



**RATLARDA CİVA (II) KLORÜR KAYNAKLI  
KARACİĞER VE BÖBREK HASARI ÜZERİNE  
RUTİN'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Cüneyt ÇAĞLAYAN**

**Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR**

**Doktora Tezi – 2018**

**T.C**  
**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA CİVA (II) KLORÜR KAYNAKLI**  
**KARACİĞER VE BÖBREK HASARI ÜZERİNE RUTİN'İN**  
**ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Cüneyt ÇAĞLAYAN**

**Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı**  
**Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı**  
**Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR**

**ERZURUM**  
**2018**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK BİYOKİMYASI ANABİLİM DALI

**RATLARDA CİVA (II) KLORÜR KAYNAKLI KARACİĞER VE  
BÖBREK HASARI ÜZERİNE RUTİN'İN ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Cüneyt ÇAĞLAYAN**

**Tez Savunma Tarihi** : 10.05.2018

**Tez Danışmanı** : Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Seyfullah HALİLOĞLU (Selçuk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Emine ATAKİŞİ (Kafkas Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Dr.Öğr.Üyesi Akın KIRBAŞ (Atatürk Üniversitesi)

**Onay**

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Duygu ARIKAN**  
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi**  
**ERZURUM – 2018**

## İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>V</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VII</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>X</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>XII</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
2.1. Ağır Metaller .....	2
2.2. Civa.....	3
2.3. Civanın Kullanım Alanları .....	4
2.4. Civa Formları.....	5
2.4.1. Elemental veya Metalik Civa .....	5
2.4.2. İnorganik Civa Bileşikleri .....	7
2.4.3. Organik Civa Bileşikleri.....	8
2.5. Civanın Sistemik Toksikolojik Etkileri .....	10
2.5.1. Hücresel Etkileri.....	11
2.5.2. Kardiyovasküler, Hematolojik ve Solunum Sistemine Etkileri .....	11
2.5.3. Sindirim ve Böbrek Sistemleri Üzerine Etkileri.....	11
2.5.4. Sinir Sistemi Üzerine Etkileri.....	12
2.5.5. İmmün Sistem Üzerine Etkileri .....	13
2.5.6. Endokrin Sistem Üzerine Etkileri.....	13
2.5.7. Doğum Defektleri ve Üreme Sistemi Üzerine Etkileri .....	14
2.6. Civa Zehirlenmesinde Tanı ve Tedavi.....	15
2.7. Acil Tedavi ve Destek .....	15
2.7.1. Civa Solunması.....	15
2.7.2. Organik Civa Yutulması.....	16
2.7.3. Civa Tuzu Yutulması.....	16
2.7.4. Arındırma .....	17
2.7.5. Eliminasyonun Artırılması .....	17
2.7.6. Korunma .....	17

2.8. Serbest Radikaller .....	17
2.9. Serbest Radikal Çeşitleri.....	20
2.9.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ).....	20
2.9.2. Singlet Oksijen ( $^1O_2$ ) .....	20
2.9.3. Hidroksil Radikali ( $OH^{\cdot}$ ).....	20
2.9.4. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ).....	22
2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri .....	22
2.11. Bazı Enzimatik Antioksidanlar .....	22
2.11.1. Süperoksit Dismutaz ( E.C.1.15.1.1) .....	22
2.11.2. Katalaz ( E.C.1.11.1.6).....	23
2.11.3. Glutasyon Peroksidaz ( E.C.1.11.1.9) .....	23
2.12. Enzim Olmayan Antioksidanlar .....	24
2.12.1. Glutasyon (GSH) .....	24
2.12.2. Enzimatik Olmayan Diğer Antioksidanlar.....	24
2.13. Rutin .....	25
<b>3. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>26</b>
3.1. Deney Hayvanları .....	26
3.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar .....	26
3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar .....	27
3.4. Metot.....	27
3.4.1. Deneysel Uygulamalar .....	27
3.4.2. Deney Sonunda Numunelerin Alınması .....	27
3.5. Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi .....	28
3.5.1. ALP Aktivitesinin Tayini .....	28
3.5.2. AST Aktivitesinin Tayini .....	29
3.5.3. ALT Aktivitesinin Tayini .....	29
3.5.4. Serum Üre Tayini .....	30
3.5.5. Serum Kreatinin Tayini .....	31
3.5.6. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması .....	32
3.5.7. Biyokimyasal Analizler (MDA, GSH, GPx, SOD, KAT ve Protein Tayini) .....	33
3.5.8. TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , IL-33, MPO, MAPK14, BCL3, p53, BAX ve AQP-1 Seviyelerinin ELISA Kitleri ile Ölçüm Prosedürü .....	41
3.5.9. İstatistiksel Analiz .....	43

<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>44</b>
4.1. Karaciğer Dokusu için Biyokimyasal Bulgular .....	44
4.1.1. Serum ALP Aktivitesi .....	44
4.1.2. Serum AST Aktivitesi .....	45
4.1.3. Serum ALT Aktivitesi .....	45
4.1.4. Karaciğer MDA Düzeyi .....	46
4.1.5. Karaciğer GSH Düzeyi.....	47
4.1.6. Karaciğer SOD Aktivitesi .....	47
4.1.7. Karaciğer GPx Aktivitesi .....	48
4.1.8. Karaciğer KAT Aktivitesi .....	49
4.1.9. Karaciğer NF-κB Seviyesi.....	50
4.1.10. Karaciğer TNF-α Seviyesi .....	50
4.1.11. Karaciğer IL-1β Seviyesi .....	51
4.1.12. Karaciğer MAPK 14 Aktivitesi.....	52
4.1.13. Karaciğer Bcl3 Seviyesi.....	53
4.1.14. Karaciğer p53 Seviyesi .....	54
4.1.15. Karaciğer Bax Seviyesi.....	55
4.2. Böbrek Dokusu için Biyokimyasal Bulgular.....	55
4.2.1. Serum Üre Düzeyi .....	55
4.2.2. Serum Kreatinin Düzeyi.....	56
4.2.3. Böbrek MDA Düzeyi .....	57
4.2.4. Böbrek GSH Düzeyi.....	58
4.2.5. Böbrek SOD Aktivitesi .....	58
4.2.6. Böbrek GPx Aktivitesi .....	59
4.2.7. Böbrek KAT Aktivitesi .....	60
4.2.8. Böbrek NF-κB Seviyesi.....	61
4.2.9. Böbrek TNF-α Seviyesi.....	61
4.2.10. Böbrek IL-1β Seviyesi .....	62
4.2.11. Böbrek IL-33 Düzeyleri .....	63
4.2.12. Böbrek MAPK 14 Aktivitesi.....	64
4.2.13. Böbrek Bcl3 Seviyesi.....	65
4.2.14. Böbrek MPO Aktivitesi .....	65
4.2.15. Böbrek p53 Seviyesi .....	66

4.2.16. Böbrek Bax Seviyesi.....	67
4.2.17. Böbrek AQP-1 Seviyesi .....	68
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>69</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>82</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>120</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>120</b>
<b>EK-2.ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI.....</b>	<b>121</b>
<b>EK-3.DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU KARARI .....</b>	<b>122</b>



## TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada, lisansüstü eğitimim ve tez çalışmam boyunca yanımda olan, sınırsız desteğini sunan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR hocama en derin saygılarımı ve şükranlarımı sunarım.

Yine bu süreç de hocalarım Sayın Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI, Doç. Dr. Özgür KAYNAR, Doç. Dr. Seçkin ÖZKANLAR, Dr.Öğr.Üyesi Betül APAYDIN YILDIRIM ve Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin Serkan EROL'a emek ve destekleri için teşekkür ederim. Tezimin laboratuvar aşamasında yapmış oldukları katkılardan dolayı Doktora öğrencisi Sefa KÜÇÜKLER, Arş. Gör. Cihan GÜR ve Arş. Gör. Mustafa İLERİTÜRK'e şükranlarımı sunarım. Çalışmanın gerçekleşebilmesi için maddi desteklerini esirgemeyen ve bu çalışmayı TDK-2017-6117 nolu projeyle destekleyen Atatürk Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve doktora sürecimde her daim bizlerle ilgilenen Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve değerli çalışanlarına teşekkür ederim.

**Cüneyt AğLAYAN**



## ÖZET

### **Ratlarda Civa (II) Klorür Kaynaklı Karaciğer ve Böbrek Hasarı Üzerine Rutin'in Etkilerinin Araştırılması**

**Amaç:** Bu çalışmada civa (II) klorür kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine rutin'in etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Araştırmada 5 grup ve her grupta 7 rat olacak şekilde toplam 35 adet erkek Sprague Dawley rat kullanıldı. 1. Grup [Kontrol]; 7 gün boyunca sadece intraperitoneal (i.p.) serum fizyolojik verildi. 2. Grup [Rutin-100]; 7 gün boyunca 100 mg/kg/gün oral yolla rutin uygulandı. 3. Grup [civa (II) klorür]; 7 gün boyunca günde bir kez olmak üzere 1.23 mg/kg dozajında i.p. civa (II) klorür uygulandı. 4. Grup [civa (II) klorür + Rutin-50]; 7 gün boyunca oral yolla (50 mg/kg/gün) rutin ve 1.23 mg/kg/gün i.p. civa (II) klorür uygulandı. 5. Grup [civa (II) klorür + Rutin-100]; 7 gün boyunca oral yolla (100 mg/kg/gün) rutin ve 1.23 mg/kg/gün i.p. civa (II) klorür uygulandı.

**Bulgular:** Kontrol grubu ile kıyaslandığında, civa (II) klorür grubu serum ALP, ALT ve AST aktiviteleri ile serum üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Ayrıca karaciğer ve böbrek dokuları civa (II) klorür gruplarındaki SOD, KAT ve GPx aktiviteleri ile GSH düzeyinin düştüğü, MDA seviyesinin ise arttığı ( $p<0.05$ ) saptanmıştır. Üstelik civa (II) klorür grubu NF $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-33, Bcl3, MAPK-14 ve MPO gibi inflamatuvar markırları ile p53 ve Bax gibi apoptotik markırların seviyelerinin arttığı ve AQP-1 seviyesinin azaldığı gözlenmiştir. Civa (II) klorür ile birlikte verilen rutin-50 ve rutin-100 mg/kg dozları oksidatif stres, inflamasyon ve apoptotik markırların seviyelerini anlamlı bir şekilde düşürüp, AQP-1 seviyesini artırmıştır ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Civa (II) klorür kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine rutin uygulamasının her iki dozunda etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Böbrek toksisitesi, Civa (II) klorür, Karaciğer toksisitesi, Oksidatif stres, Rutin.

## ABSTRACT

### Investigation of the Effects of Rutin on Mercury (II) Chloride-Induced Liver and Kidney Damage in Rats

**Aim:** In this study, it was aimed to investigate the effects of rutin on mercury (II) chloride-induced liver and kidney toxicity.

**Material and Method:** A total of 35 male Sprague Dawley rats were used as 5 groups in this study including 7 rats in each group. Group 1 [Control]; Only intraperitoneal (i.p.) saline was administered for 7 days. Group 2 [Rutin-100]; Rutin was orally administered at 100 mg/kg/day for 7 days. Group 3 [mercury (II) chloride]; mercury (II) chloride was administered i.p. at a dose of 1.23 mg/kg once daily for 7 days. Group 4 [mercury (II) chloride + Rutin-50]; 50 mg/kg/day of rutin was orally administered, and 1.23 mg/kg/day i.p. mercury (II) chloride was applied for 7 days. Group 5 [mercury (II) chloride + Rutin-100]; 100 mg/kg/day of rutin was orally administered, and 1.23 mg/kg/day i.p. mercury (II) chloride was applied for 7 days.

**Results:** Serum ALP, ALT and AST activities, and serum urea and creatinine levels of mercury (II) chloride group were found to be increased when compared with the control group ( $p < 0.05$ ). In addition, SOD, CAT, GPx activities and GSH level decreased and MDA level increased ( $p < 0.05$ ) in liver and kidney tissues of mercury (II) chloride group. Moreover, inflammatory markers such as NF $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-33, Bcl3, MAPK-14 and MPO, and apoptotic markers such as p53 and Bax increased while the level of AQP-1 decreased in the mercury (II) chloride group. Rutin-50 and rutin-100 mg/kg doses applied with mercury (II) chloride significantly reduced the levels of oxidative stress, inflammation and apoptotic markers while AQP-1 level increased ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** It was concluded that both doses of rutin treatments were found effective on mercury (II) chloride-induced liver and kidney toxicity.

**Key words:** Kidney toxicity, Liver toxicity, Mercury (II) chloride, Oxidative stress, Rutin.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Abs</b>	: Absorbans
<b>ADP</b>	: Adenin Difosfat
<b>ALP</b>	: Alkalen Fosfataz
<b>ALT</b>	: Alanin Aminotransferaz
<b>ANOVA</b>	: One-Way Analysis of Variance (Tek yönlü varyans analizi)
<b>AST</b>	: Aspartat Aminotransferaz
<b>BAL</b>	: Dimerkaprol
<b>BAX</b>	: Bcl-2 Bağlı X Proteini
<b>BCL3</b>	: B-hücreli Lenfoma 3
<b>BSA</b>	: Bovine Serum Albumin
<b>CHPO</b>	: Cumen Hidrojen Peroksit
<b>COX-2</b>	: Siklooksijenaz-2
<b>DMSA</b>	: Meso-2,3-dimerkaptosüksinik asit
<b>DMPS</b>	: 2,3-dimerkaptopropanol-sulfonik asit
<b>Dk.</b>	: Dakika
<b>DTNB</b>	: 5-5-Ditiyo-bis, 2-nitrobenzoik asid
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik Asit
<b>EtHg</b>	: Etil Civa
<b>EÜ</b>	: Enzim Ünite
<b>G</b>	: Gram
<b>GIDH</b>	: Glutamat Dehidrogenaz
<b>GPx</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSSG</b>	: Oksitlenmiş Glutasyon
<b>Hg</b>	: Civa
<b>Hg(Cl<sub>2</sub>)</b>	: Civa (II) klorür
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>HOCl</b>	: Hipoklorik asit
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin 1 Beta
<b>IL-6</b>	: İnterlökin 6

<b>IL-33</b>	: İnterlökin 33
<b>iNOS</b>	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
<b>KAT</b>	: Katalaz
<b>LDH</b>	: Laktat Dehidrogenaz
<b>MeHg</b>	: Metil Civa
<b>MAPK 14</b>	: Mitojenle Aktifleşen Protein Kinase 14
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MDH</b>	: Malat Dehidrogenaz
<b>ML</b>	: Mililitre
<b>Mm</b>	: Mili Molar
<b>MPO</b>	: Miyeloperoksidaz
<b>µM</b>	: Mikro Molar
<b>NAD<sup>+</sup></b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit (Yükseltgenmiş / Okside)
<b>NADH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit (İndirgenmiş form)
<b>NBT</b>	: Nitrobluetetrazolyum
<b>NF-κB</b>	: Nükleer Faktör-Kappa B
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>nm</b>	: Nano Metre
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Singlet Oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Radikali
<b>OD</b>	: Optik Dansite
<b>OH<sup>·</sup></b>	: Hidroksil Radikali
<b>Rç</b>	: Çalışma reaktifi
<b>Red GSH</b>	: Redükte Glutatyon
<b>ROS</b>	: Raktif oksijen türleri
<b>RNS</b>	: Raktif azot türleri
<b>SF</b>	: Serum Fizyolojik
<b>Sn.</b>	: Saniye
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>TBA</b>	: Tiyobarbütirik Asit
<b>TCA</b>	: Trikloroasetik asit
<b>TNF-α</b>	: Tümör Nekroz Faktörü-alfa
<b>Δ</b>	: Delta

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Çeşitli alanlardaki cıvanın küresel kullanımı .....	5
Şekil 2.2. Cıva tedavisinde kullanılan maddelerin açık yapıları .....	16
Şekil 2.3. Bir doymamış yağ asidinden lipit peroksidasyonunun oluşum basamakları .....	21
Şekil 2.4. Oksidatif strese karşı enzimatik savunma mekanizması .....	24
Şekil 2.5. Rutin'in kimyasal yapısı.....	25
Şekil 3.1. MDA standart grafiği .....	34
Şekil 3.2. GSH standart grafiği.....	36
Şekil 4.1. Serum ALP aktivitesi .....	44
Şekil 4.2. Serum AST aktivitesi .....	45
Şekil 4.3. Serum ALT aktivitesi .....	46
Şekil 4.4. Karaciğer MDA düzeyi .....	46
Şekil 4.5. Karaciğer GSH düzeyi.....	47
Şekil 4.6. Karaciğer SOD aktivitesi.....	48
Şekil 4.7. Karaciğer GPx aktivitesi .....	49
Şekil 4.8. Karaciğer KAT aktivitesi .....	49
Şekil 4.9. Karaciğer NF-κB seviyesi .....	50
Şekil 4.10. Karaciğer TNF-α seviyesi .....	51
Şekil 4.11. Karaciğer IL-1β seviyesi .....	52
Şekil 4.12. Karaciğer MAPK 14 aktivitesi .....	53
Şekil 4.13. Karaciğer Bcl3 seviyesi.....	53
Şekil 4.14. Karaciğer p53 seviyesi .....	54
Şekil 4.15. Karaciğer Bax seviyesi.....	55
Şekil 4.16. Serum üre düzeyi.....	56
Şekil 4.17. Serum kreatinin düzeyi.....	57
Şekil 4.18. Böbrek MDA düzeyi .....	57
Şekil 4.19. Böbrek GSH düzeyi.....	58
Şekil 4.20. Böbrek SOD aktivitesi.....	59
Şekil 4.21. Böbrek GPx aktivitesi .....	60
Şekil 4.22. Böbrek KAT aktivitesi .....	60

<b>Şekil 4.23.</b> Böbrek NF- $\kappa$ B seviyesi .....	<b>61</b>
<b>Şekil 4.24.</b> Böbrek TNF- $\alpha$ seviyesi .....	<b>62</b>
<b>Şekil 4.25.</b> Böbrek IL-1 $\beta$ seviyesi .....	<b>63</b>
<b>Şekil 4.26.</b> Böbrek IL-33 seviyesi .....	<b>63</b>
<b>Şekil 4.27.</b> Böbrek MAPK 14 aktivitesi .....	<b>64</b>
<b>Şekil 4.28.</b> Böbrek Bcl3 seviyesi .....	<b>65</b>
<b>Şekil 4.29.</b> Böbrek MPO aktivitesi .....	<b>66</b>
<b>Şekil 4.30.</b> Böbrek p53 seviyesi .....	<b>67</b>
<b>Şekil 4.31.</b> Böbrek Bax seviyesi .....	<b>67</b>
<b>Şekil 4.32.</b> Böbrek AQP-1 seviyesi .....	<b>68</b>



## TABLULAR DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> Civa toksisitesinin türleri .....	<b>9</b>
<b>Tablo 2.2.</b> Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) ve serbest olmayan radikaller .....	<b>18</b>
<b>Tablo 2.3.</b> Serbest radikal kaynakları.....	<b>19</b>
<b>Tablo 3.1.</b> MDA düzeyinin ölçümü .....	<b>34</b>
<b>Tablo 3.2.</b> GPx aktivitesinin ölçümü.....	<b>37</b>
<b>Tablo 3.3.</b> SOD aktivitesinin ölçümü.....	<b>39</b>
<b>Tablo 3.4.</b> KAT aktivitesinin ölçümü .....	<b>40</b>
<b>Tablo 3.5.</b> Protein ölçümü.....	<b>41</b>
<b>Tablo 3.6.</b> TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , IL-33, MPO, MAPK 14 BCL3, p53, BAX ve AQP-1 ELISA ölçüm prosedürü.....	<b>42</b>
<b>Tablo 3.7.</b> ELISA ölçüm prosedüründe kromojen A ve B solüsyon miktarları.....	<b>42</b>

# 1. GİRİŞ

Civa endüstriyel, farmakolojik ve tarımsal alanlarda sıklıkla kullanılmakla birlikte en yaygın çevresel kirleticilerden biridir. Civa (II) klorür ( $HgCl_2$ ), böcek öldürücü ajanlar, piller, antiseptikler, dezenfektanlar, barometreler, termometreler, diş amalgamları, metalurji ve fotografik sabitleştirme gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır.<sup>1, 2</sup> Civa, Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR) kurumu tarafından yapılan araştırmalar neticesinde kurşun ve arsenikten sonra üçüncü en tehlikeli ağır metal olarak sıralanmıştır.<sup>3</sup>

Yüksek civaya maruziyet, akut karaciğer ve böbrek bozukluklarının patogeneğinde rol oynayan serbest radikallerin ve oksidatif stresin artmasına neden olur. Karaciğer ve böbrekte inorganik civa'nın tutulumu, birikimi ve toksisitesi endojen tiyol içeren moleküllerle bağlanması ile ilişkilendirilmektedir. İnorganik civa toksisitesi sonucunda, oksidatif stresin azalması ve endojen tiyol tükenmesi göz önüne alındığında, antioksidanların Civa zehirlenmesinin tedavisine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür.<sup>2, 4</sup>

Biyolojik sistemlerde antioksidanlar olarak rol oynayan flavonoidler meyve ve sebze türlerinde bulunan doğal fenolik bileşiklerdir.<sup>5</sup> Flavonoidler; antioksidan, anti-bakteriyel, anti-kanser, anti-mutajenik ve anti-inflamatuar özellikler gibi birçok yararlı etkilere sahiptirler.<sup>6, 7</sup> Rutin, flavonal yapıya sahip olan quersetinin bir glukonudur.<sup>8</sup> Yapılan bazı çalışmalarda rutin'in antioksidan, antiviral, antidiyabetik, antialerjik ve anti-inflamatuar gibi birçok farmakolojik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir.<sup>9-11</sup>

Bu amaçla sunulan çalışmada Civa (II) klorür kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine rutin'in etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ağır Metaller

Ağır metaller yumuşaklık, iletkenlik, kation kararlılığı ve ligand özgünlüğü gibi metalik özellikler sergileyen elementlerdir.<sup>12</sup> Ağır metaller "düşük yoğunluklarda oldukça toksik kimyasal bileşenler" olarak bilinirler.<sup>13</sup> Ayrıca, atom ağırlıkları 63.5 g/mol ve 200.6 g/mol arasında olup, özgül ağırlıkları 5 g/cm<sup>3</sup>'den büyük olan metallerdir.<sup>14, 15</sup> Bu ağır metaller, biyolojik olarak parçalanmayıp, her yere kolaylıkla dağılabildiklerinden dolayı insan sağlığı ve çevre için daha da büyük bir risk oluşturmaktadırlar.<sup>15-17</sup>

Demir, kobalt, çinko, bakır ve mangan gibi bazı ağır metaller bitki, hayvan ve insanların normal büyümesi için gerekli olan eser elementlerdir, fakat yüksek konsantrasyonlarda toksik etkilere neden olmaktadır.<sup>18</sup> Civa, kadmiyum, kurşun, arsenik ve krom gibi bazı ağır metaller ise düşük konsantrasyonlarda bile tehlikeli elementler olarak kabul edilirler.<sup>19, 20</sup> Ağır metal iyonlarının toksisitelerini değerlendirmek amacıyla Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Hastalık Kontrol Merkezi (CDC), Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Gıda Katkı Maddeleri Kontrol Komitesi (JECFA) ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) konuyla alakalı çalışmalar yapmaktadırlar.<sup>21-23</sup>

Coğrafi ve antropojenik faaliyetler, ağır metal kontaminasyonunun ana kaynakları arasındadır.<sup>24</sup> Çevrede ağır metallerin oluşumunu sağlayan coğrafik ve doğal nedenler genelde erozyon, volkanik patlamalar ve minerallerin bozunmasıdır.<sup>25</sup> Antropojenik kaynaklar ise alaşım üretimi, atmosferik çökeltme, pil üretimi, biyosolidler, kaplama, patlayıcı imalatı, petrokimya sanayi, endüstriyel katı atıklar, deri tabaklama, madencilik, zirai ilaçlar, böcek öldürücü ilaçlar, fungusidler, fosfatlı gübreler, fotoğrafik malzemeler, baskı pigmentleri, kanalizasyon sulama, çelik

elektrolitik endüstriler, tekstiller ve boya maddeleridir.<sup>25-27</sup> Ayrıca, evsel atık sularda ağır metallerin bulunması elektronik atıkların, amalgamın, deterjanların, araba yıkamalarının, bakır çatıların ve galvanizli çelik boruların kullanımlarından kaynaklanmaktadır.<sup>28</sup>

Ağır metal toksisitesi, bir metalin organizmalar üzerinde istenmeyen etkilere neden olma kabiliyetidir. Bu durum ise, ağır metal biyoyararlanımı ve emilen doza bağlıdır.<sup>29</sup> Bu yüzden insan sağlığı için en tehlikeli etmenler arasına dahil edilmiştir. Özellikle kadmiyum, kurşun, arsenik, civa, çinko ve bakır zehirlenmeleri sonucu gastrointestinal bozukluklar, diyare, stomatit, titreme, hemoglobüri, ataksi, felç, kusma, konvülsiyon, depresyon ve pnömoni görülmektedir.<sup>30</sup> Ayrıca kognitif bozukluk, kardiyovasküler hastalıklar, kronik anemi, kanser, böbrek hasarları, dişler, kemikler, beyin ve sinir sisteminde ciddi rahatsızlıklara neden olmaktadır.<sup>31, 32</sup> Etkilerin yapısı gereği toksik (akut, kronik veya sub-kronik), nörotoksik, kanserojen, mutajenik veya teratojenik olabilmektedirler.<sup>33</sup>

Metaller, ya enzimlerin prostetik gruplarındaki kofaktörlerin yerini değiştirerek ya da tiyol ve protein gruplarıyla bağlanarak enzim yapılarını ve işlevlerini bozma kabiliyetlerine sahiptirler.<sup>25</sup> Çünkü enzimlerin yapısında kofaktör olarak işlev gören orijinal metalleri kendi doğal bağlanma yerlerinden uzaklaştırarak hücrelerin arızalanmasına ve sonuçta toksisiteye neden olurlar. Yapılan bazı araştırmalarda, biyolojik makromoleküllerin oksidatif bozulmalarının öncelikli olarak ağır metallerin DNA ve nükleer proteinlere bağlanmasından kaynaklandığı belirtilmiştir.<sup>34, 35</sup>

## **2.2. Civa**

Civa, gümüş beyazı rengi olan ve oda sıcaklığında sıvı olan tek metal elementtir. Latince adı *Hydrargyros* olup, elementel sembolü olan Hg, bu kelimeden türetilmiştir. Periyodik cetvelin 2B grubunda bulunan civa elementi, 14.06 g/cm<sup>3</sup> yoğunluğu ile ağır metaller grubunun bir üyesidir.<sup>36, 37</sup>

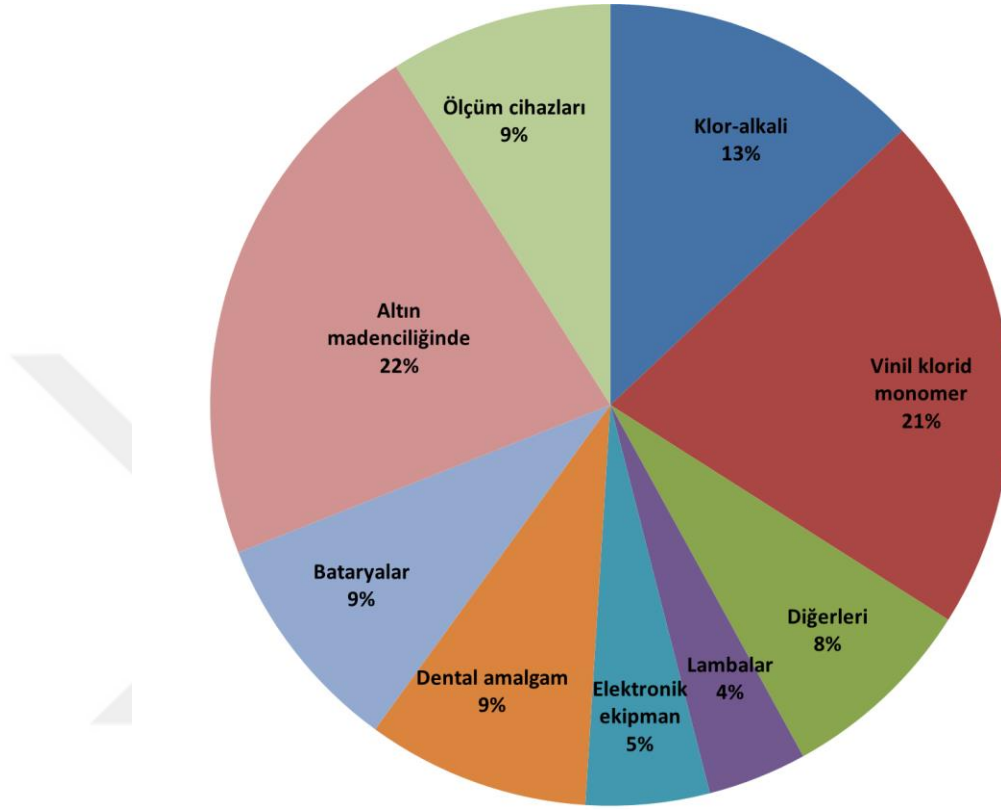
Civa elementi, Amerika Toxic Substances and Disease Agency kurumu tarafından yapılan araştırmalar neticesinde kurşun ve arsenikten sonra en toksik ve çevre kirletici ajan olarak olarak üçüncü sıraya yerleşmiştir.<sup>3</sup> İnsan faaliyetleri sonucunda atmosferdeki civa miktarı yaklaşık üç katına çıkmış ve atmosferik yük yılda % 1.5 artmıştır.<sup>38</sup> Civa ile kirlenen toprak veya kontamine suyun yeniden kullanılması, bitki ve hayvancılık yoluyla besin zincirine girme potansiyeline sahiptir.<sup>39, 40</sup> Gıda zincirinde civa vücutta biyolojik olarak birikebilir ve insan sağlığına birçok olumsuz etki yapabilmektedir.<sup>41</sup>

Civa, başlıca çevre kirleticilerinden biri olarak kabul edilmekte, endüstri, tarım ve tıp alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır ve ekosistemde bir döngüde dolaşmaktadır, ancak metalik özelliğinden dolayı asla yıkılamamaktadır.

### **2.3. Civanın Kullanım Alanları**

Civanın tarihçesi çok eski zamanlara dayanır. İlk olarak eski Mısır mezarlarında (M.Ö. 1500) civa kalıntıları bulunmuştur. Orta çağda frengi (sifiliz) gibi bazı hastalıkların tedavisinde civa tuzları kullanılmaya başlanılmıştır. Psöriazis (sedef hastalığı) tedavisinde ve güçlü bir diüretik olarak kalp yetmezliğinde kullanımı 20. yüzyıla kadar devam etmiştir. Yine 19. Yüzyılda şapka ve ayna üretimleri esnasında mesleki civa zehirlenmeleri yaşanmıştır.<sup>42</sup> Günümüzde civa ve civa türevi bileşikler; katalizör olarak viniklorit ve asetaldehit gibi endüstriyel maddelerin üretiminde, elektrot olarak sodyum klorürden sodyum hidroksit ve klor elde etmek için kullanılmaktadır. Ayrıca endüstriyel kontrol aygıtlarında, bazı elektrikli aletler ve termometrelerin üretiminde, tarım sektöründe fungusitlerin içeriklerinde, kağıt ve boya sanayisinde sıklıkla tercih edilmektedir.<sup>43</sup> Madencilik alanında altını konsantre etmek için sıvı civa kullanımı oldukça yaygındır. Örneğin; Brezilyada hala 500.000 civarında maden işçisi maden tortularından altın konsantre etmek için civayı kullanmaktadır.<sup>42</sup> Ayrıca tıp alanında bazı civa bileşikleri antiseptiklerin ve cilt merhemlerinin içeriğinde mevcuttur.

Benzer şekilde diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan diş dolgu maddesi olan amalgamın yapısında civa ve civa türevi bileşikler bulunmaktadır.<sup>44</sup> Farklı alanlarda kullanılan civanın küresel dağılımı aşağıda gösterilmiştir.<sup>35</sup>



**şekil 2.1.** Çeşitli alanlardaki civanın küresel kullanımını (2005: 3.760 metrik ton)

## 2.4. Civa Formları

Kimyasal olarak civa üç formda bulunmaktadır. Bunlar; elemental (metalik,  $Hg^0$ ) civa, inorganik civa bileşikleri [merkürous ( $Hg_2^{++}$ ) ve merkurik ( $Hg^{2+}$ )] ve organik civa bileşikleri [Metilmerkürü ( $CH_3Hg^+$ )] olarak çeşitli biçimlerde bulunur.<sup>45</sup>

### 2.4.1. Elemental veya Metalik Civa

Elemental civa ( $Hg^0$ ) oda sıcaklığında uçucu olup, buharları insanlar için tehlike arz etmektedir. Elementel civaya maruziyet genelde laboratuvarlarda, işyerlerinde ve evlerde olabilmektedir. Özellikle; evlerde bulunan civa içerikli termometrelerin

kırılmaları sonucu, dökülen civanın toplanması çok zor olabileceği için risk oluşturmaktadır.<sup>46</sup> Solunan civa buharı akciğerlerde yaklaşık % 80'lik bir oranda kolaylıkla emilir ve hızla kana yayılarak vücudun tüm organlarına dağılır. Civa buharı, proteinlerin sülfhidril grupları için büyük afiniteye sahiptir ve vücuttaki kükürt içeren aminoasitlerle de bağlanır.<sup>47</sup>

Absorbe edilen elemental civa dokularda ve kırmızı kan hücrelerinde birkaç dakika içerisinde merkürük civa ( $Hg^{++}$ ) haline dönüşür. Bununla birlikte, inhalasyonla alınan civa buharı, inorganik civa tuzlarının aksine, merkezi sinir sisteminde birikir. Elemental civa yüksek derecede difüze olan ve lipid ile çözünen yüklenmemiş bir monoatomik formdadır. Bu yüzden, kan-beyin bariyeri ve kan plasenta bariyerinin yanı sıra, hücre ve hücre içi organellerin membranlarının lipid çift tabakalarını aşabilir.<sup>48-50</sup> Elemental civa buharı, hızla iyonik civa haline okside olurken, okside edilmeden önce kan-beyin bariyerlerine önemli oranda civa buharı nüfuz edebilecek kadar kısa bir süre kanda buhar halinde kalır. Daha sonra civa molekülleri okside olur ve beyinde birikir. Oksitlenmiş form etkili bir şekilde kan-beyin bariyerini geçemez.<sup>50</sup>

Elemental civa, beyin dokusunun yanı sıra, tiroid,<sup>51, 52</sup> göğüs,<sup>53</sup> miyokard,<sup>54</sup> kaslar,<sup>55</sup> adrenaller,<sup>55</sup> karaciğer,<sup>56, 57</sup> böbrekler,<sup>51, 58</sup> cilt,<sup>55, 59</sup> ter bezleri,<sup>55</sup> pankreas,<sup>55</sup> enterositler,<sup>55, 60</sup> akciğerler,<sup>55, 60, 61</sup> tükrük bezleri,<sup>55</sup> prostat ve testislerde<sup>55</sup> biyobirikime ve işlev bozukluklarına neden olmaktadır.

Elemental civa, maruziyetinin sonucunda oluşan toksisite ile ilgili hücrel ve fizyolojik mekanizmaları aydınlatmak için sayısız deneysel hayvan çalışmaları yapılmıştır. Örneğin, Moller-Madsen tarafından civa buharına maruz bırakılan sıçanların akciğerlerinin alveolar makrofajlarında ağır civa birikimleri bulunmuştur.<sup>62</sup> Dahası, havada  $500 \mu g Hg/m^3$  seviyesinde civa buharına maruz bırakılan hayvanlarda, serebral korteks, korpus striatum, talamus, trigeminal sinirin mezensefalik çekirdeği, serebellar çekirdek ve spinal kord'un motor nöronlarında civa varlığını tespit etmişlerdir.<sup>62</sup>

### 2.4.2. İnorganik Civa Bileşikleri

İnorganik civa bileşikleri antiseptik, diş çıkarma tozu, cilt yanıklarından koruyan kremler gibi çok geniş kapsamlı tıbbi ve kozmetik ürünlerde kullanılmaktadır. İnorganik civa bileşikleri, monovalent (merkürös,  $Hg_2^{++}$ ) ya da iki değerli (merkurik,  $Hg^{2+}$ ) civa olabilir.

Merkürös chloride ( $Hg_2Cl_2$ , kalomel) suda çok düşük çözünürlüğe sahiptir ve bu nedenle tehlikesiz kabul edilir. Bununla birlikte, bebeklerde merkürös civa ihtiva eden diş çıkarma tozu kullanımları üriner civa düzeylerinde belirgin bir artışa neden olmuştur.<sup>46, 63</sup> Abraham Lincoln'un bazen düzensiz davranışlar sergilemesinin nedeni olarak içerisinde merkürös civa bulunan "mavi haplar"ı düzenli olarak kullanması sonucu ortaya çıktığı iddia edilmektedir.<sup>46</sup>

İnorganik civa bileşiklerinden olan  $HgCl_2$  cilt, yanık kremleri ve fotoğraf filmlerinin yapısında kullanılmaktadır. İnorganik civa bileşikleri yutulduktan sonra yaklaşık % 7 ila % 15 oranındaki dozları gastrointestinal sistemde emilir. İnorganik civa tuzlarını içeren merhemlerin dermal absorpsiyonu sonucu civa zehirlenme vakalarının yaşandığı bildirilmiştir.<sup>45</sup> Chan,<sup>64</sup> civanın epidermis boyunca ter bezleri, yağ bezleri ve saç folikülleri yoluyla emilebileceğini ileri sürmüştür.

Elemental civa gibi, merkurik civa da, kan dolaşımındaki eritrositler, metalotiyoin veya glutatyon üzerindeki sülfhidril gruplarına yapışır veya plazmada süspanse edilir. Merkurik civa, kan-beyin bariyerini etkili bir şekilde aşamaz, ancak plasentada, fetal dokularda ve amniyotik sıvıda çok miktarda birikir. Karaciğerde periportal olarak önemli miktarda birikim meydana gelir ve epitel dokular, koroid pleksus ve testislerde daha az miktarda bulunur. Merkurik civanın boşaltılması büyük oranda idrar ve dışkı yoluyla olur, ancak az miktarda ter, gözyaşı, anne sütü ve tükürükle atılır.<sup>47</sup>

İnorganik civanın en yüksek konsantrasyonları, önemli bir hedef organı olan böbreklerde bulunur. Proksimal tübül, civa tuzlarının alındığı ve biriktirildiği merkürük iyonların birincil hedef alanıdır. Böbrek proksimal tübülünde civa tuzlarına aracılık eden iki yol vardır; birincisi amino asit taşıyıcıları yoluyla Cys-S-Hg-S-Cys'in luminal alımı ve diğeri organik anyon taşıyıcıları 1 ve 3 (OAT1 ve OAT3) yoluyla bazolateral tutulum yoluyla gerçekleşir.<sup>65</sup> İnorganik civa tuzlarının biyolojik yarılanma ömrünün yaklaşık 60 gün olduğu tahmin edilmektedir.<sup>66</sup>

### **2.4.3. Organik Civa Bileşikleri**

Organik civanın insanlarda uzun bir toksikoloji öyküsü vardır ve rapor edilen etkiler genelde nörotoksik etkileri içerir. Organik civa bileşiklerinin arasında hem epidemiyolojik hem de deneysel araştırmanın başlıca ilgi alanı metil civa (MeHg)' dir.<sup>46</sup> 1863 yılında organik civalı bileşik sentezinde çalışan bir laboratuvar personeli, bileşiklerin toksik özelliklerini fark edememesi sonucu MeHg zehirlenmesiyle hayatını kaybetmiştir.<sup>46, 67</sup>

MeHg zehirlenmesinin ciddi sağlık sonuçları 1953 yılında Japonyada bulunan Minamata Körfezi çevresindeki köylerdeki balık tüketimleri sonucu ortaya çıktığını çarpıcı bir biçimde göstermiştir. Bu durumla ilişkili tıbbi bozukluklar "Minamata hastalığı" olarak bilinir hale geldi. Yine benzer bir şekilde, 1964-1965 yılları arasında Japonyanın Niigata bölgesindeki Agano nehri boyunca uzanan kıyı köylerinde balık tüketimine bağlı olarak MeHg zehirlenmeleri yaşanmıştır. Bir diğeri MeHg zehirlenme vakası ise, 1971-1972 yıllarında Irak'taki kırsal kesimde, ekim için kullanılan civa içerikli bir fungusid ile tarlalardaki tüm tahıl ürünlerinde MeHg birikimi tespit edilmiştir. Sonuçta 6500'den fazla kişi hastaneye kaldırılmış ve 459 kişi civa'ya bulaşmış ekme tüketiminden ölmüştür. Hem Japonya hem de Irak felaketlerinde, yüksek dozda kronik ve akut MeHg zehirlenmesi sonucu, özellikle yenidoğan

çocuklarda mental retardasyon, serebral felç, sağırılık, körlük, anomaliler ve ölümler gerçekleşmiştir.<sup>68, 69</sup>

Organik civa bileşiklerine ilişkin mevcut verilere göre, civa maruziyetinin önemli bir kaynağı olan MeHg doğal olarak balıklarda bulunur ve nispeten karardır. MeHg buharı, elemental civa buharı gibi benzer bir verimle yaklaşık % 80 oranında emilir. MeHg kan dolaşımına katıldıktan sonra sülfhidril gruplarına, özellikle de sistein grubuna yapışır. Özellikle beyin, karaciğer, böbrekler, plasenta, periferik sinirler ve kemik iliğinde de MeHg birikimleri görülmüştür.<sup>47</sup>

**Tablo 2.1.** Civa toksisitesinin türleri

	Elemental civa	İnorganik civa	Organik civa
<b>Kaynaklar</b>	Fosil yakıtlar, diş amalgamları, eski lateks boya, yakma fırınları, termometreler	Civannın biyolojik oksidasyonu, Bağırsak mikroflorası ile metil civannın demetilasyonu	Pestisitler, balıklar ve kümes hayvanları
<b>Absorpsiyon</b>	Absorbe edilen buharın % 75-85'i	Yutulan dozun % 7-15'i ve hayvanlarda absorbe edilen dermal dozun % 2-3'ü	Bağırsak yolunda % 95-100 emilir
<b>Dağılım</b>	Vücutta dağılır, kan - beyin bariyeri ve plasental bariyeri geçebilir, beyin ve böbrekte birikir	Kan-beyin veya plasental bariyerden geçmez, yenidoğanların beyinde mevcut, böbrekte birikir	Vücudun her tarafına dağılır, kan-beyin bariyerini ve plasental bariyeri kolayca geçebilir, böbrek ve beyinde birikir
<b>Boşaltım</b>	Ter, idrar, dışkı ve tükürük	Ter, idrar, dışkı ve tükürük	% 90 safra ve dışkılar, % 10 idrarla atılır
<b>Toksikasyon sebebi</b>	İnorganik civaya oksidasyonu	Enzimler ve yapısal proteinlerde tiyollere bağlanma	İnorganik civa haline dönüşümü, serbest radikal oluşumu, enzimlerde tiyollere ve yapısal proteinlere bağlanma



Organik civa bileşiklerinden biri de etil civadır (EtHg). Thimerosal formunda, topikal bir antiseptiktir ve çocuklara rutin olarak verilen aşılarında, koruyucu olarak kullanılır. Thimerosal, ağırlıkça % 49.6 civa içerir, vücutta EtHg' ya ve tiyosalisilat' a metabolize olur. Çocuk aşıları normal dozu 0.5 ml başına yaklaşık 12.5-25 mg civa içerir. Bazı vakalarda, thimerosal içeren aşıların önerilen dozlarda verilmesi sonucu, lokal alerjik reaksiyonlara neden olduğu gözlenmiştir.<sup>70</sup> 1999 yılının temmuz ayında, Amerika ve bazı Avrupa ülkelerinde thimerosal aşılarından çıkarılmıştır, ancak bazı gelişmekte olan ülkelerde halen kullanılmaktadır. Son yıllarda EtHg maruziyetinin sonucunda çocuklarda geç konuşma, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, özellikle de otizm spektrum bozukluğu gibi nöro-gelişimsel bozukluklara neden olabileceği hakkında birçok endişeler olmuştur.<sup>51, 69, 71</sup> Civa toksisitesinin türleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.<sup>35</sup>

## **2.5. Civanın Sistemik Toksikolojik Etkileri**

Civa maruziyeti sonucu 250'den fazla semptomun ortaya çıkması kesin tanıyı zorlaştırmaktadır. Ayırıcı tanı; bir hastanın öyküsü ve civa maruziyeti ile ilişkili bir fiziksel muayene ile başlar. Laboratuvar testleri tipik olarak a) kan analizi, b) İdrar tahlili; 24 saatlik bir idrar analizi ve "şelatlayıcı" bir madde ile idrar deneme testi, c) saç analizleri ve (d) doku biyopsisinden oluşur.<sup>72, 73</sup> Kandaki civa farklı organ ve dokular tarafından tutulduğu için, kan civa konsantrasyonu ile civa zehirlenmesinin ciddiyeti arasında doğrudan bir korelasyon bulunmadığını belirtmek önemlidir. Nitekim vücuda alındıktan kısa bir süre sonra civanın hızla beyinde, omurilikte, gangliyonda, otonomik gangliyonda ve periferik motor nöronlarda sıkı bir şekilde bağlandığı düşünülür. Bununla birlikte, sinir sistemi civa maruziyetinin birikim yeri olmasına rağmen, civanın sistemik dağılımı, birçok farklı organ sisteminde semptomlara neden olma potansiyeline sahiptir.<sup>74</sup>

### **2.5.1. Hücresel Etkileri**

Civa genelde sülfhidril ve tiyol gruplarına afinitesi nedeniyle proteinler ve DNA hasarıyla ilişkilidir.<sup>34, 75, 76</sup> Yapılan bazı çalışmalarda civa'nın oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu indüklediği gösterilmiştir ve bu da kalsiyum homeostazında ve artan lipid peroksidasyonunda değişikliğe neden olur.<sup>77, 78</sup> Buna ek olarak, civa fenton tipi reaksiyonlar için bir katalizör görevi görme kabiliyeti nedeniyle radikal oksijen türlerinin seviyelerini de artırır.<sup>78</sup>

### **2.5.2. Kardiyovasküler, Hematolojik ve Solunum Sistemine Etkileri**

Kalpdeki civa birikiminin kardiyomyopatiye neden olduğu düşünülmektedir. Nitekim kardiyomyopatiden ölen kişilerin kalp dokusunda civa düzeyleri, diğer kalp hastalığından ölen bireylerden daha fazla olduğu bulunmuştur.<sup>54, 79</sup> Civa zehirlenmesi, özellikle 45 yaş altı bireylerde göğüs ağrısı ya da faranjite neden olabilir.<sup>54</sup> İn vitro çalışmalar MeHg'nin paraoksonaz 1'in kardiyoprotektif aktivitesini inhibe edebildiğini göstermiştir.<sup>80</sup> Civanın, hemoglobine bağlanması sonucu demirle rekabet ederek hemoglobin oluşumunda bozulmaya neden olduğundan dolayı hemolitik anemi ve aplastik anemi gibi hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir.<sup>81</sup> Anemiye ek olarak, civa'nın lösemiye ve hodgkin hastalığına neden olabileceği bazı çalışmalar sonucu ileri sürülmüştür.<sup>82-84</sup> Vaka kontrol çalışmaları, düşük konsantrasyonda civanın (0.7 ila 42 µg/m<sup>3</sup>) inhalasyonu sonucu titreme, uyku bozukluğu ve çalışanlarda bilişsel becerilerin bozulmasına yol açtığını göstermiştir.<sup>85, 86</sup> Civa zehirlenmesi Young's sendromu,<sup>87</sup> bronşit ve pulmoner fibroz gibi çeşitli bozukluklarla da ilişkilendirilmiştir.<sup>88, 89</sup>

### **2.5.3. Sindirim ve Böbrek Sistemleri Üzerine Etkileri**

Civa yutulduğunda epitel hücreler yoluyla absorbe edilir. Emilen civa, ksantin oksidaz ve dipeptil peptidaz IV'in fonksiyonlarıyla birlikte sindirim enzimleri olan tripsin, kimotripsin ve pepsini inhibe edebildiği için çeşitli sindirim bozukluklarına neden olur.<sup>90</sup> Civanın gastrointestinal sistem üzerindeki etkileri tipik olarak karın ağrısı,

hazımsızlık, inflamatuvar bağırsak hastalığı, ülser ve kanlı diyare olarak ortaya çıkar. Civa bağırsak florasını tahrip ettiğinden dolayı, kan dolaşımındaki sindirilmemiş gıda ürünlerinin miktarını artırır ve ayrıca immün sistemle alakalı reaksiyonlara ve patojenik enfeksiyonlara karşı direncin azalmasına neden olur.<sup>91</sup>

Civa maruziyeti sonucu akut tübüler nekroz, glomerülonefrit, kronik böbrek hastalığı, böbrek kanseri ve nefrotik sendrom arasında bir bağlantı olduğu bildirilmiştir.<sup>45, 88, 92</sup> Ayrıca subakut başlangıçlı nefrotik ve nefritik sendrom, tübüler disfonksiyonu, sekonder fokal segmental glomeruloskleroz, nefrotik proteinüri, glomerüler hastalık ve membranöz glomerülonefrit gibi çeşitli böbrek bozukluklarına neden olabilmektedir.<sup>93</sup>

#### **2.5.4. Sinir Sistemi Üzerine Etkileri**

Vücuda alınan civa çoğunlukla sinir dokusunda birikir.<sup>94</sup> Civanın sinir sisteminde en zararlı etkilerinden biri, hücresel detoksifikasyon proseslerini bozarak enerji üretimini engellemesidir. Civa, P-450 enzimatik sistemini engellemesi sonucu nöronal sorunlara neden olduğu bildirilmiştir.<sup>54</sup> Periferik sinir sisteminde dolaşan inorganik civa, nöronal hücre yapısının ve detoksifikasyon işlemlerinin önemli unsurları olan tübülün ve aktinin sentezini bozulabileceği sinir uçlarında toplanırlar.<sup>95</sup> Primer duysal nöropati, MeHg zehirlenmesinin bir işaretidir. Merkezi sinir sisteminde civa kan-beyin bariyerlerine zarar vererek, beynin diğer toksik metaller ve maddeler tarafından olumsuz etkilenmesini kolaylaştırır. Merkezi sinir sisteminin civa tarafından zehirlenmesi sonucu depresyon, paranoya, aşırı sinirlilik, halüsinasyonlar, konsantrasyon yetersizliği, hafıza kaybı, baş, dudaklar, dil, çene, göz kapakları ve elde titreme, kilo kaybı, sürekli düşük vücut sıcaklığı, baş ağrısı, uykusuzluk ve yorgunluk görülür. Sinir sistemine etkilerinin yanı sıra körlük, retinopati, optik nöropati, işitme kaybı, azalmış koku alma hissi ve anormal dokunuş hissi gibi diğer özel duyu sistemi üzerinde çeşitli olumsuz etkileri mevcuttur.<sup>3, 96</sup>

### **2.5.5. İmmün Sistem Üzerine Etkileri**

Civanın, bağışıklık sistemi işlevini polimorfonükleer lökositler üzerindeki zararlı etkileri ile bozduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Adrenokortikosteroid üretiminin bastırılması yoluyla, hem polimorfonükleer lökosit üretiminin normal uyarılmasını önler hem de polimorfonükleer lökositlerin yabancı maddeleri yok etme kabiliyetlerini inhibe eder.<sup>97</sup> Civaya duyarlı bireyler alerji, astım, romatoid ve otoimmün benzeri semptomlara daha yatkındırlar. Civa, immün hücre üretimi ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olduğu gibi merkezi sinir sisteminde immun yanıtı da indükler, ayrıca interferon gama ve interlekin-2'nin de üretilmesine neden olur.<sup>98</sup> Civa toksikasyonu alerjik hastalık, amyotrofik lateral skleroz, artrit, otoimmün tiroiditis, dikkat eksikliği bozukluğu, egzema, epilepsi, psöryazi, multiple skleroz, romatoid artrit şizofreni, skleroderma ve sistemik lupus eritematozus gibi birtakım bağışıklık veya otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.<sup>99-104</sup>

### **2.5.6. Endokrin Sistem Üzerine Etkileri**

Civanın düşük dozları bile insan ve hayvanlardaki hipofiz, tiroit, adrenal bezleri ve pankreası bozarak endokrin sistemi olumsuz etkiler.<sup>105</sup> Civa hormon-reseptör bağlanmasını azaltarak veya hormon biyosentezinde görevli olan anahtar enzimlerin inhibisyonuna neden olarak endokrin fonksiyonları bozabildiği öne sürülmüştür.<sup>106</sup> Civa tarafından en fazla etkilenen hormonlar insülin, östrojen, testosteron ve adrenalindir. Civa, S-adenosil metiyonin'in inaktivasyonu yoluyla katekolamin bozunumunu da inhibe ederek hiperhidrozis, taşikardi, ptyalizm ve hipertansiyonun birikmesine neden olur.<sup>38</sup> Ayrıca adrenal kortekste kortikosteron plazma düzeylerinde düşüşe neden olur.<sup>106</sup> Azalmış kortizol üretimi, adrenal hiperplaziye yol açarak adrenal kortikotropik hormonunda artışa neden olmaktadır. 1975'te yapılan otopsi çalışmaları tiroit ve hipofiz bezlerinin böbreklerden daha fazla inorganik civa bulundurdukları ve biriktirdiklerini ortaya koymuştur.<sup>107</sup> Yapılan bir çalışmada hipofiz bezindeki civa düzeyleri 6.3 ila 77

ppb arasında değişirken, bir diğer çalışmada ise ortalama civa düzeylerin 28 ppb olduğu ve bu değerin nörotoksik ve sitotoksik olduğu tespit edilmiştir.<sup>108</sup> Hipofiz gibi tiroid bezleri de civa birikimi konusunda da bir affinite sergiler. Civa, iyot bağlama bölgelerini bağlaması sonucu tiroit hormon üretimini inhibe ederek vücut ısısında düzensizlik, hipotiroidizm ve tiroid inflamasyonu görülür.<sup>97, 109</sup> Civanın toksik etkilerine maruz kalan organlardan biri de pankreastır. Diyabetle ilişkili hormon olan insülinin yapısında civa ile bağlanabilen  sülfür bağlama bölgesi olduğu için kan glikoz düzeylerinde düzensizlik görülmektedir.<sup>110</sup>

### **2.5.7. Doğum Defektleri ve reme Sistemi zerine Etkileri**

Civa, genel olarak düşük yapma ve ölü doğum olarak ortaya çıkabilen fetotoksisite ile ilişkilidir. Gebelik sırasında civa maruziyeti nöral tüp defektlerine, kraniofasiyal malformasyonlara, geciken büyüme ile bağlantılıdır.<sup>111</sup> Civa plasentadan içeri kolayca girebildiği için, gelişimin ikinci safhalarında serebral felç ve psikomotor geriliğe neden olan fetal beyin gelişimini inhibe eder.<sup>112, 113</sup> Fetal otopsi esnasında, serebellumda genel bir hipoplazi, serebral kortekste sinir hücrelerinin sayısında azalma, toplam beyin ağırlığında belirgin azalma, anormal nöron g ile beyin merkezleri ve katmanlarında dejenerasyonlar gözlemlenmiştir.<sup>114-116</sup> Fetal dönemde civaya maruz kalmış 64 ocuk üzerinde yapılan bir çalışmada zeka geriliği (% 100), ilk refleksler (% 100), şaşılık (% 77), serebellar ataksi (% 100), dizartri (% 100), epileptik ataklar (% 82) ve büyüme bozuklukları (% 100) tespit edilmiştir.<sup>41</sup>

Civa strojen, progesteron, androjenler, luteinize edici hormon ve follikül uyarıcı hormon gibi hormonların dolaşımdaki düzeylerini değiştirerek üreme işlevini etkileyebilen hipotalamus-hipofiz-adrenal ve gonadal eksenini boyunca patofizyolojik değişiklikleri hızlandırabilir.<sup>117, 118</sup> Mesleki olarak sürekli civa içerikli amalgamla temas halinde olan diş hekimliği asistanları arasında düşük doğurganlık kaydedilmiştir.<sup>119, 120</sup> Hong Kong'daki araştırmalar, civa düzeylerinin artmasının hem kadınlarda hem

erkeklerde infertiliteye neden olduğunu göstermiştir.<sup>121</sup> Civa erkeklerde spermatogenezi, epididimal sperm sayısını ve testiküler ağırlığı olumsuz etkilerken,<sup>122-</sup><sup>124</sup> dişilerde ise ovarial disfonksiyona, ağırlı veya düzensiz menstrüasyona, erken menopoza ve düzensiz adet kanamalarına neden olduğu belirtilmiştir.<sup>110, 117</sup>

## **2.6. Civa Zehirlenmesinde Tanı ve Tedavi**

Vücut içerisinde çok hızlı bir şekilde dağılan civanın kanda yarı ömrü kısa olup, vücuttaki yarı ömrü ise ortalama iki ay civarındadır. Absorbe edilen civanın büyük bir kısmı idrarla atılır. Bu yüzden 24 saatlik idrarda civa miktarı tanı için tercih edilmektedir.<sup>125</sup> Kan ve idrardaki civa düzeylerinin ölçülmesi civadan kaynaklanan zehirlenmeler hakkında bilgi verir. Refik Saydam Hıfzıssahha Merkezi Başkanlığı Zehir Araştırmaları Müdürlüğü laboratuvarı referans değerleri, tam kanda 0.6-59 µg/L, idrarda ise 0.1-20 µg/L'dir. Daha önce hiç civa toksisitesine maruz kalmamış bireylerde kan ve idrar civa düzeyleri 5 µg/L'nin altındadır.<sup>126</sup>

## **2.7. Acil Tedavi ve Destek**

Tedavide ilk olarak yapılması gereken, hastanın civa kaynağından uzaklaştırılmasıdır.

### **2.7.1. Civa Solunması**

Kapalı alanlarda solunum yoluyla alınan civa birkaç saat içinde akciğer ödemi ve akut pnömoniye neden olabilir. Eğer endikasyonları varsa ilave oksijen verilmeli ve gerekirse pozitif basınçlı ventilasyon uygulanmalıdır.

Solunum yoluyla metalik civa alındığı zaman, hasta ağız yoluyla alabiliyorsa Dimerkaptosüksinik asit 10 mg/kg dozda (DMSA, Succinaptal® 200 mg) 5 gün süresince 8 saatte bir, izleyen 14 gün süresince ise 12 saatte bir verilebilir veya penisillamin (Metalcaptase® 300 film kaplı tablet, 300 mg) ağız yoluyla yetişkinlerde günde 1000-1500 mg (en çok 2 gr), çocuklarda 25-100 mg/kg/gün (ençok 1 gr) 2 ya da

4 doza bölünerek 5 güne kadar, daha uzun süreli tedavi gerekiyorsa 40 mg/kg/gün'lük doz aşılmadan verilmelidir.<sup>126-128</sup>

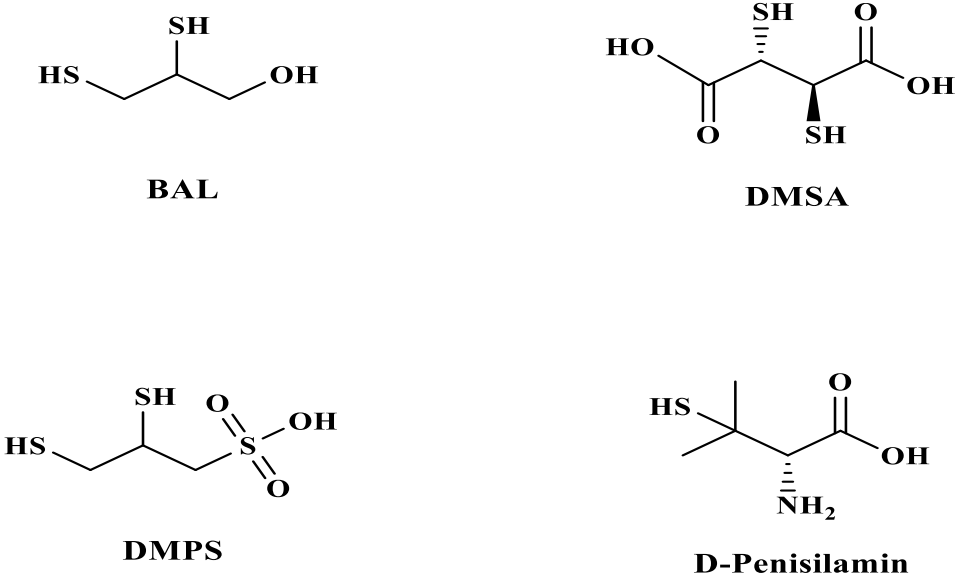
### 2.7.2. Organik Civa Yutulması

Hastaya başta semptomatik destek tedavisi yapılır. Bazı vakalarda destek tedavisi yeterli iken, yüksek kan ve idrar civa düzeyleri, akrodini veya solunum sıkıntısı durumlarında akla ilk gelen şelasyon tedavisi olmalıdır. Şelasyon tedavisinin etkisini göstermesi için erken başlanması gerekmektedir. Aksi takdirde, başlama süresi geciktikçe tedavinin etkinliği azalır. Bu tedavide kullanılacak antidotlar: BAL (dimerkaprol: British anti-Lewisite = 2,3- dimerkaptopropanol), DMPS (2,3- dimerkaptopropanol-sulfonik asit) ve DMSA (meso-2,3-dimerkaptosüksinik asit)'dir.<sup>129</sup>

### 2.7.3. Civa Tuzu Yutulması

Civa tuzu yutulması sonucu oluşan şok ve gastroenterit sıvı desteğiyle tedavisi yapılmalıdır. Akut böbrek yetmezliği geri dönüşümlüdür, ancak bir veya iki hafta boyunca hemodiyaliz gerekebilir.

Ağız yoluyla civa tuzu alındığı zaman, yetişkin ve çocuklarda intra muskular 3-5 mg/kg BAL verilir. DMSA yukarıda belirtilen protokolle göre uygulanır.<sup>126-128</sup>



Şekil 2.2. Civa tedavisinde kullanılan maddelerin açık yapıları

#### **2.7.4. Arındırma**

Civa, deriye bulaşmış ise öncelikle hastanın üzerindeki giysilerini çıkarıp civanın temas ettiği alan bol sabunlu su ile yıkanmalıdır. Oral yolla olan zehirlenmelerde elemental civanın emilimi olmadığı için hastalar kusturulmamalıdır. Katartikler ve aktif kömürün faydası yoktur.<sup>126</sup>

#### **2.7.5. Eliminasyonun Artırılması**

Elemental veya inorganik civanın atılımında tekrarlanan aktif kömür dozları, hemoperfüzyon veya diyaliz etkisizdir. Fakat böbrek yetmezliğinde civa-şelatör kompleksinin atılımı diyaliz yoluyla civanın atılımını arttırabilir. Metil civa zehirlenmesinde enterohepatik dolaşımı engellemek amacıyla oral yoldan poliotil resin verildiğinde etkili olabilir.<sup>126</sup>

#### **2.7.6. Korunma**

Çeşitli yollarla civa zehirlenmelerine maruz kalan kişiler öncelikle civa ve civa bileşiklerine maruziyeti azaltarak koruma sağlayabilirler. Civalı termometrelerin kırılması sonucu çevreye dağılan civa parçacıkları buharlaşarak zehirleyici etkiye neden olabilir. Bu nedenle civalı termometre kullanımından sakınılmalıdır. Aşıların bozulmasını önlemek amacıyla aşılarla eklenen thimerasol civa içerikli koruyucu bir madde olup yan etkileri kanıtlanmamıştır.<sup>130</sup> Buna rağmen, Amerikan Pediatri Akademisi (AAP), aşılarda önlem olarak thimerosal maddesinin kullanılmaması gerektiğini bildirmiştir.<sup>126</sup> Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ise thimerosalın aşılarda kullanılabileceğini belirtmiştir.<sup>131</sup> Sonuç olarak civanın tüm formlarının yüksek dozlarda sağlık üzerine olumsuz etkileri vardır.<sup>126</sup>

### **2.8. Serbest Radikaller**

Bir atom veya molekül, dış orbitallerinde bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron bulunduruyorsa serbest radikal olarak tanımlanır.<sup>132</sup> Ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif olan serbest radikaller çevrelerindeki atom ve



moleküllere saldırırlar. Çok kısa ömürlü olmalarına rağmen, radikal olmayan maddelerle reaksiyona girmeleri sonucu onları da serbest radikal yapabilirler.<sup>133, 134</sup> Aşağıdaki tabloda bazı serbest radikal türleri gösterilmektedir.<sup>136</sup>

**Tablo 2.2.** Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) ve serbest olmayan radikaller

Reaktif oksijen türleri		Serbest olmayan radikaller	
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	$H_2O_2$
Hidroksil radikali	$HO^{\cdot}$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksil radikali	$HOO^{\cdot}$	Ozon	$O_3$
Lipit radikali	$L^{\cdot}$	Lipit hidroperoksit	$LOOH$
Lipit peroksil radikali	$LOO^{\cdot}$	Hipoklorit	$HOCl$
Peroksil radikali	$ROO^{\cdot}$	Peroksi nitrit	$ONOO^-$
Lipit alkoksil radikali	$LO^{\cdot}$	Diazot trioksit	$N_2O_3$
Azot dioksit radikali	$NO_2^{\cdot}$	Nitrik asit	$HNO_3$
Nitrik oksit radikali	$NO^{\cdot}$	Nitril klorit	$NO_2Cl$
Nitroksil katyon	$NO^+$	Nitroksil anyon	$NO^-$
Protein radikal	$P^{\cdot}$	Nitrik oksit	$N_2O$

Süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil ( $HO^{\cdot}$ ), peroksil ( $ROO^{\cdot}$ ), alkoksil ( $RO^{\cdot}$ ) ve nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ ) reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinirler.  $HO^{\cdot}$  ve  $RO^{\cdot}$  gibi serbest radikaller çok reaktiftir ve komşu hücrelerde bulunan moleküllere çok kısa bir sürede saldırırlar. Diğer taraftan süperoksit anyon, lipit hidroperoksitler ve nitrik oksitler nispeten daha az reaktiftirler.<sup>135, 136</sup> ROS'e ek olarak singlet oksijen ( $^1O_2$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hipoklorik asit ( $HOCl$ ) gibi radikal olmayan diğer ROS'leri de vardır.<sup>136, 137</sup>

Serbest radikaller organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi dış etkenlerle de oluşabilir. Örneğin; sigara dumanı, zararlı ışınlar, çevresel kirlenmeler, ağır metaller, organik çözücüler ve pestisitler gibi faktörler ekzojen kaynaklar olarak bilinirler. Endojen kaynaklar arasında ise peroksizomlar, en önemli

ROS kaynağı olarak verilebilir.<sup>138</sup> Serbest radikal ve reaktif türlerinin endojen ve ekzojen kaynakları tablo 2.3’de verilmiştir.

**Tablo 2.3.** Serbest radikal kaynakları

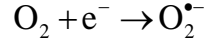
<b>Endojen Kaynaklar</b>	<b>Ekzojen Kaynaklar</b>
Mitokondrial ETS	Diyet faktörleri
Redoks reaksiyonları	Sigara dumanı
Oksidatif reaksiyonlar	Zararlı ışınlar
Otooksidasyon reaksiyonları	İlaçlar
Araşidonik asit metabolizması	Organik çözücüler
Bazı enzimler	Pestisitler

Hücre ve dokuların normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde ve yapısal bütünlüğünün korunmasında antioksidan ve oksidan sistemler arasındaki dengenin korunması gerekir. Bu dengenin bozulması sonucu oluşan serbest radikaller vücudumuzdaki temel yapısal moleküllerin oksidatif hasarına sebep olurlar.<sup>139</sup> Normal fizyolojik olaylar esnasında sürekli olarak reaktif oksijen türleri oluşurlar. Bu yüzden lipit peroksidlerinin birikimine yol açarak membran lipitlerinin peroksidasyonunu kolaylıkla başlatabilirler.<sup>140, 141</sup> ROS; nükleik asitler, proteinler, lipitler, çoklu doymamış yağ asitleri ve karbohidratlar gibi önemli biyomoleküllere zarar verme kapasitelerine sahiptirler. Ayrıca mutasyona ve DNA hasarına da yol açabilirler. Eğer ROS hücresel bileşenler tarafından giderilemezlerse protein, lipit ve nükleik asit gibi hücresel biyomoleküllere zarar vermesi sonucu metabolik hasarlara ve birçok hastalığa yol açarlar. Bunlar arasında kalp krizi, diyabet, hücre ölümü, kanser, merkezi sinir sistemi hasarı, yaşlanma, artrit, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, iskemik kalp hastalıkları, obezite, nöral bozukluklar, inflamasyon ve gastrit gibi birçok hastalık sıralanabilir.<sup>136, 142-146</sup>

## 2.9. Serbest Radikal Çeşitleri

### 2.9.1. Süperoksit Radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) oluşur. Organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikalidir.<sup>147</sup>



Bu radikal nadiren oksidatif hasara yol açar. Çünkü süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hızlı bir şekilde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye çevrilmektedir. Kullandığımız O<sub>2</sub>'nin %1-3 civarında O<sub>2</sub><sup>•-</sup>'ye dönüştüğü tahmin edilmektedir.<sup>136, 148</sup>

### 2.9.2. Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

Moleküler oksijenin orbitallerinde bulunan elektronlardan birisinin enerji alması sonucu kendi spininin tersi yönünde farklı bir orbitalle yer değiştirerek singlet oksijen oluşur.<sup>149</sup> Singlet oksijen hücre membranlarında bulunan doymamış yağ asitleriyle tepkimesi sonucu lipid peroksidlerin oluşumuna neden olur.<sup>136</sup>

### 2.9.3. Hidroksil Radikali (OH<sup>•</sup>)

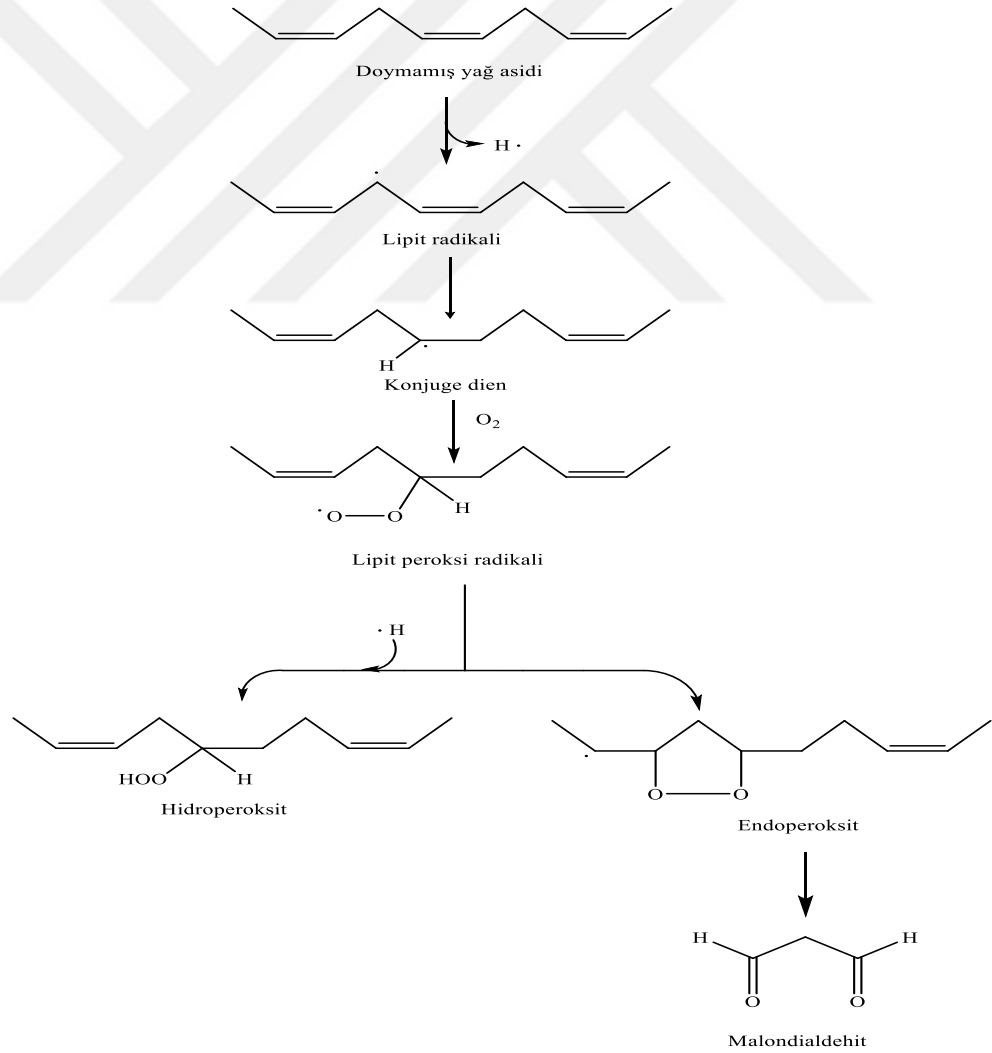
Hidroksit iyonunun (OH<sup>-</sup>) radikalik formudur. Bu radikal 10<sup>-9</sup> saniyelik yarılanma süresi ile bilinen en reaktif türdür. Hidroksil radikali çoklu yağ asitleri, DNA ve proteinlere saldıran oldukça aktif bir radikaldir. Bütün bunların yanı sıra OH<sup>•</sup> radikalinin en iyi tanımlanmış biyolojik hasarı lipid peroksidasyonudur.<sup>136, 150, 151</sup>

Organizmada oluşan serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla lipid peroksidasyonu başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur ve doğrudan membran yapısına, dolaylı olarak ise bazı reaktif aldehit türlerinin oluşumunu sağlayarak diğer

hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olur.<sup>136</sup>

152, 153

Lipit peroksidasyonu sonucu aldehitler olmak üzere alkan, alkol, hidroksi yağ asitleri gibi diğer pek çok ürünler de oluşur. Oluşan bu aldehitler oksidatif hasarı artırmaktadır. Lipit peroksidasyonunun başlıca ürünü olan malondialdehit (MDA) ise uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile protein, nükleik asit karbohidrat gibi birçok biyomolekül üzerinde etkili olarak, geri dönüşümü mümkün olmayan hasarlara yol açmaktadır. Lipit peroksidasyonunun mekanizması Şekil 2.3'te verilmiştir.<sup>154, 155</sup>



Şekil 2.3. Bir doymamış yağ asidinden lipit peroksidasyonunun oluşum basamakları

#### 2.9.4. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, moleküler oksijenin iki elektron indirgenmesi sonucu oluşur. Eşlenmemiş elektronu olmadığından serbest radikal değildir. Fakat kuvvetli oksitleyici ajandır.<sup>136, 156</sup>



Proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye giren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reaktif demir formlarını oluşturur. Bu yapıdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahiptir. Bu özelliğinden dolayı hücre membranlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir.<sup>136, 154</sup>

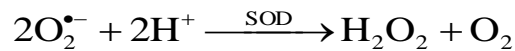
#### 2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar, radikalik zincir reaksiyonlarının başlamasını veya yayılmasını önleyerek diğer moleküllerin oksidasyonlarını geciktiren veya durduran bileşikler olarak bilinirler.<sup>157</sup> Antioksidanlar insan vücudunu serbest radikallere ve ROS'ne karşı korur.<sup>158, 159</sup> Ayrıca besinlerin oksidatif bozulmalarına karşı koruma sağlayan maddeler olarak yaygın bir şekilde kullanılırlar.<sup>160, 161</sup> Enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılan antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu etkisiz hale getiren maddelerdir.<sup>136</sup>

#### 2.11. Bazı Enzimatik Antioksidanlar

##### 2.11.1. Süperoksit Dismutaz ( E.C.1.15.1.1)

Süperoksit Dismutaz (SOD) oksiradikal oluşumunun inhibe edilmesinde önemli bir antioksidan enzimdir ve oksidatif strese biyobelirteç olarak kullanılır.<sup>162</sup> SOD, süperoksit radikalini (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) moleküler oksijene (O<sub>2</sub>) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dönüştüren önemli bir enzimdir.<sup>163</sup>



Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarın önlenmesinde katalaz enzimi ile birlikte SOD enziminin fenton reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin giderilmesinde daha etkin olabileceği bildirilmektedir. SOD enziminin katalizleme tepkimesi sonucunda oluşan hidrojen peroksit oksijenin toksik bir türüdür ve katalaz enzimi ile detoksifiye edilir.<sup>164</sup>

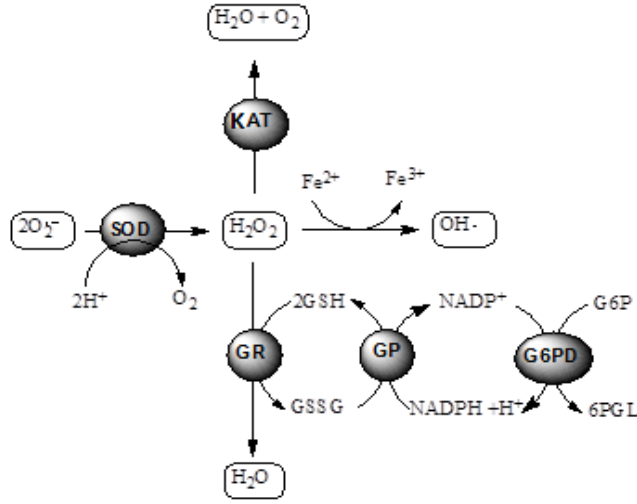
### **2.11.2. Katalaz ( E.C.1.11.1.6)**

Katalaz (KAT), reaktif oksijen türlerine karşı biyolojik sistemi koruyan, indüklenabilir bir enzimdir.<sup>165</sup> Genellikle bütün hücre türlerinde bulunan KAT, peroksizomlarda lökalize olup hem gurubu içeren bir enzimdir. Bu enzimin en önemli görevi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i moleküler oksijen ve suya katalizlemektir.<sup>166-168</sup>

KAT'ın indirgeyici aktivitesinin hedefi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllerdir. Kemik iliği, kan, karaciğer, böbrek ve mukoz membranlarda yüksek miktarda KAT bulunur.<sup>133, 169, 170</sup>

### **2.11.3. Glutatyon Peroksidaz ( E.C.1.11.1.9)**

Sitozolde bulunan glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi tetramer yapılı olup dört selenyum atomu içerir.<sup>171</sup> Hücrede bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in detoksifikasyonunu sağlar. Bu enzim lipid peroksidasyonun başlamasını ve ilerlemesini engellemektedir. Reaksiyon sonucu oksitlenmiş glutatyon (GSSG) oluşur. Antioksidan savunma sisteminin devam edebilmesi için GSSG tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) formuna dönüşmesi gerekir. GPx'ın, hücredeki dağılımı, glutatyon redüktaz (GR) enzimine bağımlıdır. Her iki enzim de en yüksek miktarda sitozolde bulunur.<sup>172</sup> Hücrenin sitozolik kompartmanında yer alan GPx enzimi hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur.<sup>173</sup>



**Şekil 2.4.** Oksidatif strese karşı enzimatik savunma mekanizması. (SOD: Süperoksit dismutaz, KAT: Katalaz, GP: Glutasyon peroksidaz, GR: Glutasyon redüktaz, G6PD: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, G6P: Glukoz 6-fosfat, 6PGL: 6-Fosfoglukano- $\gamma$ -lakton)

## 2.12. Enzim Olmayan Antioksidanlar

### 2.12.1. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH); glutamin, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan suda çözünebilir bir tripeptiddir.<sup>174</sup> GSH doku ve organları ROS'nin olumsuz etkilerine karşı korur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksit radikalleri ve membran protein tiyolleri gibi serbest radikal türlerin yok edilmesinde rol oynar.<sup>175, 176</sup> GPx enziminin bir substratı olarak da bilinir.<sup>177</sup>

GSH, hücre proteinlerini indirgenmiş şekilde tutan disülfit-sülhidril değişimi tepkimelerinde etki gösterir. Belirli oksidaz tepkimeleriyle oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i uzaklaştıran enzim GPx'a substratlık yaparak proteinlerin sülhidril gruplarını da korur. GSH yokluğunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikir. GSSG, GR tarafından sürekli GSH'a indirgenerek GSH miktarı düzenlenir.<sup>178</sup>

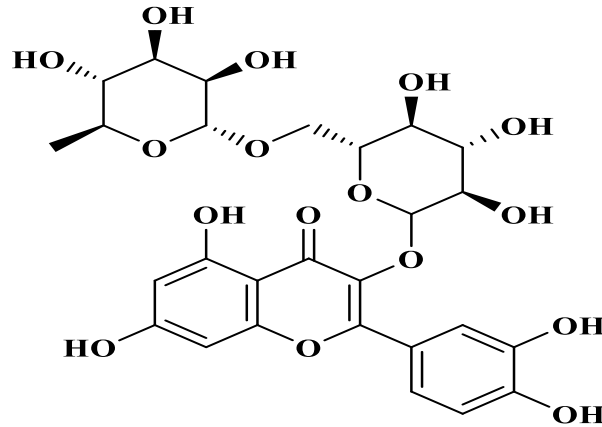
### 2.12.2. Enzimatik Olmayan Diğer Antioksidanlar

C vitamini (askorbik asit), E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol),  $\beta$  karoten ve melatonin en çok bilinenlerdir.<sup>179</sup>

Bazı durumlarda albumin, bilirubin, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, ürik asit, sistin, kreatinin ve östrojenler de serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar.<sup>180</sup>

### 2.13. Rutin

Günümüzde geleneksel olarak kullanılan bitkisel maddelerin birçoğunun farmakolojik özelliğe sahip olduğu ve bu özelliğin esas olarak flavonoid bileşiklerinden kaynaklandığı bilinmektedir. Flavonoidler, serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayıp meyveler, sebzeler ve tıbbi bitkilerde belirgin bir şekilde bulunan polifenol bileşiklerin büyük bir grubudur.<sup>181, 182</sup> Rutin, flavonol quercetin ve disakkarit rutinozundan oluşan bir flavonol glikozittir.<sup>183</sup> Daha çok portakal, greyfurt ve limon gibi turunçgillerde bol miktarda bulunan rutin,<sup>8</sup> antioksidan, anti-kanser, anti-inflamatuar, anti-ülser, anti-mikrobiyal, anti-tumör ve anti-diyabetik gibi bir dizi farmakolojik aktiviteye sahiptir.<sup>184-186</sup> Ayrıca glokom hastalığı, yüksek tansiyon, kalp rahatsızlığı ve bazı alerjik hastalıkların tedavisinde de kullanıldığı bildirilmiştir.<sup>187</sup> İlaveten rutin'in serbest radikalleri temizleme ve bazı patolojilerin etiyolojisinde rol oynayan lipid peroksidasyonunu önleme özelliği olduğu da rapor edilmiş olup,<sup>188, 189</sup> kimyasal yapısı şekil 2.5.'te gösterilmiştir.<sup>184</sup>



Şekil 2.5. Rutin'in kimyasal yapısı



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde (ATADEM) yetiştirilen 250-270 g ağırlığındaki 35 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Deneyde kullanılacak olan ratlar uygulamadan 7 gün önce gruplar arası istatistiki fark olmayacak şekilde tartılarak seçildi ve ortamlarına uyumları sağlandı. Hayvanlar 24-25 °C sabit sıcaklık ve onikişer saatlik karanlık aydınlık siklüsü sağlanarak kafeslerde tutuldu. Deneysel süreçte ratlara standart rat yemi ve su *ad libitum* olarak verildi. Çalışma, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığının 06.12.2016 tarihli (toplantı sayısı: 8) ve karar no:161 izni ile belgelendirildi.

#### 3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

UV-visible Spektrofotometre	: BIO-TEK EPOCH, GEN 5 Yazılımlı
Soğutmalı Santrifüj	: Hettich Rotina 38 R
pH Metre	: METTLER TOLEDO (Seven Compact)
Etüv	: MMM Group, Ecocell 55
Vorteks	: IKA MS-2
Otomatik Pipetler	: BRAND transferpette ®
Saf Su Cihazı	: GFL 2001/2
Buzdolabı	: Vestel Nofrost
Hassas Terazı	: SHIMADZU ATX224
Çalkalamalı Su Banyosu	: GFL 1083
Homojenizatör	: TissueLyser II, Qiagen
Trackman	: GILSON®

### 3.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

**Civa (II) klorür:** % 99.5'lik saflık derecesine sahip olan Civa (II) klorür (Katalog No: 215465, Sigma-Aldrich, ABD), 1.23 mg/kg dozajında periton içi uygulandı. Doz ayarlaması daha önce yapılmış olan çalışmalardan yararlanarak seçildi.<sup>190</sup>

**Rutin:** % 94'lik saflık derecesine sahip olan rutin'in (Katalog No: R5143, Sigma-Aldrich, ABD), 50 mg ve 100 mg'lık dozları distile suyla süspansiyon haline getirilerek oral yoldan verildi.<sup>181</sup>

### 3.4. Metot

#### 3.4.1. Deneysel Uygulamalar

Çalışmada kullanılan ratlar her grupta 7 rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

- 1. Grup:** Kontrol; Sadece i.p. serum fizyolojik uygulandı.
- 2. Grup:** Rutin; 100 mg/kg/gün dozajında oral olarak 1 hafta uygulandı.
- 3. Grup:** Civa (II) klorür; Bir hafta boyunca günde bir kez olmak üzere 1.23 mg/kg dozajında periton içi uygulandı.
- 4. Grup:** Civa (II) klorür + Rutin 50 mg/kg grubu; civa ile toksikasyona uğramış gruba rutin 50 mg/kg/gün dozunda oral olarak 1 hafta süre ile verildi.
- 5. Grup:** Civa (II) klorür + Rutin 100 mg/kg grubu; civa ile toksikasyona uğramış gruba rutin 100 mg/kg/gün dozunda oral olarak 1 hafta süre ile verildi.

#### 3.4.2. Deney Sonunda Numunelerin Alınması

Son civa (II) klorür ve rutin uygulamalarından 24 saat sonra ratlar hafif sevofloran anestezisi altında ötenazileri yapılarak, doku ve kan örnekleri alındı. Kan örnekleri serum enzim, üre ve kreatinin analizleri için antikoagülanlı tüplere aktarıldı, +4 °C' de 3000 devirde, 10 dk. santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Karaciğer ve böbrek dokuları ile serum örnekleri biyokimyasal analizler yapılincaya kadar -20 °C'de

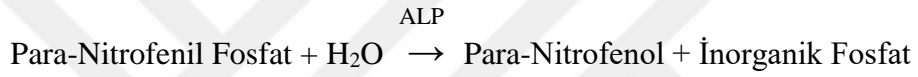
muhafaza edildi. Deneyleri yapmaya başlamadan önce sıvı azot kullanarak TissueLyser II (Qiagen) 5 mikron çapa kadar öğütülen karaciğer ve böbrek dokularından gerekli miktarlar tartılarak analizlere göre uygun olan tamponlarla sulandırıldı ve TissueLyser II (Qiagen) kullanılarak homojenizasyon yapıldı.

### 3.5. Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi

Serum aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzim aktiviteleri ile serum üre ve kreatinin seviyeleri ticari kitler ile (TML, Tanı Medikal Ürünler, Ankara, Türkiye) ölçüldü.

#### 3.5.1. ALP Aktivitesinin Tayini

ALP tayini prensibi aşağıdaki denklemde yer almaktadır.<sup>191</sup>



#### Reaktifler;

**Reaktif 1:** Diethanolamin tamponu (pH 10.2): 1.25 mol/L, Magnezyum Klorür: 0.625 mmol/L,

**Reaktif 2:** Para-Nitrofenil Fosfat: 50 mmol/L

**Çalışma Reaktifi (Rç):** Reaktif 1'den 4 hacim Reaktif 2'den 1 hacim alınıp karıştırılır.

#### Metot:

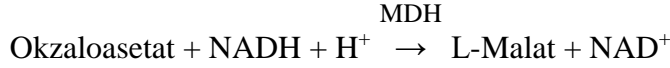
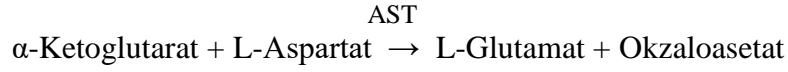
1. Çalışma reaktifinden 1ml alındı.
2. 20 µL örnek eklendi.
3. Vorteksle karıştırıldı.
4. Örnek 37 °C' de 1 dk. inkübatörde bekletildi.
5. 405 nm' de 3 dk. spektrofotometrik yöntemle okundu.
6. Dakika başına değişen optik yoğunluk ölçüldü.

#### Hesaplama:

405 nm:  $\Delta\text{OD} / \text{dk} \times 2750$

### 3.5.2. AST Aktivitesinin Tayini

AST tayini prensibi aşağıdaki denklemde yer almaktadır.<sup>191</sup>



#### Reaktifler;

**Reaktif 1:** Tris buffer (pH 7.8): 88 mmol/L, L-Aspartat: 260 mmol/L, LDH:  $\geq 1500$  U/L, MDH:  $\geq 900$  U/L

**Reaktif 2:**  $\alpha$ -Ketoglutarat: 12 mmol/L, NADH: 0.24 mmol/L

**Çalışma Reaktifi (Rç):** Reaktif 1'den 4 hacim, Reaktif 2'den 1 hacim alınıp karıştırılır.

#### Metot:

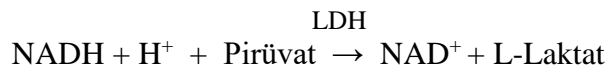
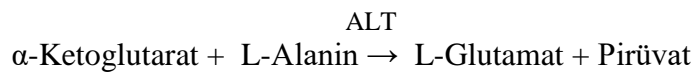
1. Çalışma reaktifinden 1ml alındı.
2. 100  $\mu$ L örnek eklendi.
3. Vorteks ile karıştırıldı.
4. Örnek 37 °C' de 1 dk. inkübatör de bekletildi.
5. 340 nm'de 3 dk. spektrofotometrik yöntemle okundu.
6. Dakika başına değişen optik yoğunluk ölçüldü.

#### Hesaplama:

340 nm:  $\Delta\text{OD} / \text{dk} \times 1746$

### 3.5.3. ALT Aktivitesinin Tayini

ALT tayini prensibi aşağıdaki denklemde yer almaktadır.<sup>191</sup>



**Reaktifler;**

**Reaktif 1:** Tris buffer (pH 7.5): 110 mmol/L, L-Alanin: 600 mmol/L, LDH:  $\geq 1500$  U/L

**Reaktif 2:**  $\alpha$ -Ketoglutarat: 16 mmol/L, NADH: 0.24 mmol/L

**Çalışma Reaktifi (Rç):** Reaktif 1'den 4 hacim, Reaktif 2'den 1 hacim alınıp karıştırılır.

**Metot:**

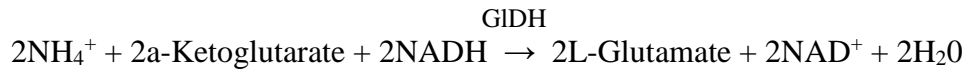
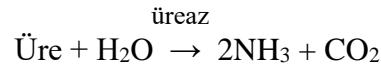
1. Çalışma reaktifinden 1ml alındı
2. 100  $\mu$ L örnek eklendi.
3. Vorteksle karıştırıldı.
4. Örnek 37 °C' de 1 dk. inkübatör de bekletildi.
5. 340 nm'de 3 dk. spektrofotometrik yöntemle okundu.
6. Dakika başına değişen optik yoğunluk ölçüldü.

**Hesaplama:**

340 nm:  $\Delta OD / dk. \times 1746$

**3.5.4. Serum Üre Tayini**

Serum üre tayini prensibi aşağıdaki denklemde yer almaktadır.

**Reaktifler;**

**Reaktif 1:** Tris buffer (pH 7.6): 125 mmol/L, ADP: 600 mmol/L, ürez:  $\geq 8100$  U/L,

Glutamat dehidrogenaz (GIDH):  $\geq 8100$  U/L,  $\alpha$ -ketoglutarat: 9 mmol/L

**Reaktif 2:** NADH: 1.5 mmol/L

**Çalışma Reaktifi (Rç):** Reaktif 1'den 4 hacim, Reaktif 2'den 1 hacim alınıp karıştırılır.

**Metot:**

1. Çalışma reaktifinden 1ml alındı

2. 10 µL örnek eklendi.
3. Vorteksle karıştırıldı.
4. Örnek 37 °C' de 1 dk. inkübatör de bekletildi.
5. 340 nm'de 30 saniye ve 90 saniye arasındaki optik dansitedeki (ΔOD) değişim spektrofotometrik yöntemle okundu.

**Hesaplama:**

$$\frac{\Delta OD \text{ örnek}}{\Delta OD \text{ standart}} \times n \quad (n = \text{standart konsantrasyonu})$$

**3.5.5. Serum Kreatinin Tayini**

Kreatinin ve alkalın arasında oluşan renkli kompleksin oluşum oranını ölçmektedir. Kinetik yöntem kullanıldığından diğer maddelerin etkileşimi düşük seviyeye inmektedir.

**Reaktifler;**

**Reaktif 1:** Pikrik asit: 8.73 mmol/L

**Reaktif 2:** Sodyum hidroksit: 312.5 mmol/L, Disodyum fosfat 12.5 mmol/L

**Çalışma Reaktifi (Rç):** Reaktif 1'den 1 hacim, Reaktif 2'den 1 hacim alınıp karıştırılır.

**Metot:**

1. Çalışma reaktifinden 1ml alındı
2. 100 µL örnek eklendi.
3. Karıştırınız ve örnek ya da reaktifi ekledikten 10 saniye sonra 492 nm'de optik yoğunluğu (OD1) ölçülür. İlk okumadan tam 2 dakika sonra bir kez daha okunur (OD2).

**Hesaplama:**

$$\frac{\Delta OD \text{ örnek}}{\Delta OD \text{ standart}} \times n \quad (n = \text{standart konsantrasyonu})$$

### **3.5.6. Biyokimyasal Analizler İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması**

Alınan karaciğer ve böbrek dokularında oksidatif stres belirteçlerinden olan MDA ile antioksidan savunma sistemi parametrelerinden non-enzimatik antioksidan olan GSH ve enzimatik antioksidanlardan GPx, SOD ve KAT aktivitesi incelendi. Enzim aktivitelerini g protein cinsinden ifade edebilmek için karaciğer ve böbrek dokuları protein düzeyleri de belirlendi.

Karaciğer ve böbrek dokularında; inflamatuvar belirteçlerini gözlemlemek için mitojenle aktifleşen protein kinase 14 (MAPK14, Elabscience, Houston, Texas, USA), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interlökin 33 (IL-33), nükleer faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B), B-hücreli lenfoma 3 (Bcl3), miyeloperoksidaz (MPO), pro-apoptotik düzeyi tespit etmek amacıyla p53 proteini ve Bcl-2 bağlı X protein (Bax) ve böbrek dokusunda aquaporin-1 (AQP-1) sandviç enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kitleri (Sunred, Shangai, China) kullanıldı.

### **MDA, GSH, GPx, SOD, KAT ve Protein Tayini İçin Karaciğer ve Böbrek Doku Örneklerinin Hazırlanması**

TissueLyser II kullanılarak toz haline getirilmiş olan karaciğer ve böbrek dokuları MDA, GSH, GPx ve protein analizleri için %1.15' lik KCl ile sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar MDA ve protein için 3500 rpm' de 15 dk., GSH ve GPx için 11000 rpm' de 20 dk. santrifüj edilerek süpernatant kısım analizlerde kullanıldı. SOD aktivite tayini için karaciğer ve böbrek dokuları için Tris-HCl Tamponu (pH 7.4) ile sulandırılarak homojenize edilmiş ve 7000 rpm' de 60 dk. santrifüj edilerek süpernatant kısım analizde kullanıldı. KAT aktivite tayininde ise dokular Triton-x-100 ile sulandırılarak homojenize edildi ve 3500 rpm' de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant kısım analiz için hazır hale getirildi.

### **ELISA Analizleri İçin Karaciğer ve Böbrek Doku Örneklerinin Hazırlanması**

Karaciğer ve böbrek dokuları fosfat tampon (pH 7.4) ile 1/20 oranında sulandırılarak TissueLyser II cihazında homojenize edildi. Homojenizasyon sonrasında homojenatlar ELISA analizleri için +4 °C'de 3000 rpm'de 20 dk. santrifüj edildi ve süpernatant kısım analizler için kullanıldı.

### **3.5.7. Biyokimyasal Analizler (MDA, GSH, GPx, SOD, KAT ve Protein Tayini)**

#### **MDA Tayini**

Hazırlanan homojenatta MDA düzeyinin ölçümü Placer ve ark. bildirdiği metoda göre yapıldı.<sup>192</sup> Bu metot' ta MDA bir lipid peroksidasyon aldehit ürünüdür ve bu yöntemle göre tiyobarbitürik asit (TBA) ile analiz sırasında pembe renkli olan bir yapı oluşumu gözlenir. Analiz sonrası oluşan bu çözeltinin absorbanı ELISA okuyucusunda 532 nm dalga boyunda ölçülür ve standart grafiğe göre hesaplanır.

#### **Analizde Kullanılan Ayraçlar**

1. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Solüsyonu: 0.67 g tiyobarbitürik asit %10' luk 80 ml perklorik asit içinde çözündürülüp toplam hacim 100 ml' ye distile suyla tamamlandı.

2. Trikloroasetik asit (TCA) Solüsyonu: % 10' luk (100 ml de 10 g TCA olacak şekilde) hazırlanan çözelti ışık almayacak şekilde kahverengi cam şişelerde +4 °C muhafaza edildi.

3. Renk Ayırıcı: 3 birim TCA ile 1 birim TBA' nın karıştırılmasıyla elde edilir ve analizde kullanılmak üzere deneyden hemen önce hazırlandı.



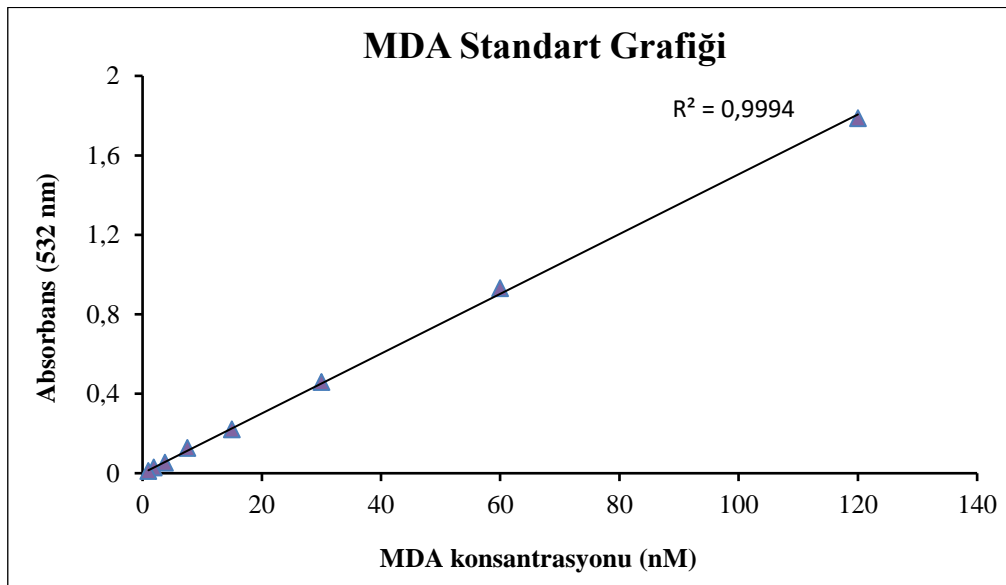
### Analiz metodu:

**Tablo 3. 1.** MDA düzeyinin ölçümü

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek (ml)
Örnek	-	-	0.25
%0.9 NaCl	0.25	-	-
Renk Ayıracı	2.25	2.25	2.25
Standart	-	0.25	

1. Vida kapaklı cam tüplerin kapakları kapatıldı ve vortekste 5 dk. karıştırıldı.
2. Su banyosu 100 °C' ye ayarlandı tüpler su banyosunda 20 dk. kaynatıldı ardından soğutuldu.
3. Soğutulan tüpler 2500 rpm' de 5 dk. santrifüj edilerek süpernatant alındı.
4. Pleyte yüklenen numuneler köre karşı 532 nm dalga boyunda okundu.

**Karaciğer ve böbrek dokularında MDA Düzeyinin Hesaplanması:** Dokulardaki MDA düzeyleri, 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) kullanılarak hazırlanmış standart grafikten yararlanarak hesaplanmış olup sonuçlar nmol/g doku olarak verildi.



**Şekil 3.1.** MDA standart grafiği

## **GSH Tayini**

Hazırlanan homojenatta GSH düzeyinin ölçümü Sedlak ve Lindsay' ın bildirdiği metoda göre yapıldı.<sup>193</sup> Bu metoda göre DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik) asit], sülfidril gruplu bileşikler tarafından indirgenir ve meydana gelen sarı renk spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ölçülür.

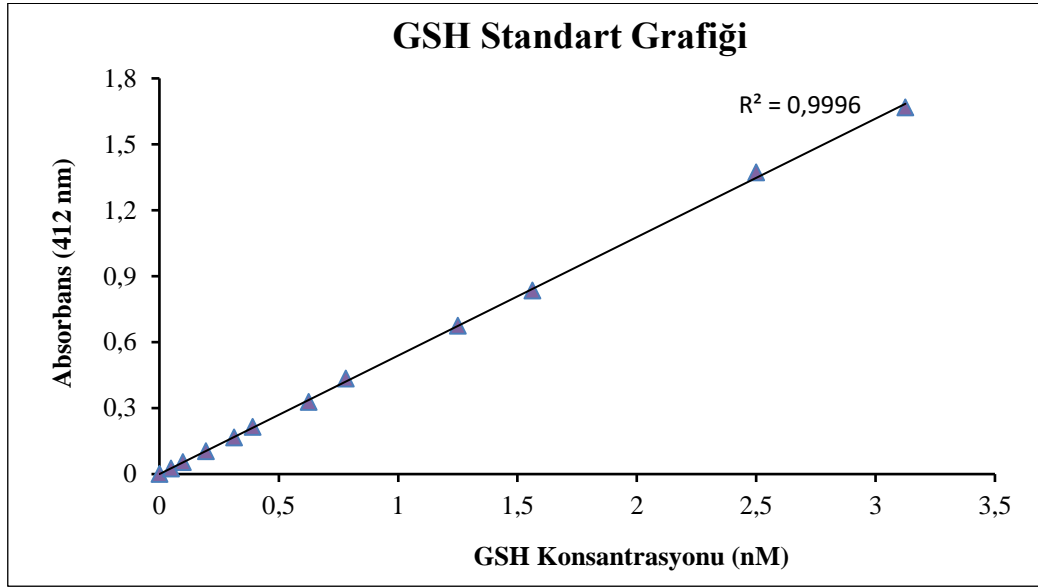
### **Analizde Kullanılan Ayraçlar**

1. %10'luk TCA
2. Tris (hidroksimetil) aminometan: 48.46 gr alınarak distile suda çözdürülüp toplam hacim 1000 ml distile su ile tamamlandı ve pH: 8.9' a ayarlandı.
3. 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik) asit' den (DTNB) 0.099 g alındı 25 ml metanol' de çözüldü.

### **Analiz metodu:**

1. 0.5 ml doku homojenatı alınarak deney tüpüne aktarıldı. Deney tüpünün üzerine 2 ml TCA eklendi 20 sn. vortekste karıştırıldı.
2. 2500 rpm' de 5 dk. santrifüj edilip süpernetanttan 0.5 ml alındı.
3. Üzerine 2 ml Tris Tamponu eklendi, sonrasında 0.1 ml DTNB solüsyonu eklendi.
4. Karıştırılan tüpler 5 dk. bekletildikten sonra 412 nm dalga boyunda distile suya karşı okundu.

**Karaciğer ve böbrek dokularında GSH Düzeyinin Hesaplanması:** Sonuçlar GSH standart grafiğinden hesaplandı.



**Şekil 3.2.** GSH standart grafiği

### **GPx Tayini**

Hazırlanan homojenatta GPx düzeyinin ölçümü Matkovics ve ark. yöntemine göre ölçüldü.<sup>194</sup>

### **Analizde Kullanılan Ayıraçlar**

1. Tampon A: Tris-HCl tamponu (50 mM, pH: 7.6): 6.057 g tris hidroksimetil aminometan, 0.372 g Na<sub>2</sub>EDTA tartıldı ve 3.90 ml HCl balon jojeye alınarak hacim distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.
2. Tampon B: Tris Tamponu (0.4 M pH:8.9): 48.46 g tris hidroksimetil aminometan alındı ve hacim distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı pH' sı 8.9' a ayarlandı.
3. Trikloroasetik asit çözeltisi(TCA): 10 g TCA tartıldı distile su ile 100 ml' ye tamamlandı (% 10'luk, w/v).
4. Red GSH çözeltisi: 6 mg Red GSH alınarak Tampon A ile hacim 10 ml' ye tamamlandı.
5. Cumen Hidrojen Peroksit (CHPO) çözeltisi: CHPO 5µl alınarak Tampon A ile 10 ml' ye tamamlandı ve renkli şişede +4 °C' de saklandı.

6. 5-5-Dithio-bis, 2-nitrobenzoik asid (DTNB) solüsyonu: 0.099 g DTNB alındı ve hacim absolut metanol ile 25 ml' ye tamamlandı ve renkli şişede +4 °C' de saklandı.

**Analiz metodu:**

**Tablo 3.2.** GPx aktivitesinin ölçümü

	<b>Kontrol(ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Süpernatant</b>	0.5	0.5
<b>Tampon</b>	0.3	0.3
<b>CHPO</b>	-	0.1
<b>Red GSH</b>	0.1	0.1
<b>37 °C' de 10 dk. bekleme</b>	+	+
<b>TCA</b>	1	1

Tüpler karıştırıldıktan sonra;

1. 2500 rpm' de 5 dk. santrifüj edildi.
2. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatant' dan 1 ml alınarak hazırlanan yeni tüplere konuldu.
3. Tüplere 2 ml tampon B eklendi.
4. 0.1 ml DTNB ilave edildi.
5. Oda sıcaklığında 5 dk. bekletilerek 412 nm' de distile suya karşı okundu.

**Karaciğer ve böbrek dokularında GPx Aktivitesinin Hesaplanması:**

$$\frac{[\text{Abs(kontrol)} - \text{Abs(örnek)}] \times 0.76989}{\text{g protein}}$$

**SOD Tayini**

Hazırlanan homojenatta SOD aktivitesinin ölçümü Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre ölçüldü.<sup>195</sup>

SOD aktivitesinin ölçüldüğü bu deney ksantin-ksantin oksidaz sistemiyle üretilen süperoksit radikalının NBT'ü indirgemesiyle oluşan renk esasına dayanmaktadır. Oluşan bu renkli çözeltinin 560 nm' de mavi renkli formazon oluşumuyla maksimum absorbands verir. Enzimin olmadığı ortamda indirgenme maksimum olduğu için koyu mavi renk oluşumu gözlenir. SOD bulunduğu ortamda ise enzim, süperoksit anyonunu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dönüştürerek NBT indirgenmesini azaltmakta ve renk değişimi gözlenmektedir. Formazonun oluşumu enzim konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Formazonun 560 nm' de vermiş olduğu absorbands ile SOD aktivitesi hesaplanmış olur.

## **Deneyde Kullanılan Ayıraçlar**

### **1. SOD Ölçüm Karışımı:**

- a) 0.6 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA: 23 mg Na<sub>2</sub>EDTA tartılıp distile suda çözdürülüp toplam hacim 100 ml' ye tamamlandı.
- b) 400 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 2.54 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 2.54 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartılıp distile suda çözdürülüp toplam hacim 60 ml' ye tamamlandı.
- c) 0.3 mmol/L Ksantin: 9.13 mg Ksantin tartılarak distile suda çözdürüldü ve toplam hacim 200 ml' ye tamamlandı.
- d) 150 µmol/L Nitroblue tetrazolyum (NBT): 12.3 mg NBT tartılarak distile suda çözdürüldü ve toplam hacim 100 ml' ye tamamlandı.
- e) 1 g/L Bovine Serum Albumin (BSA): 30 mg BSA tartılarak distile suda çözdürüldü ve toplam hacim 30 ml' ye tamamlandı.

**2. Ksantin oksidaz (167 U/L):** Mililitresinde 0.167 U olacak şekilde (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub> içinde çözdürüldü.

**3. 2M (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>:** 2.64 g amonyum sülfat tartılarak distile suyla 10 ml' ye distile suyla tamamlandı.

**4. 0.8 mmol/L CuCl<sub>2</sub>:** 13.6 mg CuCl<sub>2</sub> tartılarak distile suda çözdürüldü ve toplam hacim distile suyla 100 ml' ye tamamlandı.

**Analiz metodu:**

**Tablo 3.3.** SOD aktivitesinin ölçümü

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Reaksiyon çözeltisi</b>	2.85	2.85
<b>Süpernatant</b>	-	0.10
<b>Distile su</b>	0.10	-
<b>Ksantin oksidaz</b>	0.05	0.05

20 dk. oda ısısında inkübasyondan sonra tüplerin hepsine 1 ml CuCl<sub>2</sub> ilave edildi ve reaksiyon durduruldu. 560 nm' de okundu.

**Dokuda SOD aktivitesinin hesabı:**

$$\text{EU/g protein} = \frac{\Delta A_{\text{kör}} - \Delta A_{\text{numune}}}{\Delta A_{\text{kör}}}$$

Dokuda U/g protein olarak hesaplanır.

**KAT Tayini**

Karaciğer ve böbrek dokularında KAT aktivitesi Aebi'nin metoduna göre ölçüldü.<sup>196</sup> KAT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yıkımını katalize eder. KAT tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in yıkım hızı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' in 240 nm' de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü.

**Deneyde Kullanılan Ayraçlar**

1. 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.0)
2. 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 0.34 ml %30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fosfat tampon ile 100 ml' ye tamamlanır.

## Analiz metodu:

**Tablo 3.4.** KAT aktivitesinin ölçümü

	Kör(ml)	Örnek(ml)
<b>Fosfat tampon</b>	1	-
<b>Hidrojen peroksit</b>	-	1
<b>Homojenat</b>	2	2

Kör ile 240 nm’ de numunelerin kinetik ölçümü ile 0. (Abs1) ve 30. (Abs2) saniyelerdeki absorbans farkı ölçülmesiyle KAT aktivitesi hesaplanır.

**Dokuda KAT aktivitesinin hesabı:**  $k = (2.3/30) \times (\log A1/A2) \times \text{Dilüsyon}$

Doku için spesifik aktivite: k/g protein olarak verildi.

### Protein Tayini

Karaciğer ve böbrek dokularında protein tayini modifiye Lowry<sup>197</sup> metoduna göre belirlendi. Alkali bakır tartarat ayıracı peptit bağları ile kompleks oluşturur. Fenol ayıracı, bakır ile işleme tabi tutulmuş karışıma eklendiğinde mor-mavi renk oluşumu gözlenmektedir. Oluşan bu renk 650 nm’ dalga boyunda okundu.

### Deneyde Kullanılan Ayıraçlar

**1. Protein Standartı:** 50 µg BSA / ml

**2. Alkali Bakır Ayıracı:** 10 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.1 g Potasyum tartarat ve 0.05 g bakır sülfat, 0.5 N NaOH içinde çözdürülür ve 100 ml ‘ ye tamamlanır. Bu çözelti oda ısısında renkli şişe de 30 gün dayanıklıdır.

**3. Fenol Ayıracı:** 2 N Folin-Ciocalteu-Fenol ayıracından 3.75 ml alındı ve distile su ile 67.5 ml’ ye tamamlandı. Fenol ayıracı çalışmanın örnek sayısına göre hesaplanıp günlük olarak hazırlanmalıdır.

**4. Örnek:** Analizi yapılmak istenen serum, plazma veya süpernatant.

**Analiz metodu:**

**Tablo 3.5.** Protein ölçümü

	<b>Kör (ml)</b>	<b>Standart(ml)</b>	<b>Örnek (ml)</b>
<b>Alkali Bakır Ayıracı (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Protein Standartı (ml)</b>	-	1.0	-
<b>Örnek (ml)</b>	-	-	1.0
<b>Distile su (ml)</b>	1.0	-	-

Tüpler karıştırılır ve 10 dk. oda ısısında bekletildi.

Fenol ayıracı tüm tüplere 4 ml eklendi.

Tüpler karıştırılır ve su banyosunda 5 dk. 55 °C' de bekletildi.

İnkübasyon sonrası tüpler soğutulur ve 650 nm' de kör tüpüne karşı okundu.

**Dokuda Protein Hesaplama:**

$\mu\text{g protein / ml} = (\text{Örnek Abs. / Std. Abs.}) \times \text{Std. Konsantrasyonu}$

**3.5.8. TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , IL-33, MPO, MAPK14, BCL3, p53, BAX ve**

**AQP-1 Seviyelerinin ELISA Kitleri ile Ölçüm Prosedürü**

**Test prensibi:**

Çalışmada, çift antikor sandviç ELISA kitleri kullanıldı. Spesifik monoklonal antibody ile kaplı pleyt kuyucuklarına standart ya da numune eklendi, daha sonra Biotin ile işaretli ikinci antibodyler ilave edildi. Son olarak Streptavidin-HRP solüsyonu eklenen pleyt inkübasyona bırakılarak kompleks oluşumu sağlandı. İnkübasyon sonunda kompleks oluşumuna katılmayan enzimlerin ortamdan uzaklaştırılması için pleyt yıkandı. Renk oluşumu sağlamak amacıyla kromojen A ve B eklenerek tekrar



inkübasyona bırakılan kitlerdeki reaksiyon sonucunda mavi renk oluşumu gözlemlendi. Reaksiyon sonlandırıcı solüsyonun eklenmesiyle mavi renk sarıya dönüşür ve bu sarı rengin şiddeti ELISA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu.

**Tablo 3.6.** TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , IL-33, MPO, MAPK 14 BCL3, p53, BAX ve AQP-1 ELISA ölçüm prosedürü

	<b>Kör(<math>\mu</math>l)</b>	<b>Std (<math>\mu</math>l)</b>	<b>Örnek(<math>\mu</math>l)</b>
<b>Standard</b>	-	50	-
<b>Örnek</b>	-	-	40
<b>Antibody</b>	-	-	10
<b>Sreptividin HRP</b>	-	50	50

Pleyt kaplanıp karıştırıldıktan sonra 37 °C' de 60 dk. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra yıkama solüsyonu ile yıkandı.

**Tablo 3.7.** ELISA ölçüm prosedüründe kromojen A ve B solüsyon miktarları

	<b>Kör(<math>\mu</math>l)</b>	<b>Std(<math>\mu</math>l)</b>	<b>Örnek(<math>\mu</math>l)</b>
<b>Kromojen A</b>	50	50	50
<b>Kromojen B (ışıkta sakının)</b>	50	50	50

↓  
37°C' de 10 dk. inkübasyona bırakıldı.

↓  
İnkübasyondan çıkarılan pleytte tüm kuyucuklara 50 $\mu$ l reaksiyon sonlandırıcı solüsyon eklendi ve pleytte mavi olan rengin sarıya dönüşümü gözlemlendi.

↓  
ELISA okuyucusuna yerleştirilen pleyt 450 nm dalga boyunda okundu ve elde edilen optik dansite (OD) değerleri standart grafiğe göre hesaplandı.

### 3.5.9 İstatistiksel Analiz

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 20.0 yazılım programı kullanılarak yapıldı. Bütün ölçümlerde istatistiksel farklılıklar ve önem seviyeleri “One-way Analysis of Variance (ANOVA)” testi ile belirlenmiş ve çoklu karşılaştırmalarda Tukey testi uygulandı.  $p < 0.05$  seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi.



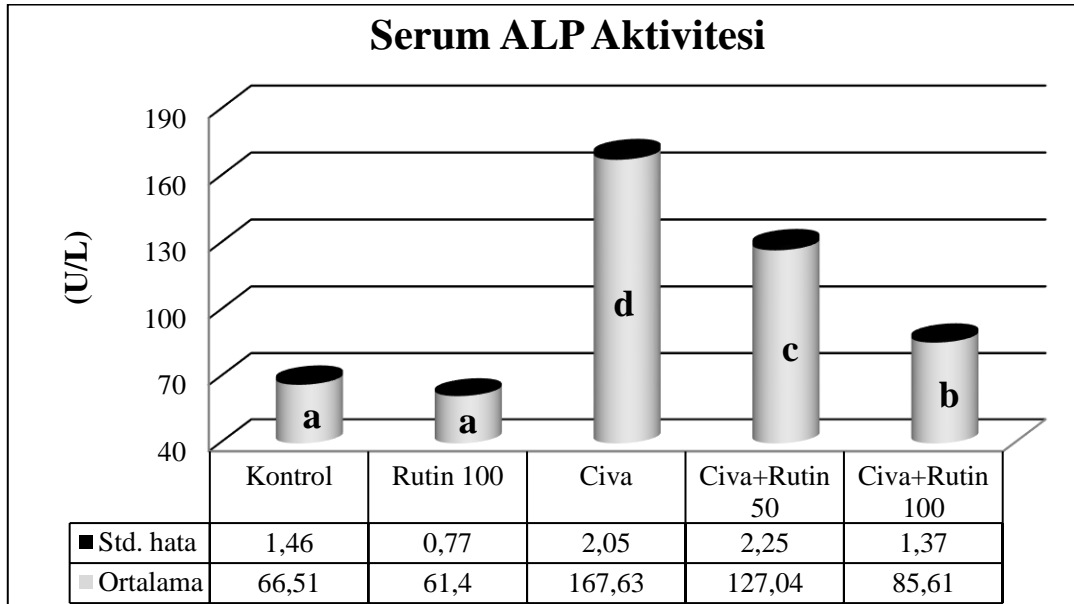
## 4. BULGULAR

### 4.1. Karaciğer Dokusu için Biyokimyasal Bulgular

Bu çalışmada doğal bir antioksidan olarak bilinen rutin maddesinin (50 ve 100 mg/kg) dozlarının civa (II) klorür ile oluşturulan deneysel karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine etkileri araştırıldı. Şekillerdeki aynı harfle gösterilen sütunlar istatistiki olarak fark olmadığını ( $p>0.05$ ) ifade ederken, farklı harfler (a, b, c, d, e) istatistiksel farkı göstermektedir ( $p<0.05$ ).

#### 4.1.1. Serum ALP Aktivitesi

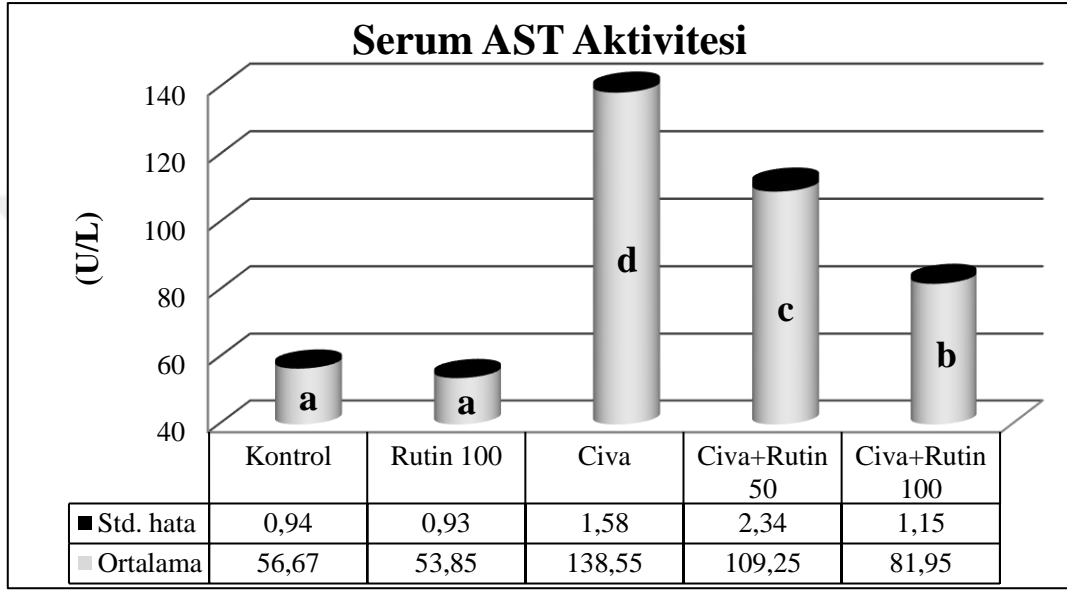
Karaciğer hasarının belirteçlerinden biri olan serum ALP aktivitesi incelendiğinde (şekil 4.1) kontrol ve rutin-100 gruplarında ALP aktivitesinin istatistiksel olarak aynı olduğu ( $p>0.05$ ), civa uygulamasının serum ALP aktivitesini anlamlı olarak artırdığı ( $p<0.001$ ), civa ile beraber kullanılan rutin gruplarında (rutin-50 ve rutin-100) ise artan bu enzim aktivitesinin azaldığı tespit edildi ( $p<0.01$ ).



**Şekil 4.1.** Serum ALP aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.2. Serum AST Aktivitesi

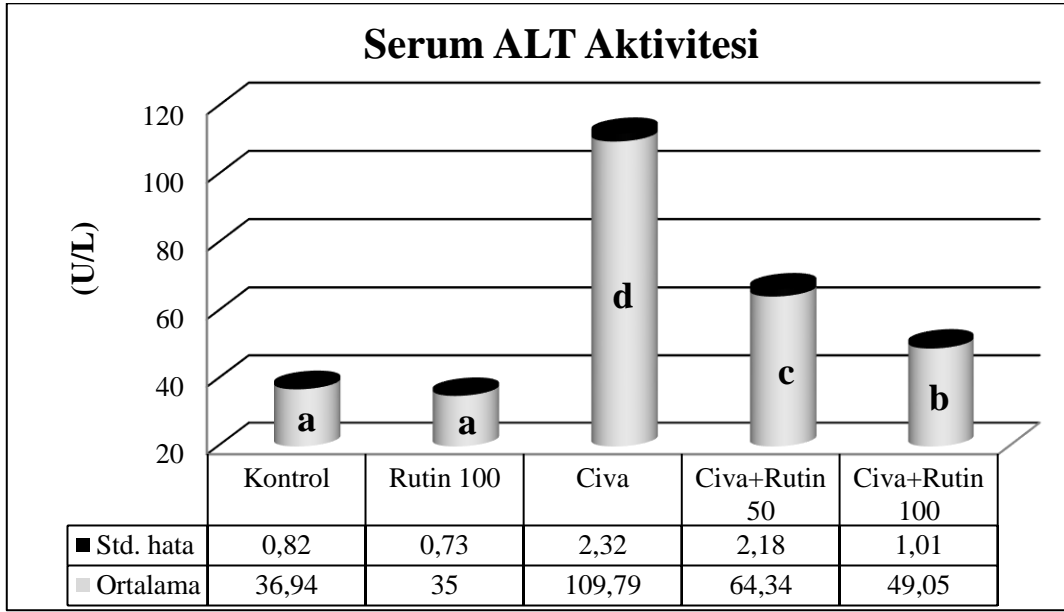
Karaciğer fonksiyon testlerinden biri olan serum AST aktivitesi incelendiğinde (şekil 4.2) civa uygulamasının serum AST aktivitesini kontrol grubuna göre artırdığı ( $p<0.001$ ), civa ile beraber kullanılan rutin'in her iki dozunun da enzim aktivitesini sadece civa uygulanan gruba göre belirgin bir şekilde düşürdüğü ( $p<0.01$ ) tespit edildi.



**Şekil 4.2.** Serum AST aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.3. Serum ALT Aktivitesi

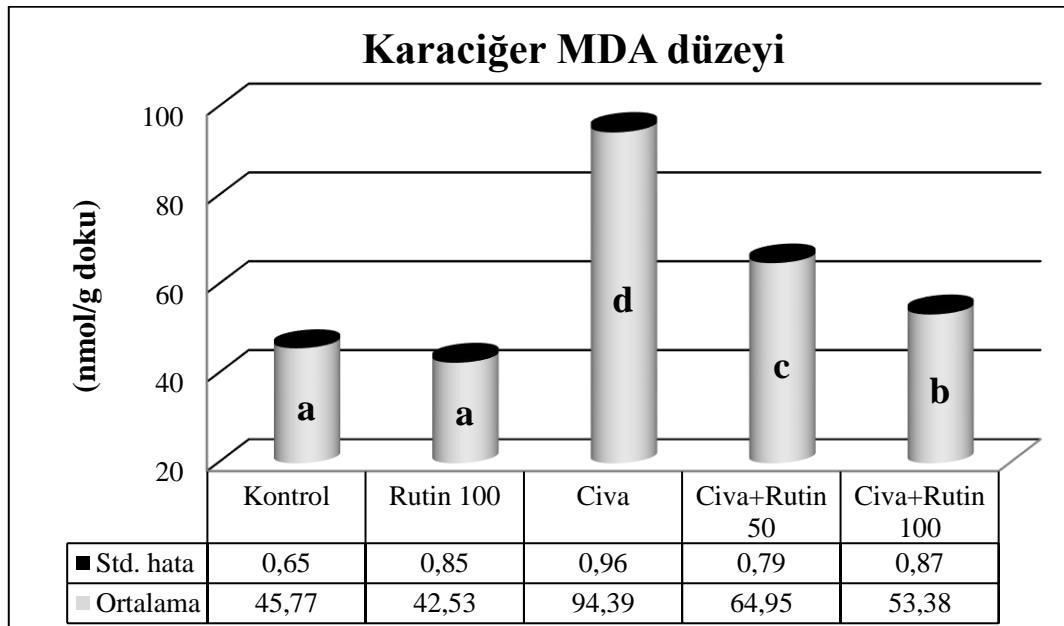
Serum ALT aktivitesi istatistiksel olarak karşılaştırıldığında (şekil 4.3) kontrol ve rutin-100 grupları arasında herhangi bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Civa grubu serum ALT aktivitesinin kontrol ve rutin-100 gruplarına göre arttığı ( $p<0.001$ ), civa ile birlikte rutin-50 ve rutin-100 uygulamalarının artan bu enzim aktivitesini azalttığı belirlendi ( $p<0.01$ ).



**Şekil 4.3.** Serum ALT aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p < 0.05$ ).

#### 4.1.4. Karaciğer MDA Düzeyi

Karaciğer MDA düzeyine bakıldığında (Şekil 4.4) civa uygulamasının MDA seviyelerini kontrol ve rutin-100 gruplarına göre artırdığı tespit edildi ( $p < 0.001$ ).

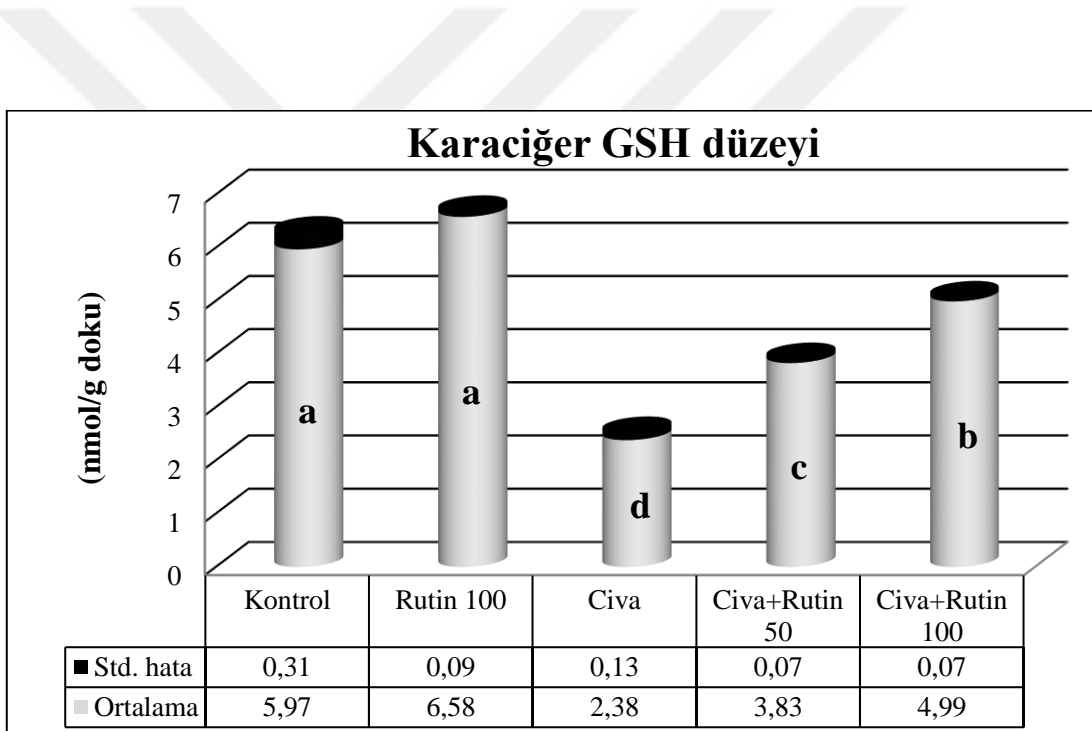


**Şekil 4.4.** Karaciğer MDA düzeyi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p < 0.05$ ).

Civa + rutin uygulamalarının her iki dozunun da artan bu düzeyi anlamlı oranda düşürdüğü ( $p<0.01$ ) belirlendi. Ayrıca kontrol ve yalnızca rutin-100 uygulanan gruplar arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.5. Karaciğer GSH Düzeyi

Karaciğer GSH düzeyi kontrol grubu ile rutin-100 grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. Civa uygulamasının karaciğer GSH düzeylerini kontrol grubuna göre düşürürken ( $p<0.001$ ), civa ile kombine kullanılan rutin-50 ve rutin-100 mg/kg dozlarının karaciğer GSH düzeyini yalnızca civa uygulanan gruba göre artırdığı ( $p<0.01$ ) tespit edildi.

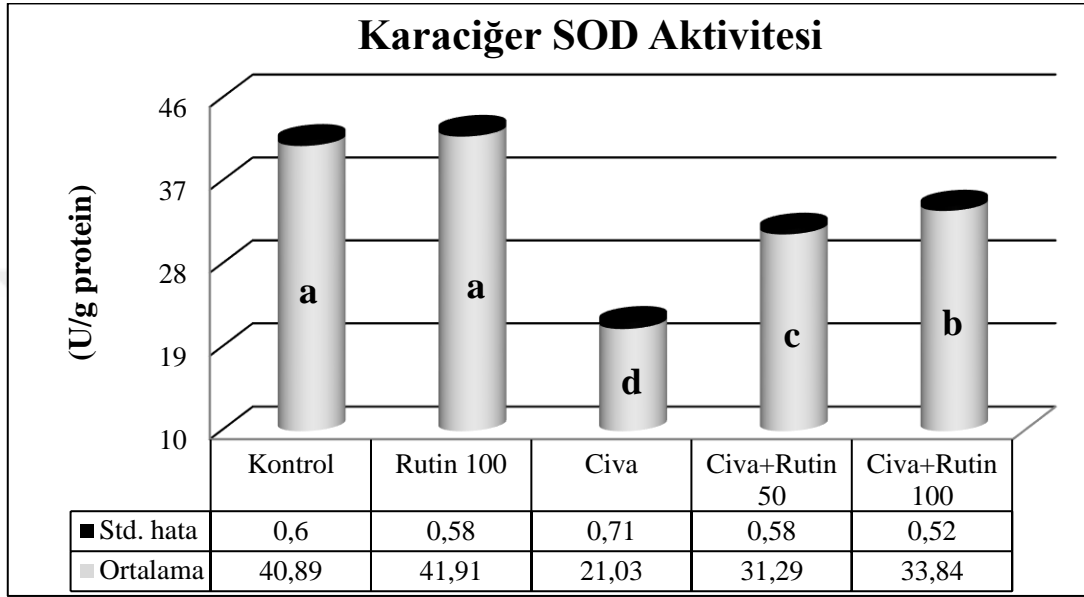


Şekil 4.5. Karaciğer GSH düzeyi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.6. Karaciğer SOD Aktivitesi

Süperoksit radikalının etkisini önleyerek hücreleri hasardan koruyan en önemli enzimatik antioksidanlardan biri olan SOD, aynı zamanda antioksidan savunma sisteminin gücü hakkında fikir vermesiyle de önemlidir. Karaciğer dokusu SOD aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.6) en yüksek aktiviteye rutin-100 grubunun sahip

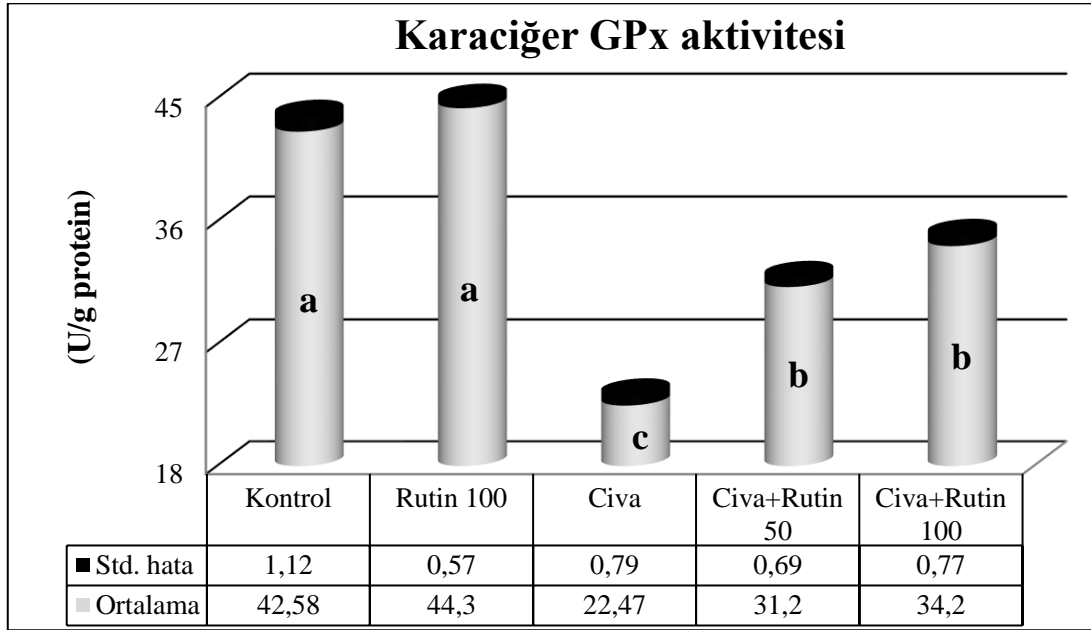
olduğu belirlenirken, civa uygulaması ile birlikte SOD aktivitesinde önemli bir düşüş olduğu ( $p<0.001$ ) tespit edildi. Civa + rutin kombinasyonlarında ise enzim aktivitesinin tekrar yükseldiği ( $p<0.01$ ) ve özellikle civa ile birlikte uygulanan rutin-100 dozunun SOD aktivitesini artırmada daha etkili olduğu saptandı.



**Şekil 4.6.** Karaciğer SOD aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.7. Karaciğer GPx Aktivitesi

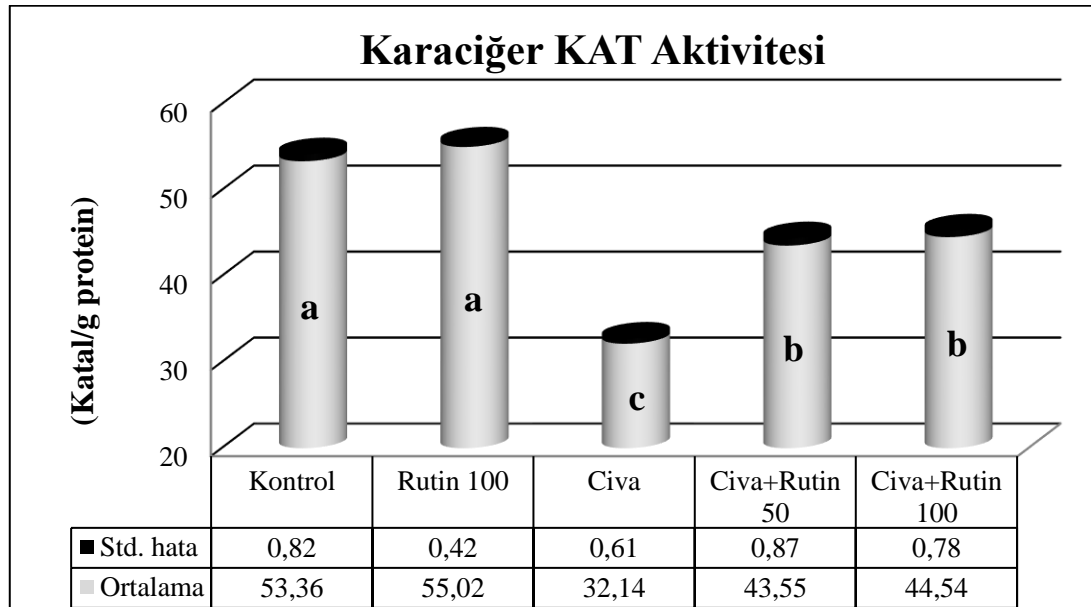
Hücre için önemli bir antioksidan enzim olan GPx, GSH varlığında hücrede bulunan  $H_2O_2$ 'in detoksifikasyonunu sağlamakla görevlidir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında civa grubu GPx aktivitesinde istatistiksel olarak azalmanın olduğu ( $p<0.001$ ), civa ile birlikte her iki rutin (50 ve 100 mg/kg) dozlarının uygulanması ile aktivitede artma saptandı ( $p<0.01$ ). Rutin-100 dozunun ise rutin-50 dozuna göre daha etkili olduğu ancak aralarında istatistiki fark olmadığı tespit edildi.



**Şekil 4.7.** Karaciğer GPx aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p < 0.05$ ).

#### 4.1.8. Karaciğer KAT Aktivitesi

Hidrojen peroksidin yıkılmasından sorumlu enzim olan ve peroksizomlarda bulunan KAT'ın karaciğer dokusundaki aktivitesi incelendi (Şekil 4.8)



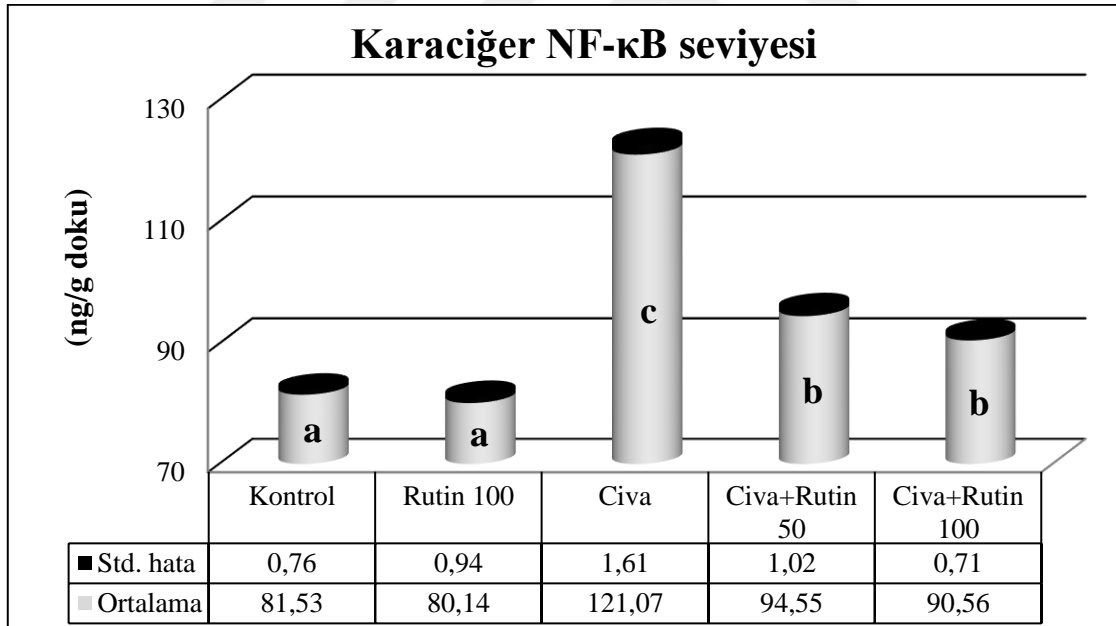
**Şekil 4.8.** Karaciğer KAT aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir ( $p < 0.05$ )).



Yapılan çalışmada kontrol ve rutin-100 gruplarında benzer aktivite gözlenirken ( $p>0.05$ ), civa uygulaması ile bu aktivitede azalma görüldü ( $p<0.001$ ). Antioksidan özelliği olduğu bilinen rutin'in 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarının civa ile kombine kullanılması ile enzim aktivitesinde, civa grubuna göre artış olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ).

#### 4.1.9. Karaciğer NF- $\kappa$ B Seviyesi

NF- $\kappa$ B pro-anjiyojenik, pro-inflamatuar ve immün-regülatör aktiviteleriyle çeşitli sitokinlerin ekspresyonunu kontrol eden birincil bir transkripsiyon faktörüdür.<sup>198</sup> Karaciğer NF- $\kappa$ B seviyesi incelendiğinde (Şekil 4.9), civa uygulamasının NF- $\kappa$ B seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına göre artırdığı ( $p<0.001$ ), civa ile birlikte her iki rutin (50 ve 100 mg/kg) doz uygulamalarının, artan NF- $\kappa$ B seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düşürdüğü ( $p<0.01$ ) tespit edildi.

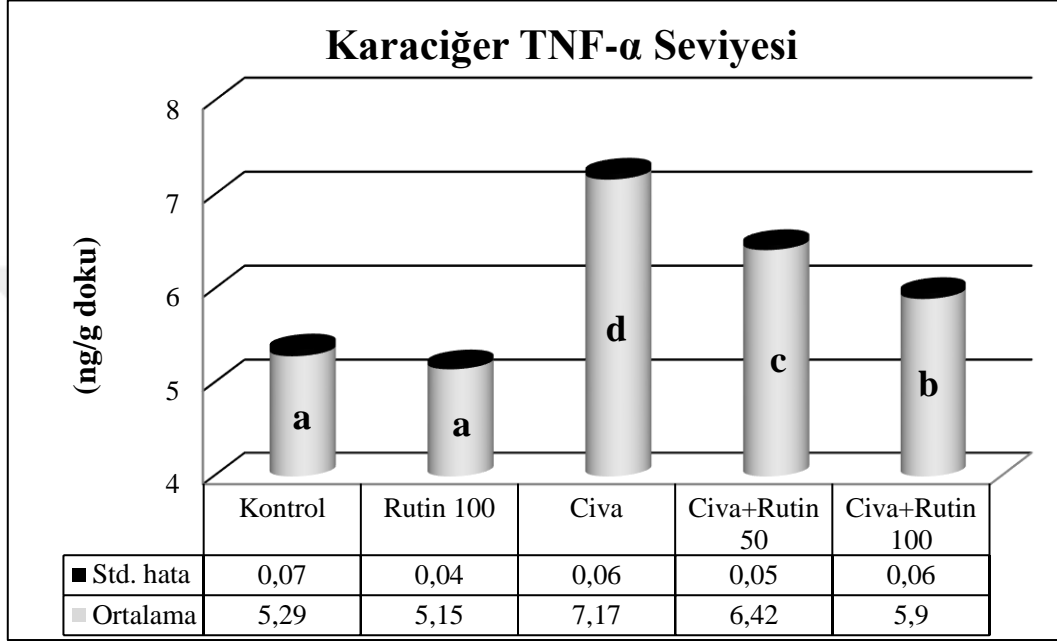


**Şekil 4.9.** Karaciğer NF- $\kappa$ B seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.10. Karaciğer TNF- $\alpha$ Seviyesi

Birçok pro-inflamatuar etkilere sahip bir sitokin olan TNF- $\alpha$  seviyesi incelendiğinde (şekil 4.10), kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark

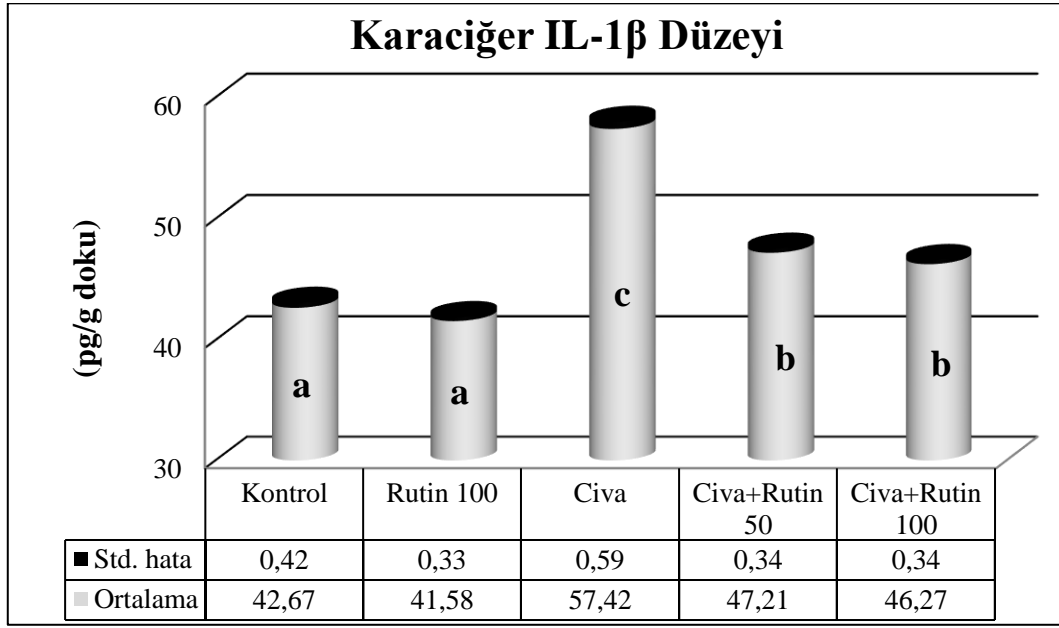
bulunamadı ( $p>0.05$ ). Civa uygulamasının karaciğer TNF- $\alpha$  seviyelerini kontrol ve rutin-100 gruplarına göre önemli ölçüde artırdı ( $p<0.001$ ). Civa + rutin-50 ve civa + rutin-100 gruplarının artan TNF- $\alpha$  düzeyini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü ( $p<0.05$ ) gözlemlendi.



**Şekil 4.10.** Karaciğer TNF- $\alpha$  seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.11. Karaciğer IL-1 $\beta$ Seviyesi

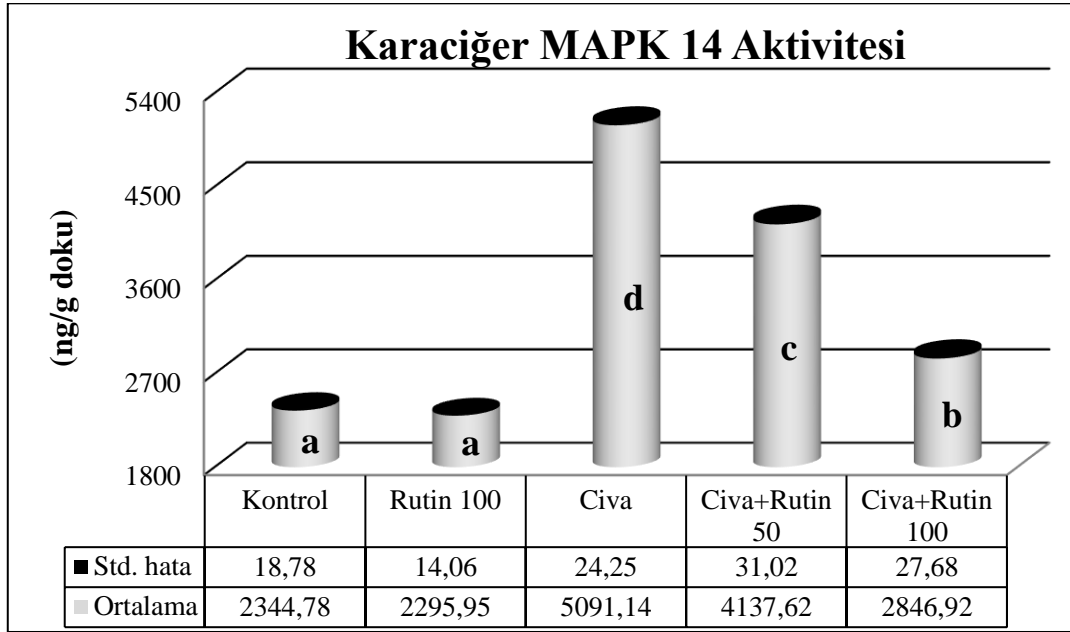
IL-1 $\beta$  bağışıklık ve inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde önemli bir rolü olan bir sitokindir. Karaciğer dokusu IL-1 $\beta$  seviyeleri incelendiğinde, kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Civa uygulamasının karaciğer IL-1 $\beta$  seviyelerini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla önemli ölçüde artırdı ( $p<0.001$ ). Civa + rutin-50 ve Civa + rutin-100 gruplarının artan IL-1 $\beta$  düzeyini civa grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü saptandı ( $p<0.01$ ).



**Şekil 4.11.** Karaciğer IL-1 $\beta$  seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.12. Karaciğer MAPK 14 Aktivitesi

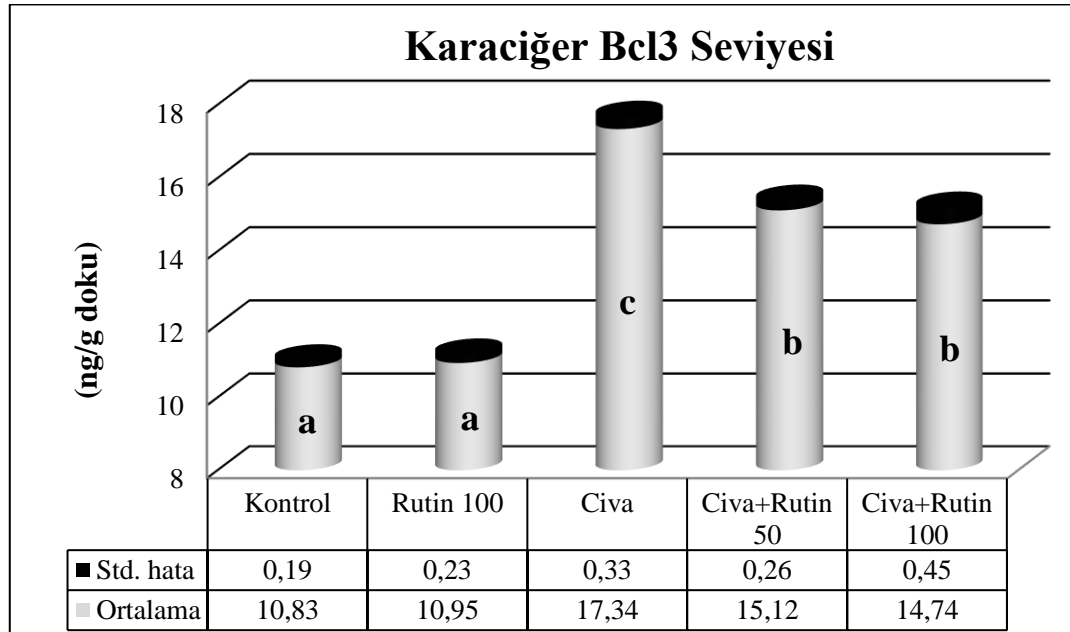
Mitojen ile aktifleşen protein kinazlar (MAPK), hücre zarından çekirdeğe sinyalleri ileten merkezi sinyal molekülleridir.<sup>199</sup> MAPK 14, hücrede ROS birikimine neden olan oksidatif stres tarafından aktive edilen MAPK ailesinin bir üyesidir.<sup>181</sup> Karaciğer dokusu MAPK 14 aktiviteleri incelendiğinde, kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmazken ( $p>0.05$ ), civa uygulamasının karaciğer MAPK 14 aktivitelerini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdığı ( $p<0.001$ ) tespit edildi. Civa ile kombine kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının artmış olan MAPK 14 aktivitesini civa grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşürdüğü ( $p<0.01$ ) belirlendi. Civa ile birlikte uygulanan rutin-100 dozunun rutin-50 dozuna göre daha etkili olduğu saptandı.



**Şekil 4.12.** Karaciğer MAPK 14 aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.13. Karaciğer Bcl3 Seviyesi

Karaciğer dokusu Bcl3 seviyeleri incelendiğinde (şekil 4.13), kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

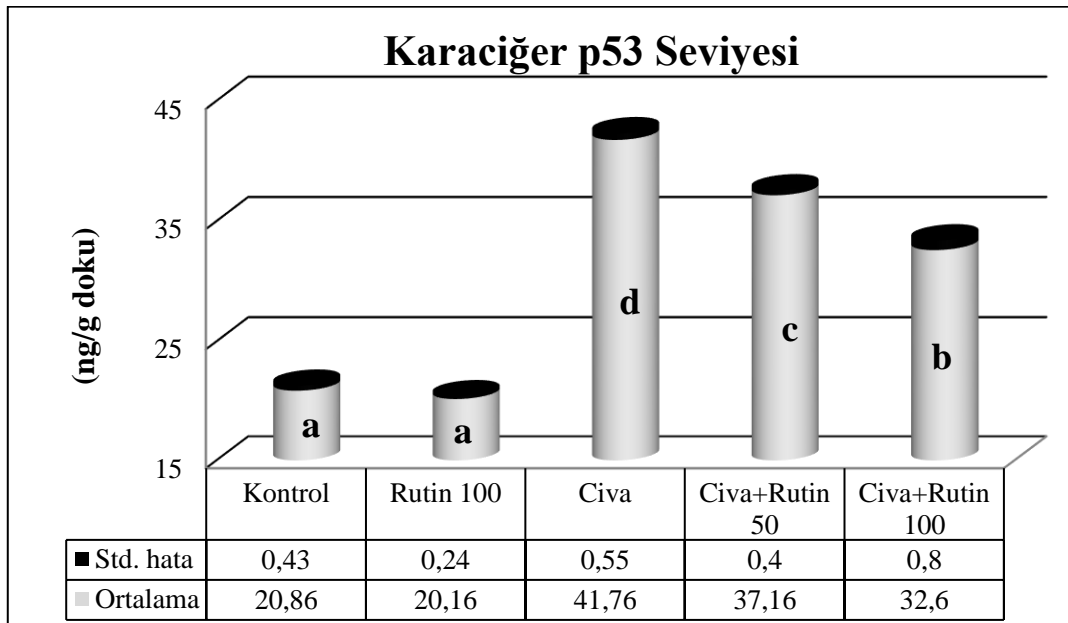


**Şekil 4.13.** Karaciğer Bcl3 seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

Civa uygulamasının karaciğer Bcl3 seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla önemli ölçüde artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının benzer şekilde artan Bcl3 seviyelerini civa grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü ( $p<0.05$ ) belirlendi. Diğer taraftan civa + rutin-50 ve civa + rutin-100 grupları arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

#### 4.1.14. Karaciğer p53 Seviyesi

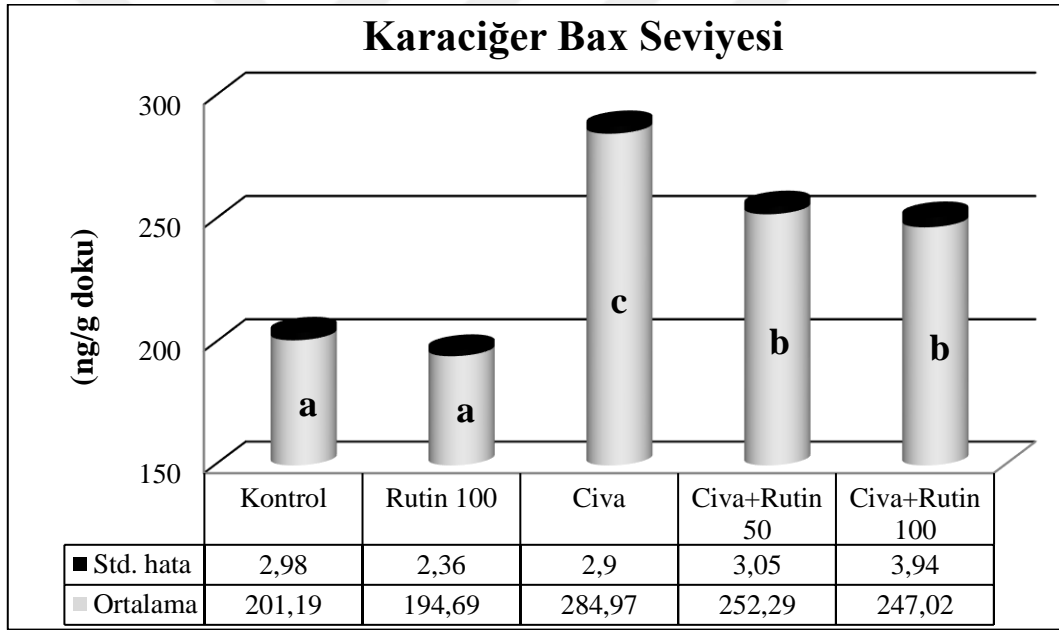
p53 DNA hasarının şiddetine bağlı olarak hücre döngüsü, apoptoz veya hücre ölümünü tetikleyebilen bir tümör süpresör proteindir.<sup>200</sup> Buna göre, civa uygulamasının karaciğer p53 seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının benzer şekilde artan p53 düzeyini civa grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü ( $p<0.05$ ) gözlemlendi. Elde edilen bulgular ışığında rutin maddesinin doz bağımlı olarak p53 seviyelerini azalttığı belirlendi.



**Şekil 4.14.** Karaciğer p53 seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.1.15. Karaciğer Bax Seviyesi

Bax proteini apoptotik işlemi kontrol eden ve p53 tümör süpresörünün birincil hedeflerinden biri olarak kabul edilen Bcl-2 ailesinin bir üyesidir.<sup>201</sup> Karaciğer Bax seviyesi incelendiğinde (4.15), civa uygulamasının karaciğer Bax seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının benzer şekilde artmış olan Bax düzeyini civa grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdü ( $p<0.05$ ) . Civa + rutin-50 ve civa + rutin-100 grupları arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunmazken ( $p>0.05$ ), rutin maddesinin Bax seviyesini azaltmada doza bağımlı olmadığı belirlendi.



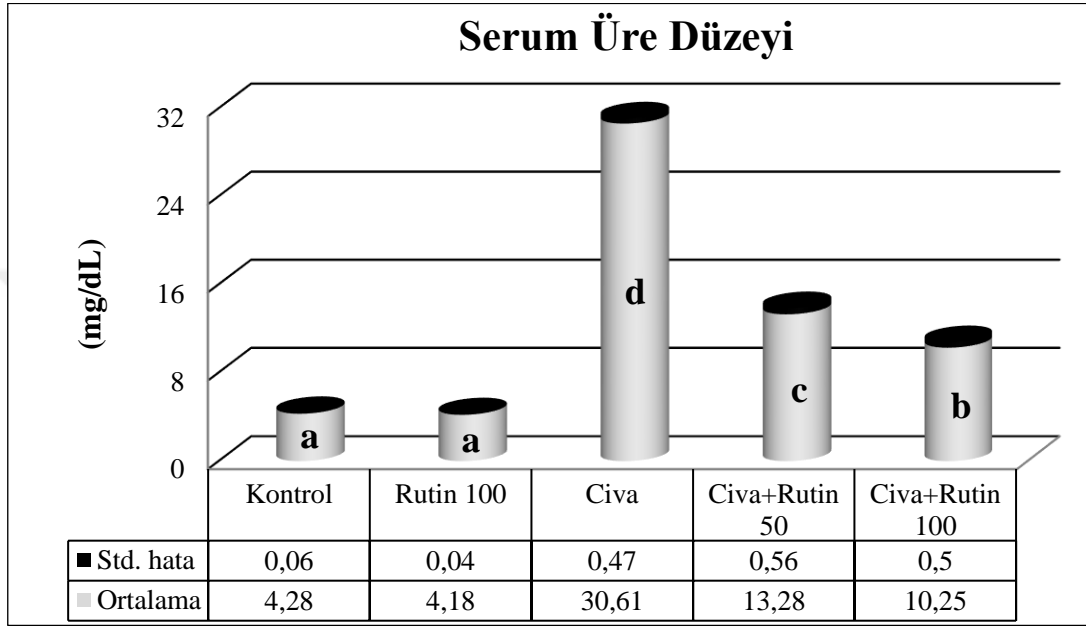
**Şekil 4.15.** Karaciğer Bax seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

## 4.2. Böbrek Dokusu için Biyokimyasal Bulgular

### 4.2.1. Serum Üre Düzeyi

Serum üre ve kreatinin genelde böbrek fonksiyon testleri olarak bilinir ve böbrek hasarını belirlemek amacıyla sıklıkla kullanılırlar. Buna göre, serum üre düzeyi incelendiğinde (şekil 4.16) kontrol ve rutin-100 grubunda serum üre düzeyinin

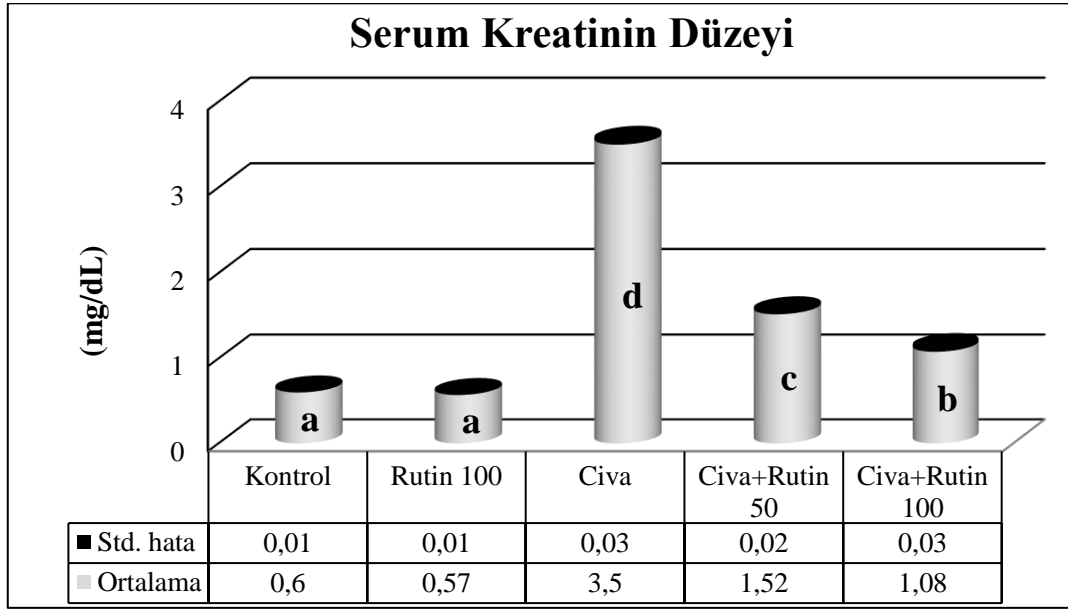
istatistiksel olarak aynı olduğu ( $p>0.05$ ) tespit edildi. Civa uygulamasının serum üre düzeyini anlamlı olarak artırdığı ( $p<0.001$ ), civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının ise artan üre düzeyini anlamlı bir şekilde doz bağımlı olarak azalttığı saptandı ( $p<0.01$ ).



**Şekil 4.16.** Serum üre düzeyi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.2. Serum Kreatinin Düzeyi

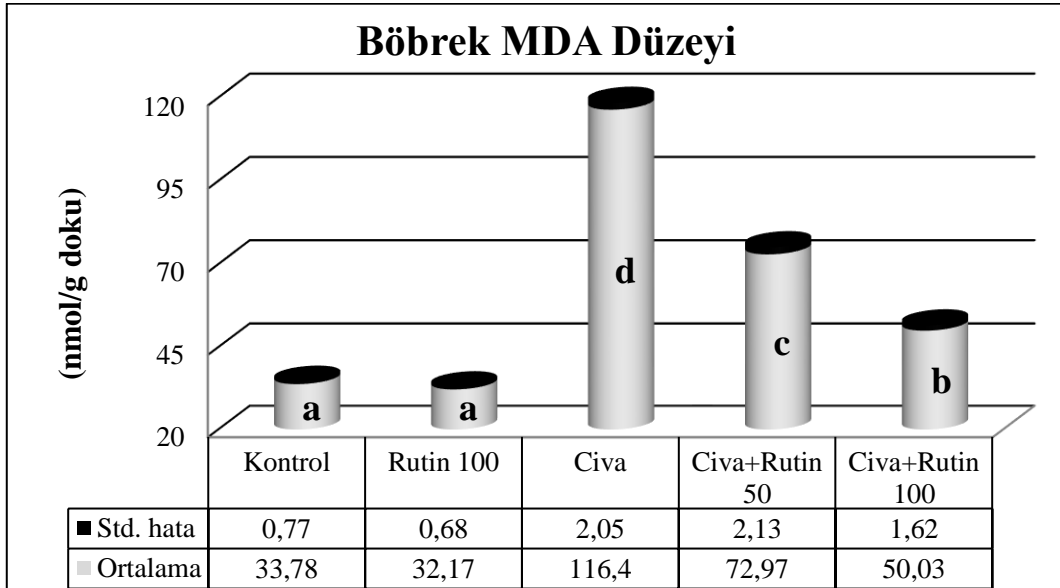
Serum kreatinin düzeyi incelendiğinde (şekil 4.17) kontrol ve rutin-100 grubunda serum kreatinin düzeylerinin istatistiksel olarak aynı olduğu ( $p>0.05$ ) belirlendi. Civa uygulamasının serum kreatinin düzeyini anlamlı olarak artırdığı ( $p<0.001$ ), civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının ise artan serum kreatinin düzeylerini azalttığı tespit edildi. ( $p<0.01$ ). Serum kreatinin düzeylerini azaltmada rutin-100 dozunun rutin-50 dozuna göre daha etkili olduğu saptandı.



**Şekil 4.17.** Serum kreatinin düzeyi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.3. Böbrek MDA Düzeyi

Böbrek MDA düzeyleri incelendiğinde (Şekil 4.18) civa uygulamasının böbrek MDA düzeylerini kontrol ve rutin-100 gruplarına göre artırdı ( $p<0.001$ ).



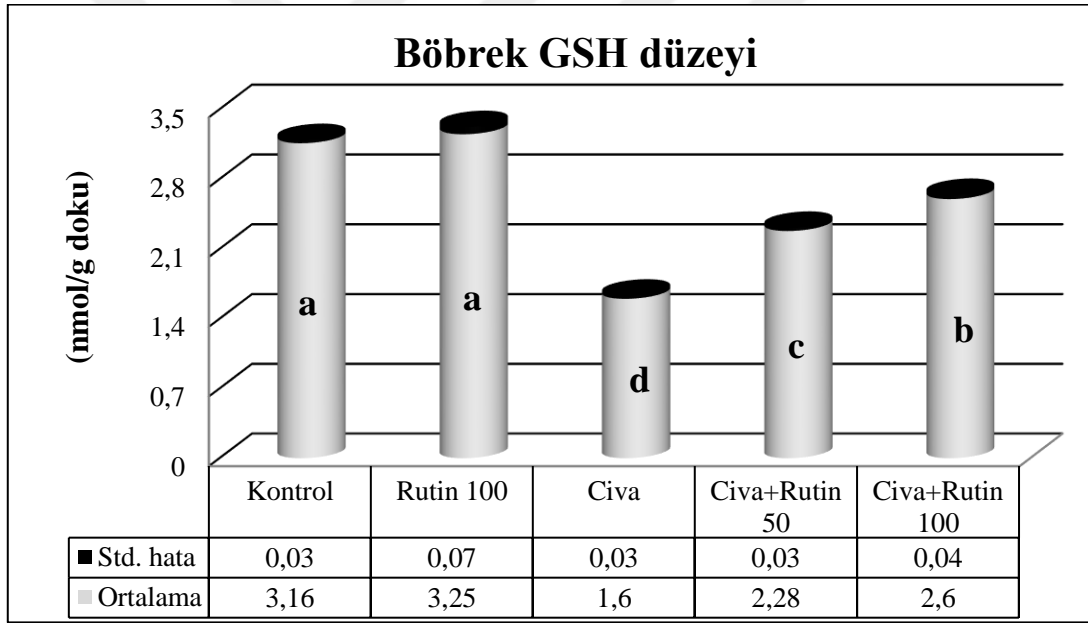
**Şekil 4.18.** Böbrek MDA düzeyi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).



Civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının ise artan bu düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü ( $p<0.01$ ) belirlendi. Böbrek MDA düzeylerini azaltmada rutin-100 dozunun rutin-50 dozuna göre daha etkili olduğu gözlemlendi.

#### 4.2.4. Böbrek GSH Düzeyi

Böbrek dokusu GSH seviyesi için (şekil 4.19) kontrol grubu ile rutin-100 grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Civa uygulamasının böbrek GSH düzeylerini kontrol grubuna göre azaltırken ( $p<0.001$ ), civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının böbrek GSH düzeyini doz bağımlı olarak artırdığı ( $p<0.05$ ) saptandı.

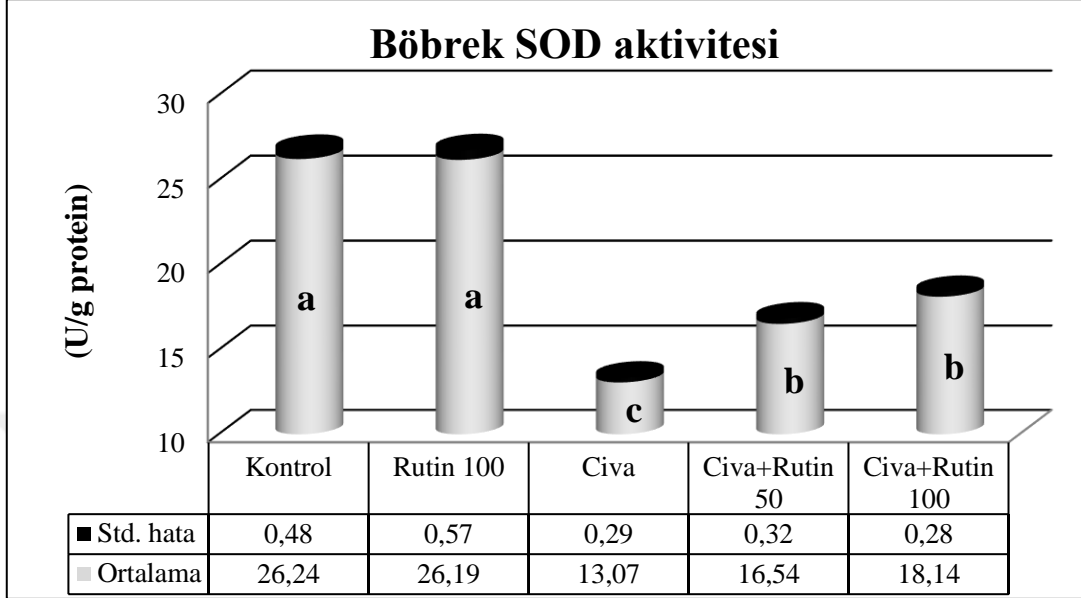


**Şekil 4.19.** Böbrek GSH düzeyi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir,  $p<0.05$ ).

#### 4.2.5. Böbrek SOD Aktivitesi

Böbrek dokusu SOD aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.20) kontrol grubu ile rutin-100 grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ( $p>0.05$ ), civa uygulaması ile birlikte SOD aktivitesinde önemli bir azalmanın olduğu ( $p<0.001$ ), civa + rutin-50 ve

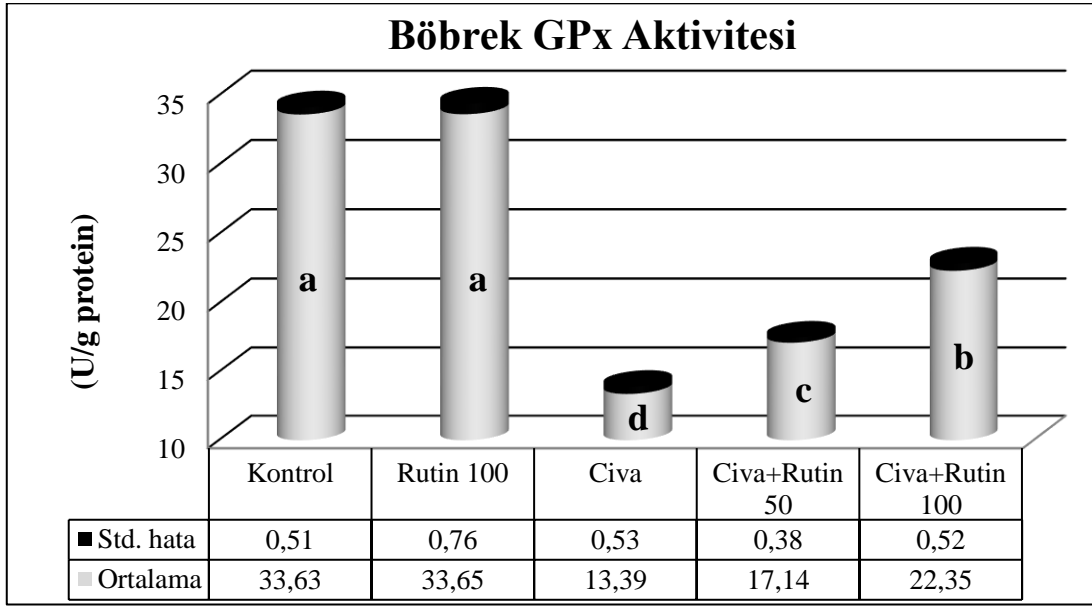
civa + rutin-100 gruplarında ise enzim aktivitesinin tekrar yükseldiği tespit edildi ( $p<0.01$ ).



**Şekil 4.20.** Böbrek SOD aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.6. Böbrek GPx Aktivitesi

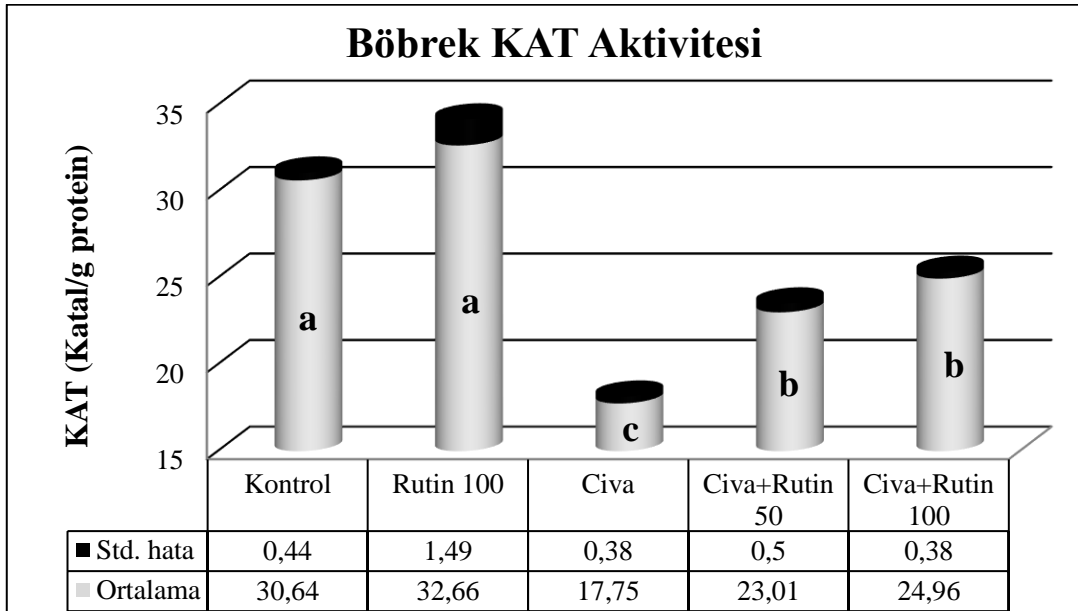
Kontrol grubu ile kıyaslandığında civa grubu GPx aktivitesinde istatistiksel olarak azalma gözlemlendi ( $p<0.001$ ). Civa ile birlikte her iki rutin (50 ve 100 mg/kg) doz uygulamalarının aktivitede artış gösterdiği tespit edildi ( $p<0.05$ ). Böbrek GPx aktivitesi artırmada rutin-100 dozunun rutin-50 dozuna göre daha etkili olduğu belirlendi.



**Şekil 4.21.** Böbrek GPx aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.7. Böbrek KAT Aktivitesi

Yapılan çalışmada kontrol ve rutin-100 gruplarında (şekil 4.22) benzer aktivite gözlenirken ( $p>0.05$ ), civa uygulaması ile bu aktivitede azalma görüldü ( $p<0.001$ ).

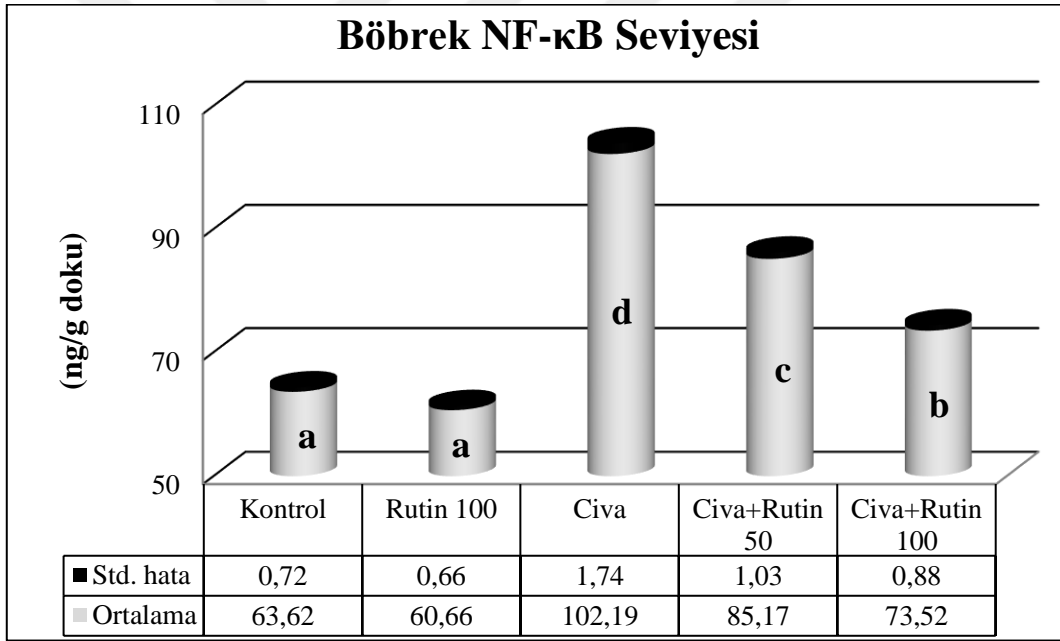


**Şekil 4.22.** Böbrek KAT aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

Antioksidan özelliği olduğu bilinen rutin'in 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarının civa ile kombine kullanılması ile enzim aktivitesinde civa grubuna göre artış sağlarken ( $p<0.05$ ), civa + rutin-50 ve civa + rutin-100 grupları arasında ise istatistiksel bir fark bulunamadı.

#### 4.2.8. Böbrek NF- $\kappa$ B Seviyesi

Kontrol ve rutin-100 grupları NF- $\kappa$ B seviyeleri arasında (şekil 4.23) istatistiksel bir fark bulunamazken ( $p>0.05$ ), civa uygulaması böbrek NF- $\kappa$ B seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına göre artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile birlikte kullanılan her iki rutin dozlarının da artan NF- $\kappa$ B seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düşürdü ( $p<0.01$ ).

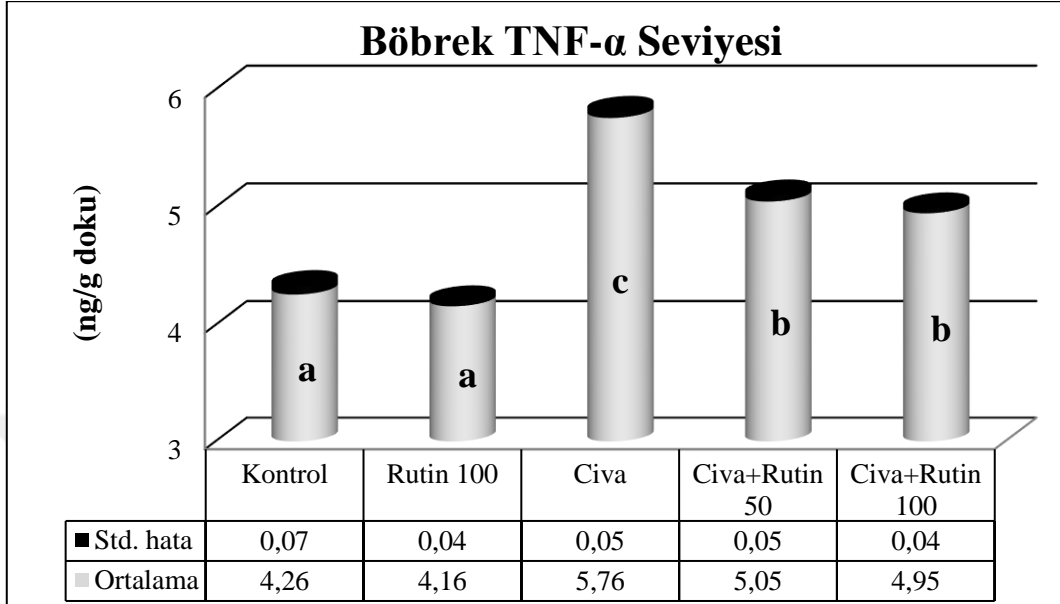


**Şekil 4.23.** Böbrek NF- $\kappa$ B seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.9. Böbrek TNF- $\alpha$ Seviyesi

Yapılan çalışmada kontrol ve rutin-100 grupları TNF- $\alpha$  seviyeleri arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Civa uygulamasının böbrek TNF- $\alpha$  seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına göre önemli ölçüde artırdı ( $p<0.001$ ). Bununla birlikte

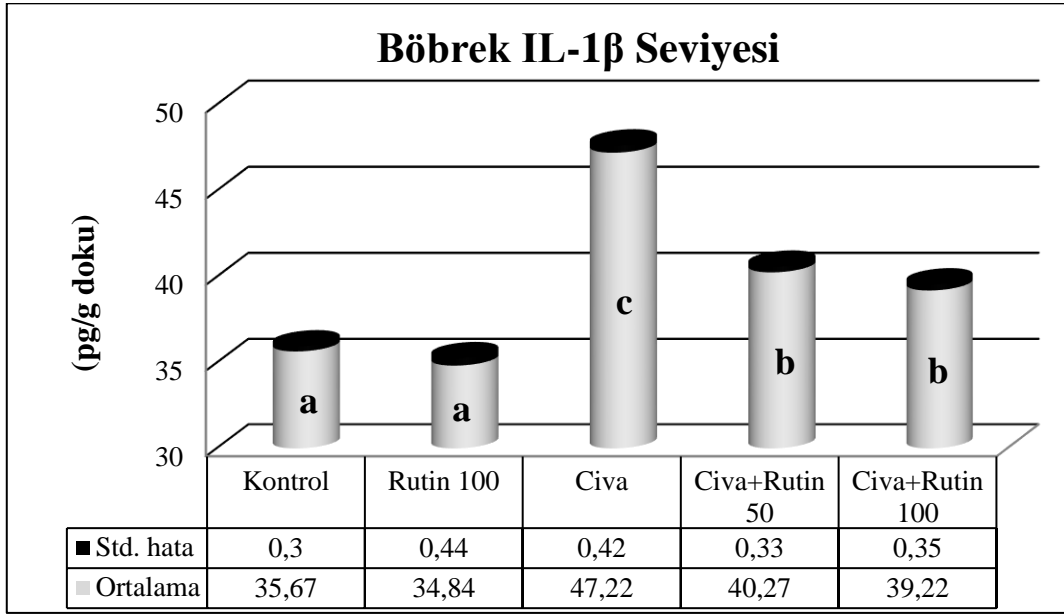
civa + rutin-50 ve civa + rutin-100 gruplarının artan TNF- $\alpha$  düzeyini anlamlı bir şekilde düşürdü ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4.24.** Böbrek TNF- $\alpha$  seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir,  $p < 0.05$ ).

#### 4.2.10. Böbrek IL-1 $\beta$ Seviyesi

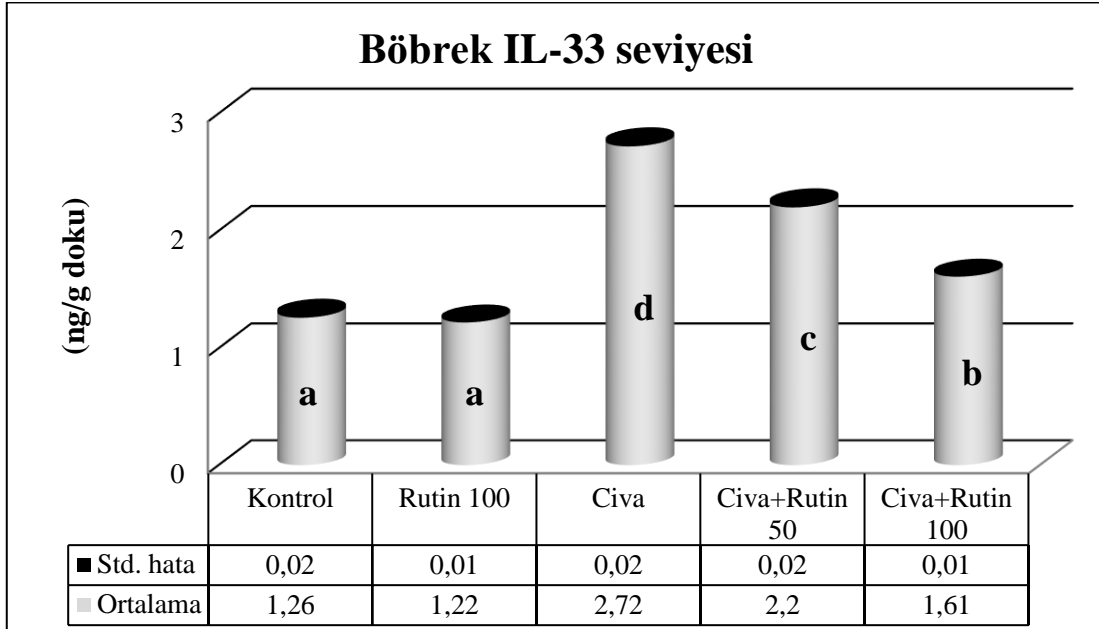
Böbrek IL-1 $\beta$  seviyesi incelendiğinde (şekil 4.25), kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Civa uygulamasının böbrek IL-1 $\beta$  seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdığı ( $p < 0.001$ ) tespit edildi. Civa + rutin-50 ve civa + rutin-100 gruplarının artan IL-1 $\beta$  seviyesini civa grubuna göre istatistiksel olarak düşürdüğü ( $p < 0.01$ ) gözlemlendi.



**Şekil 4.25.** Böbrek IL-1 $\beta$  seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p < 0.05$ ).

#### 4.2.11. Böbrek IL-33 Düzeyleri

Böbrek IL-33 düzeyleri incelendiğinde, kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

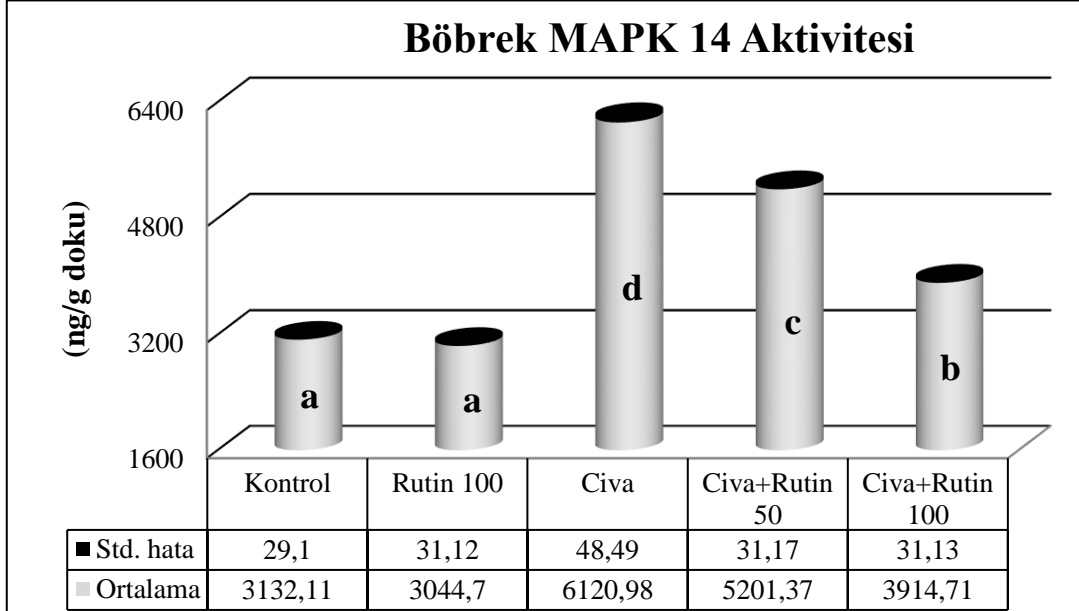


**Şekil 4.26.** Böbrek IL-33 seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p < 0.05$ ).

Civa uygulamasının böbrek IL-33 seviyesini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdığı ( $p<0.001$ ) tespit edildi. Civa + rutin-50 ve civa + rutin-100 gruplarının artan IL-33 seviyesini civa grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü ( $p<0.05$ ) belirlendi. Rutin-100 dozunun rutin-50 dozuna göre IL-33 seviyesini azaltmada daha etkili olduğu saptandı.

#### 4.2.12. Böbrek MAPK 14 Aktivitesi

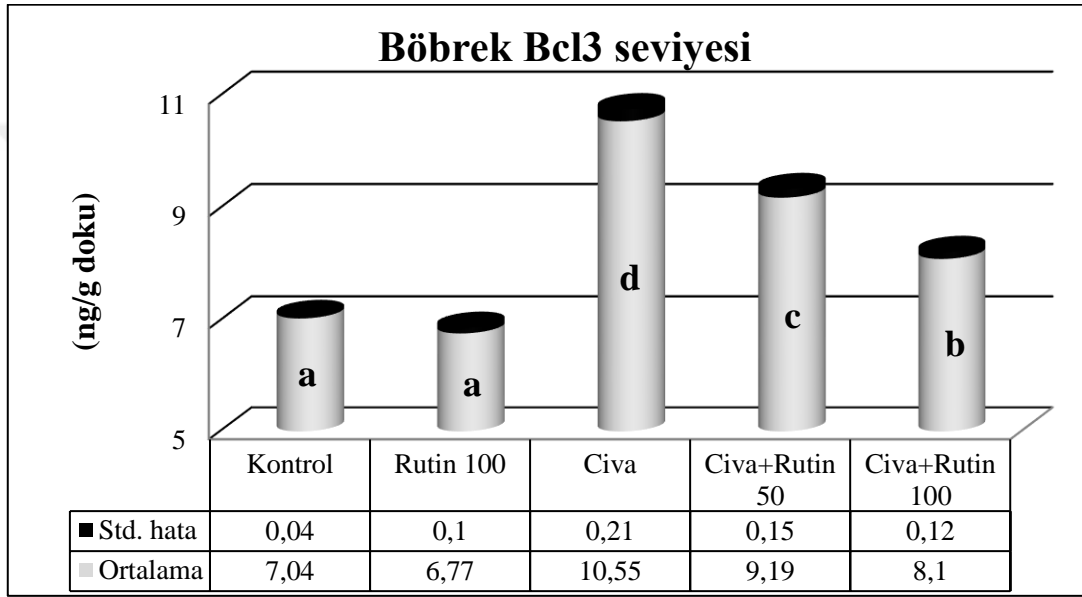
Böbrek MAPK 14 aktivitesi şekil 4.27' de gösterilmiştir. Buna göre kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmazken ( $p>0.05$ ), civa uygulamasının böbrek MAPK 14 aktivitesini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının artan MAPK 14 aktivitesini civa grubuna göre anlamlı olarak düşürdüğü ( $p<0.05$ ) saptandı. Ayrıca rutin-100 dozunun rutin-50 dozuna göre daha etkili olduğu tespit edildi.



**Şekil 4.27.** Böbrek MAPK 14 Aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.13. Böbrek Bcl3 Seviyesi

Bcl3 düzeyleri incelendiğinde, kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmazken ( $p>0.05$ ), civa uygulamasının böbrek Bcl3 düzeylerini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla önemli ölçüde artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının benzer şekilde artan Bcl3 düzeylerini civa grubuna göre anlamlı bir şekilde düşürdüğü ( $p<0.05$ ) belirlendi.



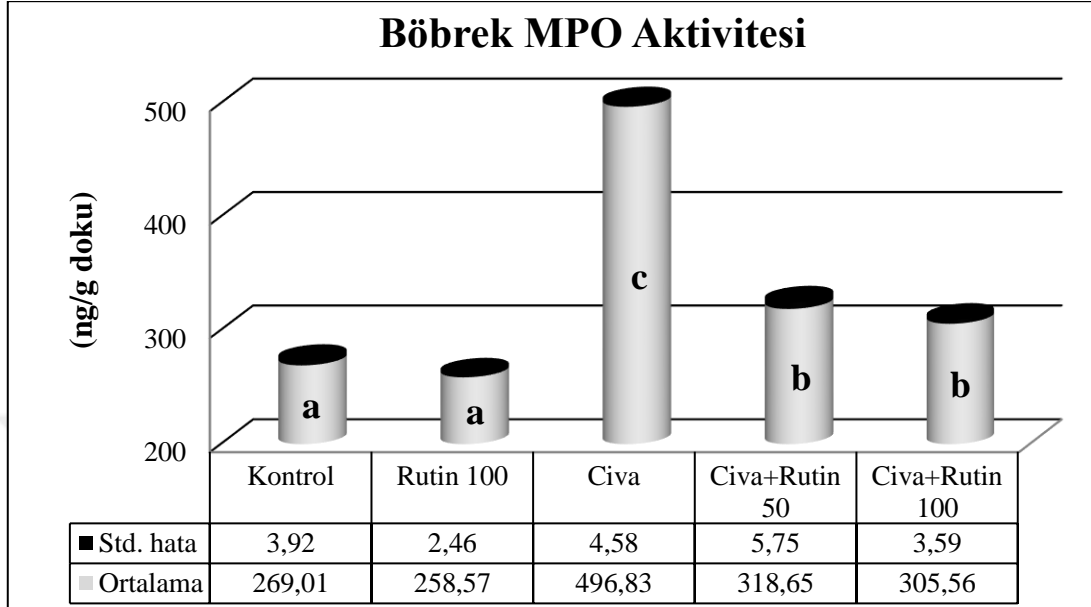
**Şekil 4.28.** Böbrek Bcl3 seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.14. Böbrek MPO Aktivitesi

MPO pro-inflamatuar ve pro-oksidatif özelliklere sahip aktif makrofajlar ve nötrofiller tarafından salınan bir kemokindir.<sup>202</sup> Böbrek korteksindeki MPO aktivitesi nötrofil birikiminin bir indeksidir. Bu nedenle, MPO aktivitesindeki bir artış, doku hasar bölgesine inflammatuar infiltrasyonunu yansıtır.<sup>203</sup> Yapılan çalışmada kontrol ve rutin-100 gruplarında benzer aktivite gözlenirken ( $p>0.05$ ), civa uygulaması ile bu aktivitede artma görüldü ( $p<0.001$ ). Antioksidan özelliği olduğu bilinen rutin'in 50 ve 100



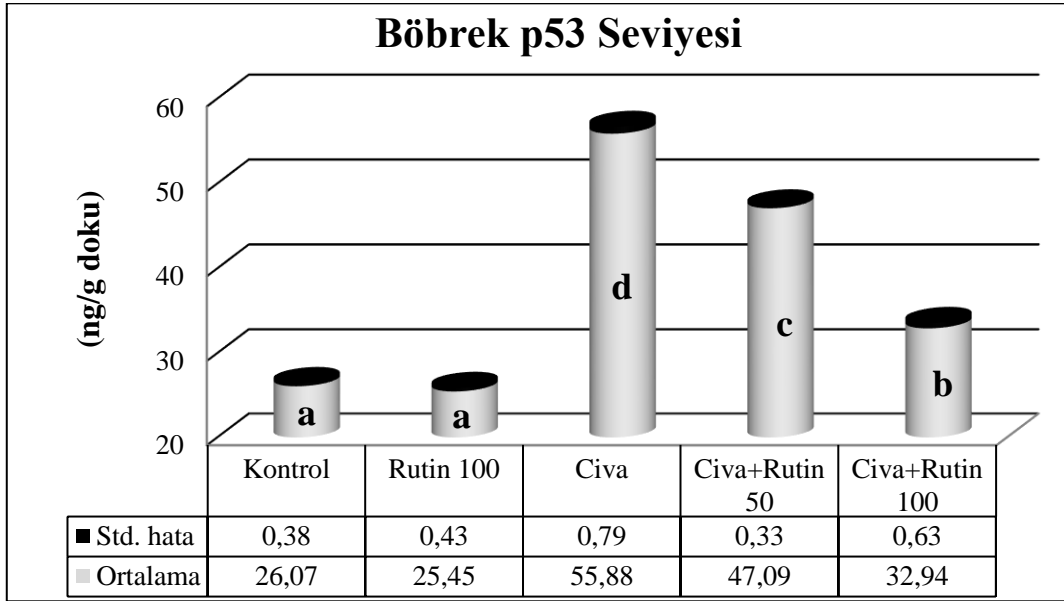
mg/kg'lık dozlarının civa ile kombine kullanılması MPO aktivitesinde azalışa neden oldu ( $p<0.01$ ).



**Şekil 4.29.** Böbrek MPO aktivitesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

#### 4.2.15. Böbrek p53 Seviyesi

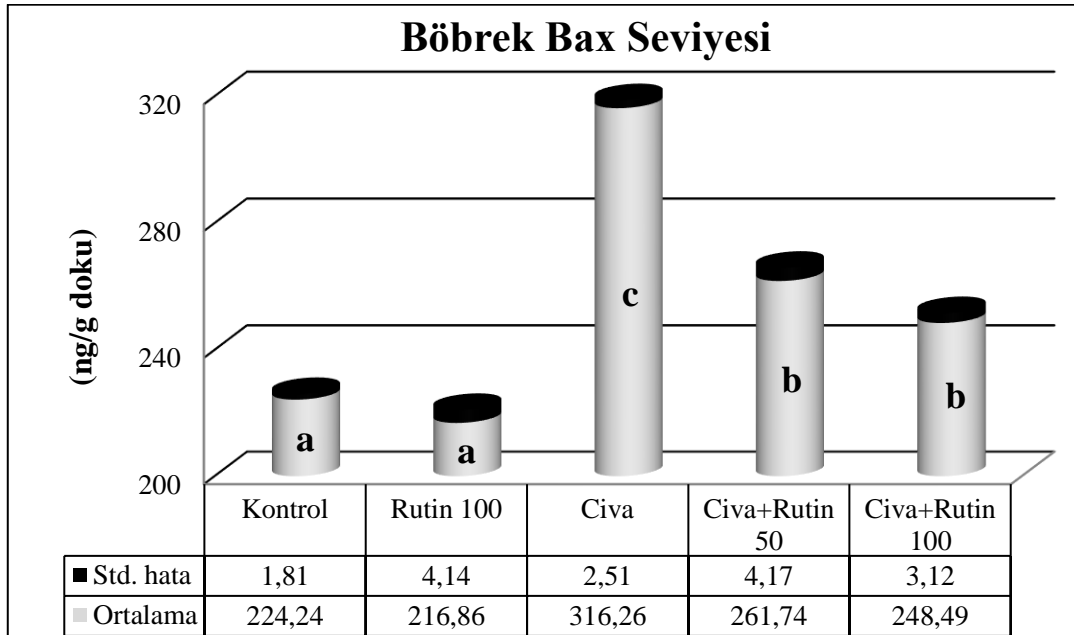
Kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmazken ( $p>0.05$ ), civa uygulamasının böbrek p53 seviyelerini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile kombine kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının benzer şekilde artan p53 seviyelerini civa grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdü ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.30.** Böbrek p53 seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p < 0.05$ ).

#### 4.2.16. Böbrek Bax Seviyesi

Böbrek Bax seviyeleri incelendiğinde (şekil 4.31), kontrol ve rutin-100 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

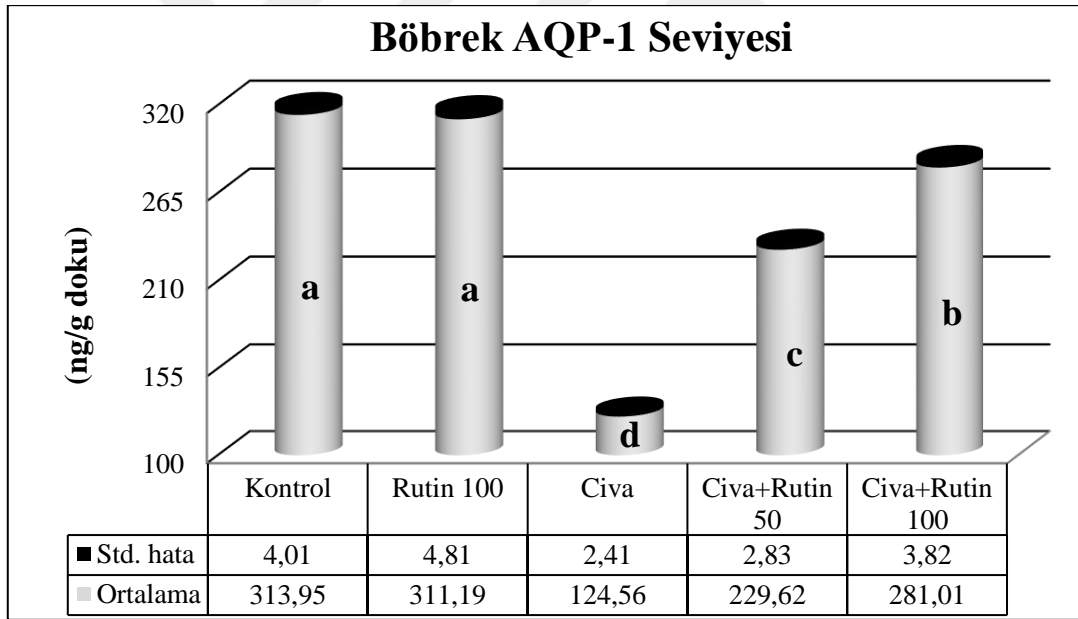


**Şekil 4.31.** Böbrek Bax seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p < 0.05$ ).

Civa uygulaması böbrek Bax seviyelerini kontrol ve rutin-100 gruplarına kıyasla artırdı ( $p<0.001$ ). Civa ile kombine kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının artan Bax seviyelerini civa grubuna göre anlamlı bir şekilde düşürdü ( $p<0.01$ ).

#### 4.2.17. Böbrek AQP-1 Seviyesi

AQP-1 renal proksimal tubüllerin bazolateral ve apikal membranlarında bol miktarda bulunan su kanal membran proteinleridir.<sup>204</sup> Böbrek AQP-1 seviyeleri için kontrol grubu ile rutin-100 grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Civa uygulaması böbrek AQP-1 seviyesini kontrol grubuna göre düşürdü ( $p<0.001$ ). Civa ile beraber kullanılan rutin-50 ve rutin-100 dozlarının böbrek AQP-1 düzeylerini doz bağımlı olarak artırdığı ( $p<0.01$ ) belirlendi.



**Şekil 4.32.** Böbrek AQP-1 seviyesi (Farklı harfle gösterilen sütunlar, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel bir farklılık göstermektedir.  $p<0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, civa (II) klorür tarafından indüklenen toksisitenin ratlarda karaciğer ve böbrek hasarına neden olduğu bulundu. Deneysel sonuçlar, rutin ile yapılan tedavinin ratlarda oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozu azaltarak civa (II) klorür ile indüklenen karaciğer ve böbrek hasarını azalttığını gösterdi.

Karaciğer birçok önemli metabolik fonksiyonların düzenlenmesinden sorumlu olan ve vücut homeostazını düzenleyen bir organdır.<sup>205</sup> Karaciğer hastalıklarının teşhisinde en önemli biyomarkırlar olan serum AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri incelenmektedir. Hücrede bulunan bu enzimlerin plazma ya da seruma geçişi karaciğer hasarının en önemli belirtisidir.<sup>206</sup>

Serum ALT aktivitesinin düzeyi hepatositlere verilen zararı yansıtır ve hepatotoksitenin oldukça hassas ve spesifik, klinik öncesi ve klinik biyo-belirteci olarak kabul edilir. ALT karaciğer hasarının altın standart klinik kimyası olarak da kabul görmektedir.<sup>207</sup> Serum AST aktivitesi, ALT aktivitesi ile karşılaştırıldığında, karaciğer fonksiyonunun daha az spesifik bir biyolojik belirleyicisi olarak kabul edilir. AST, hepatositlerin yanı sıra hasarlı miyositlerden de salınmaktadır. Serum AST'nin ALT'a oranı, karaciğer hasarını diğer organ hasarlarından ayırt etmek için kullanılabilir. AST kalp, beyin, iskelet kası ve karaciğer dokusunda lokalizedir. ALT ise esas olarak karaciğere lokalize olup, iskelet kası ve kalp dokusunda düşük enzimatik aktivitelerde bulunur.<sup>207-209</sup> Bir diğer enzim olan ALP, çoklu dokularda özellikle hepatositlerde hücre zarlarıyla ilişkilidir. Monofosfatazları alkali pH'ta hidrolize eder. Birkaç alkali fosfataz izoenzimi karaciğer, kemik, barsak, böbrek ve plasentada tanımlanmıştır. ALP öncelikle hepatobiliyer etkilerin ve kolestazın bir göstergesidir.<sup>210</sup>

Karaciğer hastalıklarının teşhisinde en önemli biyomarkırlar olan AST, ALT ve ALP enzimlerin serum düzeyleri, civa (II) klorür uygulaması sonucu arttığını gösteren

birçok çalışma mevcuttur.<sup>211-216</sup> Oda ve El-Ashmawy<sup>217</sup> yaptıkları deneysel çalışmada civa (II) klorür ile karaciğer toksisitesi oluşturdukları ratlarda serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar sonucunda, civa (II) klorür'ün hepatoselüler nekroza veya membran hasarına yol açması sonucu, bu enzimlerin kan dolaşımına salınmasına neden olduğu bildirilmiştir.<sup>211, 217, 218</sup> Belirtilen literatürlerle uyumlu olarak yapılan deneysel çalışmamızda da civa (II) klorür grubu serum ALT, AST ve ALP aktivitelerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmış ve bu nedenle civa (II) klorür'ün karaciğer hücre membranlarında hasara yol açtığı kanısına varılmıştır. Tedavi amacıyla verilen rutin (50 ve 100 mg/kg) uygulaması ile artan enzim aktivitelerinin HgCl<sub>2</sub> grubuna kıyasla azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda metotreksat, siklofosamid ve 5-fluorourasil gibi kemoterapötik ilaçların karaciğere hasar vererek, serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerini artırdığı ve tedavi amacıyla verilen rutin maddesinin bu enzim aktivitelerini azalttığı bildirilmiştir.<sup>181, 219, 220</sup> Benzer şekilde yapılan birkaç çalışmada ise ratlarda kadmiyum ve kurşun gibi ağır metallerle deneysel karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin arttığı belirlenmiştir. Antioksidan özelliği olduğu bilinen rutin'in bu enzim aktivitelerini düşürdüğü saptanmıştır.<sup>221, 222</sup>

Tüm insan ve hayvanlarda önemli rol oynayan böbrekler; genel olarak kan basıncını, asit-baz dengesini, elektrolit dengesini ve hücre dışı sıvı hacmini düzenleme gibi birtakım fonksiyonlara sahiptir. Metabolik ürünler, çeşitli toksin maddeler, ilaçlar ve gıda katkı maddelerini idrar yoluyla vücuttan uzaklaştırırlar.<sup>163, 223</sup> Ayrıca düşük dozlarda; ağır metaller<sup>1, 224</sup> ve pestisitler<sup>225</sup> gibi çevresel toksik ajanların ve yüksek dozlarda ise antibiyotikler, kemoterapötik ajanlar ve steroid olmayan analjezik ilaçların çeşitli yollarla vücuda alınmalarının böbrek toksisitesine neden olduğu bildirilmiştir.<sup>226</sup>

Serum üre ve kreatinin düzeylerindeki artışlar böbrek toksisitesinin önemli göstergeleri olarak kabul edilirler ve böbrek fonksiyon testlerinde sıklıkla

kullanılırlar.<sup>227</sup> Memelilerin vücudunda proteinlerin yıkılması sonucu meydana gelen amonyak, karaciğerde üreye dönüştürülür. Kana geçen üre, idrarla vücuttan atılır. Üre değeri; dehidrasyon, böbrek hastalıkları (glomerulonefrit, piyelonefrit, diyabetik nefropati), ilaçlar (aminoglikozidler ve diğer antibiyotikler, diüretikler, lityum, kortikosteroidler), idrar yolu tıkanmaları (prostat hipertrofi), gastrointestinal kanamalar ve azalmış böbrek kan akımı gibi durumlarda yükselirken, kötü beslenme, karaciğer hastalıkları ve gebeliğin 3. trimesteri gibi durumlarda üre değeri düşmektedir. Kreatinin, kaslarda enerji deposu olarak rol alan kreatinin fosfatın yıkımı ile oluşan bir üründür. Kişinin vücut ve kas kitlesine bağlı olup sabit hızda üretilir. Kreatinin testi genellikle böbrek fonksiyonlarını ve hastalıklarını değerlendirmek amacıyla rutin olarak kullanılan testlerden biridir. Nefrotoksisite, akut tübüler nekroz, dehidratasyon ve transplantasyon rejeksiyonu gibi durumlarda serum kreatinin seviyesi yükselmektedir.<sup>228, 229</sup>

Civa (II) klorür gibi inorganik civa tuzlarının birincil hedef organı böbreklerdir. İnsan ve deney hayvanlarında civa toksikasyonu sonucu ortaya çıkan nefrotoksisite semptomları proksimal tübüllerdeki fonksiyon bozukluklarıdır. Civa (II) klorür'ün neden olduğu patofizyolojik belirtiler arasında fosfatüri, glukozüri, ketonüri ve proteinüri yer alır.<sup>230, 231</sup> Ağır metaller, plazma membranının proteini ile bağlandığında metal-protein kompleksleri oluşturarak ilgili dokuda hücresel hasara neden olur. Civa zehirlenmesi, bu tipteki komplekslerin oluşumu yoluyla böbrek yetmezliğine yol açar.<sup>1,</sup>  
<sup>232</sup> Bazı çalışmalarda civanın böbrek epitelinde daha fazla birikmesi sonucu böbrek hasarına neden olduğu rapor edilmiştir.<sup>2, 233</sup> Civa (II) klorür uygulanmasıyla karaciğerin yanı sıra böbreklerde de hasar oluşturduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir.<sup>4, 234,</sup>

235

Agarwal ve ark.<sup>236</sup> civaya maruz bıraktıkları sıçanlarda serum kreatinin düzeyininin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Sarwar Alam ve ark.<sup>237</sup> civa (II) klorür tedavisinin, serum üre ve kreatinin düzeylerininin kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında, yaklaşık 4.46 ve 3.19 kat arttığını gözlemlediler. Joshi ve ark.<sup>211</sup> Sprague Dawley ratlarında yaptıkları bir çalışmada civa (II) klorür uygulamasının serum üre ve kreatinin düzeylerini, kontrol grubuna göre sırasıyla yaklaşık 3.9 ve 3.7 kat arttırdığını tespit ettiler. Yapılan çalışmada civa (II) klorür ile toksikasyona uğramış ratların serum üre ve kreatinin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde artış gösterdi. Tedavi amacıyla verilen 50 ve 100 mg/kg dozlarındaki rutin, civa grubuna kıyasla bu değerleri önemli ölçüde azalttı. Civa (II) klorür uygulanan sıçanlarda serum üre ve kreatinin düzeylerinin yükselmesi önceki çalışmaların sonuçlarıyla uyum göstermektedir.<sup>238, 239</sup>

Civa uzun yıllardan beri zehirli bir ağır metal olarak kabul edilmektedir.<sup>235</sup> Civa (II) klorür gibi inorganik civa türevleri, endojen biyomoleküllerin tiyol (-SH) grupları için afiniteye sahiptir. Bu nedenle, yapısında tiyol grubu bulunduran sistein, glutatyon ve proteinler civa ile bağlanarak işlevlerini kaybederler. Ayrıca civa lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllerin oksidasyonuna neden olup serbest radikalleri üretir.<sup>123, 240</sup>

Serbest radikaller  $O_2^{\cdot-}$  anyonu,  $OH^{\cdot}$  radikali, NO ve lipid radikalleri gibi moleküllerdir.<sup>211</sup> Oksidatif hasar serbest radikallerin üretilmesi ile ortaya çıkar ve sonuçta lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar verir. Bu nedenle enzim aktivitesinin kaybına ve enzimlerin yapısal bütünlüğünün bozulmasına neden olabilirken, inflamatuvar proseslerini de aktive edebilir.<sup>241</sup> Civa (II) klorür'ün toksik etkilerinin mitokondriyal iç membranın yapısal bütünlüğünde değişimlere yol açtığı, mitokondriyal GSH düzeylerinin azalması ve mitokondriyal elektron taşıma zinciri ile  $H_2O_2$  oluşumunun artmasına neden olduğu ileri sürülmektedir.<sup>242</sup> Civa (II) klorür'ün serbest radikal üretimini artırmasıyla hepatorenal toksisiteye neden olduğunu gösteren birçok çalışma da mevcuttur.<sup>243-246</sup>

SOD, süperoksit radikallerinin  $H_2O_2$ 'e dönüşümünü katalize ederken, KAT  $H_2O_2$ 'i suya dönüştürür.<sup>247</sup> Bu nedenle, SOD-KAT sistemi oksidatif strese karşı ilk

savunma sistemini sağlar ve bu enzimler aktif oksijen türlerini ortadan kaldırmak için birlikte çalışırlar.<sup>122, 248</sup> GPx, hücrelerin sitoplazmasında bulunan antioksidan selenoenzimdir. Bir substrat olarak GSH kullanan bu enzimin ana işlevi, çözünebilir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve alkil peroksidazları azaltmaktır.<sup>249, 250</sup> GPx, okside GSH varlığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya dönüştürür.<sup>251</sup> Hücre içi GPx aktivitesindeki azalmanın, civa (II) klorür'ün GPx'in substratı olan GSH'a bağlanması sonucu olduğu rapor edilmiştir.<sup>123</sup>

Civa (II) klorür'ün çeşitli rat dokularında SOD, KAT ve GPx aktivitelerini önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir.<sup>252, 253</sup> Kalender ve ark.<sup>123</sup> yaptıkları bir çalışmada civa (II) klorür uygulaması sonucu ratlarda SOD, KAT ve GPx enzimlerinin aktivitelerinde azalış tespit etmişler ve bu enzimlerin radikaller tarafından inhibisyona uğradıklarını bildirmişler. Benzer şekilde Joshi ve ark. civa (II) klorür uyguladıkları ratların karaciğer ve böbrek dokularında SOD, KAT ve GPx gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalışın olduğunu saptamışlardır.<sup>254</sup> Yapılan başka bir çalışmada ise civa (II) klorür kaynaklı akut böbrek toksisitesi sonucu SOD, KAT ve GPx enzim aktivitelerinde azalışın olduğu bulunmuştur.<sup>255</sup>

Sunulan çalışmada da elde ettiğimiz veriler literatürlerle tam bir uyum göstermiş, civa (II) klorür grubu SOD, KAT ve GPx aktiviteleri azalırken rutin uygulamasının her iki dozunun da enzim aktivitelerinde artışa neden olduğu saptanmıştır. Mirani ve ark.<sup>256</sup> yaptıkları deneysel bir çalışmada kadmiyum kaynaklı karaciğer toksisitesine bağlı olarak SOD, KAT, GST ve GPx enzim aktivitelerinde düşüş olduğunu tespit etmişler, tedavi amacıyla verdikleri rutin'in, bu enzim aktivitelerini kontrol grubu değerlerine getirdiğini bulmuşlar. Khan ve ark.<sup>257</sup> potasyum bromat kaynaklı böbrek hasarında, antioksidan enzim aktivitelerinin düşük olduğunu ve tedavi amacıyla verdikleri rutin'in antioksidan enzim aktivitelerini artırdığını saptamışlardır.

GSH, elektrofilik molekülleri ve serbest radikal ara maddelerini bağlayan başlıca tiyoldür. Antioksidan savunma sistemi, ekzojen ve endojen maddelerin metabolizması



ve detoksifikasyonunda merkezi bir rol oynar.<sup>211</sup> Civa (II) klorür, GSH gibi endojen tiyol molekülleri için yüksek affiniteye sahiptir ve civa iyonlarının toksisitesi, iki GSH tripeptidi ile geri dönüşümsüz bağlanmalara neden olur.<sup>258</sup> Sunulan çalışmada civa (II) klorür toksikasyonunun karaciğer ve böbreklerde GSH içeriğini önemli ölçüde azaltıp, antioksidan potansiyeli düşürdüğü ve lipid peroksidasyonunu hızlandırarak hepatorenal hasara yol açtığı gözlenmiştir. Tedavi amacıyla verilen rutin maddesinin her iki dozunun karaciğer ve böbrek GSH seviyelerini civa (II) klorür grubuna göre anlamlı derecede artırdığı tespit edilmiştir.

Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, lipid peroksidasyonun göstergesi olup, dolaylı olarak hücre ve dokuların hasar seviyesini gösterir.<sup>240</sup> Yapılan çeşitli araştırmalarda civa (II) klorür'ün aşırı serbest radikal üretimine neden olduğu, antioksidan savunma sisteminin yetersiz kaldığı ve bunun sonucunda da hücre membranlarında lipid peroksidasyonun hızla geliştiği bildirilmiştir.<sup>259-261</sup> Literatür bilgiler ışığında, sunulan çalışmada da civa (II) klorür'ün karaciğer ve böbrek dokuları MDA düzeylerini kontrol grubuna göre belirgin düzeyde artırdığı, civa (II) klorür ile birlikte kombine verilen rutin-50 ve rutin-100 uygulamalarının ise MDA düzeylerini kontrol grubu seviyelerine yaklaştırdığı, özellikle rutin-100 uygulamasının MDA düzeyini daha çok azalttığı saptanmış, bunun da rutin'in antioksidan özelliğinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Yapılan birçok çalışmada bazı ağır metallerin ve kimyasal ajanların neden olduğu karaciğer ve böbrek hasarında tedavi amacıyla verilen rutin'in lipid peroksidasyon oluşumunu azaltarak MDA düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir.<sup>185, 262-264</sup>

Sitokinler, inflamatuvar bir uyarana cevap olarak vücuttaki çeşitli hücreler tarafından salgılanan düşük molekül ağırlıklı proteinler veya glikoproteinlerdir.<sup>265</sup> Sitokinler yaklaşık 25 kDa ağırlığında küçük proteinler olup otokrin, parakrin ve

endokrin yollarla spesifik reseptörlere bağlanırlar.<sup>266</sup> Proliferasyon, farklılaşma, immün hücre aktivasyonu, hücre sağkalımı, hücre göçü ve hücre ölümünü düzenlerler.<sup>267</sup>

NF-κB, hücre büyümesi, sağ kalımı ve hücreleri apoptotik ölüm uyaranlarından koruyan çok çeşitli genlerin ekspresyonunda rol alan bir transkripsiyon faktörüdür.<sup>268</sup> Ayrıca pro-anjiyojenik, pro-inflamatuar ve immüno-regülatör aktivitelere sahip birkaç sitokin ekspresyonunu kontrol eden bir birincil transkripsiyon faktörü olarak tanımlanır.<sup>198</sup> Memeli NF-κB / Rel ailesinin beş üyesi vardır. Bunlar; RelA (p65), RelB, c-Rel, NF-κB1 (p50) ve NF-κB2 (p52)'dir.<sup>269</sup> Ayrıca NF-κB, ROS'nin hücre içi seviyelerinde ve inflamasyon gibi hücrestreste önemli bir rol oynar.<sup>270-273</sup> Normal şartlar altında, sitoplazmada lökalize olan NF-κB bir heterodimerdir ve inhibitör ünite inhibitörü κB (IκB) ile birleştirilir. Memeli IκB ailesinin üyeleri arasında IκB α, IκB β, IκB ε, IκB γ, Bcl3, p105 ve p100 bulunur.<sup>274, 275</sup> Bcl3, B-hücreli lenfositik lösemide kabul edilen bir onkogen olarak keşfedilmiştir.<sup>276</sup> Sonraki yıllarda, hücrestrel iltihaplanma tepkisinde görev alan NF-κB sinyalizasyon kaskadının bir düzenleyicisi olarak bulunmuştur.<sup>277</sup> Bununla birlikte, IκB familyasının diğer üyelerinin çoğunun aksine, Bcl3, NF-κB sinyallemede yer alan transkripsiyon faktörlerinin bir koaktivatörü olup çekirdekte lokalize olduğu belirlenmiştir.<sup>278</sup> NF-κB yolağının hedeflenmesi terapötik olarak önemlidir çünkü IL-1β, interlökin-6 (IL-6), TNF-α, siklooksijenaz-2 (COX-2) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) gibi sitokin ve enzimlerin gen regülasyonu ve aktivasyonunda rol oynar.<sup>181, 279, 280</sup> NF-κB'nin seviyesinde artış veya düzensizlikler ülseratif kolitis, Crohn hastalığı, romatoid artrit ve astım gibi inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmektedir.<sup>281</sup> Bu nedenle NF-κB'nin inhibisyonu tedavi amaçlı bir hedef olacağından, karaciğer ve böbrek hasarının azaltılmasında yararlı olacağı düşünülmektedir. Pal ve ark.<sup>282</sup> yaptıkları bir deneysel çalışmada civa (II) klorür uygulanan ratların karaciğer dokusunda NF-κB ekspresyonlarını kontrol grubuna kıyasla yüksek bulmuşlardır. Yine benzer şekilde

başka bir deneysel hücre kültürü çalışmasında ise civa (II) klorür uygulanan grupta NF- $\kappa$ B düzeyinin yüksek olduğu saptanmıştır.<sup>268</sup> Sunulan çalışmada da civa grubundaki NF- $\kappa$ B ve Bcl3 düzeylerinin kontrol grubuna göre oldukça arttığı, antioksidan özelliğinden yararlanılan rutin'in, civa ile birlikte destekleyici olarak verilmesinin karaciğer ve böbrek dokuları NF- $\kappa$ B ve Bcl3 düzeylerini azalttığı ve özellikle rutin-100 dozunun daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Sitokinler bir kaskat mekanizması şeklinde salınır. Salınan ilk sitokinler arasında TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  bulunur. Bunlar da diğer proteinlerin üretimini daha fazla uyarır.<sup>283, 284</sup> TNF- $\alpha$ , esas olarak monositler tarafından üretilen 17 kDa ağırlığında bir proteindir.<sup>266</sup> TNF- $\alpha$ , karaciğer hasarı ve sistematik toksisitenin birincil aracı olan karaciğer makrofajları tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir.<sup>285, 286</sup> İnsanlarda TNF- $\alpha$ 'nın infüzyonu ateş, hemodinamik anormallik, lökopeni, yükselmiş karaciğer enzimleri ve koagülopati ile sonuçlanır.<sup>266</sup> TNF- $\alpha$ , hepatik stellat hücrelerin harekete geçirilmesinde ve karaciğerde kolajen tip-I'in oluşturulmasında önemli bir role sahiptir. Ayrıca ekstraselüler matriks ve histolojik hepatik fibrozun yeniden şekillenmesine neden olduğu bildirilmiştir.<sup>287, 288</sup> Böbreklerdeki glomerüler mezanjial hücreler, TNF- $\alpha$ 'nın primer kaynaklardır.<sup>289</sup> TNF- $\alpha$ , vazodilatatör ve vazokonstriktif mediatörlerin alınması için mezanjial hücreleri aktive ederek glomerüler kan akışını ve glomerüler filtrasyon hızını azaltır. Glomerüler filtrasyon hızının azalması sonucu glomerüler fibrin birikmesi hücrel infiltrasyon ve vazokonstrüksiyona neden olur.<sup>290</sup>

Moneim<sup>291</sup> yaptığı bir çalışmada civa (II) klorür ile toksikasyona uğrayan ratların beyin dokusunda TNF- $\alpha$  seviyesinin kontrol grubuna göre arttığını bildirmiştir. Ayrıca TNF- $\alpha$  'nın nitrik oksit üretimini artırabileceğini ve nöronlar ile beyin diğer hücrelerinde oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyal solunum zincirini olumsuz etkileyebileceğini rapor etmiştir. Ghosh ve ark.<sup>292</sup> Swiss albino farelerinde civa (II) klorür toksikasyonu sonucu serum TNF- $\alpha$  seviyesini kontrol grubuna göre yüksek

bulmuşlardır. Benzer şekilde Şener ve ark.<sup>293</sup> deneysel civa (II) klorür uygulanan ratlarda karaciğer ve böbrek toksisitesi oluşturmuşlardır. Deney sonucunda civa (II) klorür grubunda bulunan ratların serum TNF- $\alpha$  değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmada elde edilen veriler literatürlerle benzerdir, karaciğer ve böbrek dokuları TNF- $\alpha$  seviyeleri civa grubunda artarken, rutin uygulamasının her iki dozunun da TNF- $\alpha$  seviyelerinde azalışa neden olduğu saptanmıştır.

Makrofajlar tarafından üretilen IL-1 $\beta$ , proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi hücrel fonksiyonlarda görev alan ve inflamatuvar cevabının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan öncü sitokinlerden biridir.<sup>294, 295</sup> IL-1 $\beta$ , kan monositleri, beyin mikroglia, doku makrofajları ve dendritik hücrelerin bir ürünüdür.<sup>296, 297</sup> Yapılan çalışmada karaciğer ve böbrek dokuları IL-1 $\beta$  düzeyleri civa (II) klorür grubunda artarken, rutin tedavisinin 50 ve 100 mg/kg'lık dozlarının IL-1 $\beta$  düzeyinde azalışa neden olmuştur. Yeh ve ark.<sup>298</sup> lipopolisakkarit kaynaklı akut karaciğer hasarında IL-1 $\beta$  düzeyini yüksek bulmuşlar, aynı çalışmada lipopolisakkarit ile beraber verilen rutin'in IL-1 $\beta$  düzeyini azalttığını saptamışlar. Pan ve ark.<sup>299</sup> deneysel çalışmalarında, biliyer tıkanıklığın neden olduğu karaciğer hasarında IL-1 $\beta$  düzeyinde artış olduğunu ve tedavi amacıyla verilen rutin maddesinin ise IL-1 $\beta$  düzeyini azaltıp hepatik inflamasyonu önlediğini belirtmişler.

IL-33, proinflamatuvar sitokin IL-1 süper familyasının bir üyesidir ve son zamanlarda bir sinyal reseptörü olarak keşfedilmiştir.<sup>300, 301</sup> Akut böbrek hasarı, diyabetik nefropati, kalp yetmezliği, miyokart enfarktüsü, otoimmün hastalıklar ve alerjik akciğer hastalıkları gibi çeşitli bozuklukların patofizyolojisinde önemli bir rol oynayan sitokinlerden biridir.<sup>302</sup> IL-33, birçok organın epitelyal ve endotelyal hücreleri gibi doku bariyer hücreleri tarafından yapısal olarak eksprese edilmesine rağmen,<sup>303, 304</sup> makrofajlar ve dendritik hücreler gibi bazı doğuştan gelen immün hücreler tarafından da ifade edilir.<sup>303, 305, 306</sup> IL-33, hem geleneksel bir hücre dışı sitokin hem de

transkripsiyonel düzenleyici özelliklere sahip hücre içi bir nükleer faktör olarak ikili rollere sahiptir.<sup>307, 308</sup> IL-33'ün bir nükleer faktör olarak patofizyolojik rolü tam olarak anlaşılammıştır, ancak yakın zamanda yapılan bir çalışmada IL-33'ün NF-κB'yi kestiğini ve pro-inflamatuar sinyalleme için NF-κB ile tetiklenen gen ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir.<sup>309</sup> Yapılan çalışmada böbrek dokusu IL-33 düzeyi civa grubunda artarken, rutin uygulamasının her iki dozunun da bu sitokin düzeyinde azalışa neden olduğu saptanmıştır.

MAPK 'lar hücre dışı sinyallere, hüresel tepkilerin aracıları olarak önemli aktivitelere sahip olan prolin hedefli serin-treonin kinazlardır.<sup>310</sup> Memeli hücreler için önemli olan bazı MAPK tipleri genelde ekstraselüler sinyal düzenlenmiş kinaz, c-jun N-terminal kinaz ve p38 kinazı içerir.<sup>311</sup> MAPK 14, hücrede ROS birikmesine yol açan oksidatif stresle aktive edilen MAPK ailesinin bir üyesidir.<sup>312</sup> MAPK 14'ün proinflamatuar moleküllerin, özellikle de TNF-α, IL-1β ve IL-6'nın düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>313, 314</sup> Ayrıca stresle aktive olan kinazların ana izoformu olduğu ve aktivitesinin inflammatuar mediatörlerin, sitokinlerin ve antioksidan genlerin ekspresyonunu kontrol ettiği bildirilmektedir.<sup>315</sup> MAPK 14 yolu, NFκB gibi transkripsiyon faktörlerinin transkripsiyonel aktivasyonu yoluyla inflamasyonda kritik rol oynayan proinflamatuar sitokinlerin üretimini düzenlerler ve bu sitokinlerin inflamasyondaki rolünü güçlü bir şekilde desteklemektedirler.<sup>316</sup> Bununla birlikte, MAPK 14 sinyalizasyon yolu üzerindeki civanın doğrudan etkileri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır.<sup>317</sup> Sunulan çalışmada da civa grubundaki MAPK 14 aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığı, antioksidan özelliğinden yararlanan rutin'in, civa ile birlikte destekleyici olarak verilmesinin karaciğer ve böbrek MAPK 14 seviyelerini azalttığı ve özellikle rutin-100 dozunun daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

MPO, güçlü pro-inflamatuar ve pro-oksidatif özelliklere sahip aktive makrofajlar ve nötrofiller tarafından salınan bir kemokindir.<sup>202</sup> Renal kortekste MPO aktivitesi

nötrofil birikiminin bir indeksidir; bu nedenle, MPO aktivitesindeki bir artış doku hasarı bölgesine iltihaplı infiltrasyonu yansıtır.<sup>203</sup> Ayrıca MPO aktivitesinin oksidan kaynaklı doku hasarında nötrofil infiltrasyonunun dolaylı bir kanıtı olarak kullanılır.<sup>293</sup> ROS, nötrofil türevli MPO'nun varlığında HOCl üretebilir ve antiproteazların deaktivasyonunu ve latent proteazların aktivasyonunu başlatır, bu da doku hasarına neden olur.<sup>318</sup> Şener ve ark.<sup>293</sup> civa (II) klorür'ün neden olduğu karaciğer, böbrek, akciğer ve beyin dokularında MPO aktivitesini kontrol grubuna göre yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada civa uygulaması MPO aktivitesinde anlamlı artışa neden olurken, rutin (50 ve 100 mg/kg) dozları bu etkiyi tersine çevirmiştir. Bu nedenle, bu çalışmanın gözlemleri, civanın hem doğrudan hem de oksidatif hasarı teşvik etmesi, doku proteinlerine bağlanması ve aynı zamanda nötrofil infiltrasyonunu stimüle etmesi sonucu doku hasarını indüklediğini göstermiştir. Birkaç bilim adamı tarafından yapılan etanol kaynaklı gastrit lezyon ve indometazin kaynaklı ülser deneylerinde artmış olan MPO aktivitesinin rutin tarafından azaldığı bildirilmiştir.<sup>10, 319</sup>

Apoptosis, doku homeostazını harekete geçiren oksidatif hasar da dahil olmak üzere, çeşitli fizyolojik ve patolojik uyarıların yol açtığı normal bir hücre ölüm sürecidir.<sup>320</sup> Oksidatif stres, ağır metaller, ultraviyole radyasyon, anoksi, ksenobiyotik ajanlar ve kalsiyum iyonoforları gibi fiziksel ve kimyasal etkenlerin apoptozisi tetiklediği bildirilmiştir.<sup>2, 321, 322</sup> p53 DNA hasarının şiddetine bağlı olarak hücre döngüsü, apoptozisi ve hücre ölümünü tetikleyebilen bir tümör baskılayıcı proteindir.<sup>200</sup> Bcl-2 protein ailesi esas olarak apoptozisdeki önemli rollerinden dolayı sürekli çalışılan ve gittikçe önem arz eden bir konudur.<sup>323</sup> Bu aile, anti-apoptotik (örneğin; Bcl-2, Bcl-XL ve Mcl-1) ve pro-apoptotik (örneğin; Bax, Bak, Bid ve Bad) üyelerini içerir.<sup>324</sup> Bcl-2 familyasından olan Bax proteini de apoptozisi teşvik eder, bu protein düzeyinin artması bu süreçte önemli bir rol oynar. Bax proteini, apoptotik süreci kontrol eder ve p53 tümör baskılayıcılarının birincil hedeflerinden biri olarak kabul edilir. Bu apoptozis

aktivasyonu, mitokondriyal membranı geçip kaspazları harekete geçiren sitokrom c'nin transkripsiyondan bağımsız ve Bax bağımlı salımını içerir.<sup>201, 321, 325, 326</sup>

Son yıllarda yapılan deneysel bir çalışmada, civa (II) klorür ile indüklenen hepatotoksisitede, sitokrom c, caspase-3, caspase-9 ve Bad gibi apoptotik markırların ekspresyonlarının artması sonucu apoptotik hücre ölümünün gerçekleştiği rapor edilmiştir.<sup>282</sup> Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada ise civa (II) klorür verilen ratların karaciğer ve böbrek dokularında anti-apoptotik markır ve Bax'ın antagonisti olan Bcl-2 ekspresyonunun kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir.<sup>2</sup> Sunulan çalışmada karaciğer ve böbrek dokuları p53 ve Bax seviyeleri civa grubunda artarken, antioksidan özelliği olduğu düşünülen rutin maddesinin her iki dozunun da p53 ve Bax seviyelerinde azalışa neden olduğu saptanmıştır. Karaciğer ve böbrek dokularındaki apoptotik etkiyi azaltmada rutin-100 dozunun rutin 50 dozuna göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Ma ve ark.<sup>327</sup> yaptıkları deneysel bir çalışmada karbon tetraklorür kaynaklı böbrek hasarında yaptıkları western blot yöntemiyle p53 ve Bax ekspresyonlarında artış olduğunu, tedavi amacıyla verdikleri rutin'in bu artışı azalttığını bildirmişler.

Aquaporinler (AQP), suyun böbrek tübüler epitelyum gibi geçirgen epitelyumu boyunca hızla hareket etmesini sağlayan su kanalı membran-protein ailesinin üyeleridir.<sup>328</sup> Bugüne kadar, 13 AQP izoformu (AQP0-AQP12) memelilerde tanımlanmış ve karakterize edilmiştir.<sup>329</sup> AQP-1, renal proksimal tübüllerin bazolateral ve apikal membranlarında bol miktarda bulunur.<sup>204</sup> AQP-1, genelde ozmotik bir itme kuvvetine yanıt olarak hücre zarları boyunca su taşınmasını arttıran bir pasif su gözeneği olarak işlev görür.<sup>330</sup> Katyon akışını etkin bir şekilde bloke ederek hücre membranının sitozolik pH ve ozmotik basıncını korur.<sup>331</sup> Civanın AQP-1 protein düzeyini inhibe ettiğine dair bilgi mevcut olmamasına rağmen bazı AQP izoformları üzerinde inhibisyon etkisi mevcuttur. Bottino ve ark.<sup>332</sup> yaptıkları bir çalışmada oral

yolla verilen civanın mide dokusunda AQP-3 ve AQP-4, ince bağırsak dokusunda ise AQP-7 proteinini inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, rat böbrek dokularında AQP-1 su kanal proteininin civadan etkilenip etkilenmediği test edilmiştir. Yapılan çalışmada civa ile indüklenen böbreklerde AQP-1 protein düzeyi kontrol grubuna kıyasla azalmıştır. Doz bağımlı rutin (50 ve 100 mg/kg) tedavileri, civa grubuna kıyasla AQP-1 protein düzeyini önemli ölçüde artırmıştır.

Çalışma sonunda elde edilen tüm bulgular göz önüne alındığında, çalışma verilerinin mevcut literatürler ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.





## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ratlarda civa (II) klorür ile indüklenen karaciğer ve böbrek hasarında, antioksidan özelliği olduğu bilinen rutin'in koruyucu etkisinin olup olmadığı deneysel hayvan modeliyle gerçekleştirilmiştir. Deney sonuçları birkaç adımda özetlenecek olursa;

1. Çalışma sonucunda elde edilen veriler ışığında civa (II) klorür'ün serum üre, kreatinin düzeyleri ile birlikte serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerini artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca antioksidan savunma sistemini etkisiz hale getirdiği ve bunun neticesinde lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Antioksidan özelliği bulunan rutin'in (50 ve 100 mg/kg) dozlarının civa (II) klorür ile birlikte kullanılmasının antioksidan savunma sistemini kuvvetlendirdiği ve serum üre, kreatinin düzeyleri ile birlikte serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerini düşürdüğü belirlenmiştir. Özellikle rutin-100 dozunun civa (II) klorür kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarını azaltmada daha etkili olduğu saptanmıştır.
2. Çalışma sonucunda civa (II) klorür karaciğer ve böbrek dokularında NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , Bcl3, MAPK 14 gibi inflamatuvar markırlarının seviyelerinde artışa neden olmuştur. Ayrıca böbrek dokusu IL-33 seviyesi ve MPO aktivitesini artırmıştır. Tedavi amacıyla verilen rutin (50 ve 100 mg/kg) dozlarının artan bu seviyeleri anlamlı olarak düşürdüğü ve rutin'in anti-inflamatuvar özellik gösterdiği belirlenmiştir.
3. Çalışma sonucunda civa (II) klorür karaciğer ve böbrek dokularında p53 ve Bax gibi apoptotik markırların seviyelerini artırmıştır. Ayrıca böbrek dokusunda su kanalı membran proteini olan AQP-1 seviyesinde azalışa neden olmuştur. Tedavi amacıyla verilen rutin (50 ve 100 mg/kg) dozlarının artan bu seviyeleri anlamlı

olarak düşürdüğü ve rutin'in anti-apoptotik özellik gösterdiği ve böbrek AQP-1 protein düzeyinde artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen tüm veriler ışığında, bu çalışmada rutin maddesinin civa (II) klorür kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesinde antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Daha önce civa (II) klorür kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesinde, bu etkileri incelenmemiş olan rutin'in civa (II) klorür toksikasyonuna maruz kalma durumlarında destekleyici tedavi olarak kullanılmasının yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.



## KAYNAKLAR

1. Agha FE, Youness ER, Selim MM, Ahmed HH. Nephroprotective potential of selenium and taurine against mercuric chloride induced nephropathy in rats. *Ren Fail*, 2014, 36: 704-716.
2. Othman MS, Safwat G, Aboulkhair M, Moneim AEA. The potential effect of berberine in mercury-induced hepatorenal toxicity in albino rats. *Food Chem Toxicol*, 2014, 69: 175-181.
3. Rice KM, Walker Jr EM, Wu M, Gillette C, Blough ER. Environmental mercury and its toxic effects. *J Prev Med Public Health*, 2014, 47: 74.
4. Gado AM, Aldahmash BA. Antioxidant effect of Arabic gum against mercuric chloride-induced nephrotoxicity. *Drug Des Devel Ther*, 2013, 7: 1245.
5. Hamid ZA, Budin SB, Jie NW, Hamid A, Husain K, Mohamed J. Nephroprotective effects of Zingiber zerumbet Smith ethyl acetate extract against paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2012, 13: 176-185.
6. Topal F, Nar M, Gocer H, Kalin P, Kocyigit UM, Gülçin İ, Alwassel SH. Antioxidant activity of taxifolin: an activity–structure relationship. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016, 31: 674-683.
7. Ekinçi Akdemir FN, Gülçin İ, Karagöz B, Soslu R, Alwassel SH. A comparative study on the antioxidant effects of hesperidin and ellagic acid against skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016, 31: 114-118.
8. Sattanathan K, Dhanapal C, Umarani R, Manavalan R. Beneficial health effects of rutin supplementation in patients with diabetes mellitus. *J App Pharm Sci*, 2011, 2011:227–231.

9. Khan MM, Raza SS, Javed H, Ahmad A, Khan A, Islam F, Safhi MM, Islam F. Rutin protects dopaminergic neurons from oxidative stress in an animal model of Parkinson's disease. *Neurotox Res*, 2012, 22: 1-15.
10. La Casa C, Villegas I, De La Lastra CA, Motilva V, Calero MM. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol*, 2000, 71: 45-53.
11. Kamalakkannan N, Prince PSM. Rutin improves the antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat tissues. *Mol Cell Biochem*, 2006, 293: 211.
12. Chibuike G, Obiora S. Heavy metal polluted soils: effect on plants and bioremediation methods. *Appl Environ Soil Sci*, 2014, 2014.
13. Tekaya N, Saiapina O, Ouada HB, Lagarde F, Ouada HB, Jaffrezic-Renault N. Ultra-sensitive conductometric detection of heavy metals based on inhibition of alkaline phosphatase activity from *Arthrospira platensis*. *Bioelectrochemistry*, 2013, 90: 24-29.
14. Turdean GL. Design and development of biosensors for the detection of heavy metal toxicity. *Int J Electrochem*, 2011, 2011.
15. Gumpu MB, Sethuraman S, Krishnan UM, Rayappan JBB. A review on detection of heavy metal ions in water—An electrochemical approach. *Sens Actuators B Chem*, 2015, 213: 515-533.
16. Gao C, Yu X-Y, Xiong S-Q, Liu J-H, Huang X-J. Electrochemical detection of arsenic (III) completely free from noble metal: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> microspheres-room temperature ionic liquid composite showing better performance than gold. *Anal Chem*, 2013, 85: 2673-2680.
17. Tag K, Riedel K, Bauer H-J, Hanke G, Baronian KH, Kunze G. Amperometric detection of Cu<sup>2+</sup> by yeast biosensors using flow injection analysis (FIA). *Sens Actuators B Chem*, 2007, 122: 403-409.

18. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*, 2005, 12: 1161-1208.
19. Bagal-Kestwal D, Karve MS, Kakade B, Pillai VK. Invertase inhibition based electrochemical sensor for the detection of heavy metal ions in aqueous system: Application of ultra-microelectrode to enhance sucrose biosensor's sensitivity. *Biosens Bioelectronics*, 2008, 24: 657-664.
20. Patrick L. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Altern Med Rev*, 2006, 11: 114.
21. Steinmaus CM, George CM, Kalman DA, Smith AH. Evaluation of two new arsenic field test kits capable of detecting arsenic water concentrations close to 10 µg/L. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 3362-3366.
22. Yantasee W, Lin Y, Hongsirikarn K, Fryxell GE, Addleman R, Timchalk C. Electrochemical sensors for the detection of lead and other toxic heavy metals: the next generation of personal exposure biomonitors. *Environ Health Perspect*, 2007, 115: 1683.
23. Aragay G, Pons J, Merkoçi A. Recent trends in macro-, micro-, and nanomaterial-based tools and strategies for heavy-metal detection. *Chem Rev*, 2011, 111: 3433-3458.
24. Usharani B, Vasudevan N. Impact of heavy metal toxicity and constructed wetland system as a tool in remediation. *Arch Environ Occup Health*, 2016, 71: 102-110.
25. Ayangbenro AS, Babalola OO. A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14: 94.

26. Renoux AY, Rocheleau S, Sarrazin M, Sunahara GI, Blais J-F. Assessment of a sewage sludge treatment on cadmium, copper and zinc bioavailability in barley, ryegrass and earthworms. *Environ Pollut*, 2007, 145: 41-50.
27. Warmate A, Ideriah T, ARI IT, Inyang UU, Ibaraye T. Concentrations of heavy metals in soil and water receiving used engine oil in Port Harcourt, Nigeria. *J Ecol Nat Environ*, 2011, 3: 54-57.
28. Sörme L, Lagerkvist R. Sources of heavy metals in urban wastewater in Stockholm. *Sci Total Environ*, 2002, 298: 131-145.
29. Rasmussen LD, Sørensen SJ, Turner RR, Barkay T. Application of a mer-lux biosensor for estimating bioavailable mercury in soil. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32: 639-646.
30. Duruibe J, Ogwuegbu M, Egwurugwu J. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *Int J Phys Sci*, 2007, 2: 112-118.
31. Ullah A, Heng S, Munis MFH, Fahad S, Yang X. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review. *Environ Exp Bot*, 2015, 117: 28-40.
32. Ashraf MA, Hussain I, Rasheed R, Iqbal M, Riaz M, Arif MS. Advances in microbe-assisted reclamation of heavy metal contaminated soils over the last decade: a review. *J Environ Manage*, 2017, 198: 132-143.
33. Verma R, Dwivedi P. Heavy metal water pollution-A case study. *Recent Res Sci Technol*, 2013, 5: 98-99
34. Flora S, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res*, 2008, 128: 501.
35. Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol*, 2014, 7: 60-72.

36. Terzi E. Civa II klorür'ün farklı sıcaklık ve sertlik derecelerinde gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) üzerine olan akut toksisitesinin belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı. Doktora tezi, Rize: Rize Üniversitesi, 2009.
37. Arık E. Akut civa intoksikasyonunda kandaki nitrotozin ve nitrik oksit düzeylerinin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı. Doktora tezi, Kahramanmaraş: Sütçü İmam Üniversitesi, 2016.
38. Clifton JC. Mercury exposure and public health. *Pediatr Clin*, 2007, 54: 237. 231-237.
39. Davidson PW, Myers GJ, Weiss B. Mercury exposure and child development outcomes. *Pediatrics*, 2004, 113: 1023-1029.
40. Goldman LR, Shannon MW, Health CoE. Technical report: mercury in the environment: implications for pediatricians. *Pediatrics*, 2001, 108: 197-205.
41. Harada M, Nakachi S, Cheu T, Hamada H, Ono Y, Tsuda T, Yanagida K, Kizaki T, Ohno H. Monitoring of mercury pollution in Tanzania: relation between head hair mercury and health. *Sci Total Environ*, 1999, 227: 249-256.
42. Schutte N, Knight A, Jahn O. Mercury and its compounds. *Occupational Medicine*, Third Edition, Boston, Editorial Mosby, 1994: 549-556.
43. ATSDR U. Toxicological profile for mercury. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Atlanta*, USA, 1999.
44. Homme KG, Kern JK, Haley BE, Geier DA, King PG, Sykes LK, Geier MR. New science challenges old notion that mercury dental amalgam is safe. *Biometals*, 2014, 27: 19-24.
45. Park J-D, Zheng W. Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J Prev Med Public Health*, 2012, 45: 344.

46. Syversen T, Kaur P. The toxicology of mercury and its compounds. *J Trace Elem Med Biol*, 2012, 26: 215-226.
47. Bernhoft RA. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *J Environ Public Health*, 2012, 2012.
48. Nordberg GF, Serenius F. Distribution of inorganic mercury in the guinea pig brain. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 1969, 27: 269-283.
49. Clarkson T, Magos L, Greenwood M. The transport of elemental mercury into fetal tissues. *Neonatology*, 1972, 21: 239-244.
50. Friberg L, Mottet NK. Accumulation of methylmercury and inorganic mercury in the brain. *Biol Trace Elem Res*, 1989, 21: 201-206.
51. Guzzi G, Grandi M, Cattaneo C, Calza S, Minoia C, Ronchi A, Gatti A, Severi G. Dental amalgam and mercury levels in autopsy tissues: food for thought. *Am J Forensic Med Pathol*, 2006, 27: 42-45.
52. Björkman L, Lundekvam BF, Lægreid T, Bertelsen BI, Morild I, Lilleng P, Lind B, Palm B, Vahter M. Mercury in human brain, blood, muscle and toenails in relation to exposure: an autopsy study. *Environ Health*, 2007, 6: 30.
53. Crespo-López ME, Macêdo GL, Pereira SI, Arrifano GP, Picanço-Diniz DL, do Nascimento JLM, Herculano AM. Mercury and human genotoxicity: critical considerations and possible molecular mechanisms. *Pharmacol Res*, 2009, 60: 212-220.
54. Frustaci A, Magnavita N, Chimenti C, Caldarulo M, Sabbioni E, Pietra R, Cellini C, Possati GF, Maseri A. Marked elevation of myocardial trace elements in idiopathic dilated cardiomyopathy compared with secondary cardiac dysfunction. *J Am Coll Cardiol*, 1999, 33: 1578-1583.
55. Berlin M, Zalups R, Fowler B. Mercury in Handbook on the Toxicology of Metals, 4th ed. 2007: 675-729.



56. Vimy M, Takahashi Y, Lorscheider F. Maternal-fetal distribution of mercury (203Hg) released from dental amalgam fillings. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 1990, 258: R939-R945.
57. Danscher G, Horsted-Bindslev P, Rungby J. Traces of mercury in organs from primates with amalgam fillings. *Exp Mol Pathol*, 1990, 52: 291-299.
58. Reinhardt J. Side-effects: mercury contribution to body burden from dental amalgam. *Adv Dent Res*, 1992, 6: 110-113.
59. Mercury. Environmental Health Criteria 118. *Geneva: World Health Organization*, 1991, 107.
60. Hahn L, Kloiber R, Vimy M, Takahashi Y, Lorscheider F. Dental "silver" tooth fillings: a source of mercury exposure revealed by whole-body image scan and tissue analysis. *The FASEB Journal*, 1989, 3: 2641-2646.
61. Nylander M, Friberg L, Lind B. Mercury concentrations in the human brain and kidneys in relation to exposure from dental amalgam fillings. *Swed Dent J*, 1987, 11: 179-187.
62. Moller-Madsen B. Localization of mercury in CNS of the rat. V. Inhalation exposure to metallic mercury. *Arch Toxicol*, 1992, 66: 79-89.
63. Warkany J. Acrodynia postmortem of a disease. *Am J Dis Child*, 1966, 112: 146-156.
64. Chan TY. Inorganic mercury poisoning associated with skin-lightening cosmetic products. *Clin Toxicol*, 2011, 49: 886-891.
65. Bridges CC, Zalups RK. Transport of inorganic mercury and methylmercury in target tissues and organs. *J Toxicol Environ Health B*, 2010, 13: 385-410.
66. Dart RC. *Medical toxicology*. Bask1. Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
67. Edwards G. Note on the termination of the second case of poisoning by mercuric methide. *St Barth Hosp Rep*, 1866, 2: 211-212.

68. Tsubaki T, Irukayama K. *Minamata disease*. Methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan. Baskı. *North-Holland Publishing Company*, PO Box 211, Amsterdam, The Netherlands., 1977.
69. Guzzi G, La Porta CA. Molecular mechanisms triggered by mercury. *Toxicology*, 2008, 244: 1-12.
70. Ball LK, Ball R, Pratt RD. An assessment of thimerosal use in childhood vaccines. *Pediatrics*, 2001, 107: 1147-1154.
71. Geier MR, Geier DA. The potential importance of steroids in the treatment of autistic spectrum disorders and other disorders involving mercury toxicity. *Med hypotheses*, 2005, 64: 946-954.
72. Magos L, Clarkson TW. Overview of the clinical toxicity of mercury. *Ann Clin Biochem*, 2006, 43: 257-268.
73. Schoeman K, Bend JR, Koren G In Hair methylmercury: a new indication for therapeutic monitoring, *Ther Drug Monit*, 2010, 32: 289-293.
74. Gundacker C, Gencik M, Hengstschläger M. The relevance of the individual genetic background for the toxicokinetics of two significant neurodevelopmental toxicants: mercury and lead. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2010, 705: 130-140.
75. Naganuma A, Furuchi T, Miura N, Hwang G-W, Kuge S. Investigation of intracellular factors involved in methylmercury toxicity. *Tohoku J Exp Med*, 2002, 196: 65-70.
76. Wang L, Jia G. Progress in developmental toxicity of methylmercury. *Wei Sheng Yan Jiu*, 2005, 34: 633-635.
77. Lund B-O, Miller DM, Woods JS. Studies on Hg (II)-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol*, 1993, 45: 2017-2024.

78. Peraza MA, Ayala-Fierro F, Barber DS, Casarez E, Rael LT. Effects of micronutrients on metal toxicity. *Environ Health Perspect*, 1998, 106: 203.
79. Haffner H, Erdelkamp J, Göller E, Schweinsberg F, Schmidt V. Morphological and toxicological findings after intravenous injection of metallic mercury. *Dtsch Med Wochenschr*, 1991, 116: 1342-1346.
80. Drescher O, Dewailly E, Diorio C, Ouellet N, Sidi EAL, Abdous B, Valera B, Ayotte P. Methylmercury exposure, PON1 gene variants and serum paraoxonase activity in Eastern James Bay Cree adults. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2014, 24: 608.
81. Pyszel A, Wrobel T, Szuba A, Andrzejak R. Effect of metals, benzene, pesticides and ethylene oxide on the haematopoietic system. *Medycyna pracy*, 2005, 56: 249-255.
82. Kinjo Y, Akiba S, Yamguchi N, Mizuno S, Watanabe S, Wakamiya J, Futatsuka M, Kato H. Cancer Mortality in Minamata Disease Patients Exposed to Methymercuro Through Fish Diet. *J Epidemiol*, 1996, 6: 134-138.
83. Robinson M. Dermatitis medicamentosa simulating Hodgkin's disease due to mercury compounds. *Annals of allergy*, 1952, 10: 21.
84. Flanders RA. Mercury in Dental Amalgam-a Public Health Concern? *J Public Health Dent*, 1992, 52: 303-311.
85. Liang YX, Sun RK, Sun Y, Chen ZQ, Li LH. *Neurobehavioral Methods and Effects in Occupational and Environmental Health*, Tokyo, Academic press, 1994: 133-140.
86. Heyer NJ, Echeverria D, Bittner Jr AC, Farin FM, Garabedian CC, Woods JS. Chronic low-level mercury exposure, BDNF polymorphism, and associations with self-reported symptoms and mood. *Toxicol Sci*, 2004, 81: 354-363.
87. Hendry W, Ahern R, Cole P. Was Young's syndrome caused by exposure to mercury in childhood? *Bmj*, 1993, 307: 1579-1582.

88. Tchounwou PB, Ayensu WK, Ninashvili N, Sutton D. Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environ Toxicol*, 2003, 18: 149-175.
89. Haddad JK, Stenberg Jr E. Bronchitis due to acute mercury inhalation: Report of two cases. *Am Rev Respir Dis*, 1963, 88: 543-545.
90. Vojdani A, Pangborn J, Vojdani E, Cooper E. Infections, toxic chemicals and dietary peptides binding to lymphocyte receptors and tissue enzymes are major instigators of autoimmunity in autism. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2003, 16: 189-199.
91. Summers A, Wireman J, Vimy M, Lorscheider F, Marshall B, Levy S, Bennett S, Billard L. Mercury released from dental "silver" fillings provokes an increase in mercury-and antibiotic-resistant bacteria in oral and intestinal floras of primates. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993, 37: 825-834.
92. Li S-J, Zhang S-H, Chen H-P, Zeng C-H, Zheng C-X, Li L-S, Liu Z-H. Mercury-induced membranous nephropathy: clinical and pathological features. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5: 439-444.
93. Miller S, Pallan S, Gangji AS, Lukic D, Clase CM. Mercury-associated nephrotic syndrome: a case report and systematic review of the literature. *Am J Kidney Dis*, 2013, 62: 135-138.
94. Ceccatelli S, Daré E, Moors M. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis. *Chem Biol Interact*, 2010, 188: 301-308.
95. Kazantzis G. Mercury exposure and early effects: an overview. *Med Lav*, 2002, 93: 139-147.
96. Wu M-F, Ison JR, Wecker JR, Lapham LW. Cutaneous and auditory function in rats following methyl mercury poisoning. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1985, 79: 377-388.

97. Wada H, Cristol DA, McNabb FA, Hopkins WA. Suppressed adrenocortical responses and thyroid hormone levels in birds near a mercury-contaminated river. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 6031-6038.
98. Shenker B, Rooney C, Vitale L, Shapiro I. Immunotoxic effects of mercuric compounds on human lymphocytes and monocytes. I. Suppression of T-cell activation. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 1992, 14: 539-553.
99. Gardner RM, Nyland JF, Silbergeld EK. Differential immunotoxic effects of inorganic and organic mercury species in vitro. *Toxicol letters*, 2010, 198: 182-190.
100. Singh VK. Phenotypic expression of autoimmune autistic disorder (AAD): a major subset of autism. *Ann Clin Psychiatry*, 2009, 21: 148-161.
101. Schofield P. Dementia associated with toxic causes and autoimmune disease. *Int Psychogeriatr*, 2005, 17: S129-S147.
102. Johnson FO, Atchison WD. The role of environmental mercury, lead and pesticide exposure in development of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotoxicology*, 2009, 30: 761-765.
103. Hybenova M, Hrda P, Prochazkova J, Stejskal V, Sterzl I. The role of environmental factors in autoimmune thyroiditis. *Neuroendocrinol Lett*, 2010, 31: 283-289.
104. Landrigan PJ. What causes autism? Exploring the environmental contribution. *Curr Opin Pediatr*, 2010, 22: 219-225.
105. Minoia C, Ronchi A, Pigatto P, Guzzi G. Effects of mercury on the endocrine system. *Crit Rev Toxicol*, 2009, 39: 627.
106. Iavicoli I, Fontana L, Bergamaschi A. The effects of metals as endocrine disruptors. *J Toxicol Environ Health B*, 2009, 12: 206-223.
107. Tan SW, Meiller JC, Mahaffey KR. The endocrine effects of mercury in humans and wildlife. *Crit Rev Toxicol*, 2009, 39: 228-269.

108. Nylander M, Weiner J. Mercury and selenium concentrations and their interrelations in organs from dental staff and the general population. *Occup Environ Med*, 1991, 48: 729-734.
109. McGregor A, Mason H. Occupational mercury vapour exposure and testicular, pituitary and thyroid endocrine function. *Hum Exp Toxicol*, 1991, 10: 199-203.
110. Chen YW, Huang CF, Tsai KS, Yang RS, Yen CC, Yang CY, Lin-Shiau SY, Liu SH. Methylmercury induces pancreatic  $\beta$ -cell apoptosis and dysfunction. *Chem Res Toxicol*, 2006, 19: 1080-1085.
111. YOSHIDA M. Placental to fetal transfer of mercury and fetotoxicity. *Tohoku J Exp Med*, 2002, 196: 79-88.
112. Castoldi AF, Coccini T, Ceccatelli S, Manzo L. Neurotoxicity and molecular effects of methylmercury. *Brain Res Bull*, 2001, 55: 197-203.
113. Myers GJ, Davidson PW. Prenatal methylmercury exposure and children: neurologic, developmental, and behavioral research. *Environ Health Perspect*, 1998, 106: 841.
114. Grandjean P, Weihe P, Nielsen JB. Methylmercury: significance of intrauterine and postnatal exposures. *Clin Chem*, 1994, 40: 1395-1400.
115. Mottet NK, Shaw C-M, Burbacher TM. Health risks from increases in methylmercury exposure. *Environ Health Perspect*, 1985, 63: 133.
116. Choi BH, Lapham LW, Amin-Zaki L, Saleem T. Abnormal neuronal migration, deranged cerebral cortical organization, and diffuse white matter astrocytosis of human fetal brain: a major effect of methylmercury poisoning in utero. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1978, 37: 719-733.
117. Davis B, Price H, O'connor R, Fernando R, Rowland A, Morgan D. Mercury vapor and female reproductive toxicity. *Toxicol Sci*, 2001, 59: 291-296.

118. Schrag SD, Dixon RL. Occupational exposures associated with male reproductive dysfunction. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1985, 25: 567-592.
119. Rowland AS, Baird DD, Weinberg CR, Shore DL, Shy CM, Wilcox AJ. The effect of occupational exposure to mercury vapour on the fertility of female dental assistants. *Occup Environ Med*, 1994, 51: 28-34.
120. Colquitt PJ. The effect of occupational exposure to mercury vapour on the fertility of female dental assistants. *Occup Environ Med*, 1995, 52: 214.
121. Dickman MD, Leung CK, Leong MK. Hong Kong male subfertility links to mercury in human hair and fish. *Sci Total Environ*, 1998, 214: 165-174.
122. Boujbiha MA, Hamden K, Guermazi F, Bouslama A, Omezzine A, Kammoun A, El Feki A. Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: association with oxidative stress. *Reprod Toxicol*, 2009, 28: 81-89.
123. Kalender S, Uzun FG, Demir F, Uzunhisarcıklı M, Aslanturk A. Mercuric chloride-induced testicular toxicity in rats and the protective role of sodium selenite and vitamin E. *Food Chem Toxicol*, 2013, 55: 456-462.
124. El-Desoky GE, Bashandy SA, Alhazza IM, Al-Othman ZA, Aboul-Soud MA, Yusuf K. Improvement of mercuric chloride-induced testis injuries and sperm quality deteriorations by *Spirulina platensis* in rats. *Plos One*, 2013, 8: e59177.
125. Fischbach FT, Dunning MB. *A manual of laboratory and diagnostic tests*. 8th Edition Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
126. Akcan AB, Dursun O. Civa Zehirlenmeleri. *J Curr Pediatr*, 2008, 6: 72-75.
127. Ellenhorn M. Chemical warfare. *Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, 2nd edition. Edited by Ellenhorn MJ. Baltimore, MD, Williams and Willkins Publishers, 1997: 1267-1304.

128. Rowens B, Guerrero-Betancourt D, Gottlieb CA, Boyes RJ, Eichenhorn MS. Respiratory failure and death following acute inhalation of mercury vapor: a clinical and histologic perspective. *Chest*, 1991, 99: 185-190.
129. Nielsen J, Andersen O. Effect of four thiol-containing chelators on disposition of orally administered mercuric chloride. *Hum Exp Toxicol*, 1991, 10: 423-430.
130. Clarkson TW, Magos L, Myers GJ. The toxicology of mercury—current exposures and clinical manifestations. *N Engl J Med*, 2003, 349: 1731-1737.
131. Experts SAG. Vaccines and biologicals. Recommendations from the Strategic Advisory Group of Experts. *Wkly Epidemiol Rec*, 2002, 77: 305.
132. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 1990: 1-85.
133. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*, 1995, 32.
134. Gülçin İ, Oktay M, Kireççi E, Küfrevioğlu Öİ. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food Chem*, 2003, 83: 371-382.
135. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci*, 1993, 90: 7915-7922.
136. Gülçin I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol*, 2012, 86: 345-391.
137. Pietta P-G. Flavonoids as antioxidants. *J Natural Prod*, 2000, 63: 1035-1042.
138. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 2002, 22: 442-448.
139. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Rep*, 2004, 9: 145-152.



140. Elmastas M, Turkecul I, Ozturk L, Gulcin I, Isildak O, Aboul-Enein HY. Antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*) from North Turkey. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2006, 9: 443-448.
141. Gülçin İ. Antioxidant properties of resveratrol: a structure–activity insight. *Innovative Food Sci Emerg Technol*, 2010, 11: 210-218.
142. Tanizawa H, Ohkawa Y, Takino Y, Miyase T, Ueno A, Kageyama T, Hara S. Studies on natural antioxidants in citrus species. I. Determination of antioxidative activities of citrus fruits. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40: 1940-1942.
143. Duh P-D. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *J Am Oil Chem Soc*, 1998, 75: 455-461.
144. Köse LP, Gülçin I, Gören AC, Namiesnik J, Martinez-Ayala AL, Gorinstein S. LC–MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of galanga (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes. *Ind Crops Prod*, 2015, 74: 712-721.
145. Gülçin I, Bursal E, Şehitoğlu MH, Bilsel M, Gören AC. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48: 2227-2238.
146. Köksal E, Bursal E, Gülçin İ, Korkmaz M, Çağlayan C, Gören AC, Alwasel SH. Antioxidant activity and polyphenol content of Turkish thyme (*Thymus vulgaris*) monitored by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Int J Food Prop*, 2017, 20: 514-525.
147. Halliwell B. Lipid peroxidation: a radical chain reaction. *Free Radic Biol Med*, 1989.
148. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 1986, 58: 61-97.

149. İşbilir ŞS. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı. Doktora tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi, 2008.
150. Aruoma OI, Cuppett SL. *Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts*. The American Oil Chemists Society, 1997.
151. Diplock A, Charuleux J-L, Crozier-Willi G, Kok F, Rice-Evans C, Roberfroid M, Stahl W, Vina-Ribes J. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br J Nutr*, 1998, 80: S77-S112.
152. Basaga H. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol*, 1990, 68: 989-998.
153. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell WV. 1996. *Harper's Biochemistry*, (in Turkish). Çevirenler: Nurten Dikmen ve Tuncay Özgünen. 24. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul. 1996.
154. Gülçin I. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino acids*, 2007, 32: 431.
155. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2005, 15: 316-328.
156. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 1994, 74: 139-162.
157. Velioglu Y, Mazza G, Gao L, Oomah B. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 4113-4117.
158. Lai L-S, Chou S-T, Chao W-W. Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsao (*Mesona procumbens Hemsl*) leaf gum. *J Agric Food Chem*, 2001, 49: 963-968.

159. Gülçin İ, Sat I, Beydemir S, Küfrevioğlu Ö. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of broccoli extracts (*Brassica oleracea L.*). *Ital J Food Sci*, 2004, 16.
160. Gülçin İ, Berashvili D, Gepdiremen A. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla panchinensis* decne. *J Ethnopharmacol*, 2005, 101: 287-293.
161. Gülçin I, Beydemir Ş, Alici HA, Elmastaş M, Büyükkuroğlu ME. In vitro antioxidant properties of morphine. *Pharmacol Res*, 2004, 49: 59-66.
162. Kirici M, Turk C, Caglayan C, Kirici M. Toxic effects of copper sulphate pentahydrate on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of freshwater fish *capoeta umbla* (Heckel, 1843) tissues. *Appl Ecol Env Res*, 2017, 15: 1685-1696.
163. Kandemir FM, Kucukler S, Eldutar E, Caglayan C, Gülçin İ. Chrysin protects rat kidney from paracetamol-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy: A multi-biomarker approach. *Sci Pharma*, 2017, 85: 4.
164. Mao GD, Thomas P, Lopaschuk G, Poznansky M. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *J Biol Chem*, 1993, 268: 416-420.
165. Oruc EO, Sevgiler Y, Uner N. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2, 4-D and azinphosmethyl. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2004, 137: 43-51.
166. Anitha T, Rajadurai M. Antioxidative potential of chrysin, a flavone in streptozotocin–nicotinamide-induced diabetic rats. *Biomed Prev Nutr*, 2014, 4: 511-517.
167. Ramos A, Correia A, Antunes S, Gonçalves F, Nunes B. Effect of acetaminophen exposure in *Oncorhynchus mykiss* gills and liver: detoxification mechanisms, oxidative defence system and peroxidative damage. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37: 1221-1228.

168. Amorim AM, Gasques MD, Andreus J, Scharf M. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *An Acad Bras Cienc*, 2002, 74: 433-436.
169. Kirkman HN, Rolfo M, Ferraris AM, Gaetani GF. Mechanisms of protection of catalase by NADPH Kinetics and stoichiometry. *J Biol Chem*, 1999, 274: 13908-13914.
170. Frew J, Jones P. Structure and functional properties of peroxidases and catalases. *Adv Inorg Bioinorg Mech*, 1984, 3: 175-212.
171. Margis R, Dunand C, Teixeira FK, Margis-Pinheiro M. Glutathione peroxidase family—an evolutionary overview. *The FEBS journal*, 2008, 275: 3959-3970.
172. Brigelius-Flohé R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27: 951-965.
173. Piorunska-Stolzmann M, Batko J, Majewski W. Lipid profile, lipase and glutathione peroxidase activities in the serum of patients with atherosclerosis. *Med Sci Monit*, 1999, 5: 900-903.
174. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother*, 2003, 57: 145-155.
175. Bursal E, Köksal E, Gülçin İ, Bilsel G, Gören AC. Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC–MS/MS. *Food Res Int*, 2013, 51: 66-74.
176. Bursal E, Gülçin İ. Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Res Int*, 2011, 44: 1482-1489.
177. Basu SK, Rupeshkumar M, Kavitha K. Hepatoprotective and antioxidant effect of *Pavonia zeylanica* against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharm Biol Sci*, 2012, 3: 407-415.

178. Montgomery R, Conway T, Spector A. *Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım 6*. Baskı. N., Altan, Palme Yayıncılık, Ankara, 2000, 74.
179. Çalışkan D. Ratlarda parasetamole bağlı akut karaciğer toksisitesinde nar suyunun koruyucu etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı. Doktora tezi, Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi, 2014.
180. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, 1997, 46: S14-S18.
181. Nafees S, Rashid S, Ali N, Hasan SK, Sultana S. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: role of NFκB/MAPK pathway. *Chem Biol Interact*, 2015, 231: 98-107.
182. Khan RA, Khan MR, Sahreen S. CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity: protective effect of rutin on p53, CYP2E1 and the antioxidative status in rat. *BMC Complement Altern Med*, 2012, 12: 178.
183. Kandemir FM, Ozkaraca M, Yildirim BA, Hanedan B, Kirbas A, Kilic K, Aktas E, Benzer F. Rutin attenuates gentamicin-induced renal damage by reducing oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy in rats. *Ren Fail*, 2015, 37: 518-525.
184. Sharma S, Ali A, Ali J, Sahni JK, Baboota S. Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opin Investig Drugs*, 2013, 22: 1063-1079.
185. Ashraf J, Siddique J, Mirani N, Rub A. Protective effect of rutin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Int J Drug Dev Res*, 2012, 4 (2): 352-357.
186. Janbaz KH, Saeed SA, Gilani AH. Protective effect of rutin on paracetamol-and CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia*, 2002, 73: 557-563.
187. Umarani V, Muvvala S, Ramesh A, Lakshmi B, Sravanthi N. Rutin potentially attenuates fluoride-induced oxidative stress-mediated cardiotoxicity, blood toxicity and dyslipidemia in rats. *Toxicol Mech Methods*, 2015, 25: 143-149.

188. Patil SL, Mallaiah SH, Patil RK. Antioxidative and radioprotective potential of rutin and quercetin in Swiss albino mice exposed to gamma radiation. *J Med Phys*, 2013, 38: 87.
189. Schwingel TE, Klein CP, Nicoletti NF, Dora CL, Hadrich G, Bica CG, Lopes TG, da Silva VD, Morrone FB. Effects of the compounds resveratrol, rutin, quercetin, and quercetin nanoemulsion on oxaliplatin-induced hepatotoxicity and neurotoxicity in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2014, 387: 837-848.
190. Bharathi E, Jagadeesan G. Antioxidant potential of hesperidin and ellagic acid on renal toxicity induced by mercuric chloride in rats. *Biomed Pree Nutr*, 2014, 4: 131-136.
191. Bergmeyer H, Bowes G, Hörder M, Moss D. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chim Acta*, 1976, 70: F19-F42.
192. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 1966, 16: 359-364.
193. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 1968, 25: 192-205.
194. Matkovics B. Determination of enzyme activity in lipid peroxidation and glutathione pathways. *Laboratoriumi Diagnosztika*, 1988, 15: 248-250.
195. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988, 34: 497-500.
196. Aebi H. Catalase. *Methods of enzymatic analysis*, 1983, 3: 273.
197. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951, 193: 265-275.

198. Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Bowles W, Ho V, Ondrey F. A comparison of the pro-inflammatory, NF- $\kappa$ B-dependent cytokines: TNF-alpha, IL-1-alpha, IL-6, and IL-8 in different oral fluids from oral lichen planus patients. *Clin Immunol*, 2005, 114: 278-283.
199. Rini J, Anbalagan M. IGF2BP1: a novel binding protein of p38 MAPK. *Mol Cell Biochem*, 2017, 435: 133-140.
200. Chen J, Wang J, Li H, Wang S, Xiang X, Zhang D. p53 activates miR-192-5p to mediate vancomycin induced AKI. *Sci Rep*, 2016, 6: 38868.
201. Rehman MU, Tahir M, Khan AQ, Khan R, Lateef A, Hamiza OO, Ali F, Sultana S. Diosmin protects against trichloroethylene-induced renal injury in Wistar rats: plausible role of p53, Bax and caspases. *Br J Nutr*, 2013, 110: 699-710.
202. Ansari MA, Raish M, Ahmad A, Alkharfy KM, Ahmad SF, Attia SM, Alsaad AM, Bakheet SA. Sinapic acid ameliorate cadmium-induced nephrotoxicity: In vivo possible involvement of oxidative stress, apoptosis, and inflammation via NF- $\kappa$ B downregulation. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2017, 51: 100-107.
203. Sahu BD, Tatireddy S, Koneru M, Borkar RM, Kumar JM, Kuncha M, Srinivas R, Sistla R. Naringin ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity and associated mitochondrial dysfunction, apoptosis and inflammation in rats: possible mechanism of nephroprotection. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 277: 8-20.
204. Kim S, Jo CH, Park J-S, Han HJ, Kim G-H. The role of proximal nephron in cyclophosphamide-induced water retention: preliminary data. *Electrolyte Blood Press*, 2011, 9: 7-15.
205. Mayuren C, Reddy VV, Priya SV, Devi VA. Protective effect of Livactine against CCl<sub>4</sub> and paracetamol induced hepatotoxicity in adult Wistar rats. *North Am J Med Sci*, 2010, 2: 491.

206. Sallie R, Michael Tredger J, Williams R. Drugs and the liver part 1: Testing liver function. *Biopharm Drug Dispos*, 1991, 12: 251-259.
207. Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 2008, 245: 194-205.
208. Amacher DE. Serum transaminase elevations as indicators of hepatic injury following the administration of drugs. *Regul Toxicol Pharmacol*, 1998, 27: 119-130.
209. Nathwani RA, Pais S, Reynolds TB, Kaplowitz N. Serum alanine aminotransferase in skeletal muscle diseases. *Hepatology*, 2005, 41: 380-382.
210. Ramaiah SK. A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45: 1551-1557.
211. Joshi D, Mittal DK, Shukla S, Srivastav AK, Srivastav SK. N-acetyl cysteine and selenium protects mercuric chloride-induced oxidative stress and antioxidant defense system in liver and kidney of rats: A histopathological approach. *J Trace Elem Med Biol*, 2014, 28: 218-226.
212. Sharma MK, Sharma A, Kumar A, Kumar M. Spirulina fusiformis provides protection against mercuric chloride induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45: 2412-2419.
213. El-Shenawy SM, Hassan NS. Comparative evaluation of the protective effect of selenium and garlic against liver and kidney damage induced by mercury chloride in the rats. *Pharmacol Rep*, 2008, 60: 199.
214. Ezeuko Vitalis C, Nwokocha Chukwuemeka R, Mounmbegna Philippe E, Nriagu Chinonso C. Effects of Zingiber officinale on liver function of mercuric chloride-induced hepatotoxicity in adult Wistar rats. *Electron J Biomed*, 2007, 3: 40-45.
215. Jagadeesan G, Pillai SS. Hepatoprotective effects of taurine against mercury induced toxicity in rat. *J Environ Biol*, 2007, 28: 753.



216. Uzunhisarcikli M, Aslanturk A, Kalender S, Apaydin FG, Bas H. Mercuric chloride induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: the protective effects of sodium selenite and vitamin E. *Toxicol Ind Health*, 2016, 32: 1651-1662.
217. Oda SS, El-Ashmawy IM. Protective effect of silymarin on mercury-induced acute nephro-hepatotoxicity in rats. *Glob Vet*, 2012, 9: 376-383.
218. Samipillai SS, Elangomathavan R, Ramesh S, Jagadeesan G. Effect of taurine and glutathione on mercury toxicity in liver tissue of rats. *Recent Res Sci Technol*, 2009, 1(5): 243-249.
219. Erdogan E, Ilgaz Y, Gurgor PN, Oztas Y, Topal T, Oztas E. Rutin ameliorates methotrexate induced hepatic injury in rats. *Acta Cir Bras*, 2015, 30: 778-784.
220. Gelen V, Şengül E, Gedikli S, Atila G, Uslu H, Makav M. The protective effect of rutin and quercetin on 5-FU-induced hepatotoxicity in rats. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2017, 7: 647-653.
221. AlDrak N, Abudawood M, Hamed SS, Ansar S. Effect of rutin on proinflammatory cytokines and oxidative stress in toxin-mediated hepatotoxicity. *Toxin Rev*, 2017: 1-8.
222. Abarikwu SO, Njoku R-C, Lawrence CJ, Charles IA, Ikewuchi JC. Rutin ameliorates oxidative stress and preserves hepatic and renal functions following exposure to cadmium and ethanol. *Pharm Biol*, 2017, 55: 2161-2169.
223. Benzer F, Kandemir FM, Kucukler S, Comaklı S, Caglayan C. Chemoprotective effects of curcumin on doxorubicin-induced nephrotoxicity in wistar rats: by modulating inflammatory cytokines, apoptosis, oxidative stress and oxidative DNA damage. *Arch Physiol Biochem*, 2018: 1-10.
224. Prozialeck WC, VanDreel A, Ackerman CD, Stock I, Papaeliou A, Yasmine C, Wilson K, Lamar PC, Sears VL, Gasiorowski JZ. Evaluation of cystatin C as an early biomarker of cadmium nephrotoxicity in the rat. *Biometals*, 2016, 29: 131-146.

225. Li S, Cao C, Shi H, Yang S, Qi L, Zhao X, Sun C. Effect of quercetin against mixture of four organophosphate pesticides induced nephrotoxicity in rats. *Xenobiotica*, 2016, 46: 225-233.
226. Singh RK, Gautam RK, Karchuli M. Nephrotoxicity: An Overview. *J Biomed Pharma Res*, 2014, 3.
227. Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48: 3246-3261.
228. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev*, 2000, 80: 1107-1213.
229. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem*, 1990, 36: 1440-1443.
230. Margarat A, Jagadeesan G, Sethupathy S. Comparative Effect of Penicillamine and Taurine on Mercury Poisoned Mice, *Mus Musculus* (Linn.). *Pollut Res*, 2001, 20: 1-4.
231. Markovich D, James KM. Heavy metals mercury, cadmium, and chromium inhibit the activity of the mammalian liver and kidney sulfate transporter sat-1. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1999, 154: 181-187.
232. Zalups RK. Reductions in renal mass and the nephropathy induced by mercury. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1997, 143: 366-379.
233. Franciscato C, Moraes-Silva L, Duarte F, Oliveira C, Ineu R, Flores E, Dressler V, Peixoto N, Pereira M. Delayed biochemical changes induced by mercury intoxication are prevented by zinc pre-exposure. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2011, 74: 480-486.

234. Durante P, Romero F, Pérez M, Chávez M, Parra G. Effect of uric acid on nephrotoxicity induced by mercuric chloride in rats. *Toxicol Ind Health*, 2010, 26: 163-174.
235. Sharma MK, Sharma A, Kumar A, Kumar M. Evaluation of protective efficacy of *Spirulina fusiformis* against mercury induced nephrotoxicity in Swiss albino mice. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45: 879-887.
236. Agarwal R, Raisuddin S, Tewari S, Goel SK, Raizada R, Behari JR. Evaluation of comparative effect of pre-and posttreatment of selenium on mercury-induced oxidative stress, histological alterations, and metallothionein mRNA expression in rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 2010, 24: 123-135.
237. Alam MS, Kaur G, Jabbar Z, Javed K, Athar M. *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45: 910-920.
238. Venkatesan R, Sadiq AM, Kumar JS, Lakshmi GR, Vidhya R. Effect of Morin on mercury chloride induced nephrotoxicity. *Ecoscan*, 2010, 4: 193-196.
239. HaiBo Y, ZhaoFa X, Wei L, Yu D, Bin X. The protective role of procyanidins and lycopene against mercuric chloride renal damage in rats. *Biomed Environ Sci*, 2011, 24: 550-559.
240. Su L, Wang M, Yin S-T, Wang H-L, Chen L, Sun L-G, Ruan D-Y. The interaction of selenium and mercury in the accumulations and oxidative stress of rat tissues. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2008, 70: 483-489.
241. Özyurt H, Söğüt S, Yıldırım Z, Kart L, Iraz M, Armutçu F, Temel İ, Özen S, Uzun A, Akyol Ö. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. *Clin Chim Acta*, 2004, 339: 65-75.

242. Şener G, Şehirli AÖ, Ayanoğlu-Dülger G. Melatonin Protects Against Mercury (II)-Induced Oxidative Tissue Damage in Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2003, 93: 290-296.
243. Hussain S, Atkinson A, Thompson S, Khan A. Accumulation of mercury and its effect on antioxidant enzymes in brain, liver, and kidneys of mice. *J Environ Sci Health B*, 1999, 34: 645-660.
244. Bhadauria M, Shukla S, Mathur R, Agrawal OP, Shrivastava S, Johri S, Joshi D, Singh V, Mittal D, Nirala SK. Hepatic endogenous defense potential of propolis after mercury intoxication. *Integr Zool*, 2008, 3: 311-321.
245. Sharma MK, Kumar M, Kumar A. Ocimum sanctum aqueous leaf extract provides protection against mercury induced toxicity in Swiss albino mice. *Indian J Exp Biol*, 2002, 40: 1079-1082.
246. Bando I, Reus MIS, Andrés D, Cascales M. Endogenous antioxidant defence system in rat liver following mercury chloride oral intoxication. *J Biochem Mol Toxicol*, 2005, 19: 154-161.
247. Mansour SA, Mossa A-TH. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pestic Biochem Physiol*, 2009, 93: 34-39.
248. Wafa T, Amel N, Issam C, Imed C, Abdelhedi M, Mohamed H. Subacute effects of 2, 4-dichlorophenoxyacetic herbicide on antioxidant defense system and lipid peroxidation in rat erythrocytes. *Pestic Biochem Physiol*, 2011, 99: 256-264.
249. Bebe FN, Panemangalore M. Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats. *J Environ Sci Health B*, 2003, 38: 349-363.

250. Demir F, Uzun FG, Durak D, Kalender Y. Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin. *Pestic Biochem Physiol*, 2011, 99: 77-81.
251. Kanbur M, Eraslan G, Silici S. Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2009, 72: 909-915.
252. Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, Guiraud P, Douki T, Ravanat J-L, Favier A, Sakly M, Rhouma KB. Influence of static magnetic field on cadmium toxicity: study of oxidative stress and DNA damage in rat tissues. *J Trace Elem Med Biol*, 2006, 20: 263-269.
253. Rao MV, Chhunchha B. Protective role of melatonin against the mercury induced oxidative stress in the rat thyroid. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48: 7-10.
254. Joshi D, Srivastav SK, Belemkar S, Dixit VA. Zingiber officinale and 6-gingerol alleviate liver and kidney dysfunctions and oxidative stress induced by mercuric chloride in male rats: A protective approach. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 645-655.
255. Gao D, Zeng L-N, Zhang P, Ma Z-J, Li R-S, Zhao Y-L, Zhang Y-M, Guo Y-M, Niu M, Bai Z-F. Rhubarb anthraquinones protect rats against mercuric chloride (HgCl<sub>2</sub>)-induced acute renal failure. *Molecules*, 2016, 21: 298.
256. Mirani N, Ashraf N, Siddique J, Rub A. Protective effect of Rutin against cadmium induced hepatotoxicity in Swiss Albino Mice. *J Pharmacol Toxicol*, 2012, 7: 150-157.
257. Khan RA, Khan MR, Sahreen S. Protective effects of rutin against potassium bromate induced nephrotoxicity in rats. *BMC Complement Altern Med*, 2012, 12: 204.
258. Zalups R. Interactions between glutathione and mercury in the kidney, liver and blood. *Toxicology of Metals*, 1996.
259. Augusti P, Conterato G, Somacal S, Sobieski R, Spohr P, Torres J, Charão M, Moro A, Rocha M, Garcia S. Effect of astaxanthin on kidney function impairment and

- oxidative stress induced by mercuric chloride in rats. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46: 212-219.
260. Aslanturk A, Uzunhisarcikli M, Kalender S, Demir F. Sodium selenite and vitamin E in preventing mercuric chloride induced renal toxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, 2014, 70: 185-190.
261. Durak D, Kalender S, Uzun FG, Demır F, Kalender Y. Mercury chloride-induced oxidative stress in human erythrocytes and the effect of vitamins C and E in vitro. *Afr J Biotechnol*, 2010, 9: 488-495.
262. Aziza S, Azab M-S, El-Shall SK. Ameliorating role of rutin on oxidative stress induced by iron overload in hepatic tissue of rats. *Pak J Biol Sci*. 2014, 17: 964-977.
263. Sadeghnia HR, Yousefsani BS, Rashidfar M, Boroushaki MT, Asadpour E, Ghorbani A. Protective effect of rutin on hexachlorobutadiene-induced nephrotoxicity. *Ren Fail*, 2013, 35: 1151-1155.
264. Abarikwu SO, Adebayo OL, Otuechere CA, Iserhienrhien BO, Badejo TA. Selenium and rutin alone or in combination do not have stronger protective effects than their separate effects against cadmium-induced renal damage. *Pharm Biol*, 2016, 54: 896-904.
265. Borsini A, Zunszain PA, Thuret S, Pariante CM. The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis. *Trends Neurosci*, 2015, 38: 145-157.
266. Jaffer U, Wade R, Gourlay T. Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: a review. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*, 2010, 2: 161.
267. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso MA. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal Immunol Res*, 2014, 2014.
268. Woods JS, Dieguez-Acuña FJ, Ellis ME, Kushleika J, Simmonds PL. Attenuation of nuclear factor kappa B (NF-kappaB) promotes apoptosis of kidney

- epithelial cells: a potential mechanism of mercury-induced nephrotoxicity. *Environ Health Perspect*, 2002, 110: 819.
269. Cogswell PC, Guttridge DC, Funkhouser WK, Baldwin AS. Selective activation of NF- $\kappa$ B subunits in human breast cancer: potential roles for NF- $\kappa$ B2/p52 and for Bcl-3. *Oncogene*, 2000, 19: 1123.
270. Tian XF, Yao JH, Li YH, Zhang XS, Feng BA, Yang CM, Zheng SS. Effect of nuclear factor kappa B on intercellular adhesion molecule-1 expression and neutrophil infiltration in lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats. *World J Gastroenterol*, 2006, 12: 388.
271. Tian XF, Yao JH, Li YH, Gao HF, Wang ZZ, Yang CM, Zheng SS. Protective effect of pyrrolidine dithiocarbamate on liver injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2006, 5: 90-95.
272. Yao JH, Li YH, Wang ZZ, Zhang XS, Wang YZ, Yuan JC, Zhou Q, Liu KX, Tian XF. Proteasome inhibitor lactacystin ablates liver injury induced by intestinal ischaemia-reperfusion. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34: 1102-1108.
273. Fan Z, Jing H, Yao J, Li Y, Hu X, Shao H, Shen G, Pan J, Luo F, Tian X. The protective effects of curcumin on experimental acute liver lesion induced by intestinal ischemia-reperfusion through inhibiting the pathway of NF- $\kappa$ B in a rat model. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014.
274. Jing H, Shen G, Wang G, Zhang F, Li Y, Luo F, Yao J, Tian X-F. MG132 alleviates liver injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats: involvement of the AhR and NF $\kappa$ B pathways. *J Surg Res*, 2012, 176: 63-73.
275. Wang T, Zhang X, Li JJ. The role of NF- $\kappa$ B in the regulation of cell stress responses. *Int immunopharmacol*, 2002, 2: 1509-1520.

276. Ohno H, Takimoto G, McKeithan TW. The candidate proto-oncogene bcl-3 is related to genes implicated in cell lineage determination and cell cycle control. *Cell*, 1990, 60: 991-997.
277. Wulczyn FG, Naumann M, Scheidereit C. Candidate proto-oncogene bcl-3 encodes a subunit-specific inhibitor of transcription factor NF- $\kappa$ B. *Nature*, 1992, 358: 597.
278. Yang J, Williams RS, Kelly DP. Bcl3 interacts cooperatively with peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) coactivator 1 $\alpha$  to coactivate nuclear receptors estrogen-related receptor  $\alpha$  and PPAR $\alpha$ . *Mol Cell Biol*, 2009, 29: 4091-4102.
279. Omar HA, Mohamed WR, Arafa E-SA, Shehata BA, El Sherbiny GA, Arab HH, Elgendy ANA. Hesperidin alleviates cisplatin-induced hepatotoxicity in rats without inhibiting its antitumor activity. *Pharmacol Rep*, 2016, 68: 349-356.
280. Kandemir FM, Kucukler S, Caglayan C, Gur C, Batil AA, Gülçin İ. Therapeutic effects of silymarin and naringin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats: Biochemical evaluation of anti-inflammatory, antiapoptotic, and antiautophagic properties. *J Food Biochem*, 2017, 41.
281. Abdel-Raheem IT, Khedr NF. Renoprotective effects of montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, against methotrexate-induced kidney damage in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2014, 387: 341-353.
282. Pal PB, Pal S, Das J, Sil PC. Modulation of mercury-induced mitochondria-dependent apoptosis by glycine in hepatocytes. *Amino acids*, 2012, 42: 1669-1683.
283. Mokart D, Capo C, Blache J, Delpero J, Houvenaeghel G, Martin C, Mege J. Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer. *Br J Surg*, 2002, 89: 1450-1456.



284. Halter J, Steinberg J, Fink G, Lutz C, Picone A, Maybury R, Fedors N, DiRocco J, Lee H-M, Nieman G. Evidence of systemic cytokine release in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol*, 2005, 37: 272.
285. Wu Y-L, Piao D-M, Han X-H, Nan J-X. Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31: 1523-1529.
286. Eldutar E, Kandemir FM, Kucukler S, Caglayan C. Restorative effects of Chrysin pretreatment on oxidant–antioxidant status, inflammatory cytokine production, and apoptotic and autophagic markers in acute paracetamol-induced hepatotoxicity in rats: An experimental and biochemical study. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, 31:11
287. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1655-1669.
288. Adil M, Kandhare AD, Visnagri A, Bodhankar SL. Naringin ameliorates sodium arsenite-induced renal and hepatic toxicity in rats: decisive role of KIM-1, Caspase-3, TGF- $\beta$ , and TNF- $\alpha$ . *Ren Fail*, 2015, 37: 1396-1407.
289. Fouqueray B, Philippe C, Herbelin A, Perez J, Ardaillou R, Baud L. Cytokine formation within rat glomeruli during experimental endotoxemia. *J Am Soc Nephrol*, 1993, 3: 1783-1791.
290. Donnahoo KK, Shames BD, Harken AH, Meldrum DR. The role of tumor necrosis factor in renal ischemia-reperfusion injury. *J Urol*, 1999, 162: 196-203.
291. Moneim AEA. The neuroprotective effect of berberine in mercury-induced neurotoxicity in rats. *Metab Brain Dis*, 2015, 30: 935-942.
292. Ghosh A, Sil PC. A protein from *Cajanus indicus* Spreng protects liver and kidney against mercuric chloride-induced oxidative stress. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31: 1651-1658.

293. Şener G, Sehirli Ö, Tozan A, Velioglu-Övünç A, Gedik N, Omurtag GZ. Ginkgo biloba extract protects against mercury (II)-induced oxidative tissue damage in rats. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45: 543-550.
294. Guo R, Wu K, Chen J, Mo L, Hua X, Zheng D, Chen P, Chen G, Xu W, Feng J. Exogenous hydrogen sulfide protects against doxorubicin-induced inflammation and cytotoxicity by inhibiting p38MAPK/NFκB pathway in H9c2 cardiac cells. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32: 1668-1680.
295. Bae Y, Lee S, Kim S-H. Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor-κB. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 254: 56-64.
296. Dinarello CA, van der Meer JW. In treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. *Semin Immunol*, 2013; 469-484.
297. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*, 2013, 39: 1003-1018.
298. Yeh C-H, Yang J-J, Yang M-L, Li Y-C, Kuan Y-H. Rutin decreases lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibition of oxidative stress and the MAPK–NF-κB pathway. *Free Radic Biol Med*, 2014, 69: 249-257.
299. Pan P-H, Lin S-Y, Wang Y-Y, Chen W-Y, Chuang Y-H, Wu C-C, Chen C-J. Protective effects of rutin on liver injury induced by biliary obstruction in rats. *Free Radic Biol Med*, 2014, 73: 106-116.
300. Zarpelon AC, Rodrigues FC, Lopes AH, Souza GR, Carvalho TT, Pinto LG, Xu D, Ferreira SH, Alves-Filho JC, McInnes IB. Spinal cord oligodendrocyte-derived alarmin IL-33 mediates neuropathic pain. *The FASEB Journal*, 2016, 30: 54-65.
301. Pastorelli L, De Salvo C, Vecchi M, Pizarro TT. The role of IL-33 in gut mucosal inflammation. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013.

302. Demirtas L, Turkmen K, Kandemir FM, Ozkaraca M, Kucukler S, Gürbüz M, Comaklı S. The possible role of interleukin-33 as a new player in the pathogenesis of contrast-induced nephropathy in diabetic rats. *Ren Fail*, 2016, 38: 952-960.
303. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*, 2005, 23: 479-490.
304. Mirchandani AS, Salmond RJ, Liew FY. Interleukin-33 and the function of innate lymphoid cells. *Trends Immunol*, 2012, 33: 389-396.
305. Ohno T, Oboki K, Kajiwara N, Morii E, Aozasa K, Flavell RA, Okumura K, Saito H, Nakae S. Caspase-1, caspase-8, and calpain are dispensable for IL-33 release by macrophages. *J Immunol*, 2009, 183: 7890-7897.
306. Talabot-Ayer D, Calo N, Vigne S, Lamacchia C, Gabay C, Palmer G. The mouse interleukin (Il) 33 gene is expressed in a cell type-and stimulus-dependent manner from two alternative promoters. *J Leukoc Biol*, 2012, 91: 119-125.
307. Carriere V, Roussel L, Ortega N, Lacorre D-A, Americh L, Aguilar L, Bouche G, Girard J-P. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci*, 2007, 104: 282-287.
308. Roussel L, Erard M, Cayrol C, Girard JP. Molecular mimicry between IL-33 and KSHV for attachment to chromatin through the H2A–H2B acidic pocket. *EMBO reports*, 2008, 9: 1006-1012.
309. Ali S, Mohs A, Thomas M, Klare J, Ross R, Schmitz ML, Martin MU. The dual function cytokine IL-33 interacts with the transcription factor NF- $\kappa$ B to dampen NF- $\kappa$ B–stimulated gene transcription. *J Immunol*, 2011, 187: 1609-1616.

310. Haddad JJ. Mitogen-activated protein kinases and the evolution of Alzheimer's: a revolutionary neurogenetic axis for therapeutic intervention? *Prog Neurobiol*, 2004, 73: 359-377.
311. Seger R, Krebs EG. The MAPK signaling cascade. *The FASEB Journal*, 1995, 9: 726-735.
312. Herlaar E, Brown Z. p38 MAPK signalling cascades in inflammatory disease. *Trends Mol Med*, 1999, 5: 439-447.
313. Beyaert R, Cuenda A, Vanden Berghe W, Plaisance S, Lee J, Haegeman G, Cohen P, Fiers W. The p38/RK mitogen-activated protein kinase pathway regulates interleukin-6 synthesis response to tumor necrosis factor. *The EMBO journal*, 1996, 15: 1914-1923.
314. Baldassare JJ, Bi Y, Bellone CJ. The role of p38 mitogen-activated protein kinase in IL-1 $\beta$  transcription. *J Immunol*, 1999, 162: 5367-5373.
315. Avila M, Berasain C. Making sorafenib irresistible: In vivo screening for mechanisms of therapy resistance in hepatocellular carcinoma hits on Mapk14. *Hepatology*, 2015, 61: 1755-1757.
316. Kumar S, Boehm J, Lee JC. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2: 717.
317. Kim SH, Johnson VJ, Sharma RP. Mercury inhibits nitric oxide production but activates proinflammatory cytokine expression in murine macrophage: differential modulation of NF- $\kappa$ B and p38 MAPK signaling pathways. *Nitric Oxide*, 2002, 7: 67-74.
318. Kettle A, Winterbourn C. Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production. *Redox Rep*, 1997, 3: 3-15.
319. Abdel-Raheem IT. Gastroprotective Effect of Rutin against Indomethacin-Induced Ulcers in Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2010, 107: 742-750.

320. Kim SH, Lee IC, Baek HS-, Shin IS, Moon C, Bae CS, Kim SH, Kim JC, Kim HC. Mechanism for the protective effect of diallyl disulfide against cyclophosphamide acute urotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol*, 2014, 64: 110-118.
321. Wang B, Xiao Z, Ko HL, Ren E-C. The p53 response element and transcriptional repression. *Cell cycle*, 2010, 9: 870-879.
322. Godar DE. Preprogrammed and Programmed Cell Death Mechanisms of Apoptosis: UV-Induced Immediate and Delayed Apoptosis. *Photochem Photobiol*, 1996, 63: 825-830.
323. Akl H, Vervloessem T, Kiviluoto S, Bittremieux M, Parys JB, De Smedt H, Bultynck G. A dual role for the anti-apoptotic Bcl-2 protein in cancer: mitochondria versus endoplasmic reticulum. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2014, 1843: 2240-2252.
324. Wang H, Zhang Z, Wei X, Dai R. Small-molecule inhibitor of Bcl-2 (TW-37) suppresses growth and enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells. *Journal Ovarian Res*, 2015, 8: 3.
325. Chumakov P. Versatile functions of p53 protein in multicellular organisms. *Biochemistry (Moscow)*, 2007, 72: 1399-1421.
326. Menendez D, Inga A, Resnick MA. Potentiating the p53 network. *Discov Med*, 2010, 10: 94-100.
327. Ma J-Q, Liu C-M, Yang W. Protective effect of rutin against carbon tetrachloride-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in mouse kidney associated with the ceramide, MAPKs, p53 and calpain activities. *Chem Biol Interact*, 2018, 286: 26-33
328. Kishore BK, Krane CM, Di Iulio D, Menon AG, Cacini W. Expression of renal aquaporins 1, 2, and 3 in a rat model of cisplatin-induced polyuria. *Kidney international*, 2000, 58: 701-711.

329. Abdeen A, Sonoda H, Oshikawa S, Hoshino Y, Kondo H, Ikeda M. Acetazolamide enhances the release of urinary exosomal aquaporin-1. *Nephrol Dial Transplant*, 2016, 31: 1623-1632.
330. Hara-Chikuma M, Verkman A. Aquaporin-1 facilitates epithelial cell migration in kidney proximal tubule. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17: 39-45.
331. Li H, Chen H, Steinbronn C, Wu B, Beitz E, Zeuthen T, Voth GA. Enhancement of proton conductance by mutations of the selectivity filter of aquaporin-1. *J Mol Biol*, 2011, 407: 607-620.
332. Bottino C, Vázquez M, Devesa V, Laforenza U. Impaired aquaporins expression in the gastrointestinal tract of rat after mercury exposure. *J Appl Toxicol*, 2016, 36: 113-120.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p><b>Adı Soyadı:</b> Cüneyt Çağlayan</p> <p><b>Doğum tarihi:</b> 03.02.1988</p> <p><b>Doğum yeri:</b> Muş</p> <p><b>Medeni hali:</b> Evli 1 çocuk</p> <p><b>Uyruğu:</b> T.C</p> <p><b>Adres:</b> Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 12000 Bingöl</p> <p><b>Tel:</b> 0426 216 00 12 (dahili: 11 49)</p> <p><b>Fax:</b> 0426 216 00 36</p> <p><b>E-mail:</b> ccaglayan@bingol.edu.tr</p>
Eğitim
<p><b>Lise:</b> Bulanık Lisesi (2004)</p> <p><b>Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi (2006-2010)</p> <p><b>Yüksek lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı (2011-2013)</p> <p><b>Doktora:</b> Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (2014-2018)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce : Yök dil sağlık 67.50, Bahar dönemi 2017</p>

# EK-2.ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

Sayı : 20369917-500.07.03-E.1600309288  
Konu : Tez Konusunun Belirlenmesi  
(Cüneyt ÇAĞLAYAN)

21.12.2016

## VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Enstitümüz Yönetim Kurulunun 14.12.2016 tarihli oturumunda alınan 40/04 sayılı karar metni aşağıya çıkarılmıştır.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr. Mehtap TAN  
Enstitü Müdürü

**KARAR-04** : Enstitümüz Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı doktora programı öğrencisi **Cüneyt ÇAĞLAYAN**'ın tez konusunun belirlenmesine ilişkin, Anabilim Dalı Başkanlığının 12.12.2016 tarih ve 1600279660 sayılı yazısı görüşüldü.

**Yapılan görüşmede;** 2015-2016 eğitim-öğretim yılı güz yarısında doktora eğitimine başlayan **Cüneyt ÇAĞLAYAN**'ın ders aşamasını başarıyla tamamladığı ve 27.07.2016 tarihinde yeterlik sınavına girerek başarılı olduğu dosyasının incelenmesinden anlaşılmaktadır. Adı geçen öğrencinin tez konusunun belirlenmesine ilişkin doktora tez başvuru formu, tez izleme komitesi, tez önerisi toplantı tutanağı ve HADYEK kararı incelenmiş olup, tez konusunun tez başvuru formunda teklif edildiği şekli ile "**Ratlarda Civa (II) Klorür Kaynaklı Karaciğer ve Böbrek Hasarı Üzerine Rutin'in Etkilerinin Araştırılması**" olarak belirlenmesine, kararın öğrenciye ve Anabilim Dalı Başkanlığına bildirilmesine, oy birliğiyle karar verildi.

Atatürk Üniversitesi Enstitüler Binası Kat:1 25240 Erzurum  
Tel: +90 442 2314886  
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#/birim=saglik-bilimleri-enstitusu>

Kep Adresi: [atauni@hs01.kep.tr](mailto:atauni@hs01.kep.tr)

Bilgi: Hakan AKSAKAL  
Faks: +90 442 2314888



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. [www.atauni.edu.tr](http://www.atauni.edu.tr) adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=831F3CB



## EK-3.DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU KARARI



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1600296655  
Konu : HADYEK Kararı.

09.12.2016

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 11.11.2016 tarihli ve 36643897-000-E.1600268397 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 06.12.2016 tarih ve 8 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 161 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

**Toplantı Tarihi:** 06.12.2016

**Toplantı Sayısı :** 8

**KARAR NO 161:** Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Fatih Mehmet KANDEMİR'in yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "**Ratlarda Civa (II) Klorür Kaynaklı Karaciğer ve Böbrek Hasarı Üzerine Rutin'in Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 11.11.2016 tarih ve 36643897-000-E.1600268397 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ  
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum  
Tel: +90 442 2317222  
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>

**Kep Adresi:** [atauni@hs01.kep.tr](mailto:atauni@hs01.kep.tr)

Bilgi: Mehmet KOCA  
Faks: +90 442 2317244  
E-Posta: [vETFak@atauni.edu.tr](mailto:vETFak@atauni.edu.tr)



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.  
[www.atauni.edu.tr](http://www.atauni.edu.tr) adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=805758F