.....	23
3.2.6.2. Eritrosit Hemoglobin Düzeyi Ölçümü	24
3.2.6.3. Doku Protein Düzeyi Ölçümü.....	24
3.2.6.4. Eritrosit ve Doku Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçümü.....	25
3.2.6.5. Eritrosit ve Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü.....	25
3.2.6.6. Eritrosit ve Doku Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Ölçümü	25
3.2.6.7. Plazma ve Doku Nitrik Oksit (NO) Düzeyi Ölçümü.....	26
3.2.6.8. Plazma ve Doku Glutasyon (GSH) Düzeyi Ölçümü.....	26
3.2.6.9. Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Analizi	27
3.3. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR.....	27

4. BULGULAR.....	..28
4.1. DİOSMİN.....	..28
4.2. KURŞUN	..28
4.3. KURŞUN VE DİOSMİN	..29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	..38
5.1. DİOSMİN.....	..40
5.2. KURŞUN.....	..41
5.3. KURŞUN VE DİOSMİN	..44
6. KAYNAKLAR	..47
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

Pb	: Kurşun
CAT	: Katalaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik oksit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
AST	: Aspartat amino transferaz
ALT	: Alanin amino transferaz
ALP	: Alkalın transferaz
LDH	: Laktad dehidrojenaz
BUN	: Kan Üre Azotu

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların plazma/eritrosit bazı oksidatif stres parametreleri.....	30
Tablo 4.2. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların karaciğer dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.....	31
Tablo 4.3. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların böbrek dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.....	32
Tablo 4.4. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların beyin dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.....	33
Tablo 4.5. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların kalp dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.....	34
Tablo 4.6. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların testis dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.....	35
Tablo 4.7. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların serum bazı biyokimyasal parametreleri.....	36
Tablo 4.8. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların canlı ağırlık, organ ağırlıkları ve organ ağırlığı/canlı ağırlık oranları (bağıl ağırlık).....	37
Şekil 2.1. Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.2. Diosminin kimyasal yapısı.....	16

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kurşun (Pb), yerkabuğunun en yaygın beşinci elementidir. Doğal olarak oluşur ve oldukça zehirli bir ağır metaldir. Ayrıca bitki, hayvan, su, hava ve toprakta hem serbest hem de bileşik halinde yer alır. İnorganik kurşun bileşikleri şeklinde de bulunur. Kurşun, madencilik, sanayi üretimi ve yanan fosil yakıtları gibi insan faaliyetlerinden türetilen ortamlarda mevcuttur. Üç formu vardır bunlar, metalik kurşun, inorganik kurşun ve kurşun bileşikleri (tetra etil kurşun, tetrametil kurşun, kurşun oksit ve klorit kombinasyonları)/organik kurşun (karbon içeren)'dur. Çevresel ortamdaki kurşun nadiren elementer haldedir fakat çoğunlukla yeryüzünde çeşitli cevherlerde +2 oksidasyon durumundadır (Pb^{+2}). Başta kurşunlu araç aküleri olmak üzere çeşitli ürünlerde de kullanılır. Kurşunun birçok önemli özelliği (aşınmaya dayanıklı olması, şekil verilebilirliği, yumuşaklığı, düşük erime noktası) endüstriyel ölçekte kullanım alanını artırmaktadır. Geçmişte ve günümüzde, kurşunun diğer kullanım alanları kurşunlu benzin, boya, seramik, su boruları, lehim, kozmetik, saç boyaları, çiftlik ekipmanları ile uçak, röntgen makineleri (UV koruma için) ve binada kullanılan korozyon ve asit dirençli malzemelerin üretimini içine alır. Boya ve benzinde kullanımı artık yasak olmasına rağmen, toprakta kısa sürede yıkımlanmaması nedeniyle özellikle yakıtlardan ileri gelen kurşuna canlıların maruziyeti hala devam etmektedir (1-3). Kurşun kaynaklı toksisite genel olarak kurşunla kontamine içme suyu, gıda, boya, bitkisel ilaçlar, benzin katkı maddeleri, içme suyu boruları, halk sağlığı ilaçları vb. bileşiklere maruziyet sonucu ortaya çıkar. Mesleki anlamda, kaynak, kauçuk ve pil üretimi ile inşaat sektörü aracılığı ile de maruziyet söz konusudur. Maruz kalma başlıca ağız ve solunum yoluylaadır. Emilen kurşun, vücutta kanla özellikle dokulara ve kalsiyumunkine benzer bir mekanizma ile kemiğe (vücut kurşunun % 90'dan fazla

depolama alanı) girer. Ayrıca merkezi sinir sistemi, böbrekler, karaciğer ve kalbi de etkiler. Emilen kurşun karaciğerde konjuge forma dönüşür ardından böbreklere geçerek düşük oranda atılır. Yüksek oranda ise çeşitli organlarda birikim özelliği gösterir (4-6). Maruziyet genelde ağız ve solunum yolu ile olur. Bu metal proteinlerin sülfidril gruplarına bağlanarak merkezi ve çevresel sinir sistemi ile böbrek ve vasküler sistemi de etkiler. Organlara yönelik çoklu etkilerinin yanı sıra aynı zamanda oksidatif strese de yol açmaktadır. Oksidatif stres oluşturma mekanizmaları, hücre zarına kurşunun doğrudan etkisi, kurşun-hemoglobin etkileşimi, gama-aminolevulinik asitin yol açtığı serbest radikal üretimi ve hücresel antioksidan savunma sistemine müdahalesi şeklinde özetlenebilir. Aynı zamanda, glutasyonla da birleşerek oksidatif strese sebep olur. Ek olarak, sülfidril içeren enzimleri inhibe eder ve enzim aktivitelerinde rol alan metallerle etkileşime girer. Bütün bu reaksiyonlar, lipid oksidasyonuna yol açar; zar akışkanlığını ve yağ asit kompozisyonunu değiştirir (7-9).

Kurşun insanlık tarihinin ilk yıllarına dayanan bir metaldir. Geçmişte kurşun madenciliğinin en erken kaydı, Türkiye’de M.Ö. 6500’e kadar uzanmaktadır. Kurşun toksisitesinin etkileri M.Ö. 2000 yılı başlarında belgelenmiştir. Erime noktası düşük olduğu için, kolayca dövülebilir ve bu sebeple geçmişte yaygın kullanım alanı bulmuştur. Tarihçiler ve filozoflar tarafından ifade edilen bu toplumlarda yıllar boyunca ve düşük düzeyli maruziyet söz konusu olmuştur. Hipokrat (MÖ 460-370); iştah, kolik, kilo kaybı, solgunluk, yorgunluk ve sinirlilikle karakterize bir zehirlenme olgusu tanımlamıştır. Bunların hepsi, bugün gördüğümüz kurşun zehirlenmesi belirtileriyle uyumludur. Roma döneminde su kemerlerinin yapımında yaygın olarak kullanılmıştır. Ayrıca boyaya pigment vermek için tercih edilmiştir. Eski Romalılar çömlekçilik, kanal yapımı ve pişirme gereçleri gibi çeşitli amaçlar için de kullanmışlardır (1, 10, 11).

Diosmin turunçgillerin yapısında yer almaktadır. Kimyasal yapısı 3,5,7-trihidroksi-4-metoksiflavon-7 ramnoglukozid olarak bilinir. Bu flavinoid, ayrıca hesperidinin dehidrojenasyonu ile de elde üretilir. Sindirim sistemine alındıktan sonra hızla bağırsak florasında diosmetine dönüşür. Ardından sistemik dolaşıma geçer ve vücut kompartmanlarına hızla dağılır. Plazmadaki yarılanma ömrü 26-43 saattir. Antihiperglisemik, antihipertansif, antiinflamatuvar, antioksidan ve antimutajenik etkileri vardır. Ayrıca lenf ve kan damarlarında çok yönlü etkileri bulunmaktadır (damar tonusunu düzenleyici, lenfatik drenajı-kapillar mikrosirkülasyonu artırıcı, damar

geçirgenliğini düşürücü, damar tahribatına karşı koruyuculuğu gibi). Biyolojik sistemde prostaglandin E_2 ve tromboksan A_2 düzeyini düşürür. Lökosit ve nötrofil aktivasyonunun önüne geçer (12-14).

Kurşunun oksidatif stres oluşturma potansiyeline karşı diğer flavinoidlerin etkilerine ilişkin çalışmalar bulunmakla birlikte (15-23) söz konusu metalle zehirlenme olgularında diosminin muhtemel etkisinin değerlendirildiği araştırmaya ise rastlanmamıştır. Kurşun zehirlenmelerine karşı alternatif sağaltım seçeneklerine yönelik gerçekleştirilen çalışmalar içinde; sistemik dolaşıma geçen bileşenin uzaklaştırılması için kelatör madde kullanımı (24-31) sıklıkla tercih edilmektedir. Kurşunun oksidatif strese yol açması (15-23) ve bunun söz konusu metalden ileri gelen zehirlenme mekanizmaları arasında yer alması (5, 32-37) sebebiyle; özellikle de yol açtığı olumsuz etkilere karşı değerlendirilebilecek sağaltım seçeneklerine yaklaşım getirme açısından, kuvvetli antioksidan özelliği çalışmalarla ortaya konulan diosminin (38-41) etkilerinin araştırılacak olması oldukça önemli görülmektedir. Bu yönüyle söz konusu çalışma orijinallik arz etmektedir. Ayrıca bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutması açısından da elde edilecek sonuçlar anlamlı olacaktır. Bu amaçla hayvanlara 6 hafta süreyle tek başına ve birlikte kurşun ve diosmin verilmiştir. Deneme süresinin sonunda serumda bazı biyokimyasal parametreler ile kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri değerlendirilmiştir. Ayrıca çalışma sonunda vücut ve doku ağırlıkları alınmıştır. Böylece ifade edilen bütün parametrelerle kurşun maruziyetinin oluşturduğu olumsuz etkilere karşı diosminin etkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KURŞUN

2.1.1. Özellikleri ve Kaynakları

Kurşun (Pb) atom numarası 82 olan ağır metallerden biridir. Kalıcı bir metaldir ve pek çok fiziksel-kimyasal özellikleri nedeniyle çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılır. İyi bilinen bir radyasyon kalkanıdır. Başlıca kurşun kaynağı, evde inşaat faaliyetleri, kurşunla kirlenmiş toprak (kurşunlu benzin veya boyalara önceden maruz kalmadan) ve kurşun bazlı boyalar, uzun süreli eski borularda kalan sular ve kurşun bazlı gıda kutuları, geleneksel ilaçlar ve makyaj malzemeleridir. Kurşun maruziyeti genellikle birçok meslekte (pil fabrikası çalışanı, metal kaynakçı, boyacı, inşaat işçisi, kurşun madencisi, cam üreticisi ve gemi yapımcısı) solunum yolu ile gerçekleşir. Endüstriyel ve madencilik faaliyetleri hava (gazdan, kömürden, yağdan ve atıklardan ileri gelen salımlar) ve toprağa önemli miktarda kurşun ve kurşun bileşiği salabilir (11, 34, 42-46).

2.1.2. Toksikokinetik

2.1.2.1. Emilme

İnorganik kurşun esas olarak akciğerler ve gastrointestinal sistem tarafından emilen birikici bir bileşiktir; organik kurşun dışında deriden emilim oldukça düşük düzeydedir. Boyada bulunanlar gibi inorganik kurşun bileşikleri cilde uygulandığında az miktarda deriden geçiş vardır. Aksine, benzinde bulunan organik (tetraetil) kurşun, deri yoluyla emilebilir. Solunum yolu endüstrilerde çalışanların maruz kalmasına yol açan en önemli yoldur ve inhale edilen kurşunun % 4-50'si kan dolaşımına geçer. Solunum yoluyla emilmede öncelikle partikül büyüklüğü önemlidir. Partikül büyüklüğü küçükse oran % 100'e yaklaşır. Alınan kurşunun yaklaşık % 30-40'ı kan dolaşımına geçer. Diyetle

alınanın yaklaşık % 10'u emilir (47-50). Kurşunun mide-barsak emilimi yavrularda erginlere göre daha yüksektir. Mide-barsak emilimi ve tutulma gastrointestinal boşluğun yapısı ve kompozisyonu, yaş ile diyetteki demir içeriğine (kişinin beslenme durumu) ve ortamın kimyasına bağlı olarak değişir. Bazı diyet bileşenleri (askorbik asit, amino asitler, D vitamini, protein, yağ ve laktoz gibi) kurşunun çözünürlüğünü böylece emilimini arttırır. Ayrıca bağırsaktan emilimde demir, kalsiyum, fosfor veya çinko alımının düşük olduğu durumlarda artış görülür. Kurşunun toplam vücut içeriğinin emilimini sınırlandıran bir mekanizması yoktur (49, 51-53).

2.1.2.2. Dağılım

Emiliminden sonra kurşun kanda eritrositlerde toplanır, plazmada ise % 1'den daha az konsantrasyonlarda bulunur. Eritrositlerdeki bu yüksek kurşun yüzdesi albumin için yüksek kurşun afinitesi ile açıklanabilir. Bu protein için çinkodan 20 kat daha yüksek duyarlılığa sahiptir. Sonuç olarak, albümininde çinkonun yerini alabilir ve işlevini engelleyebilir. δ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD 1-2), eritrosit kurşununun yaklaşık % 80'ini bağlasa da aktivitesi sınırlıdır ve eritrositlerdeki kurşun seviyeleri yükselmeye devam ederse bu metale yüksek duyarlılık gösteren pirimidin 5'-nükleotidaza yani başka bir yapıya bağlanır (54, 55). Toksik ajanların çoğunluğunun aksine kan sadece kurşun taşıma yolağı değil aynı zamanda zehirliliğin değerlendirilmesi için kritik yapıyı temsil eder. Birçok organa dağılır ve böbrekler ile vücut yükünün % 90'ından fazlasını oluşturan kemiklerde birikir. Beyin ve böbreklerde, sitoplazmik kurşun bağlayıcı protein 5 kDa ağırlığında tiyosin β 4 bulunur (55, 56). Bu sebeple tam kanda ölçülen kurşun düzeyi, maruziyetinin ana belirteçleri değildir. Kan kurşun düzeyi toplam vücut yükünün % 1-5'ini oluşturur ancak vücutta çoğu zaman kemik ve diğer kalsifiye dokularda birikir. Süre kemik için 30 yıl ve trabeküler kemik için on yıla yakındır. İlerleyen dönemlerde kemikten salınır ve bu kan kurşun kaynağı olarak görev yapar ve kardiyovasküler sisteme, nöral dokulara ve böbreklere geçişinde rol alır (42, 57). Plazma kurşun konsantrasyonu hedef organlardan (yani beyin, akciğerler, dalak, renal korteks, diş ve kemiklerdekinden) daha düşüktür. Kandan yumuşak dokulara kurşun geçiş kinetiği uzundur ve yaklaşık 4 ila 6 hafta sürer. Sürekli maruziyet durumunda kandaki kurşun 35 günde yumuşak dokuda, 40 günde ise kemiklerde yüksek yoğunluğa ulaşır (49, 58).

2.1.2.3. Metabolizma ve Atılım

Konsantrasyonu oldukça düşük olmasına rağmen plazmadaki kurşunun, vücut kurşun yükünün aktif merkezi olduğu ve kurşun metabolizmasında önemli bir rol aldığı bilinmektedir. Serumdakinin yarı ömrü maruz kalma süresine bağlı olarak değişir ancak genellikle 30 gündür ve idrar/safra içinde atılır. Kan kurşun düzeyi sadece maruz kalma belirteçidir ve mutlak doku hasarını yansıtmaz. Kan seviyelerindeki azalmalar kısmen dokulara geçiş ve kemiğe yeniden dağılımdan kaynaklanır. Yumuşak dokularda yaklaşık 40 günlük bir yarı ömre sahiptir. Yetişkinler akut maruziyetin ardından birkaç hafta içinde çoğunluğunu salgırlar, ancak gençler daha uzun bir süre daha kurşun tutmaya eğilimlidirler. Kan kurşun seviyeleri kurşun alımındaki akut değişikliklere daha hızlı yanıt verir. Düzeylerindeki değişiklikler birkaç gün içinde görülebilir. Aksine kronik maruziyette ise sadece toplam vücut yükünün artışı söz konusu olur (44, 47, 58). İnorganik kurşun metabolize edilmez. İdrarla değişmeden atılır. Safra ve tükürük emilen kurşunun toplam atılımının yaklaşık üçte birini oluşturur. Bununla birlikte, alkil kurşun bileşikleri hepatik P450 sisteminde oksitlenir. Atılım düşüktür ve en belirgin yol idrardır. Kelatlayıcı ajanlar idrarda kurşun atılımını artırabilir ve bu da zehirlenmeye yol açan terapötik yaklaşımın temelini oluşturur. Ayrıca gastrointestinal yoldan safra ile de atılabilir. Keratinize dokularla (örneğin tırnaklarla) da atılmakla birlikte bu yolların pratik önemi yoktur. Sonuçta vücuttan son derece yavaş bir şekilde atılır bu da vücutta birikimini kolaylaştırır (49, 50, 59, 60).

2.1.3. Etki Şekli

Kurşuna maruziyet hedef organ/sistemleri etkiler. Bu metal/metaloid oksidatif stres gelişimi, sülfidril grupları ile reaksiyon ve temel metallerle etkileşim dahil olmak üzere toksisitenin altında yatan birkaç ortak mekanizmayı harekete geçirir. Özellikle sülfidril grupları bulunan enzimlere bağlanır ve oksidan/antioksidan dengede bozulmaya sebep olur. Spesifik sülfidril içeren enzimlerden ALAD ve glutasyon redüktaz aktivitesini inhibe eder. Glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon-S-transferazın aktivasyonunu etkiler (2, 8, 9, 59). Kurşun maruziyeti farklı yolla serbest radikal hasarına yol açar. Bu tekli oksijen ve hidrojen peroksit dahil olmak üzere reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve antioksidan rezervlerinin doğrudan tükenmesi şeklinde özetlenebilir. ROS üretiminin arttığı herhangi bir biyolojik sistemde antioksidan rezervleri tükenir. Kurşun maruziyetinin etkilerinden biri de glutasyon

metabolizmasıdır. Glutasyon hücrelerde üretilen sistein bazlı bir moleküldür. Serbest radikalleri etkisiz kılmak için önemli bir antioksidan olarak görev yapmasının yanı sıra, glutasyon karaciğerde glutasyon konjugasyonu yoluyla spesifik ilaçların ve toksinlerin metabolizmasından sorumlu bir substrattır. Glutasyon, sülfidril grupları için yüksek afiniteye sahip olan toksik metallere de doğrudan bağlanır (3, 50, 60). Kurşun toksisitesinin iyonik mekanizması, esas olarak, kurşun metal iyonlarının Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+2} ve Na^{+} gibi tek değerlikli katyonların yerini alma kabiliyetinden kaynaklanır. Sonuçta, hücre adezyonu, hücre içi ve hücreler arası sinyalleşme, protein katlanması, apoptoz, iyonik transport, enzim regulasyonu ve nörotransmitterlerin salınımı gibi çeşitli biyolojik süreçlerde önemli değişikliklere neden olur. Kurşun, nöral eksitasyon ve bellek depolamasını düzenleyen protein kinaz C'yi etkileyen pikomolar yoğunlukta bile kalsiyum iyon yoğunluğunu değiştirir (3, 61).

Kurşun maruziyeti beyinde hafızada görevli hipokampus hücrelerine zarar verir. Nörotransmitterlerin salınmasına ve nöronların diğer hücrelere sinyal göndermek için kullandıkları kimyasallara müdahale eder. N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptörlerini bloke ederek öğrenme de dahil olmak üzere birçok fonksiyonda önemli görevleri olan nörotransmitter glutamatın salınmasını engeller. Kurşun kaynaklı nörotoksisite mekanizmasında oksidatif stres, membran biyofizik değişiklikleri, hücre sinyalleşmesinin değişimi ve kurşun nörotoksitesinde rol oynayan nöral geçişin bozulması bulunmaktadır (2, 62). Kurşun astroglial hücrelerde (kurşun bağlayıcı proteinler içeren) birikir. Etkileri kurşun bağlayıcı proteinlere sahip olmayan olgunlaşmamış astroglial hücrelerde (gelişen sinir sistemi) daha belirgindir ve miyelin kılıf oluşumunu engeller. Kurşun asetatla, GABA ve dopamin ve histidinin K (+)-depolarizasyona bağlı salımında bir düşüşe yol açar. Ayrıca, hücre-hücre iletişimi amacıyla eksitator dokularda aksiyon potansiyeli oluşturma, nörotransmitterlerin (kolin, dopamin ve GABA) alınması ve regülasyon gibi canlı biyolojik aktivitelerden sorumlu sodyum iyonu konsantrasyonunu ve kalsiyum tutulumu etkiler (63, 64).

Akut kurşun maruziyeti kardiyak fonksiyonları etkiler ve kronik kurşun maruziyeti kalbin elektriksel ve mekanik aktivitesi ile düz kas fonksiyonunu değiştirir. Reaktif oksijen türlerinin üretimini teşvik ederek hedef dokularda oksidatif stres ve inflamasyon döngüsünü tetikler. Kurşun maruziyetinin hipertansif etkisi de vardır. Bunun böbrek fonksiyonunda kurşunun yol açtığı hasarla ilişkili olduğu düşünülmektedir (53, 65).

2.1.4. Zehirliliği ve Klinik Belirti

Kurşun insanlarda biyolojik işlevi olmayan metallerden biridir. Merkezi ve çevresel sinir sisteminde, hematopoetik sistemde, kardiyovasküler sistemde, böbreklerde, karaciğerde ve üreme sistemlerinde çok çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal işlev bozukluklarına neden olur. Toksikite duyarlılıkta, çevresel maruziyet, yaş ve beslenme durumu gibi çeşitli faktörler rol alır. Maruziyet gıda, su, hava ve toprak yoluyla gerçekleşir. Gıda ve su kurşun kaynakları arasında, kurşun içeren seramik kaplar, metal tesisatları ve kurşun lehim içeren gıda kutuları yer alır. Sıhhi tesisat ve boru montajı, oto tamir, cam imalat, yazıcılar, batarya imalat ve geri dönüşüm, inşaat işleri ve plastik imalat yerleri yine maruziyet kaynaklarıdır. Bunların arasında geleneksel ilaçlar, kostüm, takılar ve kozmetik de bulunmaktadır (48, 66). Maruziyetinin bir diğer önemli kaynağı eski konutların boyalarındaki kurşundur. İnsanlar ayrıca su ürünleri ve kurşun imalat sanayileri gibi endüstriyel kaynaklardan kurşuna maruz kalabilirler. Motorlu taşıtlardaki kurşunlu benzinin egzoz gazından kaynaklanan kurşun kontaminasyon riski son birkaç yılda petrole kurşun ilavesinin kademeli olarak azaltılmasının ve kaldırılması sonucunda azalmıştır. Ancak kümülatif bir metal olduğu için canlı sağlığı açısından büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Toksik etkileri hem maruz kalma süresine hem de dozun büyüklüğüne bağlıdır. Kandaki yarı ömrü 35 gün iken beyinde yaklaşık 2 yıldır ve kemikte ise onlarca yıl kalıcılığını devam ettirir. Gebelik ve doğum sonrası dönemde kurşun, kemik depolarından kan dolaşımına salınır ve böylece kan kurşun seviyelerini artırır ve gebelerde yüksek kurşun maruziyeti, yavru atmaya, düşük yavru ağırlığına ve erken doğuma neden olabilir. Beslenme durumu kurşun zehirlenmesi ve etkileri için önemli bir risk faktörüdür. Demir çinko ve kalsiyum eksiklikleri, kurşunun mide-barsak emilimini artırır (33, 67).

Akut zehirlenmelerde barsak iltihabı, kusma, konfüzyon, ensefalopati, artralji, kas ağrısı, kas güçsüzlüğü ve periferik nöropati gibi belirtiler görülür. Aylar veya yıllar boyunca kronik maruziyet kalsiyum bağımlı enzim sistemlerini, ATP-az ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu ve hücre büyümesini olumsuz etkiler; heme sentezi, membran bütünlüğü ve steroid metabolizmasını engeller ve motor akson dejenerasyonu ve demiyelinizasyona neden olur. Anemi, bazofillerin parçalanması ve dişetlerinde “kurşun çizgisi” gelişir. Azalmış sperm sayısı, böbrek yetmezliği ve kronik ensefalopati gözlenir (42, 68).

Böbrek maruziyette kritik organdır. Kurşuna aşırı maruziyet akut veya kronik nefrotoksik etkilere neden olabilir. Kurşunun böbrek fonksiyonu üzerinde olumsuz etkisi olduğu bilinmektedir. Mitokondride birikir, yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olur, enerjiye bağlı süreçleri bozar (69, 70). Temelde böbreklerle atılır. Böbreklerden atılımı glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon şeklindedir. Akut maruziyet böbrek tübüllerini olumsuz etkiler ve böbrek tübüllerinde amino asit taşınmasında yaygın kusurlara yol açar. Kronik maruziyet, lökositlerin infiltrasyonu, interstisyel fibroz ve tübüler atrofi ile karakterize ilerleyici tubulo interstisyel nefritle sonuçlanır. Maruziyetin başlıca hücresel etkilerinden biri böbrek hücrelerinde oksidatif stresin indüklenmesidir. Yaşamın erken dönemlerinde düşük düzeyli kurşun maruziyeti, glomerüler hipertrofiye ve glomerüler kılcal damarların hacminde artışa yol açar. Bir zamanlar kurşun maruziyetinin doğrudan renal hastalık ile ilişkili olmadığı düşünülmekle birlikte şu anda maruziyet ile böbrek hastalığının gelişimi arasında doğrudan bir ilişki vardır. İdrardaki biyokimyasal belirteçlerin sonuçları, böbrek fonksiyonunun bozulmadığı durumunda bile kurşunun hücresel düzeyde değişikliklere neden olduğunu gösterir (37, 69, 71).

Libido azalması, kromozom hasarı, infertilite ve serum testosteron düzeyinde değişikliklere yol açar. Hem erkek hem de dişi üreme sistemi kurşundan etkilenir. Erkeklerde kan kurşun seviyeleri 40 µg/dL'yi aştığında, sperm sayısında azalma ve sperm hacminde değişiklikler meydana gelir. Bu seviyede, motilite ve spermin genel morfolojisi gibi faktörler de etkilenmektedir. Üreme sistemine yönelik etkileri kurşun maruziyetine bağlı değişir. Zehirli seviyeler abortlara, erken doğuma, düşük doğum ağırlığına ve gelişim sorunlarına yol açabilir. Düşük dozlarda epididimdeki sperm sayısı önemli ölçüde azalır, yüksek dozlarda ise sperm sayısı ve hareketli spermlerin yüzdesinin yanı sıra epididimal anormal sperm yüzdesindeki düşüş artar (3, 35, 72).

Kurşun alfa-adrenoreseptör aracılı vazokonstriksiyonu indükler ve hipertansiyona bağlı renin-anjiyotensin üretimini modüle eder. Maruziyet alfa-adrenoreseptör duyarsızlığına ve fonksiyon bozukluğuna yol açar. Kardiyovasküler sistemi etkilediği başka bir olası mekanizma, kronik nöropatiye yol açan periferik otonom sinir sisteminin modülasyonudur (37, 73). Beyin, kurşun maruziyetine en hassas organdır. Kurşun ayrıca nörotransmitterler ve iyon kanallarının organizasyonu dahil olmak üzere nörokimyasalların oluşumuna, salınmasına ve nörotransmisyonu engel olur. Nöron

miyelin kılıfının kaybına ve nöron sayısında azalmaya yol açar. Nöronal gelişimi yavaşlatır. Kalsiyum iyonlarının yerine geçebileceği ve kalsiyum-ATPaz pompası aracılığıyla alınabileceği için kan beyin bariyerindeki endotelial hücreleri aşabilmektedir. Genellikle öğrenme gibi birçok işlev için önemli olan nörotransmitter glutamat ile etkileşir. Hipokampusta beyin diğer bölgelerine kıyasla daha fazla birikir. n-metil-d-aspartat (NMDA) reseptörleri, serebral korteksin hipokampus bölgesinde oldukça yoğun olarak bulunur. Bu reseptörlerin bloke edilmesinin kurşun toksisitesinin ana hedefi olduğu düşünülmektedir. NMDA reseptörünün inhibisyonuna ek olarak, kurşun maruziyeti, beyin bir kısmında yer alan bu reseptöre özel gen miktarını da azaltır. Ayrıca, beyin hücrelerinin apoptozunda rol alır (35, 74).

Kurşun kemik gelişiminde, oluşumunda ve rezorpsiyonunda bozukluklara neden olur ve çeşitli patolojik değişiklikler üretir. Plasentayı kolayca geçtiği için kafatası kemiğinde yoğun olmak üzere iskelet toksisitesine yol açmakta; doğumda iskelet ve süt dişi gelişimini geciktirmektedir. Buna, bozulmuş kemik büyümesi ve kemik organik matris bileşenlerinin anormal oluşumu eşlik eder (37, 75).

Kurşun enfeksiyona karşı direnci azaltır ve hayvanların ölüm oranlarını artırır. Ig G düzeylerinde anlamlı bir azalmaya Ig A düzeyine artmaya sebep olur. Görünüşte antikor üretimini bozar ve immünoglobulin plak oluşturunca hücreleri azaltır. Kan kurşun seviyesi yüksek olanlarda B lenfositlerde artışa yol açar (70, 76). Kurşunun hematopoietik sistem üzerinde olumsuz etkileri vardır. Hemoglobin sentezi ve kırmızı kan hücreleri yaşam süresindeki düşüş anemiye neden olur. Hem sentezinde yer alan enzimatik sistem hem akut hem de kronik kurşun maruziyetinden olumsuz etkilenir. Kurşun toksisitesinden olumsuz etkilenen üç enzim, d-aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD), aminolevulinik asit sentetaz (ALAS) ve ferrokelataz'dır. İntravasküler boşluğa giren kurşun, hızlı şekilde kırmızı kan hücrelerine bağlanır ve ROS oluşumuna neden olur. Glutasyon (SH grubuna bağlanarak) ve süperoksit dismutaz gibi endojen antioksidanların aktivitesine müdahale eder. Oksidatif stresin artışı hasarlı eritrosit membranlarına ve hemolitik anemiye yol açar. Kurşun ayrıca, eritrosit membranındaki fosfolipitlere (özellikle fosfatidilkolin) doğrudan bağlanarak düzeyini düşürür (3, 37). Hem sentez yolağındaki enzimleri çeşitli aşamalarda etkileyerek hem sentezini değiştirir. ALAD kurşun toksisitesinde çok önemli bir enzimdir inhibisyonu heme üretimini azaltır ve kurşuna maruz kalan bireylerin kanında ve idrarında bulunabilen δ -

ALA miktarını artırır. Üriner amino levulinik asit (ALA) seviyeleri çinko protoporfirin, akut porfiri veya sideroblastik anemiden ayırt edilmelidir. Akut üst düzey kurşuna maruziyet hemolitik anemiyle ilişkilidir; ancak kronik kurşun zehirlenmesi anemisi, retikülositoz ile hipokromik ve normositik veya mikrositiktir (70, 77).

Kurşun, doğal bağışıklık sistemiyle ilintili nötrofil ve makrofaj işlevlerini olumsuz etkiler. Buna ek olarak, makrofajlarda fagositozu, kemotaksiyi azaltır, nitrik oksit üretimini ve eikozanoid metabolizmasını etkiler. Antienflamatuar üretiminin azalmasıyla; TNF-a, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 ve prostaglandin E₂ üretimi artar (37, 78).

2.1.5. Tanı

Açıklanamayan hipertansiyon, ensefalopati, periferik motor nöropati, gastrik kolit ve böbrek yetmezliği kurşun zehirlenmesi şüphesi uyandırır. Yüksek kan kurşun düzeylerini tespit etmek için çeşitli yöntemler kullanılır. Mikroskop altında görülebilen kan hücrelerindeki değişikliklerin varlığı veya X ışını altında kemik yoğunluklarının izlenmesi kullanılan yöntemlerdendir. Kronik kurşun maruziyeti kemik röntgen floresans teknolojisi kullanılarak ölçülebilir. Bulgular bizmut, fosfat ve florür toksisitesi ile karıştırılabilir. Zehirlenme kan örneklerinde eritrosit protoporfirin düzeyi ölçülerek de değerlendirilebilir. Kandaki kurşun miktarının yüksek olduğu durumlarda eritrosit protoporfirin seviyesi yükselir. Ayrıca, kan ve idrar kurşun düzeyi de değerlendirilmelidir (35, 43, 79, 80).

2.1.6. Zehirlenmelerde Sağaltım

Metal zehirlenmesi akut, subakut veya kronik olabilir. Genellikle akut zehirlenmelerin teşhisi hızla konur ve acil tıbbi müdahale gerektirir. Bununla birlikte kronik toksisitelerin teşhisi daha zordur ve bunlar geri dönüşümlü veya dönüşümsüz olabilir. Zehirlenmelerin sağaltımında izlenen yollar; sistemik dolaşıma daha fazla metal geçişinin önlenmesi, metalin dolaşımdan elimine edilmesi ve sistemdeki metalin inaktivasyonu şeklindedir. Kana metal geçişinin önlenmesinde birincil yol maruziyetin kesilmesidir. Toksik metallerin alınması durumunda akut vakalarda, dört saat içinde mide yıkanmasına/boşaltılmasına veya mide boşalmasının mümkün olmadığı durumlarda midede metal inaktivasyonuna ihtiyaç duyulur. Aktif metaller için süt, yumurta akı, sodyum bikarbonat, sodyum veya magnezyum sülfat kullanılabilir (80, 81).

Kelasyon tedavisi yüksek kan kurşun düzeyini etkili bir şekilde düşürür ancak düşük kurşun seviyeleri ile ilişkili kurşunla indüklenen bozuklukları önleyemeyebilir. Bu dokulardaki kurşunun yeterince arındırılmaması veya önceden varolan doku hasarının tersine çevrilemesinden kaynaklanabilir. Dimerkaprol, kalsiyum disodyum EDTA ve süksimer kelatlama için primer olarak kullanılan üç ajandır. Kelasyon tedavisinin ilk birkaç günü içinde kan kurşun seviyelerinde hızlı bir düşüş olur. Dimerkaprol, ensefalopati olgularında veya hızlı tedavi için tercih edilen kelatördür. Dimerkaprol-metal kelat ayrışmasını müteakip, kurşun geri emilimini önlemeye yardımcı olmak için tedavi boyunca idrarın alkalileştirilmesi gerekir. Bu ilaçların çoğu doza bağlı ve geçici olarak mide bulantısı, kusma, baş ağrısı, hipertansiyon, taşikardi, hiperpireksi ve hafif-orta dereceli lökopeniye neden olur. Kalsiyum disodyum versanat (CaNa_2EDTA) etkili bir ilaçtır fakat dimerkaprol uygulanmadıkça MSS'nde kurşunun yeniden dağılımını arttırabilir. CaNa_2EDTA 'ya dört saatlik dimerkaprol tedavisinden sonra yeterli idrar çıkışı sağlandığında başlanmalıdır. CaNa_2EDTA ile ilişkili en ciddi yan etki böbrek toksisitesidir bu da yeterli hidrasyon sağlandıktan sonra daha küçük daha az sıklıkta uygulama yapılarak azaltılabilir. CaNa_2EDTA infüzyonu doğru bir ölçüm için kan kurşun seviyesini test etmeden en az bir saat önce kesilmelidir. CaNa_2EDTA kan-beyin bariyerini büyük ölçüde geçmez fakat böbrek, karaciğer ve özellikle kemiklerdeki kurşunu çözer. Ekstraselüler kurşunu kuvvetli bir şekilde bağlar ve metali hızla idrarla uzaklaştırır. İdrarda kadmiyum ve civa atılımının artışı da CaNa_2EDTA tedavisinden kaynaklanır. Bu kelatör metabolize edilmez ve çoğunlukla hücre dışı sıvıda dağılır. Kurşun zehirlenmesinin tedavisi sırasında gözlenen CaNa_2EDTA 'nın yan etkileri arasında baş ağrısı, miyalji, mide bulantısı ve kusma yer alır. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), dimerkaptosüksinik asit (DMSA) ve 2,3 dimerkaptopropan I- sülfonat (DMPS)'dan daha fazla temel mineral kaybına (çinko (Zn), demir (Fe), Ca ve Mg) neden olur. EDTA kelasyonunun bilinen diğer yan etkileri arasında glukozüri, hipotansiyon, lakrimasyon, burun tıkanıklığı ve mukokütanöz lezyonlardır (44, 81, 82). Süksimer (DMSA), hafif veya asemptomatik kurşun toksisitesi vakaları için tercih edilen kelatlayıcıdır ve sadece oral kapsül formülasyonu mevcuttur. BAL, kurşun zehirlenmesinin tedavisinde kullanılan en eski ajanlardan biridir. Kan-beyin bariyerini hızla geçme yeteneği yüksektir. İkiye bölünmüş dozda günde 2,5 mg/kg miktarında kas içi uygulanır. Tedavi süresi en az üç gündür. BAL idrarla çinko atılımını hızlandırır. D-penisilamin redüktif bir kelatördür. Kurşun veya bakır katyonlarının proteinlere

bağlanma oranını düşürür ve nihayetinde idrarda atılımını uyarır. D-penisilamin, Wilson hastalığının tedavisi için tercih edilen ilaçtır. Bununla birlikte, renal veya kemik iliği disfonksiyonu (lökopeni ve trombositopeniye yol açan) ve dermatolojik komplikasyonlar gibi yaşamı tehdit eden yan etkilerinden dolayı, kurşun zehirlenmesinin tedavisinde üçüncül ilaç olarak kabul edilir. DMSA esas olarak böbreklerdeki kurşunu kelatlar. Hafif ve asemptomatik kurşun zehirlenmesinin tedavisinde ilk tercihtir. Kurşun seviyesini hızla düşürür ve sülfidril bağımlı enzimleri aktive eder. Genellikle iyi tolere edilir, ancak bazen klinik olarak önemli olumsuz etkilere neden olabilir. En sık görülen yan etkiler abdominal ağrı, geçici deri döküntüsü, artmış hepatosellüler enzim seviyesi ve nötropenidir. DMSA, özellikle, oral bir antidotun tercih edilmesi durumunda CaNa_2EDTA 'nın bir alternatifi olarak düşünülebilir (10, 44, 83, 84).

Kurşun zehirlenmesinin tedavisinde yukarıdaki kelatlayıcı ajanlar dışında ek olarak tiamin (25-50 mg/kg/gün), vitamin C ve E, N-asetilsistein, taurin, alfa-lipoik asit (50 mg/kg/gün), metiyonin (100 mg/kg/gün), homosistein (25 mg/kg/gün) ve sarımsak (*Allium sativum*) kullanılabilir. Akut ensefalopati durumunda benzodiazepinler ve/veya barbitüratlar nöbetlerde yararlı olabilir. Uzun süreli nöbetlerde intrakranial hipertansiyon olasıdır ve buna göre ele alınmalıdır (örneğin, hiperozmolar tedavi) (10, 11). Kurşun zehirlenmesinin tıbbi müdahaleleri radikal çevresel önlemler ile birlikte yapılmalıdır. Vitamin C, E, B₆, β -karoten, çinko ve selenyumun yanı sıra bazı flavinoidler/falavinoid içerenler (*Spirulina maxima*, *Smilax glabra* (SG) flaxseed oil, curcumin, *Salvia miltiorrhiza*), endojen antioksidan artışı ile oksidatif stresi azaltarak ve endojen antioksidan savunma sistemini indükleyerek; çinko, selenyum, demir ve kalsiyum ayrıca emilimi azaltıp kurşun yükünü düşürerek etkili olur (10, 83, 85).

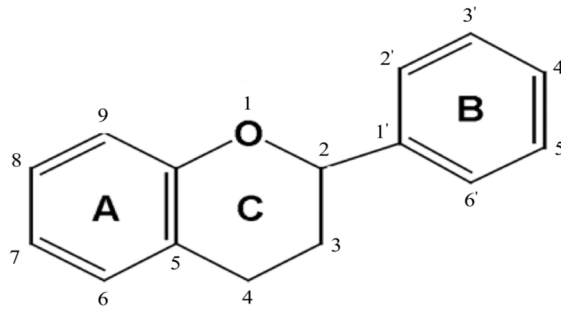
2.1.7. Geçmişte ve Yakın Zamana Kadar Kullanımı

Kurşun yer kabuğunda sınırlı miktarda bulunan ve doğal olarak oluşan mavimsi gri bir metaldir. Ayrıca fosil yakıtların yakılması ve madencilik gibi faaliyetler yüksek konsantrasyonda kurşun salınmasına yol açar. Endüstriyel, tarımsal ve ev içi uygulamalarda kullanılır. Önemli fiziko-kimyasal özelliklerinden dolayı kullanımı tarihsel zamanlara göre yaygınlık kazanmıştır. Küresel anlamda önemli ama tehlikeli bir metaldir. Yumuşaklık, işlenebilirlik, zayıf iletkenlik ve korozyona karşı dayanıklılık gibi önemli özellikleri kullanımının devamlılığını sağlar. Biyobozunur olmayan yapısı

ve sürekli kullanımı nedeniyle tehlikeli oranda çevrede birikir. Kurşun ve bileşiklerine maruziyet çoğunlukla kurşunlu benzin, tekne yapımı, kurşun bazlı boyalar, kurşun içeren borular, pil geri dönüşümü, ızgaralar, endüstriyel faaliyetler, pigmentler, matbaa gibi işler aracılığı ile olur. Yaygın kullanımı dünyanın birçok ülkesinde durduruluyor olsa da hala araba tamir, pil üretimi ve geri dönüşüm, arıtma, eritme vb gibi birçok sektörde devam etmektedir. Şu anda kurşun-asit bataryaların üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca mühimmatlar, metal ürünler (lehim ve borular), boya, cam, pigment ve kimyasallar ve X-ışınlarından koruyan cihazların üretimi de diğer uygulama alanlarıdır. Son yıllarda endüstriyel kurşun kullanımı boya, seramik ürünler ve boru lehiminde önemli ölçüde azalmıştır (35, 86).

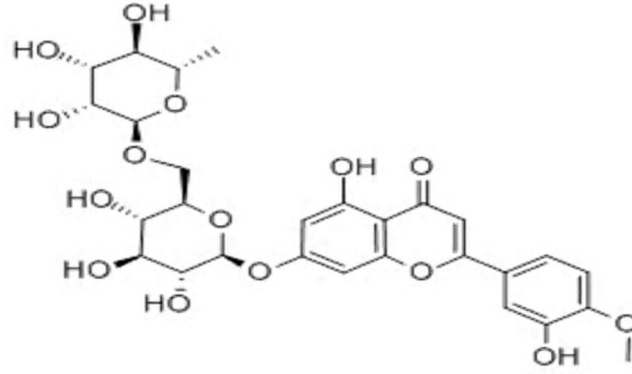
2.2. Diosmin

Flavonoidler doğal olarak oluşan polifenolik bileşiklerdir. Meyvelerin, sebzelerin ve belirli içeceklerin ana bileşenleridir. Bu bileşikler, diğer anti-oksidanlar gibi, redoks aktif metal iyonlarını kelatlamak suretiyle ve aynı zamanda serbest radikal zincir reaksiyonunu sona erdirerek oksidatif stresi geriletebilir veya önleyebilir. Flavonoidlerin antioksidanlar olarak davranma kapasitesi moleküler yapılarına bağlıdır. Genel yapıları, her biri bir karbon zinciri vasıtasıyla bağlanmış en az bir aromatik hidroksil grubuna sahip iki veya daha fazla aromatik halkadan (A ve B) oluşan bir difenilpropan parçasını içerir. Bu piran halkası olarak bilinen üçüncü bir 6-üyeli halka (C halkası) meydana getirir. Flavonoidlerin metal kelatlama kabiliyeti hem halka-B'nin hidroksil gruplarını hem de A halkasının 5-hidroksi grubunu içeren fonksiyonel grupların konumlanması ile ilgilidir. ROS'u süpürmede flavonoid moleküllerin elektron bağlama kapasitesi 3',4'-katekol (dihidroksi) yapısı (B-halkası) ile sınırlıdır. Antioksidatif özelliğe katkıda bulunan bir başka yapısal özellik ise C-halkasında bir 4-okso grubu ile konjugasyonda 2,3 çift bağın varlığıdır (3, 87, 88).



Şekil 2.1. Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı (3, 89).

Diosmin ($C_{28}H_{32}O_{15}$, diosmetin 7-O-rutinosid) flavonoid ailesinin bir parçası olan hesperidin türevidir doğal bir flavon glikozittir ve çeşitli turuncgil meyvelerinin dış yüzünde bol miktarda bulunur. Bu flavon glikozit hesperidin dehidrojenasyonu ile kolayca elde edilir. Açık formülü 5,7,3-trihidroksi-4-metoksiflavonun 7-ramnoglikoziti {5 hidroksi-2-(3-hidroksi-4-metoksifenil)-7-[(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-3,4,5-trihidroksi-6 [[(2R, 3R, 4R, 5R, 6S) -3,4,5-trihidroksi-6-metiloksan-2-il] oksimetil] oksan-2-il] oksikromen-4-on}'dur ve 608,545 g/mol ağırlığındadır. Diosmin, diosmin molekülünün C-halkasındaki iki karbon atomu arasında bir çift bağın varlığı ile hesperidinden ayrılır. Üç halkalı flavonoid yapısına bağlı bir şeker molekülü içerir. Diosmin hesperidinin ekstraksiyonunu metaekip üretilebilir ve bu hesperidinin diosmin [2a]'ya dönüştürülmesi şeklindedir. Diosmin 1925 yılında *Scrophularia nodosa L.*'den izole edilmiş ve 1969'da terapötik olarak ajan tanıtılmıştır (90-94). Damar hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Antiinflatuar, serbest radikal süpürücü ve antimutagenik özellikler sergiler. Antihipertansif bir etkiye sahiptir. Süperoksit anyonlarını etkisiz kılar. İlaç olarak venöz (kronik venöz yetmezlik), hemoroidal ve nörodejeneratif hastalıklarda (örn. Alzheimer), diyabetin potansiyel tedavisinde, toplam fonksiyonel lenfatik kılcal damar sayısını artırması ve lenfatik drenajı geliştirmesi amacıyla kullanılır. Farmakolojik olarak diosminin antimikrobik, östrojenik, antiinflatuar, antimutajenik, antihiperglisemik ve antialerjik (90, 92, 95, 96) etkileri vardır. Hemoroidal hastalıklarda kullanılmaktadır. Sistemik oksidatif stresi azaltarak venöz tonus ve mikro dolaşımı artırır ve kılcal damarları korur. Diosmin intestinal florada aglikon formu olan diosmetine hızla dönüşür. Diosmetinin 26 ila 43 saatlik bir plazma yarı ömrü vardır. Diosmetin fenolik asitlere veya bunların glisin-konjuge türevlerine indirgenir ve idrar yoluyla elimine edilir (97-100). Aslında diosmetin (3',5,7-trihidroksi-4'-metoksiflavon) turuncgillerde doğal olarak da bulunan flavonoid glikozit diosminin (3',5,7-trihidroksi-4'-metoksiflavon-7-ramnoglucoside) aglikon formudur. Oral skuamöz karsinom SCC-9 hücrelerinin proliferasyonunu ve CYP1A1 ve CYP1B1 enziminin güçlü bir inhibitörünü inhibe ederek kanserlere karşı korur. Farmakolojik olarak diosmetin de antikanser, antimikrobiyal, antioksidan, östrojenik ve anti-inflatuar aktivite sergiler. Böbrek hasarını ve patolojik bozuklukları geriye çevirir böylece kan kreatinin, ürik asit ve üre düzeyini düşürür (101, 102).



Şekil 2.1. Diosminin kimyasal yapısı (92).

2.3. Oksidatif Stres

Canlı hücrelerde oksidatif stres, serbest radikallerin üretimi sonucunda reaktif ara ürünleri detoksifiye etmek veya ortaya çıkan hasarı onarmak için antioksidanların üretimi ve tüketimi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır (61, 103). Fizyolojik koşullar altında, kalsiyum iyonları hücre büyümesi, farklılaşması ve sinaptik aktivite gibi çok sayıda hücresel süreçleri yönetir. Hücre içi Ca^{+2} artışı (hücre içi organellerden Ca^{+2} salınımı ile hücre içi Ca^{+2} girişinin artışı) hücre ölümüne yol açabilir. Kurşun mitokondride birikir ve hasara yol açar. Mitokondri hücre içi kalsiyum yoğunluğunun düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu hücre içi Ca^{+2} düzeyini bu da O_2^- gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırır (2, 8). Kalsiyum-bağımlı enzimler, ksantin dehidrojenaz ve ksantin oksidaz, süperoksit anyonu, O_2 ve peroksidin (H_2O_2) üretimine yol açar. Dahası, Ca^{+2} araşidonik asit üretimine yol açan fosfolipaz A_2 enzimini aktive eder ve bu da siklooksijenazlar tarafından O_2^- oluşumunu artırır. Kalsiyum NOS'u aktive eder, nöronda ve çevresindeki bölgelerde NO'nun varlığını artırır. Nitrik oksit çift etkilidir çünkü guanilat siklazı aktive eder ve böylece serbest radikal düzeyini artırarak (özellikle O_2^-) proteinlerde nitrasyona ve lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonu lipid membranların yapısını değiştirir ve sitoplazmik membranda sızıntıya yol açar. İyonik yapıların kaybı dışında presinaptik terminallerden glutamat salınımı artar bu da olumsuz etkilerin şiddetlenmesine neden olur (2, 3, 5).

GSH, reaktif -SH grubu ile redüktif potansiyele sahip sistein içeren bir tripeptiddir. Buna göre GSH, hücrelerin oksidatif strese karşı korunmasında hayati bir rol oynar. ROS ile doğrudan etkileşimi enzimatik olmayan bir antioksidan olarak ifade edilir. GSH karboksilik asit gruplarına, bir amino grubuna, bir -SH grubuna ve metallerin

reaksiyonu için alan olarak iki peptid bağlantısına sahiptir. Glutasyon peroksidaz varlığında indirgenmiş glutasyon, elektronu bağladıktan sonra glutasyon disülfid (GSSG) oluşturur. Glutasyonun indirgenmiş formu (GSH) toplam glutasyon içeriğinin % 90'ını ve oksitlenmiş formu (GSSG) normal şartlarda % 10'unu temsil eder. Ancak oksidatif stres durumunda, GSSG yoğunluğu indirgenmiş GSH düzeyini aşar. Oksidatif stres için bir başka biyobelirteç lipid peroksidasyondur. Hücre zarında bulunan lipid molekülleri elektron toplar bu da sonunda lipid peroksidasyonuna neden olur. Yüksek konsantrasyonlarda, ROS hücrelere, proteinlere, nükleik asitlere, membranlara ve lipidlere yapısal hasar verir (32, 61, 104).

Vücutta normal metabolizmanın bir parçası olarak önemli fizyolojik fonksiyonlara sahip bazı serbest radikaller üretilir (süperoksit, O_2 ve nitrik oksit). Serbest radikaller büyük oranda reaktiftir ve membran lipidleriyle etkileşime girer. Bu süreç lipid peroksidasyon ürünlerini üreten bir zincir reaksiyonuna yol açar. Bu sayede tek bir radikal, lipid peroksidasyon zinciri reaksiyonlarını başlatarak birçok moleküle zarar verebilir. Serbest radikallerin potansiyel zarar verici yapısı nedeniyle, vücutta süperoksit dismutaz ve katalaz gibi enzimleri içeren bir dizi antioksidan savunma mekanizması vardır; bakır ve demir taşıyan proteinler hem suda çözünür hem de lipitte çözünen moleküler antioksidanlardır. Oksidatif stres, antioksidan savunma sisteminin serbest radikallerin üretimi ile başa çıkamadığı zaman ortaya çıkar (77, 87).

Süperoksit anyon radikali, peroksit anyonu ve singlet oksijeni içine alan ROS elektron kazanımı ile moleküler oksijen (O_2)'den üretilen yüksek reaktif yapılardır. ROS'un yüksek oranda reaktif türü olan hidroksil radikali Fe^{+2} aracılı bir dizi reaksiyonla şekillenir. Hipoklorit iyonu, ROS ile birlikte, istilacı mikroorganizmaları öldürmek için lökositler tarafından üretilen bir başka reaktif oksijen türüdür. Endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) ile özdeş olan serbest radikal nitrik oksit (NO), malignan hücrelere, mantarlara ve protozoalara karşı savunmada aktif olan önemli bir sitotoksik moleküldür. ROS üretimi doku glutasyonunun (GSH) tükenmesiyle doku oksidatif stresine yol açar ve GSH'nin yerine konulması ise oksidatif stres ve doku hasarı önlenabilir. ROS toksisitesinin mekanizmaları; (i) hayati tiyol bileşiklerinin disüflitlere oksidasyonu, (ii) doku GSH'nin kaybı, (iii) enerji üretiminin bozulması (ATP, NADH, NADPH), (iv) Ca^{2+} transport ve elektrolit homeostazının inhibisyonu, (v) sitokromların

oksidasyonu, (vi) DNA’da yapısal bozukluklar ve (vii) mutasyonların ve karsinogenezin başlatılmasını içine alır (105, 106).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZ, MALZEME VE KİMYASALLAR

3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Laboratuvar Malzemeleri

1. Buz makinesi (Kale Buzzbar)
2. Deiyonize su cihazı (Sartorius Stedim Arium 61316)
3. Derin dondurucu (Arctiko ULUF 550-2M -80 °C)
4. Hassas terazi (Sartorius TE3102S ve BP1215)
5. Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR Hei-Standart)
6. Mekanik homojenizatör (Heidolph Silient Crusher M)
7. Mikropipet (Termo Finnpipette)
8. pH metre (Metler Toledo seven easy)
9. Soğutmalı santrifüj (Sigma 3K30)
10. Su banyosu (Nüve BM402)
11. UV-VIS Spektrofometre (Thermo Helios α)
12. Vorteks (Heidolph Reaxtop)
13. Antikoagulanlı tüp (Lidyum heparin)
14. Antikoagulantsız tüp
15. Balon joje
16. Beher
17. Ependorf tüp
18. Erlenmayer
19. Kanül
20. Vida kapaklı tüp
21. Spektrofotometre küveti (Quartz) (Helma)

3.1.2. Kimyasallar

1. 1.1.3.3. tetraetoksipropan ($C_{11}H_{24}O_4$) (Sigma, T 9889).
2. 2-tiyobarbitürük asit ($C_4H_4N_2O_2S$) (Merck 108180)
3. 2-tiyobarbitürük asit (TBA) ($C_4H_4N_2O_2S$) (Merck 108180)
4. 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ($[-SC_6H_3(NO_2)COH_2]_2$) (Sigma D8130)
5. Amonyum sülfat ($(NH_4)_2SO_4$) (Merck 101217)
6. Bakır klorit dihidrat ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) (Merck 102733)
7. Bakır sülfat ($CuSO_4$) (Merck 102791)
8. Çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) (Merck 108883)
9. Dimetil sülfoksit ($(CH_3)_2SO$) (Merck 102952)
10. Diosmin ($C_{28}H_{33}O_{15}$) (Sigma D3525-25G)
11. Di-sodyum hidrojen dodekahidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) (Merck 106573)
12. Etilendiamin tetraasetik asit potasyum (EDTA) ($(KOOCCCH_2)_2NCH_2CH_2N(CH_2COOK)CH_2COOH \cdot 2H_2O$) (Merck 814696)
13. Flavin adenin dinükleotit (FAD) ($C_{27}H_{31}N_9Na_2O_{15}P_2 \cdot xH_2O$) (Sigma N6625)
14. Folin Ciocalteu's Fenol (C_6H_6O) (Merck 109001)
15. Formaldehit (CH_2O) (Merck 104002)
16. Glasiyel asetik asit (CH_3COOH) (Merck 100056)
17. Glutasyon redüktaz (NAD(P)H) (Sigma G3664)
18. Hemogloblin (Sigma H-2500)
19. Hidrojen peroksit (H_2O_2) (Merck 108600)
20. Hidroklorik asit (HCl) (Merck, 100314)
21. Ksantin ($C_5H_4N_4O_2$) (Sigma X0626)
22. Ksantin oksidaz (Sigma X1875)
23. Kurşun asetat ($Pb(CH_3CO_2)_4$) (Sigma 185191)
24. N-1-naftiletilendiamin dihidroklorür ($C_{12}H_{16}Cl_2N_2$) (NED) (Merck 106237)
25. n-Butanol ($CH_3(CH_2)_3OH$) (Merck 100988)
26. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat tetrasodyum (NADPH+H) ($C_{21}H_{26}N_7Na_4P_3 \cdot xH_2O$) (Sigma N6505)
27. Nitrat redüktaz (Sigma N7265)
28. Nitro blue tetrazolium klorid ($C_{40}H_{30}N_{10}O_6 \cdot 2Cl$) (Sigma N6876)
29. Orto-fosforik asit (H_3PO_4) (Merck 100563)

30. Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck 104873)
31. Potasyum fosfat dibazik (K_2HPO_4) (Sigma 60356)
32. Potasyum heksosiyanoferat ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) (Merck 104971)
33. Potasyum klorid (KCl) (Merck 104936)
34. Potasyum siyanid (KCN) (Merck 104965)
35. Potasyum sodyum tartarat tetrahydrate ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) (Merck 108087)
36. Pridin ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) (Merck 107462)
37. Redükte glutasyon ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$) (Merck 104090)
38. Sığır albumini (Sigma A4503)
39. Sodyum azid (NaN_3) (Merck 106688)
40. Sodyum dihidrojenfosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck 106345)
41. Sodyum dodesil sülfat ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_2\text{ONa}$) (Merck 113760)
42. Sodyum hidrojen karbonat (NaHCO_3) (Merck 106329)
43. Sodyum hidroksit (NaOH) (Carlo Erba 480507)
44. Sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck 106392)
45. Sodyum klorit (NaCl) (Merck 116224)
46. Sodyum nitrit (NaNO_2) (Merck 106549)
47. Sülfanilamid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) (Merck 11799)
48. t-bütül hidroperoksit (t-BOOH) ($(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$) (Sigma-Aldrich 416665)
49. Triklorasetik asit (TCAA) (CCl_3COOH) (Merck 100810)

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hayvan Materyali

Çalışmada Wistar Albino ırkı 150-200 g ağırlığında 2-3 aylık erkek 40 adet sıçan kullanıldı. Hayvanlar stabil şartlarda (22-24 °C 12 saat aydınlık/karanlık) tutuldu. Hayvanların barındırıldığı kafeslerin (polietilen yapıda) her birine en fazla 4 rat yerleştirildi. Yemleri (% 23 ham protein, % 7 ham selüloz ve 3100 kcal/kg metabolik enerji içeren pelet yem) ve içme suları deneme boyunca önlerinde sürekli bulunduruldu.

3.2.2. Gruplar

Grup 1: Kontrol olarak tutuldu ve hayvanlara sadece yem, su ve taşıt madde (dimetil sülfoksit (DMSO)/deiyonize su; 4/6; 5 ml/kg.ca hacimde) verildi.

Grup 2: Ratlara sonda ile ağızdan diosmin 50 mg/kg.ca dozunda (DMSO içinde) her gün tek sefer 6 hafta boyunca uygulandı.

Grup 3: 1000 ppm dozunda kurşun asetat içeren içme suları ratların önünde sürekli olarak 6 hafta boyunca bulunduruldu ve kurşun asetat içeren içme suları her gün yenilendi.

Grup 4: 1000 ppm dozunda kurşun asetat içeren içme suları ratların önünde sürekli olarak 6 hafta boyunca bulunduruldu ve içme suları her gün yenilendi. Bu sırada ratlara aynı gün tek sefer eş zamanlı sondayla ağızdan diosmin 50 mg/kg.ca dozunda (DMSO içinde) 6 hafta süreyle uygulandı.

Çalışmada kullanılan kurşun asetat (107-109) ve diosmin (13, 110, 111) dozunun belirlemesinde, daha önce gerçekleştirilen çalışmalar esas alındı. Bu tez çalışması için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay (14/157) alındı.

3.2.3. Örneklerin Toplanması

Kuşun ve diosmin uygulaması tamamlandıktan sonra (6 haftanın sonunda) hayvan hafif eter anestezisine alınarak kalbe girildi ve antikoagulantlı (lityum heparin)/antikoagulantsız tüplere kan örnekleri alındı. Ardından servikal dislokasyon yapılarak dokuları (karaciğer, böbrek, beyin, kalp, testis) çıkarıldı. Serum glukoz, trigliserit, kolesterol, kan üre azotu (BUN), kreatinin, ürik asit, laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), total protein ve albümin düzeyleri/aktiviteleri ölçüldü. Elde edilen kan ve dokularda; bazı oksidatif stres parametreleri [malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon (GSH) düzey/aktiviteleri] değerlendirildi. Çalışma sonunda tüm hayvanların vücut ve doku ağırlıkları alındı.

3.2.4. Eritrositlerin Yıkınması ve Hemolizatların Hazırlanması

Antikoagulantlı tüplerdeki kanlar santrifüj edildi ve plazmaları çıkarıldı. Kan şekilli elemanlarını içeren kısmın üstte kalan trombosit ve lökosit tabakası alındıktan sonra eritrosit bölümü tuzlu fosfat tampon çözeltisiyle (pH 7,4) karıştırılarak vortekslendi 3000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Bu işlem üç kez tekrarlandı ve kan numunesinin yıkama işlemi tamamlandı. Kalan eritrosit tabakası aynı hacimde tuzlu fosfat tampon çözeltisi ilave edilerek hafifçe karıştırıldı (112). Hazırlanan numuneler

derin dondurucuya kaldırıldı (-80 °C). Analizler sırasında oda sıcaklığında erimeye bırakıldı ¼ oranında buz soğukluğunda tuzlu fosfat tampon çözeltisiyle hemoliz edildi. Elde edilen hemolizat, hemoglobin miktarı ile CAT ve GSH-Px aktivitelerinin değerlendirilmesinde kullanıldı. Aynı zamanda kalan hemolizat kloroform/etanol (6/10 v/v) ile vortekslendi 3000 rpm'e ayarlı soğutmalı santrifüjde (+4 °C) 10 dakika çevrilerek üstte kalan ekstrakt SOD aktivitesinin ölçümünde kullanıldı.

3.2.5. Doku Homojenatının Hazırlanması

Tüm gruplarda yer alan hayvanların dokuları çıkarıldıktan sonra, buz soğukluğunda tuzlu fosfat tampon ile yıkandı kan ve bağ dokudan arındırıldı. Dokuların 1 g'mı 4 ml tampon çözeltisi (140 mM KCl, 10 mM NaHCO₃, 3 mM KH₂PO₄ and 2 mM K₂HPO₄/L; 950 ml deiyonize suda çözdürülerek 5 N NaOH ile pH'sı 7,2'ye ayarlanmış ve 1000 ml'ye tamamlandı) içinde mekanik homojenizatör yardımıyla 20000 rpm'de 30 sn homojenize edildi. Takiben hazır hale getirilen homojenat 15000 rpm'de 45 dakika süreyle santrifüj edilerek üst faz eppendorf tüplere aktarıldı.

3.2.6. Biyokimyasal Analizler

3.2.6.1. Plazma ve Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü

Plazma MDA düzeyinin tespitinde Yoshioka ve ark'nın (113) tanımladığı yöntem kullanıldı. Yöntemin temeli, tiyobarbitürik asit ile numunede bulunan MDA'nın asit koşullar altında reaksiyonu sonucunda pembe renkli bileşik şekillendirmesine dayanır. Metod kapsamında vida kapaklı cam tüplere 0,5 ml plazma konularak ardından üzerine 2,5 ml % 20'lik triklorasetik asit ve 0,5 ml % 0,67'lik tiyobarbitürik asit ilave edildi tüplerin ağızları kapatıldı. Su banyosuna alındı (95 °C) ve 30 dakika tutuldu. Süre bitince çıkarıldı, hızla soğutuldu ve üzerine 4 ml n-butanol eklendi. Karışım otuz saniye vortekslendi ardından santrifüj (3000 devirde 10 dakika) edildi. Pembe renkli n-butanol fazı (üstteki faz) spektrofotometre küvetine alınarak 535 nm dalga boyunda n-butanol körüne karşı okundu. Kaydedilen absorbanlar 1.1.3.3. tetraetoksipropanda hazırlanmış standart eğrisi esas alınarak nmol/ml cinsinden hesaplandı. Benzer işlem kör hazırlanmasında da izlendi.

Doku MDA düzeyinin ölçümü için Ohkawa ve ark. (114)'nın tanımladıkları metod kullanıldı. Plazma MDA düzeyinin ölçümünde olduğu gibi vida kapaklı cam tüplere; sırasıyla 0,2 ml doku süpernatantı, 200 µl sodyum loril sülfat (% 8,1), 1,5 ml asetat

tamponu, 1,5 ml TBA çözeltisi (% 0,8) ve 600 µl deiyonize su ilave edilerek hafifçe karıştırıldı ve takiben 95 °C'deki su banyosunda 60 dakika tutuldu. Süre dolulumunu müteakip söz konusu karışımı içeren tüpler hızla soğutulularak tüplerin içine 1 ml deiyonize su ve 5 ml n-butanol/piridin (15:1) çözeltisi eklendi, 30 saniye vorteks yapıldı ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstte bulunan pembe renkli fazın absorbensı 535 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Okunan absorbenslar, 1.1.3.3. tetraetoksipropanla hazırlanmış eğri kullanılarak nmol/mg-protein cinsinden hesaplandı.

3.2.6.2. Eritrosit Hemoglobin Düzeyi Ölçümü

Eritrosit hemoglobin düzeyinin ölçümünde Fairbanks ve Klee (115)'nin bildirdiği yöntem kullanıldı. Yöntem belirtilen koşullar altında siyanomethemoglobin oluşumu ve bu kompleksin ölçümüne dayanır. Hazırlanan drabkin reaktifinden [0,2 g $K_3Fe(CN)_6$, 0,05 g KCN ve 1,0 g $NaHCO_3$ tartıldı ve hacmi deiyonize su ile 1 litreye tamamlandı] 6 ml alınarak üzerine önceden hazırlanmış 20 µl hemolizat eklendi sonra oda ısısında belli bir süre (5 dakika) bekletildi, spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda köre karşı (drabkin reaktifi) okundu. Benzer işlemler hemolizattaki hemoglobin düzeyinin ölçümü için hemoglobin standardı hazırlanma aşamasında da gerçekleştirildi. Elde edilen veriler mgHb/ml hemolizat cinsinden değerlendirildi.

3.2.6.3. Doku Protein Düzeyi Ölçümü

Doku protein düzeyinin ölçümünde Lowry ve ark (116)'nın yöntemini esas alan ve Miller (117) tarafından modifiye edilen metod kullanıldı. Yöntemin prensibi tirozin/triptofan ile alkali bakır ve fenol reaktifi arasındaki reaksiyon sonucunda oluşan mavi renkli kompleksin spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda renk şiddetinin ölçümüne dayanır. Cam tüplere doku süpernatantlarından 100 µl alınarak deiyonize suyla 1 ml'ye seyreltildi ardından üzerine 1 ml bakır reaktifi ilave edilerek tüpler 30 sn süreyle vortekslendi. Oda ısısında 10 dakika bekletilerek üstüne 3 ml folin fenol reaktifi (1/10) eklendi ve 30 sn süreyle vortekslendi. Sonra su banyosunda (50 °C'ye ayarlanmış) 10 dakika tutuldu. Oluşan mavi renkli bileşiğin absorbensı spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Sığır albümini kullanılarak aynı süreçler tekrarlandı ve kalibrasyon eğrisi hazırlandı. Okunan absorbensların miktar tayini mg-protein/ml süpernatant olarak hesaplandı.

3.2.6.4. Eritrosit ve Doku Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçümü

Eritrosit ve doku CAT aktivitesinin ölçümünde, Luck (118)'un yöntemi kullanıldı. Genel anlamda yöntemin esası, numunede bulunan katalaz tarafından ortama eklenen hidrojen peroksitin yıkımlamasına dayanır. Kör küvetine 2,95 ml 50 mmol'lük pH 7'de fosfat tampon (3,522 g KH_2PO_4 ve 5,796 g Na_2HPO_4 deiyonize suda çözündürülerek 1 litreye tamamlandı) konularak üzerine 50 μl hemolizat/doku süpernatantı eklenirken; numune küvetine ise fosfat tamponda hazırlanmış 10 mmol/L'lik hidrojen peroksitten (100 ml fosfat tamponuna 0,13 ml % 35'lik H_2O_2 çözeltisi ilave edilerek fosfat tampona karşı absorbansı 240 nm dalga boyunda 0,500'e ayarlandı) 2,95 ml alınarak üzerine 50 μl hemolizat/doku süpernatantı konuldu. Okumalar (absorbans düşüşü) spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda kör küvete karşı (45 saniyedeki düşüş) gerçekleştirildi. Sonuçlar, k/mgHb ve k/mg-protein cinsinden hesaplandı.

3.2.6.5. Eritrosit ve Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü

Numunelerde SOD aktivitesinin tespiti, Sun ve ark'nın (119) tanımladığı metoda göre yapıldı. Yöntemin prensibi özetle ortamda bulunan süperoksit radikallerinin nitroblue tetrazolium (NBT)'u indirgemesini numunede bulunan süperoksit dismutaz tarafından engellenmesine dayanır. Bu reaksiyon sırasında mavi renkli formazon oluşur ve oluşan rengin yoğunluğu SOD aktivitesiyle bağıntılı olarak düşer. Analiz kapsamında daha önce işlemi gerçekleştirilen ekstraktan 0,5 ml alınarak sırasıyla 2,45 ml SOD reaktifi [20 ml ksantin çözeltisi (3 mmol/L)+10 ml EDTA (0,6 mmol/L) çözeltisi+10 ml NBT (0,15 mmol/L) çözeltisi+6 ml amonyum sülfat (2 mol/L) çözeltisi+3 ml sıgır albumini (1 g/L)] ilave edildi. Takiben 50 μl ksantin oksidaz çözeltisi (50 U/4,7 ml'lik ksantin oksidazdan 83 μl alınarak 2 ml 2 M'lık amonyum sülfat çözeltisine katıldı) eklenerek su banyosunda (25 °C'lik) 20 dakika bekletildi. Süre bittikten sonra, 1,0 ml CuCl_2 (0,8 mmol) ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Okumalar 560 nm'de gerçekleştirildi. Elde edilen absorbanslar, U/mgHb ve U/mg-protein şeklinde değerlendirildi.

3.2.6.6. Eritrosit ve Doku Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Ölçümü

Analiz örneklerinde GSH-Px aktivitesinin belirlenmesinde, Paglie ve Valentie (120)'nin metodu esas alındı. Yöntemin çalışma prensibi, glutasyon redüktaz kullanılarak NADPH aracılığıyla indirgenmiş glutasyonun oksidasyonuna dayanır. Analizde, numune tüplerine 1 ml fosfat tampon (pH 7,0; 100 mmol/L), 0,1 ml EDTA (10 mmol/L), 0,1 ml NaN_3 (20 mmol/L), 0,1 ml NADPH+ H^+ (3 mmol/L), 0,1 ml redükte

glutasyon (20 mmol/L) ve 0,2 ml aktivitesi ayarlanmış glutasyon redüktaz (2 U/numune) eklendi. Aynı işlem kör tüpleri için de gerçekleştirildi. Ardından numune tüplerine 0,05 ml hemolizat/doku süpernatantı konurken, kör tüpüne 0,05 ml fosfat tampon ilave edilerek su banyosunda (37°C'a ayarlanmış) 2-3 dakika bekletildi. Sonra üzerine distile suda yoğunluğu ayarlanmış tersiyer butil hidro peroksit (t-BOOH) çözeltisinden 0,2 ml ilave edildi. Absorbans düşüşü, spektrofotometre cihazında 366 nm dalga boyunda bir dakika süreyle kaydedildi. Elde edilen absorbans değerleri, $\mu\text{mol NADPH}^+/\text{dk/gHb}$ ve $\mu\text{mol NADPH}^+/\text{dk/g-protein}$ olarak hesaplandı.

3.2.6.7. Plazma ve Doku Nitrik Oksit (NO) Düzeyi Ölçümü

Numunelerdeki nitrik oksit düzeyinin tespiti Tracey ve ark'nın (121) tarif ettikleri yöntemle yapıldı. Tüplere sırasıyla 25 μl plazma/doku süpernatantı, 8 μl NADPH (200 mikromol/L), 1 μl FAD (10 mikromol/L), 20 mmol'lük 126 μl fosfat tampon ile 40 μl nitrat redüktaz (1 U/ml) konularak vortekslendi, elde edilen karışım 37 °C ayarlanmış su banyosunda 20 dakika tutuldu, üzerine 10 μl çinko sülfat çözeltisi (300 mg/L) eklendi ve soğutmalı santrifüjde (+4 °C) 15000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjleri gerçekleştirildi. Üstteki fazdan 50 μl alınarak daha önce hazırlanmış 50 μl Griess reaktifi [NEDD (1 mg/ml) ve sülfanilamid (20 mg/10 ml fosforik asit çözeltileri) 1:1] eklendi. Işık almayan ortama alınarak 10 dakika bekletildi. Süre bitiminde numuneler köre karşı spektrofotometre cihazında 540 nm'de okundu. Benzer işlemler NO düzeyinin hesaplanması için hazırlanan standart eğrisi için de gerçekleştirildi. Sonuçlar, nmol/ml veya nmol/mg-protein olarak hesaplandı.

3.2.6.8. Plazma ve Doku Glutasyon (GSH) Düzeyi Ölçümü

Doku GSH düzeyinin analizinde Beutler (122)'in metodu kullanıldı. Yöntemin prensibi numunede bulunan sülfidril gruplarının 5,5 ditiobis 2-nitrobenzoik asit reaktifi ile reaksiyona girip oluşan sarı renkli bileşiğin 412 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanır. Analizlerde plazmadan 200 μl alındı, üstüne 2000 μl 0,1 M (pH: 8) sodyum fosfat tamponu ve ayrıca 250 μl DTNB ilave edilerek hafifçe çalkalandı 3 dakika süreyle bekletildi spektrofotometre cihazında 412 nm dalga boyunda absorbansları değerlendirildi. Doku GSH ölçümünde daha önce hazırlanmış süpernatanttan 1 ml alındı ve üzerine 4 ml % 5'lik TCA ilave edildi, tüplerin 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüjleri gerçekleştirildi. Üstte kalan kısım ölçümler için kullanıldı ve plazma GSH tespitindekine benzer şekilde aynı şartlarda ölçümleri gerçekleştirildi. Standart reğrisi

hazırlanmasında da aynı işlemler tekrarlandı. Örnek olarak plazma veya doku süpernatantı yerine GSH kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, nmol/ml veya nmol/mg-protein cinsinden hesaplandı.

3.2.6.9. Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

Serum glukoz, trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, LDH, AST, ALT, ALP, total protein ve albümin düzeyleri/aktivitelerinin tespitinde Roche Cobas marka kit ve aynı marka otoanalizör kullanıldı.

3.3. İSTATİSTİKSEL HESAPLAMALAR

Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 13,0 istatistik programı kullanıldı. Değerler aritmetik ortalama ve standart sapma olarak verildi. Gruplar arası farklılıkların tespitinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi ($p<0,05$ esas alınarak) ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. DİOSMİN

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yalnızca diosmin uygulanan grubun lipid peroksidasyon parametreleri (MDA, NO, SOD, CAT, GSH-Px, GSH), canlı ağırlık, doku ağırlığı ve dokuların bağıl ağırlıklarında ve incelenen biyokimyasal parametrelerde önemli bir değişiklik söz konusu değildir (Tablo 4.1-4.8).

4.2. KURŞUN

Kurşun uygulanan hayvanlarda kontrol grubuna göre incelenen tüm dokuların ve plazma MDA ve NO düzeylerinde önemli bir artış varken diğer taraftan eritrosit SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde azalma plazma GSH düzeyinde düşüş tespit edilmiştir. Karaciğer SOD ve GSH-Px aktivitesi ile GSH düzeyinde düşüş aksine CAT aktivitesinde artış gözlenmiştir. Böbrek dokusu SOD, CAT aktivitesinde yükselme GSH-Px aktivitesinde düşüş ve GSH düzeyinde gerileme bulunmuştur. Beyin dokusu CAT aktivitesinde artış ve SOD ve GSH-Px aktivitesinde GSH düzeyinde düşüş kaydedilmiştir. Kalp dokusu SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde düşüş ile GSH düzeyinde gerileme saptanmıştır. Testis dokusu SOD, GSH-Px ve GSH aktivite/düzeyinde gerileme söz konusu iken diğer taraftan CAT aktivitesinde artış mevcuttur (Tablo 4.1-4.6). Kontrol grubuna göre kurşun verilen grupta biyokimyasal parametreler içinde glukoz, total protein ve albumin düzeyinde azalma trigiliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, LDH, AST, ALT, ALP aktivitesinde/düzeyinde artış gözlenmiştir (Tablo 4.7). Karaciğer, böbrek ve kalp dokusu ağırlığında artış varken diğer taraftan beyin ve testis dokusu ağırlığında düşüş belirlenmiştir. Karaciğer, böbrek,

kalp ve testis bağıl ağırlıklarında artış vardır. Canlı ağırlıkta da önemli bir düşüş tespit edilmiştir (Tablo 4.8).

4.3. KURŞUN VE DİOSMİN

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında değerlerin kontrol grubu değerlerine doğru yaklaştığı tespit edilmiştir. Kontrole göre eritrosit CAT aktivitesinde, karaciğer SOD aktivitesinde, böbrek NO düzeyi ve GSH-Px aktivitesinde, beyin GSH düzeyinde, kalp SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ve GSH düzeyinde, testis SOD ve CAT aktivitesi açısından önemli farklılıklar devam etmektedir (Tablo 4.1-4.6). Biyokimyasal parametrelerden kolesterol düzeyi ve LDH aktivitesinde önemli değişimler söz konusudur (Tablo 4.7). Yine böbrek dokusu ağırlığı/bağıl ağırlık, testis bağıl ağırlığı ve canlı ağırlıkta anlamlı farklılıklar vardır (Tablo 4.8).

Kurşun verilen gruba, kurşunla birlikte diosmin uygulanan grubun değerleri karşılaştırıldığında; plazma MDA, NO ve GSH düzeyi ile eritrosit SOD ve CAT aktivitelerinde, karaciğer MDA, NO, CAT ve GSH-Px aktivite/düzeyinde, böbrek MDA, NO, SOD, CAT ve GSH-Px aktivite/düzeyinde, beyin MDA, SOD, CAT, GSH-Px ve GSH düzeyi/aktivitesinde, kalp MDA, NO, SOD ve GSH-Px aktivite/düzeyinde, testis SOD, CAT, GSH-Px ve NO düzeyi/aktivitesinde önemli farklılıklar mevcuttur (Tablo 4.1-4.6). Biyokimyasal parametrelerden ürik asit, LDH, AST, ALT ve total protein düzey/aktivitesinde anlamlı bir değişim vardır (Tablo 4.7). Karaciğer ve testis organ ağırlığı; karaciğer, böbrek ve kalp bağıl ağırlığı ile canlı ağırlıkta önemli bir farklılık gözlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.1. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların plazma/eritrosit bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
MDA (nmol/ml)	4,93±0,56a	4,58±0,53a	7,96±0,90b	5,26±1,39a
NO (nmol/ml)	24,84±2,05ab	27,68±3,62b	41,25±5,68c	23,12±2,27a
SOD (U/mgHb)	2,32±0,60a	2,43±0,37a	1,64±0,31b	2,15±0,12a
CAT (k/gHb)	114,41±21,38a	99,02±12,36a	57,33±12,26c	78,99±5,78b
GSH-Px (μmol NADPH ⁺ /dk/gHb)	46,81±16,71a	41,60±6,71a	24,60±7,54b	36,92±8,76ab
GSH (nmol/ml)	238,20±28,11a	240,15±42,06a	153,27±33,79b	209,89±50,65a

a,b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir (p<0,05).

Tablo 4.2. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların karaciğer dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
MDA (nmol/mg-protein)	0,46±0,08a	0,44±0,07a	0,61±0,15b	0,42±0,06a
NO (nmol/mg-protein)	0,47±0,06a	0,48±0,09a	0,69±0,10b	0,48±0,04a
SOD (U/mg-protein)	0,38±0,10a	0,34±0,09ab	0,21±0,04c	0,27±0,07bc
CAT (k/g-protein)	417,06±49,21a	438,28±83,56a	515,67±47,56b	400,29±67,73a
GSH-Px (μmol NADPH ⁺ /dk/g-protein)	39,85±12,95a	34,46±13,61a	14,16±5,80b	29,80±12,38a
GSH (nmol/mg-protein)	5,43±1,15a	5,54±1,59a	3,51±0,57b	4,53±0,96ab

a,b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir (p<0,05).

Tablo 4.3. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların böbrek dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
MDA (nmol/mg-protein)	0,53±0,09a	0,58±0,09a	0,90±0,18b	0,67±0,14a
NO (nmol/mg-protein)	0,96±0,17b	0,84±0,15bc	1,22±0,17a	0,74±0,13c
SOD (U/mg-protein)	0,66±0,08a	0,64±0,07a	0,86±0,04b	0,62±0,05a
CAT (k/g-protein)	121,65±14,24bc	109,00±17,28c	223,56±67,85a	153,72±22,19b
GSH-Px (μmol NADPH ⁺ /dk/g-protein)	37,61±5,21a	34,90±8,12ab	19,28±2,97c	28,02±7,82b
GSH (nmol/mg-protein)	5,07±1,19a	5,61±1,53a	3,81±0,68b	4,84±0,18ab

a, b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir (p<0,05).

Tablo 4.4. Tek başına ve kurşun birlikte ile diosmin uygulanan ratların beyin dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
MDA (nmol/mg-protein)	1,08±0,18a	1,21±0,20a	1,73±0,37b	1,23±0,24a
NO (nmol/mg-protein)	1,07±0,31a	0,92±0,11a	1,37±0,19b	1,14±0,19ab
SOD (U/mg-protein)	1,51±0,47a	1,23±0,14a	0,44±0,16b	1,67±0,18a
CAT (k/g-protein)	5,19±2,10a	4,38±0,92a	8,79±1,35b	4,90±1,84a
GSH-Px (μmol NADPH ⁺ /dk/g-protein)	9,96±2,57a	9,23±2,08a	5,57±1,22b	8,40±1,05a
GSH (nmol/mg-protein)	12,34±2,02a	10,25±2,06ab	7,36±1,72c	9,68±1,86b

a,b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.5. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların kalp dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
MDA (nmol/mg-protein)	1,07±0,13a	0,99±0,16a	1,49±0,28b	0,92±0,36a
NO (nmol/mg-protein)	1,03±0,15a	0,93±0,22a	1,52±0,23b	1,15±0,10a
SOD (U/mg-protein)	0,65±0,15a	0,57±0,14a	0,19±0,06c	0,38±0,12b
CAT (k/g-protein)	25,23±7,17a	23,31±3,23a	14,84±4,73b	16,29±3,27b
GSH-Px (μmol NADPH ⁺ /dk/g-protein)	49,40±12,91a	51,72±8,05a	23,41±2,61b	36,68±6,58c
GSH (nmol/mg-protein)	8,05±0,84a	7,80±1,12a	5,99±0,73b	6,48±1,41b

a,b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir (p<0,05).

Tablo 4.6. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların testis dokusu bazı oksidatif stres parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
MDA (nmol/mg-protein)	2,06±0,54a	1,94±0,50a	2,79±0,32b	2,36±0,69ab
NO (nmol/mg-protein)	0,79±0,18a	0,77±0,13a	1,10±0,15b	0,85±0,06a
SOD (U/mg-protein)	0,45±0,06a	0,49±0,12a	0,19±0,07b	0,32±0,13c
CAT (k/g-protein)	10,02±2,32a	10,55±1,65a	17,09±1,94b	13,27±2,00c
GSH-Px ($\mu\text{mol NADPH}^+/\text{dk/g-protein}$)	6,58±1,70a	6,15±1,01a	3,87±0,65b	6,30±1,56a
GSH (nmol/mg-protein)	7,45±1,07a	7,58±1,25a	5,66±1,47b	6,58±1,36ab

a,b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.7. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların serum bazı biyokimyasal parametreleri.

Parametre	Grup			
	Grup 1 (Kontrol)	Grup (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
Glukoz (mg/dL)	301,71±35,42a	303,28±47,43a	235,85±32,44b	285,85±39,54ab
Trigliserit (mg/dL)	135,57±28,83a	126,57±30,48a	182,14±43,80b	153,57±16,60ab
Kolesterol (mg/dL)	58,28±6,42a	59,57±7,99a	75,14±6,93b	70,71±6,60b
BUN (mg/dL)	19,41±1,16ab	19,02±1,36a	26,27±2,70c	22,97±4,05bc
Kreatinin (mg/dL)	0,34±0,03a	0,33±0,03a	0,44±0,05b	0,37±0,08ab
Urik asit (mg/dL)	1,10±0,29a	1,42±0,39ab	2,00±0,70b	1,20±0,03a
LDH (U/L)	502,57±149,53b	432,57±94,86b	1292,42±241,68c	774,28±147,82a
AST (U/L)	88,71±10,81a	71,57±5,41a	119,28±23,99b	70,57±11,50a
ALT (U/L)	43,85±7,28a	41,71±5,43a	66,85±18,65b	39,85±4,33a
ALP (U/L)	162,00±26,28a	172,42±36,07a	223,71±43,53b	193,00±24,37ab
Total protein (mg/dL)	6,66±0,75a	6,77±0,83a	5,50±0,54b	5,98±0,31a
Albumin (mg/dL)	4,34±0,60a	4,49±0,48a	3,61±0,41b	3,84±0,19ab

a,b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir ($p<0,05$).

Tablo 4.8. Tek başına ve kurşun ile birlikte diosmin uygulanan ratların canlı ağırlık, organ ağırlıkları ve organ ağırlığı/canlı ağırlık oranları (bağıl ağırlık).

Organ		Grup 1 (Kontrol)	Grup (Diosmin)	Grup 3 (Kurşun)	Grup 4 (Kurşun+Diosmin)
Karaciğer	Organ Ağırlığı (g)	10,28±0,57a	10,49±1,36a	12,33±1,01b	10,40±1,50a
	Bağıl Ağırlık	0,053±0,004a	0,056±0,008a	0,098±0,013b	0,062±0,008a
Böbrek	Organ Ağırlığı (g)	1,86±0,20a	2,00±0,27a	2,78±0,24b	2,50±0,23b
	Bağıl Ağırlık	0,009±0,001a	0,011±0,001a	0,022±0,003c	0,014±0,005b
Beyin	Organ Ağırlığı (g)	1,70±0,12a	1,68±0,18a	1,24±0,36b	1,49±0,50ab
	Bağıl Ağırlık	0,008±0,0006	0,009±0,001	0,009±0,003	0,009±0,002
Kalp	Organ Ağırlığı (g)	0,74±0,08a	0,78±0,09ab	0,87±0,05b	0,81±0,08ab
	Bağıl Ağırlık	0,004±0,0005a	0,004±0,0006a	0,007±0,0006b	0,004±0,0005a
Testis	Organ Ağırlığı (g)	2,35±0,18a	2,43±0,20a	1,96±0,25b	2,44±0,34a
	Bağıl Ağırlık	0,012±0,001a	0,013±0,001ab	0,015±0,002c	0,014±0,001bc
Canlı Ağırlık (g)		192,90±8,87a	186,30±8,35a	127,00±13,89b	165,60±8,63c

a,b,c. Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen grup verileri istatistiksel anlamda önemlidir ($p<0,05$).

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Kurşun toksisitesinin bilinen bazı biyokimyasal mekanizmalarının temelinde, antioksidan savunma sistemi bileşenlerine etkileri ile oksidatif hasara neden olan hücrelerin pro-oksidan/antioksidan dengesinde bozulmaya yol açması yatar. Kurşun maruziyeti sonucunda hepatik kolesterol metabolizmasında değışiklikler, ROS üretiminin artışıyla lipit peroksidasyonu, antioksidan enzimlerin aktivitesinin baskılanması, GSH düzeylerinde azalma, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif DNA hasarı ve sonuçta apoptoz gözlenir (123-125).

Oksidatif stres, kurşun toksisitesinin moleküler mekanizmasının olası yolaklarından biridir. Serbest radikallerin (bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektronlu yapılar) antioksidan savunma mekanizmaların (serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruma sağlayan sistemler) kapasitesini aştığı zaman ortaya çıkar. Glutasyon ve diğer sülfidrilli gruplarının tükenmesinin yanı sıra, lipid peroksidasyonunu önleyen çeşitli antioksidan enzimlerin aktivitesindeki değışiklikler kurşunla indüklenen oksidatif doku hasarında önemli rol oynar. Kurşun maruziyetinde serbest radikaller içinde özellikle süperoksit iyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit üretimi hızlanır. Kurşunun hücre membran yapısı ve fonksiyonlarında toksik etkileri vardır. Eritrosit zarındaki etkilerinde kurşuna karşı yüksek duyarlılığı yatar. Kurşunla indüklenen membran oksidatif hasarında başka bir mekanizma da membran yağ asidi kompozisyonundaki değışikliklere etkisidir. Yağ asidi zincir uzunluğu ve doymamışlıkla, peroksidasyona karşı membran duyarlılığı arasında bağıntı olduğundan araşidonik asit artışı membran lipid peroksidasyonunun şiddetlenmesine yol açar. Kurşun zehirlenmesinin değeriendirilmesinde en sık kullanılan parametreler GSH düzeyi ve antioksidan

enzimlerden SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleridir. GSH-Px, CAT ve SOD metalloproteindir ve peroksitleri ($-OOH$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve tekli oksijeni (1O_2) enzimatik olarak detoksifiye ederek antioksidan etki gösterir. Sırasıyla CAT, H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye ayırır. Kararlı durumdaki H_2O_2 parçalanmasında önemli bir rol alır. GSH-Px, peroksitleri yıkımlamak için GSH'a ihtiyaç duyar ve daha düşük seviyede ve daha az kararlı H_2O_2 'nin ayrışmasında görev alır. Bu antioksidan enzimler kurşun toksisitesi için potansiyel hedeftir. Diğer SOD'dur ve MnSOD ve CuSOD olmak üzere iki alt tipi vardır. SOD ile kandaki düşük bakır düzeyi arasında sıkı ilişki vardır. Kurşunun bakır seviyesini geriletmesi SOD aktivitesinde kurşun kaynaklı düşüşe yol açar (32, 77, 87, 126).

Kurşun glutasyon ve sülfidril içeren enzimleri bağlar. İki ayrı yolla serbest radikal hasarına yol açar: (1) hidroperoksitler, tekli oksijen ve hidrojen peroksit dahil olmak üzere reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturması ve (2) antioksidan rezervlerini doğrudan tüketmesi. ROS üretiminin arttığı biyolojik bir sistemde antioksidan rezervler tükenmiştir. Kurşun maruziyetinin etkilerinden biri de glutasyon metabolizmasıdır. Glutasyon, indirgeyici gücü olan reaktif -SH grubuna sahip sistein içeren tripeptiddir. Buna göre GSH, hücrelerin oksidatif strese karşı korunmasında hayati rol oynar. -SH grubunun ROS ile doğrudan etkileşimi enzimatik olmayan antioksidan görevi üstlenir veya ROS için bir kofaktör/koenzim olarak enzimatik detoksifikasyon reaksiyonlarında rol alır. Bir karboksilik asit grubuna, bir amino grubuna, bir sülfidril gruba ve metallerin bağlandığı iki peptid bağına sahiptir. Kurşun sadece, -SH grubuna bağlanır bu da GSH seviyesini düşürür ve düşük GSH antioksidan aktiviteyi etkiler (50, 60, 123, 124). Bu süreç sonunda, GSH sisteinden γ -glutamil döngüsüyle üretilir ancak bu sentez normal GSH tedariki için yeterli düzeyde değildir. Ayrıca bu metal GSH düzeyini düşürerek δ -ALAD, GR, GSH-Px ve GSH-S-transferaz enzimlerini inaktive eder. Kurşunun bu antioksidan enzimleri inaktive etmesi (SOD, CAT, GSH-Px) aynı zamanda önemli kofaktör olan çinkonun yerini almasıyla da ilişkilidir. Lipit peroksidasyonundan başka Hb oksidasyonunu indükler ve eritrositlerin hemolizine neden olur. Bu ALAD inhibisyonuyla ilintili gerçekleşir ve idrarın/kan ALA substrat yoğunluğunda artışa yol açar. Yüksek ALA seviyesi, hidroksil radikalleri ve oks-Hb ile etkileşime giren hidrojen peroksit ve süperoksit radikali oluşumuyla sonuçlanır. Söz konusu mekanizma, hücreyi oksidatif strese karşı oldukça hassas hale getirir ve hücre ölümüne neden olur. Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+2} ve Na^{+} gibi tek/iki değerli katyonlar kurşun ile yer değiştirir. Böylece

iyonik mekanizma olarak adlandırılan çeşitli temel biyolojik süreçleri etkiler. Hücre içi sinyalizasyon, hücre yapışması, protein sentezi, apoptoz, iyonik transport, enzim regülasyonu, nörotransmitterlerin salınımı gibi temel hücresel süreçler, yukarıda bahsedilen iyonik mekanizmanın bozulmasında, önemli ölçüde etkilidir. Kurşun biyokimyasal, fizyolojik ve genetik bozukluklara yol açar. Bunu özellikle kalsiyum bağımlı veya benzer süreçleri etkileyerek (etkilerini inhibe etme/taklit etme) ayrıca bazı proteinlerle (amin, karboksil, fosfat ve sülfidril, gruplar gibi) etkileşime girerek gerçekleştirir (64, 127).

5.1. DIOSMİN

Flavonoidler bir dizi potansiyel mekanizmalarla antioksidan olarak hareket eder. En önemlisi serbest radikal zincir reaksiyonunu kırarak radikal süpürücü olmasıdır. Bu şekilde tanımlanan bir bileşik, düşük yoğunluklarda dahi oksitlenebilir substrat ile karşılaştığında substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirebilir veya önleyebilir nitelikte olmalıdır. Özellikle flavonoidlerin belirgin antioksidan etkisi, oksidasyon için metalik iyonları (bakır veya demir gibi) kullanan sistemlerde metalin kelasyonudur. Katalitik metal iyonlarının kelasyonu, yüksek derecede reaktif hidroksil radikalleri oluşturabilen reaksiyonların (Fenton reaksiyonu) önüne geçer. Polifenollerin metal iyonlarıyla reaksiyona girme kabiliyeti aynı zamanda onları pro-oksidan hale getirir (3, 87, 88). Çalışma kapsamında sadece diosmin verilen grupta incelenen parametrelerde kontrol grubuna göre önemli bir farklılığın bulunmamış olması, verilen doz ve sürede bu bileşiğin biyolojik sistemi etkileyebilecek bir değişikliğe sebep olmadığını göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalardan, Eraslan ve ark (111), ratlara 50 mg/kg dozda 21 gün süreyle verdikleri diosminin eritrosit, karaciğer ve böbrek (böbrek GSH-Px aktivitesi dışında) MDA düzeyi ile SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde önemli değişime sebep olmadığını göstermişlerdir. Aynı çalışma kapsamında incelenen biyokimyasal parametrelerde de kontrol grubuna göre farklılık bulamamışlardır. Sharmila-Queenthly ve ark (128)'nın ratlara 10 mg/kg.ca dozda 10 gün boyunca uyguladıkları diosminin LDH aktivitesi, kalp TBARS düzeyi, SOD, GSH-Px ve GSH düzeyinde önemli değişime yol açmadığını gözlemişlerdir. Arab ve ark (129), 100 mg/kg.ca dozunda 7 gün süreyle verdikleri diosminin mide MDA, GSH, GSH-Px düzey/aktivitelerinde değişime yol açmadığı tespit edilmiştir. Rehman ve ark (130), 40 mg/kg.ca dozda ratlara 20 gün boyunca diosmin uygulamışlar; böbrek GSH, GSH-Px,

MDA, SOD ve CAT düzey/aktivitesi ile BUN, kreatinin, LDH düzeyinde değişime neden olmadığını bildirmişlerdir. Srinivasan ve Pari (99), 100 mg/kg dozda 45 gün süreyle verdikleri diosminin karaciğer, böbrek ve plazma TBARS, karaciğer ve böbrek SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde önemli değişimlere neden olmadığını saptamışlardır. Germoush (131), ratlara ağızdan 50 mg/kg dozunda 15 gün boyunca uyguladıkları diosminin serum AST, ALT, ALP aktiviteleri ile karaciğer GSH, SOD, CAT, GSH-Px aktivite/düzeylerinde anlamlı farklılığa sebep olmadığını rapor etmişlerdir.

5.2. KURŞUN

Kurşun uygulanan hayvanlarda kontrol grubuna göre, incelenen tüm doku ve plazma MDA ve NO düzeylerinde önemli bir artış varken karaciğer SOD, GSH-Px aktivitesinde ve GSH düzeyinde düşüş, CAT aktivitesinde artış; böbrek SOD ve CAT aktivitesinde yükselme GSH-Px aktivitesinde düşüş ile GSH seviyesinde gerileme; beyin SOD ile GSH-Px aktivitesinde artış ve GSH düzeyinde düşüş CAT aktivitesinde artış; kalp SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde düşüş ile GSH azalma; testis SOD, GSH-Px ve GSH aktivite/düzeyinde düşüş, CAT aktivitesinde artış; eritrosit SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde azalma ile plazma GSH düzeyinde düşüş gözlenmiş olması kurşunun belirtilen doz ve sürede hayvanlarda oksidatif strese yol açtığını açıkça ortaya koymaktadır. Bunun mekanizmaları içinde yukarıda ayrıntısıyla bahsedildiği gibi serbest radikal oluşumunu hızlandırması, hücrel membran yapısını bozarak yağ asit kompozisyonunu değiştirmesi, GSH depolarını tüketmesi, birçok antioksidan enzimde kofaktör olarak rol alan metallerin yerini alması, ALA düzeyini artırarak dolaylı şekilde serbest radikal düzeyini artırması, iyon taşınması/iyon mekanizmasını değiştirerek kalsiyum bağımlı süreçleri etkilemesi ve mitokondriyal disfonksiyona yol açması yer almaktadır (32, 50, 60, 64, 123-127). İncelenen antioksidan enzim aktivitelerindeki düşüş serbest radikallerin daha az zararlı ve zararsız ürünlere dönüştürülmesi sırasında tükendiğini ortaya koymaktadır. Diğer taraftan yukarıda ifade edildiği gibi kurşun kofaktör olarak rol alan metallerin yerini alarak da farklı bir mekanizmayla enzim inhibisyonuna sebep olabilir. İncelenen örneklerin bir kısmında bazı antioksidan enzim aktivitelerinde artışa rastlanması, söz konusu metalin doğrudan ya da dolaylı olarak (ürettiği serbest radikallerle) enzim indüksiyonuna yol açtığını göstermektedir. Biyokimyasal parametreler içinde kontrol grubuna göre kurşun verilen grupta; glukoz,

total protein ve albumin düzeyinde azalma; trigliserit, kolesterol, BUN, kreatinin, ürik asit, LDH, AST, ALT, ALP aktivitesinde/düzeyinde artışın tetkik edilmiş olması kurşunun biyolojik sistemde değişikliğe yol açtığını ve doku hasarını tetiklediğini ortaya koymaktadır. Aynı zamanda organ ve canlı ağırlıktaki farklılıklar da bu durumu desteklemektedir.

Kurşun maruziyetine yönelik daha önce gerçekleştirilen diğer çalışmalardan; El-Nekeety ve ark (132), dört hafta boyunca ratlara 20 ppm dozunda kurşun asetat vermişler AST, ALT ve ürede artış; total protein, albümin ve trigliseritte düşüş; karaciğer MDA'da yükselme GSH'da ve canlı ağırlıkta düşüş tespit etmişlerdir. Toz ve Değer (133), ratlara 5 gün boyunca 50 mg/kg dozunda periton içi kurşun asetat uygulamışlar eritrosit MDA düzeyinde artış, GSH düzeyi ile GSH-Px aktivitesinde düşüş bulmuşlardır. Hasanein ve ark (134), ratlara 500 ppm kurşuna denk gelecek şekilde kurşun asetatı 28 gün boyunca içme suyu ile uygulamışlar; AST, ALT, ALP, LDH aktivitesinde artış; albümin, total protein ve vücut ağırlığında düşüş karaciğer ağırlığında ve MDA düzeyinde artış saptamışlardır. Yine Hasanein ve ark (134), yaptığı çalışmada, ratlar 500 ppm dozunda kurşunu 8 hafta boyunca almış sonuçta karaciğer SOD, CAT, GSH-Px aktivitesi ile GSH düzeyinde düşüş kaydetmişlerdir. Abdulmajeed ve ark (135), ratlara 28 gün süreyle içme suyuyla 2000 ppm kurşun uygulamışlar (kurşun asetat şeklinde) ve beyin GSH düzeyi ile SOD aktivitesinde düşüşe rastlamışlardır. Abdou ve Hassan (136), ratlara 5 gün boyunca periton içi 25 mg/kg dozunda kurşun asetat vermişler AST, ALT, ALP, LDH aktivitesi ile üre ve kreatinin düzeyinde artış, total protein ve albüminde düşüş, MDA düzeyinde artış kaydetmişlerdir. Ek olarak karaciğer ve böbrek SOD, CAT, GSH-Px ve GSH düzeyi/aktivitesinde düşüş gözlemişlerdir. Trigliserit ve kolesterolde artış bulmuşlardır. Dorostghoal ve ark (137), ratlara 70 gün 1000 ppm dozunda kurşun asetat vermişler testis ağırlığında düşüş, MDA düzeyinde artış, testis GSH-Px ve SOD aktivitesinde düşüş bildirmişlerdir. Mohammed ve ark (138), ratlara periton içi 20 mg/kg dozunda kurşun asetat vermişler AST, ALT, ALP, bilirubin, üre, kreatinin ve ürik asit düzeyi/aktivitesinde artış total protein ve albümin düzeyinde düşüş tespit etmişlerdir. Abdel-Moneim ve ark (139), 7 gün boyunca ratlara 25 mg/kg kurşun asetat vermişler karaciğer, böbrek ve beyin MDA düzeyinde artış, serum kolesterol ve trigliserit seviyesinde yükselme gözlemişlerdir. AST, ALT, total bilirubin, üre, kreatininde artış varken albüminde düşüş söz konusu olmuştur. Abdel Moneim ve ark (140), kurşun

asetatı ratlara 20 mg/kg dozda 5 gün süreyle uygulamışlar vücut ağırlığında düşüş ve relatif ağırlıkta/böbrek ağırlığında artış bulmuşlar; ürik asit, üre, keatinin ile serum ve böbrek MDA ve NO düzeyinde artış, GSH, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde/düzeyinde düşüş olduğunu ifade etmişlerdir. Abdel Moneim ve ark (141) ratlara kurşunu 20 mg/kg dozda 5 gün uygulamışlar; serum/karaciğer AST, ALT ve ALP aktivitesinde artış ile serum ve karaciğer MDA ve nitrat/nitrit düzeyinde artış bildirirken serum ve karaciğer GSH ile karaciğer SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesinde/düzeyinde düşüş saptamışlardır. Xia ve ark (16), 20 mg/kg dozunda periton içi 20 gün süreyle verdikleri kurşun asetatı karşı beyin ve karaciğer GSH, CAT, SOD'da düşüş TBARS'da artış rapor etmişlerdir. Ponce-Canchihuamán ve ark (142)'nın periton içi 25 mg/kg dozda 3 kez verdikleri kurşun asetatı karaciğer ve böbrek MDA düzeyinde artışa; SOD, CAT ve GSH düzey/aktivitesinde düşüşe neden olmuştur. Shalan ve ark (143), ratlara haftada üç kez 6 hafta boyunca 500 mg/kg dozda kurşun asetatı uygulamışlar AST, ALT ve ALP aktivitesinde yükselme saptamışlardır. Suradkar ve ark (144), ratlara içme suyu ile 28 gün 100 ppm ve 1000 ppm dozunda verdikleri kurşun asetatın AST, ALT, ALP, kreatinin, BUN seviyesinde/aktivitesinde yükselme, total protein ve albümin düzeyinde düşüşe sebep olduğunu bildirmişlerdir. Khan ve ark (145), farelere 100 mg/kg dozunda 42 gün boyunca uyguladıkları kurşun asetatın hayvanların canlı ağırlıklarında düşüş AST ve ALT aktivitesinde artışa yol açtığı değerlendirmişlerdir. Newairy ve Abdou (146), ratlarda 200 ppm dozunda 3 hafta boyunca uyguladıkları kurşun asetatın karaciğer TBARS düzeyini artırdığı GSH, GSH-Px ve SOD düzeyini düşürdüğü kan trigliserit ve kolesterol düzeyini yükselttiğini kaydetmişlerdir. Pande ve Flora (147), ratlara 2000 ppm dozunda 4 hafta kurşun asetatı uygulamışlar beyin CAT aktivitesinde artış, SOD ve GSH düzeyinde düşüş; böbrek CAT ve TBARS'da artış GSH'da düşüş; karaciğer CAT ve TBARS'da artış GSH düzeyinde düşüş belirlemişlerdir. Sandhir ve Gill (148), ratlara 50 mg/kg dozunda 8 hafta boyunca kurşun asetatı vermiş karaciğer MDA düzeyinde artış SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesi ile GSH düzeyinde düşüş bulmuşlardır. Velaga ve ark (149), 1000 ppm 4 hafta süreyle verilen kurşun asetatın beyin MDA düzeyinde artışa sebep olduğunu rapor etmişlerdir. Asadpour ve ark (108), 1000 dozunda 35 gün süreyle kurşun asetatı vermişler karaciğer SOD, GSH-Px ve CAT aktivitesinde düşüş MDA düzeyinde artış tespit etmişlerdir. Mabrouk (150)'un, 2000 ppm dozunda 5 hafta boyunca uyguladıkları kurşun asetatı karaciğer GSH, SOD, GSH-Px ve CAT

aktivite/düzeyinde düşüşe yol açmıştır. Ozkaya ve ark (151)'nin ratlara 500 ppm dozunda içme suyu ile 30 gün boyunca verdiği kurşun asetatın karaciğer MDA düzeyinde artışa GSH düzeyinde düşüşe yol açtığını saptamışlardır. Agrawal ve ark (152)'nin, ratlara içme suyu ile 30 ppm 6 ay boyunca kurşun asetat uygulaması AST, ALT aktivitesinde artışa, böbrek, karaciğer ve kan TBARS düzeyinde yükselmeye GSH düzeyinde düşüşe neden olmuştur. Yallapragada ve Velaga (153), 500 ppm kurşun asetatı 4 hafta boyunca vermişler beyin MDA, CAT ve SOD düzey/aktivitesinde artış gözlemişlerdir. Haleagrahara ve ark (154), 500 ppm kurşun asetatı 2 hafta boyunca vermişler lipid hidroperoksitte artış SOD ve GSH-Px aktivitesinde düşüş bulmuşlardır. Bennet ve ark (155), 500 ppm dozunda kurşun asetatı sekiz hafta boyunca uygulamışlar beyin LPO düzeyinde artış SOD ve CAT aktivitesinde düşüş rapor etmişlerdir. Gürer ve ark (156), ratlara 2000 ppm kurşun asetatı 5 hafta boyunca uygulamışlar eritrosit, beyin ve böbrek MDA seviyesinde artış GSH düzeyinde düşüş; eritrosit ve böbrek CAT aktivitesinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Canlı ağırlık ve incelenen organlardaki değişimlere benzer değişimler daha önceki çalışmalarda da gerçekleşmiştir (134, 157-161). Çalışma kapsamında incelenen parametrelerle söz konusu daha önceki araştırmalardan elde edilen parametreler arasında uyum olduğu tespit edilmiştir.

5.3. KURŞUN VE DİOSMİN

Değerlendirilen parametrelerin hepsinin kontrol grubuna yaklaştığı gözlenmiştir. Buna rağmen bazı değerlerde istatistiksel fark devam etmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; eritrosit CAT aktivitesinde, karaciğer SOD aktivitesinde, böbrek NO düzeyi ile GSH-Px aktivitesi, beyin GSH düzeyinde, kalp SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri ve GSH seviyesinde ile testis SOD ve CAT aktivitesinde önemli farklılıkların bulunmasının yanısıra biyokimyasal parametrelerden kolesterol düzeyi ve LDH aktivitesinde; böbrek doku ağırlığı/bağıl ağırlık, testis bağıl ağırlığı ve canlı ağırlıkta anlamlı değişimlerin mevcut olması diosmin uygulamasının kurşun maruziyetinin yol açtığı olumsuz etkileri tam anlamıyla gidermediğini göstermektedir. Benzer şekilde kurşun verilen grupla kurşunla birlikte diosmin uygulanan grubun değerleri karşılaştırıldığında; plazma MDA, NO ve GSH düzeyi ile eritrosit SOD ve CAT aktivitelerinde, karaciğer MDA, NO, CAT ve GSH-Px aktivitesi/düzeyinde, böbrek MDA, NO, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesi/düzeyinde, beyin MDA, SOD, CAT, GSH-Px ve GSH düzeyi/aktivitesinde, kalp MDA, NO, SOD ve GSH-Px

aktivitesi/düzeyinde, testis NO, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesi/düzeyinde önemli farklılıkların mevcut olması da aynı tezi desteklemektedir. Flavonoidlerin genel anlamda, oluşan serbest radikalleri tuttuğu bilinmektedir (162, 163). Ayrıca serbest radikal oluşum reaksiyonlarında rol alan bazı metalleri (demir, bakır gibi) bağlayarak lipid oksidasyona engel olması da benzer etkiyle sonuçlanır (164, 165). Diosminin de etki mekanizmasının benzeri olduğu söylenebilir (40, 92, 126, 166, 167). Diosminin yer aldığı daha önceki çalışmalar değerlendirildiğinde; Eraslan ve ark (111), 21 gün boyunca verdikleri aflatoksinin (500 µg/kg) sebep olduğu karaciğer ve böbrek SOD, CAT, GSH-Px, NO ve MDA düzeyleri/aktiviteleri ve AST, ALT, ALP ve LDH aktivitelerini 50 mg/kg dozda aynı sürede verilen diosminin gerilettiğini tespit etmişlerdir. Sharmila Queenthly ve ark (128), ratlarda izoproteranolün yol açtığı miyokardiyal oksidatif strese 10 gün boyunca 10 mg/kg dozda verilen diosminin etkili olduğu; kalp SOD, CAT, GSH-Px ile TBARS düzeyi ve serum LDH aktivitesini kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını kaydetmişlerdir. Jain ve ark (13)'nın diyabetik ratlara 50 ve 100 mg/kg dozda 4 hafta süreyle verdikleri diosmin MDA, GSH ve NO düzeyi ile SOD aktivitesinde olumlu yönde değişime sebep olmuştur. Srinivasan ve Pari (99), streptozosin aracılı oksidatif strese diosminin (100 mg/kg dozda 45 gün boyunca) karaciğer ve böbrek SOD, CAT, GSH-Px ve GSH düzeyinde/aktivitesinde olumlu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Tanrikulu ve ark (110), deneysel bağırsak/karaciğer hasarında 50 mg/kg dozda 10 gün süreyle verdikleri diosminin AST, ALT and LDH aktivitesi ile SOD, CAT, MDA aktivite/düzeylerini kontrol grubu değerlerine doğru yaklaştırdığını rapor etmişlerdir. Arab ve ark (129), etanolün sebep olduğu mide hasarına karşı 100 mg/kg dozda 1 hafta süreyle uygulanan diosminin GSH, GSH-Px, NO ve MDA düzey/aktivitelerinde iyileşmeye neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Senthamizhselvan ve ark (12), ratlarda deneysel olarak oluşturulan kalp hasarında şekillenen oksidatif strese karşı, 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozda 7 gün süreyle verilen diosminin kalp dokusu SOD, CAT, GSH-Px GSH ve TBARS ve kan LDH aktivitelerini önemli oranda düzelttiğini tespit etmişlerdir. Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen verilerle bu çalışma verileri incelendiğinde benzer sonuçların alındığı kaydedilmiştir.

Sonuç olarak, belirtilen doz ve sürede uygulanan kurşun ileri derecede organ hasarına sebep olmuştur. İncelenen oksidatif stres parametreleri, biyokimyasal parametreler ve canlı ağırlık/organ ağırlıklarındaki değişimler bu durumu ortaya koymaktadır. Aynı

sürede verilen diosmin kurşunun yol açtığı hasarı geriletmede etkili bulunmuştur. İncelenen parametrelerin kontrol grubu değerlerine yaklaşması da bu değerlendirmeyi desteklemektedir. Dolayısıyla diosmin, kurşun maruziyetinden ileri gelen muhtemel zehirlenmelerde; hem koruyucu amaçla hem de temel tedavi seçeneklerini destekleyici amaç çerçevesinde kullanılabilir.



6. KAYNAKLAR

1. Mulware SJ. Trace elements and carcinogenicity: a subject in review. *Biotech* 2013; 3: 85-96.
2. Sanders T, Liu Y, Buchner V, Tchounwou PB. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: a review. *Rev Environ Health* 2009; 24: 15-45.
3. Flora G, Gupta D, Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip Toxicol* 2012; 5: 47-58.
4. Mudipalli A. Lead hepatotoxicity & potential health effects. *Indian J Med Res* 2007; 126: 518- 527.
5. Rashid K, Sinha K, Sil PC. An update on oxidative stress-mediated organ pathophysiology. *Food Chem Toxicol* 2013; 62: 584-600.
6. Adikwu E, Deo O, Precious OBP, Enimeya DA. Lead organ and tissue toxicity: Roles of mitigating agents (Part 1). *Br J Pharmacol Toxicol* 2013; 4: 232-240.
7. Needleman H. Lead poisoning. *Annu Rev Med* 2004; 55: 209-222.
8. Ercal N, Güreş-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: Mechanism involved in metal induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem* 2001; 1: 529-539.
9. Hirsch HV, Possidente D, Possidente B. Pb²⁺: an endocrine disruptor in *Drosophila*? *Physiol Behav* 2010; 99: 254-259.
10. Dapul H, Laraque D. Lead Poisoning in Children. *Adv Pediatr* 2014; 61: 313-333.
11. Chandran L, Cataldo R. Lead poisoning: basics and new developments. *Pediatr Rev* 2010; 31: 399-405.

12. Senthamizhselvan O, Manivannan J, Silambarasan T, Raja B. Diosmin pretreatment improves cardiac function and suppresses oxidative stress in rat heart after ischemia/reperfusion. *Eur J Pharmacol* 2014; 736: 131-137.
13. Jain D, Bansal MK, Dalvi R, Urganlawar A, Somani R. Protective effect of diosmin against diabetic neuropathy in experimental rats. *J Integr Med* 2014; 12: 35-41.
14. Anon. Monograph. Diosmin. *Altern Med Rev* 2004; 9: 308-311.
15. Kowalczyk E, Jankowski A, Niedworok J, Smigielski J, Jankowska B. The effect of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* and acetylcysteine on selected after-effects of lead acetate poisoning. *Pol Merkurius Lekarski* 2002; 12: 221-223.
16. Xia D, Yu X, Liao S, et al. Protective effect of *Smilax glabra* extract against lead-induced oxidative stress in rats. *J Ethnopharmacol* 2010; 130: 414-420.
17. Wang J, Yang Z, Lin L, et al. Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biol Trace Elem Res* 2012; 146: 354-359.
18. Wang J, Zhu H, Yang Z, Liu Z. Antioxidative effects of hesperetin against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Indian J Pharmacol* 2013; 45: 395-398.
19. Lalith Kumar V, Muralidhara. Ameliorative effects of ferulic acid against lead acetate-induced oxidative stress, mitochondrial dysfunctions and toxicity in prepubertal rat brain. *Neurochem Res* 2014; 39: 2501-2515.
20. Abdel Moneim AE. *Indigofera oblongifolia* Prevents lead acetate-induced hepatotoxicity, oxidative Stress, fibrosis and apoptosis in rats. *PLoS One* 2016; 11: e0158965.
21. Mohamed WA, Abd-Elhakim YM, Farouk SM. Protective effects of ethanolic extract of rosemary against lead-induced hepato-renal damage in rabbits. *Exp Toxicol Pathol* 2016; 68: 451-461.
22. Ozkaya A, Sahin Z, Dag U, Ozkaraca M. Effects of naringenin on oxidative stress and histopathological changes in the liver of lead acetate administered rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2016; 30: 243-248.
23. Aksu DS, Sağlam YS, Yildirim S, Aksu T. Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice on kidney, liver, heart and testis histopathological changes,

and the tissues lipid peroxidation and antioxidant status in lead acetate-treated rats. *Cell Mol Biol* 2017; 63: 33-42.

24. Xu ZF, Jones MM. Comparative mobilization of lead by chelating agents. *Toxicology* 1988; 53: 277-288.
25. Llobet JM, Domingo JL, Paternain JL, Corbella J. Treatment of acute lead intoxication. A quantitative comparison of a number of chelating agents. *Arch Environ Contam Toxicol* 1990; 19: 185-189.
26. Aposhian MM, Maiorino RM, Xu Z, Aposhian HV. Sodium 2,3-dimercapto-1-propanesulfonate (DMPS) treatment does not redistribute lead or mercury to the brain of rat. *Toxicology* 1996; 109: 49-55.
27. Tandon SK, Singh S, Prasad S. Chelation in metal intoxication LI: efficacy of amphipathic dithiocarbamates in mobilization of lead in the rat. *Hum Exp Toxicol* 1997; 16: 557-562.
28. Lever SZ, Parsons TL. The presence of lead decreases the availability of meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid for analysis in the monobromobimane assay. *Chem Res Toxicol* 1999; 12: 1057-1065.
29. Saxena G, Pathak U, Flora SJ. Beneficial role of monoesters of meso-2,3-dimercaptosuccinic acid in the mobilization of lead and recovery of tissue oxidative injury in rats. *Toxicology* 2005; 214: 39-56.
30. Smith D, Strupp BJ. The scientific basis for chelation: animal studies and lead chelation. *J Med Toxicol* 2013; 9: 326-338.
31. Ohkubo M, Miyamoto A, Shiraishi M. Heavy metal chelator TPEN attenuates fura-2 fluorescence changes induced by cadmium, mercury and methylmercury. *J Vet Med Sci* 2016; 78: 761-767.
32. Ahamed M, Siddiqui MK. Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *Clin Chim Acta* 2007; 383: 57-64.
33. Verstraeten SV, Aimo L, Oteiza PI. Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity. *Arch Toxicol* 2008; 82: 789-802.
34. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011; 283: 65-87.

35. Wani AL, Ara A, Usmani JA. Lead toxicity: a review. *Interdiscip Toxicol* 2015; 8: 55-64.
36. Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, et al. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Arch Toxicol* 2016; 90: 1-37
37. Mitra P, Sharma S, Purohit P, Sharma P. Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017; 54: 506-528.
38. Silambarasan T, Raja B. Diosmin, a bioflavonoid reverses alterations in blood pressure, nitric oxide, lipid peroxides and antioxidant status in DOCA-salt induced hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2012; 679: 81-89.
39. Barreca D, Laganà G, Bruno G, et al. Diosmin binding to human serum albumin and its preventive action against degradation due to oxidative injuries. *Biochimie* 2013; 95: 2042-2049.
40. Hajimahmoodi M, Moghaddam G, Mousavi SM, et al. Total antioxidant activity, and hesperidin, diosmin, eriocitrin and quercetin contents of various lemon juices. *Trop J Pharm Res* 2014; 13: 951-956.
41. Naso L, Martínez VR, Lezama L, et al. Antioxidant, anticancer activities and mechanistic studies of the flavone glycoside diosmin and its oxidovanadium (IV) complex. Interactions with bovine serum albumin. *Bioorg Med Chem* 2016; 24: 4108-4119.
42. Rosin A. The long-term consequences of exposure to lead. *Isr Med Assoc J* 2009; 11: 689-994.
43. Rusyniak DE, Arroyo A, Acciani J, et al. Heavy metal poisoning: management of intoxication and antidotes. *EXS* 2010; 100: 365-396.
44. Gracia RC, Snodgrass WR. Lead toxicity and chelation therapy. *Am J Health Syst Pharm* 2007; 64: 45-53.
45. Kumar A, Scott Clark C. Lead loadings in household dust in Delhi, India. *Indoor Air* 2009; 19: 414-420.
46. Gottesfeld P, Pokhrel AK. Review: Lead exposure in battery manufacturing and recycling in developing countries and among children in nearby communities. *J Occup Environ Hyg* 2011; 8: 520-532.
47. Sakai T. Biomarkers of lead exposure. *Ind Health* 2000; 38: 127-142.

48. Sanborn MD, Abelsohn A, Campbell M, Weir E. Identifying and managing adverse environmental health effects: 3. Lead exposure CMAJ 2002; 166: 1287-1292.
49. Papanikolaou NC, Hatzidaki EG, Belivanis S, et al. Lead toxicity update. A brief review. Med Sci Monit 2005; 11: RA329-336.
50. Patrick L. Lead Toxicity, A Review of the literature. Part I: Exposure, evaluation, and treatment. Altern Med Rev 2006; 11: 2-22.
51. Furst A. Can nutrition affect chemical toxicity? Int J Toxicol 2002; 21: 419-424.
52. Ros C, Mwanri L. Lead exposure, interactions and toxicity: Food for thought. Asia Pac J Clin Nutr 2003; 12: 388-395.
53. Alissa EM, Ferns GA. Heavy metal poisoning and cardiovascular disease. J Toxicol 2011; 870125, doi: 10.1155/2011/870125.
54. Bergdahl IA, Skerfving S. Biomonitoring of lead exposure-alternatives to blood. J Toxicol Environ Health A 2008; 71: 1235-1243.
55. Gonick HC. Lead-binding proteins: a review. J Toxicol 2011; 686050, doi: 10.1155/2011/686050.
56. Matović V, Buha A, Đukić-Ćosić D, Bulat Z. Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys. Food Chem Toxicol 2015; 78: 130-140.
57. Lamas GA, Navas-Acien A, Mark DB, Lee KL. Heavy metals, cardiovascular disease, and the unexpected benefits of chelation therapy. J Am Coll Cardiol 2016; 67: 2411-2418.
58. Miller GD, Massaro TF, Granlund RW, Massaro EJ. Tissue distribution of lead in the neonatal rat exposed to multiple doses of lead acetate. J Toxicol Environ Health 1983; 11: 121-128.
59. Wang G, Fowler BA. Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. Toxicol Appl Pharmacol 2008; 233: 92-99.
60. Patrick L. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. Altern Med Rev 2006; 11: 114-127.

61. Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol* 2014; 7: 60-72.
62. Cory-Slechta DA, Garcia-Osuna M, Greenamyre JT. Lead-induced changes in NMDA receptor complex binding: correlations with learning accuracy and with sensitivity to learning impairments caused by MK-801 and NMDA administration. *Behav Brain Res* 1997; 85: 161-174.
63. Struzyńska L, Rafałowska U. The effect of lead on dopamine, GABA and histidine spontaneous and KCl-dependent releases from rat brain synaptosomes. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 1994; 54: 201-207.
64. Assi MA, Hezmee MN, Haron AW, Sabri MY, Rajion MA. The detrimental effects of lead on human and animal health. *Vet World* 2016; 9: 660-671.
65. Fioresi M, Furieri LB, Simões MR, et al. Acute exposure to lead increases myocardial contractility independent of hypertension development. *Braz J Med Biol Res* 2013; 46: 178-185.
66. Chandrasekaran VR, Hsu DZ, Liu MY. Beneficial effect of sesame oil on heavy metal toxicity. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2014; 38: 179-185.
67. O'Halloran K, Spickett JT. The interaction of lead exposure and pregnancy. *Asia Pac J Public Health* 1992; 6: 35-39.
68. Graeme KA, Pollack CV Jr. Heavy metal toxicity, Part II: Lead and metal fume fever. *J Emerg Med* 1998; 16: 171-177.
69. Rastogi SK. Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Indian J Occup Environ Med* 2008; 12: 103-106.
70. Gidlow DA. Lead toxicity. *Occup Med (Lond)* 2015; 65: 348-356.
71. Orr SE, Bridges CC. Chronic kidney disease and exposure to nephrotoxic metals. *Int J Mol Sci* 2017; 18, pii: E1039, doi: 10.3390/ijms18051039.
72. Santhosh Kumar R, Asha Devi S. Lead toxicity on male reproductive system and its mechanism: A review. *Research J Pharm and Tech* 2018; 11: 1228-1232.
73. Chang HR, Tsao DA, Yu HS, Ho CK. The change of beta-adrenergic system after cessation of lead exposure. *Toxicology* 2005; 207: 73-80.
74. Rajanna B, Rajanna S, Hall E, Yallapragada PR. In vitro metal inhibition of N-methyl-D-aspartate specific glutamate receptor binding in neonatal and adult rat brain. *Drug Chem Toxicol*. 1997; 20: 21-29.

75. Saleh HA, El-Aziz GA, El-Fark MM, El-Gohary M. Effect of maternal lead exposure on craniofacial ossification in rat fetuses and the role of antioxidant therapy. *Anat Histol Embryol* 2009; 38: 392-399.
76. Mishra KP, Chauhan UK, Naik S. Effect of lead exposure on serum immunoglobulins and reactive nitrogen and oxygen intermediate. *Hum Exp Toxicol* 2006; 25: 661-665.
77. Carocci A, Catalano A, Lauria G, Sinicropi MS, Genchi G. Lead toxicity, antioxidant defense and environment. *Rev Environ Contam Toxicol* 2016; 238: 45-67.
78. Li N, Liu X, Zhang P, et al. The effects of early life lead exposure on the expression of interleukin (IL) 1 β , IL-6, and glial fibrillary acidic protein in the hippocampus of mouse pups. *Hum Exp Toxicol* 2015; 34: 357-363.
79. Knight TE, Kumar MS. Lead toxicosis in cats-a review. *J Feline Med Surg* 2003; 5: 249-255.
80. Sharma B, Singh S, Siddiqi NJ. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. *Biomed Res Int* 2014; 640754, doi: 10.1155/2014/640754.
81. Flora SJ, Pachauri V. Chelation in metal intoxication. *Int J Environ Res Public Health* 2010; 7: 2745-2788.
82. Bjørklund G, Mutter J, Aaseth J. Metal chelators and neurotoxicity: Lead, mercury, and arsenic. *Arch Toxicol* 2017; 91: 3787-3797.
83. Kianoush S, Sadeghi M, Balali-Mood M. Recent advances in the clinical management of lead poisoning. *Acta Med Iran* 2015; 53: 327-236.
84. Bradberry S, Vale A. Dimercaptosuccinic acid (succimer; DMSA) in inorganic lead poisoning. *Clin Toxicol (Phila)* 2009; 47: 617-631.
85. Rana MN, Tangpong J, Rahman MM. Toxicodynamics of lead, cadmium, mercury and arsenic-induced kidney toxicity and treatment strategy: A mini review. *Toxicol Rep* 2018; 5: 704-713.
86. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl* 2012; 101: 133-164.
87. Croft KD. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 854: 435-442.

88. Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr Res* 2004; 24: 851-874.
89. Alkhalidy H, Wang Y, Liu D. Dietary flavonoids in the prevention of T2D: An overview. *Nutrients* 2018; 10, pii: E438, doi: 10.3390/nu10040438.
90. Suică-Bunghez IR, Fierăscu RC, Fierăscu I, Ion RM. Flavonoids, polifenols content and antioxidant activity of citrus fruits extracts. The XIXth International Conference, Inventica. June 24th-26th, 2015, IASI, Romania.
91. Srinivasan S, Pari L. Antihyperlipidemic effect of diosmin: A citrus flavonoid on lipid metabolism in experimental diabetic rats. *J Funct Foods* 2013; 5: 484-492.
92. Bogucka-Kocka A, Woźniak M, Feldo M, Kockic J, Szewczyk K. Diosmin-isolation techniques, determination in plant material and pharmaceutical formulations, and clinical use. *Nat Prod Commun* 2013; 8: 545-550.
93. Buddhan R, Manoharan S. Diosmin reduces cell viability of A431 skin cancer cells through apoptotic induction. *J Cancer Res Ther* 2017; 13: 471-476.
94. Mirshekar MA, Fanaei H, Keikhaei F, Javan FS. Diosmin improved cognitive deficit and amplified brain electrical activity in the rat model of traumatic brain injury. *Biomed Pharmacother* 2017; 93: 1220-1229.
95. Ahmed S, Mundhe N, Borgohain M, et al. Diosmin modulates the NF- κ B signal transduction pathways and downregulation of various oxidative stress markers in alloxan-induced diabetic nephropathy. *Inflammation* 2016; 39: 1783-1797.
96. Szeleszczuk Ł, Pisklak DM, Zielińska-Pisklak M, Wawer I. Spectroscopic and structural studies of the diosmin monohydrate and anhydrous diosmin. *Int J Pharm* 2017; 529: 193-199.
97. Giannini I, Amato A, Basso L, et al. Flavonoids mixture (diosmin, troxerutin, hesperidin) in the treatment of acute hemorrhoidal disease: a prospective, randomized, triple-blind, controlled trial. *Tech Coloproctol* 2015; 19: 339-345.
98. Ramelet AA. Clinical benefits of Daflon 500 mg in the most severe stages of chronic venous insufficiency. *Angiology* 2001; 52: 49-56.
99. Srinivasan S, Pari L. Ameliorative effect of diosmin, a citrus flavonoid against streptozotocin- nicotinamide generated oxidative stress induced diabetic rats. *Chem Biol Interact* 2012; 195: 43-51.

100. Russo R, Mancinelli A, Ciccone M, et al. Pharmacokinetic profile of μ SMIN Plus™, a new micronized diosmin formulation, after oral administration in rats. *Nat Prod Commun* 2015; 10: 1569-1572.
101. Patel K, Gadewar M, Tahilyani V, Patel DK. A review on pharmacological and analytical aspects of diosmetin: a concise report. *Chin J Integr Med* 2013; 19: 792-800.
102. Bertozzi MM, Rossaneis AC, Fattori V, et al. Diosmin reduces chronic constriction injury-induced neuropathic pain in mice. *Chem Biol Interact* 2017; 273: 180-189.
103. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid redox signal* 2006; 8: 1865-1879.
104. Rubino FM. Toxicity of glutathione-binding metals: A review of targets and mechanisms. *Toxics* 2015; 3: 20-62.
105. Parke DV. Nutritional antioxidants and disease prevention: Mechanism of action. In: *Antioxidant and Human Health*, Basu TK, Temple NJ, Garg ML (Eds), 1999; CAP International, pp: 1-13.
106. Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol* 2013; 1: 244-257.
107. Kang HG, Jeong SH, Cho MR, Cho JH, Bischoff K. Time-dependent changes in lead and delta-aminolevulinic acid after subchronic lead exposure in rats. *Hum Exp Toxicol* 2009; 28: 647-654.
108. Asadpour R, Azari M, Hejazi M, Tayefi H, Zaboli N. Protective effects of garlic aqueous extract (*Allium sativum*), vitamin E, and N-acetylcysteine on reproductive quality of male rats exposed to lead. *Vet Res Forum* 2013; 4: 251-257.
109. Samarghandian S, Borji A, Afshari R, Delkhosh MB, Gholami A. The effect of lead acetate on oxidative stress and antioxidant status in rat bronchoalveolar lavage fluid and lung tissue. *Toxicol Mech Methods* 2013; 23: 432-436.
110. Tanrikulu Y, Kismet K, Serin Kilicoglu S, et al. Diosmin ameliorates intestinal injury induced by hepatic ischemia reperfusion in rats. *Bratisl Lek Listy* 2011; 112: 545-51.

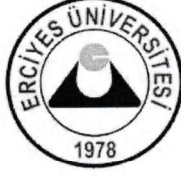
- 111.Eraslan G, Sarıca ZS, Bayram LÇ, et al. The effects of diosmin on aflatoxin-induced liver and kidney damage. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017; 24: 27931-27941.
- 112.Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 1975; 85:337-341.
- 113.Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135: 372-376.
- 114.Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. *J Lipid Res* 19: 1053-1057.
- 115.Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of hematology. In: Tietz NW (ed) *Fundamentals of clinical chemistry*, 3rd Edn. WB Saunders, Philadelphia, 1987; pp 803-806.
- 116.Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- 117.Miller GL. Protein determination for large numbers of samples. *Anal Chem* 1959; 31: 964-964.
- 118.Luck HS. Catalase. In: Bergmeyer HU (ed), *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, London, 1965; pp 885-894.
- 119.Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
- 120.Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169.
- 121.Tracey WR, Tse J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272: 1011-1015.
- 122.Beutler E. *Red Cell Metabolism: A Manual of biochemical methods*. London: Academic Press, 1971, pp. 68-70.
- 123.Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 927-945.

- 124.Hsu PC, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology* 2002; 180: 33-44.
- 125.García-Niño WR, Pedraza-Chaverrí J. Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage. *Food Chem Toxicol* 2014; 69: 182-201.
- 126.Firuzi O, Miri R, Tavakkoli M, Saso L. Antioxidant therapy: current status and future prospects. *Curr Med Chem* 2011; 18: 3871-3888.
- 127.Singh N, Kumar A, Gupta VK, Sharma B. Biochemical and molecular bases of lead-induced toxicity in mammalian systems and possible mitigations. *Chem Res Toxicol* 2018; 31: 1009-1021.
- 128.Sharmila Queenthy S, Stanely Mainzen Prince P, John B. Diosmin prevents isoproterenol-induced heart mitochondrial oxidative stress in rats. *Cardiovasc Toxicol* 2018; 18: 120-130.
- 129.Arab HH, Salama SA, Omar HA, Arafa el-SA, Maghrabi IA. Diosmin protects against ethanol-induced gastric injury in rats: novel anti-ulcer actions. *PloS One* 2015; 10: e0122417, doi: 10.1371/journal.pone.0122417.
- 130.Rehman MU, Tahir M, Quaiyoom Khan A, et al. Diosmin protects against trichloroethylene-induced renal injury in Wistar rats: plausible role of p53, Bax and caspases. *Br J Nutr* 2013; 110: 699-710.
- 131.Germoush MO. Diosmin protects against cyclophosphamide-induced liver injury through attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Int J Pharmacol* 2016; 12: 644-654.
- 132.El-Nekeety AA, El-Kady AA, Soliman MS, Hassan NS, Abdel-Wahhab MA. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) against lead acetate-induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2209-2215.
- 133.Toz H, Değer Y. The Effect of Chitosan on the erythrocyte antioxidant potential of lead toxicity-induced rats. *Biol Trace Elem Res* 2018; 184: 114-118.
- 134.Hasanein P, Kazemian-Mahtaj A, Khodadadi I. Bioactive peptide carnosin protects against lead acetate-induced hepatotoxicity by abrogation of oxidative stress in rats. *Pharm Biol* 2016; 54: 1458-1464.

135. Abdulmajeed WI, Sulieman HB, Zubayr MO, et al. Honey prevents neurobehavioural deficit and oxidative stress induced by lead acetate exposure in male Wistar rats- a preliminary study. *Metab Brain Dis* 2016; 31: 37-44.
136. Abdou HM, Hassan MA. Protective role of omega-3 polyunsaturated fatty acid against lead acetate-induced toxicity in liver and kidney of female rats. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 435857.
137. Dorostghoal M, Seyyednejad SM, Jabari A. Protective effects of *Fumaria parviflora* L. on lead-induced testicular toxicity in male rats. *Andrologia* 2014; 46: 437-446.
138. Mohammed GM, Sedky A, Elsayy H. A study of the modulating action of quercetin on biochemical and histological alterations induced by lead exposure in the liver and kidney of rats. *Chin J Physiol* 2017; 60: 183-190.
139. Abdel-Moneim AM, El-Toweissy MY, Ali AM, et al. Curcumin ameliorates lead (Pb(2+))-induced hemato-biochemical alterations and renal oxidative damage in a rat model. *Biol Trace Elem Res* 2015; 168: 206-220.
140. Abdel Moneim AE, Dkhil MA, Al-Quraishy S. The protective effect of flaxseed oil on lead acetate-induced renal toxicity in rats. *J Hazard Mater* 2011a; 194: 250-255.
141. Abdel-Moneim AE, Dkhil MA, Al-Quraishy S. The redox status in rats treated with flaxseed oil and lead-induced hepatotoxicity. *Biol Trace Elem Res* 2011b; 143: 457-67.
142. Ponce-Canchihuamán JC, Pérez-Méndez O, Hernández-Muñoz R, Torres-Durán PV, Juárez-Oropeza MA. Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 35. doi: 10.1186/1476-511X-9-35.
143. Shalan MG, Mostafa MS, Hassouna MM, El-Nabi SE, El-Refaie A. Amelioration of lead toxicity on rat liver with Vitamin C and silymarin supplements. *Toxicology* 2005; 206: 1-15.
144. Suradkar SG, Vihol PD, Patel JH, et al. Patho-morphological changes in tissues of Wistar rats by exposure of Lead acetate. *Veterinary World* 2010; 3: 82-84.
145. Khan MSH, Mostofa M, Jahan MS, Sayed MA, Hossain MA. Effect of garlic and vitamin B-complex in lead acetate induced toxicities in mice. *Bangl J Vet Med* 2008; 6: 203-210.

146. Newairy AS, Abdou HM. Protective role of flax lignans against lead acetate induced oxidative damage and hyperlipidemia in rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 813-318.
147. Pande M, Flora SJ. Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of alpha-lipoic acid and succimers in rats. *Toxicology* 2002; 177: 187-196.
148. Sandhir R, Gill KD. Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biol Trace Elem Res.* 1995; 48: 91-97.
149. Velaga MK, Basuri CK, Robinson Taylor KS, et al. Ameliorative effects of *Bacopa monniera* on lead-induced oxidative stress in different regions of rat brain. *Drug Chem Toxicol* 2014; 37: 357-364.
150. Mabrouk A. Protective effect of thymoquinone against lead-induced antioxidant defense system alteration in rat liver. *Acta Biol Hung* 2017; 68: 248-254.
151. Ozkaya A, Sahin Z, Kuzu M, et al. Role of geraniol against lead acetate-mediated hepatic damage and their interaction with liver carboxylesterase activity in rats. *Arch Physiol Biochem* 2018; 124: 80-87.
152. Agrawal S, Bhatnagar P, Flora SJ. Changes in tissue oxidative stress, brain biogenic amines and acetylcholinesterase following co-exposure to lead, arsenic and mercury in rats. *Food Chem Toxicol* 2015; 86: 208-216.
153. Yallapragada PR, Velaga MK. Effect of ginkgo biloba extract on lead-induced oxidative stress in different regions of rat brain. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2015; 34: 161-173.
154. Haleagrahara N, Jackie T, Chakravarthi S, Rao M, Kulur A. Protective effect of *Etlingera elatior* (torch ginger) extract on lead acetate--induced hepatotoxicity in rats. *J Toxicol Sci* 2010; 35: 663-771.
155. Bennet C, Bettaiya R, Rajanna S, Baker L, Yallapragada PR, et al. Region specific increase in the antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in the brain of rats exposed to lead. *Free Radic Res* 2007; 41: 267-273.
156. Gürer H, Özgünes H, Saygin E, Ercal N. Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Arch Environ Contam Toxicol* 2001; 41: 397-402.
157. Ibrahim NM, Hossam EA, El-Beltagi S, Abdel-Mobdy YE. Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012; 2: 41-46.

158. Alwaleedi SA. Hematobiochemical changes induced by lead intoxication in male and female albino mice. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol* 2016; 6: 46-51.
159. Elgawish RAR, Abdelrazek HMA. Effects of lead acetate on testicular function and caspase-3 expression with respect to the protective effect of cinnamon in albino rats. *Toxicol Rep* 2014; 1: 795-801.
160. Sidhu P, Nehru B. Lead Intoxication: Histological and oxidative damage in rat cerebrum and cerebellum. *J Trace Elem Exp Med* 2004; 17: 45-53.
161. Ekeh FN, Ikele, CB, Obiezue R. The Effect of lead acetate on the Testes of male albino rats. *Advances in Life Science and Technology* 2015; 38: 70-74.
162. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 2000; 63: 1035-1042.
163. Bubols GB, Vianna Dda R, Medina-Remon A, et al. The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini Rev Med Chem* 2013; 13: 318-334.
164. Fernandez MT, Mira ML, Florêncio MH, Jennings KR. Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study. *J Inorg Biochem* 2002; 92: 105-111.
165. Nkhili E, Loonis M, Mihai S, El Hajji H, Dangles O. Reactivity of food phenols with iron and copper ions: binding, dioxygen activation and oxidation mechanisms. *Food Funct* 2014; 5: 1186-1202.
166. Cypriani B, Limasset B, Carrié ML, et al. Antioxidant activity of micronized diosmin on oxygen species from stimulated human neutrophils. *Biochem Pharmacol* 1993; 45: 1531-1535.
167. Feldo M, Woźniak M, Wójciak-Kosior M, et al. Influence of diosmin treatment on the level of oxidative stress markers in patients with chronic venous insufficiency. *Oxid Med Cell Longev* 2018; 2018: 2561705, doi: 10.1155/2018/2561705.



T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYЕК)



Tarih: 10.12.2014

Toplantı Sayısı: 11

Karar No:14/157

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 10.12.2014 tarihinde

Prof. Dr. Harun ÜLGER'in başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Harun ÜLGER	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Abdullah İNCİ	Prof. Dr.	Veteriner Fak.	
Özlem CANÖZ	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Füsün Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fak.	
Gökçen Yuvalı ÇELİK	Prof. Dr.	Eczacılık Fak.	
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fak.	
Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	
Servet KESİM	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fak.	
Serpil SARIÖZKAN	Doç. Dr.	DEKAM	
Serap ALTUNTAŞ EROĞLU	Av.	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Katılmadı
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Der. Başk.	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	Katılmadı

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji Toksikoloji AD.'dan, Prof. Dr. Gökhan ERASLAN tarafından sunulan "Ratlarda Kurşun Maruziyetine Karşı Diosmin Etkisi" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 10.12.2014

Etik kurul Başkanı : Prof. Dr. Harun ÜLGER

İmza :

RATLARDA KURŞUN MARUZİYETİNE KARŞI DİOSMİNİN ETKİSİ

ORJİNALLIK RAPORU

%**2**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**2**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**2**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

TÜRKER, Hüseyin. "Effects of ultraviolet radiation on total plasma T3, total plasma T4 and TSH hormones in molarat (Spalax leucodon)", Tubitak, 2004.

Yayın

%**1**

2

fedorabg.bg.ac.rs
İnternet Kaynağı

<%**1**

3

Rouissi, K., B. Hamrita, S. Kouidi, Y. Messai, B. Jaouadi, K. Hamden, I. Medimegh, S. Ouerhani, M. Cherif, and A. B. Elgaaied. "In Vivo Prevention of Bladder Urotoxicity: Purified Hydroxytyrosol Ameliorates Urotoxic Effects of Cyclophosphamide and Buthionine Sulfoximine in Mice", International Journal of Toxicology, 2011.

Yayın

<%**1**

4

sagens.erciyes.edu.tr
İnternet Kaynağı

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı : Mehmet BOZDAĞ

Uyruğu : T.C.

Doğum Tarihi, Yeri : 1982, İncesu/KAYSERİ

Medeni Durumu : Bekar

Tel : -

Mail : mbozdagvet@hotmail.com

Yazışma Adresi : Tarım ve Orman İlçe Müdürlüğü Tomarza/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet
Lisans	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2006

YABANCI DİL

İngilizce