

**KADMİYUMUN RAT (*Wistar albino*)
KARACİĞERİNDE OLUŞTURDUĞU
HİSTOLOJİK HASAR ÜZERİNE
ANTIOKSİDAN SELENYUMUN ETKİLERİNİN
IŞIK MİKROSKOBU DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI**

ÖMÜR DENİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KADMİYUMUN RAT (*Wistar albino*)
KARACİĞERİNDE OLUŞTURDUĞU
HİSTOLOJİK HASAR ÜZERİNE
ANTIOKSİDAN SELENYUMUN ETKİLERİNİN
IŞIK MİKROSKOBU DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI**

ÖMÜR DENİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. BANU EREN

SAMSUN-2011

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından 22/08/2011 tarihinde yapılan sınav ile BİYOLOJİ Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Filiz KARAGÖZ



Üye : Prof. Dr. Ünal ZEYBEKOĞLU



Üye : Yrd. Doç. Dr. Banu EREN



ONAY :

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.... / /

Prof. Dr. Hasan GÜMÜŞ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**KADMIYUMUN RAT (*Wistar albino*) KARACİĞERİNDE OLUŞTURDUĞU
HİSTOLOJİK HASAR ÜZERİNE ANTİOKSİDAN SELENYUMUN
ETKİLERİNİN IŞIK MİKROSKOBU DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışmada, en önemli endüstriyel ve çevresel kirleticilerden biri olan ve canlılar üzerinde çeşitli toksik etkilere neden olan kadmiyum ile güçlü bir antioksidan olarak bilinen selenyumun karaciğerde oluşturduğu histolojik değişiklikler ışık mikroskobu düzeyinde araştırılmıştır.

Bu amaçla kadmiyum, selenyum, kadmiyum+selenyum ve kontrol grubu olmak üzere 4 grup hayvan kullanılmıştır. Ratlara (*Wistar albino*) kadmiyum ve selenyum gavaj yoluyla verildikten sonra 1., 6., ve 28. günlerde kardiyak perfüzyon işleminin ardından karaciğerleri çıkarılmıştır.

Karaciğerlerin fiksasyonu %10'luk tamponlanmış nötral formalin ile yapıldıktan sonra rutin histolojik işlemler uygulanmıştır. Preparatlar hematoksilin-eosin (H-E), Masson'un üçlü boyaması ve periodik asit-schiff (PAS) teknikleri ile boyanmıştır.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre; kadmiyumun etkisiyle, karaciğerde hidropik dejenerasyon, sinüzoidlerde genişleme, inflamasyon odakları gözlenmiştir. Sadece selenyum verilen gruplarda sinüzoidlerde hafif şiddette genişlemeler dışında karaciğerde belirgin bir değişiklik olmamıştır. Kadmiyum ve selenyumun birlikte verildiği gruplarda ise, sadece kadmiyum verilen gruplara göre daha az histolojik değişiklikler gözlenmiştir.

Bu bulgular, bir serbest radikal süpürücüsü olan selenyumun, kadmiyumun serbest radikal oluşumunu indükleyerek karaciğerde meydana getirdiği oksidatif hasarı azalttığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Kadmiyum, selenyum, karaciğer, histolojik değişiklikler.

**LIGHT MICROSCOPIC INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT EFFECTS OF
SELENIUM ON CADMIUM INDUCED HEPATOTOXICITY IN RAT (*Wistar
albino*) LIVER**

ABSTRACT

In this study, histologic changes induced by cadmium which is the most important industrial and environmental pollutant and caused various toxic effects in life and selenium which is known as a strong antioxidant, were investigated under light microscopy. For this purpose, four groups of animals were used as selenium, cadmium, cadmium+selenium and control groups. Cadmium and selenium were given via gavage rats (*Wistar albino*), their livers were removed at 1th, 6th, 28th after cardiac perfusion. After isolated livers were fixed in %10 buffered neutral formalin, routine histological processes were applied and sections were stained by hematoxylin-eosin (H-E), Masson's trichrome and Periodic acid-Schiff (PAS).

According to results obtained in our study; histologic changes such as hydropic degeneration, dilation at sinusoids and inflammatory foci induced by cadmium were determined. It was seen that using only selenium didn't cause any obvious differentiation on liver except mild sinusoidal dilation. When cadmium and selenium were given together, the degree of histological changes induced by cadmium and selenium, was less than cadmium alone.

These findings show that selenium, as a free radical scavenger, decreases the oxidative damage that cadmium causes in liver by induced free radical formation.

Key Words: Cadmium, selenium, liver, histological changes.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sırasında yetişmemde büyük emeği olan ve tez çalışmamın sonuçlanmasında değerli fikir ve önerileriyle çalışmama katkıda bulunan, yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam, Genel Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Banu EREN'e,

Projeme verdiği destekten ötürü Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje-Yönetimi Ofisine,

Bu süre içerisinde yakın ilgilerini ve desteklerini esirgemeyen Biyoloji Bölümü hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Yaşamım boyunca her anlamda beni destekleyen, her zaman içtenlikleriyle ve sevgileriyle yanımda olan sevgili annem ve babama sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
	<u>NO</u>
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hücre zedelenmesi	4
2.2. Hücre Zedelenme Şekilleri ve Morfolojisi	5
2.2.1. Geri Dönüşümlü (Reversible) Hücre Zedelenmesi	5
2.2.2. Geri Dönüşümsüz (Irreversible) Hücre Zedelenmesi	6
2.2.2.1. Nekroz	7
2.2.2.2. Apoptozis	8
2.3. Toksik Kimyasal Hasar	10
2.4. Hücre Zedelenmesinde Serbest Oksijen Radikalleri	10
2.4.1. Serbest Radikal Kaynakları ve Verdiği Hasarlar	12
2.4.2. Reaktif Oksijen Türleri ve Diğer Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri	13
2.5. Karaciğer	14
2.6. Ağır Metaller	16
2.6.1. Kadmiyum	18
2.6.1.1. Kadmiyumun Metabolizması	19
2.6.1.2. Kadmiyumun Olumsuz Etkileri	20
2.6.1.3. Kadmiyumun Etki Mekanizması	22
2.7. Selenyum	24
2.7.1. Selenyumun Emilimi, Dağılımı ve Atılımı	26
2.7.2. Selenyumun Biyolojik Önemi ve Vücuttaki İşlevleri	26
2.7.3. Selenyum Eksikliği ve Etkileri	27

3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Deneşlerde Kullanılan Hayvanların Sağlanması	29
3.2. Ratlara Uygulanan Maddeler	29
3.3. Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.4. Çalışmalarda Kullanılan Aletler	30
3.5. Deney Protokolü	31
3.5.1. Araştırma Gruplarının Oluşturulması	31
3.5.2. Maddelerin Uygulanışı	31
3.5.3. Rat Karaciğerlerinin Perfüzyonu, ıkarılması Ve Fiksasyonu	31
3.5.4. Doku Takibi ve Dokuların Parafine Gömülmesi	32
3.5.5. Parafin Bloklardan Kesit Alınması	33
3.5.6. Kesitlerin Boyanması	33
4. BULGULAR	35
4.1. Kontrol Grubunun Karaciğer Histolojisi	35
4.2. Kadmiyumun Karaciğer Üzerindeki Histolojik Etkileri	35
4.3. Selenyumun Karaciğer Üzerindeki Histolojik Etkileri	36
4.4. Kadmiyum+selenyumun Karaciğer Üzerindeki Histolojik Etkileri	37
5. TARTIşMA	58
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	62
7. KAYNAKLAR	63
ÖZGEçMİş	

ŞEKİLLER LİSTESİ

	SAYFA NO
Şekil 2.1. Karaciğerde hidropik değişiklikler	6
Şekil 2.2. Apoptotik cisimciklerin elektron mikroskopik görüntüsü	9
Şekil 2.3. Kadmiyum etkisiyle oluşan olası oksidatif stres	23
Şekil 2.4. Bitki ve hayvanlarda selenyumun alınımı	25
Şekil 3.1. <i>Wistar albino</i> tipi ratlar	29
Şekil 3.2. A) Rat karaciğerinin perfüzyondan önceki görüntüsü	32
B) Rat karaciğerinin perfüzyondan sonraki görüntüsü	32
Şekil 4.1. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	39
Şekil 4.2. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü (PAS)	40
Şekil 4.3. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü (Masson'un üçlü boyaması)	41
Şekil 4.4. Kadmiyum 1. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	42
Şekil 4.5. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	43
Şekil 4.6. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	44
Şekil 4.7. Kadmiyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	45
Şekil 4.8. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (PAS)	46
Şekil 4.9. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (Masson'un üçlü boyaması)	47
Şekil 4.10. Selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	48
Şekil 4.11. Selenyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	49
Şekil 4.12. Selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (PAS)	50

Şekil 4.13. Selenyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (Masson'un üçlü boyaması)	51
Şekil 4.14. Kadmiyum+selenyum 1.gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	52
Şekli 4.15. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	53
Şekil 4.16. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	54
Şekil 4.17. Kadmiyum+selenyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (H-E)	55
Şekil 4.18. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (PAS)	56
Şekil 4.19. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü (Masson'un üçlü boyaması)	57

ÇİZELGELER LİSTESİ

	SAYFA NO
Çizelge 3.1. Araştırma gruplarının oluşturulması	31
Çizelge 4.1. Kadmiyum gruplarının yarı kantitatif değerlendirilmesi	36
Çizelge 4.2. Selenyum gruplarının yarı kantitatif değerlendirilmesi	37
Çizelge 4.3. Kadmiyum+selenyum gruplarının yarı kantitatif değerlendirilmesi	38

1.GİRİŞ

Çağımızda doğal dengeyi, insan, bitki ve hayvan sağlığını tehdit eden en önemli tehlikelerin başında çevre sorunları gelmektedir. Bilimsel ve teknolojik gelişmeler, bir taraftan çok sayıda kimyasal maddenin faydalı amaçlar için kullanılmasına olanak verirken, diğer taraftan birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Sanayileşme ve dolayısıyla daha modern bir yaşam sağlama amacıyla sürdürülen tüm çalışmalar, gerekli önlemler alınmadığında çevre kirliliğine neden olmaktadır. Çevre kirliliğine neden olan kimyasal kirleticiler arasında; çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve daima biyolojik sistemlere yönelik etki göstermeleri nedeniyle ağır metaller ayrı bir önem taşır. Bu metaller kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikebilir (Ceylan ve Şanlı, 1980; Kamal ve ark., 2004). Ağır metal toksisitesi hemen hemen tüm fizyolojik mekanizmalar üzerine doğrudan ve dolaylı etkilere sahiptir ve toksisitenin patofizyolojisi genel olarak benzerdir (EL-Sokkary ve ark., 2005). Toksik metaller tarafından oluşan hasarın çoğu sebep oldukları oksidatif serbest radikallerin artışından kaynaklanmaktadır. Bu hasarlar artan lipid peroksidasyonunu, DNA hasarını ve protein sülfidril gruplarının oksidasyonunu içermektedir (Stohs ve Bagchi, 1995; Leonard ve ark., 2004). Toksikite oluşumunda; doz, etkilenme yolu, etkilenme süresi ve sıklığı önemlidir. Diğer taraftan etkilenilen maddenin kimyasal şekli, diğer kimyasallarla etkileşimi, yaşam biçimi, bağışıklık sistemi de toksisiteyi değiştirebilir (Goyer ve Clarkson, 2001). Endüstriyel ve çevresel kirletici olarak önemi son yıllarda daha da belirginleşen, çevredeki en toksik ağır metallere kadmiyumdur (Prozialeck ve ark., 2006).

Kadmiyum; esansiyel olmayan, endüstriyel alanlarda, yiyeceklerde ve toprakta konsantrasyonu yüksek seviyelere ulaşan, besin zincirine de dahil olabilen ve kaygı uyandıran çevresel toksik bir metaldir (Thijssen ve ark., 2007). Bu metal endüstriyel olarak nikel/kadmiyum pillerde, gemi sanayisinde, çeliklerin kaplanmasında, boya sanayisinde, alaşımlarda ve elektronik sanayisinde kullanılır. Bunun dışında fosfatlı gübrelerde, deterjanlarda ve rafine petrol türevlerinde bulunur ve bunların yaygın kullanımı sonucu önemli miktarda kadmiyum kirliliği ortaya çıkar. Ayrıca kadmiyum sigaradaki majör bileşiklerden biridir (Aydoğdu ve ark., 2007). Kullanım alanlarının yaygınlığı ve sigarada da yüksek miktarda bulunması, bu metalin toksik etkilerinin yaygın çalışılan bir konu

haline gelmesine neden olmuştur. (Satoh ve ark., 2002). Deneysel ve çevresel olarak bu metalden etkilenilmesi halinde; testiste atrofi, renal fonksiyon kaybı, hepatik hasar, anemi, solunum ve sindirim sistemi bozuklukları gibi ciddi rahatsızlıklar ortaya çıkmaktadır (Yiin ve ark., 1999; Nigam ve ark., 1999). Bazı çalışmalarda ise kadmiyumun mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Van Leeuwen ve ark., 1985; Duttagupta ve Ghosh, 1984; Uysal ve Bahçesi, 1997). Kadmiyum; kas, beyin, kemik gibi dokulara oranla daha çok karaciğer ve böbrek dokularında birikmektedir. Karaciğer ve böbrek dokuları kadmiyumu bağlayarak toksik etkisinin önlenmesinde işlev yapan düşük molekül ağırlıklı proteinlerin (Metallothionein) başlıca sentez yerleridir (Thomas ve ark., 1983). Kadmiyumun oluşturduğu hücrel toksisitenin oksidatif stres ile ilişkili olduğu, süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve nitrik oksit üretimine yol açtığı ve lipid peroksidasyonunu arttırdığı, antioksidan enzimlere zarar verdiği, tiol proteinlerde değişikliklere yol açtığı, enerji metabolizmasını inhibe ettiği, DNA yapısını ve membran fonksiyonlarını bozduğu bildirilmiştir (Hwang ve wang, 2001; Casalino ve ark., 2002; Jurczuk ve ark.,2004; Mercan, 2004; Lopez ve ark., 2006). Kadmiyumun bu toksik etkilerinden antioksidan sistemler yoluyla korunulabilir (Shaikh ve ark.,1999).

Selenyum; serbest radikallerin üretimini önlemek için gerekli olan, doymamış yağ asitlerinden türeyen, peroksidleri yok ettiği düşünülen, glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesinin sağlanması için gerekli olan önemli bir kofaktördür (Fox, 1992). Bazı metabolik hastalıkların ve kanser türlerinin önlenmesinde rol oynayan selenyumun biyolojik önemi, antioksidan özellikteki glutatyon peroksidaz (GSH- Px) enziminin kofaktörü olmasından kaynaklanmaktadır. Her alt ünitesinde selenosistein şeklinde bir adet selenyum atomu içeren glutatyon peroksidaz, hücre içerisinde hidrojen peroksitin suya indirgenmesinde rol oynar (Gebre-Medhin ve ark., 1984). Son yıllarda çevredeki ve besinlerdeki seviyelerine bağlı olarak toksik veya gerekli element olarak insanda bulunmasından dolayı selenyum ile ilgili çalışmalar artmıştır. Bu elementin siroz, kanser, diabetes veya kalp damar rahatsızlıklarını önlemek veya tedavi etmek için optimum günlük alınımın ne kadar olacağı hakkında çeşitli farklı görüşler vardır. Bir çok hayvanda ve epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlar birkaç dejeneratif hastalığa karşı selenyumun besinsel bir faktör olarak koruyucu etkisinin olabileceği belirlenmiştir

(Simonoff ve ark., 1992). Selenyum bağımlı enzimlerin reaktif oksijen radikallerini yıkarak oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olduğuna dair çok sayıda çalışma vardır. İnsanlarda birçok biyolojik fonksiyona sahip olan selenyumun en önemli ve bilinen fonksiyonu antioksidan etkisidir (Tapiero ve ark., 2003, Ramoutar ve Brumaghim, 2007).

Bu bilgiler ışığında bu çalışmada, en önemli endüstriyel ve çevresel kirleticilerden biri olan kadmiyum ve serbest radikal süpürücüsü olarak doğada önemli bir antioksidan olan selenyum gavaj yoluyla ratlara verilmiştir. Kadmiyumun ratların (*Wistar albino*) karaciğerinde radikal kaynaklı hücre zedelenmesi oluşturup oluşturmadığı zamana bağlı olarak incelenmiştir. Kadmiyuma bağlı olarak oluşabilecek olası hücresel hasarların antioksidan olan selenyumun ayrı ayrı ve birlikte uygulanması ile giderilip giderilmeyeceği ışık mikroskobu düzeyinde araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hücre Zedelenmesi

Hücreler yaşamsal olayların sürekliliğini sağlayan karmaşık birimlerdir ve bunların normal olarak iş görmeleri, birçok metabolik reaksiyonun duyarlı bir şekilde bütünleşmesine bağlıdır (Anderson ve Kissane, 1997).

Hücreler iç ve dış ortamlarında değişikliklere yol açan birçok zedeleyici etkenlerle karşılaşır. Normal bir hücre genetik yapısının elverdiği ölçüde dış ortamında fizyolojik sınırlarda oluşan değişikliklere karşı yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü etkili bir biçimde korumaya çalışır. Hücrenin bu şekilde dengede kalmasına homeostazis denir. Hücre fizyolojik sınırlar dışında (normalde karşılaştığından daha şiddetli ya da zayıf) fizyolojik uyarı ya da patolojik uyarı ile karşılaştığında kendi iç özellikleri ve uyarının cinsi, süresi ve şiddeti gibi faktörlere bağlı olarak yeni durumuna uyum sağlayabilir (Kuzey,2007). Hücrenin başlıca uyum yanıtları: hipertrofi, hiperplazi, atrofi ve metaplazidir. Fakat uyum yeteneği aşılsa veya dış stres doğrudan zararlıysa hücre zedelenmesi meydana gelir (Kumar ve ark., 2007). Hücrede, hücrenin normal homeostazda kalma ve adaptasyon kapasitesini aşan ya da adaptasyonuna izin vermeyen etkenlerle karşılaştığında ortaya çıkan yapısal ve fonksiyonel bozukluklara hücre zedelenmesi denir (Kuzey, 2007). Belirli sınırlar içinde zedelenme geri dönüşlüdür ve hücreler stabil bir çizgiye dönebilirler fakat ağır veya uzun süren stres geri dönüşsüz zedelenme ve etkilenen hücrelerin ölümü ile sonuçlanabilir. Hücre zedelenmesine neden olan faktörler bir motorlu araç kazasının neden olduğu gözle görülür fiziksel travmadan, metabolik bir hastalığın altında yatan kusurlu bir enzimin nedeni olan tek gen mutasyonuna kadar uzanır (Kumar ve ark., 2007).

Hücre zedelenmesinin nedenleri şu şekilde gruplandırılabilir:

- Hipoksi (O₂ azlığı)
- Fiziksel ajanlar (basınç, sıcaklık, radyasyon vs.)
- Kimyasal etkenler ve ilaçlar
- Mikrobiyolojik etkenler
- İmmünolojik reaksiyonlar
- Genetik bozukluklar
- Beslenme bozuklukları

Spesifik bir stres şekli, ister adaptasyon oluştursun ister geri dönüşümlü yada geri dönüşümsüz zedelenmeye neden olsun sonuç sadece stresin özelliğine ve şiddetine değil aynı zamanda spesifik hücrenin yaralanmaya karşı hassasiyetine, farklılaşmasına, kan ihtiyacına, beslenme durumu ve genetik özellikleri gibi diğer bir çok değişkenlere de bağlıdır (Kumar ve ark., 2007).

2.2. Hücre Zedelenme Şekilleri Ve Morfolojisi

Hücre hasarına neden olan tüm stresler ve zararlı etkiler, etkilerini önce moleküler düzeyde gösterirler. Hücresel adaptasyon, zedelenme ve ölümün morfolojik değişikliklerinin olabilmesi için gereken süre, bu değişiklikleri tespit etmek için kullanılan metotların duyarlılığına bağlı olarak değişir. Histokimyasal veya ultrastrüktürel tekniklerle bu değişiklikler; ışık mikroskobunda görülebilmemesinden çok daha önce gösterilebilir. (Kumar ve ark., 2007).

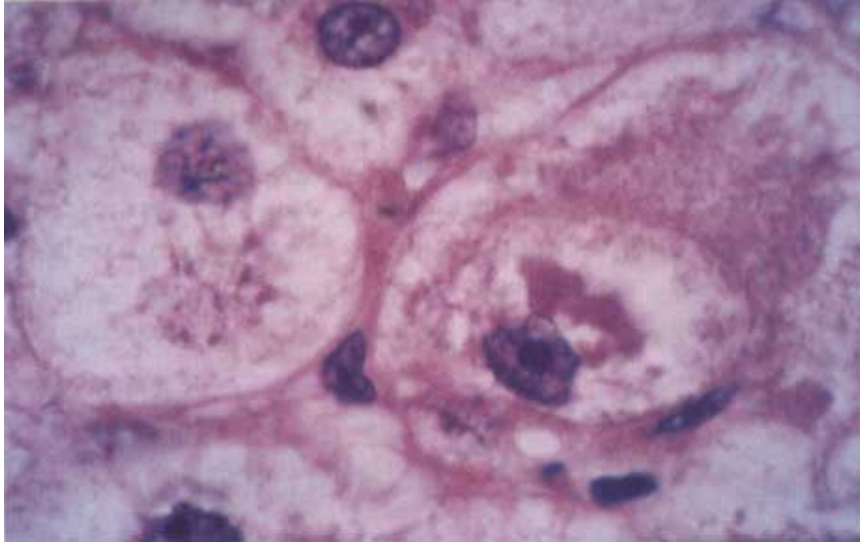
Hücre zedelenmesi şekilleri ve morfolojik bulgular şu şekilde sıralanabilir:

- Geri dönüşümlü (reversible) akut hücre zedelenme şekilleri
- Nekroz olarak adlandırılan geri dönüşümsüz (irreversible) zedelenmeden sonra oluşan hücre ölümü
- Daha kronik veya kalıcı zedeleyici uyaranlara cevap olarak meydana gelen organel değişiklikleri
- Lipit, karbonhidrat, protein, mineral ve elementlerin hücre metabolizması bozukluğu veya aşırı depolanma gibi sebepler sonucunda hücre içi birikimleri (Kumar ve ark., 2007).

2.2.1. Geri Dönüşümlü (Reversible) Hücre Zedelenmesi

Bütün zedeleyici etkenler etkilerini önce moleküler düzeyde yaparlar. Moleküler düzeyde başlayan değişikliklerin hücrenin yapısal komponentlerinde elektron mikroskobu, ışık mikroskobu ya da makroskopik inceleme ile saptanabilen morfolojik değişiklikler oluşturması zedeleyici etken ve hücrenin iç özelliklerinden kaynaklanan birçok faktöre bağlı olarak farklı hücrelerde farklı sürelerde gerçekleşir (Kuzey, 2007). Işık mikroskobunda geri dönüşümlü zedelenme ile ilişkili hücresel şişme ve yağlı

değişiklik olmak üzere iki tip morfolojik şekil tanımlanabilir. Hücresel şişme, plazma membranındaki enerjiye bağımlı iyon pompalarının yetersiz kalması yüzünden iyon ve sıvı homeostazının sağlanamaması nedeniyle oluşur. Hipoksik zedelenme ile toksik veya metabolik zedelenmenin çeşitli şekillerinde oluşan yağlı değişme ise sitoplazmada lipid vakuollerinin ortaya çıkması ile belirir. Bu durum daha çok hepatositler ve kalp kası hücreleri gibi yağ metabolizmasında yer alan ve bu metabolizmaya bağımlı olan hücrelerde ortaya çıkar. Yağlı değişikliğin önemi, nedenine ve birikimin derecesine bağlıdır. Hücresel şişme, zedelenen hücrelerin hemen hepsinde ortaya çıkan ilk belirtidir. Mikroskopik olarak, sitoplazmada küçük, berrak vakuoller görülebilir. Bunlar endoplazmik retikulumun şişen parçalarını gösterir. Bu tip öldürücü olmayan geri dönüşümlü zedelenme hidropik değişiklik veya vakuoler dejenerasyon olarak adlandırılır (Şekil 2.1.) (Kumar ve ark., 2007).



Şekil 2.1. Karaciğerde hidropik değişiklikler (Kumar ve ark., 2007)

2.2.2. Geri Dönüşümsüz (Irreversible) Hücre Zedelenmesi

Geri dönüşlü zedelenmenin hücresel bozuklukları onarılabılır ve zedeleyici etkenin üstesinden gelinbilirse, hücre normale döner. Ancak, sürüp giden veya aşırı olan zedelenme, sınırları belirsiz geri dönüşü olmayan noktanın geçilmesiyle geri dönüşsüz zedelenmeye ve hücre ölümüne yol açar. Geri dönüşsüz olmanın kesin bir biyokimyasal veya morfolojik eşdeğeri yoksa da, onu tutarlı bir biçimde karakterize eden iki fenomen vardır. Bunlar; başlangıçtaki zedelenmenin ortadan kalkmasına karşın

mitokondri fonksiyonunun düzelmeyişi, oksidatif fosforilasyon ile ATP üretiminin olmaması ve membran fonksiyonlarında ağır bozukluklardır (Kumar ve ark., 2007). Geri dönüşümsüz hücre ölümünün morfolojileri ve mekanizmaları farklılık gösteren iki temel tipi vardır (Kuzey, 2007).

- Nekroz
- Apoptozis

2.2.2.1. Nekroz

Makroskobik ve histolojik olarak nekroz, geri dönüşümsüz ekzojen zedelenme sonucunda görülen hücre ölümüdür (Şen, 2005). Nekrozun gelişiminde, hemen hemen eş zamanlı olarak gerçekleşen hücre ve organellerinin enzimatik sindirimi ile protein ve diğer makromoleküllerin denatürasyonu rol oynar (Kuzey, 2007).

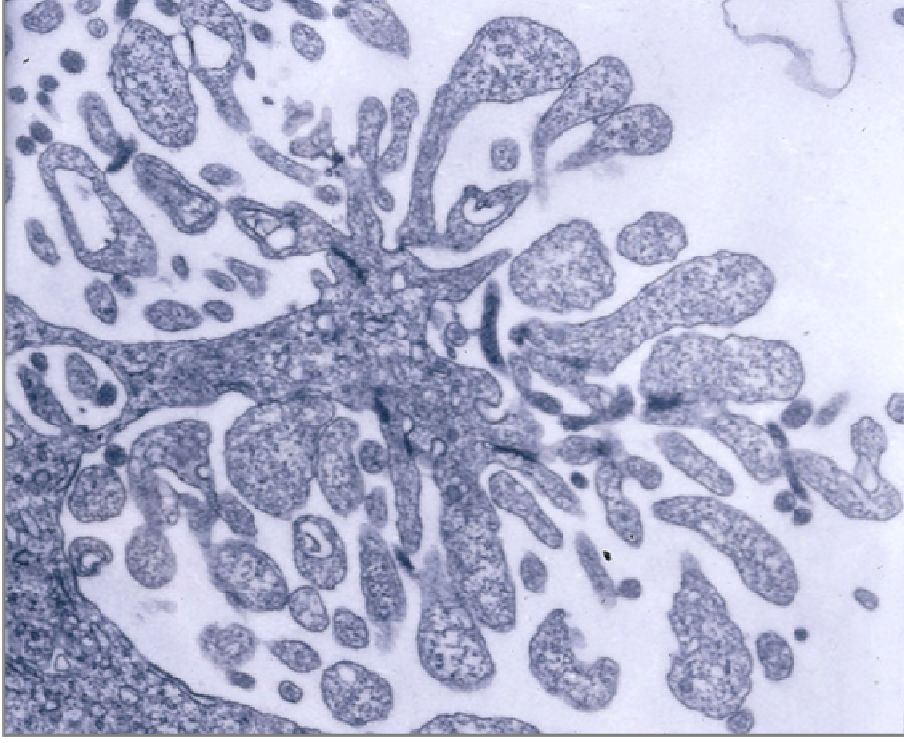
Sindirim ölü hücrelerden kaynaklanan hidrolitik enzimlerle oluşursa otoliz, nekroz alanına gelen lökositlerin lizozomlarından kaynaklanırsa heteroliz adı verilir. Bu olayların gelişmesi için saatler gereklidir (Kumar ve ark., 2007). Nekroz sonucunda piknoz, karyoliz ve karyoreksiz şeklinde nükleer değişiklikler ortaya çıkar. Piknozis, kromatinin yoğunlaştığı, çekirdeğin büzüldüğü, yoğun miktarda bazofilik bir hal aldığı durumdur. Piknotik çekirdeğin daha sonra çok sayıda küçük bazofilik partiküllere parçalanması karyoreksiz, piknotik çekirdeğin lizozomal deoksiribonükleaz etkisiyle lizise maruz kalması karyolizisdir. Hızlı bir şekilde meydana gelen nekrozda piknotik durum görülmesizin çekirdek lizise uğrar (Chandrasoma ve Taylor, 1995). Nekroz, hücrenin tipine, inflamatuvar cevap yeteneğine göre, içinde bulunduğu çevre şartlarına göre ve biyolojik ajanların varlığına göre farklı şekillerde sonuçlanır. Ölü hücrede tanımlanan bu erken değişiklikler bir kez meydana gelindiğinde, nekrotik doku kitlesi, enzim katabolizması ile proteinlerin niteliklerinin değişmesi arasındaki baskınlığın hangi tarafta olduğuna bağlı olarak farklı morfolojik değişiklikler gösterir. Denatürasyon primer şekilde olduğunda koagülasyon nekrozu denilen nekroz gelişir. Enzim sindiriminin hakim olduğu örneklerde sonuç likefaksiyon nekrozudur. Özel durumlarda kazeöz nekroz veya yağ nekrozu gelişebilir (Kumar ve ark., 2007)

2.2.2.2. Apoptozis

Apoptozis; embriyogenez aşamasında istenmeyen dokuların ortadan kaldırılmasında ve dokunun yeniden şekillendirilmesinde, daha sonraki yıllarda da yaşam süreci boyunca hasar görmüş, transformasyona uğramış, enfekte olmuş dokunun ve yaşam süresini doldurmuş sağlıklı dokunun elimine edilmesinde fonksiyon gören programlanmış hücre ölümüdür (Khan ve ark., 2010). Apoptozis veya programlı hücre ölümü, çok hücreli organizmaların gelişiminin normal bir sürecidir. Homeostazinin ve organ büyüklüklerinin korunmasında, konak savunmasında embriyogenez, metamorfoz, yaşlanma da oldukça önemlidir (Öztürk, 2002).

Apoptozis hücre içinde veya dışından gelen sinyallerle başlatılan ve birbirini takip eden olaylar zinciri olarak seyreder. Hücre içinden veya dışından gelen sinyaller, kaspazları aktive eder. Aktive olan kaspazlar hedef proteinlerini yıkarak hücre içi değişikliklere neden olur. Sonuçta çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşmasıyla hücre parçalanarak apoptotik cisimlere ayrılır. Apoptotik cisimler fagositoz yoluyla yok edilirler (Thompson, 1999)

Apoptozis tipik morfolojik ve biyokimyasal özelliklere sahiptir. Apoptotik hücrelerde meydana gelen karakteristik morfolojik değişiklikler en iyi elektron mikroskopunda belirlenir. Apoptoziste elektron mikroskopik incelemede yapısal değişiklikler iki evrede incelenmiştir. Apoptotik cisimlerin oluşması ve bunların makrofajlar ya da diğer komşu hücreler tarafından fagosite edilmesidir. Başlangıçta apoptozise gidecek olan hücreler komşu hücrelerden ayrılır, yüzey organelleri kaybolur. DNA, endonükleaz enzimlerinin aktive olmasıyla 180-200 baz çifti uzunluğunda, internükleozomal bağlantı noktalarından kırılmaya başlar. DNA'nın bu kırılması agar jel elektroforezinde tipik merdiven görünümü verir. Parçalanmaya bağlı olarak çekirdek kromatini dağılır. Çekirdek kromatini, çekirdek zarındaki porları kapatacak şekilde yerleşim gösterir. Çekirdek zarı parçalanır. Sitoloplazmik proteinlerin yoğunlaşması ve hacmin azalmasına bağlı olarak hücrede büzülme gerçekleşir. Hücre zarında çıkıntılar ve kıvrımlar oluşur. Buna karşılık mitokondrilerin yapısında önemli bir değişiklik gözlenmez. Endoplazmik retikulum genişler ve hücre zarı ile birleşerek yüzeyde kraterler oluşturur. İkinci evrede hücre zarında büzüşmenin artması ve bunu takiben hücre parçalanması görülür. Parçalanmış, zarla çevrili, yuvarlak konumdaki bu yapılar apoptotik cisim denir (Şekil 2.2.) (Mountz ve Zhou, 2001).



Şekil 2.2. Apoptotik cisimciklerin elektron mikroskopik görüntüsü (Junqueira ve Carneiro, 2003)

Apoptotik hücreler, makrofajlar ve doğal öldürücü hücreler tarafından tanınır ve fagosite edilir (Vaux ve Strasser, 1996). Eğer hücreler fagosite edilmezlerse ikincil nekroz olarak adlandırılan indirgenmeye uğrarlar (Göncü ve Pehlivan, 2001). Apoptozis sırasında hücre yüzey moleküllerinde spesifik değişiklikler gözlenir. Örneğin fosfatidilserinin (PS) ve belirli proteinlerin ekspresyonu, glikolipit ve glikoproteinlerin şeker zincirlerinde değişimler gibi. Bu değişimler farklı biyolojik fonksiyonları özellikle fagositik tanıma ve apoptotik hücrelerin fagositozunu destekler (Azuma ve ark., 2002).

Apoptozisin en önemli biyokimyasal işareti, DNA'nın nükleozomal bölgelerden yaklaşık 180–200 baz çifti veya bunun katları şeklinde DNA parçaları oluşturacak şekilde parçalanmasıdır. Bu durum agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsünün ortaya çıkmasına neden olur. Apoptotik hücrelerde görülen diğer önemli değişiklik, normalde plazma membranının iç yüzeyinde bulunan fosfatidilserin apoptozisin erken evresinde membranın dış yüzeyine geçer. Bu mekanizma apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar (Göncü ve Pehlivan, 2001).

Apoptozis ışık mikroskopik seviyede gözlenebilir. Hematoksilen-eosin boyama tekniğiyle boyanmış kesitlerde, koyu eozinofilik sitoplazmalı, bir veya birkaç parçalı piknotik çekirdekli olarak görülür. Kromatinin çekirdek membranının iç yüzüne lokalize olması nedeniyle çekirdek, yarım ay şeklinde gözlenir (Kumar ve ark., 2007; Öztürk, 2002).

2.3. Toksik Kimyasal Hasar

Kimyasal maddeler iki genel mekanizmadan biri ile hücre zedelenmesi oluşturur:

1- Bazı kimyasal maddeler, doğrudan önemli bir moleküler bileşene veya bir hücrenel organelle bağlanarak etki ederler. Örneğin civa klorür zehirlenmesinde civa, hücre membranı ve diğer proteinlerin sülfidril gruplarına bağlanarak ATP bağımlı transportu bozar ve membran geçirgenliğinin artmasına neden olur. Birçok antineoplastik kemoterapötik ajanlar ve antibiyotikler de doğrudan benzer sitotoksik etkilerle hücre hasarı oluşturur. Böyle durumlarda en büyük hasar bu bileşikler kullanan, absorbe eden, salgılayan veya yoğunlaştıran hücrelerde görülür.

2- Diğer birçok toksik kimyasal madde başlangıçta biyolojik olarak aktif değildir. Ancak, reaktif toksik metabolitlere çevrildikten sonra hedef hücreleri etkilerler. Bu değişiklik genellikle karaciğer ve diğer organlardaki hücrelerin granülsüz endoplazmik retikulumunda bulunan P-450 fonksiyonlu oksidazları tarafından gerçekleştirilir. Metabolitler, protein ve lipitlere doğrudan kovalent bağlanarak membran ve hücre zedelenmesine neden olurlarsa da hücre zedelenmesinin en önemli mekanizması reaktif serbest radikallerin oluşumudur. (Kumar ve ark., 2007).

2.4. Hücre Zedelenmesinde Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran, reaktif ve kısa ömürlü olan atom veya moleküllerdir (Akkuş, 1995; Cheeseman ve Slater, 1993). Tek elektronunu bir başka moleküle verebilen bu radikaller, kararlı hale geçebilmek için bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler. Böylece, radikal olmayan bir yapının da radikal hale dönüşmesine neden olurlar (Bay, 2001; Başaran, 2002; Mercan, 2004; Akyol, 2004)

Organizmalarda birçok tipte serbest radikal oluşabilir, ancak bunlar içerisinde serbest oksijen radikalleri en yaygın olanlarıdır (Bay, 2001). Sekiz elektron içeren oksijen atomunun dış yörüngesinde eşleşmemiş iki elektron bulunması bu atomun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar (Abdollahi, 2004; Mercan, 2004). Oksijen molekülü, elektron alıcısı olarak aerob organizmaların yaşamı için gerekli bir maddedir. Aerobik çok hücreli organizmalardaki ATP üretiminin büyük bir kısmı mitokondriyal elektron transport sisteminde, oksijenin dört elektronunun su oluşturmak üzere indirgenmesiyle elde edilir. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşmez. Sonuçta ara ürün olarak serbest oksijen radikalleri ve bunların da çeşitli reaksiyonları ile reaktif oksijen türleri meydana gelir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Oksijen radikallerinin fazla yapımının neden olduğu etkilerin toplamı 'oksidatif stres' olarak adlandırılır. Oksidatif hasar ise, süper oksitten kaynaklanan radikaller ile nitrik oksidin reaktif türlerinin neden olduğu hasarların bir toplamıdır (Kılınç, 1985). Bu durum endojen veya ekzojen kaynaklar tarafından çok fazla ortaya çıkan reaktif oksijen türlerine karşı yetersiz kalan antioksidan savunma sisteminin yetersizliği sonucu oluşur. Eğer tamamen kontrol edilmezse aşırı miktardaki reaktif oksijen türleri; hücrel lipitlerin, proteinlerin veya DNA'nın hasara uğramasına neden olabilir. Bunun sonucunda sinyal iletim yolları ve genellikle normal hücrel fonksiyonlar inhibe olur (Sies, 1991). İnvitro koşullardaki araştırmalarda H_2O_2 oksidatif stres oluşturmada iyi bir model olarak bilinir (Bi ve ark., 2008). Hidrojen peroksit, oksidatif hasarı ATP sentezini bozarak ve serbest radikal oluşumunu arttırarak gerçekleştirir (Jiang ve ark., 2004).

Oksijenin reaktif türleri; süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (OH \cdot), aloksi radikali (RO \cdot), peroksil radikali (ROO \cdot)' dir (Reiter, 1998).

Oksijen radikalleri içinde en reaktif olanı deoksiriboz ve DNA bazları ile hızlı bir şekilde reaksiyona giren hidroksil radikalidir (Ashok ve Ali, 1999). Hidroksil radikali, DNA'yı da içeren birçok biyomolekülü hasara uğratan son derece reaktif bir moleküldür (Mandavilli ve ark., 2002). Yarılanma ömrü çok kısa olan bu radikal, oluştuğu yerde oksidatif hasara sebep olduğu gibi yeni radikalleri de oluşturabilir (Meram ve Aktaran, 2002).

2.4.1. Serbest Radikal Kaynakları ve Verdiği Hasarlar

Serbest radikaller; kanser, diabet, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynayan ve bu nedenle son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan konular arasında yer almaktadır (Aydilek ve Aksakal, 2003). Bu radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar (Mercan, 2004).

Serbest radikallerin endojen kaynakları arasında, mitokondriyal elektron taşıma sistemi, endoplazmik retikulum ve nükleer membranda elektron transport sistemi, peroksizomlar, plazma membranları, oksidan enzimler, otooksidasyon enzimleri ve fagositik hücreler yer alır. Hava kirliliği, radyasyon, sigara toksinleri, kimyasalların etkisinde kalma, doksorubisin ve karbontetraklorür gibi ilaç oksidanları ise bu radikallerin ekzojen kaynaklarını oluşturur (Reilly ve ark., 1991; Yu, 1994). Hücrede serbest radikallerin oluşabileceği bölgeler; endoplazmik retikulum, plazma membranları, mitokondriler, lizozomlar ve peroksizomları içerir (Halliwell, 1984).

Serbest radikaller aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunma sistemi yetersiz kaldığında; deoksiribonükleik asidin tahrip olması, nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı, tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması ve hücre ortamının tiyol/disülfid oranının değişmesi, enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasında değişiklikler, mukopolisakkaritlerin yıkımı, proteinlerin tahrip olması, lipit peroksidasyonu, steroid ve yaşlılık pigmenti gibi bazı maddelerin birikimi, zar proteinlerinin tahribi ve taşıma sistemlerinin bozulması gibi hücre ve dokularda birçok hasara neden olurlar (Baykal ve Kocabalkan, 2000).

Serbest radikaller özellikle de aktive oksijen türevleri ile oluşturulan zedelenme, hücre hasarının önemli bir mekanizmasıdır. Serbest radikaller hücrelerde olduğu zaman özellikle nükleik asitler ve yanı sıra çeşitli membran molekülleri ile etkileşerek onları parçalarlar. Serbest radikaller ayrıca otokatalitik reaksiyonları başlatır. Serbest radikallerle reaksiyona giren moleküller sıra ile serbest radikallere dönüşerek, hasar zincirini ilerleterek yayarlar (Kumar ve ark., 2007).

Serbest radikaller aracılığı ile gelişen hücre zedelenmesinde özellikle üç reaksiyon ilgilidir:

1- Membranların Lipit Peroksidasyonu: Membranda çift bağı poliansatüre lipitler oksijen türevi serbest radikallerin etkisi ile kolayca zedelenir. Lipit-radikal etkileşmeleri değişken ve reaktif olan peroksitleri oluşturarak otokatalitik zincir reaksiyonları meydana gelir.

2- Deoksiribonükleik Asit (DNA) Lezyonları: Timinle serbest radikal reaksiyonları nükleer ve mitokondriyal DNA'da tek iplik kırılmaları oluşturur. Bu gibi DNA hasarı hem hücre ölümü hem de hücrelerin malign değişiminde rol alır.

3- Proteinlerin Çapraz Bağlanması: Serbest radikaller sülfidril aracılı protein çapraz bağları oluşturarak parçalanmanın artmasına veya enzimatik aktivitenin kaybına neden olur. Serbest radikal reaksiyonları direkt olarak polipeptit parçalanmasına da yol açabilir (Kumar ve ark., 2007).

2.4.2. Reaktif Oksijen Türleri ve Diğer Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı geciktirmek veya önlemek için geliştirilen savunma sistemleri antioksidanlar olarak adlandırılır (Halliwell, 1990). Organizmada serbest oksijen radikalleriyle (oksidan) antioksidanlar arasında var olan dengenin oksidanların lehine kayması değişik düzeylerde hücre hasarlarına neden olmaktadır ((Blokina ve ark., 2003). Antioksidanların ilk belirlenen etkileri zar yapısında bulunan lipitlerin peroksidasyona karşı korunması olmuştur. Bunun sonucu olarak başlangıçta antioksidanlar lipit peroksidasyonunu engelleyen moleküller olarak tanımlanmışlardır. Günümüzde ise antioksidanların tanımı lipitlerin yanı sıra proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi diğer hedef molekülleri koruyucu etkilerini içerecek şekilde genişletilmiştir. Böylece antioksidanlar, hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmakta ve bu tanımla bağlantılı olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir (Rangan ve Bulkley, 1993). Etkili bir antioksidanın iki özelliği vardır. Birincisi; serbest radikallerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek yeni bir radikal oluşturmasıdır. İkincisi ise; oluşan yeni radikale, komşu dokulara zarar vermeyen ve reaktif olmayan bir özellik kazandırmasıdır (Burton ve ark., 1983). Başlıca antioksidan etki şekilleri şunlardır:

- 1- Reaktif oksijen türlerinin enzim reaksiyonları aracılığıyla doğrudan temizlenmesi
- 2- Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi
- 3- Metal iyonların bağlanması ve böylece radikal oluşumunun engellenmesi
- 4- Hedef moleküllerin tamiri ve hasar sonrası temizlenmesi (Rangan ve Bulkley, 1993).

Antioksidan koruma sistemleri endojen ve ekzojen antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) endojen antioksidanlara örnek oluştururken, vitamin E, asetilsalisilik asit, selenyum, melatonin ise ekzojen antioksidanlara örnektir. Süperoksitdismutaz SOD, süperoksit radikalının, moleküler oksijen ve daha az reaktif olan hidrojen peroksit dönüşümünü katalizlemektedir (Rojkind ve Dominguez-Rosales, 2002). Süperoksit dismutaz, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur, vücut tarafından üretilen en güçlü antioksidandır ve antioksidan savunmasının belirteci olarak kullanılır (Bagis ve ark., 2003). Katalaz enzimi hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir (Alberts ve ark., 2002). Hücrenin özellikle peroksizom partikülleri ve mitokondrilerinde, daha az yoğunlukta ise sitoplazma ve endoplazmik retikulumunda bulunur (Akyol, 2004). Bir diğer antioksidan, glutatyonperoksidaz (GPX) enzimi; vücutta hidrojen peroksitin (H_2O_2) detoksifikasyonunda ve ayrıca lipit hidroperoksitlerin detoksifikasyonunda görev alır. Bu nedenle bu enzim hücreleri lipit peroksidasyonuna karşı korumada önemli bir role sahiptir (Rojkind ve Dominguez-Rosales, 2002; Akyol, 2004).

2.5. Karaciğer

Diyaframın hemen altında yer alan, yaklaşık 1,5 kilogram ağırlığında olan karaciğer, vücuttaki en büyük bezdir (Junqueira ve Carneiro, 2006; Gartner ve Hiatt., 1997). Karaciğer, hilumdan kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson kapsülü) ile örtülüdür. Hilumda, organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar. Bu damarlar ve kanallar, klasik karaciğer lobülleri arasında sonlandıkları portal alanlara kadar bağ dokusu ile çevrilmiştir. Bu noktadan itibaren karaciğer lobüllerindeki hepatositlere ve sinüzoidal endotel hücrelerine destek sağlayan ince bir retiküler lif ağı oluşur (Junqueria ve Carneiro, 2006).

Karaciğer, gastrointestinal sistem ve dalaktan oluşan besin maddeleriyle zengin portal ven ve merkezi dolaşımdan karaciğere oksijence zengin kan taşıyan hepatik arter olmak üzere iki kan dolaşımına sahiptir (Burtis ve Ashwood, 1999). Hepatik portal ven tarafından dalaktan alınan kan hemoglobin parçalanma ürünleri bakımından, barsaklardan alınan kan, aminoasitler, lipitler, karbonhidratlar bakımından zengindir (Stevens ve Lowe, 1993; Noyan, 1995).

Karaciğerin temel fonksiyonel hücreleri hepatositlerdir. Bu hücreler oldukça fazla sayıda metabolik, endokrin ve salgı fonksiyonlarını gerçekleştirirler. Kabaca karaciğer kütesinin % 80 'nini teşkil ederler (Smith ve ark., 1988). Hepatositler büyük poligonal hücrelerdir ve her birinin çapı 20-30 mikrometre arasında değişir (Ross ve ark., 1995). Hepatositlerin çekirdekleri büyük, yuvarlak ve merkezi yerleşimlidir. Hematoksilen-Eozin ile yapılan boyamada hepatosit sitoplazması genellikle asidofiliktir. Sitoplazmalarında çok sayıda mitokondri ve granülsüz endoplazmik retikulum bulunur (Ross ve ark., 1995). Hepatositler, karaciğer lobülü içinde ışınal olarak bir duvarın tuğlalarına benzer biçimde bir ya da iki hücre kalınlığında bir tabaka oluşturacak biçimde dizilmişlerdir. Bu hücre plakları lobülün periferinden merkezine doğru yönlendirilmişlerdir, labirent şeklinde ve sünger benzeri bir yapı oluşturacak şekilde serbestçe anastomozlaşmışlardır. Bu plaklar arasındaki boşlukta kapillerler bulunur ve bu kapillerlere 'karaciğer sinüzoidleri' denir (Gartner ve Hiatt, 1997). Sinüzoidal kapillerler; kesintili ve pencereci endotel tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş damarlardır. Pencereci yaklaşık 100 nm çapındadır ve eleğe benzer bir görüntü oluşturan kümeler halinde toplanmışlardır (Junquera ve Carneiro, 2006).

Hepatositlerin arasında kalan sinüzoidal boşluklar içinde kan yavaş yavaş ilerlerken, sinüzoidleri döşeyen hücreler tarafından hepatositlerin doğrudan kanla teması engellenir. Karaciğer sinüzoid duvarında; endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve yağ depolayıcı (Ito hücreleri) hücreler olmak üzere üç tip hücre bulunur. Endotel hücreleri; küçük, uzamış, koyu boyanan bir çekirdek ile az miktarda sitoplazma içerirler (Aktaç, 1999). Bu hücreler, altında bulunan hepatositlerden Disse aralığı adı verilen bir boşlukla ayrılmıştır. Bu aralıkta hepatositlerin düzensiz mikrovillusları bulunur. Hepatositlerin bu bazal yüzeyindeki mikrovilluslar, yüzey alanını genişleterek hepatositler ve plazma arasındaki madde değişimini altı kat artırırlar (Ross ve ark., 1995). Sonuç olarak kan endotel duvarından kolayca geçer ve hepatosit yüzeyi ile temas eder. Böylece sinüzoid lümeniyle karaciğer hücreleri arasında makromoleküllerin alışverişi kolaylıkla sağlanır.

Bu geçiş sadece çok sayıda makromoleküllerin (Örn: lipoproteinler, albumin, fibrinojen) hepatositler tarafından kana verilmesi nedeniyle değil, aynı zamanda bu makromoleküllerin çoğunun hepatositlerce alınıp katabolize edilmesi nedeniyle de fizyolojik önem taşır. Sinüzoid ince bir retiküler lif kılıfıyla sarılıp desteklenmiştir (Junqueira ve Carneiro, 2006). Sinüzoid duvarında yer alan bir diğer hücre çeşidi olan Kupffer hücreleri; monositlerden köken alan, endotel hücrelerinin lümenine bakan yüzeyinde bulunan tipik makrofajlardır (Junqueira ve Carneiro, 2006; Akay, 2001). Başlıca fonksiyonları yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek ve immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamaktır. Yağ depolayıcı hücreler (Ito hücreleri) ise Disse aralığına yerleşmiş yıldızsı hücrelerdir. Bu hücreler dışarıdan verilen A vitaminini lipid damlaları içinde retinil esterler halinde biriktirme kapasitesine sahiptir, ancak bu hücrelerin A vitamini metabolizmasındaki rolü tam olarak bilinmemektedir (Junqueira ve Carneiro, 2006).

Karaciğerin yapısındaki diğer fonksiyonel birim ise portal lobüldür. Bu lobülün merkezinde portal üçgen yer alır. Lobülün her köşesinde bir santral ven ve birbirine bitişik üç hepatik lobül bulunur. Hepatik lobül poligonal olmasına karşın portal lobül üçgen şeklindeyir. Bu lobülde safra lobülün merkezindeki portal üçgende bulunan safra kanalı içine boşalır (Fawcett, 1994).

Yaşam için gerekli birçok farklı fonksiyona sahip olan karaciğer; sindirilen aminoasitlerin, karbonhidratların, lipidlerin ve vitaminlerin işlenmesi, serum proteinlerinin sentezi, endojen atık ürünlerin ve zararlı ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve safra ile atılması gibi olaylarda önemli rol oynar (Kumar ve ark., 2007).

2.6. Ağır Metaller

Metaller insanlar için bilinen en eski toksinlerdir. Metalleri diğer toksik maddelerden ayıran en önemli özellikleri, insanlar tarafından ne oluşturulabilir ne de yok edilebilir olmalarıdır (Goyer and Clarkson, 2001). Metaller boşaltım ortamlarındaki canlı yaşam üzerinde konsantrasyonlarına bağlı olarak hasara neden olurlar. Eser miktarlarda bile sakıncalı olabilen metaller arasında en önemli grubu ağır metaller oluşturur (Johnston, 1976).

Ağır metallerin, genellikle yer kabuğunun derinliklerinde bulunmalarından dolayı, doğal yollarla canlılara geçme olasılığı düşüktür. Ancak insan faktörü nedeniyle bu durum günümüzde tamamen ortadan kalkmış ve ağır metaller ekosistemin her tarafında bulunur hale gelmiştir (Dearth ve ark., 2004). Son yüzyıl içerisinde madencilik faaliyetlerinin sınırlandırılmamış olması, fosil yakıtların kullanılması, sanayi ve endüstriyel faaliyetlerin artması, bu faaliyetlerde ağır metallerin kullanılması ve ağır metal içeren atıkların doğrudan veya işlem gördükten sonra doğaya verilmesi gibi nedenlerden dolayı biyosferde büyük oranda ağır metal kirliliği gerçekleşmektedir ve ağır metallerin yaşam için oluşturduğu tehdit her geçen gün artmaktadır (El-Sokkary ve ark., 2005). Doğal veya antropojenik yollar ile ekosistemlere yayılan metaller ve ağır metaller, biyolojik olarak parçalanamadıkları ve bazı organik kirleticilerin tersine daha az zararlı bileşiklere dönüştürülemedikleri için çok önemli bir toksikant sınıfı olarak değerlendirilmektedir (Athar and Vohora, 1995; Šmejkalová ve ark., 2003; Walker ve ark., 2006). Ancak belirli konsantrasyonlarda, metal iyonlarının organizmalar tarafından örneğin, metalotiyonin gibi bir protein içerisinde proteinlere bağlanarak, hücre içi yapılar da çözünmeyen formlarda depolanarak ya da feçes ile atılarak detoksifikasyonları gerçekleşebilmektedir (Walker ve ark., 2006).

Toksik metaller tarafından oluşan hasarın çoğu sebep oldukları oksidatif serbest radikallerin artışından kaynaklanmaktadır. Bu hasarlar artan lipit peroksidasyonunu, DNA hasarını ve protein sülfidril gruplarının oksidasyonunu içermektedir (Stohs ve Bagchi, 1995; Leonard ve ark., 2004). Ağır metal toksisitesi hemen hemen tüm fizyolojik mekanizmalar üzerine dolaylı ya da doğrudan etkilere sahiptir (El-Sokkary ve ark., 2005). Toksik metaller tarafından oluşan hasarın çoğu neden oldukları oksidatif serbest radikallerin artışından kaynaklanmaktadır. Bu hasarlar artan lipit peroksidasyonunu, DNA hasarını ve proteinlerin oksidasyonunu içermektedir. Ağır metaller prooksidan/antioksidan dengesini değiştirmekte ve proteinlerin sülfidril gruplarına karşı yüksek ilgi göstermektedirler. Ağır metallerin Sülfidril gruplarına bağlanmaları sonucu, glutatyon metabolizmasının, enzimlerin ve hormonların fonksiyonlarının baskılanmasına yol açar (Stohs ve Bagchi, 1995).

Birçok ağır metal gerekli olsun ya da olmasın, canlı organizmalar için potansiyel birer toksik ajandır (Kayhan, 2006). Epidemiyolojik çalışmalara göre kadmiyum en toksik ağır metallerden biridir (Katalay ve Parlak, 2004). Kadmiyum 1940'lı yıllardan bu yana endüstride geniş kullanım alanına sahip, canlılar üzerinde toksik etkilere neden

olan bir ağır metaldir. Kullanım alanlarının yaygınlığı ve sigarada da yüksek miktarlarda bulunması bu metalin yaygın çalışılan bir konu haline gelmesine neden olmuştur (Satoh ve ark., 2002).

2.6.1. Kadmiyum

Kadmiyum canlılarda herhangi bir fizyolojik işlevi olmayan, kanserojenik ve mutajenik etkileri bilinen bir ağır metaldir (Kay ve ark., 1986; Tort ve Torres, 1988). Yirminci yüzyılın metali olarak tanımlanan kadmiyum, 1817 yılında Friedrich Stromeyer adlı bir Alman kimyacı tarafından çinko elde etmek için yapılan çalışmalar sırasında keşfedilmiştir (Liu ve ark., 2002; Murugavel ve ark., 2007; Jackson ve Alloway, 1992). Bu metal periyodik tabloda 2B grubunda bulunan bir geçiş metalidir. Orta sertlikte, beyaz renkli bir metal olan kadmiyum, doğada genellikle saf olarak bulunmaz. Ancak; kadmiyum oksit, kadmiyum klorid, kadmiyum sülfat ve kadmiyum sülfid şeklinde mineral bileşiği olarak bulunur (Méndez-Armenta ve Ríos, 2007). Doğada çinko ve kurşun filizlerinde bulunan kadmiyumun günümüzdeki endüstriyel kullanımı oldukça artmıştır (Liu ve ark., 2002; Murugavel ve ark., 2007). Bu metal endüstriyel olarak nikel/kadmiyum pillerde, gemi sanayisinde, çeliklerin kaplanmasında, boya sanayisinde, alaşımlarda ve elektronik sanayisinde kullanılır. Bunun dışında fosfatlı gübrelerde, deterjanlarda ve rafine petrol türevlerinde bulunur ve bunların yaygın kullanımı sonucu önemli miktarda kadmiyum kirliliği ortaya çıkar. Ayrıca kadmiyum sigaradaki majör bileşiklerden biridir (Aydoğdu ve ark., 2007). Kadmiyumun organizmaya alınması içme suyu ve besin yoluyla olur. Ayrıca sigara dumanı da solunumla alınmasında önemli bir araçtır (Yeşilada ve Gelegen, 2000). Su, ağır metallerin taşınmasında ve dağılımında önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla kadmiyum gibi ağır metaller öncelikle sucul ortamlarda birikerek, besin zinciri yoluyla üst trofik düzeylere taşınmaktadır (Simon ve ark., 2000).

Kadmiyumun çok düşük ortam derişimleri bile canlılar üzerinde toksik etki yaptığından besin zincirinin çeşitli basamaklarındaki dağılımını belirlemek büyük önem taşımaktadır (Kay ve ark., 1986; Tort ve ark., 1988; Amiard ve ark., 1987; Legorburu ve ark., 1988). Bu metalin düşük derişimleri, duyarlı canlı türlerinde üremenin durmasına ve gelişimin yavaşlamasına neden olabilmektedir (Eisler, 1985). Buna karşın; kadmiyuma hoşgörüsü yüksek olan türlerde yüksek metal derişimlerinin birikmesi ve bu

türlerin daha üst trofik düzeylerdeki türlerce besin olarak alınmaları, bu metalin besin zincirinin üst basamaklarına daha derişik olarak aktarılmasına neden olmaktadır (Sarkar, 1989; Ragan, 1990).

2.6.1.1. Kadmiyumun Metabolizması

Kadmiyum sindirim kanalından ya da solunum yoluyla vücuda alındıktan sonra kana karışır ve plazmada albumin aracılığıyla taşınır (Katakai ve ark., 2001). Yapılan bir çalışmada kadmiyumun kalsiyum iyonlarına benzerliği nedeniyle, voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanallarından hücreye alındığı bildirilmiştir (Blazka ve Shaikh, 1991). Bunun dışında kadmiyumun çinko iyonlarına benzer özellikleri nedeniyle, çinko taşıyıcı proteinler tarafından hücre içerisine alındığı yönünde bulgular vardır (Bridges ve Zalups 2005). Değişik yollardan canlı bünyesine alınan ağır metal iyonları her organ ve dokuda farklı düzeyde birikmektedir. Canlı bünyesinde çeşitli metabolik olaylara katıldıktan sonra vücut dışına atılabilen metallere fizyolojik öneme sahip olanlar depolanır. Eğer bunlar toksik metallere biri ise enzimlerin yapısını bozabilmekte ve bazen de hücre içerisinde özel bir şekilde bağlanarak toksik etkileri ortadan kaldırılabilir (Yazkan, 2004).

Kadmiyum hücre içerisine girdikten sonra, dört farklı formu bulunan ve metal bağlayıcı bir protein olan metallothionein tarafından tutulur. Metallothionein bütün hücrelerde bulunan, düşük molekül ağırlığına sahip ve sisteince zengin bir proteindir (Katakai ve ark., 2001). Sistein rezidüleri metallothioneinin; ağır metallere detoksifikasyonu ve metal metabolizmasının düzenlenmesi gibi farklı fizyolojik fonksiyonları yerine getirmesinde önemli rol oynar. Metallothioneinin detoksifikasyon yeteneği; çinko gibi eser elementlere, kadmiyum, bakır ve cıva gibi ağır metallere göre daha düşük ilgi ile bağlanmasından kaynaklanır. Dolayısıyla ortamda bu metallere bulunması durumunda metallothionein bağlandığı çinko iyonlarından ayrılır ve ağır metallere bağlanarak onların hücre içerisinde serbest kalmasını engeller. Sonuçta hücreyi, bu metallere biyomoleküllerle etkileşmesi nedeniyle ortaya çıkacak hasarlardan korur (Sato ve Kondoh, 2002).

Yapılan çalışmalarda kadmiyumdan etkilenen deney hayvanlarının karaciğer, böbrek, akciğer, bağırsak ve testisinde metallothionein salgılanmasında artış olduğu bildirilmiştir (Karabulut-Bulan ve ark., 2004). Bu metal vücuda girişinden sonra ilk altı

saat içerisinde karaciğere ulaşır ve metallothioneine bağlanır. Karaciğerde meydana getirilen kadmiyum-metallothionein kompleksi, düşük molekül ağırlıklı olduğu için plazma içerisinde serbest hareket eder. Glomerüler membrandan kolayca taşınır ve öncelikli olarak böbrek olmak üzere diğer organlara da geçerek bu dokularda birikir ve hasar oluşturur (Kara ve ark., 2005).

2.6.1.2. Kadmiyumun Olumsuz Etkileri

Kadmiyumun en iyi bilinen yan etkisi nefrotoksisitedir (Suzuki, 1980; Friberg, 1984; Nordberg, 1984). Memeli böbreğinin proksimal tübüleri, kadmiyum kaynaklı toksisitenin ana hedefidir. Böbrek hasarının; kortekste kadmiyum konsantrasyonunun ağır metal bağlayıcı proteinlerin kapasitelerine ulaştığı ya da aştığı durumda ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Kadmiyum kaynaklı nefrotoksisiteden, karaciğerde sentezlenip dolaşıma geçen ve böbrek tübül hücreleri tarafından alınan kadmiyum-metallothionein kompleksi sorumlu tutulmaktadır (Bobillier ve ark., 2006; Çolakoğlu ve ark., 2004; Klaassen ve ark., 1999; Paksy ve ark., 1997; Park ve ark., 2001; Ren ve ark., 2003). Böbrek proksimal tübüllerinin S1 bölgesi, kadmiyum toksisitesinin ana hedefidir. Proksimal tübül hücrelerinin kadmiyum alımında temel mekanizma; kadmiyum-metallothionein kompleksinin apikal yoldan endositozudur. Kadmiyum nefrotoksisitesinin moleküler mekanizmasını açığa çıkarabilmek için yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur (Friberg, 1984; Nordberg, 1984; Brzoska ve ark., 2003). Kadmiyum tiyol grupları ile reaksiyona girerek çinko ile yarışabilir. DNA kırılmalarına ve lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Ayrıca yapılan çalışmalarda kadmiyum toksisitesinin proksimal tübül hücrelerinde apoptozise yol açtığı gösterilmiştir (Suzuki, 1980).

Kadmiyumun toksik etkilerine dair araştırmalar daha çok nefrotoksisite üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak kadmiyum böbreklerden sonra en yüksek konsantrasyonda karaciğerde birikim gösterdiğinden, hepatotoksik etkilerinin de belirlenmesi önemlidir (Sultan ve ark., 1998; Yamano ve ark., 1998). Kadmiyum toksisitesinin karaciğerdeki bulgularından biri, mitokondriyal fonksiyonun bozulmasıdır (Sultan ve ark., 1998). Kadmiyumun mitokondri üzerine toksik etkisi, mitokondriyal iç zarın geçirgenliğinin artışından daha çok, kadmiyumun karaciğer hücrelerinde glutatyon miktarını arttırmasına ve glutatyon peroksidaz aktivitesini azaltmasına bağlanmaktadır. Kadmiyum hücre lizozomları üzerinde birikmektedir ve lizozomal zarın bütünlüğünün

bozulmasına neden olmaktadır. Lizozomal proteazların ve fosfolipazların salınması, hepatosit sitotoksitesine neden olan bir dizi olaylar zincirini başlatmaktadır. Kadmiyum karaciğerde, hücreler arası sıkı bağlantıları bozmaktadır (Marselt ve ark., 1986; Skowerski ve ark., 1997; Sultan ve ark., 1998; Yamano ve ark., 1998;). Böylece bu metal, karaciğerde hücreler arası homeostazi bozarak, hücreleri apoptoza, nekroza ve hücreler arası iletişimi bozarak sürüklemektedir (Friberg, 1984; Nordberg, 1984; Skowerski ve ark., 1997; Sultan ve ark., 1998).

Kadmiyum insanlar için en etkin karsinogenik metallere biridir. Uzun süreli etkilendiğinde; akciğer, prostat, testis ve böbrek kanserine neden olur. Kadmiyumun insandaki yarılanma süresi 10-30 yıl arası olduğu için, bu metalden etkilene ortadan kalksa da karsinogenik etkisini gösterebilmektedir. Kadmiyumun karsinogenik etkisinin hücreler arası ve moleküler mekanizması; tümör baskılayan genlerin inaktivasyonu, hücre adezyon mekanizmasının bozulması, apoptozisin tetiklenmesi, DNA onarımının baskılanması, serbest radikal üretimi ve antioksidan sistemi etkileme şeklindedir (Il'yasova ve Schwartz, 2005; Waisberg ve ark., 2003). Kadmiyumun organizmada; yaşamsal fonksiyonların devamı için gerekli olan çinko, bakır ve demir gibi elementlerle etkileştiği ve bu elementlerin homeostasisini değiştirdiği bilinmektedir. Kadmiyum toksisitesinin ortaya çıkışı bu elementlerin normal fonksiyonlarının bozulmasıyla ilgili olabilir. Kadmiyum emilimi ince bağırsakta kalsiyum, demir, bakır ve çinko iyonları ile aynı mekanizmalar tarafından gerçekleştirilir. Dolayısıyla kadmiyum bu biyoelementlerin emilimini, biyolojik süreçlerini ve atılımlarını değiştirmek yoluyla metabolizmalarını etkileyebilir (Bridges ve Zalups 2005). Kadmiyum toksisitesinin diğer bir etkisi endokrin sistem ve üreme sistemi üzerindedir. Yapılan çalışmalarda kadmiyumun gonadotropinler, adrenokortikotropik hormon (ACTH), tiroid uyarıcı hormon (TSH) ve prolaktin üzerinde baskılayıcı bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Henson ve Chedrese 2004). Üreme sistemiyle ilgili olarak erkek sıçanlarla yapılan bir çalışmada ise; kadmiyumun testiste nekroz, sertoli hücrelerinde hasar, serum testesteron seviyelerinde azalma gibi birçok olumsuz etki ortaya konmuştur. (Sato ve ark., 2002; Satarug ve Moore, 2004).

Kadmiyum toksisitesinin diğer bir etkisi ise kemik hasarı olup, bu metal kalsiyum fosfat ve vitamin D metabolizmasını bozarak kemikler üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Kadmiyum toksisitesinde; osteoporoz ve osteomalazi gibi

kemik metabolizması bozuklukları görülebilmektedir (Ohta ve ark., 2000; Brzoska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001). Kadmiyum sinir sistemi üzerinde de çeşitli olumsuz etkilere sahiptir. Bu metal, kan-beyin bariyerinin koruyucu özelliği nedeniyle kolaylıkla beyin parankimasından geçemez. Fakat uzun süreli olarak kadmiyumdan etkilenildiğinde kan-beyin bariyerinin geçirgenliğinin arttığı ve sonuçta kadmiyumun beyin dokusunda biriktiği gösterilmiştir (Shukla ve ark., 1996). Yapılan çalışmalarda kadmiyumun voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını baskıladığı ve buna bağlı olarak nörotransmitter salınımında değişiklikler meydana getirebileceği gösterilmiştir (Lafuente ve Esquifino, 1999). Bu değişiklikler özellikle glutamat ve aspartat gibi nörotransmitterlerin azalması şeklindedir (Lafuente ve Esquifino, 1999; Minami ve ark., 2001).

Kadmiyumun solunum sistemine etkileri üzerine yapılan çalışmalarda ise bu metalin özellikle alveol epitel hücrelerinde yıkıcı etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Kadmiyumdan etkilenen bu hücrelerde, DNA onarım basamaklarında görevli enzim miktarlarının düştüğü gözlenmiştir (Hart ve ark., 2001).

Yapılan çalışmalarda, kadmiyumun endotel ve düz kas hücrelerinde hasara neden olarak ateroskleroza yol açabileceği bildirilmiştir. Ayrıca kadmiyumla kontamine olmuş bölgelerde yaşayan ya da kadmiyumun yaygın olarak kullanıldığı endüstrilerde çalışan insanların, hipertansiyon ve kalp hastalıklarına yakalanma oranlarında artış olduğu ileri sürülmüştür (Houtman, 1993; Satarug ve ark., 2005).

2.6.1.3. Kadmiyumun Etki Mekanizması

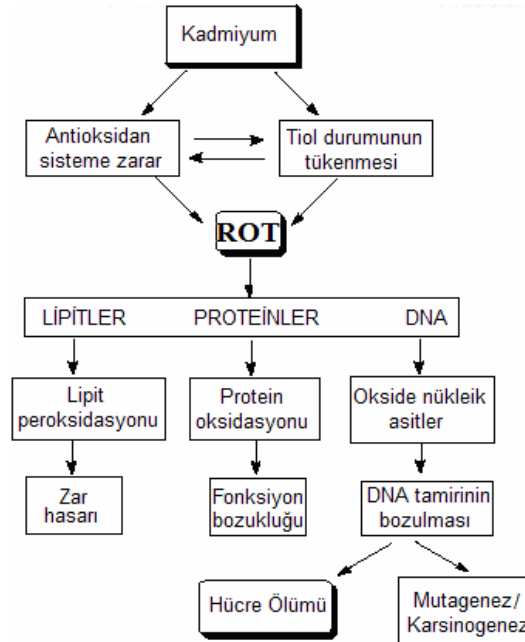
Kadmiyumun toksik etki mekanizması henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu mekanizmanın çözülmesi üzerine; kadmiyumun metallo enzimlerdeki çinko, kalsiyum ve bakır iyonlarıyla yer değiştirmesi, kalmodulindeki kalsiyumun yerini alarak kalmoduline bağlı fonksiyonları aktive etmesi ya da düzenlemesi ve oksidatif stres gibi değişik mekanizmalar ileri sürülmüştür (Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Lermioğlu ve Bernard, 1998).

Kadmiyum için özel taşıma sistemleri yoktur. Bu nedenle basit difüzyona ek olarak, taşınma işlemleri için kalsiyumla (ve çinko, bakır gibi diğer esansiyel iyonlarla) yarışır. Hatta kadmiyumun kalsiyumda olduğu gibi kalsiyum-ATPaz'lara benzer ilgi gösterdiği bildirilmiştir (Verbost ve ark., 1987). Örneğin kalsiyum taşıma sistemiyle

yarışma, kalsiyum homeostazını ve ilgili tüm homeostatik prosesleri bozabilir (Fischer, 1985). Ayrıca kadmiyum kalmodulin gibi kalsiyum bağımlı proteinlerden kalsiyumun yerini almasıyla toksisiteyi uyarabilir (Vig ve Ratt, 1991). Kadmiyum-kalmodulin kompleksinin oluşumu, kalmodulin bağımlı enzimlerin aktivasyonu ya da baskılanmasıyla sonuçlanır (Richard ve ark., 1985).

Yapılan çalışmalarda kadmiyumun organizmada; kofaktör olarak birçok enzimin yapısına katılan çinko ve nörotransmitter salınımı, miyelinizasyon, hemoglobin üretimi için gerekli bir element olan bakır ile etkileştiği ve bu elementlerin homeostazisini değiştirdiği bilinmektedir. Kadmiyum toksisitesinin ortaya çıkışı, bu elementlerin normal fonksiyonlarının bozulmasıyla ilgili olabilir (Bridges ve Zalups, 2005).

Kadmiyumun neden olduğu hücresel toksisite ile ilgili bir diğer mekanizma oksidatif strestir. Oksidatif stres; reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile antioksidan sistem arasındaki dengenin oksidan yönünde bozulması ile gerçekleşir (Sies, 1991). Kadmiyum doğrudan serbest radikal üretimine yol açmaz. Fakat çeşitli mekanizmalarla dolaylı olarak süperoksit ve hidroksil radikali gibi radikallerin oluşumuna yol açar (Şekil 2.3.) (Valko ve ark., 2005).



Şekil 2.3. Kadmiyum etkisiyle oluşan olası oksidatif stres (Valko ve ark., 2005)

Kadmiyum; glutatyon gibi serbest radikal süpürücülerin tiyol gruplarına bağlanır. Katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimleri baskılar. Bu metal; süperoksit ve nitrik oksidin de içinde bulunduğu birçok serbest radikalın üretimine neden olarak, hücre membranındaki yapıların peroksidasyonuna, DNA hasarına ve protein oksidasyonuna yol açar. Membran lipidlerinin oksidasyonu; membran yapısının polimerizasyonuna ve çapraz bağlarla bozulmasına neden olur. Mitokondri membranındaki hasar, kadmiyumun mitokondriden hücre içerisine salıverilmesini sağlar. Bu da DNA hasarına, apoptoza ve nekroza yol açan kaspaz-3 aktivasyonuna neden olur (Bridges ve Zalups, 2005; Waisberg ve ark., 2003; Bertin ve Averbek, 2006).

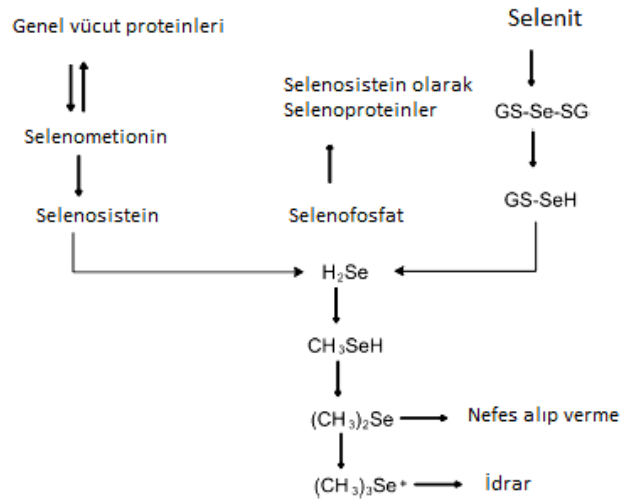
Kadmiyum hepatotoksitesinin mekanizması oksidatif stres oluşumuyla açıklanmaktadır. Kadmiyumdan etkilenildiğinde; hepatositlerde reaktif oksijen türlerinin ve radikallerin oluşumundan birçok mekanizma sorumludur. Bu metal hücresel glutatyon düzeyini ya da katalaz ile süperoksit dismutaz aktivitesini azaltarak antioksidan savunma sistemine zarar verir. Kadmiyum, mangan süperoksit dismutaz ve katalazı kodlayan genleri baskılar. Demir, bakır gibi redoks aktif metallere yer değiştirip, onların serbest hale gelmesini sağlayarak dolaylı yoldan reaktif oksijen türlerinin üretimini sağlar. Ayrıca moleküler oksijenin redüksiyonundan sorumlu ya da süperoksit radikalının oluşumunu sağlayan ksantin oksidazın aktivasyonundan sorumlu solunum zinciri bileşenlerini ve mitokondri membran içeriğini değiştirerek oksidatif hasara neden olur (Liu ve ark., 2002).

2.7. Selenyum

Selenyum; insan ve hayvanların normal gelişimini sürdürebilmeleri için gerekli olan esansiyel iz elementlerden biridir (Karakılçık ve Aksakal, 1993). 1807 yılında İsveçli kimyacı Berzelius tarafından keşfedilen, atom numarası 34 olan bu element, periyodik tablonun 4. periyodunda ve 6A grubunda yer alır. Kimyasal özellikleri bakımından ise kükürde benzer (Fox, 1992; Scwartz, 2003). Selenyum; serbest radikallerin üretimini önlemek için gerekli olan, doymamış yağ asitlerinden türeyen, peroksitleri yok ettiği düşünülen glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesinin sağlanması için önemli olan bir kofaktördür (Fox, 1992). Selenyum; insanlar ve hayvanlar için gerekli bir element iken, bitkiler yaşamlarını sürdürebilmek için bu

elemente ihtiyaç duymazlar. Selenyuma, selenoproteinler olarak da bilinen selenyum bağımlı enzimlerin birçok fonksiyonu için ihtiyaç duyulur (Rayman, 2000). Selenyumun organik ve inorganik olmak üzere iki formu vardır. Organik selenyum formları; selenosistein, selenometiyonin, dimetilselenittir. Organik selenyum bileşikleri ağır metallere bağlanır ve onların vücuttan atılmasına yardım eder. İnorganik selenyum tuzlarından en önemlileri ise; sodyum selenat ve sodyum selenittir. İnorganik selenyum bitkisel kaynaklıdır ve toprakta da bol miktarda bulunur (Suzuki ve Ogra, 1999).

Hayvanlar ve insanlar için esasi bir iz element olan selenyum; tahıl, hububat ve sebzeleri içeren besin kaynaklarından sağlanır (Tapiero ve ark., 2003). Selenyum biyolojik bir döngüyle; topraktan bitkilere, hayvanlar ve insanlara geçer (Şekil 2.4.). Organizmada eser miktarda bulunduğu için dışarıdan alınması gerekmektedir (Karakılçık ve Aksakal, 1993). Bu elementin asıl kaynağı toprak olduğu için bitkilerdeki selenyum içeriği, topraktaki selenyum konsantrasyonuna göre farklılık göstermektedir (Tapiero ve ark., 2003). Bitkiler selenyumunu başlıca selenometiyonine (Se-Met) çevirirler. Se-Met, bitkilerin toplam selenyum içeriğinin %50'sinden daha azına karşılık gelmektedir. Yüksek yapılı hayvanlarda Se-Met sentez edilemez, yalnızca selenit olarak verildiğinde selenosisteine (Se-Cys) dönüştürülebilmektedir. Memelilerde sindirilen Se-Met, ince barsakta Na^+ bağımlı nötral aminoasit transport sistemi tarafından absorbe edilmektedir (Burk ve ark., 1995; Tapiero ve ark., 2003).



Şekil 2.4. Bitki ve hayvanlarda selenyumun alınımı (Tapiero ve ark., 2003)

2.7.1. Selenyumun Emilimi, Dağılımı ve Atılımı

Selenyum ince bağırsaklarda duodenum-ileum ve ileum-sekum arasındaki bölgelerden emilir (Akkuş ve ark., 1991). Emilimin homeostatik kontrolü olmadığı için, plazma selenyum seviyeleri hemen değişir. Selenyum, emilimden sonra çok hızlı bir şekilde eritrositler tarafından tutulur, tioller tarafından indirgenir ve plazma proteinlerine bağlanır (Fox, 1992). Bu proteinlerle kemik ve saçları da içine alan tüm vücut dokularına özellikle de böbrek, karaciğer, kalp, pankreas dokularına taşınır. Ayrıca süt proteinlerine, alyuvarlara ve akyuvarlara da taşınır (Karakılçık ve Aksakal, 1993; Raymond, 1986). Bu bölgelerde yeni sentez edilmiş selenoproteinlerde kullanılır.

Selenyumun yarılanma ömrü 65-115 gündür. Bu elementin dağılımı ve konsantrasyonu önemli derecede tür ve yaşa bağlıdır. Dokulardaki konsantrasyonu; dokuya, diyetteki selenyum miktarına ve kimyasal şekline göre değişmektedir. Neoplastik dokularda daha yüksek miktarlarda selenyum bulunmaktadır (Fox, 1992).

Selenyumun % 60'ı idrarla, % 35'i feçesle ve geri kalanı akciğer ve salgı ile atılır. (Fox, 1992).

2.7.2. Selenyumun Biyolojik Önemi ve Vücuttaki İşlevleri

Selenyumun önemi; glutatyon peroksidaz enziminin yapısında bulunması ve bu enzimin etkinliği için gerekli bir element olmasından kaynaklanmaktadır. Glutatyon peroksidaz; doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesi sonucu oluşan peroksitleri suya dönüştürerek, hücre yapısını bozan ve hücre zarına zarar veren serbest radikalleri yok eder. Bu özelliği ile kuvvetli bir antioksidandır (Çetin ve ark., 2002; Şimşek ve ark., 2004; Klapac ve ark., 2004). Bir selenoprotein olan glutatyon peroksidaz; en fazla karaciğer ve eritrositlerde aktivite gösterirken, kalp, mide, adrenal bezler, akciğer, böbrek, adipoz doku, beyin, iskelet kası ve testislerde daha az düzeyde aktivite gösterir (Boyne ve ark., 1986; Combs ve Combs, 1986). Selenyum mide-bağırsak kanalından lipitlerin ve tokoferollerin normal emilimi için gerekli olan pankreas lipazın üretilmesi ve pankreasın normal yapısı için gereklidir (Karakılçık ve Aksakal, 1993). Bu element, spermatozoanın özel bir proteininin yapısında bulunur. Pürin ve pirimidin bazlarına bağlanabildiği için RNA'nın yapısına girer. Ayrıca prostaglandin sentezinde, elzem yağ asitleri metabolizmasında rol oynar (Çetin ve ark., 2002). Esansiyel bir madde olan

selenyum immün sistemde de etkilidir. Örneğin; humoral ve hücresele bağışıklık sistemlerinde önemli bir role sahiptir. Makrofajların lizozom membranlarının glutatyon peroksidaz içerdikleri ve selenyum yetersizliğinde tahrip oldukları bildirilmiştir (Boyne ve ark., 1986; Combs ve Combs, 1986; Kremidjian-Schumacher ve ark., 1987).

Selenyumun bir diğere özelliğı de toksik ağır metallerin etkisini yok etmesidir. Her ne kadar mekanizması tam olarak bilinmese de selenyumun kadmiyum ve cıvanın toksik etkisini önlediğı saptanmıştır (O'Brien ve ark., 2003; Şimşek ve ark., 2004; Rayman, 2000).

Selenyumun fizyolojik görevlerinden biri de, E vitamini taşıyıcısı olmasıdır. Bu elementin, E vitamininin emiliminde rolü olduğı ve buna bağılı olarak da biyolojik etkinliğini arttırmada etkili olabileceğı belirtilmektedir (Karakılçık ve Aksakal, 1993). Genel olarak seleno-enzimlerin; oksijen metabolizması, detoksifikasyon olayları, kanser hücrelerindeki apoptozisin indüklenmesi ve hücre bölünmesinin kontrolünde görev aldıkları bilinmektedir (Valko ve ark., 2006).

Selenyum ile kanser arasındaki ilişki araştırıldığında; insanlardaki fizyolojik düzeydeki selenyumun antikanserojen bir etki gösterdiği, kanserli hastaların ölüm oranı ile kan selenyum düzeyleri arasında zıt bir ilişkinin olduğı belirtilmiştir (Karakılçık ve Aksakal, 1993). Ayrıca selenyumun Keshan hastalığı olarak tanımlanan kalp damar hastalığı üzerinde de etkili olduğı bildirilmiştir (O'Brien ve ark., 2003; Klapac ve ark., 2004)

2.7.3. Selenyum Eksikliği ve Etkileri

Selenyum eksikliğinde, glutatyon (GSH) metabolizması etkilenir. Bu durum etkisini; glutatyonun sentezini ve karaciğerde serbest bırakılmasını artırarak, plazmadaki glutatyon seviyesinin yükselmesiyle gösterir. Selenyum eksikliği aynı zamanda glutatyon peroksidaz aktivitesinde azalmaya neden olur (Tapeiro ve ark., 2003). Bu elementin yetersizliği durumunda; mikrobiyal ve viral enfeksiyonlara karşı direncin, antikor üretiminin, fagositik hücre fonksiyonlarının azaldığı belirtilmektedir (Kremidjian-Schumacher ve Stotzky, 1987).

Selenyum eksikliği olan hayvanlarda oluşturulan deneysel enfeksiyonlarda; bu hayvanların enfeksiyonlara karşı dirençsiz oldukları, hayvanlara selenyum verilmesi halinde ise enfeksiyonlara karşı daha dirençli hale geldikleri bildirilmiştir (Rames ve

ark., 2001). Selenyum yetersizliğine bağlı olarak hayvan ve insanların çoğu dokusunda; dejeneratif bozukluklar, üreme ve büyümede aksaklıklar ve kalp hastalıklarına karşı hassasiyet gözlenebilir (Keen ve Graham, 1989).

Selenyum eksikliğinde; sıçanlarda karaciğer nekrozu, testislerde dejenerasyon, gelişmede yavaşlama, böbreklerde tübüler dejenerasyonların şekillendiği bildirilmiştir (Karakılçık ve Aksakal, 1993).

Ayrıca bu elementin eksikliğinde; Keshan hastalığı, tırnak değişiklikleri, T ve B hücrelerinde fonksiyon bozukluğu, koroner arter hastalığı ve kas ağrısı gibi hastalık durumları ortaya çıkabilir (Tapeiro ve ark., 2003).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneyleerde Kullanılan Hayvanların Sağlanması

Çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp fakóltesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezinde üretilen *Wistar albino* tipi ratlar ile yapıldı (şekil 3.1.). Ratlar plastik kafeslerde Samsun Yem Fabrikası tarafından üretilen standart rat yemi ile beslendi. 18–22 °C oda sıcaklığında 12 saat ışık/karanlık sağlandı. Aynı jenerasyondan olmalarına özen gösterilerek kullanılan 250-300 gr ağırlığındaki erkek ratlar gavajdan önceki 24 saat aç bırakıldı ve su serbest olarak verildi.



şekil 3.1. *Wistar albino* tipi ratlar

3.2. Ratlara Uygulanan Maddeler

Çalışmamızda kullandığımız kadmiyum, kadmiyum klorür (CdCl_2) formunda Sigma-Aldrich Germany firmasından temin edilmiştir. Ratlar için, % 0.9'luk serum fizyolojik çözeltilisindeki 4 mg/kg/gün dozu gavaj yoluyla verildi (Höfer ve ark., 2009).

Selenyum, L-selenometiyonin formu olarak Sigma-Aldrich Germany firmasından temin edilmiştir. Ratlar için, % 0.9'luk serum fizyolojik çözeltilisindeki 1 mg/kg/gün'lük dozu gavaj yoluyla verildi (Antunes ve ark., 2001).

3.3. Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızdaki histolojik takip, gömme ve boyama işlemlerinde kullanılan kimyasal maddeler; kadmiyum, hematoksilen, periyodik asit, eozin, pikrik asit, parafin ve entellan Merk W. Germany firmasından; selenyum, glasiyal asetik asit, biebrich-scarlet, asit fuksin, demir (III) klorid ve fosfotungstik asit Sigma-Aldrich Germany firmasından; sitrik asit, kloral hidrat, amonyum alüminyum sülfat, bazik fuksin, anilin mavisi, fosfomolibdik asit, potasyum metabisülfid, aktif kömür, disodyumhidrojen fosfat, sodyum dihidrojen fosfat, formaldehit ve HCl Carlo Erba firmasından; Absolü etil alkol J. T. Baker firmasından; sodyum iyodat Fluka firmasından; ksilen Ridel-de-Haen firmasından temin edilmiştir.

3.4. Çalışmalarda Kullanılan Aletler

Çalışmamızda; Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Histoloji Araştırma Laboratuvarında bulunan:

Leica D 1000 ışık mikroskobu
Leica DFC 290 Görüntü Aktarım Aparatı
Dell Inspiron Bilgisayar
Sartorius CP 224 S Hassas Terazisi
Reichert-Jung 2030 Rotary Mikrotom
Electromag M 6040 BP İnkübatör
Cyberscan 500 pH metre
Parafin Su Banyosu
Yellowline MSH ısıtıcı
Beko D 9330 NM Nofrost Buzdolabı
Vestel Hera 7021 P Bulaşık Makinası

3.5. Deney Protokolü

3.5.1. Araştırma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda aşağıda tabloda gösterildiği gibi kontrol, kadmiyum, selenyum ve kadmiyum+selenyum olmak üzere dört grup oluşturuldu (Tablo 3.1.). Her grupta belirlenen günlerde beşer hayvan sakrifiye edildi.

Çizelge 3.1. Araştırma gruplarının oluşturulması

Gruplar				
Günler	Kontrol	Kadmiyum	Selenyum	Selenyum + Kadmiyum
1. Gün	5	5	5	5
6. Gün	5	5	5	5
28. Gün	5	5	5	5

3.5.2. Maddelerin Uygulanışı

Kadmiyum, selenyum, kadmiyum+selenyum ve kontrol grubu olmak üzere 4 ayrı çalışma grubuna ayrılmış ratlardan, kadmiyum gruplarına 4mg/kg/gün madde gavaj yoluyla verildi (Höfer ve ark., 2009). Selenyum gruplarına ise 1mg/kg/gün madde yine gavaj yoluyla verildi (Antunes ve ark., 2001). Kadmiyum+selenyum gruplarındaki ratlara, 4 mg/kg/gün dozdaki kadmiyum ve 1mg/kg/gün dozdaki selenyum birer saat arayla gavaj yoluyla verildi. Kadmiyum ve selenyum maddeleri, tüm gruplardaki ratlara sakrifiye gününe kadar her gün aynı saatte verildi. Kontrol gruplarına hiçbir işlem uygulanmadı.

3.5.3. Rat Karaciğerlerinin Perfüzyonu, Çıkarılması ve Fiksasyonu

Gavaj yoluyla her gün madde uygulama işleminden sonra her grup için belirlenen sayıdaki ratlar, 1., 6. ve 28. günlerde 75 mg/kg ketamin HCl anestezisi altına

alındı. Kardiyak perfüzyon işlemi için; göğüs boşluğu açılarak halen atmakta olan kalp perikart kesesine yapılan kesi ile açık hale getirildi. Sol ventrikül apeksden kesilerek aortaya damar içi kateter yerleştirildi (Şekil 3.2.). Sağ ventrikül ve aurikula kesilerek kanın dışarı akması sağlandı. Aort yoluyla öncelikle % 0.9'luk serum fizyolojik verildi. Daha sonra hayvanın büyüklüğüne göre 400-700 ml arasında % 10'luk tamponlanmış nötral formalin sol kalp yoluyla hayvana verildi. Tespit başladığında hayvanda istemsiz kasılma hareketleri gözlemlendi. Perfüzyon işleminden sonra çıkarılan karaciğer dokusu ışık mikroskopunda histopatolojik değerlendirme için, 1 cm³'lük parçalara ayrıldı ve önceden etiketlenerek hazırlanmış içerisinde % 10'luk tamponlanmış nötral formalin bulunan kavonozlar içerisinde gerekli fiksasyon süresince bekletildi.



A)



B)

Şekil 3.2. A) Rat karaciğerinin perfüzyondan önceki görüntüsü. B) Rat karaciğerinin perfüzyondan sonraki görüntüsü.

3.5.4. Doku Takibi ve Dokuların Parafine Gömülmesi

Fiksasyon işlemi süresi sonunda dokular histolojik doku takip kasetlerine yerleştirildi ve fiksatif uzaklaştırmak için 12 saat akan musluk suyu altında yıkama işlemi uygulandı. Fiksatif dokulardan uzaklaştırıldıktan sonra dokular dereceli alkol serilerinden (%70, %80, %90, %96 %100, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Bu işlem her bir seride birer saat uygulandı. Dehidratasyon işleminden sonra şeffaflandırıcı olarak ksilen kullanıldı. 45'er dakikalık ksilen ve ksilen+parafin işlemlerinden sonra parafinizasyon işlemine geçildi. Yumuşak parafin, yumuşak+sert parafin ve sert parafin içerisinde dokular birer saat bekletildi. İşlemler sonunda L demirleri kullanılarak dokular parafine gömüldü ve etiketlendi.

3.5.5. Parafin Bloklardan Kesit Alınması

Parafin bloklardan Rotary mikrotomla 5µ kalınlığında kesitler alındı. Parafin şeritler halinde alınan kesitler, 45-50 °C'ye ayarlı su banyosunda açılmaları sağlandıktan sonra lam üzerine alındı.

3.5.6. Kesitlerin Boyanması

Alınan kesitlerdeki dokular; genel doku görünümünü gözlemek için Hematoksilen-Eosin boyaması, bağ dokusunu gözlemek amacıyla Masson'un üçlü boyaması, hepatositlerdeki glikojeni değerlendirmek amacıyla Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyaması ile boyandı (AFIP, 1992; Bancroft ve Stevens, 1996).

Mayer'in Hematoksilen-Eozin Boyama Prosedürü (AFIP, 1992).

- 1) Kesitler 10'ar dakika iki ayrı ksilen banyosunda bekletilerek deparafinize edildi.
- 2) Alkol serilerinden (%100, %96, %90, %80, %70) geçirildi.
- 3) 5 dakika musluk suyunda yıkandı.
- 4) Mayer'in Hematoksileninde 3 dakika bekletildi.
- 5) %75'lik alkolde 1 dakika bekletildi.
- 6) Eozinde 3-15 saniye bekletilerek boyama yapıldı.
- 7) Alkol serilerinden (%70, %80, %90, %96, %100) geçirildi.
- 8) Kurutulduktan sonra ksilende bekletilerek entellanla kapatıldı.

Boyama sonucunda; hücrelerin çekirdekleri mavi-mor, sitoplazma pembe, diğer doku kısımları pembe olarak gözlenir.

Periyodik asit - Schiff (PAS) Boyaması Prosedürü (Bancroft and Stevens, 1996)

- 1) Kesitler deparafinize ve hidrate edildi.
- 2) % 0,5'lik periyodik asit solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- 3) Akarsuda 1 dakika yıkandı.
- 4) Schiff solüsyonunda 15 dakika bekletildi.

- 5) Akarsuda 5 dakika yıkandı.
- 6) Mayer'in hematoksileninde 3 dakika çekirdek boyaması yapıldı..
- 7) Akarsuda yıkandı.
- 8) Absolü alkolde bekletildi, kurutulup ksilende bekletildi, entellanla kapatıldı.

Boyama sonucunda; hepatositlerin sitoplazmalarında depolanmış olan glikojen tanecikleri magenta rengi tanecikler olarak gözlenir.

Masson'un Üçlü Boyaması Prosedürü (AFIP, 1992)

- 1) Kesitler deparafinize ve hidrate edildi.
- 2) Bouin solüsyonunda 56°C'de 30 dakika bekletildi.
- 3) Ilık akarsuda yıkama yapıldı.
- 4) Weigert'in demirli hematoksilen boyasında 7 dakika bekletildi.
- 5) Akarsuda 5 dakika yıkandı.
- 6) Distile suda 1 dakika yıkandı.
- 7) Biebrich Scarlett-asit fuksin solüsyonunda 2 dakika bekletildi.
- 8) Distile suda 1 dakika yıkandı.
- 9) Fosfomolibdik Asit – fosfotunstik asit solusyonunda 10 dakika bekletildi.
- 10) Anilin mavisi solusyonunda 5 dakika bekletildi.
- 11) Distile suda 1 dakika yıkandı.
- 12) %1'lik asetik asit solüsyonunda 3-5 dakika bekletildi.
- 13) Distile suda yıkandı.
- 14) Alkol serilerinden geçirildi, kurutulup ksilende bekletildi, entellan ile kapatıldı.

Boyama sonucunda; hücrelerin çekirdekleri siyah, sitoplazma kırmızı, kollajen mavi olarak gözlenir (Bancroft ve Stevens, 1996).

Değerlendirilmede karaciğerdeki hidropik dejenerasyon, inflamasyon odakları, sinüzoidlerde genişleme, fibrozis, hepatositlerde glikojen yoğunluğundaki değişmeler ve Kupffer hücreleri dikkate alınarak, gruplar arasında karşılaştırmalı olarak bir değerlendirme yapıldı.

Pereparatlar, Leica DM 1000 ışık mikroskobu ile değerlendirildikten sonra, görüntüler Leica DFC 290 görüntü aktarım aparatı ile bilgisayara aktarıldı ve mikrofotografaları elde edildi.

4. BULGULAR

4.1. Kontrol Grubunun Karaciğer Histolojisi

Karaciğerin genel histolojisi ışık mikroskopuyla Hematoksilen-Eozin boyamada gözlemlendi. Hepatositlerin, lobül periferine doğru santral venden ışınsal olarak düzenli bir şekilde yerleşerek remark kordonları oluşturduğu ve sinüzoidlere paralel bir yerleşim gösterdiği belirlendi. Bu hepatosit plaklarının araları damarlaşmış hepatik sinüzoidler tarafından ayrıldığı ve bunların santral venlere doğru açıldığı gözlemlendi. Hepatosit sitoplazmasının çoğunlukla açık pembe renk boyandığı ve çekirdeklerinin büyük, yuvarlak ve oldukça ökromatik olduğu tespit edildi (Resim 1). Portal sahalarda rastlanan portal ven ile hepatik arterin dalları ve safra kanalları normal görünümdeydi. Fibrozis, hidropik dejenerasyon ve inflamasyon odaklarına rastlanmadı.

PAS boyamada, glikojenin hepatositlerdeki dağılımının fazla olmadığı ve glikojenin koyu leylak rengi boyandığı belirlendi (Resim 2).

Masson'un üçlü boyamasında periportal alanlarda ve santral ven çevresinde yoğun olmayan bağ dokusu belirlendi (Resim 3).

4.2. Kadmiyumun Karaciğer Üzerindeki Histolojik Etkileri

Bu gruba ait ratların karaciğer dokularının, ışık mikroskopik incelenmesinde Hematoksilen-Eozin boyama ile genel yapıda önemli ölçüde bozukluklar gözlemlendi.

Kadmiyum 1. gün grubunda sinüzoidlerde fazla olmayan genişlemeler görülmekle birlikte, belirgin bir hasar oluşumu gözlenmedi. Genel görüntüde santral venden periferine doğru ışınsal dizilim gösteren, yuvarlak çekirdekli, poligonal hücrelerin şeklinde normal histolojik görünüm belirlendi. Hidropik dejenerasyon ve inflamasyon odaklarına rastlanmadı. Ayrıca fazla yoğun olmayan Kupffer hücreleri gözlemlendi. Genelleme yapıldığında kontrol gruplarına yakın görünümde olduğu belirlendi (Resim 4). 6. günde remark kordonlarının düzensizleştiği, santral ven ve portal alan çevresindeki hepatositlerin poligonal şekillerini kaybettikleri, hücreler arasında boyut farklılıklarının olduğu görüldü. Hidropik dejenerasyonda ise artış belirlendi (Resim 5). Ayrıca Kupffer hücrelerinde ve inflamasyon odaklarında artış görüldü (Resim 6). 28.

günde inflamasyon odaklarında, hidropik dejenerasyonda 6. güne göre artış ve sinüzoidlerde genişlemenin daha fazla olduğu belirlendi (Resim 7).

PAS boyama ile kadmiyum verilmiş grupların karaciğerlerindeki glikojen alanları ve glikojen yoğunluğunda fark edilebilir bir değişiklik gözlenmedi (Resim 8).

Masson'un üçlü boyamasıyla kadmiyum verilmiş olan gruplarda fark edilebilir bir fibrozis gözlenmedi (Resim 9).

Hidropik dejenerasyon, inflamasyon odakları, sinüzoidlerdeki genişlemeler ve aktifleşen Kupffer hücreleri, fibrozis ve hepatositlerdeki glikojen yoğunluğu karaciğer kesitinde yarı kantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme her bir gruptaki değişikliklerin modu alınarak yapıldı (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Kadmiyum gruplarının yarı kantitatif değerlendirilmesi

Belirlenen değişiklikler	1. Gün	6. Gün	28. Gün
Hidropik dejenerasyon	-	++	+++
Sinüzoidlerde genişleme	+	++	+++
İnflamasyon odakları	-	+	++
Aktive olmuş Kupffer hücreleri	+	++	++
Hepatositlerdeki glikojen yoğunluğu	-	-	-
Fibrozis	-	-	-

Santral ven ve portal bölge etrafındaki alanlarda +

Santral ven ile portal bölge etrafındaki ve yakınındaki alanlarda ++

Santral ven ile portal bölge etrafındaki ve daha uzaktaki alanlarda +++

Tüm karaciğerde ++++

Hiçbir değişiklik yok -

4.3. Selenyumun Karaciğer Üzerindeki Histolojik Etkileri

Hematoksilen-Eozin boyama ile 1. gün grupları kontrol grubuyla kıyaslandığında, kontrol grubundan farklı bir histolojik görünüm gözlenmezken, aktive olmuş fazla yoğun olmayan Kupffer hücreleri belirlendi. 6. ve 28. günlerde santral ven çevresindeki sinüzoidlerde hafif şiddette genişleme gözlendi (Resim 10 ve 11). Aktive olmuş kupffer hücrelerinde fazla bir artış belirlenmedi.

PAS boyama ile selenyum verilmiş grupların karaciğerlerindeki glikojen alanları ve glikojen yoğunluğunda fark edilebilir bir değişiklik gözlenmedi (Resim 12). Masson'un üçlü boyamasıyla selenyum verilmiş olan gruplarda fark edilebilir bir fibrozis gözlenmedi (Resim 13).

Hidropik dejenerasyon, inflamasyon odakları, sinüzoidlerdeki genişlemeler ve aktifleşen Kupffer hücreleri, fibrozis ve hepatositlerdeki glikojen yoğunluğu karaciğer kesitinde yarı kantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme her bir gruptaki değişikliklerin modu alınarak yapıldı (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Selenyum gruplarının yarı kantitatif değerlendirilmesi

Belirlenen değişiklikler	1. Gün	6. Gün	28. Gün
Hidropik dejenerasyon	-	-	-
Sinüzoidlerde genişleme	-	+	+
İnflamasyon odakları	-	-	-
Aktive olmuş Kupffer hücreleri	+	+	+
Hepatositlerdeki glikojen yoğunluğu	-	-	-
Fibrozis	-	-	-

* + ve – ifadeleri Çizelge 4.1.' de verildiği gibidir.

4.4. Kadmiyum+selenyumun Karaciğer Üzerindeki Histolojik Etkileri

Hematoksilen-Eozin boyama ile 1. günde inflamasyon odakları ve hidropik dejenerasyon gözlenmezken, sinüzoidlerde hafif şiddette genişlemeler ve fazla olmayan, aktive olmuş Kupffer hücreleri belirlendi. Genel görünüm normale yakındı (Resim 14). 6. günde, sinüzoidlerde biraz genişlemeler ve fazla olmayan hidropik dejenerasyon gözlendi (Resim 15). Ayrıca fazla olmayan inflamasyon odaklarına rastlandı (Resim 16). 28. günde sinüzoidlerde çok hafif genişlemeler dışında kontrol grubuna yakın histolojik görünüm elde edildi. İnflamasyon odaklarına ve hidropik dejenerasyona rastlanmadı. Hepatosit ışınal düzenlenmesinin normale yakın olduğu belirlendi (Resim 17).

PAS boyama ile kadmiyum+selenyum verilmiş grupların karaciğerlerindeki glikojen alanları ve glikojen yoğunluğunda fark edilebilir bir değişiklik gözlenmedi (Resim 18).

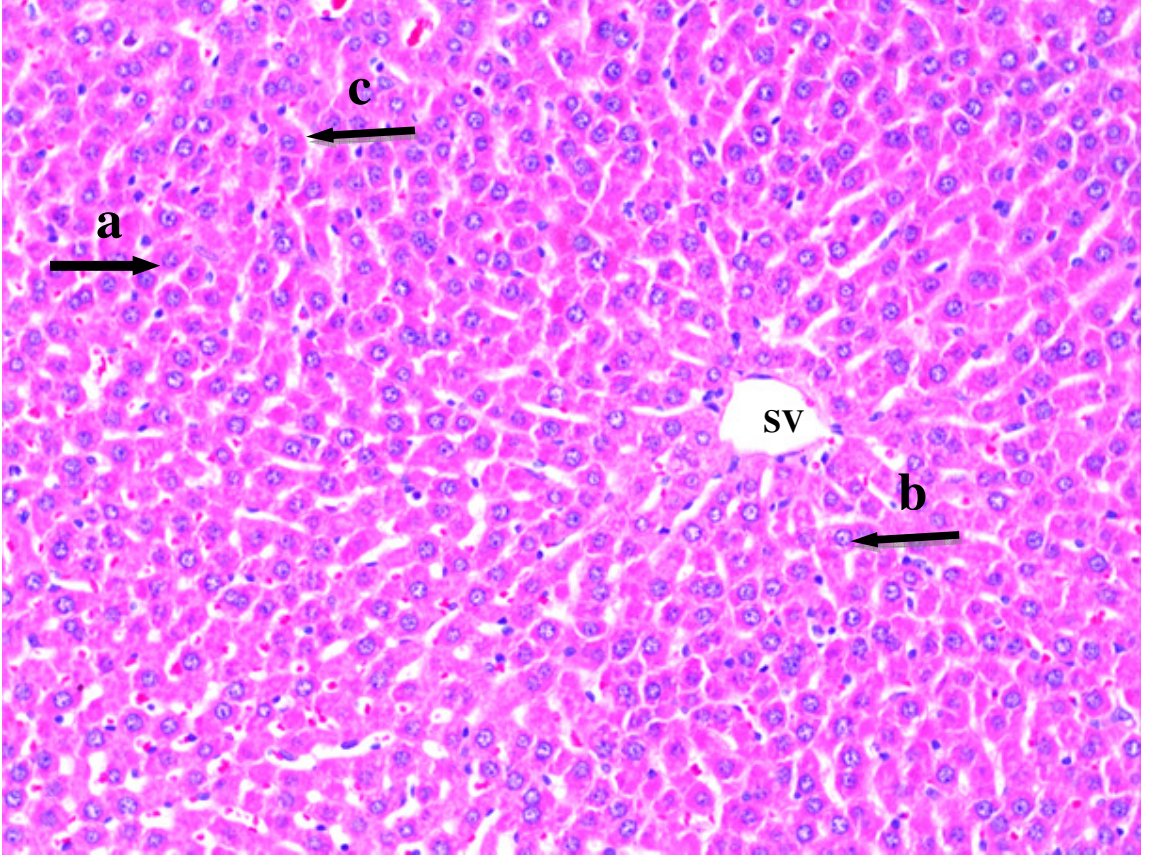
Masson'un üçlü boyamasıyla kadmiyum+selenyum verilmiş olan gruplarda fark edilebilir bir fibrozis gözlenmedi (Resim 19).

Hidropik dejenerasyon, inflamasyon odakları, sinüzoidlerdeki genişlemeler ve aktifleşen Kupffer hücreleri, fibrozis ve hepatositlerdeki glikojen yoğunluğu karaciğer kesitinde yarı kantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme her bir gruptaki değişikliklerin modu alınarak yapıldı (Çizelge 4.3.).

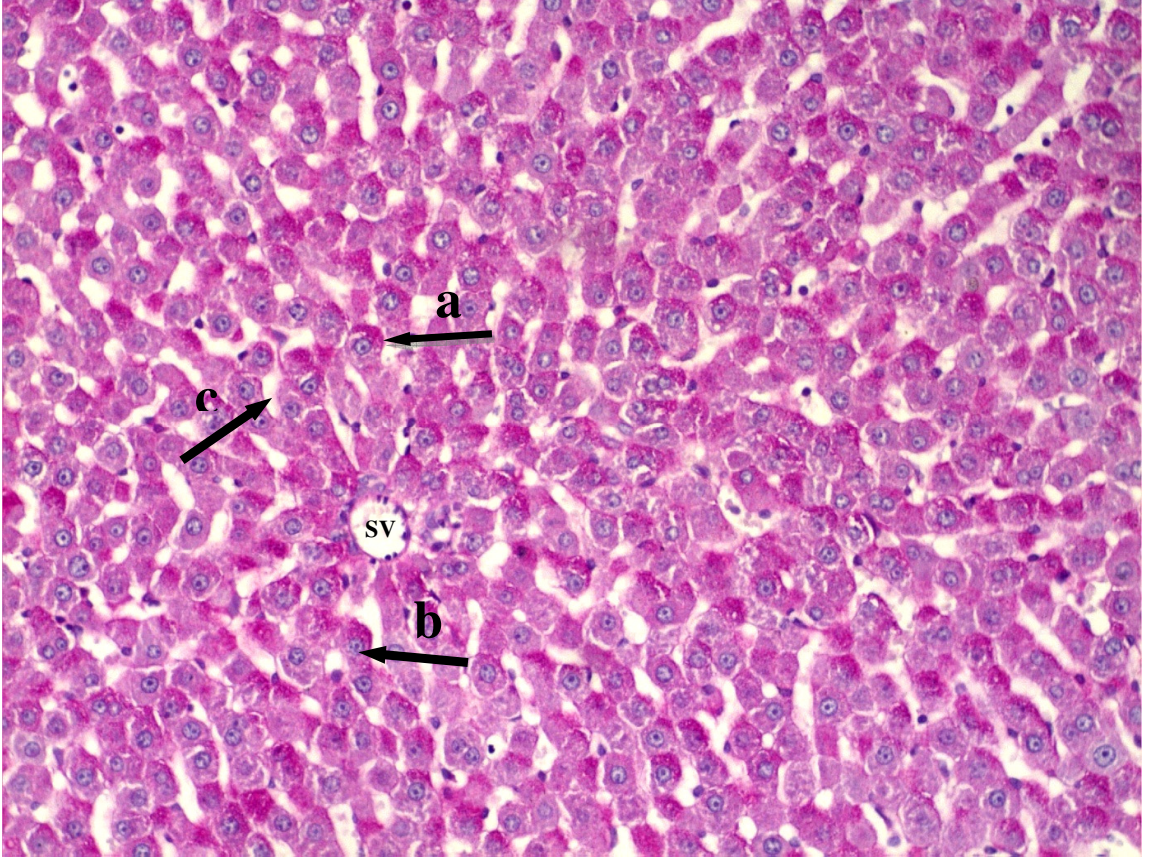
Çizelge 4.3. Kadmiyum+selenyum gruplarının yarı kantitatif değerlendirilmesi

Belirlenen değişiklikler	1. Gün	6. Gün	28. Gün
Hidropik dejenerasyon	-	+	-
Sinüzoidlerde genişleme	+	+	+
İnflamasyon odakları	-	+	-
Aktive olmuş Kupffer hücreleri	+	++	+
Hepatositlerdeki glikojen yoğunluğu	-	-	-
Fibrozis	-	-	-

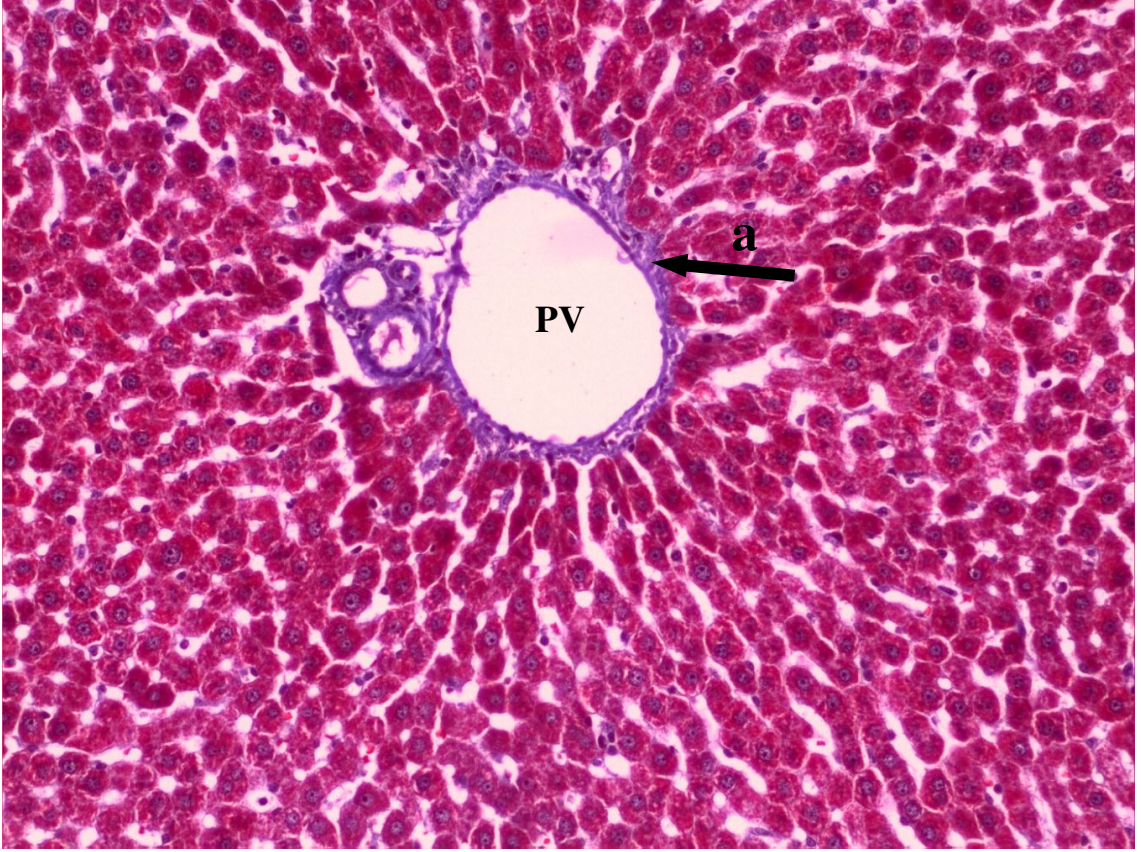
* + ve – ifadeleri Çizelge 4.1.' de verildiği gibidir.



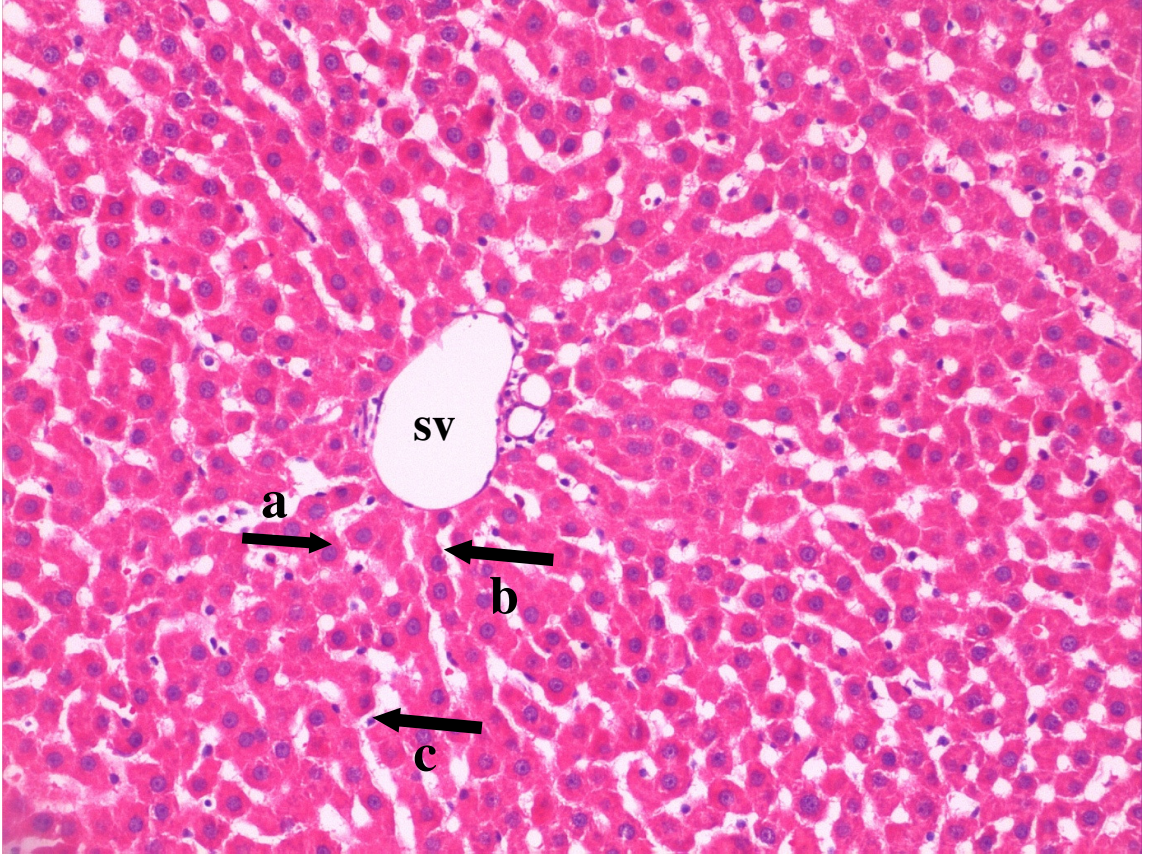
Şekil 4.1. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Santral venden (sv) ışımsal olarak uzanan hepatositler (a), hepatosit çekirdeği (b), sinüzoid (c). H-E x 200



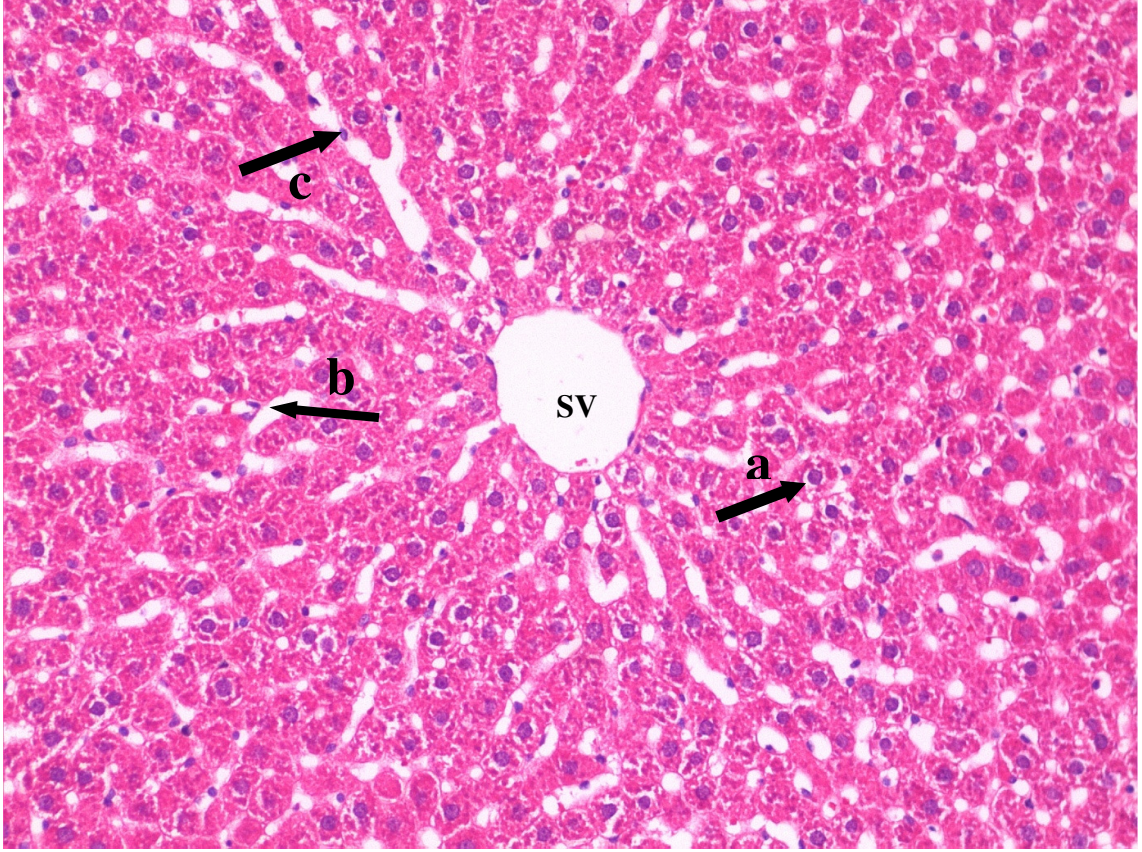
Şekil 4.2. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Bazı hepatositlerde daha yoğun gözlenen glikojen (a), hepatosit çekirdeği (b), sinüzoid (c), santral ven (sv). PAS x 200



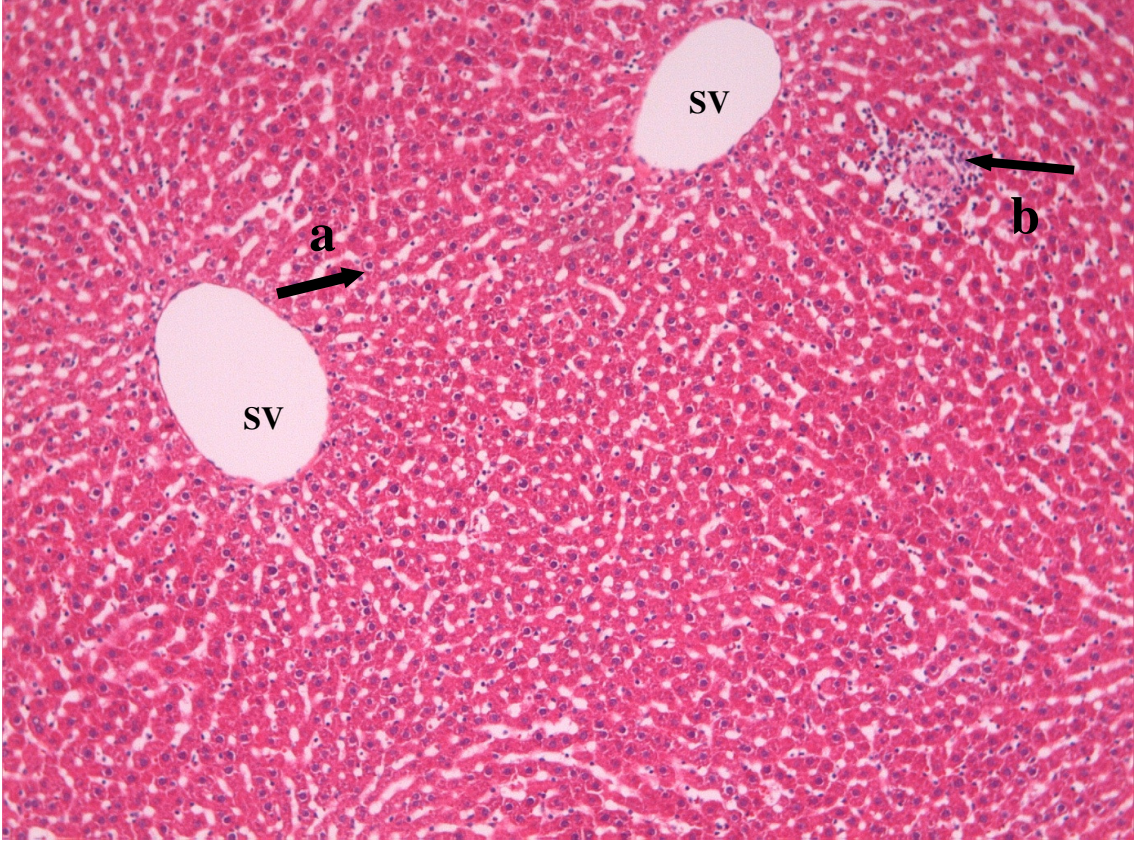
Şekil 4.3. Kontrol grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Portal alan çevresindeki bağ dokusu (a), portal ven (pv). Masson'un Üçlü Boyaması x 200



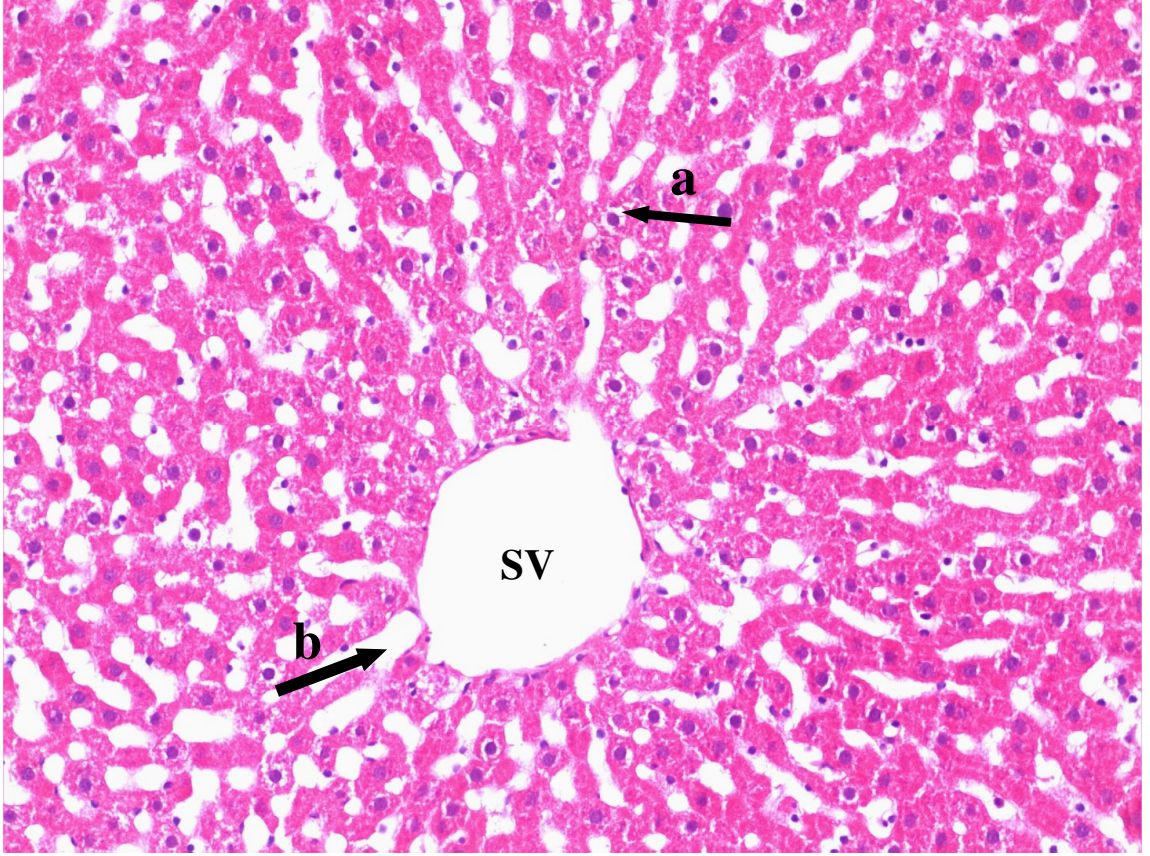
Şekil 4.4. Kadmiyum 1. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Santral venden (sv) ışınal olarak uzanan hepatositler (a), sinüzoidler (b), Kupffer hücresi (c). H-E x 200



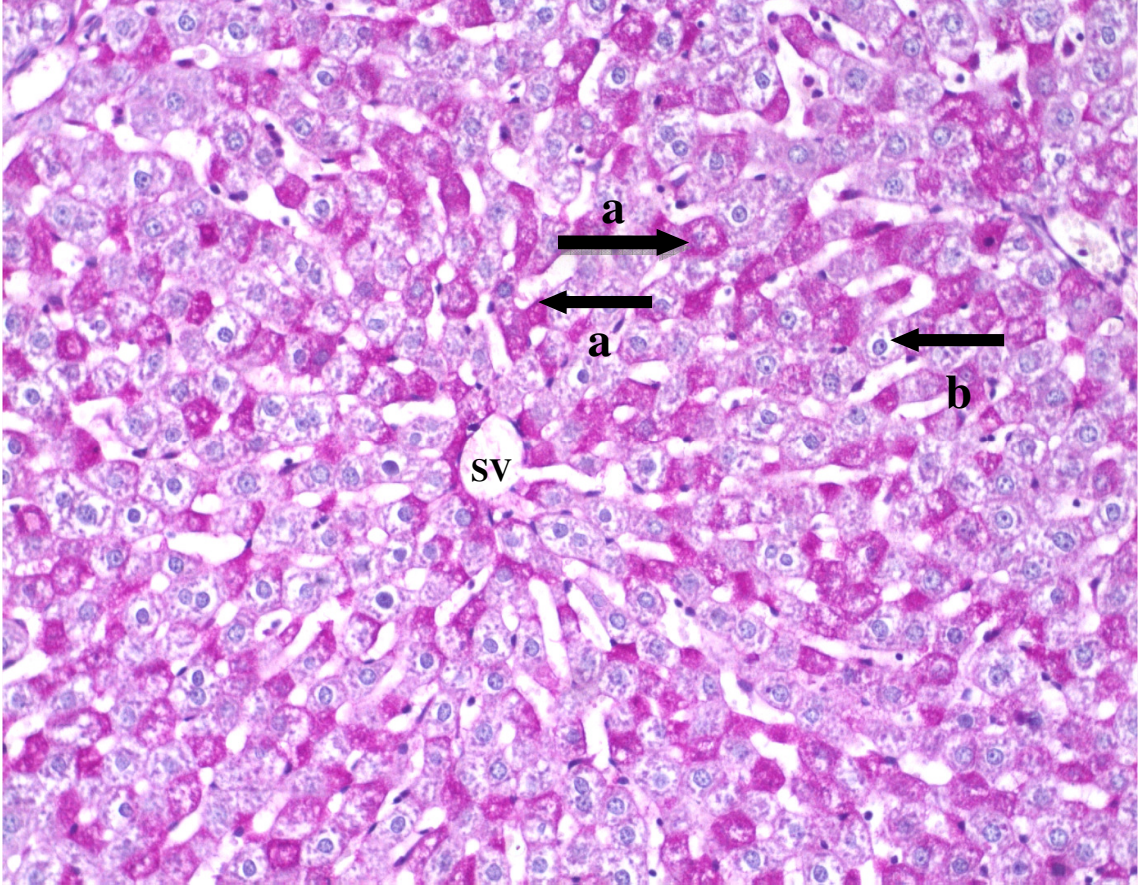
Şekil 4.5. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Hepatositlerde hidropik dejenerasyon (a), genişlemiş sinüzoidler (b). Kupffer hücresi (c). H-E x 200



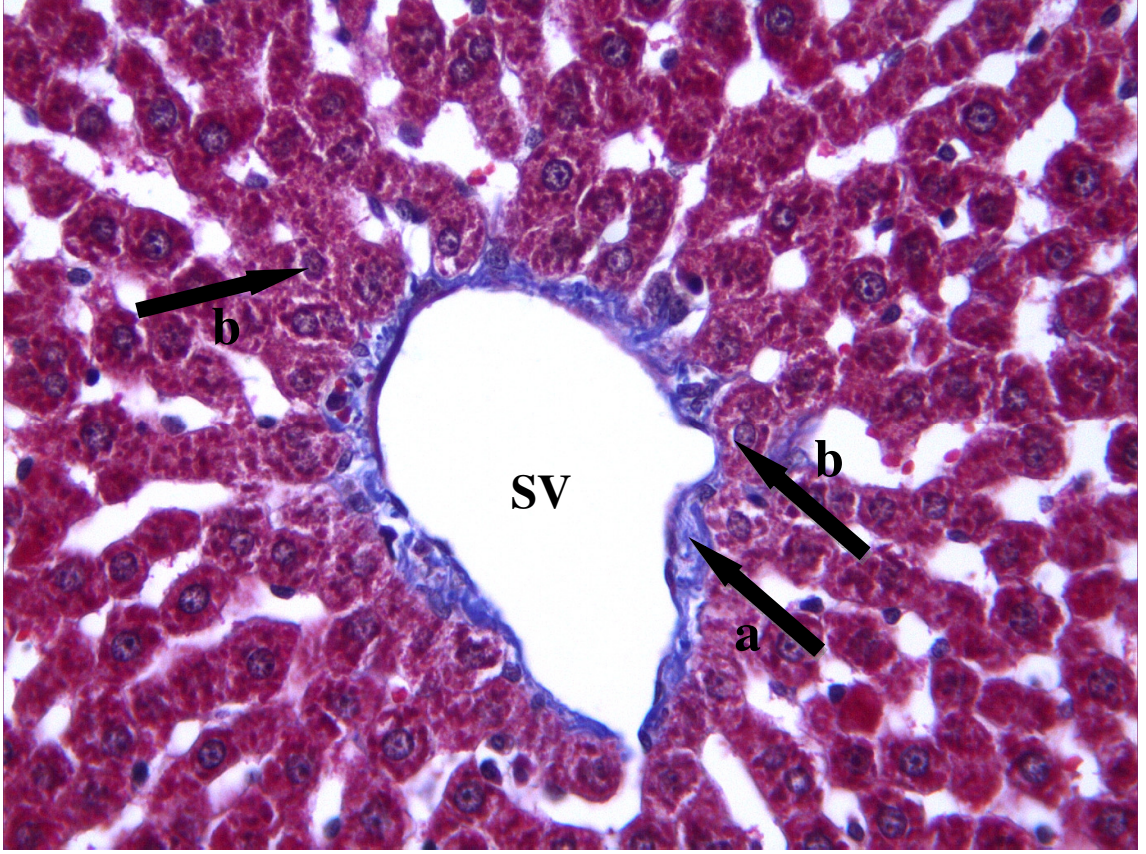
Şekil 4.6. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Hepatositlerde hidropik dejenerasyon (a), inflamasyon odağı (b). H-E x 100



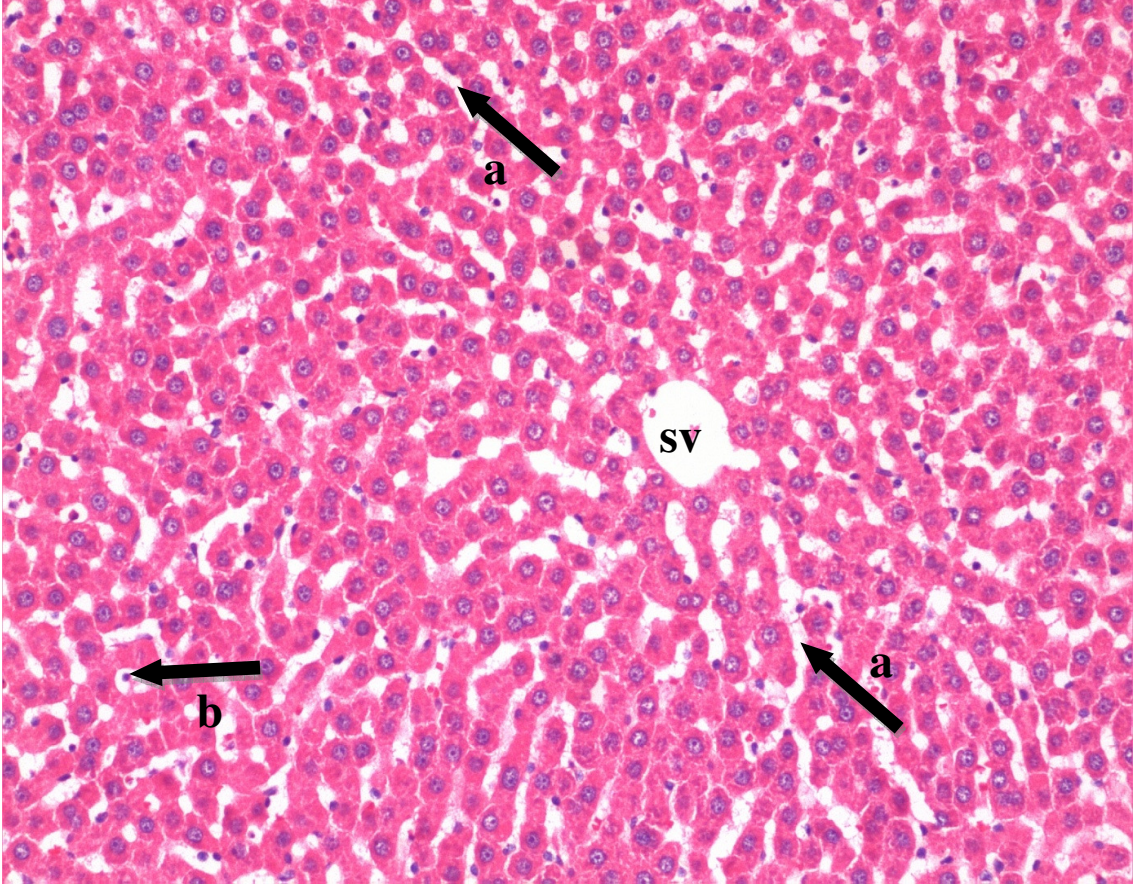
Şekil 4.7. Kadmiyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Santral ven (sv), hepatositlerde hidropik dejenerasyon (a), genişlemiş sinüzoidler (b). H-E x 200



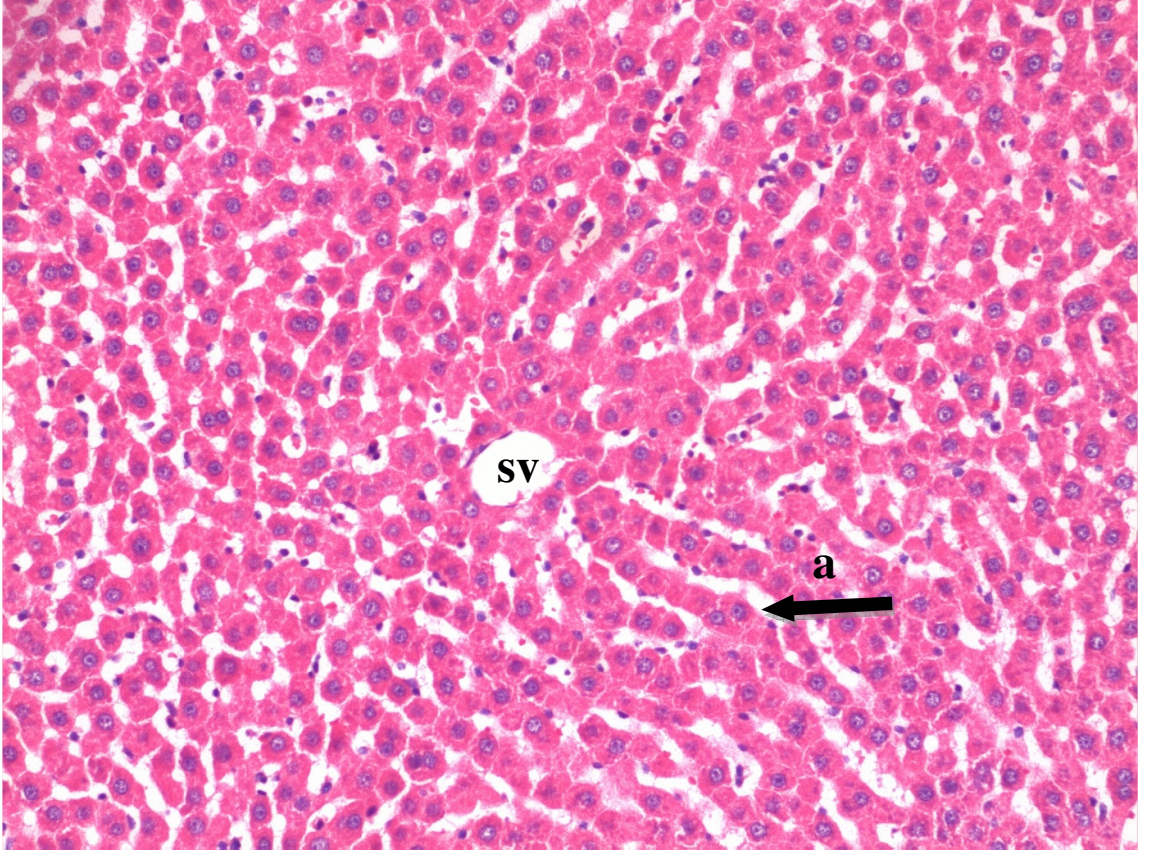
Şekil 4.8. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Bazı hepatositlerde daha yoğun gözlenen glikojen (a), hepatositlerde hidropik dejenerasyon (b), PAS x 200



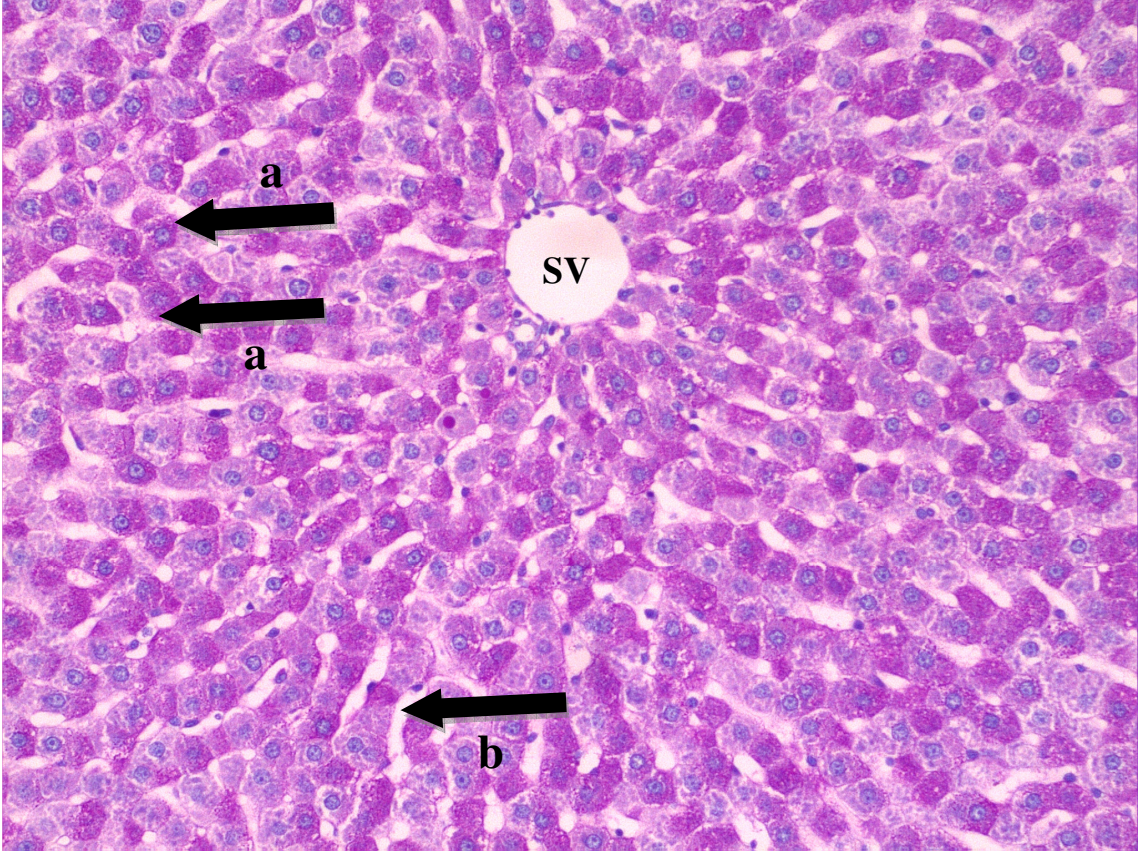
Şekil 4.9. Kadmiyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Santral veni çevreleyen bağ dokusu (a), santral ven etrafındaki hepatositlerde hidropik dejenerasyon (b). Masson'un Üçlü Boyaması x 400



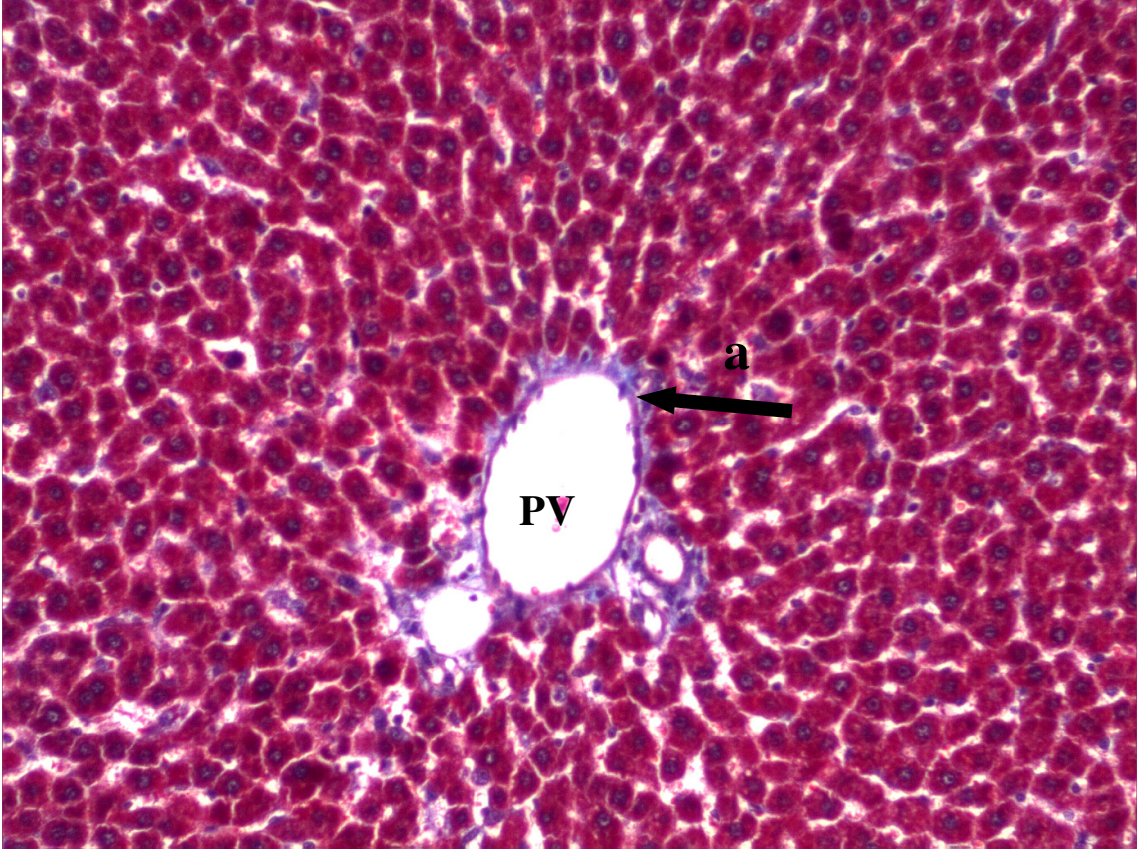
Şekil 4.10. Selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Genişlemiş sinüzoidler (a), Kupffer hücresi (b), santral ven (sv). H-E x 200



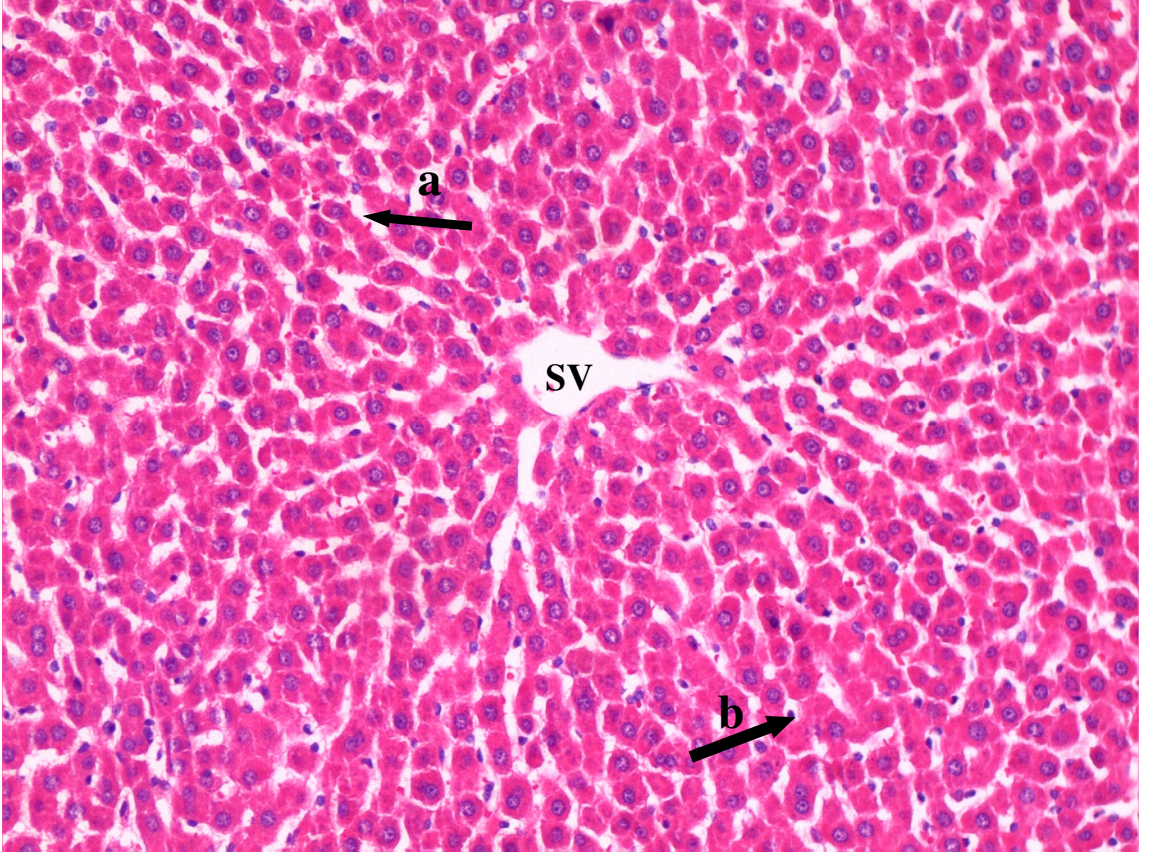
Şekil 4.11. Selenyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Genişlemiş sinüzoidler (a). H-E x 200



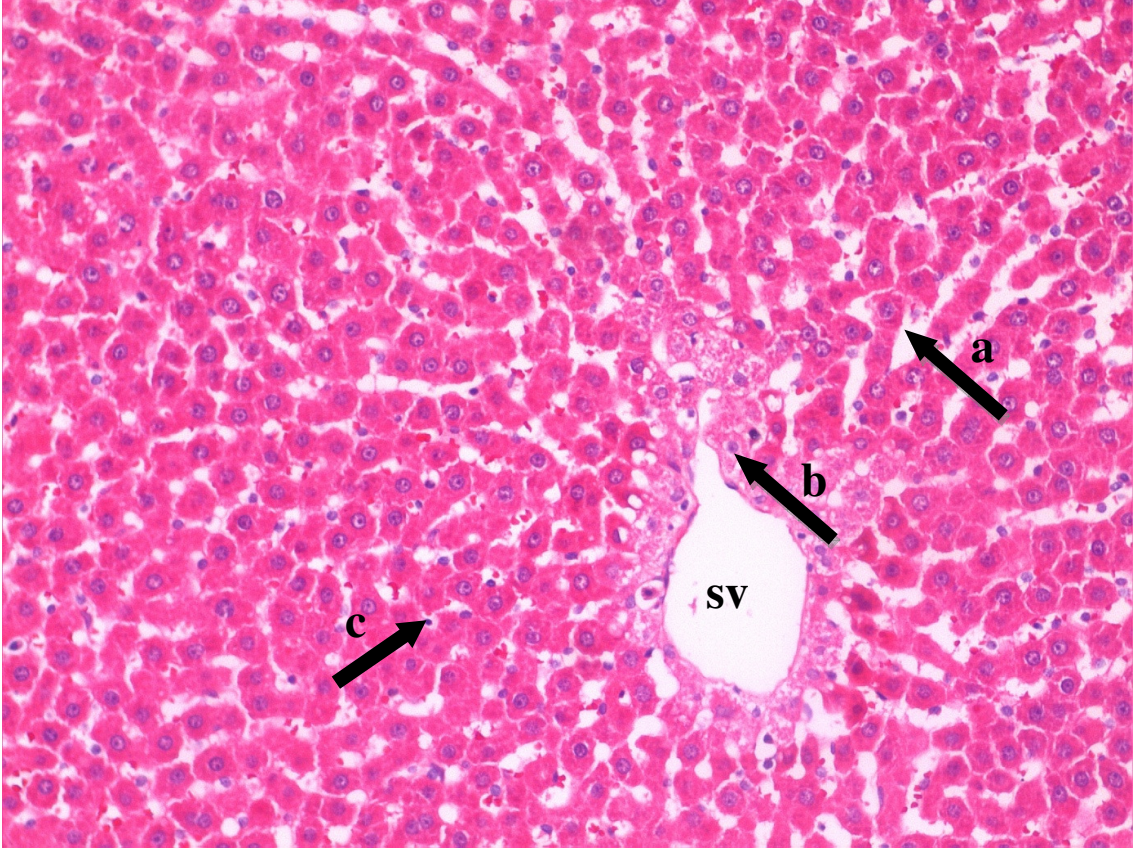
Şekil 4.12. Selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Bazı hepatositlerde daha yoğun gözlenen glikojen (a), santral ven (sv), genişlemiş sinüzoidler (b). PAS x 200



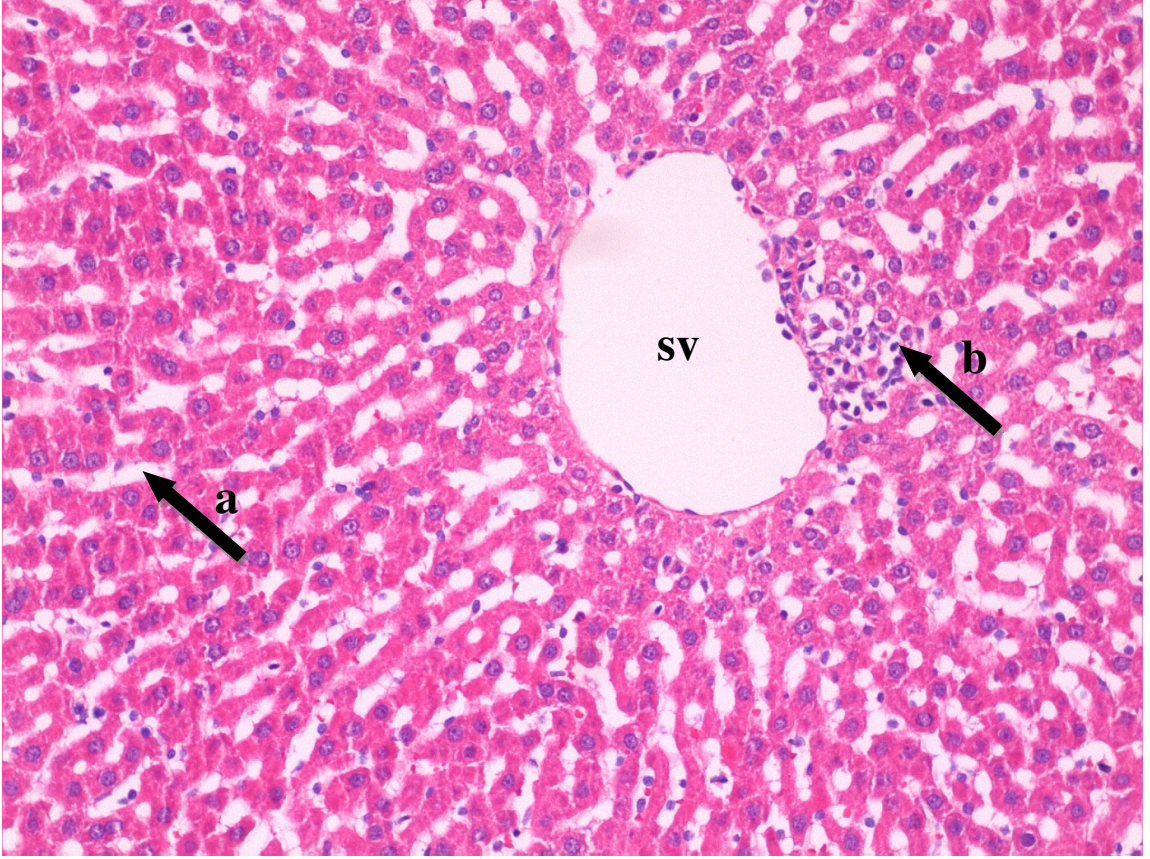
Şekil 4.13. Selenyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Portal alan çevresindeki bağ dokusu (a), portal ven (pv). Masson'un Üçlü Boyaması x 200



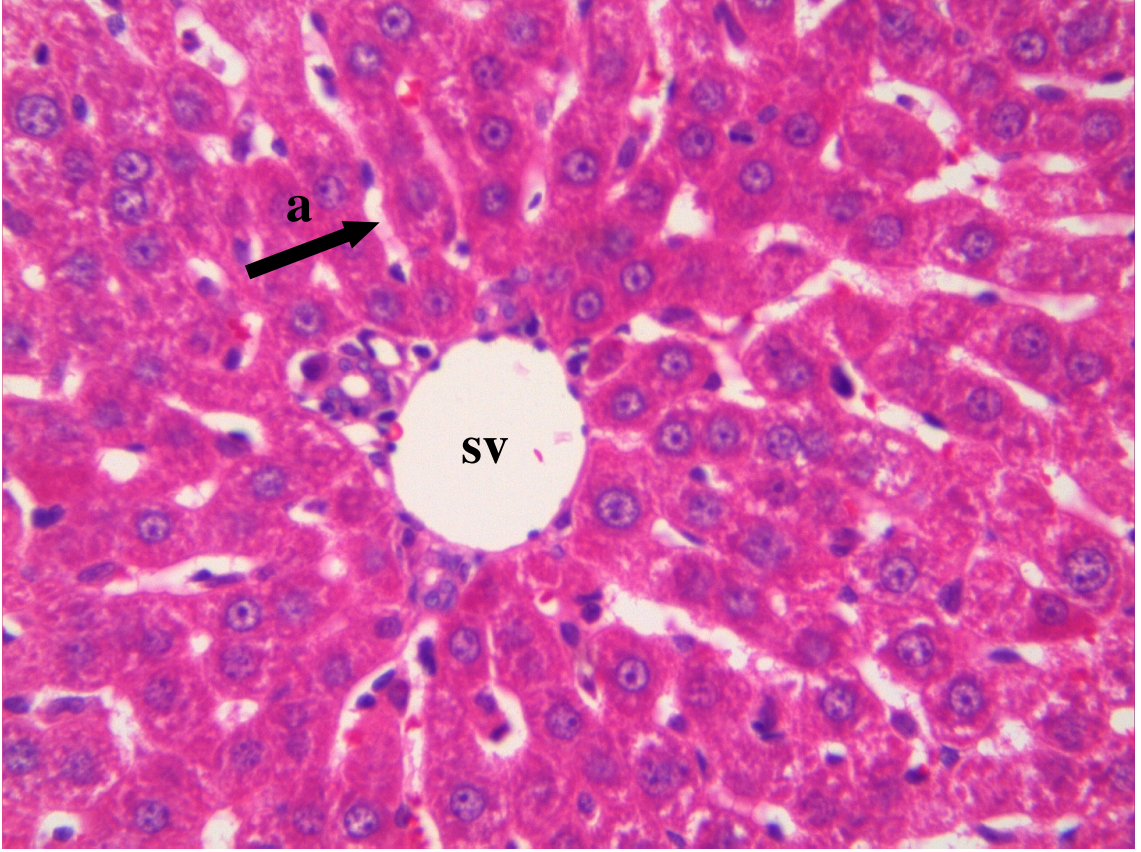
Şekil 4.14. Kadmiyum+selenyum 1. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Sinüzoidlerde hafif genişlemeler (a), aktive olmuş Kupffer hücresi (b), H-E x 200



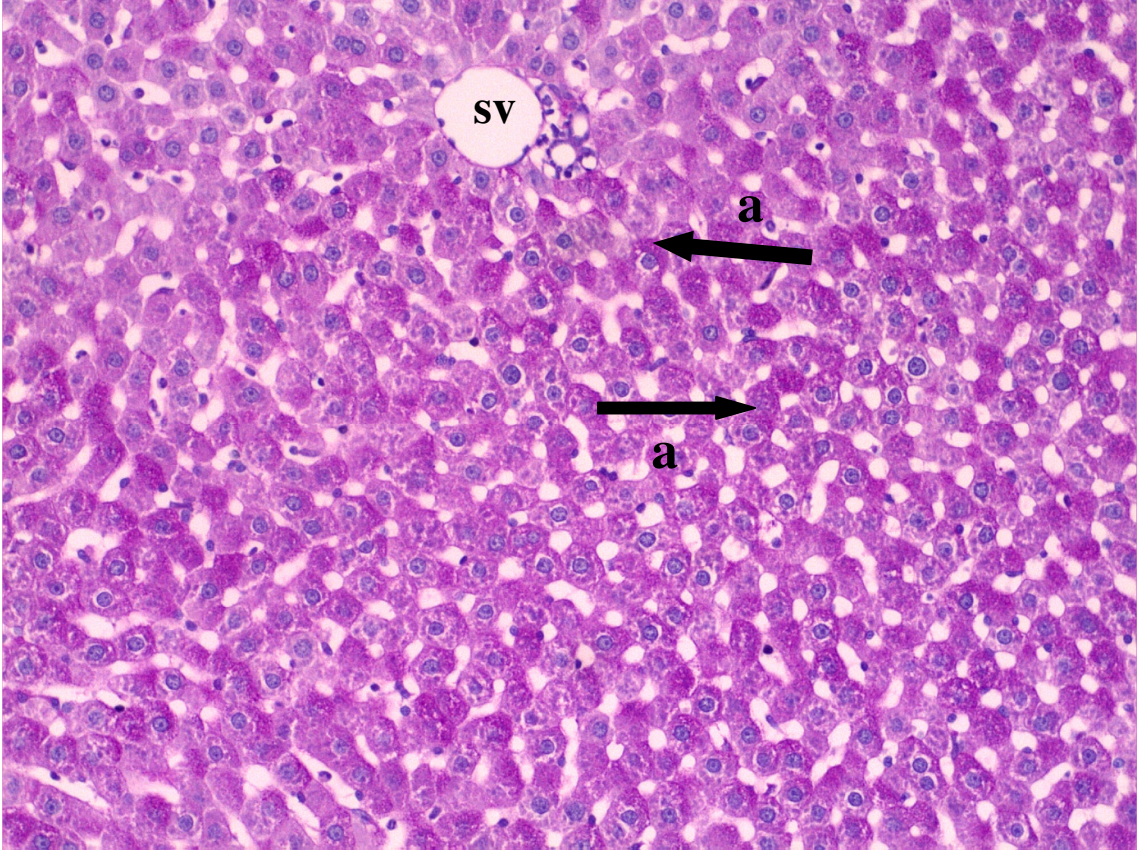
Şekil 4.15. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Genişlemiş sinüzoidler (a), santral ven çevresindeki hepatositlerde hidropik dejenerasyon (b), aktive olmuş Kupffer hücreleri (c). H-E x 200



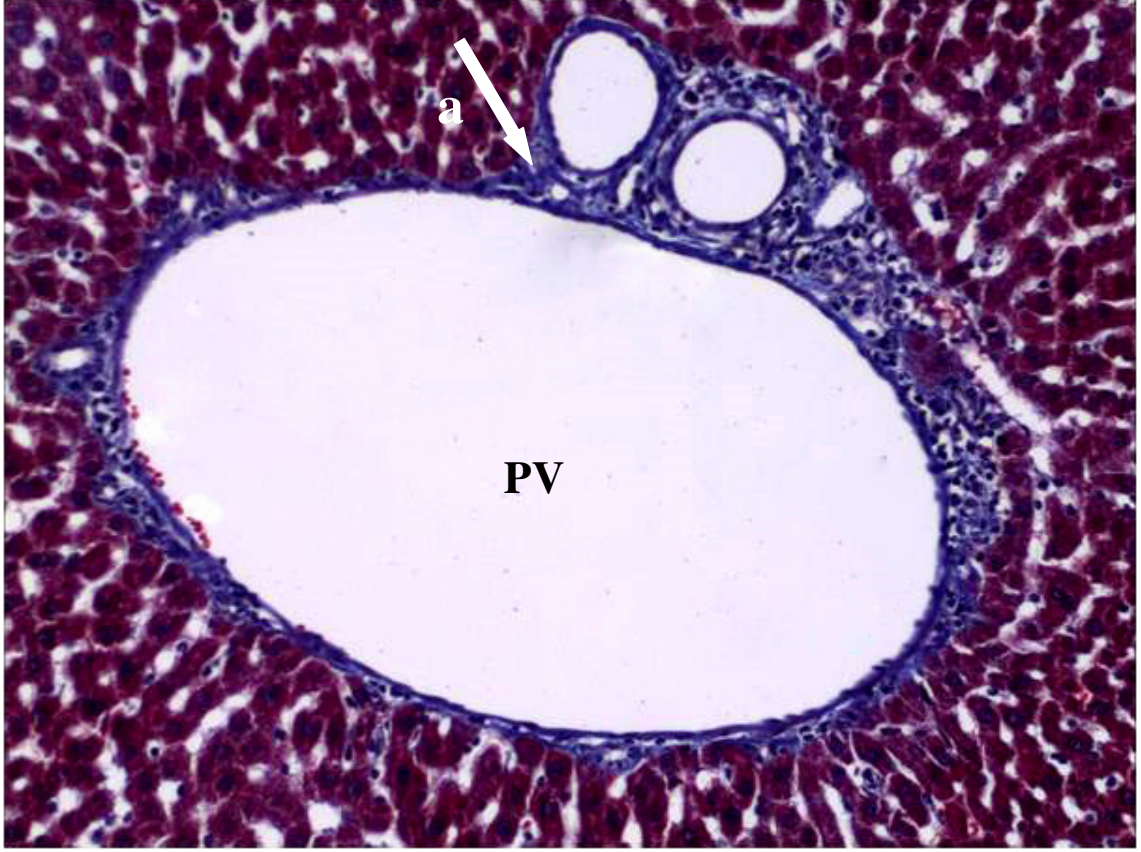
Şekil 4.16. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Sinüzoidler (a), santral ven (sv), inflamasyon odağı (b). H-E x 200



Şekil 4.17. Kadmiyum+selenyum 28. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Hafif genişlemiş sinüzoidler (a). H-E x 400



Şekil 4.18. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Bazı hepatositlerde daha yoğun gözlenen glikojen (a). PAS x 200



Şekil 4.19. Kadmiyum+selenyum 6. gün grubunda karaciğerin histolojik görünümü. Portal alan çevresindeki bağ dokusu (a), portal ven (pv). Masson'un Üçlü Boyaması x 400

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, en önemli endüstriyel ve çevresel kirleticilerden biri olan ve canlılar üzerinde çeşitli toksik etkilere neden olan kadmiyumun karaciğerde oluşturduğu hücresel hasar araştırılmış ve serbest radikal süpürücüsü olarak doğada önemli bir antioksidan olan selenyumun bu hasarı ne yönde ve ne derece etkilediği belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda; canlılarda herhangi bir biyolojik rolü olmayan, kansorejen ve teratojenik etkileri bilinen kadmiyum ile serbest radikal süpürücüsü olarak doğada önemli bir antioksidan olan selenyum verilmiş ratların (*Wistar albino*) karaciğerinde meydana gelen histolojik değişiklikler ayrı ayrı ve birlikte karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Çalışmamızda kadmiyum ve selenyumun karaciğerde oluşturdukları histolojik değişiklikler; hidropik dejenerasyon, inflamasyon odağı, sinüzoidlerde genişleme, fibrozis, hepatositlerde glikojen yoğunluğundaki değişiklikler ve aktive olmuş Kupffer hücreleri dikkate alınarak değerlendirildi.

DeneySEL ve çevresel olarak kadmiyum metalinden etkilenilmesi halinde; hepatik hasar, testiste atrofi, renal fonksiyon kaybı, anemi, solunum ve sindirim sistemi bozuklukları gibi ciddi rahatsızlıklar ortaya çıkmaktadır (Yiın ve ark., 1999; Nigam ve ark., 1999).

Karaciğer toksik kimyasal maddelerin ve diğer materyallerin atılım ve detoksifikasyonunda rolü olan bir organdır ve aynı zamanda toksinlerin ilk hedefidir. Ekzojen yollarla vücuda alınan toksik maddelerin, organizmada metabolize edilememesi sonucu hücrelerde açığa çıkan serbest radikaller karaciğer hasarına neden olur (Ayla ve ark., 2009). Serbest radikal üretimi kadmiyumun patofizyolojisinin bir parçasıdır. Kadmiyum; proteinler ve enzimler gibi tiyol (-SH) grubu içeren biyolojik yapılara olan ilgisinden dolayı bu yapılara bağlanır ve aktivitelerini baskılar. Katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimleri inhibe eder. Bu nedenle süperoksit ve nitrik oksitin de içinde olduğu birçok serbest radikalın üretimine dolaylı yoldan neden olduğu ve böylece hücre membranındaki yapıların peroksidasyonuna, DNA hasarına ve protein oksidasyonuna yol açtığı düşünülmektedir (Brzóska ve Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Lermioğlu ve Bernard, 1998).

Kadmiyumun toksisitesinin mekanizmasını aydınlatmaya yönelik yapılan çalışmalar, bu ağır metalin neden olduğu çeşitli toksisitenin sebebinin serbest radikaller

veya reaktif oksijen türleri ile ilgili olduğunu göstermektedir. Farklı dozlarla yapılan çalışmalarla kadmiyumun sebep olduğu hasarlar ortaya çıkarılmıştır.

Kadmiyum vücutta birikim yaparak toksisitesini gösterir. Çalışmamızda; yapılan literatür taramaları ışığında bu metalin 1., 6. ve 28. günlerde çeşitli dejenerasyon dereceleriyle kendini gösteren belli bir hücresel hasara neden olduğu belirtilmiş ve bu yüzden bu günlerin seçilmesi uygun görülmüştür. Üç ayrı gün grubunun çalışılmasının nedeni ise kadmiyumun farklı süreçlerde oluşturacağı toksisiteyi karşılaştırmak ve selenyumun bu toksisite üzerindeki koruyuculuğunu belirlemektir.

Çalışmamızda kadmiyum 1. gün grubunda sinüzoidlerde fazla olmayan genişlemeler görülmekle birlikte, hidropik dejenerasyon ve inflamasyon odaklarına rastlanmadı. Genelleme yapıldığında kontrol gruplarına yakın görünümde olduğu görüldü. 6. günde remark kordonlarının düzensizleştiği, hidropik dejenerasyonun arttığı, santral ven ve portal alan çevresindeki hepatositlerin poligonal şekillerini kaybettikleri, hücreler arasında boyut farklılıklarının olduğu belirlendi. Ayrıca Kupffer hücrelerinde ve inflamasyon odaklarında artış olduğu gözlemlendi. 28. günde 6. güne göre inflamasyon odaklarında, hidropik dejenerasyonda ve sinüzoidlerin genişleme şiddetinde artış belirlendi. Çalışmamızda ortaya çıkan değişiklikler yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Renugadevi ve Prabu, (2010) tarafından yapılan 28 günlük çalışma sonucunda kadmiyum (5 mg/kg) verilen grupta; infiltrasyon odakları, hidropik dejenerasyon, sinüzoidlerde genişleme, yoğun bir şekilde hepatositlerde düzensizlik, piknotik çekirdek ve santral ven çevresinde dejenerasyon gibi bizim çalışmamıza benzer bulgular gözlemlenmiştir. Gong ve ark., (2008) tarafından yapılan 6 günlük bir çalışmada ise kadmiyum (1 mg/ kg) verilen grubun karaciğerinde, ışık mikroskopik görüntüde hepatositlerde hidropik dejenerasyon ve infiltrasyon odakları gözlenmiştir. El-Sokkary ve ark., (2010) tarafından yapılan bir çalışmada da kadmiyumun neden olduğu karaciğer hasarı için; sinüzoidlerde genişleme, hepatositlerde vakuolleşme, infiltrasyon odakları kriter alınmıştır.

Diğer yandan oksidatif hasarın varlığının tespitinde önemli parametreler olan antioksidan enzim aktivitelerinin belirlendiği çalışmalarla kadmiyumun karaciğerde oluşturduğu hepatotoksisite çok sayıda çalışma ile orta çıkarılmıştır. El-Sokkary ve ark., (2010) tarafından yapılan bir çalışmada 5mg/kg kadmiyum 22 gün boyunca uygulanmış ve karaciğerdeki hasar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH) ve malondialdehid (MDA) seviyeleriyle değerlendirilmiş ve kadmiyumun karaciğerde oksidatif hasara

neden olduğu ayrıca bu hasar üzerinde çeşitli maddelerin hasarı indirgeyici rol oynadığı ortaya çıkarılmıştır. Pari ve Shagirtha, (2010) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 3mg/kg kadmiyum 21 gün boyunca uygulanmış ve karaciğer dokusunda; glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzim aktivitelerinin azaldığı gözlenmiş, kadmiyumun oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.

Oksidatif stresi azaltmak için kullanılabilir en uygun yöntem antioksidan maddelerin kullanılmasıdır (Quiles ve ark., 2002). Kadmiyumun neden olduğu oksidatif hasarlar üzerine çeşitli antioksidan maddelerin etkilerinin araştırılması çok sayıda çalışmaya konu olmuştur. Vücut için gerekli bir iz element olan selenyum, önemli bir radikal süpürücü olan glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'ın yapısına katılarak antioksidan etki göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, ratlara antioksidan madde olarak selenyumun 1 mg/kg/lık dozu (Antunes ve ark., 2001) uygulanmıştır. Daha sonra, kontrol gruplarıyla karşılaştırmalı olarak selenyumun antioksidan etkisi araştırılmıştır. 28 günlük çalışma sürecinde selenyum ve kadmiyum+selenyum gruplarına hergün, günde bir kez olmak üzere gavaj yoluyla verilmiştir. Selenyum 1. gün grupları kontrol grubuyla kıyaslandığında, kontrol grubundan farklı olarak sinüzoidlerde hafif şiddette genişlemeler gözlemlendi. Hepatosit çekirdekleri yuvarlak ve hücrenin tam ortasında olduğu belirlendi. 6. ve 28. günlerde ise sinüzoidlerde hafif şiddette genişleme gözlemlendi. Aktive olmuş Kupffer hücrelerinin 1., 6. ve 28. günde aynı yoğunlukta olduğu belirlendi. Selenyumun *Wistar albino*'da herhangi bir toksik etkiye neden olmadığı Messarah ve ark., (2010) ve Adesiyan ve ark., (2011)'ın ratlarla yaptığı çalışmalarla gösterilmiştir. Buna paralel olarak çalışmamızda selenyum verilen ratların karaciğerlerinde, ışık mikroskopuyla yapılan incelemede sinüzoidlerde hafif şiddetteki genişlemeler dışında dikkate değer bir toksik etkinin olmadığı gözlenmiştir.

Dört haftalık deney süresince; kadmiyumun seçilen günlere bağlı olarak karaciğerde meydana getirdiği hasar üzerinde, selenyumun nasıl bir etki yapacağını belirlemek amacıyla kadmiyum+selenyum grubu oluşturuldu. Çalışmamızda kadmiyum ile birlikte selenyum uyguladığımız gruplarda, kadmiyum gruplarında gözlenen değişiklikler kadar belirgin değişiklikler gözlenmedi. Selenyumun, kadmiyumun neden olduğu hasarlar üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu kanıtlayan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Newairy ve ark., (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, intraperitoneal olarak uygulanan selenyumun, kadmiyuma bağlı karaciğer hasarı üzerinde koruyucu

etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca Jihen ve ark., (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da selenyumun kadmiyumun karaciğerde oluşturduğu oksidatif strese karşı koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kadmiyumun organ üzerine spesifik etkisi araştırılarak, bu ağır metalin etki mekanizması anlaşılmaaya çalışılmıştır. Bu doğrultuda elde ettiğimiz sonuçların ve bulguların ışığında, kadmiyumun serbest radikal salınımını indükleyerek karaciğerde meydana getirdiği oksidatif hasarı, serbest radikal süpürücüsü etkilerinin de olduğu bilinen selenyumun azalttığını söyleyebiliriz.

Kadmiyum ve antioksidan olarak etkilerini araştırdığımız selenyumu ayrı ayrı ve birlikte vererek yaptığımız çalışmada, kadmiyumun serbest oksijen radikallerinin salınımını uyararak dokularda histopatolojik değişikliklere neden olduğu düşünülebilir. Kadmiyum ve antioksidan olarak verilmiş selenyumun antioksidan özelliğinden dolayı, kadmiyumun neden olduğu serbest oksijen radikallerini süpürdüğü, bu nedenle de histolojik olarak karaciğerde kadmiyumun meydana getirdiği hasarı azalttığı söylenebilir.

Kadmiyumun dokular üzerinde oluşturduğu moleküler ve histolojik değişiklikler ve selenyumun bu etkiler üzerinde nasıl bir rol oynayabileceği bu maddelerin farklı kombinasyonları uygulanarak, farklı deney hayvanları üzerinde yapılacak çalışmalarla desteklenebilir.

7. KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A., 2004.** Pesticides and Oxidative Stress : a Review. *Med. Sci. Monit.*, 10, 141-147.
- Adesiyan, A.C., Oyejola, T.O., Abarikwu, S.O., Oyeyemi, M.O., Farombi, E.O., 2011.** Selenium Provides Protection to the Liver but not the Reproductive Organs in an Atrazin-Model of Experimental Toxicity. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63, 201-207.
- AFIP, 1992.** *Laboratory Methods in Histotechnology*, 53-58, 132.
- Akay, M.T., 2001.** *Genel Histoloji*. Beşinci Baskı, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe, Ankara, Palme Yayıncılık.
- Akkuş, İ., 1995.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. MIMOZA yayınları: 1-47.
- Akkus, İ., Şekeroglu, R., Üner, A., 1991.** Selenyum: Dağılışı, Metabolizması ve Fizyopatolojisi. *S.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 7 (4), 547-551.
- Aktaç, T., 1999.** Histoloji Ders Notları, Trakya Üniversitesi, 144-156.
- Akyol, Ö., 2004.** Şizofrenide Oksidatif Stres. *Kocatepe Tıp Dergisi* 5, ek Sayı 15-25.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., 2002.** *Molecular Biology of The Cell*. Garland Science Taylor & Francis Group, New York, 1462 s.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Brethet, B. and Metayer, C., 1987.** Comparative Study of the Patterns of Bioaccumulation of Essential (Cu, Zn) and Non-Essential (Cd, Pb) Trace Metals in Various Estuarine and Coastal Organisms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 106, 73-89.
- Anderson, W.A.D., Kissane, J. M., 1997.** *Pathology*, Seven Edition, the C.V. Mosby Company, Sf: 131-204.
- Antunes, L.M.G., Darin, J.D.C., Bianchi, M.L.P., 2001.** Effects of the Antioxidants Curcumin or Selenium on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Lipid Peroxidation in Rats. *Pharmacological Research*, Vol. 43, No. 2.
- Ashok, B.T., Ali, R., 1999.** The Aging Paradox: Free Radical Theory of Aging. *Experimental Gerontology*, 34, 293-303.
- Athar, M., Vohora, S. B., 1995,** *Heavy Metals and Environment*, New Age International Ltd. Publishers, New Delhi, 216 p.

- Aydilek, N., Aksakal, M., 2003.** Testesteronun Tavşanlarda Karaciğer Antioksidan Sistemi Üzerine Etkisi. YYÜ Vet Fak Derg, 14 (2), 22-25.
- Aydoğdu, N., Kanter, M., Erbaş, H., Kaymak, K., 2007.** Kadmiyuma Bağlı Karaciğer Hasarında Taurin, Melatonin ve Asetilsisteinin Nitrik Oksit, Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidanlar Üzerindeki Etkileri. Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal), 29 (2), 089-096.
- Ayla, Ş., Oktar, H., Tanrıverdi, G., Cengiz, M., Özkılıç, A.Ç., Can, G., Özücer, B., Eser, M., Demirci, S., Batur, Ş., 2009.** Doksorubisin Nedenli Sıçan Hepatoksitesine Nikotinamidin (Koruyucu) Etkisi. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, Cilt/ Vol.: 10-Sayı/No: 1, 229-238.
- Azuma, Y., Imani, Y. and Matsumoto, K., 2002.** Alterations in Cell Surface Phosphatidylserine and Sugar Chains During Apoptosis and Their Time-Dependent Role in Phagocytosis by Macrophages. Biol. Pharm. Bull., 25 (10), 1277-1281.
- Bagis, S., Tamer, N., Şahin, G., Bilgin, R., Güler, H., Ercan, B., Erdoğan, C., 2003.** Free Radicals and Antioksidants in Primary Fibro Myalgia: and Oxidative Stres Disorder?. Rheumatol Int., 25, 188-190
- Bancroft, J.D., Stevens, A., 1996.** *Theory and Practice of Histological Techniques*, Fourt Edition. Churchill Livingstone Medical Division of Pearson Professional Limited, Pp. 136
- Basaran, A., 2002.** Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı. Günes & Nobel Tıp Kitap Evleri, 541 sf.
- Bay, C., 2001.** Anti-Aging Advances. Global Cosmetic Industry, 168 (3), 44-52.
- Baykal, Y., Kocabalkan F., 2000.** Serbest Radikaller ve Hücre Hasarı. Sendrom, 9, 31-9.
- Bertin, G., Averbeck, D., 2006.** Cadmium: Cellular Effects, Modifications of Biomolecules, Modulation of DNA Repair and Genotoxic Consequences (review). Biochimie, 88 (11), 1549-1559.
- Bi, J., Jiang, B., Liu, J. H., Lei, C., Zhang, X.L., and An, L.J., 2008.** Protective Effects of Catalpol Against H₂O₂-Induced Oxidative Stress in Astrocytes Primary Cultures. Neuroscience Letters, 19, 224-227.
- Blazka, M. E., Shaikh, Z. A., 1991.** Differences in Cadmium and Mercury Uptakes by Hepatocytes: Role of Calcium Channels. Toxicol. Appl. Pharmacol., 110, 355–363.

- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V. , 2003.** Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Ann Bot (Lond)*, 91, 179–94.
- Bobillier, S.C., Maupoil, V., Berthelot, A., 2006.** Metallothionein Induction in The Liver, Kidney, Heart and Aorta of Cadmium and Isoproterenol Treated Rats, *Journal of Applied Toxicology*, 26, 47–55.
- Boyne, .R, Arthur, J.R., Wilson, A.B., 1986.** An Invivo and Study of Selenium Deficiency and Infection in Rats. *J. Comp. Path.*, 96, 380-386.
- Bridges, C. C., Zalups, R. K., 2005.** Molecular and Ionic Mimicry and the Transport of Toxic Metals. (Review) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 204, 274- 308.
- Brzoska, M. M., Moniuszko-Jakoniuk, J., 2001.** Interactions between Cadmium and Zinc in the Organism. *Food. Chem. Toxicol.*, 39, 967-980.
- Brzoska, M.M., Kaminski, M., Süpernak-Bobko, D., Zwierz, K., Moniuszko-Jakoniuk, J., 2003.** Changes in The Structure and Function of The Kidney of Rats Chronically Exposed to Cadmium. I. Biochemical and Histopathological Studies, *Arch Toxicol.*, 77 (6), 344-52.
- Burk, R.F., Hill, K.E., Awad, J.A., Marrow, J.D., Lyons, P.R., 1995.** Liver and Kidney Necrosis in Selenium Deficient Rats Depleted of Glutathione. *Lab. Invest*, 72, 723-304.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 1999.** Teietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company, 3, 1125-1177.
- Burton, G.W., Joyce, A., Ingold, K.U., 1983.** Is Vitamin E Only Lipid-Soluble, Chain-Breaking Antioxidant in Huöman Blood Plasma and Erythrocyte Membranes?. *Arch. Biochem. Biophys.*, 221 (1), 281-290.
- Casalino, E., Calzaretti, G., Sblano, C., Landriscina, C., 2002.** Molecular Inhibitory Mechanisms of Antioxidant Enzymes in Rat Liver and Kidney by Cadmium. *Toxicology*, 179, 37-50.
- Ceylan, S., Şanlı, Y., 1980.** Çevre ve Besin Kirlenmesi. *Gıda Bil. Teknol. Derg.*, 3 (1-2), 76-92.
- Chandrosoma, P., Taylor, C.R., 1995.** Concise Pathology, Second Edition. A Lange Medikal Book, Sf: 3-20.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993.** An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull, Review.*, 49 (3), 481-93.

- Combs, G.F., Combs, S.B., 1986.** The Role of Selenium in Nutrition. Academic Pres. Inc. Ltd. London. 415-484.
- Çetin, M., Deniz, G., Polat, Ü., Yalçın, A., 2002.** Broylerlerde İnorganik ve Organik Selenyum İlavesinin Biyokimyasal Kan Parametreleri Üzerine Etkisi. Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med., 21, 59-63.
- Çolakoglu, N., Kükner, A., Kara, H., Ozan, E., 2004.** Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum Klorür'ün Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler ve Bu Değişiklikler Üzerine Metallothionein'in Etkileri: Isık Mikroskopik Çalışma, Türkiye Klinikleri, J Med Sci, 24 (3), 201-206.
- Dearth, R.K., Hiney, J.K., Srivastava, V., Dees, W.L., and Bratton, G.R., 2004.** Low Level Lead (Pb) Exposure During Gestation and Lactation: Assessment of Effects on Pubertal Development in Fisher 344 and *Sprague-dawley* Female Rats. Life Sciences, 74 (9), 1139-1148.
- Duttagupta, A. and Ghosh, A. K., 1984.** Effect of Cadmium Chloride on the Polytene Chromosome of *Drosophila* Salivary Gland. *Drosophila Inform. Serv.*, 60, 92.
- Eisler, R., 1985.** Cadmium Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: a Synoptic Review. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep., 85 (1.2), 1- 46.
- El-Sokkary, G.H., Abdel-Rahman, G.H., Kamel, E.S., 2005.** Melatonin Protects Against Lead-Induced Hepatic and Renal Toxicity in Male Rats. *Toxicology*, 213 (1-2), 25-33.
- El-Sokkary, G.H., Nafady, A.A., Shabash, E.H., 2010.** Melatonin Administration Ameliorates Cadmium-Induced Oxidative Stress and Morphological Changes in the Liver of Rat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 456–463
- Fawcett, Don W., 1994.** A Text Book of Histology, Twelfth Edition, W.B. Saunders Company, Sf: 535-542.
- Fischer, A.B., 1985.** Factors Influencing Cadmium Uptake and Cytotoxicity in Cultured Cells. *Xenobiotica*, 15, 751-757.
- Fox, M. J., 1992.** Selenium: Nutritional Implications and Prospects for Therapeutic Medicine. *Meth Find Exp Clin Pharmacol*, 14 (4), 275- 287.
- Friberg, L., 1984.** Cadmium and the Kidney. *Environ Health Perspect*, 54, 1–11.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L., 1997.** *Color Textbook of Histology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pg: 346-355.

- Gebre-Medhin, M., Ewald, U., Platin, L., 1984.** Elevated Serum Selenium in Diabetic Children. *Acta Pediatr Scand.*, 73, 109-114.
- Gong, P., Chen, F.X., Ma, G.F., Feng, Y., Zhao, Q., Wang, R., 2008.** Endomorphin 1 Effectively Protects Cadmium Chloride-Induced Hepatic Damage in Mice. *Toxicology*, 251, 35–44
- Goyer, R.A., Clarkson, W.T., 2001.** Toxic Effects of Metals. Edited by: Klaassen, C.D.: Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, 6th ed, McGraw-Hill, USA, 811–827.
- Göncü, N.E., Pehlivan, S., 2001.** Apoptozisin Morfolojik, Biyokimyasal ve Moleküler İşaretleri. *Arşiv*, 10, 292.
- Halliwell, B., 1984.** Oxygen Radicals; A Commonsense Look at Their Nature and Medical Importance: *Medical Biology*, 62, 71-77.
- Halliwell, B., 1990.** How to Characterize a Biological Antioxidant, *Free Radic. Res. Commun*, 1, 1-32.
- Hart, B. A., Potts, R. J., Watkin, R. D., 2001.** Cadmium Adaptation in the Lung-a Double-Edged Sword. *Toxicology.*, 160, 65–70.
- Henson, M., Chedrese, J., 2004.** Endocrine Disruption by Cadmium, a Common Enviromental Toxicant with Paradoxical Effects on Reproduction. *The Society for Exp. Biol. Med.*, 4, 383-391.
- Houtman, J. P., 1993.** Prolonged Low-Level Cadmium Intake and Atherosclerosis. *Sci. Total. Environ.*, 30, 31-36.
- Höfer, N., Diel, P., Wittsiepe, J., Wilhelm, M., Degen, G.H., 2009.** Dose- and Route-Dependent Hormonal Activity of the Metalloestrogen Cadmium in the Rat Uterus. *Toxicology Letters*, 191, 123–131
- Hwang, D.F., Wang, L.C., 2001.** Effect of Taurine on Toxicity of Cadmium in Rats. *Toxicology*, 167, 173-180.
- Il'yasova, D., Schwartz, G.G., 2005.** Cadmium and Renal Cancer. *Tox App Phar*, 207 (2), 179-186.
- Jackson, A., Alloway, B., 1992.** The Transfer of Cadmium from Agricultural Soils to the Human Food Chain. In: *Biogeochemistry of Trace Metals*. Levis Publisher, Boca Raton: London, p 109-158.

- Jiang, B., Liu, J.H., Bao, Y.M., An, L.J., 2004.** Catalpol Inhibits Apoptosis in Hydrogen Peroxide-Induced PC12 Cells by Preventing Cytochrome C Release and Inactivating of Caspase Cascade. *Toxicol*, 43 (1), 53-9.
- Jihen, E.H., Imed, M., Fatima, H., Abdelhamid, K., 2008.** Protective Effects of Selenium (Se) and Zinc (Zn) on Cadmium (Cd) Toxicity in the Liver and Kidney of the Rat: Histology and Cd Accumulation. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3522–3527.
- Johnston, R., 1976.** *Marine Pollution*. Academic Press, Inc., New York, 729 p.
- Junquera, L.C., Carneiro, J., 2003.** Basic Histology, Tenth Edition. Çeviri: Aytekin, Y., Solakoğlu, S. Temel Histoloji, Nobel Tıp Kitapevleri, sf. 332-346
- Jurczuk, M., Brzoska, M.M., Moniuszko-Jakoniuk J., Galazyn-Sidorczuk, M., Kulikowska-Karpinska, E, 2004.** Antioxidant Enzymes Activity and Lipid Peroxidation in Liver and Kidney of Rats Exposed to Cadmium and Ethanol. *Food Chem Toxicol*, 42, 429-438.
- Kamal, M., Ghaly, A.E., Mahmoud, N., 2004.** Phytoaccumulation of Heavy Metals by Aquatic Plants. *Environment International*, 29, 1029-1039.
- Kara, H., Karataş, F., Canatan, H., 2005.** Effect of Single Dose Cadmium Chloride Administration on Oxidative Stress in Male and Female Rats. *Türk J Vet Anim Sci*, 29, 37-42, TÜBİTAK.
- Karabulut-Bulan, Ö., Koyutürk, M., Bolkent, Ş., Tabakoğlu-Oğuz, A., Yanardağ, R., 2004.** Sıçan Tiroid Bezinde Kadmiyum Hasarına Karşı C Vitamini, E Vitamini ve Selenyumun Kombine Kullanımının Etkileri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 35, 174-180.
- Karakılçık, A.Z., Aksakal, M., 1993.** Selenyumun Bazı Fizyolojik işlevleri, Metabolizması ve E vitamini ile Arasındaki İlişkileri. *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 4, 283-291.
- Katakai, K., Liu, J., Nakajima, K., Keefer, L. K., Waalkes, M. P., 2001.** Nitric Oxide Induces Metallothionein (MT) Gene Expression Apparently by Displacing Zinc Bound to MT. *Toxicol. Lett.*, 119, 103-108.
- Katalay, S., Parlak, H., 2004.** The Effects of Cadmium on Erythrocyte Structure of Black Goby (*Gobius niger* L.1758), *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21 (1-2), 99-102.

- Kay, T., Thomas, D.G., Brown, M.W., Cryer, A., Shurben, D., Solbe, J.F., Del G., and Garvey, J.S., 1986.** Cadmium Accumulation and Protein Binding Patterns in Tissues of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Environmental Health Perspectives*, 65, 133-139.
- Kayhan, F.E., 2006.** Su Ürünlerinde Kadmiyumun Biyobirikimi ve Toksisitesi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1-2), 215-220.
- Keen, C.L., Graham, T.W., 1989.** Trace Elements. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Kaneko JJ (ed). Academic Press. New York, 753-795.
- Khan, N., Adhami, V.M., Mukhtar, H., 2010.** Apoptosis by Dietary Agents for Prevention and Treatment of Cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 17, 39-52
- Kılınc, K., 1985.** Oksijen Radikalleri: Üretilmeleri, Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. *Biyokimya Der.*, 10, 2.
- Klaassen, C.D., Liu, J., Choudhuri, S., 1999.** Metallothionein: An Intracellular Protein to Protect Against Cadmium Toxicity, *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 39, 267-94.
- Klapec, T., Mandic, M.L., Grgic J., Primorac, L.J., Perl, A., Krstanovic, V., 2004.** Selenium in Selected Foods Grown or Purchased in Eastern Croatia. *Food Chem.*, 85, 445-452.
- Kremidjian-Schumacher, L., Stotzky, G., 1987.** Selenium and Immun Responses. *Environmental Research*, 42, 277-303
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L., 2007.** *Basic Pathology*, WD Saunders Company, Çeviri: Çevikbaş, U. 2008. *Temel Patoloji*, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. Sf: 1-28.
- Kuzey, G.M., 2007.** *Temel Patoloji*. Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Sf: 10-27.
- Lafuente, A., Esquifino, A. I., 1999.** Cadmium Effects on Hypothalamic Activity and Pituitary Hormone Secretion in the Male. *Toxicol. Lett.*, 110, 209-218.
- Legorburu, I., Canton, L., Millan, E. and Casado, A., 1988.** Metal Levels in Fish from Urola River (Spain) Anguillidae, Mugillidae and Salmonidae. *Environmental Technology Letters*, 9, 1373-1378.
- Leonard, S.S., Haris, G.K., Shi, X., 2004.** Metal-Induced Oxidative Stress and Signal Transduction. *Free Radical Bio Med*, 37 (12), 1921-1942.
- Lermioglu, F., Bernard, A., 1998.** Effect of Calmodulin-Inhibitors and Verapamil on the Nephrotoxicity of Cadmium in Rat. *Toxicol Lett*, 95 (1), 9-13.

- Liu, J., Kadiiska, M.B., Corton, J.C., Qu, W., Waalkes, M., Mason, R.P., Liu, Y., Klaassen, C.D., 2002.** Acute Cadmium Exposure Induces Stress-Related Gene Expression in Wild-Type and Metallothionein-I/II-Null Mice. *Free Radical Bio Med*, 32, 525-535.
- Lopez, E., Arce, C., Oset-Gasque, M.J., Canadas, S., Gonzalez, M.P., 2006.** Cadmium Induces Reactive Oxygen Species Generation and Lipid Peroxidation in Cortical Neurons in Culture. *Free Radic Biol Med*, 40, 940-951.
- Mandavilli, B.S., Santos, J.H., Van Houten, B., 2002.** Mitochondrial DNA Repair and a Aging. *Mutation Research*, 509, 127-151.
- Marselt, A.F.W., Suzuki, K.T., Roelofsen, A.M., Roelfzema, W.H., 1986.** Increase of Cadmium-Thiolate Clusters As a Measure of Morphological Non-Toxic Cadmium Accumulation in the Rat Liver, *Toxicology*, 33-41.
- Méndez-Armenta, M., Ríos, C., 2007.** Cadmium Neurotoxicity. *Environ Toxicol Phar*, 23 (3), 350-358.
- Meram, İ., Aktaran, Ş., 2002.** Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri. *Arşiv*, 11, 299.
- Mercan U., 2004.** Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
- Messerah, M., Klibet, F., Boumendjel, A., Abdennour, C., Bouzerna, N., Boulakoud, M.S., Feki, A., 2010.** Hepatoprotective Role and Antioxidant Capacity of Selenium on Arsenic-Induced Liver Injury in Rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, xxx, xxx-xxx.
- Minami, A., Takeda, A., Nishibaba, D., Takefuta, S., Oku, N., 2001.** Cadmium Toxicity in Synaptic Neurotransmission in the Brain. *Brain Res.*, 894, 336-339.
- Mountz, J.D., Zhou, T., 2001.** Apoptosis and Autoimmunity. In: *Koopman WJ, ed. A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions*. Lippincott Williams &Wilkins.
- Murugavel, P., Pari, L., Sitasawad, S.L., Kumar, S., Kumar, S., 2007.** Cadmium Induced Mitochondrial Injury and Apoptosis in Vero cells: Protective Effect of Diallyl Tetrasulfide from Garlic. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 (1), 161-170.

- Newairy, A.A., El-Sharaky, A.S., Badreldeen, M.M., Eweda, S.M., Sheweita, S.A., 2007.** The Hepatoprotective Effects of Selenium Against Cadmium Toxicity in Rats. *Toxicology*, 242, 23–30
- Nigam, D., Shukla, G.S., Agarwal, A.K., 1999.** Glutathione Depletion and Oxidative Damage in Mitochondria Following Exposure to Cadmium in Rat Liver and Kidney. *Toxicol Lett*, 106, 151-157.
- Nordberg, M., 1984.** General Aspects of Cadmium:Transport, Uptake and Metabolism by the Kidney, *Environmental Health Perspective*, Vol. 54, pp. 13-20.
- Noyan, A., 1995.** Fiziyoloji Ders Kitabı, 7. Baskı, Sf: 1094-1098.
- O'Brien, G., Jolley, D., Morrison, J., 2003.** Evolution of Chemical Contaminant and Toxicology Studies, Part 2-Case Studies of Selenium and Arsenic. *S. Pac. J. Nat. Sci.*, 21, 6-14.
- Ohta, H., Yamauchi, Y., Nakakita, M., Tanaka, H., Asami, S., Seki, Y., Yoshikawa, H., 2000.** Relationship between Renal Dysfunction and Bone Metabolism Disorder in Male Rats after Long-term Oral Quantitative Cadmium Administration, *Industrial Health*, 38, 339-355.
- Öztürk, F., 2002.** Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9 (2), 143-148.
- Paksy, K., Varga, B., Lazar, P., 1997.** Zinc Protection Against Cadmium- Induced Infertility in Female Rats. Effect of Zinc and Cadmium on The Progesterone Production of Cultured Granulosa Cells. *Biometals*, 10, 27-35.
- Pari, L., Shagirtha, K., 2010.** Hesperetin Protects Against Oxidative Stress Related Hepatic Dysfunction by Cadmium in Rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, xxx, xxx–xxx.
- Park, J.D., Liu, Y., Klaassen, C.D., 2001.** Protective Effect of Metallothionein Against the Toxicity of Cadmium and Other Metals, *Toxicology*, 163, 93-100.
- Prozialeck, W.C., Edwards, J.R., Woods, J.M., 2006.** The Vascular Endothelium as a Target of Cadmium Toxicity. *Life Sci* 79 (16), 1493-1506.
- Quiles, J.L., Huertas, J.R., Battino, M., Mataix, J., Ramirez-tortosa, M.C., 2002.** Antioxidant Nutrients and Adriamycin Toxicity. *Toxicology*, 180, 79-95.
- Ragan, H.A. , Mast, T.J., 1990.** Cadmium Inhalation Male Reproductive Toxicity. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 114, 1-22.
- Rames, A., Inyoung, F., Hood, D.B., Archibong, A.E., Knuckles, M.E., Nyanda, A.M.,2001.** Methabolism, Bioavailability, and Toxicokinetics of

- Benzo(a)pyrene in F-344 Rats Following Oral Administration. *Exp. Toxicol Pathol.*, 53, 275-290.
- Ramoutar, R.R. and Brumaghim, J.L., 2007.** Effects of Inorganic Selenium Compounds on Oxidative DNA Damage. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101 (7), 1028-1035.
- Rangan, U., Bulkley, G.B., 1993.** Prospects for Treatment of Free Radical-Mediated Tissue Injury. *Br Med Bull*, 49 (3), 700-18.
- Rayman, M.P., 2000.** The Importance of Selenium to Human Health, *The Lancet*, 356, 233-241.
- Reilly, P.M., Schiller, H.J., Bulkley, G.B., 1991.** Pharmacologic Approach to Tissue Injury Mediated by Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites. *Am J Surg*, 161 (4), 488-503.
- Reiter, R.J., 1998.** Aging and Oxygen Toxicity: Relation to Changes in Melatonin, *Age*, 20: 201-213.
- Ren, X.Y., Zhou, Y., Zhang, J.P., Feng, W.H., Jiao, B.H., 2003.** Expression of Metallothionein Gene at Different Time in Testicular Interstitial Cells and Liver of Rats Treated with Cadmium, *World J.Gastroenterol.*, 9, 1554.
- Renugadevi, J., Prabu, S.M., 2010.** Cadmium-Induced Hepatotoxicity in Rats and the Protective Effect of Naringenin. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62, 171-181.
- Richard, G., Federolf, G., Habermann, E., 1985.** The Interaction of Aluminum and Other Metal Cations with Calcium-Calmodulin-Dependent Phosphodiesterase. *Arch Toxicol*, 57, 257-259.
- Rojkind, M., Domínguez -Rosales, J.A., 2002.** Role of Hydrogen Peroxide and Oxidative Stres in Healing Responses. *CMLS, Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 1872-1891.
- Ross, M.H., Romrell, L.J., Kaye, G.I., 1995.** *Histology: a Text and Atlas*. 3. rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, Pg: 496-507.
- Sarkar, B., 1989.** Metal-Protein Interactions in Transport, Accumulation and Excretion of Metals. *Biological Trace Element Research*, 21, 137-144.
- Satarug, S., Nishijo, M., Ujjin, P., Vanavanitkun, Y., Moore, M. R., 2005.** Cadmiuminduced Nephropathy in the Development of High Blood Pressure. *Toxicoll. Lett.*, 157, 57-68.

- Sato, M., Kondoh, M., 2002.** Recent Studies on Metallothionein: Protection Against Toxicity of Heavy Metals and Oxygen Free Radicals. *Tohoku. J. Exp. Med.*, 196, 9-22.
- Satoh, M., Koyama, H., Kaji, T., Kito, H., Tohyama, C., 2002.** Perspectives on Cadmium Toxicity Research. *Tohoku. J. Exp. Med.*, 196, 23-32.
- Schwartz, A.V., 2003.** Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone? *Calcif Tissue Int.*, 73, 515-519.
- Shaikh, Z.A., Vu, T.T., Zaman, K., 1999.** Oxidative Stress as a Mechanism of Chronic Cadmium-Induced Hepatotoxicity and Renal Toxicity and Protection by Antioxidants. *Toxicol Applied Pharmacol*, 154, 256-263.
- Shukla, A., Shukla, G.S., Srimal, R.C., 1996.** Cadmium-Induced Alterations in Blood-Brain Barrier Permeability and Its Possible Correlation with Decreased Microvessel Antioxidant Potential in Rat. *Hum. Exp. Toxicol.*, 15, 400-405.
- Sies, H., 1991.** Oxidative Stress: From Basic Research to Clinical Application. *Am J Med*, 91, 31-38.
- Simon, O., Ribeyre, F., Boudou, A., 2000.** Comparative Experimental Study of Cadmium and Methylmercury Trophic Transfers between the Asiatic Clam *Corbicula fluminea* and the Crayfish *Astacus astacus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 38, 317-326.
- Skowerski, M., Konecki, J., Czechowicz, K., Owacka, M.G., 1997.** Effects of Interaction between Cadmium and Selenium on Hepatic Metabolism in Mice. Part I: The Study on DNA, RNA and Protein Synthesis Activities in Mouse Hepatocytes, *Med Sci Monit*, 3 (5), 642-647.
- Šmejkalová, M., Mikanová, O., and Borůvka, L., 2003.** Effects of Heavy Metal Concentrations on Biological Activity of Soil Micro-Organisms. *Plant Soil Environ.*, 49 (7), 321-326.
- Smith, A.P., Leekham, S., Ralph, A., McNeill, G., 1988.** The Influence of Meal Composition on Post-Lunch Performance Efficiency and Mood. *Appetite*, 10, 195-203.
- Simonoff, M., Sergeant, C., Garnier, N., Moretto, P., Llabador, Y., Smonoff, G., Conri, C., 1992.** Antioxidant Status (Selenium, Vitamins A and E) and Aging. *Exs.*, 62, 368-97.
- Stevens, A., Lowe, J.S., 1993.** *Histology*. Mosby-Year Book Europe Ltd., Sf: 176-184.

- Stohs, S.J., Bagchi, D., 1995.** Oxidative Mechanisms in the Toxicity of Metal Ions, *Free Radic. Biol.*, 18 (2), 321-336.
- Sultan, S.M., Habeebu, L.J., Klaassen, C.D., 1998.** Cadmium-Induced Apoptosis in Mouse Liver, *Toxicology and Applied Pharmacology* 149, 203–209.
- Suzuki, Y., 1980.** Cadmium Metabolism and Toxicity in Rats after Long-term Subcutaneous Administration. *J.Toxicol. Environ. Health*, 6, 469-482.
- Suzuki, K.T., Ogra, Y., 1999.** Trace Elements, *Biomed. Res.*, 10-95.
- Şen, S., 2005.** Hücre Zedelenmesi Ders Notları. Ege Üniversitesi, Patoloji ABD.
- Şimsek, A., Sarı F., Artık, N., 2004.** Selenyumun İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi. *Anadolu University J. of Science and Technology*, 2, 245-251.
- Tapiero, H., Townsend, D.M, Tew, K.D., 2003.** The Antioxidant Role of Selenium and Seleno-Compound. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57, 134-144.
- Thijssen, S., Cuypers, A., Maringwa, J., Smeets, K., Horemans, N., Lambrichts, I., Kerkhove, E.M., 2007.** Low Cadmium Exposure Triggers a Biphasic Oxidative Stress Response in Mice Kidneys. *Toxicology*, 236, 29-41.
- Thomas, D.G., Cryer, A., Solbe, J.F., Del, G. and Kay, J., 1983.** A Comparison of the Accumulation and Protein Binding of Environmental Cadmium in the Gills, Kidney and Liver of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 76C, No: 2, 241-246.
- Thompson, C.B., 1999.** Apoptosis. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology*. Lippincott-Raven Publishers, 342-346.
- Tort, L., Torres, P., 1988.** The Effects of Sublethal Concentrations of Cadmium on Haematological Parameters in the Dogfish, *Schyliorhinus canicula*. *J. Fish Biol.*, 32, 277-282.
- Uysal, H. ve Bahçesi, Z., 1997.** Kadmiyum Klorür ve Civa Klorürün *Drosophila melanogaster*'in Üçüncü Evre Larvalarının Tükruk Bezi Politen Kromozomları Üzerine Etkileri. *Tr. J. of Biology*, 21, 257-265.
- Valko, M., Morris, H., Cronin, M.T.D., 2005.** Metals, Toxicity and Oxidative Stress, *Current Medicinal Chemistry*, 12 (10), 1161-1208.

- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006.** Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stres-Induced Cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Van Leeuwen, C. S., Luttmer, W. J. and Griffiaen, P. S., 1985.** The Use of Cohorts and Populations in Chronic Toxicity Sutides with *Daphnia magna*: A Cadmium Example. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 9, 26-39.
- Vaux, D.L. and Strasser, A., 1996.** The Molecular Biology of Apoptosis. *Proc. Nalt. Acad. Sci. USA*, 93, 2239-2244.
- Verbost, P.M., Senden, M.H.M.N., Van, O.C.H., 1987.** Nanomolar Concenfrations of Cd Inhibit Ca Transport Systems in Plasma Membranes and Intracellular Ca in Intestinal Epithelium. *Biochim Biophys Acta*, 902, 247-252.
- Vig, P.J., Nath, R., 1991.** In vivo Effects of Cadmium on Calmodulin and Calmodulin Regulated Enzymes in Rat Brain. *Biochem Int*, 23, 927-932.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D., 2003.** Molecular and Cellular Mechanisms of Cadmium Carcinogenesis. *Toxicology*, 192 (2-3), 95-117.
- Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M. and Peakall, D.B., 2006.** *Principles of Ecotoxicology*, CRC Press, Bristol, 315 p.
- Yamano, T., Shimizu, M., Noda, T., 1998.** Age-Related Change in Cadmium- Induced Hepatototoxicity in Wistar Rats: Role of Kupffer Cells and Neutrophils, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 151, 9–15.
- Yazkan, M., Özdemir., F., Gölükçü, M., 2004.** Cu, Zn, Pb and Cd Contents in Some Molluscs and Crustacea Caught in the Gulf of Antalya. (in Turkish). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28, 95-100.
- Yeşilada ve Gelegen, 2000.** Drosophila melanogaster'in Ömür Uzunluğu Üzerine Kadmiyum Nitratin Etkisi. *Turk J Biol*, 24, 593–599.
- Yiin S.J., Chern, C.L., Sheu, J.Y., Lin, T.H., 1999.** Cadmium İnduced Lipid Peroxidation in Rat Testes and Protection by Selenium. *Biometals*, 12, 353-359.
- Yu BP., 1994.** Cellular Defenses Against Damage from Reactive Oxygen Species. *Physiol Rev*, 74 (1), 139-62.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ömür DENİZ
Doğum Yeri : Rize
Doğum Tarihi : 02.02.1984
Medeni Hali : Bekar
Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Rize Anadolu Lisesi 1999-2002

Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
2004-2008

Yüksek Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim
Dalı 2009-

İletişim Bilgileri : Cep No: 0 506 261 93 66

e-mail: ahter_deniz_84@hotmail.com