

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL CİVA ZEHİRLENMESİNDE  
PROPOLİSİN ERİTROSİT REOLOJİSİNDEKİ MUHTEMEL  
KORUYUCU ROLÜ**

**Hazırlayan  
Kadriye ERCİŞ**

**Danışman  
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Aralık 2013  
KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL CİVA ZEHİRLENMESİNDE  
PROPOLİSİN ERİTROSİT REOLOJİSİNDEKİ MUHTEMEL  
KORUYUCU ROLÜ**

**Hazırlayan  
Kadriye ERCİŞ**

**Danışman  
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi BAP Birimi tarafından TSY-11-3814  
no'lu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2013  
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.

**Adı-Soyadı: Kadriye ERCİŞ**

**İmza:** 

## YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

'Ratlarda deneysel civa zehirlenmesinde propolisin eritrosit reolojisindeki muhtemel koruyucu rolü' adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Kadriye ERCİŞ



Danışman

Prof. Dr. Sami AYDOĞAN



Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ

13.01.2014

**Prof.Dr.Sami AYDOĞAN** danışmanlığında **Kadriye ERCİŞ** tarafından hazırlanan “**Ratlarda deneysel civa zehirlenmesinde propolisin eritrosit reolojisindeki muhtemel koruyucu rolü**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans**tezi olarak kabul edilmiştir.

24.12/2013

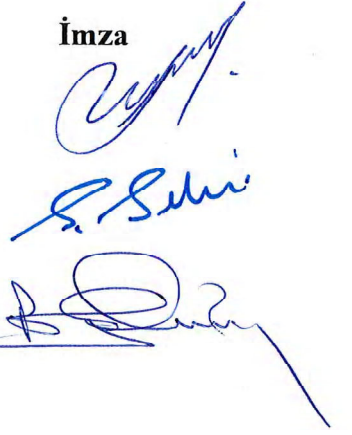
**JÜRİ**

Danışman : Prof. Dr. Sami AYDOĞAN (Fizyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Prof .Dr. Sibel SİLİCİ (T. Biyoteknoloji)

Üye : Prof. Dr. Bekir ÇOKSEVİM (Fizyoloji Anabilim Dalı)

İmza

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

**Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR****Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca engin bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, çalışmamın her aşamasında bana sabırla yol gösteren, bana her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve destekleyen tez yöneticim kıymetli hocam Prof. Dr. Sami AYDOĞAN'a ve propolis konusundaki destekleri, yardımları ve yol göstericiliği ile Prof. Dr. Sibel Silici'ye

Yüksek lisans eğitimim süresince anabilim dalı imkanlarını sunan, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran değerli hocalarım Prof. Dr. Asuman Gölgei, Prof. Dr. Nazan Dolu, Prof. Dr. Nurcan Dursun , Prof. Dr. Cem Süer, Prof. Dr. Meral Aşçıoğlu ve Prof. Dr. Bekir Çoksevım'e

Tezimin her aşamasında bana manevi destek olan aileme, sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

# RATLARDADENEYSSEL CİVA İNTOKSİKASYONUNDA ERİTROSİT REOLOJİSİ ÜZERİNE PROPOLİSİN MUHTEMEL KORUYUCU ETKİSİ

**Kadriye ERCİŞ**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Fizyoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2013**

**Danışman: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

## ÖZET

Civa, çevre kirletici olmasının yanında özellikle merkezi sinir sistemi ve karaciğer olmak üzere bütün sistemlerde etkili olan toksik özelliklere sahip bir ağır metaldir. Kan dolaşımında oksijen taşıyan eritrositlerin de civa toksisitesinden olumsuz etkilenmeleri olasıdır. Bu araştırma da, civa toksisitesine bağlı eritrosit reolojisindeki değişiklikler ile, faydalı biyolojik etkilere sahip olduğu bilinen propolisin civa toksisitesi üzerine koruyucu rolü araştırılmıştır.

Çalışmada ağırlıkları ortalama  $230 \pm 40$  gr olan 4-5 aylık erkek Wistar Albino ratlar kullanılmıştır. Her grupta 10 rat olmak üzere dört deney grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubuna %0.9 serum fizyolojik intraperitoneal (ip); civa klorür grubuna 4mg/kg HgCl<sub>2</sub> ip; propolis grubuna 200mg/kg propolis gavaj ; HgCl<sub>2</sub> +propolis grubuna 4mg/kg HgCl<sub>2</sub> ip+200mg/kg propolis gavaj üç gün boyunca uygulanmıştır. Koruyucu olarak propolis, HgCl<sub>2</sub> uygulamasından bir gün önce vermeye başlanmıştır ve HgCl<sub>2</sub> verildiği 3 gün süresince de propolis vermeye devam edilmiştir. Alınan kan örneklerinde; hematolojik parametreler [eritrosit sayısı, hematokrit değeri, hemoglobin miktarı, ortalama eritrosit volüm değeri (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin değeri (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC)] ile plazma potasyum düzeyleri, methemoglobin ve 2,3-DPG miktarları, eritrosit deformabilitesi ile % hemoliz değerleri ölçülmüştür.

Civa toksisitesi oluşturulan ratlarda kontrol grubu hayvanlara göre hematolojik parametrelerde hafif bir artış varsa da istatistiki olarak önemli değildir. Bununla birlikte lökosit sayısı önemli ölçüde artarken, trombosit sayısında anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Civa verilen grupta serum K<sup>+</sup>, MetHb, 2,3 DPG miktarları ile % Hemoliz değerleri ise istatistiki olarak önemli oranda artmıştır.

Reolojik parametrelerden eritrosit uzama indeksleri civa toksisitesi oluşturulan grupta hem düşük hem de yüksek shear stres'te azalmıştır. Sadece propolis verilen grubun verileri kontrol grubundan farklı bulunmamıştır. Civa toksisitesi oluşturulan ve aynı zamanda koruyucu olarak propolis verilen grupta ise; civa toksisitesi oluşturulan grupta görülen olumsuz değişikliklerin önemli oranda veya sınırlı düzeyde önlenmiş olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak propolis, civa zehirlenmelerinde kan ve dolaşım sisteminde, özellikle eritrositlerin mekanik ve reolojik özelliklerinde meydana gelen bozuklukların önlenmesinde koruyucu olarak kullanılabilir. Ancak araştırmaların civa toksisitesiyle karşı karşıya kalan insanlarda ve daha geniş populasyonlarda araştırılması önerilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** propolis, civa klorür, eritrosit reolojisi, intoksikasyon

**POTENTIAL PROTECTIVE EFFECT OF PROPOLIS IN ERYTHROCYTE RHEOLOGY IN  
EXPERIMENTAL MERCURY INTOXICATION OF RATS**

**Erciyes University, Institute of Health Sciences**

**Department of Physiology**

**Postgraduate Thesis, December 2013**

**Advisor: Prof. Dr. Sami AYDOĞAN**

**ABSTRACT**

Mercury is a toxic heavy metal that has effects in all systems, especially central nervous system and liver; besides an environment pollutant. Erythrocytes that carry oxygen in blood stream, have a strong probability to be effected by the mercury intoxication. In this study, we researched the possible effects of mercury toxicity in erythrocyte rheology and the protective role of propolis, which is known for its numerous efficacy.

We used 4-5 months old male Wistar Albino rats that weigh  $230\pm 40$  gr. There were four experimental group and each group contained 10 rats. We implemented %0.9 physiological saline solution intraperitoneally in control group (ip); 4 mg/kg  $\text{HgCl}_2$  in mercury chloride group ip; 200 mg/kg propolis gavage in propolis group; 4 mg/kg  $\text{HgCl}_2$  ip + 200 mg/kg propolis gavage in  $\text{HgCl}_2$ +propolis group for three days. Propolis had been implemented one day before  $\text{HgCl}_2$  as a protective and implied for three days as we kept using  $\text{HgCl}_2$ . In blood samples; we measured hematologic parameters [erythrocyte count, hematocrit value, hemoglobin value, mean corpuscular volume value (MCV), mean corpuscular haemoglobin value (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)], plasma potassium ( $\text{K}^+$ ) levels, methemoglobin and 2,3-difosfoliserat (2,3-DPG) values. We measured erythrocyte deformability via % hemolysis values.

We observed a trend for increase in hematologic parameters in mercury toxicity group comparing to control group, but it wasn't statistically significant. We measured a significant increase in leukocyte count, whereas thrombocyte count was decreased significantly. In mercury implemented group, serum  $\text{K}^+$ , MetHb, 2,3-DPG values and % hemolysis values were significantly increased.

One of the reologic parameters, erythrocyte elongation indexes were decreased both in low and high shear stress. Control group values were not different comparing to propolis implemented group only. In the group that received both mercury as a toxicant and propolis as a protective, adverse differences that were observed in mercury toxicity group were kept limited or in a considerable amount.

As a result, propolis can be used as a protective in prevention of changes in erythrocyte mechanic and rheological features in blood and circulation system for mercury toxicity. However more data is required in mercury intoxication of humans and in larger sampled populations.

**Key words:** propolis, mercury chloride, erythrocyte rheology, intoxication

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇ KAPAK .....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI .....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI .....	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. AĞIR METALLER.....	3
2.1.1.Civa ve civa bileşikleri.....	5
2.1.2. Civa zehirlenmesinde tanı ve tedavi.....	6
2.1.3.Civanın vücudtaki toksik etkileri.....	6
2.2 PROPOLİS.....	9
2.2.1. Fiziksel özellikleri.....	10
2.2.2. Biyolojik özellikleri.....	10
2.2.3. Kimyasal yapısı .....	11
2.3.PROPOLİSİN KULLANIMI.....	12
2.4. ERİTROSİTLER.....	14
2.4.1. Eritrositlerin Reolojik Özellikleri .....	15
2.4.2. Eritrositlerin Deformabilite Özelliği .....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. DENEY GRUPLARI.....	22
3.2. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	22
3.3. HEMATOLOJİK PARAMETRELERİN ÖLÇÜLMESİ.....	22
3.4. SERUM POTASYUM DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜLMESİ.....	23
3.5. METHEMOGLOBİN ÖLÇÜMÜ.....	23
3.6. ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ.....	23
3.7. OZMOTİK FRAJİLİTE ÖLÇÜLMESİ .....	24

3.8. 2,3-DİFOSFOGLİSERAT (2,3-DPG) ÖLÇÜMÜ.....	25
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
6. KAYNAKLAR.....	48
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

## TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
Tablo 4.1. Hematolojik parametre değerleri .....	28
Tablo 4.2. Eritrosit, hematokrit, hemoglobin, MCH, MCHC, MCV, lökosit ve trombosit post hoc değerlendirme sonuçları .....	29
Tablo 4.3. Methemoglobin, 2,3DPG, % hemoliz ve serum potasyum düzeyleri .....	34
Tablo 4.4. Methemoglobin, 2,3DPG, % hemoliz ve serum potasyum Post hoc değerlendirme sonuçları.....	35
Tablo 4.5. Farklı shear streslerde eritrosit uzama indeksleri .....	37
Tablo 4.6. Farklı shear streslerde eritrosit uzama indeksleripost hoc değerlendirme sonuçları.....	38
Şekil 3.1. Rheodyne SSD Sistemi .....	24
Şekil 3.2. Osmotik fragilite ölçümü için kullanılan spektrofotometre .....	25
Şekil 3.3. 2,3 DPG standart eğrisi .....	26
Şekil 4.1 Eritrosit sayıları .....	30
Şekil 4.2. Hematokrit değerleri .....	31
Şekil4.3. Hemoglobin miktarları .....	31
Şekil 4.4. Ortalama eritrosit hemoglobin değeri (MCH).....	32
Şekil 4.5. Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyon değeri (MCHC).....	32
Şekil 4.6. Ortalama eritrosit volüm değeri (MCV) .....	33
Şekil 4.7. Lökosit sayıları.....	33
Şekil 4.8. Trombosit sayıları.....	34
Şekil 4.9 Serum potasyum düzeyleri.....	35
Şekil 4.10. Methemoglobin miktarları... ..	36
Şekil 4.11. 2,3 Difosfogliserat düzeyleri.....	36
Şekil 4.12. % Hemoliz oranları .....	37
Şekil 4.13. Eritrosit uzama indeksi değerleri.....	38
Şekil 4.14. Grupların düşük shear stresteki (3.00 Pas) eritrosit uzama indeksleri.....	39
Şekil 4.15. Grupların yüksek shear stresteki (60.00 Pas) eritrosit uzama indeksleri .....	39

**KISALTMALAR**

EUI	: Eritrosit Uzama İndeksi
CAD	: Katalaz
Cd	:Kadmiyum
GP.	:Glutasyon peroksidaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
Hg	: Civa
HRP	: Horseradish Peroxidase
İP	: İntraperitoneal
KCl	: Potasyum Klorür
KCN	: PotasyumSiyanür
LPO	: Lipid Peroksidasyon
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Değeri
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyon Değeri
MCV	: Ortalama Eritrosit Volüm Değeri
MDA	: Malondialdehit
MetHb	: Methemoglobin
MS	: Multiple skleroz
Pb	: Kurşun
RBC	: Eritrosit Sayısı
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBARS	: Tiyobarbitürat Reaktif Maddeler
Zn	: Çinko
WBC	: Lökosit Sayısı
2,3-DPG	: 2,3-Difosfogliserat

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Ağır metallerin ekolojik sistemdeki yayılmaları doğal çevrimlerden ziyade insanın neden olduğu etkiler nedeniyle olmaktadır. Ayrıca kazalar sonucu da ağır metallerin çevreye yayılımını önemli miktarlara ulaşabilmektedir. Yıllık olarak doğal değişimler sonucu arsenik, civa ve kurşun gibi metaller atmosfere salınmaktadır. Ağır metallere civa, çevre kirlenici olarak oldukça toksik etkilere sahip bir maddedir. Civanın hem inorganik hem de organik formu merkezi sinir sistemi, böbrek ve karaciğerde toksik etkilere yol açmaktadır. Bu toksik etkileriyle birlikte civanın kan dolaşımı üzerine de olumsuz etkileri tespit edilmiştir (1-5). Ayrıca eritrositler dahil birçok hücrede hücre membranında yer alan çeşitli enzim aktivitelerini de azaltabilmektedir. Hücre membranındaki oksidatif hasar eritrositlerin yüzey şekillerinin bozulmasına ve eritrosit antioksidan enzim aktivitelerinin değişmesine, azalmasına neden olabilmektedir. Civa intoksikasyonunda, kan akımı, kan akışkanlığı, viskozitesi etkilenmektedir. Dolaşım dinamiği açısından, bu değişikliklerden, eritrosit reolojisindeki değişikliklerin sorumlu olması muhtemeldir. Ayrıca eritrositler kanda oksijen taşıyan hücreler olarak, toksik maddelerin etkilerine en fazla kalan hücrelerdir. Özellikle toksik maddelerin yol açacağı oksidatif strese oldukça açık hücrelerdir (6,7).

Propolisin, antioksidan, antibakteriyel etkileri ile faydalı birçok biyolojik aktivitesi bilimsel araştırmalar ile ispatlanmıştır (8,9,10). Propolisteki temel bileşen olan flavanoidler ve türevleri, serbest radikalleri temizlemede, en çok etkili olan bileşikler olma özelliğin

e sahiptir. Bazı flavanoidler, doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleriyle reaksiyona girip temizleyici rol oynayarak, lipid peroksidasyonunun başlangıç aşamasına etki

edebilmektedir. Flavanooidlerin, serbest radikalleri ortamdan temizlemeleri ve uzaklaştırabilmeleri gibi işlevlerinin yanı sıra, lipo oksijenaz ve siklo oksijenaz enzimlerini inhibe ederek antioksidan etki de göstermektedir (11). Serbest radikal olarak adlandırılan bu moleküller, hücrede normal metabolizma esnasında üretilirler. Membran lipitlerinin oksidasyonu; lipit peroksidasyonuna ve onların sebep olduğu hasara yol açarlar. Propolisin de lipit peroksidasyonu önlediği ve serbest radikal oluşumunu azalttığı ileri sürülmüştür (12,13).

Eritrositlerin reolojik özellikleri ,hem büyük damarlardaki hızlı akım koşullarında, hem de kapiller dolaşımında önem kazanır. Eritrositlerin kendi çaplarından (8mikron) çok daha küçük çapa sahip (3mikron) damarlardan geçebilmesi için üstün bir deformabilite yeteneğine sahip olmaları gerekir (14,15). Geniş anlamda eritrosit deformabilitesi, eritrositlerin mikrodamarlardan geçme yeteneğini düzenleyen hücresel özelliklerin bileşimidir. Hücre deformabilitelerinin azalması, eritrositlerin yaşam sürelerini de kısaltır (16,17). Eritrositlerin reolojik özelliklerindeki değişiklikler, eritrositlerin kan akımına uyum kapasitelerini azaltabilmektedir. Eritrositler kan dolaşımında sürekli oksidan strese maruz kalmaktadırlar. Çeşitli faktörler, fizyopatolojik şartlar ve çeşitli ilaçlar eritrosit membranlarında oksidatif hasara yol açabilmekte ve eritrosit reolojisinde değişikliklere neden olabilmektedir (18,19).

Araştırmada, civa intoksikasyonu ile eritrositlerin mekanik ve reolojik özelliklerinde oluşabilecek muhtemel olumsuz değişiklikler üzerine, antioksidan özelliğe sahip propolisin koruyucu rolünü araştırmak amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.AĞIR METALLER

Ağır metal, fiziksel özellik açısından yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$ 'den daha büyük olan metaller için kullanılır. Bu grupta yer alan kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko başta olmak üzere altmıştan fazla metal doğaları gereği, yerkürede genellikle karbonat, oksit,ve sülfür halinde kararlı bileşik olarak bulunurlar.

Ağır metallerin ekolojik sistemdeki yayılmaları doğal çevrimlerden çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle olmaktadır. Ayrıca kazalar sonucu da ağır metallerin çevreye yayılımı önemli miktarlara ulaşabilmektedir. doğal değişimler sonucu kadmiyum, arsenik, cıva ve kurşun gibi metaller atmosfere salınmaktadır. İnsan aktivitelerinin katkısıyla bu miktarlar artmaktadır (1).

Ağır metallerin su kaynaklarına ulaşması endüstriyel atıkların veya asit yağmurlarının toprağı ve dolayısı ile bileşimde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına taşınmasıyla olur. Sulara taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, Asülfat ve sülfür bileşikleri halinde su tabanına çökerler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan suların ağır metal derişimi sürekli olarak yükselir, başka bir deyişle bu katmanlar metalce zenginleşir (2).

Ağır metallerin çevreye yayılımında etken olan en önemli endüstriyel etkinlikler; çimento üretimi, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir. Temel endüstrilerden atılan metal türleri her endüstride farklı türde ve miktarda olmaktadır (3).

Havaya salınan ağır metaller hayvanlar ve insanlar tarafından solunum yoluyla alındığı gibi, karaya ulaşan kesimi de bitkiler ve besin zinciri yoluyla alınır. Ağır metaller, endüstriyel atık suların içme sularına karışması yoluyla veya ağır metallerle kirlenmiş partiküllerin tozlaşması yoluyla da hayvanlar ve insanlar üzerinde etkili olurlar (3).

Biyolojik etkinliklere katılma derecelerine göre ağır metaller, yaşamsal olan ve yaşamsal olmayan metaller olarak sınıflandırılırlar. Yaşamsal olarak tanımlananların; organizma yapısında belirli bir konsantrasyonda bulunması gerekir. Ayrıca bu metaller biyolojik tepkimelere katıldıklarından dolayı düzenli olarak besinler yoluyla alınmalıdır. Örneğin bakır hayvanlarda ve insanlarda kırmızı kan hücrelerinin ve bir çok yükseltgenme ve indirgenme tepkimesinin vazgeçilmez parçasıdır. Buna karşın, yaşamsal olmayan ağır metaller çok düşük konsantrasyonda dahi etkili olarak sağlık problemlerine yol açabilmektedirler . Bu gruba en iyi örnek kükürtlü enzimlere bağlanan civadır (4).

Bazı sistemlerde ağır metallerin etki mekanizması konsantrasyonuna bağlı olarak değişir. Bu tür organizmalarda metallerin konsantrasyonu dikkate alınmalıdır. Ağır metaller konsantrasyon sınırını aştıkları zaman toksik olarak etki gösterirler. Bu nedenle özellikle düzenli olarak tüketildiğinden dolayı içme sularının ve yiyeceklerin içerebileceği maksimum konsantrasyon sınır değerleri saptanmıştır ve yasal kuruluşlar tarafından düzenli olarak kontrol edilmektedir. Ağır metaller canlı bünyelerde yalnızca konsantrasyona bağlı olarak etki göstermezler, etkileri ayrıca canlı türüne ve metal iyonunun yapısına da bağlıdır (1).

Ağır metallerin hücre ve hücre organelleri üzerinde etkisi hücreden, hücreye ve ağır metalden ağır metale farklılık gösterir. Ağır metallerin benzer olan metabolizma içinde fonksiyonu olan eser elementlerin yerine geçerek hücrede eser elementlerce yapılan işlemlerin durduğu bulunmuştur. Örneğin kadmiyum (Cd) benzer elektron dizilimine benzeyen çinko (Zn) yerine geçerek hücre içinde koenzim, kofaktör görevlerini sekteye uğratabilir. Birçok ağır metal hücre içi dengenin kurulmasında hayati önemi olan Na, K, Ca gibi elementler ile hücre zarında fizyolojik rekabete girer, bunun sonunda bu iyonlara bağlı olan fizyolojik bir olay bloke olur (5).

Ağır metallerin başka bir etkisi de serbest radikal ile hücre zarı geçirgenliğini bozmalarıdır. Özellikle Hg, Pb gibi toksitesi yüksek olan ağır metaller bu yolla etkilerini

gösterirler. Arsenik, krom gibi diğer bazı ağır metallerin mitokondri üzerine etkileri vardır (5).

### **2.1.1.Civa ve Civa Bileşikleri**

Civa; hava su ve toprakta bulunabilen bir elementtir ve bu ortamlarda bir kaç şekilde bulunur. Elementeryal da metalik civa, inorganik civa veya civa tuzları ve organik civadır (20).

Elementer civanın en tehlikeli olanı inhalasyon yoluyla alınan civadır. Alveollerden absorbe olur, biyotransformasyona uğrayarak merkürük civa haline dönüşür. Böylece alınan civanın % 80'i kan dolaşımına girerek eritrositlerde okside olur ve özellikle böbreklerde birikir. Civanın okside olmayan bölümü ise kan beyin bariyerini aşarak beyinde birikir. Beyinde yüksek oranda bulunan lipit nedeniyle civa elimine edilemez. Civa böylece motor sinirlerinin koordinasyonunu da engellemiş olur (21).

İnorganik civa doğada iki çeşit tuz şeklinde bulunur. Bunlar merkürük ve merküroz civa şeklindedir. Bu tuzlardan en toksik olanı merkürük civadır. Sebebi ise suda daha çok çözünmesidir. Bu tuzların en çok bilineni merkürük klorür son derece koroziv olup, ölümcül gastrointestinal erozyonuna neden olabilir. İnorganik civa bileşikleri epitelyum hücreleri, kan hücreleri ve plazma proteinleri ile birleşerek organlarda, salgı bezlerinde ve merkezi sinir sisteminde birikebilirler (22).

Organik civa birleşikleri gastrointestinal yoldan hızla absorbe edilir ve vücutta hızla yayılır. Özellikle serebral korteks, beyin periferik duyu sinirlerinin membranlarında ve böbrekte birikime uğrar. Dolayısıyla duyu ve motorik yetersizliğe neden olur. Eskiden dezenfektan maddelerinde organik civa bileşikleri kullanılırken; günümüzde daha az toksik maddelerin kullanıma girmesinden dolayı kullanılmamaktadır (23).

Civa, doğada sülfür olarak birçok mineralin içinde bulunan ve biyosferde primer olarak okyanus ve yüksektepelerde buharlaşarak doğal olarak sirküle olan bir elementtir. Yılda yüksek doz civa doğal olarak emülsiyona uğrar (23).

Az miktarda civa ise madenlerden elde edilir. Genel olarak tüm dünyada civa doğaya insan aktiviteleri sonucu bırakılırlar. Genel popülasyonun günlük olarak havadan 1 µg Hg/gün, sudan 2 µgHg/gün ve yiyeceklerden yaklaşık 20 µgHg/gün kadar civayı doğadan aldığı bildirilmiştir. Genel olarak araçlardan bırakılan gaz atıkları ve diğer endüstriyel kirlenmelerle karşılaştırıldığında civa ile kirlenmiş katı atıkların bir

merkezde toplanması buharlaşma ile kirlenmeyi engellemeye yönelik bir adım olabilir (22).

Su kanallarına giren elementer civa, bakteri ve mantarları içeren sediment mikroorganizmalar tarafından metil cıvaya dönüştürülür. Metil civa alımı iki mekanizmayla gerçekleşmektedir. Ya direk olarak sudan alınabilir veya besin zincirleri ile alınabilir. Civanın direk olarak sudan alınmasının sebebi sülfür ve sülfahidril gruplarına olan yüksek affinitesi nedeniyledir. Metil civa plankton, algler ve küçük balıklar tarafından, onlar da büyük balıklar tarafından, onlar da yırtıcı kuşlar tarafından tüketilirler. Bu şekilde civa besin zincirlerinde birikmiş olur (20,21).

### **2.1.2.Civa zehirlenmesinde tanı ve tedavi**

Oligüri, albuminüri ve oral mukozadaki şiddetli iltihap en çok civa ve fenolle zehirlenmelerde görülür. Eğer nefeste ve idrarda fenol kokusu yoksa idrar ve dışkıda civa aranır. Ölüm halinde karaciğer, böbrek, dalak, bağırsaklarda civa araştırılır. Akut zehirlenmelerde başlangıçta mide ve kusmakta da civa bulunur (22). Kronik civa zehirlenmesinde ise, klasik civa zehirlenmesi belirtileri ile birlikte hastanın geçmiş hikayesinde cıvaya maruz kalma durumu araştırılır. Biyolojik materyalde (kan, idrar ve saçta) civa tayini destekleyicidir (22).

Civa zehirlenmesinin tedavisinde, temel yaşam desteği sağlanmalıdır. Oral alımlarda, elementel civanın absorpsiyonu çok yavaştır ve gastrointestinal kanalda fistül yoksa ve uzun süre kalmadıkça akut toksisite göstermez. Ancak radyografik olarak izlenmesi gerekebilir. Solunum yoluyla maruziyetlerde destekleyici tedavi yanında şelasyon tedavisi yapılır. Dimerkaptosüksinik asit (penisillamin) kullanılabilir (23).

Hasta ciddi semptomlar gösteriyor ve oral şelatör alamıyor ise dimerkaprol (BAL) tercih edilir. Dimerkaprol metil civa alan hastalarda kontrendikedir. Diğer şelatörler kullanılmalıdır.

Özellikle akut renal hasarla seyreden çok ciddi vakalarda şelasyon ajanlarının infüzyonu ile birlikte hemodiyaliz uygulanmaktadır (23,24).

### **2.1.3. Civanın Vücuttaki Toksik Etkileri**

Civanın, suda eriyen tuzlarının ve metalik civanın absorbe edildiğinde, toksik olduğu bilinmektedir. Bir endüstri zehirlenmesi olarak civa zehirlenmesi ilk olarak

Hindistan'da M.Ö. 500 yılında görülmüştür. Civadan ileri gelen ağız mukozasının iltihabı ise ilk defa M.Ö. birinci yüzyılda tarif edilmiştir (22).

Civa zehirlenmesi eski tarihlerden beri bilinen bir meslek hastalığıdır. Civa, kuyumcular tarafından da kullanılan eski bir metaldir. Daha sonraları, civa nitrat, hayvan kıllarından şapka yapımında kullanılmaya başlanmıştır. XVII. yüzyılda kılların yumuşatılarak kıvrılmasını sağlamak için kullanılan bu teknik önce Fransa'da başlamış sonra diğer ülkelere dağılmıştır. XX. yüzyıl başlarında ABD'de "Public Health Service" tarafından hayvan kıllarını kesenlerde ve şapka yapan işçilerde civa zehirlenmesi görüldüğü bildirilmiştir. Zehirlenmeye, işyeri havasındaki civa buharının ve civa taşıyan tozların inhalasyonunun neden olduğu gösterilmiştir. Zamanımızda civa ve bileşikleri, endüstride mesleki zehirlenmelere neden olmaktadır. Ancak civa ile zehirlenmelere daha çok, endüstri civa atıkları ile, tarımda civalı fungusitlerin kullanılması sonucu rastlanmaktadır. Yakın zamana kadar, endüstride kullanılma sonucu atık olarak sulara karışan civa metalinin su dibinde kalıp zararlı bir etkisi olmayacağı düşünülüyordu. Ancak 1953-1960 yılları arasında Japonya'da Minamata körfezinde civa ile kontamine balık ve istridyeleri yiyen halkta görülen epidemik zehirlenme olayı, bu görüşün yanlış olduğunu ortaya çıkarmıştır. "Minamata hastalığı" olarak da isimlendirilen ve nörolojik bozukluklar saptanan bu olayda bir çok kişi ölmüştür. Minamata körfezi kıyısında bir fabrikadan körfeze atılan civanın, sedimentlerde mikroorganizmalar tarafından metil civaya dönüştüğü, lipofil özellikte ve çok toksik olan bu bileşiğin biyobirikim ve besin zinciri yolu ile insanlara ulaştığı anlaşılmıştır (23,25).

Alkil civa bileşiklerinden metil civa, endüstri atıkları ile su ve denizlere karışan metalik civa, inorganik civa bileşikleri ( $Hg^{+2}$ )'nin veya fenil civanın biyolojik aktivite sonucu oluşabilmektedir. Organik civa bileşiklerinden civa fulminat [ $Hg(ONC)_2$ ] ise patlayıcı madde yapılan fabrikalarda (tüfek kapsülü, fişek) kullanılır. Deri ile temasta irritasyon, deride kızartı ve kaşıntı ortaya çıkar (26).

Akut civa zehirlenmesi birkaç saat içinde kusma, bulantı, kanlı diyare ve kramp biçiminde karın ağrıları ile başlar. Dokular tarafından absorbe edilen civa böbreklerde birikir, idrar atılımı azalır, sonra tamamen kesilir. Akut civa intoksikasyonu üremiye neden olup, ölümle sonuçlanabilir (27).

Kronik civa zehirlenmelerinin semptomları 1-30 yıl sonra ortaya çıkabilmektedir. Civa iyonları hücre içinde enzim inhibitörleri ve proteinlerini değiştirirler ve hücrelerin

metabolizmasını ve fonksiyonunu etkilediği gibi membran fonksiyonunu ve transportunu da etkilerler. Beyindeki sinirsel ileti ve salgılamada etkilenir. Kronik civa intoksikasyonu nörolojik belirtilere, güçsüzlüğe, yorgunluk, uykusuzluğa, kilo kaybına, iştahsızlığa, gastrointestinal düzensizliklere, kaslarda titreme ve kronik spazmlara neden olur. Civa zehirlenmesinin ağız içi belirtileri: gingivitis, aşırı tükürük salgısı, metalik tat ve dişlerde mobilite artışıdır (28).

### **Sinir Sistemi Üzerine Etkileri**

Civa, vücutta beyin dokusunda birikim göstererek çeşitli belirtilere neden olabilmektedir. Bu nedenle özellikle nörolojik sistemi etkileyen hastalıkların beyindeki civa seviyesi ile artabileceği iddia edilmektedir. Bu hastalıklardan en önemlileri Multiple skleroz (MS) ve Alzheimer hastalığıdır (29). 1999 yılında Alzheimer hastalığı olan 68 kişi ve 33 kişilik kontrol grubu üzerinde yapılan bir çalışmada beyin civa seviyelerinin yüksek olduğu bulunmuştur (30).

MS sinir dokusunda myelin kılıflarının hasarı sonucunda duyuşal ve motor sinir transmisyonunu etkileyen nörolojik bir hastalıktır(30).

### **Diğer vücut sistemleri üzerine etkisi**

Civa bileşiklerinin solunma, oral yollarla ve deri teması ile vücuda alınması durumunda insanlar üzerinde meydana gelen tahribatlar tespit edilmiştir. Metalik ve organik civa bileşiklerinin buharının 1-1.5 mg/kg miktarında 3-4 ay solunması durumunda etkinin ani kalp durması, kalp krizi ve kan basıncının ani yükselmesine bağılı ölümlerle sonuçlandığı tespit edilmiştir. Kaza sonucu ortama yayılan 30-40 mg/m<sup>3</sup> gibi yüksek konsantrasyonların yarım günlük çalışma süresinde solunması durumunda göğüs ağrısı, nefes almada güçlük, solunum yollarında kasılma gibi etkiler ortaya çıkar. Civa buharının solunması insanların kas yapılarında, sindirim sisteminde, böbreklerde, deride ağrıların ve hastalıkların ortaya çıkmasını tetikler (31).

Oral yolla civa alınması durumunda (civa, civaklorür ve metilciva) 10- 60 mg/kg oranlar insanlar için ölümcül olmaktadır. Civa kontaminasyonu yüksek yiyeceklerin aşırı tüketimi durumunda tansiyon problemleri, kalp krizi ve taşikardi gibi kalp ile ilgili rahatsızlıklara rastlanmaktadır. Civa içeren ilaçların yada insanlar üzerinde olumlu etkisi olduğu düşünölen civa içeren kimyasalların deriye sürekli sürölmesi durumunda

birkaç ay içerisinde ölümle sonuçlanacak etkiler ortaya çıkabilir. deriden civa alınması durumunda ağır deri ve cilt hastalıkları meydana gelmektedir (31,32).

Yapılan bazı hayvan çalışmaları ve in vitro çalışmalar sonucunda civanın renal disfonksiyonlara yol açtığı iddia edilmiştir. Yüksek oranda civa buharına sürekli maruz kalan kişilerin(>100 µg mg) santral sinir sisteminde toksik etkiler görülmektedir. Aynı zamanda bu seviyenin üstündeki oranlarda, tübuler ve glomerüler böbrek hasarları da rapor edilmiştir. Glikozüri, aminoasitüri, ve poliüriye neden olabilir. Maruz kalınan civa miktarı arttığında nekroz, anüri, kanda üre yükselmesi ve ölüm görülebilir (33).

## **2.2.PROPOLİS**

Propolis, yunanca kökenli bir kelimedir. Eski Yunan'da pro (savunmada olmak ya da korumak) ve polis (şehir) anlamına gelmektedir. Buna göre propolisin tam anlamı 'şehrin (kovanın) korunması'dır (34). Propolis çok eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Son yıllarda, antibakteriyel, antifungal, antiviral özellikleri yanında anienflamatuvar, antiülseratif, lokal anestezi, antitümör gibi çok sayıda yararlı biyolojik aktivite özelliği göstermesi, tıp ve sağlıklı besin üretimi alanında kullanımı yaygınlaşmıştır (34).

Propolis, bal arıları tarafından bitkilerin tomurcuk ve salgılarından toplanan ve balmumu karıştırılarak, birçok amaca yönelik olarak kullanılan doğal, reçinemsiz bir üründür (34,35).

Propolis, işçi arıların arka bacaklarındaki polen sepetlerinde özellikle bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından topladıkları bitki salgılarını ve reçinemsiz maddelere, bir miktar bal mumu karıştırılmasıyla oluşturulur. Propolis, kaynağına göre, kirli sarıdan koyu kahverengiye kadar değişen renkte ve oda sıcaklığında yarı katı halde olan yapışkan organik bir maddedir (36).

Arılar propolisi; kovan içerisindeki besinleri, yavru arıları ve kendilerini çeşitli mikroplardan (virüsler, bakteriler, funguslar vb.) korumak için kovan onarımı ve dezenfeksiyonunda kullanırlar (34,35). Bunun, yanında propolis, kovanların çatlamış ve hasarlanmış kısımlarının tamirinde kovanın dış ortamdan izole edilmesinde, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovanın içine giren zararlı maddelerin ve böceklerin mumyalanarak etkisiz hale getirilmesi işlemlerinde de kullanılmaktadır (35,36).

### 2.2.1. Fiziksel özellikleri

Propolis keskin ve güzel kokulu, acımsı tatta bal mumu ve bitki öz suyundan oluşan bir maddedir.

Propolis, işçi bal arılarınca bitkilerin filiz ve tomurcuklarından toplanan; bitki reçineleri, bitki salgıları ve arıların tükürükten salgıladıkları enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratılmaktadır. Balmumu ile karıştırdıkları propolisin bazı bitkilere özgü proteinleri de yapısında bulundurması, propolisin mumsu kısmının bitkisel mum yapısında olduğunu göstermektedir. Propolis 15-25°C arasında mum kıvamında elastik bir yapı göstermekte, soğukta katı kırılğan bir şekle dönüşmektedir. Yüksek sıcaklıklarda (30-40°C) yumuşayıp yapışkan bir durum almakta, 80°C da kısmen erimektedir (37,38).

Propolisin rengi bitki kaynağına bağlı olarak sarı, yeşil ve koyu kahverengine kadar değişim gösterir. Propolis, eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik alkolde büyük ölçüde erimekte, suda çok az veya hiç çözünmez. Propolis, tıbbi alanda %70'lik alkolde erimiş çözelti olarak kullanılmaktadır (39,40).

### 2.2.2. Biyolojik özellikleri

Propolis çok eski zamanlardan beri halk arasında kullanılmakla birlikte son yıllarda antibakteriyel, antifungal, antitümoral ve diğer faydalı biyolojik etkileri üzerine çok sayıda araştırmalar yapılmıştır (41). Çeşitli çalışmalarda propolisin su, metanol, etanol, eter ve yağ ekstratları hazırlanmıştır. Farklı orjine sahip propolis örneklerinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Brezilya propolisinin antibakteriyel, sitostatik, serbest radikal koruyucu aktivitesi belirlenirken, Bulgar propolisin bakterisidal, anti fungal, antiparaziter özelliği belirlenmiştir. Günümüze kadar, Türk propolisinin antibakteriyel, anti fungal, antioksidan, antikarsinojenik, yara iyileştirici gibi bazı biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (42).

Flavanoidlerin çok sayıda bakteriye karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Flavanoidlerce zengin ürünlerin antibakteriyel aktiviteleri gram pozitif bakterilere karşı gram negatiflere göre daha etkilidir. Aglikon flavanoidlerin bakteriyel bölünmesiyle isoquersitrinden 3,4 dihidroksifenil asetik asit veya naringenininden fenilasetik asit gibi fenolik asitler üretilir. Fenolik bileşikler bakteri metabolizmasında önemli bir etkiye sahiptir. Fenilpropanoik asit ve fenil asetik asit selüloz yıkımını artırır (43).

Propolisin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (43,44)

*Streptococcus pyogens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı ise sınırlı ya da antimikrobiyel etkisi görülmemiştir (44).

Propolis'in etanol ekstraktının karaciğer ve mesanedeki kanserli hücreleri dönüşüme uğrattığı ve gelişmelerini önlediği bulunmuştur. Bu hücre öldürücü etkiyi sağlayan maddeler, propolis'ten izole edilen kuersetin, kafeik asit ve klerodan diterpenoiddir. Klerodan diterpenoid, tümör hücrelerine karşı seçici bir öldürücü etki gösterir (45). Propolisin, ayrıca, yumurtalık kanseri hücrelerini ve hücre bölünmesini durdurucu etkileri olduğu bulunmuştur. Ayrıca, göğüs, cilt, kolon ve böbrek kanseri hücreleri gibi insan tümör hücre kültürleri üzerinde öldürücü etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu etkileri oluşturan bileşenin kafeik asit fenetil ester olduğu belirlenmiştir. Propolis'ten izole edilen Artepillin C, insan mide kanseri hücreleri, insan gırtlak kanseri hücreleri kolon kanseri hücreleri üzerinde hücre öldürücü etki göstermiştir. Kafeik asit esterlerinin tümör oluşumunu kimyasal olarak engellediği görülmüştür. Bu etki, kanserli hücrelerin gelişimini sağlayan genler üzerindeki seçici toksik etki ile gerçekleşmektedir (45).

### **2.2.3. Kimyasal yapısı**

Propolisin kimyasal yapısı ile ilgili ilk çalışmalar 1970'li yıllarda, kavak ağacı tomurcuk salgılarının karıştırılması üzerine yapılmıştır. Bunun ardından pek çok çalışma yapılmış ve sıcak bölgelerde kavak türleri salgılarının propolisin kimyasal olarak asıl kaynağı olduğu kabul edilmiştir (8).

Propolisler, coğrafik ve bitkisel kökeni, arı türü, arı ırkı ve ekolojik koşullardan dolayı değişik ve kompleks bir kimyasal kompozisyon gösteren, doğal toksik olmayan bir üründür. İşlenmemiş propolisin yapısında bulunan genel maddeler ve oranları şöyledir: % 45-55 reçine, 23-25 mumlar ve yağ asitleri, %10 esansiyel yağlar, %5 polen ve 55 diğer organik madde ve minarelerdir. Bu maddelerin oranları; maddelerin çeşidine, kaynağına, toplanma yeri ve zamanına bağlıdır (9,10).

Dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde 160'dan fazla bileşik tanımlanmıştır. Propolis; polifenoidler (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehitler, alkoller ve ketonlar, kumarinler, steroidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir. Propolisin kimyasal bileşimi çok komplekstir, toplandığı bölgeye ve sezona bağlıdır (11).

### **2.3.Propolisin kullanımı**

Modern tıpta sentetik ilaçların yaygın olarak kullanımı bilinen doğal ilaçların önemini azaltmıştır. Ancak son 20 yıl içerisinde, sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve bu hastalık etmenlerinin bu ilaçlara dirençli hale gelmeleri sonucu insanları tekrar doğal ilaçların kullanımına yöneltmiştir. Doğal ilaçların başında gelen propolisin kimyasal yapısı, farmokolojik özellikleri ile etkili ve hızlı bir şekilde fayda sağlaması çeşitli şekillerde kullanımı yaygınlaştırılmış olup propolis ürünlerini kapsül, tablet, granül, pastil ve çiklet şeklinde bulmak olasıdır (12,13).

İslenmemiş ham propolis doğal olarak ağızda yumuşatılarak çiğnenebilir veya doğrudan yutulmuş olarak kullanılabilir. İnsanların günde 10 g kadar propolisi alabileceği belirtilmektedir. Bu şekilde alınan ham propolis, sindirim sisteminde yavaş çözülerek kana geçmekte, halsizlik durumlarında, ağız ve boğaz rahatsızlıklarında, sindirim sistemi mukozasının düzenlenmesinde ve diş ağrılarında kullanılmaktadır (46).

### **Propolisin antioksidan özellikleri**

Propolisteki temel bileşen olan flavanoidler ve türevlerinin, serbest radikalleri temizlemede, en çok etkili olan bileşikler olma özelliğine sahiptir. Bazı flavanoidler, doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleriyle reaksiyona girip temizleyici rol oynayarak, lipit peroksidasyonunun başlangıç aşamasına etki edebilirler. Flavanoidlerin, serbest radikalleri ortamdaki temizlemeleri ve uzaklaştırabilmeleri gibi işlevlerinin yanı sıra, lipo oksijenaz ve siklo oksijenaz enzimlerini inhibe ederek antioksidan etki gösterebilmektedir (47).

Serbest radikal olarak adlandırılan oksidan moleküller, hücrede normal metabolizma esnasında üretilirler. Membran lipitlerinin oksidasyonu; lipit peroksidasyonuna ve onların sebep olduğu hasara yol açarlar. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) glutatyon peroksidaz (GP) gibi enzimler savunma mekanizması sırasında üretilen enzimlerdir. Savunmada endojen antioksidan enzimlerin koruyucu etkilerine ek olarak,

besinlerle alınan (ekzojen) antioksidanların tüketimi de büyük önem taşımaktadır. Besinsel temel antioksidanlar; E vitamini, C vitamini, karotenoidler, flavanoidler ve diğer polifenoidlerden oluşmaktadır. Özellikle savunma mekanizmasında hücrel antioksidan enzimlerin (SOD ve GP gibi) önemi büyüktür ve bu enzimlerin yetersiz olması veya enzim aktivitelerinde meydana gelen azalmalar, hücre bileşenlerinde onarılamayacak hasara yol açabilirler. Ancak besinlere antioksidan katkıları yapıldığında, hücrel savunma sistemi güçlendirilerek, hasar en aza indirgenebilmektedir. Propolis ve diğer antioksidan maddelerle yapılan çalışmalarda, propolisin lipit peroksidasyonunun engellediği ve serbest radikal oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir (48,49).

Bu araştırmada kullanılan propolis (kavak tipi propolis) birçok özelliği ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Koç (48) propolisin antifungal aktivitesini tespit etmiştir, Ozkul (49) propolisin antikarsinogenik etkisini belirlerken Kanbur ve ark. (50) propolisin antioksidan özelliğini rapor etmişlerdir.

#### **Propolisin Kalp-Damar Sistemi ile Bağışıklık Sistemine Etkileri:**

Yoğunlaştırılmış propolis ekstraktının, kan basıncını düşürdüğü, sakinleştirici etki yarattığı ve serum glikoz oluşumunu sağladığı bulunmuştur (51). Propolisde bulunan dihidroflavanoidlerin kılcalları kuvvetlendirdiği ve antihiperlipidemik aktivite oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca, propolisin, karaciğeri alkole ve tetraklorüre karşı koruduğu tespit edilmiştir (52).

Yapılan deneylerde propolisin immün tepkiyi tetiklediği belirlenmiştir. Yakın zamanda Japon araştırmacılar, propolis ekstraktının, insanda, bağışıklık fonksiyonlarına bağlı olarak makrofaj aktivasyonu sağladığını göstermişlerdir. Propolis sitokinleri oluşturan bağışıklık hücrelerini aktive eder. Bu sonuçlar propolisin anti-tümör etkisini açıklamaya büyük ölçüde yardımcı olur (53).

Yapılan bir araştırmada propolisin antikor oluşumunu tetiklediği de ortaya konmuştur. Antikor üreten dalak hücrelerinde, kontrol hücrelerine göre 3 kat daha fazla antikor üretildiği bulunmuştur. 24 saat sonra enjekte edilen 2. doz sonrasında etki daha da artmış fakat daha ileri dozlarda etki azalmıştır (54).

## 2.4.ERİTROSİTLER

Eritrositler kanın şekilli elemanlarının büyük bölümünü oluşturur. Birleşimlerindeki hemoglobinle kanın kırmızı rengini verirler. Taze frotilerde tek tek görüldüklerinde yeşile benzer sarı renk alırlar. Giemsa gibi eosin ve orange boyalarla boyanırlarsa pembe kırmızı renk alırlar. Etkin hareketleri yoktur, kan dolaşımıyla pasif hareket ederler. Yumuşak ve esnek olduklarından sıkıştırılabilirler ve çaplarından çok daha dar yerlerden rahatlıkla geçebilirler (55,56).

Eritrositlerin görevleri öncelikle dokularda oluşan CO<sub>2</sub>'yi akciğerlere taşımak ve akciğerlerden O<sub>2</sub>'yi dokulara taşımaktır. Ayrıca kanın alkalik reaksiyonun değişmezliğini sağlamaktır. Bu görevlerini bünyelerinde bulunan hemoglobin ve fosfatlar yardımıyla gerçekleştirirler. Eritrositler yüzeylerinde bulunan antijenlerle kan gruplarının belirlenmesini de sağlarlar (57).

Alyuvarlar çekirdeksiz ve yuvarlak görünümündedirler ortalarından bastırılmış yapılar vardır. Bu bikonkav yapıları ve esnek zarlarının yardımıyla gaz taşınmasına çok elverişlidirler (58).

Eritrositler daha çok kırmızı kemik iliğinde yapılırlar. Ancak fetal hayatta ilk olarak karaciğerde, dalakta ve diğer lenfoit organlarda kan yapımı başlar; doğum yaklaştıkça bu görevi kırmızı kemik iliği alır. Tüm kan hücrelerinin asıl kökeni retiküler bağ dokudaki başkalaşıma uğramamış ilkel retikulum hücreleridir. Memeli alyuvarlarının ömrü 100-135 gündür. Alyuvarlar 50 dereceye kadar ısıtıldıklarında ölürlür (59).

Dolaşımdaki eritrosit sayısı dalgalanma göstermez. Ancak kanama, anemi ya da dokulara giden oksijen azaldığında eritropoetik faktör çok miktarda kana salınarak karaciğerde eritropoetin yapılmasını sağlar ve alyuvar oluşumunu hızlandırır (58).

Ömürleri dolan eritrositler dalak ve karaciğerde yıkıma uğrarlar. İnsanlarda ortalama eritrosit sayısı bir milimetreküp kanda 4-6 milyondur. Ratlarda ise ortalama 5,5-10 milyondur (59).

Eritrositlerde anaerobik glikoliz sırasında 2 önemli bileşik oluşur ATP ve 2,3-DPG. ATP, membranın iki yanında K<sup>+</sup> ve Na<sup>+</sup> geçişini düzenliyerek eritrositin biçimini korumada rol oynar. ATP azalınca eritrosit içine Na<sup>+</sup> ve suyun girmesiyle hücre küresel biçim alır. Eritrosit membranının özelliği esnek oluşu ve deforme olabilmesidir. Bu durum ATP ile kontrol edilir. ATP azalırsa esneklik kaybolur. Hücre zarı yırtılır hale

gelir (60).

**2,3-Difosfogliserat (2,3-DPG):** 2,3-difosfogliserat (2,3-DPG) eritrositlerdeki glikolitik yolda teşekkül eden önemli bir ara ürün olup bisfosfogliserat olarak da adlandırılmaktadır (60-64). Difosfogliserat mutaz enzimi, 1,3-difosfogliseratı 2,3-difosfogliserat'a çevirir ve 2,3-difosfogliserat da 2,3-difosfogliserat fosfataz enzimi katalizörlüğünde 3-fosfogliserat'a hidrolizlenir (60,63,64).

2,3-DPG, oksijenin hemoglobin tarafından taşınmasında ve dokulara salıverilmesinde düzenleyici bir role sahiptir (60,64,65). Her ne kadar hemoglobinin oksijen afinitesi üzerine birçok organik ve inorganik fosfatların etkisi varsada insan eritrositlerinde sadece 2,3-DPG ve ATP miktarı hemoglobinin oksijen afinitesini etkileyebilecek seviyededir(60,64,66). 2,3-DPG miktarı ise ATP'ninkinden çok daha fazladır. Eritrositlerde Hb molekülü sayısı kadar 2,3-DPG molekülü bulunmaktadır (67,70). 2,3-DPG, oksijeni bırakmış hemoglobine bağlanarak bunun oksijene olan afinitesini azaltır. Oksijen yetersizliğinin olduğu durumlarda daha fazla 2,3-DPG sentezlenerek hemoglobine bağlanır. Böylece daha fazla miktarda oksijen serbest bırakılarak dokulara girmesi sağlanır (57,58,64,69).

#### **2.4.1. Eritrositlerin Reolojik Özellikleri**

Deformabiliteyi ve kan akımını etkileyen tüm özellikler, reolojik özellikler olarak adlandırılır. Hangi kuvvetlerin uygulanması durumunda, deformabilite ve kan akımının nasıl değişeceği ile ilgilenen bilime de reoloji adı verilir. İsmi Yunanca “akım” anlamına gelen “rheo”’dan gelir. Prensipte olarak reoloji, akım davranışlarıyla ilgili olan herşeyi içerir. Kanın reolojik özellikleri, kanın kompozisyonuna ve akım koşullarına bağlıdır. Kanın kompozisyonu, hematokrit değeri, plazma viskozitesi, eritrositlerin agregasyon ve deformabilite özellikleriyle yakın ilişkilidir (70).

Hemoreoloji terimi ilk defa 1952’de A.L. Copley tarafından bilim dünyasına tanıtılmıştır (71). Hemoreoloji, makroskobik, mikroskobik ve submikroskobik açılardan kandaki hücresel komponentlerin deformabilite ve akım özellikleriyle ve de kanla direkt olarak temas halinde bulunan damar yapısının reolojik özellikleriyle ilgilidir. 1966’da bu tanım A.L. Copley ve G.Seaman tarafından genişletilmiş ve hemoreoloji; kan ve kan damarlarının, canlı organizmaların bir parçası olarak nasıl fonksiyon gördüklerini ve nasıl bir etkileşim içinde olduklarını araştıran bir bilim dalı olarak tanımlanmıştır (71,72).

Başta eritrositler olmak üzere, hücrelerin plazma içindeki varlığı kan viskozitesini artırır. Hücreler içinde oransal olarak en büyük değeri, eritrositler alır. Dolaşımdaki her 1000 eritrosite (5milyon/mm<sup>3</sup>) karşılık, yalnızca 1 lökosit (5000-8000/mm<sup>3</sup>) ve yaklaşık 60 trombosit (250.000-300.000/mm<sup>3</sup>) vardır. Bu nedenle, kanın reolojik davranışlarını özellikle eritrositlerin belirlediği kabul edilebilir. Agregasyon ve deformabilite, eritrositlerin kan akım karakterini etkileyen iki özelliğidir. Düşük akım hızlarında meydana gelen agregasyon, kan viskozitesini artırır. Yüksek akım hızlarında ise, eritrositlerin deformabilite yeteneği sayesinde kan viskozitesi azalır (73,74).

#### **2.4.2.Eritrositlerin Deformabilite Özelliği**

Olgun eritrositler, oksijen taşımak üzere ileri derecede özelleşmiş hücrelerdir. Adeta, özel yapıda bir hücre zarının içinde yoğunlaştırılmış hemoglobinden oluşan bu hücreler, herhangi bir organel içermediklerinden dış kuvvetlerin etkisi altında kolaylıkla şekil değiştirebilirler. Bu özel yapı nedeniyle şekil değiştirmelerine karşı koyan tek unsur hücre zarıdır. Hücre zarı, söz konusu kuvvetleri yoğun bir hemoglobin çözeltisi özelliğindeki amorf sitoplazmaya iletir ve sitoplazmanın adeta akıma bizzat katılmasını sağlar. Hücre zarı, aynı zamanda eritrositlerin elastik yapısından da sorumludur. Gerek kitle halinde akım koşullarında, gerekse kapiller dolaşımda eritrositlerin ileri derecede şekil değiştirmesine neden olan kuvvetlerin ortadan kalkmasıyla birlikte hücre orijinal bikonkav disk şekline geri döner. Eritrosit deformabilitesi terimi, geri dönüşümlü bir şekil değişimini ifade eder (75,76).

Deformabilite, eritrositlerin dinamik bir özelliğidir. Normal hücre fonksiyonu için gerekli ve dolaşımın sürekliliği için önemlidir. Deforme olabilen eritrositlerin kan akımına katılmaları daha kolay olur. Eritrositlerin reolojik özellikleri, hem büyük damarlardaki hızlı akım koşullarında, hem de kapiller dolaşımda önem kazanır. Eritrositlerin kendi çaplarından (8 $\mu$ ) çok daha küçük çapa sahip (3 $\mu$ ) damarlardan geçebilmesi için üstün bir deformabilite yeteneğine sahip olmaları gerekir. Geniş anlamda eritrosit deformabilitesi, eritrositlerin mikrodamarlardan geçme yeteneğini düzenleyen hücresel özelliklerin bileşimidir. Hücre deformabilitesinin azalması, eritrositlerin yaşam sürelerini de kısaltmaktadır (76).

**Eritrositlerin Deformabilite Özelliklerine Etki Eden Faktörler:**Deformabilite terimi, elastik yapıya sahip eritrosit membranının kuvvet etkisinde eritrositlere

değiştirme ve kuvvet ortadan kalktığında yeniden bikonkav diskoid şeklini kazanabilme yeteneği olarak ifade edilmektedir (77).

Eritrositlerin deformabilite özellikleri ile yapısal özellikleri, birbirine uygunluk göstermektedir. Nükleuslarının olmaması, düşük sitoplazmik viskozite, membranın visko elastisitesi, yüzey-hacim oranının yüksek olması, eritrosite % 40 daha fazla bir alan sağlar. Bu nedenle, dolaşımdaki kuvvetlere cevap olarak oluşan deformabilite, hücrenin şekli, hücre membranının hacim-yüzey oranı gibi hücre geometrisiyle ilgili olan ekstrinsik faktörlere ve de hücre membranının visko-elastik özellikleri gibi intrinsik faktörlere bağlıdır (77,78).

Eritrositlerin bikonkav diskoid şekilleri deformabilite yeteneği açısından büyük bir önem taşımaktadır. Bu yapının sağladığı özel yüzey alanı-hacim ilişkisi sayesinde eritrositler yüzey alanlarını genişletmeksizin şekil değiştirebilirler. Oysa küresel bir cismin aynı şekil değişikliğini gerçekleştirebilmesi ancak çok daha büyük enerji harcanmasına ihtiyaç gösteren yüzey alanı genişlemesiyle mümkün olur (78,79).

Eritrosit membranı belirli büyüklükteki bir kuvvetin etkisinde ne ölçüde şekil değişikliği olacağını belirleyen en önemli unsurdur. Hücreye dışarıdan etki eden kuvvetlere karşı bir direnç oluşturur. Bu nedenle eritrosit membranının davranışını “viskoelastik” olarak tanımlamak uygundur. Eritrosit membranının lipid komponentlerinin bu davranışa katkısı oldukça azdır. Özellikle şekil değişikliğinin geri dönüşümlü olmasını sağlayan elastik davranış, esas olarak lipid membranının hemen altında bulunan ve esasen bir protein ağı olan membran iskeletiyle ilişkilidir. Hemen büyük ökaryotik hücrelerde, hücrenin şeklinden, hareketinden ve hücre içinde organellerin yerleşiminden sorumlu bir hücre iskeleti vardır. Membran iskeleti, eritrositlere bikonkav disk yapısını verir. Aynı zamanda, eritrositlerin birinci görevi olan O<sub>2</sub> taşıma işini sürdürebilmeleri için kapillerlerden şekil değiştirerek geçmelerine katkıda bulunur. Eritrositlerin daha sonra eski şekillerine dönebilmelerini (stabilitelelerini) sağlar. Stabilitesi azalmış bir hücre normal dolaşım stresine dayanamaz ve parçalanır. Daha kolay şekil değiştirebilen bir eritrositin kapillerlerden geçebilmesi için daha az, deformabilitesi azalmış bir eritrosit için ise daha çok kuvvet gerekir (80,81).

Hücre zarının normal visko-elastik özelliklerini koruyabilmesi, hücre içi homeostazisi ile yakın ilişkilidir. Hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonunun artışı, membran

visköz özelliklerini artırır, eritrosit deformabilitesini azaltır. Eritrosit membran lipidleri ve iskelet proteinleri oksidatif hasara karşı duyarlıdır. Oksidan hasar sonucu ortaya çıkan proteinler arası çapraz bağlantılar eritrosit mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkiler (79,80).

Hücre metabolizmasındaki ve yakın çevre koşullarındaki değişiklikler, eritrosit deformabilitesinde değişiklik oluşturur. Bu değişiklikler, eritrosit membranının viskoelastik özelliklerindeki bozulmalardan kaynaklanabilir. Öte yandan hücrenin bikonkav disk şeklinin, dolayısıyla şekil değiştirmede önemli avantaj sağlayan yüzey alan-hacim ilişkisinin bozulması ve hemoglobin konsantrasyonu, dolayısıyla sitoplazmik akışkanlığın değişmesi de eritrosit deformabilitesini etkileyebilir (79-81).

Eritrositlerin normal glikolitik süreçlerini sürdürmeleri, mekanik özelliklerin korunması için gereklidir. Bu süreç, bir taraftan hücrenin normal su ve iyon kapsamını korumaya yönelik kation pompaları (sodyum-potasyum ATPaz, kalsiyum ATPaz) için gerekli ATP havuzunu sağlarken, diğer taraftan oksidan hasara karşı koyan önemli mekanizmalarla ilgili ko-faktörleri üretir (79-81).

**Membran Lipit Peroksidasyonu:** Hücre membranı serbest radikaller için kritik bir bariyerdir, çünkü serbest radikaller hücre komponentleri ile etkileşim için bu bariyeri geçmek zorundadırlar. Lipid peroksidasyonu serbest radikallerin en önemli etkilerindendir. Lipid peroksidasyonu kuvvetli yükseltgeyici bir radikalın etkisiyle başlayan ve membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin yıkımıyla sonuçlanan kimyasal bir olaydır. Lipid peroksidasyonu lipid hidroksiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle son bulur. Bu ürünlerden başlıcaları olan malonildialdehit, proteinlere ve DNA'ya bağlanarak kalıcı değişiklikler oluştururlar (82,83).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemler olarak bilinirler. Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunma albumin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit

dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), katalaz ve sitokrom oksidazdır (84,85).

**Ozmotik Frajilite:** Ozmotik frajilite, eritrositlerde yüzey alanı/hacim oranının bir göstergesidir. Eğer yüzey/hacim oranı düşerse eritrositlerin ozmotik frajilitesi artar, tersine bu oran yükselirse ozmotik frajilite azalır, ozmotik hemolize direnç artar. Frajilitenin azalması zarın stabilize olduğunu gösterir. Eritrositler hemoglobinin ozmotik etkisinden dolayı hücre içi sıvıyı artırmaya eğilimlidirler. Ancak bu eğilim normal durumlarda Na<sup>+</sup>- K<sup>+</sup> aktif transport pompasıyla engellenir ve sodyumla birlikte hücre içine giren su, sodyumla birlikte hücreden dışarı atılır. Eğer giren su miktarı pompanın kapasitesini aşarsa, eritrositler şişer ve yuvarlak bir şekil alırlar. Eritrositler hipotonik çözeltilere konuldukları zaman su, hızlıca eritrosit zarından geçerek hücrenin şişmesine yol açar. Eritrositin önce fincan şeklini sonra da küre şeklini almasını sağlar. Bunun nedeni eritrositin hacmi artarken yüzey alanının aynı kalması veya çok az artmasıdır. Eritrositler küre şekline ulaşır, kritik bir hacme varduktan sonra hücre zarı parçalanır ve hemoglobin gibi büyük moleküller serbest kalır (86,87). Eritrositi küre şekline dönüştüren iki durum daha vardır. Bir tanesi diskositinosit dönüşümüdür. Hücre içi ATP azalması ve Ca<sup>2+</sup> artmasına bağlıdır. Eritrosit diskinin önce hatları düzensizleşir, sonra dikensi çıkıntılar (krenasyonlar) oluşur, en son aşamada da eritrosit oval veya küre şeklini alır. ATP yerine konulursa kürenin şekli derece derece normal şekline döner(88). İkincisi diskosit-stamatosit dönüşümüdür. Eritrositler düşük pH'a maruz kaldıklarında oluşur. Eritrositin bir tarafındaki çöküklük azalırken diğer tarafta artar (89).

Eritrositler, hipertonic çözeltilere konulduklarında ise su kaybederler, hücre küçülür ve kenarlarında dikensi çıkıntılar (krenasyonlar) olur (90). Ozmotik frajilite testinde, farklı hipotonik derişiklerdeki tuz çözeltilerin içine bırakılan eritrositlerin hemolize karşı direnci ölçülür. Her bir hipotonik derişimdeki eritrositlerin parçalanma miktarı, derişimin içine salınan hemoglobinin kolorimetrik olarak ölçülmesiyle hesaplanır ve eritrositlerin tamamen lizis olduğu en düşük derişimli örnekle karşılaştırılır (90).

Ozmotik frajilitenin kritik belirleyici faktörü eritrositlerin yüzey alanıyla hacmi arasındaki orandır (91). Küresel hücrelerin yüzey/hacim oranları düşüktür, hipotonik çözeltilerde sınırlı bir genişleme kapasiteleri vardır ve normal bikonkav eritrositlerden daha yüksek NaCl derişiklerinde lizis olurlar. Bu eritrositler için artmış ozmotik

frajiliteye veya azalmış hemolitik dirence sahiptir, denilir. Diğer yandan hipokromik, düz ve yassı hücreler hipotonik çözeltilerde daha büyük genişleme kapasitesine sahiptirler ve normal eritrositlerden daha düşük NaCl derişiklerinde lizis olurlar. Düşük ozmotik frajiliteye veya başka bir söylemle artmış hemolitik dirence sahiptirler (92).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Erciyes ÜniversitesiHakan Çetinsaya deneysel klinik araştırma merkezinde yetiştirilen 200-300 gr ağırlığındaki erkek Wistar albino ratlar kullanıldı. Çalışmada 40 adet rat kullanılmış 10 arlı 4 ayrı deney grubu oluşturulmuştur. Çalışma boyunca ratlara 3 gün boyunca uygulanan, serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ve HgCl<sub>2</sub> intraperitoneal (ip) olarak ve propolis ise gavaj yoluyla uygulanmıştır.

Araştırmada kullanılan propolis Kayseri Bünyan ilçesinde kavak ağaçlarının yoğun olduğu bölgede yer alan arıhıklardaki kovanlardan elle toplanmıştır. Ham propolis bir hafta %70 etanolla özütlendikten sonra filtre edilmiştir. Alkolü evaporasyon yoluyla uçurulan saflaştırılmış propolis araştırmada belirlenen dozda ratlara verilmiştir.

Hematolojik parametreler ile serum potasyum düzeyleri Erciyes üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Labaratuarında ölçülmüştür. Methemoglobin ve 2,3 DPG miktarları ile% hemoliz oranları ve eritrosit uzama indekslerinin ölçümleri Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı labaratuarında gerçekleştirilmiştir.

Ölçümler için başlıca spektrofotometre (Helios beta) , soğutmalı santrifüj (Sigma 3K30), Rheodyne SSD Laser Diffraktometre, diğer labaratuar malzemeleri ve standart çözeltiler kullanılmıştır.

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerele Etik Kurulunun 10.08.2011 tarih ve 104 numaralı karar ile etik açıdan uygun bulunarak onaylanmıştır.

### 3.1.DENEY GRUPLARI

**Kontrol Grubu:** 1 ml serum fizyolojik (%0,9 NaCl) intraperitoneal (ip)uygulanmış olan grup,

**Civa klorür grubu:** 4 mg/kg/gün HgCl<sub>2</sub> ip uygulanmış olan grup,

**Propolis grubu:** 200 mg/kg/gün propolisgavaj yolu ile uygulanmış olan grup,

**Civa klorür + propolis grubu:** 200 mg/kg/gün propolis gavaj yolu ile uygulanmış olup , propolis civa toksisitesi yaratılmadan 1 gün önce verilmeye başlanmış olan gruptur.

### 3.2. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Ratlar, enjeksiyonların ve oral uygulamanın bitiminden 1 gün sonra anestezi altında uyutularak her bir ratın kalbinden 8-9 ml kan enjektörlere alınmıştır.Enjektöre alınan kan, hematolojik parametreler, biyokimyasal parametre (potasyum), methemoglobin , eritrosit agragasyonu, eritrosit deformabilitesi, eritrosit fragilitesi için ayrılmış ve kalan kan 2,3-disphosphoglycerate (2,3-DPG) için kullanılmıştır. Eritrosit deformabilitesi, % hemoliz ve eritrosit agregasyonu gibi reolojik parametrelerin ölçümünde ve hematolojik parametreler, biyokimyasal parametre (potasyum) ölçümünde tam kan kullanılmıştır. 2,3-disphosphoglycerate (2,3-DPG) için ayrılan kan 3000 devirde 5 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Elde edilen plazma örneği-20°C'de saklanmıştır. Kan alma işlemlerinden sonra anestezi altındaki hayvanlar kalplerine potasyum klorür (KCl) enjekte edilerek öldürülmüşlerdir.

Kayseri propolisi ultra-santrifüj değirmeni ile öğütülmüştür. 10 g propolis 100g dimetil sülfoksit (%100 ağırlık/hacim) içinde 24 saat süreyle 37 °C de magnetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Büyük partiküller filtredengeçirilerek elenmiştir. Elde edilen propolis preparatı steril seum içerisinde istenilen konsantrasyonda seyretilmiştir.

### 3.3.HEMATOLOJİK PARAMETRELERİN ÖLÇÜLMESİ

Hematolojik parametreler olarak eritrosit sayısı, hemoglobin ve methemoglobin miktarları, hemotokrit oranı ile MCV, MCH, MCHC, RBC, lökosit, trombosit değerleri elektronik hematoloji analizöründe (Seimens Advia 2120 İ) ölçülerek değerlendirilmiştir.

### 3.4. SERUM POTASYUM DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜLMESİ

Merkez biyokimya labaratuvarında otoanalizörde (Abbott Architect) potasyum düzeyleri ölçülmüştür. Potasyum değerleri mmol/ml olarak değerlendirilmiştir.

### 3.5. METHEMOGLOBİN ÖLÇÜMÜ

Kan örneklerinde, MetHb tayininde Dubowski tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. 10 ml 0.017 M fosfat tamponuna 0.2 ml kan ilave edilmiştir. Kanın bir kısmı spektrofotometre küvetine aktarılmış ve 630 nm'de blank fosfat tamponuna karşı absorbans okunmuştur (A1). Küvete potasyum siyanür (KCN) 2mg ilave edilmiş ve absorbans 630 nm'de okunmuştur (A2). Aynı kan örneğinin diğer kısmına 5 mg [K3Fe (CN)6] ilave edilmiş ve fosfat tamponuna karşı 630 nm'de absorbans okunmuştur (A3). Küvete KCN ilave edilmiş ve 630 nm'de absorbans okunmuştur (A4). Örneklerdeki MetHb yüzdesi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\text{MetHb} = \frac{A1 - A2}{A3 - A4} \times 100$$

### 3.6. ERİTROSİT DEFORMABİLİTE ÖLÇÜMÜ

Eritrosit deformabiliteleri, alınan 30 µl kandan, lazer difraktometre yöntemiyle ölçülmüştür. Alınan 30 µl kan 2 ml dekstran içeren tüplere aktarılmış ve alt-üst edilerek kanın dekstran içinde homojen bir görüntü oluşana dek karışması sağlanmıştır. Bu karışım 2 ml'lik enjektörlere aktarılmıştır.

Myrenne Rheodyne SSD (şekil 3.1) programı çalıştırılmış ve enjektörde bulunan dextran-kan karışımı rheometrenin, farklı dönme hızları uygulayarak shear stresi taklit edecek olan haznesine yavaşça ve arasında hava kabarcığı kalmayacak şekilde enjekte edilmiştir. Myrenne Rheodyne SSD programı çalıştırılmış ve enjektörde bulunan dextran-kan karışımı rheometrenin, farklı dönme hızları uygulayarak shear stresi taklit edecek olan haznesine yavaşça ve arasında hava kabarcığı kalmayacak şekilde enjekte edilmiştir. Artan akım stresi altında, eritrositler bikonkav şekilden elipsoit şekle dönüşürler ve boşluk içinde dönüş hızına bağlı olarak hücrelerdeki uzama oranları bilgisayar programı aracılığı ile hesaplanır ve bu indeks uzama (elongation) indeksi (EI) olarak adlandırılır. EI eritrosit deformabilitesinin bir göstergesidir.



**Şekil 3.1.**Rheodyne SSD Sistemi

Alet, uyguladığı farklı shear streslere (0,3Pa, 0,6Pa, 1,2Pa, 3Pa, 6Pa, 12Pa, 30Pa, 60Pa) karşılık gelen eritrositlerin uzama indekslerini (Elongation Index, EI) otomatik olarak ölçmüştür. EI, cihaz tarafından otomatik olarak  $EI = (L-W) / (L+W)$  şeklinde hesaplanmıştır. L (length) ve W (width) eritrositin uzunluğunu ve genişliğini ifade eder. Bu ölçüm 2 kez yapılmış ve sonuçlar, bu iki ölçümün ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Ölçüm yapıldıktan sonra haznedeki kan boşaltılmış ve hazne diğer ölçümler için distile su ile 3 kez yıkanarak temizlenmiş ve kurutulmuştur. Kan alındıktan sonra en geç 2 saat içinde eritrosit deformabilitesi ölçüm işlemi gerçekleştirilmiştir.

### **3.7. ERİTROSİTLERİN OZMOTİK FRAJİLİTE ÖZELLİKLERİNİN ÖLÇÜLMESİ**

Eritrositlerin ozmotik frajiliteleri %03,6 NaCl çözeltisine karşı gösterdiği direnç azalışı ile ölçüldü(şekil3.2). Bunun için %0-%03,6 ve %0,9 NaCl çözeltileri hazırlanarak her tüpe 10 mikrolitre tam kan ilave edilerek karıştırıldı. Oda derecesinde 30 dakika inkübasyondan sonra 2000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı. Örneklerin optik dansiteleri (O.D) spektrofotometrik (Helios beta), olarak 540nm dalga boyunda okunarak değerlendirildi. %100 hemolizin olduğu distile sudaki absorbans değerlerine göre % hemoliz değerleri aşağıdaki formül ile hesaplandı.

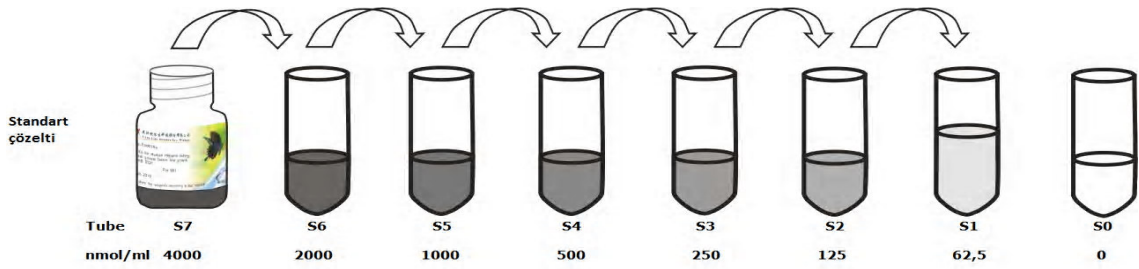
$$\text{Hemoliz(\%)} = \frac{\%03,6\text{NaCl çözeltisindeki O.D.}}{\text{Distile sudaki O.D.}} \times 100$$



**Şekil 3.2.** Osmotik Fragilite Ölçümü İçin Kullanılan Spektrofotometre

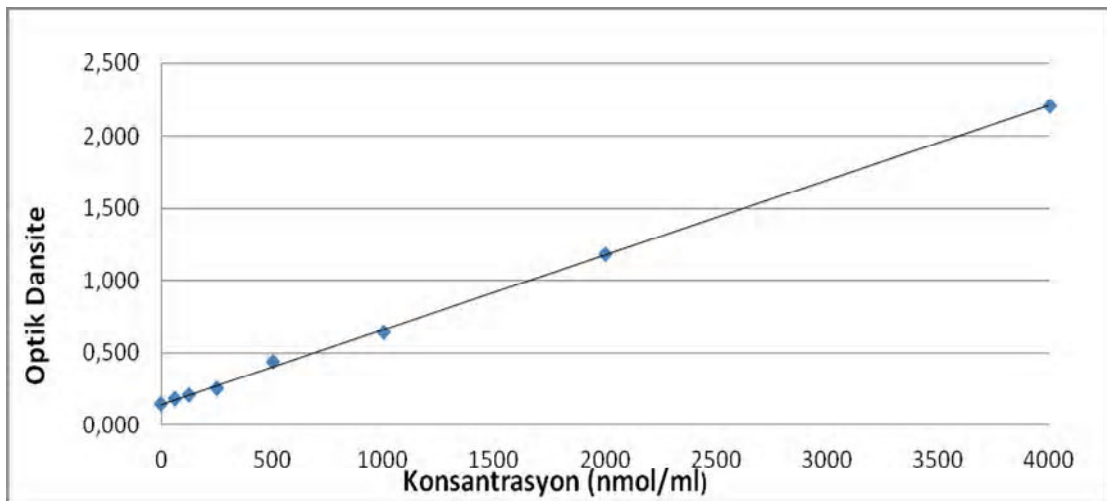
### **3.8. 2,3-DİFOSFOGLİSERAT(2,3-DPG) ÖLÇÜMÜ**

-20 °C'de saklanmış olan plazma örnekleri oda sıcaklığına getirilmiş. Başlangıçta eliza plağı üzerindeki 7 kuyucuğa 100µl standartlar koyulmuştur diğerlerine ise aynı miktarda plazma örnekleri koyulup üzeri kapatılmıştır. 37 °C de 2 saat inkübe edilmiştir. Herbir kuyucuğa Biotin-antibody solüsyonundan 100µl eklenmiş ve 1 saat 37 °C de bekletilmiştir. Bu kuyucuklardan solüsyonlar uzaklaştırılacak şekilde boşaltma işlemi uygulanmış ve üç defa yıkanmıştır. Horseradish Peroxidase (HRP) –avidin solüsyonundan 100µl eklenmiştir. 1 saat 37 °C de bekletilmiştir. Daha sonra solüsyonları uzaklaştırılacak şekilde yıkama işlemi uygulanmıştır. Substrat olarak 90µl TMB (3,3', 5,5' tetramethylbenzidine) katılmış ve ışıktan korunmuştur. 15-30 dakika 37 °C de inkübe edilmiştir. Sonrasında reaksiyon durdurma amaçlı kullanılan stop solüsyon (sülfürik asit) 50µl ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Her bir örneğin optik dansitesi 5 dakika içerisinde bilgisayar programlı Elisa cihazında (perkin elmer marka) 450nm'de okunmuştur.



### Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart 2,3 DPG çözeltisinden 0-4000 nmol/ml arasında 7 farklı seyreltme ile standart çözeltiler hazırlanmış, herbirinin optik dansitesi 450 nm’de okunarak Şekil 3.3. de görülen standart eğri elde edilmiştir. Örneklerin 2,3 DPG miktarları bu standart eğri kullanılarak nmol/ml olarak verilmiştir.



Şekil 3.3: 2,3 DPG Standart Eğrisi

### 3.9. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiş ve parametrelerin normal dağılıma uygun olduğu saptandı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Tukey HDS testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## **4.BULGULAR**

Tüm grup hayvanlardan alınan kan örneklerindeki hematolojik parametreler (eritrosit, hematokrit değeri, hemoglobin miktarı, MCH, MCHC, MCV, lökosit, ve trombosit sayıları) Tablo 4.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.1:** Hematolojik parametre değerleri

	<b>Kontrol</b> <b>n=10</b>	<b>HgCl2</b> <b>(4mg/kg)</b> <b>n=10</b>	<b>Propolis</b> <b>(200mg/kg)</b> <b>n=10</b>	<b>HgCl2(4mg/kg)+Propolis</b> <b>(200mg/kg)</b> <b>n=10</b>	<b>P</b>
<b>Eritrosit (x10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	7,94±0,25	8,28±0,95	8,61±0,78	8,48±0,43	<b>0,092</b>
<b>Hematokrit Değeri (%)</b>	49,10±2,42	49,46±3,88	49,75±3,28	49,24±2,60	<b>0,091</b>
<b>Hemoglobin Miktarı (%)</b>	14,34±0,25	14,56±1,38	14,88±1,07	14,42±0,77	<b>0,092</b>
<b>MCH (pg)</b>	16,66±0,43	16,83±0,46	16,98±0,36	16,67±0,25	<b>0,091</b>
<b>MCHC (g/dl)</b>	30,13±0,55	31,06±0,38	30,29±0,29	30,23±0,94	<b>0,090</b>
<b>MCV (fl)</b>	57,83±0,82	57,85±1,59	57,88±1,13	57,84±2,06	<b>0,090</b>
<b>1Lökosit (x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	5,59±0,46	14,96±7,32	5,62±1,06	9,43±2,99	<b>0,001**</b>
<b>Trombosit (x10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	801,30±123,18	557,00±124,47	800,40±36,45	800,00±63,12	<b>0,001**</b>

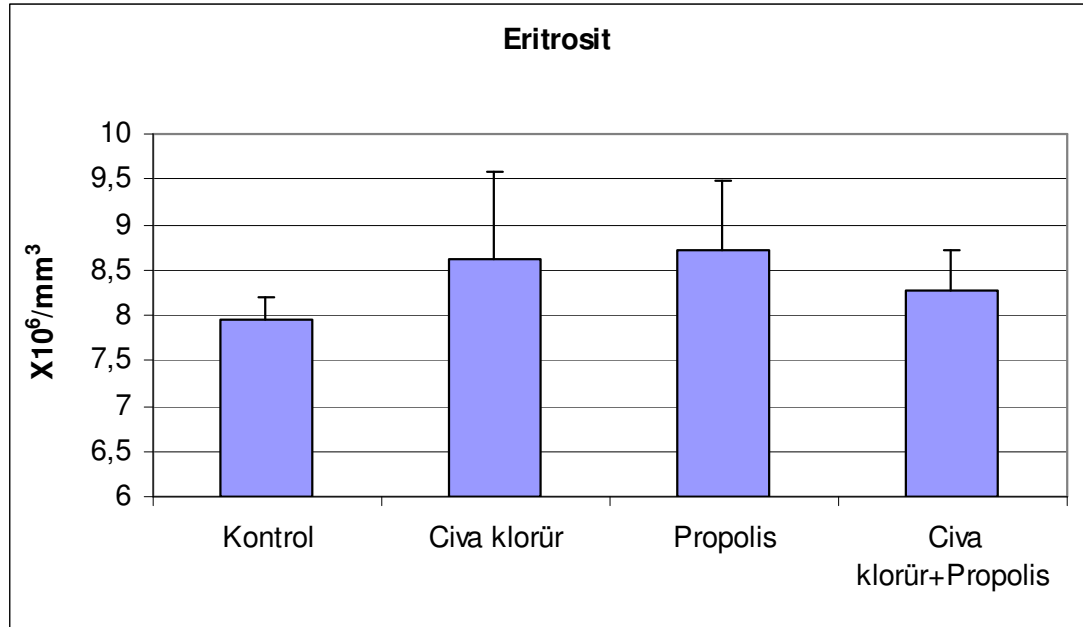
*Oneway ANOVA Test\*\* p<0.01 Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir.*

**Tablo 4.2:** Eritrosit, hematokrit, hemoglobin, MCH, MCHC,MCV, lökosit ve trombosit post hoc değerlendirme sonuçları

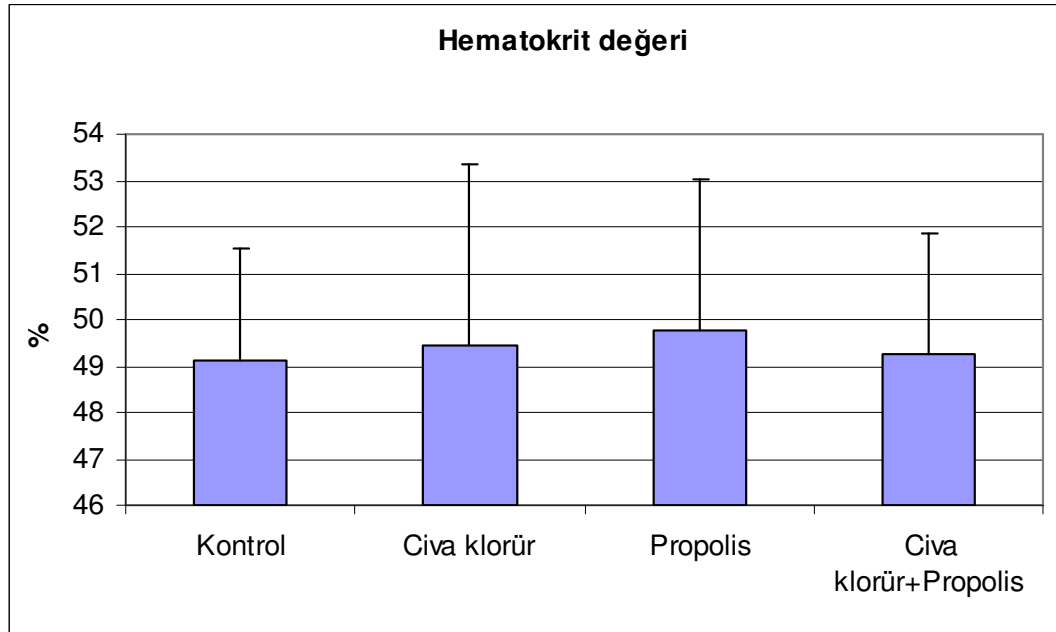
	<b>Eritrosit</b> (x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	<b>Hematokrit</b> (%)	<b>Hemoglobin(%)</b>	<b>MCH (pg)</b>	<b>MCHC (g/dl)</b>	<b>MCV (fl)</b>	<b>Lökosit</b> (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	<b>Trombosit</b> (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )
<b>Kontrol/ HgCl<sub>2</sub></b>	0,234	0,623	0,066	0,928	0,905	0,475	0,001**	0,001**
<b>Kontrol/ Propolis</b>	0,124	0,998	0,060	0,993	0,906	0,482	1,000	0,989
<b>Kontrol/ HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,134	1,000	0,063	1,000	0,936	0,462	0,168	0,999
<b>HgCl<sub>2</sub>/ Propolis</b>	1,000	0,862	0,975	0,999	0,956	1,000	0,001**	0,005**
<b>Hg Cl<sub>2</sub>/ HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,954	0,563	0,998	0,910	0,905	0,502	0,001**	0,001**
<b>Propolis / HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,994	0,995	1,000	0,989	0,913	0,346	0,174	0,928

Tukey HSD test\*  $p < 0.05$  \*\*  $p < 0.01$

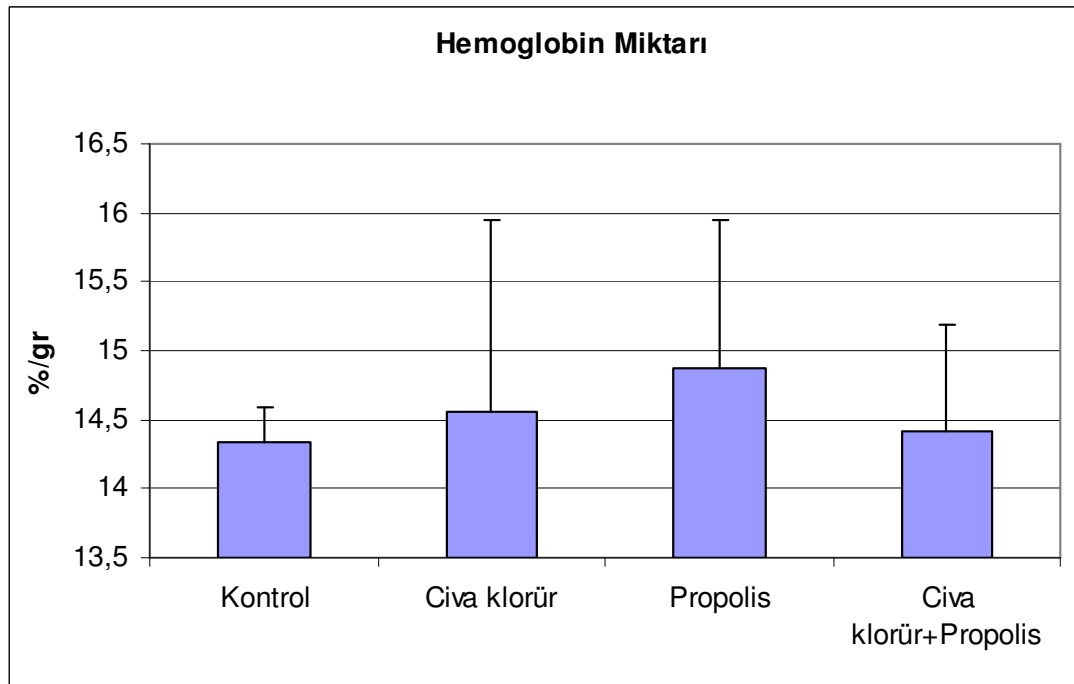
Civa klorür toksisitesi oluşturulan ratlarda, kontrol grubu hayvanlara göre hematolojik parametreler de hafif bir artış olsada, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak lökosit sayısı önemli ölçüde artarken, trombosit sayısında anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Sadece propolis verilen grubun değerleri kontrol grubu değerlerine yakındır. Civa toksisitesi yaratılan ve koruyucu olarak propolis verilen grupta ise lökosit sayısındaki artış ile trombosit sayısındaki azalma büyük oranda önlenmiştir (Tablo 4.1, Tablo4.2) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8).



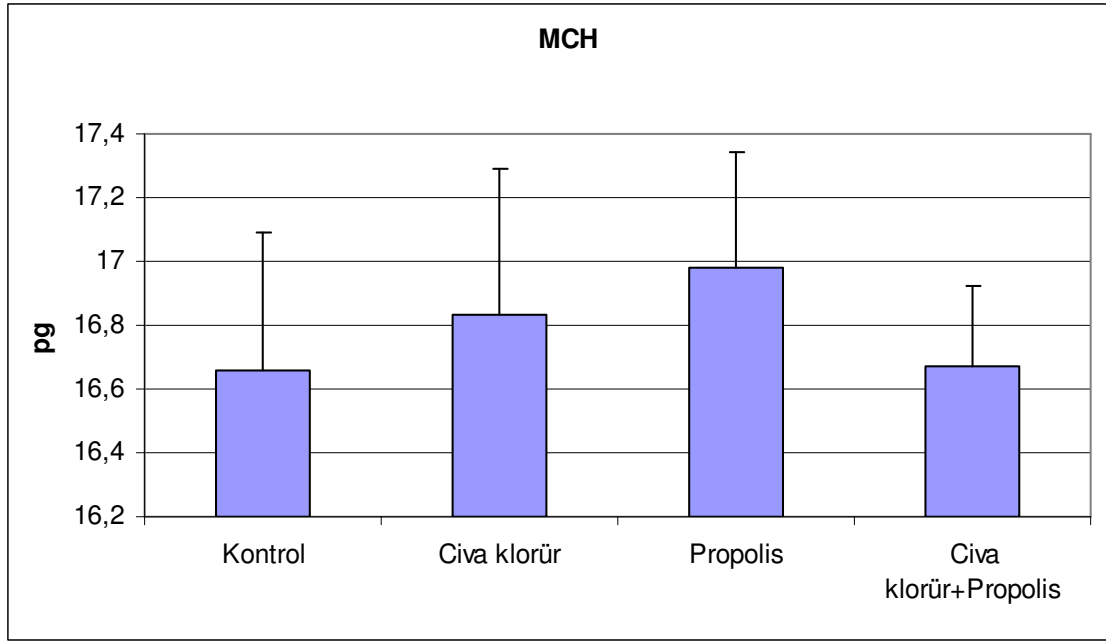
Şekil 4.1 : Eritrosit sayıları



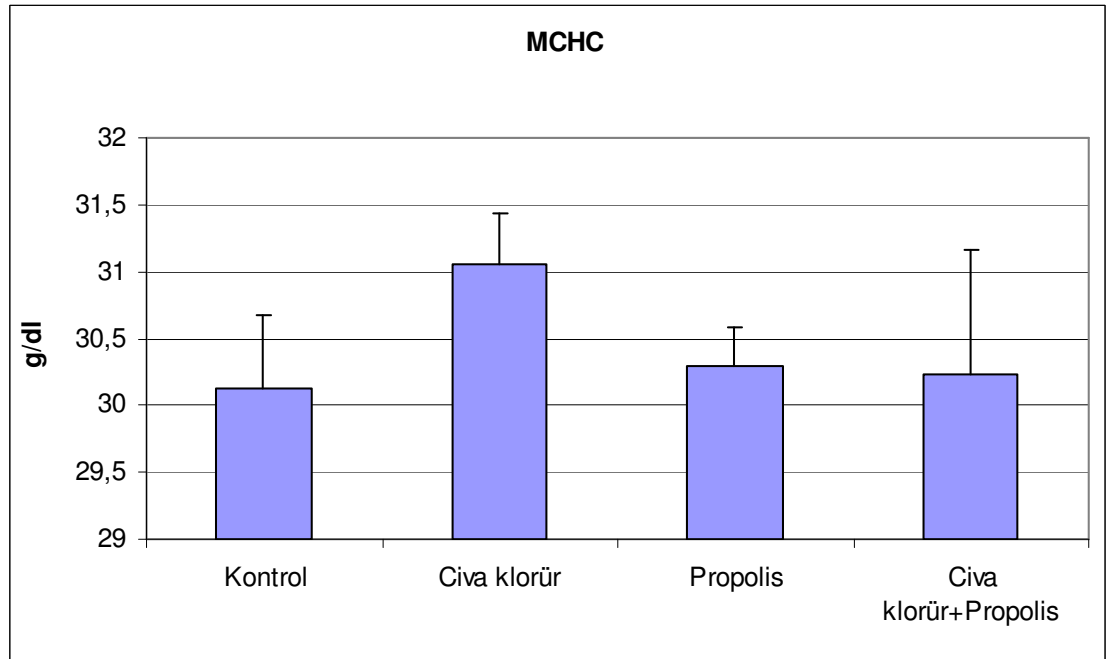
**Şekil 4.2:** Hematokrit değerleri



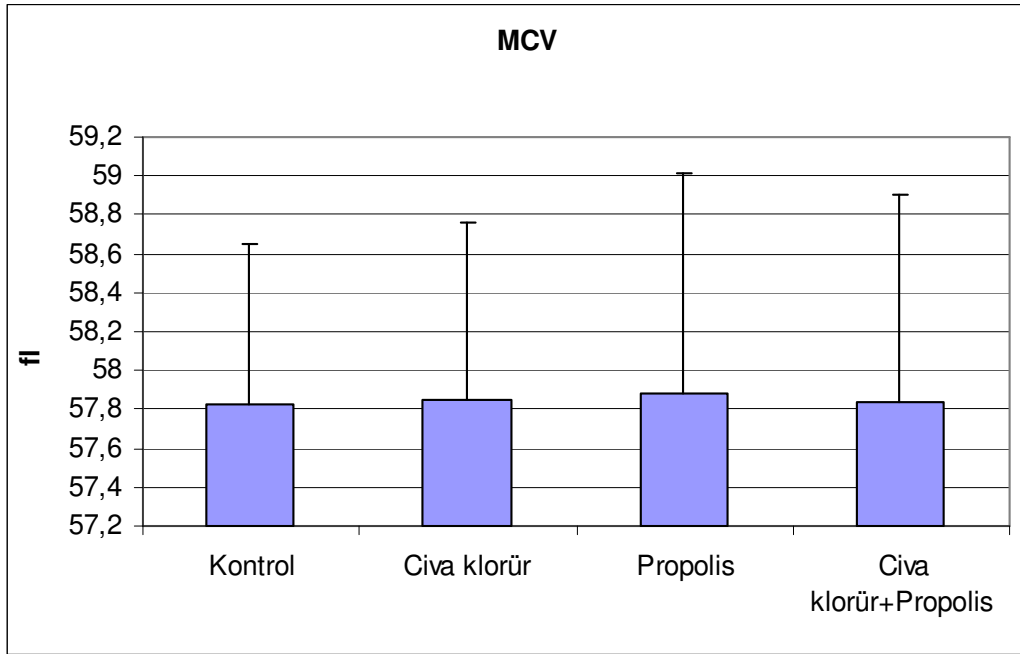
**Şekil 4.3:** Hemoglobin miktarları



**Şekil 4.4:** Ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) değerleri

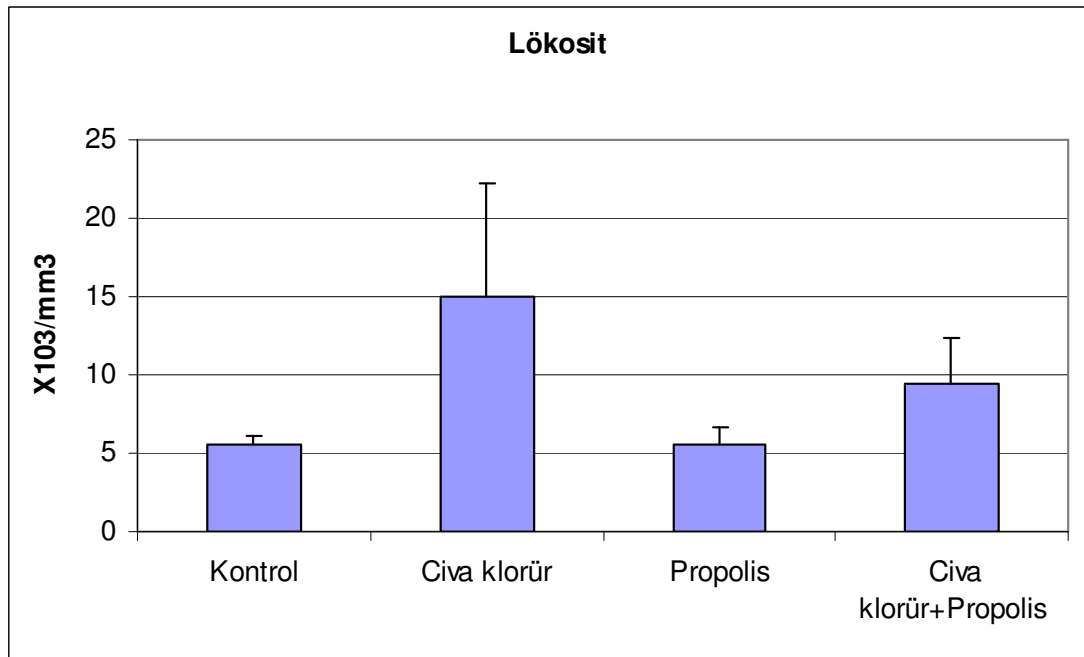


**Şekil 4.5:** Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri

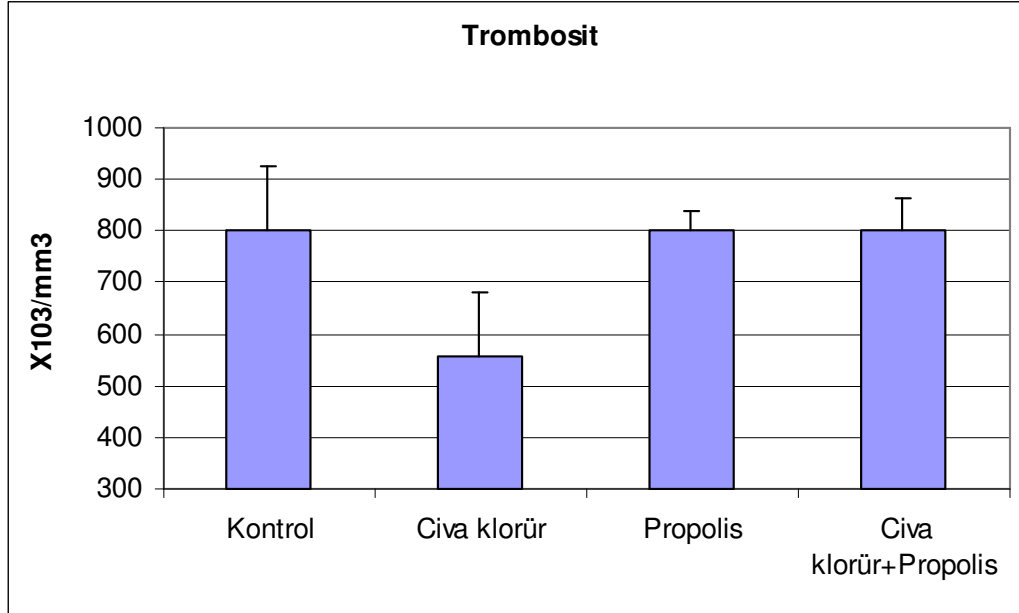


1

**Şekil 4.6:** Ortalama eritrosit volümü(MCV) değerleri



**Şekil 4.7:**Lökosit sayıları



Şekil 4.8: Trombosit sayıları

Tüm grup hayvanlardan alınan kan örneklerindeki serum potasyum, MetHb,2,3DPG ve % hemoliz sonuçları tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.3: Gurupların serum potasyum, MetHb,2,3DPG ve % hemoliz düzeyleri

	<b>Kontrol</b> n=10	<b>HgCl2</b> <b>(4mg/kg)</b> n=10	<b>Propolis</b> <b>(200mg/kg)</b> n=10	<b>HgCl2(4mg/kg)+</b> <b>Propolis</b> <b>(200mg/kg)</b> n=10	<b>P</b>
<b>Potasyum</b> <b>(mmol/L)</b>	5,60±0,36	6,30±0,64	5,52±0,99	6,14±0,42	<b>0,001</b> <b>**</b>
<b>MetHb</b> <b>(%)</b>	0,92±0,08	1,35±0,33	0,92±0,08	0,91±0,11	<b>0,001</b> <b>**</b>
<b>2,3 DPG</b> <b>(nmol/ml)</b>	232,94± 131,90	3130,82± 1626,09	131,65±25,86	1350,33±986,38	<b>0,001</b> <b>**</b>
<b>% Hemoliz</b>	30,60±3,47	88,30±4,08	29,60±3,30	75,10±4,93	<b>0,001</b> <b>**</b>

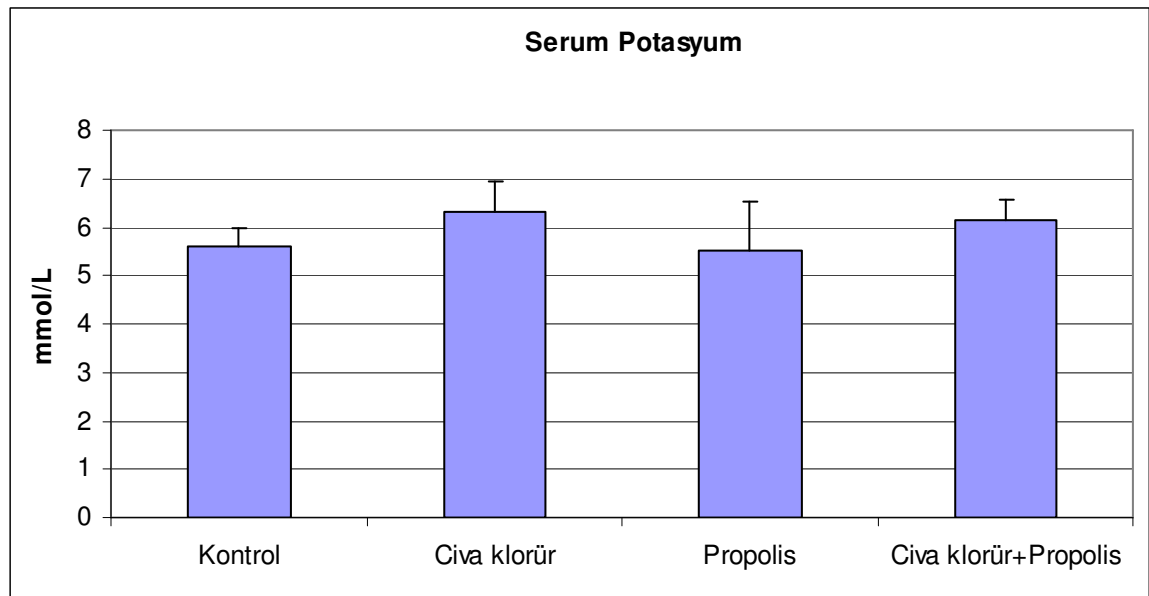
Oneway ANOVA Test\*\*  $p < 0.01$  Değerler  $ort \pm standart$  sapma olarak verilmiştir.

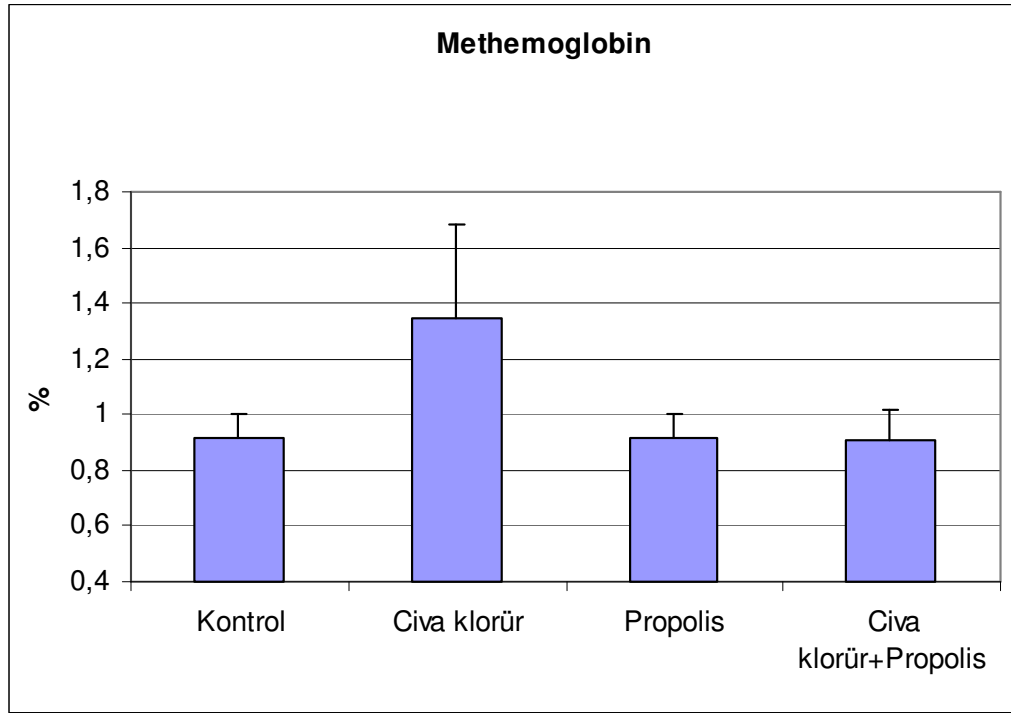
**Tablo 4.4:** Serum potasyum, MetHb, 2,3 DPG ve %hemoliz post hoc değerlendirme sonuçları

	Potasyum (mmol/L)	MetHb (%)	2,3 DPG (nmol/ml)	% Hemoliz
<b>Kontrol/ HgCl<sub>2</sub></b>	0,020*	0,001**	0,001**	0,001**
<b>Kontrol/ Propolis</b>	0,991	1,000	1,000	0,993
<b>Kontrol/ HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,664	0,924	0,063	0,001**
<b>HgCl<sub>2</sub>, Propolis</b>	0,300	0,001**	0,001**	0,001**
<b>Hg Cl<sub>2</sub>/ HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,472	0,001**	0,001**	0,001**
<b>Propolis, HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,003**	0,924	0,032*	0,001**

Tukey HSD test\*  $p < 0.05$ \*\*  $p < 0.01$

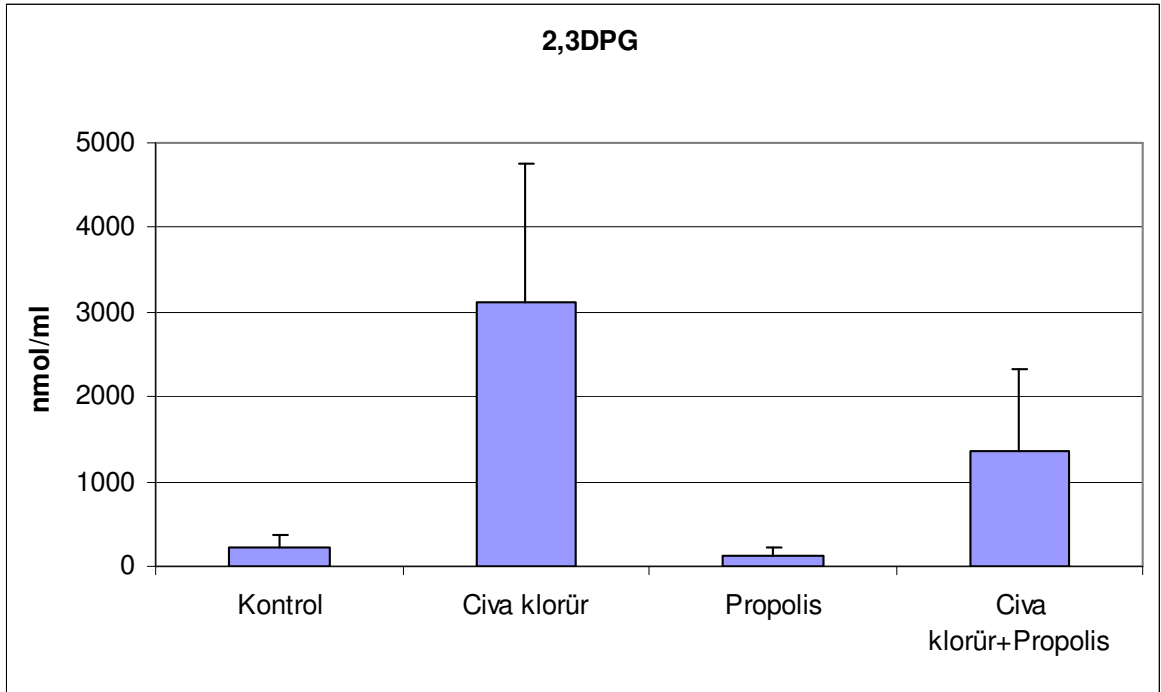
Civa klorür toksisitesi oluşturulan ratlarda, kontrol grubuna göre serum potasyum ve MetHb istatikselsel olarak anlamlı artmıştır. Sadece propolis verilen grubun değerleri kontrol grubu değerlerine yakındır. Civan klorür toksisitesi yaratılıp koruyucu olarak propolis verilen grupta ise serum potasyum düzeyinde civa klorür grubuna göre istatikselsel olarak fark yoktur ancak MetHb değerinde istatikselsel anlamlı azalma vardır (Tablo 4.3, Tablo 4.4) (şekil 4.9, şekil 4.10).

**Şekil 4.9:** Serum potasyum değerleri

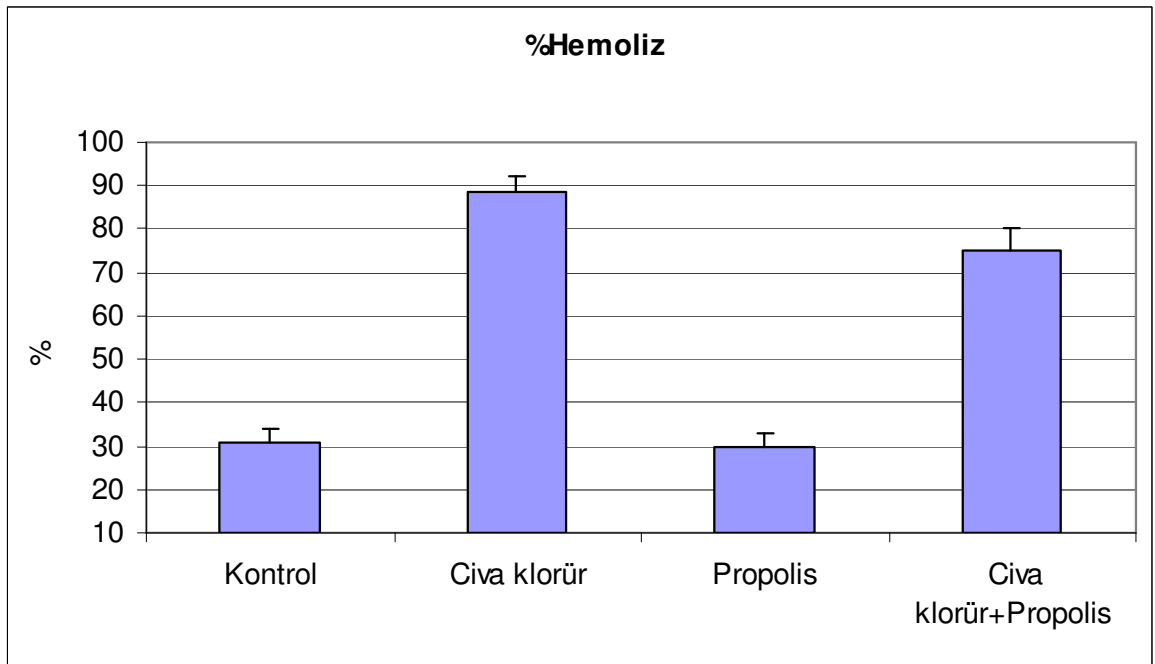


**Şekil 4.10:** Methemoglobin değerleri

Civa intoksikasyonunda 2,3DPG değeri ve %hemoliz oranı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Sadece koruyucu olarak propolis verilen grupta 2,3DPG değeri ve % hemoliz oranları kontrol değerler civarındadır. Civa klorür toksitesi yaratılan ve koruyucu olarak propolis verilen grupta 2,3DPG değeri ve %hemoliz oranındaki artma önlenmiştir (Tablo 4.3, Tablo4.4)(Şekil4.11, Şekil4.12).



Şekil 4.11: 2,3-Difosfogliserat değerleri



Şekil 4.12: %Hemoliz oranı

Tüm grup hayvanlardan alınan kan örneklerindeki düşük shear stresteki (3.00 Pas) ve shear stresteki (60.00 Pas) sonuçları grupların eritrosit uzama indeksi tablo 4.5'de verilmiştir.

**Tablo 4.5:** Gurupların eritrosit uzama indeksi

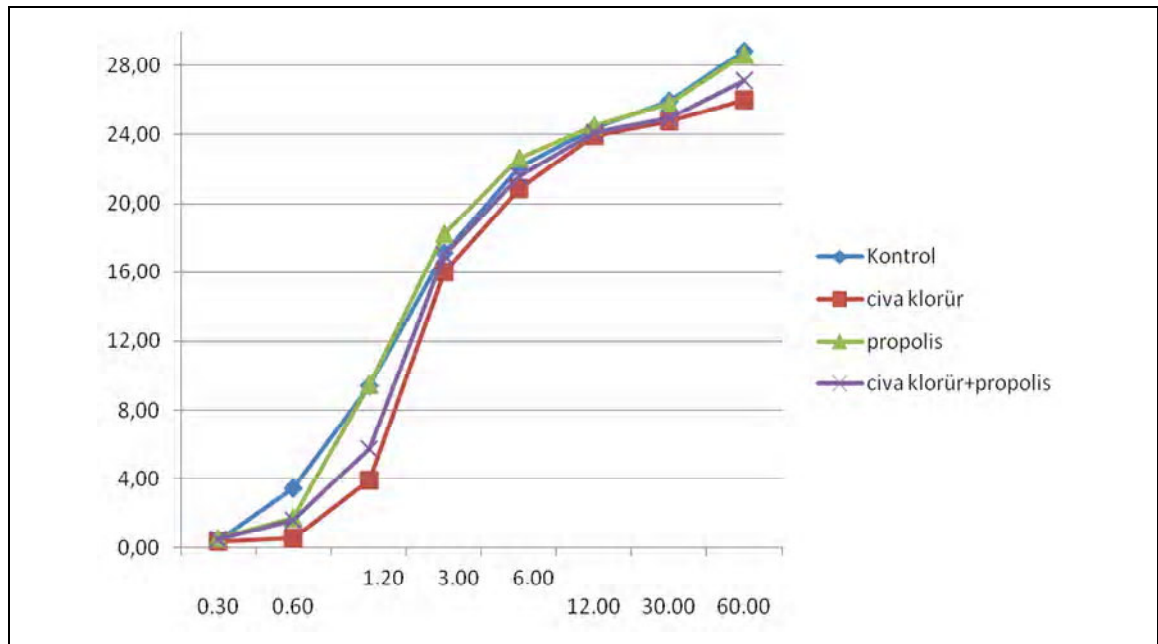
<b>EUI Shear Stres</b>	<b>Kontrol n=10</b>	<b>HgCl<sub>2</sub> (4mg/kg) n=10</b>	<b>Propolis (200mg/kg) n=10</b>	<b>HgCl<sub>2</sub>(4mg/kg) +Propolis (200mg/kg) n=10</b>	<b>P</b>
<b>0.30</b>	0,43±0,39	0,40±0,44	0,58±0,39	0,50±0,58	<b>1000</b>
<b>0.60</b>	3,47±1,30	0,55±0,66	1,73±0,74	1,63±0,86	<b>0,001**</b>
<b>1.20</b>	9,38±0,99	3,90±0,77	9,48±0,81	5,75±1,27	<b>0,001**</b>
<b>3.00</b>	17,11±1,24	16,84±0,73	17,21±1,32	16,97±1,21	<b>1000</b>
<b>6.00</b>	22,11±1,01	20,83±1,03	22,59±1,36	21,58±0,55	<b>0,170</b>
<b>12.00</b>	24,41±1,22	23,91±1,39	24,53±1,23	24,14±0,59	<b>0,168</b>
<b>30.00</b>	25,95±1,40	24,78±2,10	25,79±1,23	24,95±0,92	<b>0,001**</b>
<b>60.00</b>	28,85±1,48	25,99±1,85	28,95±0,48	27,16±0,86	<b>0,001**</b>

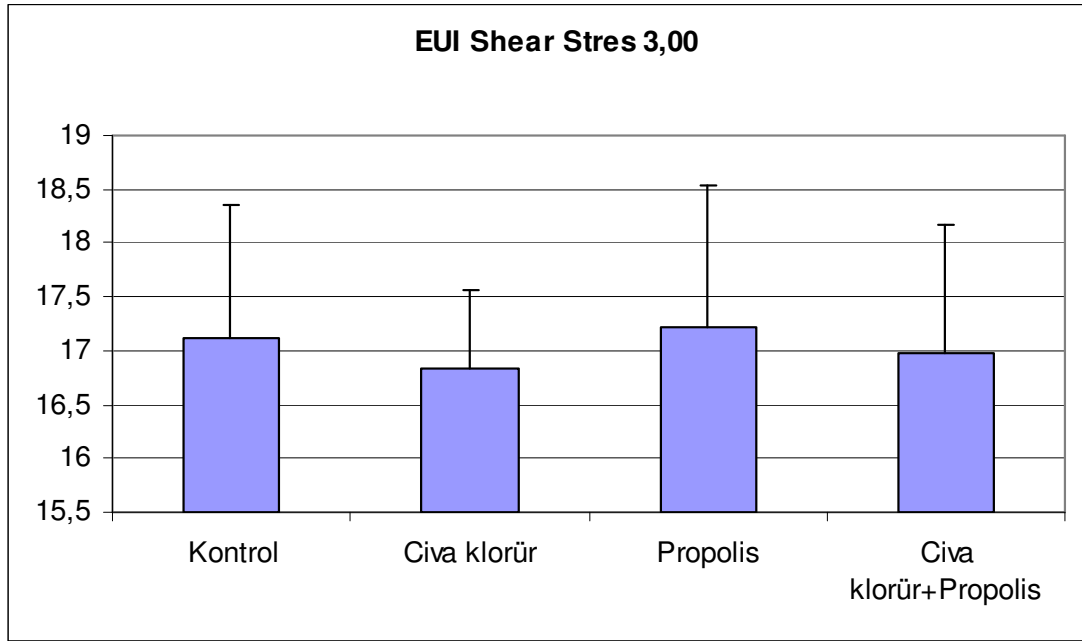
*Oneway ANOVA Test\*\* p<0.01 Değerler ort±standart sapma olarak verilmiştir.*

**Tablo 4.6:** Farklı shear streslerde eritrosit uzama indeksleripost hoc değerlendirme sonuçları

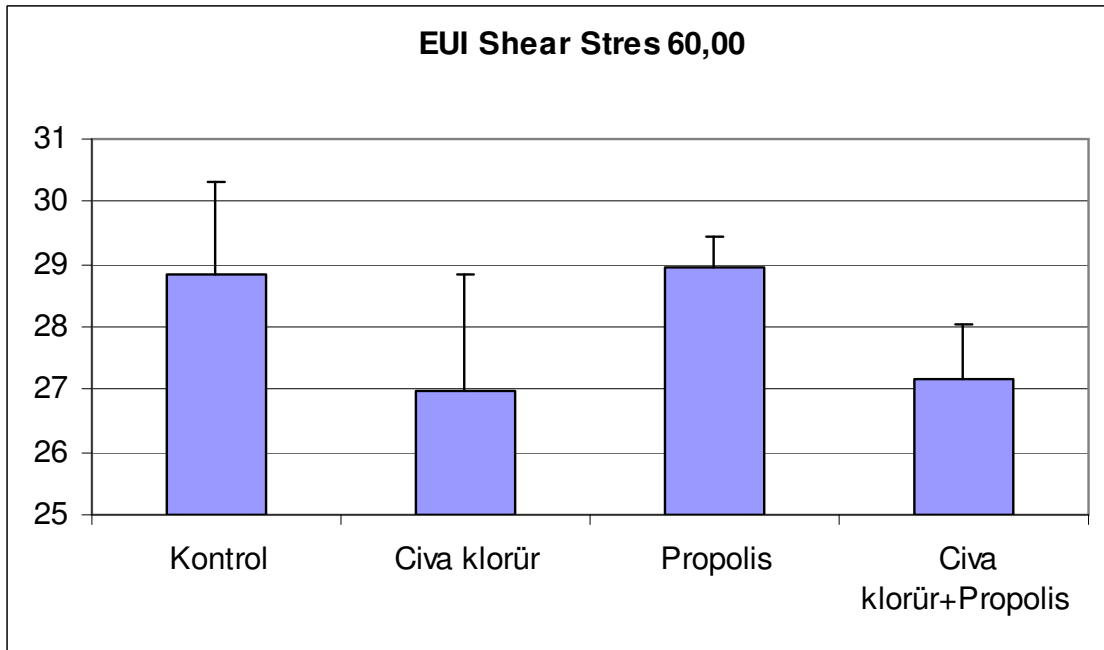
	0.30	0.60	1.20	3.00	6.00	12.00	30.00	60.00
<b>Kontrol/ HgCl<sub>2</sub></b>	0,875	0,006**	0,006**	0,994	0,081	0,926	1,000	0,019*
<b>Kontrol/ Propolis</b>	0,974	0,001**	0,876	0,992	0,061	0,149	1,000	0,610
<b>Kontrol/ HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,175	0,001**	0,001**	0,095	0,861	0,724	0,038*	0,993
<b>HgCl<sub>2</sub>, Propolis</b>	0,001**	0,001**	0,001**	0,001**	0,995	0,660	1,000	0,001**
<b>Hg Cl<sub>2</sub>/ HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,029*	0,011*	0,138	0,283	0,594	0,184	0,019*	0,004**
<b>Propolis, HgCl<sub>2</sub>+Propolis</b>	0,572	0,001**	0,001**	0,031*	0,281	0,004**	0,019*	0,909

Tukey HSD test\*  $p < 0.05$ \*\*  $p < 0.01$

**Şekil 4.13:** Eritrosit uzama indeksi değerleri



**Şekil 4.14:** Düşük shear stresteki (3.00 Pas) eritrosit uzama indeksleri



**Şekil 4.15:** Yüksek shear stresteki (60.00 Pas) eritrosit uzama indeksleri

Civa intoksikasyonunda yüksek shear stres (60.00)'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ancak düşük shear stres(3.00)'de kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı fark yoktur. Gerek düşük shear stresde gerekse yüksek shear stresde koruyucu olarak verilen propolis de istatistiksel anlamlı fark yoktur(Tablo 4.5, Tablo 4.6) ( Şekil 4.14, Şekil 4.15).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ağır metallerin ekolojik sistemdeki yayılmaları doğal çevrimlerden çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle olmaktadır. Ayrıca kazalar sonucu da ağır metallerin çevreye yayılımını önemli miktarlara ulaşılabilmektedir. Doğal değişimler sonucu kadmiyum, arsenik, civa ve kurşun gibi metaller atmosfere salınmaktadır. İnsanlar yoluyla da bu yayılım artmaktadır (1). Ağır metallerin su kaynaklarına ulaşması endüstriyel atıkların veya asit yağmurlarının toprağı ve dolayısı ile bileşiminde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırnak, göl ve yeraltı sularına taşınmasıyla olmaktadır. Sulara taşınan ağır metaller seyrelseler de, kısmen karbonat, sülfat ve sülfür bileşikleri halinde su tabanına çökerler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan suların ağır metal derişimi sürekli olarak yükselir, başka bir deyişle bu katmanlar metalce zenginleşir (2).

Ağır metallerden biri de civadır. Civa; hava, su ve toprakta bulunabilen bir elementtir ve bu ortamlarda bir kaç şekilde bulunur. Elementer yada metalik civa, inorganik civa veya civa tuzları ve organik civadır(6). Elementer civanın en tehlikeli olanı inhalasyon yoluyla alınan civadır. Alveollerden absorbe olur, biyotransformasyona uğrayarak merkürük civa haline dönüşür. Böylece alınan civanın % 80'i kan dolaşımına girerek eritrositlerde okside olur ve özellikle böbreklerde birikir. Civanın okside olmayan bölümü ise kan beyin bariyerini aşarak beyinde birikir. Beyinde yüksek oranda bulunan lipid nedeniyle civa elimine edilemez. Civa böylece motor sinirlerinin koordinasyonunu da engellemiş olur (7). Civa birleşikleri gastrointestinal yoldan hızla absorbe edilir ve

vücutta hızla yayılır. Özellikle serebral korteks, beyin periferik duyu sinirlerinde ve böbrekte birikime uğrar. Dolayısıyla duyu ve motorik yetersizliğe neden olur(8). Eskiden dezenfektan maddelerinde organik civa bileşikleri kullanılırken; günümüzde daha az toksik maddelerin kullanıma girmesinden dolayı kullanılmamaktadır (11). Civa ve bileşenleri; asetaldehit ve viniklorit gibi sentetik endüstriyel maddelerin üretiminde katalizör olarak, sodyum klorürden sodyum hidroksit ve klor üretiminde elektrot olarak, termometre ve elektrikli aletlerin üretiminde, endüstriyel kontrol aygıtlarında, tarım ilaçlarında fungusit olarak, ayrıca boya ve kağıt sanayisinde bilhassa dişçilik alanında de kullanılmaktadır (20). Cıva bir çok sanayii dalında kullanıldığı için, çevresel kontaminasyon ile balık ve deniz hayvanlarından, yapısında civa bulunan tarım ilaçlarının sık kullanımı sonucu, tarım ürünlerinin yapısından beslenme döngüsü ne girerek etkisini göstermektedir. Yapılan çalışmalar balık, et ve bazı süt ürünlerinde yüksek düzeyde civa bulunabildiğini göstermiştir (21).

Akut civa zehirlenmesi birkaç saat içinde kusma, bulantı, kanlı diyare ve kramp biçiminde karın ağrıları ile başlar. Dokular tarafından absorbe edilen civa böbreklerde birikir, idrar atılımı azalır, sonra tamamen kesilir. Akut civa intoksikasyonu üremiye neden olup, ölüme sonuçlanabilir (12). Kronik civa zehirlenmelerinin semptomları 1-30 yıl sonra ortaya çıkabilmektedir. Civa iyonları hücre içinde enzim inhibitörleri ve proteinlerini değiştirirler ve hücrelerin metabolizmasını ve fonksiyonunu etkilediği gibi membran fonksiyonunu ve transportunu da etkilerler. Kronik civa intoksikasyonu nörolojik belirtilere, güçsüzlüğe, yorgunluk, uykusuzluğa, kilo kaybına, iştahsızlığa, gastrointestinal düzensizliklere, kaslarda titreme ve kronik spazmlara neden olur. Civa zehirlenmesinin ağız içi belirtileri: gingivitis, aşırı tükürük salgısı, metalik tat ve dişlerde mobilite artışıdır (13).

Eritrositlerin görevi öncelikle dokularda oluşan CO<sub>2</sub>'yi akciğerlere taşımak ve akciğerlerden O<sub>2</sub>'yi dokulara taşımaktır. Ayrıca kanın alkalik reaksiyonun değişmezliğini sağlamaktır. Bu görevlerini bünyelerinde bulunan hemoglobin ve fosfatlar yardımıyla gerçekleştirirler. Eritrositler yüzeylerinde bulunan antijenlerle kan gruplarının belirlenmesini de sağlarlar. Alyuvarlar çekirdeksiz ve yuvarlak görünümündedirler ortalarından bastırılmış yapılar vardır. Bu bikonkav yapıları ve esnek zarlarının yardımıyla gaz taşınmasına çok elverişlidirler (53). Dolaşımda eritrosit sayısı dalgalanma göstermez. Ancak kanama, anemi ya da dokulara giden oksijen azaldığında

eritropoetik faktör çok miktarda kana salınarak karaciğerde eritropoetin yapılmasını sağlar ve alyuvar oluşumunu hızlandırır. Ömürleri dolan eritrositler dalak ve karaciğerde yıkıma uğrarlar. İnsanlarda ortalama eritrosit sayısı bir milimetreküp kanda 4-6 milyondur. Ratlarda ise ortalama 5,5-10 milyondur (94). Hemoglobin, eritrositlerin içerisinde bulunan; akciğerden dokulara oksijen, dokulardan akciğere karbondioksit ve proton taşıyan proteindir. Hematokrit, eritrositlerin toplam kan hacmine oranıdır.

Propolisin antibiyotik, antioksidan, antibakteriyal ajanlar, ağır ve hafif metal intoksikasyonunu önlemede önemli yere sahiptir. Propolisteki temel bileşen olan flavanoidler ve türevlerinin, serbest radikalleri temizlemede, en çok etkili olan bileşikler olma özelliğine sahiptir. Bazı flavanoidler, doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleriyle reaksiyona girip temizleyici rol oynayarak, lipit peroksidasyonunun başlangıç aşamasına etki edebilirler. Flavanoidlerin, serbest radikalleri ortamdan temizlemeleri ve uzaklaştırabilmeleri gibi işlevlerinin yanı sıra, lipooksijenaz ve siklo oksijenaz enzimlerini inhibe ederek antioksidan etki gösterebilmektedir (37).

Serbest radikal olarak adlandırılan oksidan moleküller, hücrede normal metabolizma esnasında üretilirler. Membran lipitlerinin oksidasyonu; lipit peroksidasyonuna ve onların sebep olduğu hasara yol açarlar. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) glutatyon peroksidaz (GP) gibi enzimler savunma mekanizması sırasında üretilen enzimlerdir. Savunmada endojen antioksidan enzimlerin koruyucu etkilerine ek olarak, besinlerle alınan (ekzojen) antioksidanların tüketimi de büyük önem taşımaktadır. Besinsel temel antioksidanlar; E vitamini, C vitamini, karotenoidler, flavanoidler ve diğer polifenoidlerden oluşmaktadır. Özellikle savunma mekanizmasında hücresel antioksidan enzimlerin (SOD ve GP gibi) önemi büyüktür ve bu enzimlerin yetersiz olması veya enzim aktivitelerinde meydana gelen azalmalar, hücre bileşenlerinde onarılamayacak hasara yol açabilirler. Ancak besinlere antioksidan katkıları yapıldığında, hücresel savunma sistemi güçlendirilerek, hasar en aza indirgenebilmektedir. Propolis ve diğer antioksidan maddelerle yapılan çalışmalarda, propolisin lipit peroksidasyonunun engellediği ve serbest radikal oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir (38,39).

Houkpatin ve arkadaşları (95) ratlarda civanın toksik etkisi sonucu vitamin C nin koruyucu etkisi araştırılmış. 28 gün boyunca 0,12mg/kg ve 01,2mg/kg civa

intraperitoneal uygulanmış. Dozla doğru orantılı olarak HBG, RBC, HCT, MCHC de azalma MCV artmıştır.

Başka bir çalışmada, Jun- Hun Kim ve arkadaşları(96) balıklarda civa toksikasyonu oluşturulmuş RBC, HB ve HCT de anlamlı azalmıştır. R.Maheswaran ve arkadaşları (97) içme sularına civa ile toksiste oluşturulan tatlı su balıklarında hematolojik değişiklikler araştırılmış. HGB VE RBC de azalma, lökositde de artış olmuştur.

Hikmet Y. Ve arkadaşları(98) balıklarda civa intoksikasyonu sonucu selenyumun koruyucu etkisinin hematolojik parametreler çalışılmış. Civa intoksikasyonu sonucu HBG, HCT, ve RBC de azalma görülmüştür. Turgut ve arkadaşları(99) ratlarda alimilyum intoksikasyonu sonucu hematolojik değişikliklerini incelemişlerdir. HGB VE HCT de anlamlı azalma, MCV ve MCHC de anlamlı yükselme olmuştur.

Nashva A. ve arkadaşları, (100) ratlarda profens toksisitesine karşı propolisin koruyucu etkisi araştırılmıştır. İntoksikasyon sonucu HBG, MCV VE MCHC kontrole göre artmıştır. Ashok P.(101) ve arkadaşları hiperlipidemi oluşturulan tavşanlarda propolisin hematolojik etkisine bakılmış. Hiperlipidemi sonrası propolis, HBG, HCT, RBC değerlerinde artma olmuştur.

K.I. Kamel (102) ve arkadaşları, tavşanlarda propolisin üreme üzerine etkisi ve hematolojik etkisini incelemiş, propolisin HGB, RBC, MCV de artma olmuştur. Selamoğlu T.Z. (103) ve arkadaşları arseniğe maruz kalan sazanlarda propolisin koruyucu etkisi araştırılmış. Propolis de HGB, HCT, MCV, MCHC, MCH değerlerinin arttığı bulunmuştur.

Ağır metal zehirlenmelerinde lökositoz sık karşılaşılan bir bulgu olarak görülmektedir. R.Maheswaran ve arkadaşları (97) içme sularına civa ile toksiste oluşturulan tatlı su balıklarında, lökositde de artış olmuştur. Hounkpatin A.S.Y. ve arkadaşları (96) ratlarda kadmiyum ve civanın toksik etkisi sonucu vitamin C nin koruyucu etkisi araştırılmış. Düşük dozda (0,12mg/kg) lökositde istatistiksel değişme olmasa da, yüksek dozda (1,2mg/kg) artma olmuştur. Trombosit sayısı ise toksisiteye maruz kalınan kısa sürelerde artmış, uzun süre de azalmıştır(104).

Bu araştırmada da, civa klorür toksisitesi oluşturulan ratlarda, kontrol grubu hayvanlara göre hematolojik parametreler de hafif bir artış olsada, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak lökosit sayısı önemli ölçüde artarken, trombosit sayısında anlamlı bir düşüş

saptanmıştır. Sadece propolis verilen grubun değerleri kontrol grubu değerlerine yakındır. Civa toksisitesi yaratılan ve koruyucu olarak propolis verilen grupta ise lökosit sayısındaki artış ile trombosit sayısındaki azalma büyük oranda önlenmiştir

Hemoglobinin yapısındaki demir iki değerlikli indirgenmiş demirdir . Ferröz demir denilen bu indirgenmiş demir, oksijen ve/veya karbon dioksidi kolayca kendisine bağlar ya da bunları kolayca kendisinden uzaklaştırır. Oksijeni, yukarıda değindiğimiz biçimde taşıyan hemoglobine, “Oksihemoglobin” denir. Hemoglobindeki demir üç değerlikli yükseltgenmiş olarak bulunduğu, hemoglobine bağlanmış olan oksijen ve karbondioksit artık kolayca ondan ayrılmaz. Yükseltgenmiş, yani ferrik biçimde demir içeren hemoglobine “methemoglobin” denir. Normalde insan kanındaki hemoglobinin yaklaşık % 1 kadarı methemoglobin yapısındadır. Kandaki methemoglobin miktarının normalin üstünde olmasına “Methemoglobinemi” denilmektedir.

M. Şireli (105) ve arkadaşları kobaylarda amitrat intoksikasyonunun methemoglobin ve hemolitik anemi oluşumu üzerine etkisi incelenmiş, 1 mg/kg amitrat ip olarak uygulanıp, bir saat sonra kanları alınmış. Kontrol grubuna göre methemoglobinde yükselme olmuştur. Başka bir çalışmada(106); kobayda akut nitrit intoksikasyonunun ve hemolitik anemi oluşumu üzerine etkisi araştırılmış ve kontrol grubuna göre methemoglobinde yükselme olmuştur.

Civa klorür toksisitesi oluşturulan ratlarda, kontrol grubuna göre MetHb istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Sadece propolis verilen grubun değerleri kontrol grubu değerlerine yakındır. Civan klorür toksisitesi yaratılıp koruyucu olarak propolis verilen grupta MetHb değerinde istatistiksel anlamlı azalma vardır.

Oksidatif stres, prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan yönüne kayması sonucu potansiyel hücresel hasarlara yol açması durumudur (108). Bununla birlikte, oksidatif stres durumunun ölçümü, düzeltme ve onarımı yapan kompleks endojen savunma sistemlerin olmasından dolayı zor olabilir. Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu olabilir. Bu nedenle, oksidatif stres biyobelirteci olarak antioksidan tüketiminin araştırılması antioksidan miktarlarındaki azalış veya onların metabolitlerindeki artışın değerlendirilmesi ile olabilir (109).

Eraslan G. (110) ve arkadaşları sodyum florid ile muamele edilen farelerde bazı biyokimyasal parametreler üzerine propolisin etkinliği araştırılmış. Oksidatif stres

parametrelerinde toksisiteyle birlikte artma olurken, koruyucu olarak propolis de kontrol değerlere yaklaşım olmuştur.

Jun-Quan Zhao (111) ve arkadaşları civa toksisitesi sonucu oksidatif stres ve propolisin koruyucu etkinliğine araştırılmış, civanın oksidatif strese neden olduğu, propolisin kısmen koruma yaptığı görülmüştür. John S. ve arkadaşları (112) yaptıkları çalışmada ratları malathion toksisitesine maruz bırakmış ve vitamin E' nin bu toksisite karşısında koruyuculuğunu saptamaya çalışmışlardır. Sonuçta oksidatif stresin eritrositlerde göstergesi olan lipid peroksidasyon; toksisiteye maruz kalan ratlarda artış gösterirken vitamin E ile tedavi edilmek istenen ratlarda azalmıştır.

Bu araştırmada oksidatif stres parametreleri incelenmemiş olmakla beraber yapılan çalışmalarda metallerin, kan ve dokularda oksidatif stres yarattıkları saptanmıştır. Biz her ne kadar çalışmamızda oksidatif stres parametrelerini ölçmediyse de eritrositlerin membran dayanıklılıkları, ozmatik frajiliteleri açısından bakıldığında civa klorürün diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış göstererek eritrositlerde hemolize neden olduğu ve bu sonuçla da oksidatif stres yarattığı muhtemeldir. Diğer yandan toksisiteye karşı koruyucu olarak propolis ile birlikte uygulanan civaklorür+propolis hemoliz oranında kontrol değere yaklaşım görüldü. Propolis içinde bulundurduğu flavonoidler ve esterler membran kırılabilirliği önlemektedir (113).

Potasyum, vücutta özellikle hücre içinde bulunur; intrasellülerin temel katyonudur. Alveollerde oksijenin kısmi basıncı kandan daha fazla olduğu için, oksijen alveoler zardan geçerek hemoglobinle (Hb) birleşir ve oksihemoglobini yapar (HbO<sub>2</sub>). Oksihemoglobin alyuvar içinde potasyuma bağlı olarak bulunur (KHbO<sub>2</sub>). Potasyum, hücre membranından dışarıya çok yavaş diffüze olmasına karşın, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz' ın sağladığı enerji ile, konsantrasyon gradientine karşı intrasellülere taşınır. Buna bağlı olarak da hemoliz, hücre içeriğinde bulunan potasyum (K<sup>+</sup>) gibi plazma bileşenlerinde hatalı yükselme veya düşümlere yol açabilmektedir (114).

Selamoğlu Talas Z. (103) ve arkadaşları sazanlarda arsenik intoksikasyonunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi ve propolisin koruyucu etkisi araştırılmış. Arsenik intoksikasyonu sonucu potasyumda artış, propolis+arsenik uygulanan grupta azalma görülmüştür. Başka bir çalışmada ise (115), propoxur verilen ratlarda biyokimyasal değerler üzerine propolisin etkisine bakılmış. Propoksur ile serum

potasyum değerinde artış olurken, propolis ile kontrol değerlere yaklaşımlı olmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Cıva klorür toksisitesi oluşturulan ratlarda, kontrol grubuna göre serum potasyum değeri istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Sadece propolis verilen grubun değerleri kontrol grubu değerlerine yakındır. Cıvan klorür toksisitesi yaratılıp koruyucu olarak propolis verilen grupta ise serum potasyum düzeyinde cıva klorür grubuna göre istatistiksel olarak fark yoktur.

2,3 DPG' nin eritrositlerin enerji metabolizmalarında önemli bir yeri vardır. 2,3 DPG, oksijenin hemoglobin tarafından taşınmasında ve dokulara salıverilmesinde düzenletici bir role sahiptir. Oksijen yetersizliğinin olduğu durumlarda daha fazla 2,3-DPG sentezlenerek hemoglobine bağlanır. Böylece, daha fazla miktarda oksijen serbest bırakılarak dokulara gitmesi sağlanır. 2,3 DPG miktarı artışına yol açar. 2,3-DPG düzeyinde artma, oksihemoglobin dissosiasyon eğrisinde sağa kayma gözlenir. Eritrosit içi 2,3- DPG miktarı ne kadar yüksek olursa doku oksijenasyonu da artar.

Ağır metaller ve cıva klorür ile ilgili 2,3-DPG düzeylerinin araştırıldığı çalışmaya rastlanılmamıştır. Bizim çalışmamızda; cıva klorür grubu 2,3 DPG düzeyi kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek, koruyucu olarak propolis ise kontrol değerlere yaklaşımlı vardır. Cıva klorür uygulanan bu grupta eritrositlerdeki enerji kaynaklarının azalmış olması dokuların dolayısıyla vücudun ihtiyacı olan oksijeni sağlayamamış olması nedeniyle 2,3 DPG miktarında artış olduğu muhtemeldir.

Deformabilite, eritrositlerin dinamik bir özelliğidir. Normal hücre fonksiyonu için gerekli ve dolaşımın sürekliliği için önemlidir. Deforme olabilen eritrositlerin kan akımına katılmaları daha kolay olur. Eritrositlerin reolojik özellikleri, hem büyük damarlardaki hızlı akım koşullarında, hem de kapiller dolaşımında önem kazanır. Eritrositlerin kendi çaplarından (8 $\mu$ ) çok daha küçük çapa sahip (3 $\mu$ ) damarlardan geçebilmesi için üstün bir deformabilite yeteneğine sahip olmaları gerekir. Geniş anlamda eritrosit deformabilitesi, eritrositlerin mikrodamarlardan geçme yeteneğini düzenleyen hücresel özelliklerin bileşimidir. Hücre deformabilitesinin azalması, eritrositlerin yaşam sürelerini de kısaltmaktadır (52,55). Hücre zarının normal visko-elastik özelliklerini koruyabilmesi, hücre içi homeostazisi ile yakın ilişkilidir. Hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonunun artışı, membranın viskoz özelliklerini artırır, eritrosit deformabilitesini azaltır. Eritrosit membran lipidleri ve iskelet proteinleri

oksidatif hasara karşı duyarlıdır. Oksidan hasar sonucu ortaya çıkan proteinler arası çapraz bağlantılar eritrosit mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkiler (68,79).

Civa intoksikasyonunda yüksek shear stres (60.00)'de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ancak düşük shear stres(3.00)'de kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı fark yoktur. Gerek düşük shear stresde gerekse yüksek shear stresde koruyucu olarak verilen propolis de istatistiksel anlamlı fark yoktur. Civa klorürün eritrosit deformabilitesinde olumsuz etki gösterdiği ve bu olumsuz etkiyi kısmen azalttığı görülmüştür.

Sonuç olarak;

Civa klorür, uygulanan süre ve dozlarda (3 gün 4 mg/kg) toksik etkilere neden olmuştur;

- a) Hematolojik parametreler açısından önemli bir değişiklik olmazken lökosit sayısında önemli oranda artış, trombosit sayısında ise azalma meydana gelmiştir.
- b) Serum potasyum, methemoglobin ve 2,3-DPG miktarları ile % hemoliz oranları önemli ölçüde artmıştır.
- c) Eritrositlerin uzama indeksleri özellikle yüksek shear streslerde belirgin bir azalma göstermiştir.

Koruyucu olarak verilen propolis (200mg/kg), civa toksisitesinden bir gün önce bile verilse, civa intoksikasyonu ile görülen olumsuz etkileri önlemiştir;

- a) Civa toksitesi ile oluşan lökosit artışı ve trombosit azalışı önemli oranda önlenmiştir.
- b) Serum potasyum düzeyleri hariç, methemoglobin ve 2,3-DPG miktarları ile % hemoliz değerlerindeki artışlar büyük oranda önlenmiştir.

Bu bulgular ışığında; kısa süreli de olsa civaya maruz kalma (eritrositlerin membran özelliklerini bozmakta) eritrositlerin mekanik ve reolojik özelliklerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Bu etki muhtemelen civanın bilinen oksidatif hasarının sonucu olabilir. Birçok faydalı etkisi bilinen propolis ise, kısa süreli verilse bile eritrosit membranları için koruyucu olabilmektedir. Propolisin daha uzun süre kullanımı ve uygulanması koruyuculuk özelliğini muhtemelen artıracaktır. Propolisin civa klorür

intoksikasyonunda görülen bu koruyuculuğu diğer ağır metal intoksikasyonlarında test edilmelidir. Bu çalışma başta ağır metal işçiliğinde çalışan işçilerin olmak üzere, civa toksisitesine maruz kalması muhtemel kişilerin sağlığı ve korunmaları açısından önemli olduğu kadar, civa toksisitesinin ve propolisin eritrositlerin reolojik özellikleri üzerine etkisini inceleyen ilk araştırma olması açısından da önem arz etmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Çağlarırnak N, Hepçimen Z, Ağır Metal Toprak kirliliğinin gıda zinciri ve insan sağlığına etkisi. Akademik Gıda, 2010; 8:31-35
2. Kahvecioğlu Ö, Kartal G, Güven A, ve ark. Metallerin Çevresel Etkileri. İTÜ Metalurji ve Malz. Müh. Böl. İstanbul //www.metalurji.org.tr/dergi/dergi137/d137\_4651.pdf [erişim tarihi: 11.02.2011]
3. Özmert S, Cu(II), Zn(II) ve Cd(II) Metallerini Sulu Çözeltilerinden Pomza ve Kompozit Kullanarak Uzaklaştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya A.B.D Yüksek Lisans Tezi, Isparta. 76 , 2005.
4. Tezel H, Korkut Z, Özata F. Amalgamın hasta sağlığı üzerine etkileri, Erciyes Üniversitesi Dergisi. 2004;25:31-39
5. McGegor T, Parkar M, Rao S. Evaluation and management of common childhood poisonings. Am Fam Physician. 2009;79:397-403.
6. Attar N, Önen A, Civanın çevreye olan etkisi ve biyoyumluluğu, Hacettepe Derg 2002;26:56-64.
7. Muir M. Current controversies in the diagnosis and treatment of heavy metal toxicity. Alternative and Comp Ther 1997:170-178
8. Pascual C, Gonzales R, Toricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. J Ethnopharmakol 1994; 41: 9-13.
9. Krol W, Czuba Z, Scheller S, Grabiec S, Shani J. Anti-oxidant property of etanolic Extract of propolis evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of Luminol. Biochem Int 1990; 21: 593-597.

10. Bonvehi J, Coll V. Study on propolis quality from China and Uruguay, *Z Naturforsch* 1995; 26: 83-99.
11. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis, In *Food Chemistry and Toxicology* 1998; 36: 347-363.
12. Arslan S, Perçin D, Silici S, et al. The in vitro effects of propolis extracts prepared with different solvents on mutans streptococci. *Journal of Health Sciences* 2010; 3:68-73.
13. Tosi B, Donini A, Romagnoli C, et al. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother Res* 1996; 10: 335-336.
14. Huang WC, Juang SW, Liu IM, et al. Changes of superoxide dismutase gene expression and activity in the brain of streptozocin-induced diabetic rats. *Neurosci Lett.* 1999;5: 25-28.
15. Sforzin JM. Propolis and the immune system: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 113: 1-14.
16. Celkan T, Apak H, Özkan A, et al. Demir eksikliği anemisinde önlem ve tedavi. *Türk Pediatri arşivi* 2000 ;35: 226-231.
17. Danishefsky, I., *Biochemistry for Medical Sciences*, 1st ed. Boston, Little Brown and Company, 1980; 184: 286-288, 335-336, 467,468.
18. Guyton, AC (Çeviren: Gökhan N, Çavuşoğlu H.): *Fizyoloji (Textbook of Medical Physiology 7.Ed)*, 1.Bas, İstanbul, Merk Yayıncılık, 2000;711-712.
19. Gökhan N, Çavuşoğlu H., Kayserilioğlu A., *İnsan Fizyolojisi*, İstanbul, Filit Kitabevi, 2006; pp774-777.
20. Şengül İ, Civa zehirlenmesine dikkat, *Popüler Bilim*; şubat 2006; 13: 144-147
21. Önal B. Amalgam toksikolojisi. *İzmir Oda Derg* 1995;4:28-34.
22. Sağlık Bakanlığı, RSHMB, Hıfzıssıhha mektebi müdürlüğü. *Birinci Basamağa Yönelik zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri Kitabı* 2007;227-32
23. Can H, Kıray E, Taştan Y, Özkan HÇ., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Acil Servisinde izlenen zehirlenme olguları. *Türk Pediatri Arşivi* 2003;38:233-239.
24. Houston MC. The role of mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction, *Altern Ther Health Med* 2007;13: 128–133.
25. Benson WH, Di Giulio RT. Biomarkers in hazard assessments of contaminated sediment. In: *Sediment Toxicity Assessment*. 1992;241-256.
26. Akbulut A. Akbulut E N. The study of heavy metal pollution and accumulation in water, sediment, and fish tissue in Kızılırmak River. *Basin in Turkey Environ Monit Assess* 2010; 167:521–526.

27. Nielen JB, Anderson O. Effect of fourthial-containing chelators on disposition of orally administered mercury chloride Hum. Exp. Toxicol 1991; 10:423-430
28. Dökmeçi I. Toksikoloji: Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. 3. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2001:1-52.
29. Bakar C, Baba A, Metaller ve İnsan Sağlığı: Yirminci Yüzyıldan Bugüne ve Geleceğe Miras Kalan Çevre Sağlığı Sorunu. 1. Tıbbi Jeoloji Çalıştayı. 2009;56-58.
30. Berlin M, Gibson S. Renal uptake, excretion and retention of mercury. A study in the rabbit during in fusion of mercuric chloride. Arch Environm Health, 2003; 6:617-625.
31. Langford NJ, Ferner R. Toxicity of mercury. Journal of human Hypertension 1999; 13:651-656.
32. Özkol S. Metal kullanımı ve sağlık açısından riskleri. Madencilik Bülteni 1996; 49: 6-7.
33. ATSDR, Toxicology Profile for Mercury. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta. 2000:2;25-27.
34. Popova M, Silici S, Kaftanoğlu, O, Bankova V. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. Phytomedicine 2005;12: 221-228.
35. Kumazawa S, Kajiya K, Ishii T, ve ark. Studies of the Constituents of Uruguay Propolis, Agricultural and Food Chemistry, 2004;50; 4777-4782.
36. Silici S. Propolisin Bazı Antimikrobiyel ve Farmakolojik Aktiviteleri Üzerine Bir Arastırma, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 2003.
37. Skoog D, Holler J, Nieman T. Enstrümantal Analiz İlkeleri, Bilim Yayıncılık, Yayın No 1, Ankara, 2000:57-58.
38. Ziaran HR, Rahmani HR, Pourreza J. Effect of dietary oil extract of propolis on immune response and broyler performance. Pakistan Journal of Biological Sciences 2005;8: 1485-1490.
39. Velikova M, Bankova V, Marcucci M, et al. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian Meliponinae, Z Naturforsch 2000; 55: 785-789.
40. Bankova V, Marcucci M, Castro S. Propolis recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie 2000;31: 3-15.
41. Sorkun K, Süer B, Salih B. Determination of chemical composition of Turkish propolis Z. Naturforsch 2001;56: 666-668.
42. Scheller S, Wilczok T, Imielski S, et al. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. Int J Radiat Biol 1990; 65: 461-463.

43. Tatlı Seven P, Seven İ. Effect of dietary Turkish propolis as alternative to antibiyotic on performance and digestibility in broilers exposed to heat stress. *Journal of Applied Animal Research*. 2008;34: 193-196.
44. Silici S, Kutluca S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;99: 69-73.
45. Nada O, Ivan B. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: A factor of antitumor reactivity. *J Ethnopharmacol*. 2003; 84: 265-273.
46. Isla MI, Moreno MI, Sampietro AR, et al. Antiooxidant activity of Argentine propolis extracts. 2001;76:165-170.
47. Türkez H, Yosuef MI, Geyikoğlu F. Propolis prevents aluminum-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48: 2741-2746.
48. Koc AN, Silici S. Comparative study of in vitro methods used to analyse the antifungal activity of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes*, *Annals of Microbiology*. 2008; 58: 543-547.
49. Ozkul Y, Silici S, Eroğlu E. The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture, *Phytomedicine*, 2005;12: 742-747.
50. Kanbur M, Eraslan G, Silici S. Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2009; 72: 909-915.
51. Celle T, Heeringa P, Strzelecka A E, et al. Sustained protective effects of 7-monohydroxyethylrutoside in an in vivo model of cardiac ischemia-reperfusion. *European Journal of Pharmacology*. 2004;494: 205-212.
52. Onlen Y, Tamer C, Oksüz H. et al. Comparative trial of different anti-bacterial combinations with propolis and ciprofloxacin pn *Pseudomonas* kreatitis in rabbits. *Microbiol Res*. 2007; 162: 62-68.
53. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Chemical and Pharmacological Aspects Naples*. 2002;73: 53-63.
54. Copley A L. The reology of blood. A survey. *J. Colloid Sci* 1992;7:323-333.
55. Guyton AC, Hall JE. *Medical Physiology*. Çeviri; Çavusoglu H, Çağlayan Yegen B. Nobel Matbaacılık. İstanbul. 2007;455-458.
56. Fung YC, *Biomechanics, Mechanical Properties of Living Tissues*. Springer-Verlag, 1993, Berlin, 328-330.
57. Noyan A. *Fizyoloji Ders Kitabı*, 2. Baskı, Ankara, Meteksan Baskı Tesisleri, 1992; 323-336, 445-446.

58. Cicha I, Suzuki Y, Tateishi N, et al. Enhancement of red blood cell aggregation by plasma triglycerides, *Clin Hemorheol Microcirc* 2001; 24: 247-255.
59. Kathukhin LN, Kazennov AM, Maslova MN, et al. Rheologic properties of mammalian erythrocytes: relationship to transport ATPases. *Comp Biochem Phys* 1998;120:193-498.
60. Bhagavan, NV, *Biochemistry*, Philadelphia, JB. Lippincott Company, 1979; 21: 407-471, 718-721.
61. Lehninger AL.: *Biochemistry*, 2.Bas., New York, Worth Pub Ushers Inc. 1982; 708: 192-193.
62. Keha E. Genel Biyokimya II, Atatürk Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Ders Notları, Erzurum, 1994; pp 15-16.
63. Harper HA, Rodwell V. *Review of Physiological Chemistry*, Lebanon, Lange Medical Publications, 1999: pp210-212.
64. Lozoff B, Brittenham GM, Wolf AW, et al. Iron deficiency Anemia and iron therapy effects on infant developmental test performance *pediatrics* 1987; 79; 981-95.
65. Benesch R, Benesch RE. Intracellular Organic phosphates as regulators of oxygen release by hemoglobin *Nature* 1993;221:618-622.
66. Luque J, Diedreich D Gnsolia S. Binding of 2,3-DPG to oxyhemoglobin, *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;36:1019-1023.
67. Martin DW. *The Chemistry of Respiration*, Martin W, Mayes PA, Rodwell, VW ve Granner DK. Harper's Review of Biochemistry, Los Altos, Lange Medical Publications, 1995; pp610-620.
68. Chien. Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Ann Rev Physiol* 1997;49:199-192.
69. Seaman GV, Swank RL. The influence of electrokinetic charge and deformability of the red blood cell on the flow properties of its suspensions. *Biorheology* 1997; 4:47-59.
70. Baskurt OK. Hemoreolojide temel ve kavramlar, 2. Ulusal Tromboz, Hemostaz ve Anjiyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, The Marmara Hotel, İstanbul, 07-08 Kasım 2001; ss:33-42.
71. Ramakrishnan S, Grebe R, Singh M, et al. H.Influence of local anaesthetics on the aggregation and deformability of erythrocytes. *Clin Hemorheol Micro* 1999;20:21-26.
72. Agar NS, Harley JD, Gruca MA, et al. Erythrocyt 2,3-DPG in anemic sheep, *Expenentia* 1997;33:275-277.
73. Uzel C, Conrad ME. Absorbtion of Heme Iron. *Semin Hematol*; 1998; 35: 27-34.
74. Luque J, Diedreich D, Gnsolia S. Binding of 2,3-DPG to oxyhemoglobin. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;36:1019-1023.

75. Bull B, Stuart B J, Juhan-Vague J. Normal and pathologic determinants of erythrocyte deformability. J Chayen and L. Bitensky, Investigate Microtechniques in Medicine and Biology, Marcel-Decker, New York 1984;5: 257-260.
76. Noyan A. Yasamda ve Hekimlikte Fizyoloji.10. Baskı. Ankara. 1998: ss120-124.
77. Shin S, Ku Y, Park MS, et al. Measurement of red cell deformability and whole blood viscosity using laser-diffraction slit rheometer. Rheology 2004;16:85-90.
78. Weed RI. The importance of erythrocyte deformability. Am Jour Med 1990;49:147-150.
79. Dikmenoğlu N. Kükürt Dioksit solunmasının Eritrosit Deformabilitesine Etki Mekanizmasında Lipit Peroksidasyonunun Yeri, Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 1991:ss42-44 .
80. Canham PB. The minimum energy of bending as possible explanation of the biconcave shape of human red cell. J Theoret Biol 1990; 26:61-81.
81. Hebbel P. Erythrocyte antioxidants and membrane vulnerability. J Lab Clin med. 1996;107:401-404.
82. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Third Edition, Oxford Science Publications, 2001: pp22-24.
83. Mates JM, Perez-Gomez C, Castro IN. Antioxidant enzymes and human disease. Clin Biochem 1999;32:595-603.
84. Blakely WF. Hydrogen peroxide induced base damage in DNA. Radiat Res 1990;121:338-343.
85. Walter T. Effect of Iron-Deficiency Anaemia on Cognitive Skills in Infancy and Childhood. Bailli Eres Clinical Haematology. 1994;7:815-827.
86. Brecher G, Bessis M. Present status of spiculed red cells and their relationship to the discocyte-echinocyte transformation: A critical review. Blood 1992;40:333-344.
87. Weed RI, Bessis M, The Discocyte-stomatocyte equilibrium of normal and pathologic red cells Blood 1989;42:1316-1317.
88. Simmons A, Hematology. A Combined Theoretical and Technical Approach, ed. Vol. 1997;19:283-286.
89. Kalinyak KA, Anemias and Other Disorders of Red Blood Cells. In; Osborn CM, De Witt TG, First CR, Zenel TA. Pediatrics Elsevier Musby, Philadelphia 2005; 686-691.
90. Harper HA, Rodwell VM, May PA. Review of Physiological Chemistry, Lebanon, Lange Medical Publications, 1999;15:210-212
91. Beliles R. Metals, in Toxicology. The Basic Science of Poisons. L.J. Casarett &..1. Dital Co, Inc., New York,1995;20:196- 197.

92. Cordle F, Kolbye AC. Environmental Contaminants in Food in Nutritional Toxicology. JN Hathcock (Ed.), Academic Press, New York. 1982;12:85-87.
93. Anonymous Mercury-Environmental aspects. Environmental Health Criteria, No: 86 (United Nations Environment Programme, International Labour Organisation, WHO). 1999 pp:124-126.
94. Konuk T. Pratik Fizyoloji. 2. Baskı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınlar, Ankara. 1981;ss:78-89.
95. Hounkpatin ASY, Johnson RC, Guedenon P, et al. Protective effects of vitamin C on hematological parameters in intoxicated Wistar rats with cadmium, mercury and combined cadmium and mercury. International Research Journal of Biological Sciences 2012;13:76-81.
96. Jun- Hun K, Jung-Sick L, Ju-Chan K. Effect of inorganic mercury on hematological and antioxidant parameters on olive flounder *paralichthys olivaceus*. Fish Aquat Sci. 2012;15:215-220.
97. Maheswaran R, Devapaul A, Muralidharan S, et al. Haematological studies of fresh water fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride. International Journal of Integrative Biology, 2007;16:56-59.
98. Cogun HY, Firat O, Yüzereroğlu TA, et al. Protective effect of selenium against mercury-induced toxicity on hematological and biochemical parameters of *oreochromis niloticus*. J Biochem Molecular Toxicology, 2012;3:13-15.
99. Turgut S, Kucukatay M, Emmungil G, et al. The effects of low dose aluminum on hemorheological and hematological parameters in rats. Arch Toxicol. 2007;81:11-17
100. Nashva A, Mahitab AH, Amira HM. Clinicopathological and cytogenetic studies on the ameliorative effect of propolis against profenofos toxicity in rats. Global Veterinaria. 2012;25:669-682
101. Ashok P, Kumud J, Bharat K, and et al. Effect of indian propolis on haematological parameters in experimentally induced hyperlipidemic male albino rabbits. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2012;11:974-2441.
102. Kamel K I, El- Hanoun M, El-Sbey M, et al. Gad effect of bee propolis extract (bee glue) on some productive, reproductive and physiological traits of rabbits does and their progenys. Inter. Con on Rabbit Prod. in Hot Clim., Hurghada, Egypt. 2007;8:403-415.
103. Selamoğlu T Z, Dundar S, Gulhan M, et al. Eeffects of propolis on some blood parameters and enzymes in carp exposed to arsenic. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2011; 11:405-414.
104. Thiermann H, Szinicz L, Eyer F, et al. Modern strategies in therapy of organophosphate poisoning. Toxicol Lett 1999;107:233-239.

105. Şireli M, Sağmanlıgil V, Pişkin İ. Kobaylarda amitraz zehirlenmesinin methemoglobin ve hemolitik anemi oluşumu üzerine etkisi. *Tübitak*. 2000; 9:97-101
106. Şireli M, Sağmanlıgil V, Emre B, ve ark. Kobaylarda akut nitrit zehirlenmesinin methemoglobin ve hemolitik anemi oluşumu üzerine etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 1995; 9:513-517.
107. Bayram M, Özkoczman V, Yeşilbursa D, ve ark. Transösefagial ekokardiyografi sırasında topikal anestezi için lidokain uygulanan bir hastada gelişen methemoglobinemi *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2011;2: 99-101.
108. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, ve ark. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44-84.
109. Blumberg J. Use of biomarkers of oxidative stres in research studies. *J Nutr*. 2004;134:3188-3189.
110. Eraslan G, Kanbur M, Silici S, ve ark. Effect of bee polen on some biochemical parameters given propxure in rat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2009;16: 86-91.
111. Jun-Quan Z, Yi-Fei W, Monika B, et al. Protective effects of propolis on inorganic mercury induced oxidative stres in mice. 2009;14:264-269.
112. John S, Kale M, Rathore N, et al. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes, *Journal of Nutritional Biochemistry* 2001;12:500-504.
113. Bhadauria M, Nirala K, Shukla S. Propolis protection from reproductive toxicity causedby aluminium chloride in male rats. *Food Chem Toxicol* 2000;47: 1168-1175.
114. Lemery L. Oh, No! It's hemolyzed! What, why, who, how? *Advaşnce for Medical Laboratory Professionals* 1998;7:24-25.
115. Eraslan G, Kanbur M, Silici S, et al. Effect of bee polen on some biochemical parameters given propxure in rat. *İkinci Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi*, 2007;22:54-55.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Kadriye ERCİŞ  
**Doğum Tarihi** : 17.06.1985  
**Doğum Yeri** : Kayseri  
**Unvanı** : Hemşire  
**Medeni Durumu** : Evli  
**İs Tecrübesi** : Erciyes Üniversitesi Acil Hemşiresi  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### 1. Öğrenim Durumu:

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Hemşirelik	Niğde Üniversitesi	2003-2007
Y. Lisans	Fizyoloji	Erciyes Üniversitesi	Halen

**Adres** : Erciyes Üniversitesi Acil Servis

**Tel** : 5446910396

**E-mail** : kadik38@hotmail.com