



T.C.

ALANYA ALAADDİN KEYKUBAT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

**KADMIYUM VERİLEN SIÇANLARIN DAMAR YAPILARINDA
OLUŞAN HASARA KARŞI ANKAFERD BLOOD STOPER'IN ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Nalan SÜNBÜLCÜ

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Aydın CANDAN**

**ALANYA
2022**

**Nalan
SÜNBÜLCÜ**

**Kadmiyum Verilen Siçanların Damar Dokularında Oluşan Hasara
Karşı Ankaferd Blood Stopper'in Etkisi**

ALKÜ 2022

T.C.
ALANYA ALAADDİN KEYKUBAT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**KADMİYUM VERİLEN SIÇANLARIN DAMAR YAPILARINDA OLUŞAN
HASARA KARŞI ANKAFERD BLOOD STOPER'IN ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Nalan SÜNBÜLCÜ
MOLEKÜLER TIP ANA BİLİM DALI
Moeküler Tıp Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Aydın CANDAN

2022- ALANYA

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu dönem projesinin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilemeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Nalan SÜNBÜLCÜ

İmza

TEŞEKKÜR

Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi'nde yapmış olduğum tez çalışmam sonucunda elde ettiğim bilgileri dikkatinize sunmaktayım.

Bu çalışmayı hazırlarken geçirdiğim süreçte benden yardımlarını esirgemeyen ve bana bu uygulama ödevini vererek kendimi daha da geliştirmeme katkı sağlayan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Aydın CANDAN'a teşekkür ederim.

Deneylerin yapılması ve laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan ALKÜ Tıp Fakültesi 4. Sınıf Öğrencisi Malik Ejder GÜLPAK'a teşekkür ederim.

Deneyimizin yapılmasında ve uygulanmasında bizden yardımlarını esirgemeyen ve her türlü desteği sağlayan SDÜ Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D. Öğretim Üyesi Doç. Dr. Halil AŞÇI ve Doç. Dr. Mehtap SAVRAN'a teşekkür ederim.

Beni tezimin her aşamasında destekleyen ve sürekli özverili davranan sevgili eşim Aytekin SÜNBÜLCÜ'ye ve çocuklarıma teşekkür ediyorum.

Benim bugünlere gelmemi sağlayan ve tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan anneme, babama ve kardeşlerime teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

KADMİYUM VERİLEN SIÇANLARIN DAMAR YAPILARINDA OLUŞAN HASARA KARŞI ANKAFERD BLOOD STOPER'IN ETKİSİ

Nalan SÜNBÜLCÜ

Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,

Temmuz, 2022 (75Sayfa)

Amaç: Çalışmamızda sıçanlarda kadmiyum (Cd) toksitesinin damarlarda oluşturduğu hasara karşı Ankaferd Blood Stoper (ABS)'ın etkisini göstermeyi amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda kiloları 350-450 gr aralığında, toplam 32 tane Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Her grupta 8 sıçan olacak şekilde (n=8) Kontrol, Cd, ABS, Cd+ABS grupları oluşturuldu. Kontrol grubuna 0,5 ml serum fizyolojik, Cd grubuna 0,5 ml CdCl₂, ABS grubuna 0,5ml ABS, Cd+ABS grubuna 0,5 ml CdCl₂+ABS intraperitoneal (ip) yoldan uygulandı. 6 saat sonra sıçanlar anestezi altında sakrifiye edilerek histopatolojik çalışmalar için damar dokuları ve biyokimyasal analizler için kanları alındı. Histolojik doku takipleri yapıp histokimyasal ve immunohistokimyasal boyamalar gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışmamızın histopatolojik incelemeleri sonucunda kontrol grubuna aitsiçanların aort dokusunda herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanılmamıştır. Kontrol grubuna benzer şekilde ABS grubunda da histopatolojik bulgulara çok az rastlanmış ve sadece damar yapılarında hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu artışı gözlemlenmiştir. Cd verilen grubun aort dokularının incelenmesi neticesinde mononükleer hücre infiltrasyonu, endotel hücre hasarı, damarlarda konjesyon ve hemoraji, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma tespit edilmiş ve kontrol ve ABS grubuna göre anlamlı olduğu görülmüştür (p<0,005). Cd+ABS verilen grubun preparatlarının incelenmesi sonucunda Cd grubuna kıyasla mononükleer hücre infiltrasyonu, endotel hücre hasarı, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma bulgularında anlamlı azalmalar gözlemlenmiştir.

İmmunohistokimyasal incelemeler sonucunda kontrol ve ABS gruplarına ait boyamaların incelenmesi sonucunda eNOS, TNF- α ve E-kaderin boyamalarının negatif olduğu tespit edildi ve görüntülendi. Cd grubuna ait aort dokularının eNOS, TNF- α ve E-kaderin antikorlarıyla boyanması neticesinde kontrol ve ABS gruplarından istatistiksel açıdan farklı olduğu ve sentezlerinin yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,005$). Özellikle eNOS ve TNF- α sentezlerinin oldukça arttığı gözlemlendi. Cd+ABS grubuna ait preparatların immünohistokimyasal boyamalarının değerlendirilmesi ve incelenmesi neticesinde Cd grubuna göre eNOS, TNF- α ve E-kaderin sentezlerinin azaldığı tespit edildi. eNOS ve TNF- α düzeylerinin istatistiksel açıdan da anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0,005$).

Çalışmamızın biyokimyasal analiz kısmında oksidatif stres parametreleri çalışılmıştır. Cd grubundaki ratların kanlarındaki total tiyol (TT) ve native tiyol (NT) değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,001$). ABS ile tedavi edilen gruplarda TT ve NT değerleri Cd grubuna göre anlamlı olarak arttı (sırasıyla $p=0,041$ ve $p=0,020$). Sadece ABS uygulanan grupta TT ve NT değerleri diğer gruplara göre anlamlı olarak arttı (tümü için $p\leq 0,001$). Grupların karşılaştırılmasında disülfid bağ seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

Sonuç: Sonuç olarak Cd'a bağlı toksisitenin sıçanların damar dokusunda hasarlar meydana getirdiği, ABS'nin dokuları bu hasardan koruduğunu gösterdik. Çalışmamızın Cd toksitesine maruz kalan bireylerin korunmasına katkı sağlayacağını umut ediyoruz.

Anahtar kelimeler: Kadmiyum, Ankaferd Blood Stoper, Damar, Toksikite.

ABSTRACT

THE EFFECT OF ANKAFERD BLOOD STOPPER ON DAMAGE CAUSED IN VASCULAR STRUCTURES OF RATS GIVEN CADMIUM

Nalan SUNBULCU

Department of Molecular Medicine

Graduate School of Alanya Alaaddin Keykubat University,

July, 2022 (75Pages)

Objective: In our study, we aimed to show the effect of Ankaferd Blood Stopper (ABS) against the damage caused by cadmium (Cd) toxicity in the vessels, especially in the endothelial tissue in rats.

Materials and Methods: In our study, a total of 32 Wistar Albino male rats weighing 350-450 gr were used. Control, Cd, ABS, Cadmium+ABS groups were formed with 8 rats in each group (n=8). 1 ml of physiological saline, 0.5 ml of CdCl₂ to the Cd group, 0.5 ml of ABS to the ABS group, and 0.5 ml of CdCl₂+ABS to the Cd+ABS group were administered intraperitoneally. After 6 hours, the rats were sacrificed under anesthesia and their vascular tissues were taken for histopathological studies and their blood was taken for biochemical analysis. Histological tissue follow-ups were performed and histochemical and immunohistochemical stainings were performed.

Results: As a result of histopathological examinations at the end of our study, no histopathological findings were found in the aortic tissue of the rats belonging to the control group. Similar to the control group, histopathological findings were very rare in the ABS group, and hemorrhage and increased mononuclear cell infiltration were observed only in the vascular structures. As a result of the examination of the aortic tissues of the Cd group, mononuclear cell infiltration, endothelial cell damage, congestion and hemorrhage in the vessels, damage to smooth muscles and elastic fibers were detected and it was found to be significantly compared to the control and ABS groups ($p<0.005$). As a result of the examination of the preparations of the Cd+ABS group, significant reductions were observed in the findings of mononuclear cell

infiltration, endothelial cell damage, damage to smooth muscles and elastic fibers compared to the Cd group.

As a result of immunohistochemical examinations, eNOS, TNF- α and E-cadherin stainings were found to be negative as a result of the stainings of the control and ABS groups. It was determined that they were different in terms of terms and their synthesis was high ($p<0.005$). It was observed that especially eNOS and TNF- α synthases increased considerably. As a result of the evaluation and examination of the immunohistochemical staining of the preparations belonging to the Cd+ABS group, it was determined that the eNOS, TNF- α and E-cadherin synthases were decreased compared to the Cd group. eNOS and TNF- α levels were also found to be statistically significantly decreased ($p<0.005$).

In the biochemical analysis part of our study, oxidative stress parameters were studied. The TT and NT values in the blood of the rats in the CD group were significantly decreased compared to the control group ($p=0.002$ and $p=0.001$, respectively). Total thiol (TT) and native thiol (NT) values increased significantly in the ABS treated groups compared to the Cd group ($p=0.041$ and $p=0.020$, respectively). It was determined that there was no significant change in disulfide bond levels.

Conclusion: As a result, we showed that Cd causes damage to the vascular tissue of rats, and ABS protects the tissues from this damage. We hope that our study will contribute to the treatment or protection of individuals exposed to Cd toxicity.

Keywords: Cadmium, Ankaferd Blood Stopper, Endothelium, Toxicity.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY SAYFASI	i
ETİK İLKE ve KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	ii
ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER SAYFASI	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
1.GİRİŞ ve AMAÇ	
1.1 Giriş.....	1
1.2 Amaç.....	2
2.GENEL BİLGİLER	
2.1 Damarlar	3
2.1.1 Damarın Anatomik Yapısı	3
2.1.2 Damarın Embriyolojik Yapısı.....	4
2.1.3 Damarın Histolojik Yapısı	4
2.1.4 Damar Endoteli ve İşlevleri	7
2.1.5 Endotel Hücrelerinin Foksiyonları.....	7
2.1.6 Endotelden Salınan Mediyatörler	9
2.1.6.1 Nitrik Oksit (NO).....	9
2.1.6.2 Prostaglandin (PGI ₂)	14
2.1.6.3 Endotelin-1 (ET-1).....	14
2.1.6.4 Platelet Aktive Edici Faktör (PAF).....	15
2.1.6.5 Tümör Nekroz Faktörü (TNF – α)	15
2.1.6.6 Anjiyotensin II	19
2.1.7 Endotel Disfonksiyonu ve Hastalıklar	19
2.1.7.1 Diabetes Mellitus (DM)	20
2.1.7.2 Hipertansiyon.....	20
2.1.7.3 Obezite	20
2.1.7.4 Sigara	20

2.2 Adezyon Molekülleri	21
2.2.1 İntegrinler.....	22
2.2.2 Kaderinler	22
2.2.3 Selektinler	23
2.2.4 İmmünoglobulin (Ig) Süpergen Ailesi	24
2.2.5 Hücre Yüzey Proteoglikanları (PG).....	25
2.3 Ağır Metaller.....	25
2.3.1 Kurşun (Pb).....	26
2.3.2 Civa (Hg)	27
2.3.3 Kadmiyum (Cd)	28
2.3.3.1 Kadmiyumun Apoptopik Etkileri	30
2.3.3.2 Kadmiyumun Antiapoptopik Etkileri	31
2.3.3.3 Kadmiyumun Antianjiyogek Etkisi	32
2.3.3.4 Kadmiyumun Damar Endoteli Üzerindeki Etkisi	32
2.3.3.5 Kadmiyumun Vücutta Emilimi ve Dağılımı.....	34
2.3.3.6 Kadmiyum Maruziyeti	35
2.4 Ankaferd Blood Stopper (ABS).....	36
3.GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1 Gereç	40
3.1.1 Deney Hayvanları	40
3.1.2 Deney Kimyasalları	40
3.2 Yöntem.....	40
3.2.1 Deney Planı.....	40
3.2.2 Histolojik Doku Takip Çalışmaları.....	41
3.2.3 Biyokimyasal Analizler	45
4.BULGULAR	
4.1 Biyokimyasal Analiz Sonuçları	46
4.2 Histolojik Bulgular	48
4.2.1 Histopatolojik Değerlendirme.....	48
4.2.2 İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	52
5.TARTIŞMA,SONUÇ VE ÖNERİLER	56
5.1 Tartışma.....	56
5.2 Sonuç ve Öneriler.....	60
6.KAYNAKLAR.....	62

7.EKLER

Ek1: Etik kurul onayı

ÖZGEÇMİŞ.....74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Kan damarlarının Başlıca Yapısal Özellikleri.....	4
Şekil 2.2Büyük bir Arterin Şematik Diyagramı	6
Şekil 2.3 NO mekanizması	11
Şekil 2.4 NO Sentezi	11
Şekil 2.5 eNOS Aktivasyonu.....	13
Şekil 2.6 Hücre-Hücre Adezyon Molekül Tipleri	21
Şekil 2.7Ağır Metallerin Hücre İçi Etkileri	26
Şekil 4.1 Hematoksilen-Eozin Resimleri.....	51
Şekil 4.2 İmmunohistokimya Resimleri.....	55

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 TNF α Etkileri	17
Tablo 2.2 Endotelden Salınan Mediyatörler	18
Tablo 2.3 İnsanda Cadmiyum Toksikitesinin Başlıca Etkileri	36
Tablo 3.1 Deney grupları, Verilen Kimyasalların Dozları ve Süreleri	41
Tablo 4.1 Biyokimya Sonuçları	46
Tablo 4.2 Sıçanların Kan dokularının Oksidatif Stres Belirteçleri.....	47
Tablo 4.3 Hematoksilen-Eozin Değerlendirme Sonuçları	48
Tablo 4.4 Skorlama Tablosu	49
Tablo 4.5 Aort Hematoksilen-Eozin Gruplara Göre Değerlendirme Grafiği.....	49
Tablo 4.6 Aort Hematoksilen Eozin Anova İstatistik Sonuçları.....	50
Tablo 4.7 İmmünohistokimya Değerlendirme Tablosu.....	52
Tablo 4.8 Aort İmmünohistokimya Gruplara Göre Değerlendirme Grafiği.....	53
Tablo 4.9 Aort İmmünohistokimya Anova İstatistik Sonuçları.....	53

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

Kadmiyum	: Cd
Ankaferd Blood Stopper	: ABS
Düşük Dansiteli Lipoprotein.....	: LDL
Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim.....	: ACE
Nitrik Oksit	: NO
Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör	: GM-CSF
Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör	: G-CSF
Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör	: M-CSF
Guanozin 5-trifosfattan	: GTP
SiklikGuanozin Monofosfat.....	: cGMP
Nitrik Oksit Sentetaz.....	: NOS
Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz	: eNOS
Nöronal Nitrik Oksit Sentetaz.....	: nNOS
İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz	: iNOS
Prostasiklin.....	: PGI ₂
Endotelin-1.....	: ET-1
Platelet Aktive Edici Faktör.....	: PAF
Tümör Nekroz Faktörü	: TNF- α
Vasküler Hücre Adhesyon Molekül 1	: VCAM1
İntersellüler Adhesyon Molekül 1	: ICAM1
Anjiotensin-II.....	: Ang-II
Kurşun.....	: Pb
Civa.....	: Hg
Malondialdehit	: MDA
Serbest Radikaller	: ROS
Fibroblast Büyüme Faktörü	: (FGF)
Fibroblast Büyüme Faktörü	:FGF
Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler	:VLDL
Platelet-Kaynaklı Büyüme Faktörü	:PDGF
Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi	:IARC
Hypoxia-İnducible Factor	:HIF- α

1.GİRİŞ VE AMAÇ

1.1.Giriş

Geçmişten günümüze ekolojik dengeyi bozan, insan, bitki ve hayvan sağlığı için tehdit oluşturan en önemli tehlike çevre sorunlarıdır. Hızla artan teknolojik ihtiyaçlar ve gelişen bilim, bir yandan çok sayıda kimyasalınıyararlı amaçlar için kullanılmasına imkân sağlarken, diğer yandan da birçok problemin ortaya çıkmasına neden olurlar. Bu problemlerden biri de çevre kirliliğidir. Çevre kirliliğine sebep olan kimyasallar arasında; ağır metaller başı çeker. Ağır metaller hem çevre koşullarına dayanıklı aynı zamanda biyolojik sistemlere zarar veren maddelerdir. Bu ağır metaller doğal olarak besin zincirine geçerek canlılarda kümülatif olarak birikerek toksik etki oluşturmaktadır. Bunlara ilave olarak teknolojiye artan ilgiyle gelen bilinçsiz elektronik alet tüketimi sonucu ortaya çıkan elektronik atıkların (e-atık) prosedürüne uygun olmayan yöntemlerle toplanması, depolaması ve bertaraf edilmesi sebebiyle açığa çıkan ağır metaller tüm canlıları ve çevreyi olumsuz etkilemektedir(1).

Ağır metallerin toksisitesi neredeyse bütün fizyolojik mekanizmalar üzerine öyle ya da böyle etki etmektedir ve toksisitenin patolojisi hemen hemen benzerlik göstermektedir(3). Toksisite oluşumunda maruz kalınan madde, maddenin dozu, etkilenme şekli, etkilenme zamanı ve sıklığı önemlidir. Öte taraftan etkilenilen maddenin kimyasal özellikleri, diğer kimyasallarla etkileşimi, yaşam biçimi ve immun sistem ağır metallerin oluşturacağı toksisitenin boyutunu değiştirebilmektedir(2). Mesleki ve endüstriyel kirleticilerin en önemlilerinden biri olarak kabul edilen Kadmiyum toksik ağır bir metaldir(4).

Kadmiyum (Cd), 1817 yılında Friedrich STROMEYER tarafından keşfedilmiş, periyodik tablonun 2B grubunda yer alan hava, su ve toprakta belirli düzeyde bulunan toksik ağır metaldir. Cd hemen hemen her yerde bulunan çevresel ve mesleki bir kirleticidir. Günümüzde ağırlıklı olarak nikel-kadmiyum piller, pigmentler ve plastik stabilizatörlerin imalatında kullanılırken, alaşım, lehim ve galvanik uygulamalarda kullanımında azalma eğilimine girmiştir. Ayrıca sigaranın majör bileşiklerinden biri olması Cd maruziyetini kaçınılmaz hale getirmiştir. Hem doğal hem de antropojenik faaliyetler, çevresel Cd miktarlarına önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Cd'ye mesleki maruziyet genellikle maden işletmelerinde, pillerin ve Cd içeren pigmentlerin üretiminde, Cd alaşımlarının ve bileşiklerinin üretimi ve işlenmesinde ve elektronik atıkların geri dönüştürülmesi sırasında meydana gelmektedir. Cd, çoğunlukla yarılanma

ömrünün uzun olması (15 ila 20 yıl), çevrede ve çeşitli dokularda kalıcılığı nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir(5).

Endotel, kan damarlarının iç kısmını döşeyen su ve madde alışverişini sağlayan, tek katlı yassı epitelle döşeli yaklaşık 1 kg ağırlığında vücudun en büyük dokusudur. Ayrıca endotel yaklaşık 7 metrekare yüzey alanına sahip, kanla diğer dokular arasında düzenleyici, sentez görevi olan ve vücut dengesinin sağlanmasında görevleri olan çok önemli bir dokudur. Endotel hücrelerinden salgılanan mediyatörler sayesinde vazomotor düzenlenmesini, lökositlerin adezyonu ve trombozisle fibrinolizis arasındaki denge sağlanmaktadır(6).

Endotelyal fonksiyon bozukluğudamar sisteminde vazodilatasyon ile vazokonstriksiyon arasındaki dengenin vazokonstriksiyon tarafına bozulması olarak tarif edilmektedir. Endotel fonksiyon bozukluğu kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere diyabet, hipertansiyon, ateroskleroz gibi önemli hastalıkların oluşmasında önemli görevlere sahiptir(7). Bu sebeplerle araştırmacılar endotel disfonksiyonunun erken tanısına odaklanmışlardır.

Ankaferd Blood Stopper (ABS) (Ankaferd Health Products Ltd. Istanbul, Turkey), Türklerin tıpta ve halk arasında yüzyıllardır kullandığı beş bitkisel içeriğin farklı oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen hemostatik bir ajandır. Ayrıca, vasküler endotel, kan hücreleri, yeni damar oluşumu, hücre proliferasyonu, vasküler dinamikler ve mediatörler üzerine etkileri olan bitkisel bir karışımdır(8).

1.2 Amaç

Çalışmamızda sıçanlarda Cd toksitesinin damarlarda oluşturduğu hasara karşı ABS'nin etkisini göstermeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

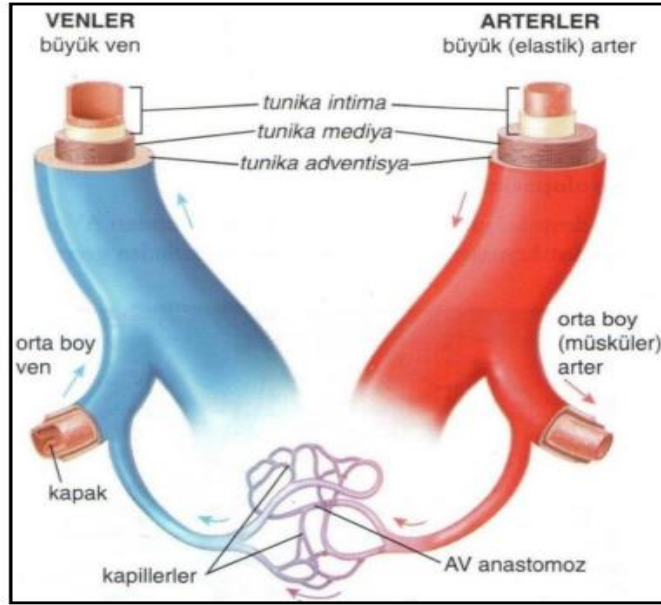
2.1.Damarlar

Kalp-damar sistemi; kalp ve damarlardan oluşan, aralıksız devam eden t p şeklinde bir sistemdir. Kardiyovasküler sistemin başlıca g revibesin ve oksijeni v coda, vücutta oluşan metabolik atıkları da boşaltım organlarına taşımaktır. Böylece tüm v coda ağlar göndererek bağlantı oluşturur(9,10).

2.1.1.Damarın anatomik yapısı

Anatomik açıdan kalpten çıkan damarlara arter, kalbe giren damarlara ven denir. Arterler kalpten çıktıktan sonra dallanırlar. Dallandık a daha küçük  aplıarteriyollere d n ş rl r. Kapillerven sisteminin başı olan postkapiller venüllere açılır. Postkapiller venüller birleşerek küçük venleri; küçük venler de bir araya gelerek b   k çaplı venleri oluştururlar. Kirli kan kalbe, b   k venler tarafından taşınır(9,11, 12).

Kalbe kanı getiren damarlara ven, kalpten kanı götüren damarlara arter adı verilir. Vena cava superior, Vena cava inferior ve sinus coronarius saç atriyumuna açılmaktadır. V.c. superior gövdenin üst kısmından topladığı kirli kanı; V.c. inferior gövdenin alt kısmından topladığı kirli kanı saç atriyumuna döker. Sinus coronarius ise kalptekikirli kanı saç atriyumuna döker. Saç ventrikülden, akciğerlere kirli kanı getiren, truncus pulmonalis ayrılır. Saç ventrikül ile truncus pulmonalis arasındaki yarıktaki    tane semilunar kapakçıktan oluşan valva trunci pulmonalis bulunur. Sol atriyumuna, akciğerlerden arteriyal kan getiren dört adet vena pulmonalis açılırken; sol ventrikülden, tüm v coda arteriyal kanı dağıtan aorta çıkar. Sol ventrikül ile aorta arasındaki yarıktaki    adet semilunar kapakçıktan oluşan valva aorta bulunur(12).



Şekil 2.1 Kan damarlarının Başlıca Yapısal Özellikleri (9).

2.1.2.Damarın embriyolojik yapısı

Kardiyovasküler sistem embriyonik dönemde fonksiyon gösteren ilk sistemdir. Mezodermal tabakadan gelişen kardiyovasküler embriyonik gelişimin üçüncü haftasında meydana gelir.

Embriyolojik vasküler sistem, VEGF ve diğer büyüme faktörlerinin etkisiyle, vaskülogenez ve anjiyogenez diye isimlendirilen iki değişik mekanizmayla meydana gelmektedir. Vaskülogenez, anjiyoblast denilen hücrelerin birleşmesiyle yeni damarların oluşmasıdır. Anjiyogenez ise eskiden var olan damarların bölünmesi ve dallara ayrılmasıyla yeni vasküler kanalların oluşmasıdır. Aort ve venler gibi büyük damarlar vaskülogenez ile oluşurken vasküler sisteminin gerisi anjiyogenez ile oluşmaktadır (13, 14).

2.1.3.Damarın histolojik yapısı

Damar duvarı; endotel, kas dokusu ve elastik lifleri içeren bağ dokusundan oluşmaktadır. Ancak kapillerler ve postkapiller venüller sadece endotel, bazal lamina ve perisitlerden oluşur. Bunların dışında tüm dokular, damar çeperinde bulunduğu damarın işlevlerine göre farklı oranlarda bulunmaktadır. Bağ dokunun vasküler sistemindeki miktarı ve düzeni, kan basıncının oluşturduğu mekanik ve fiziksel gereksinimlere göre değişmektedir (15).

Endotel; damar duvarının içini kaplayan, bazal membran üzerine dizilmiş, yassı şekilli, uzun poligonal hücrelerden oluşan, tek katlı yassı bir epitel tabakasıdır(9).

Endotel hücreleri, uzun eksenleri kan akımı yönünde olacak biçimde dizilmişlerdir. Endotel hücrelerinin lümene bakan yüzeylerinde çeşitli yüzey adezyon molekülleri ve reseptörler salgılanmaktadır. Damar duvarının yapısalve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasında önemli görev alan endotel dokusubulunduğu damara göre farklı görevler de üstlenir. Farklı vasküler hastalıklar, endotel hücrelerinin fonksiyon bozukluğundaortaya çıkabilmektedir(16).

Düz kas dokusu; tüm damarlarda bulunur ancak kapiller ve postkapiller venüllerde bulunmazlar. Düz kası oluşturanhücreler, damarların media tabakasında sık ve sarmal oluşturacak biçimde sıralanmışlardır. Her kas hücresinin etrafında bazal lamina ve kas hücresinden salgılanan farklı miktarda bağ dokusu bulunur.

Bağ dokusu; damar duvarında görevine göre değişebilen miktarlarda bağ dokusu elemanları içermektedir. Tüm tabakalarda belli oranlarda bulunan kollojen lifler Damarların duvarlarında en fazla bulunur ve damar duvarını mekanik ve hemodinamik etkilere karşı korur. Özellikle büyük çaplı arterlerin damar duvarında yoğunlukla bulunan, damar duvarına elastik özellik kazandıran elastik liflerdir.Elastik lifler arterlerin media tabakasında fenestralı lameller şeklinde konsantrik tabakalar meydana getirirler. Amorf ara madde glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, glikoproteinlerden oluşur. Hücreler arası alanda heterojen jelimsi bir tabaka oluşturarak damar duvarının fiziksel özelliklerine destek verir(17).

Arterlerin ve venlerin duvarları tunika denen üç tabakadan oluşmaktadır. Lümenden dışadoğru;

Tunika intima: Damarın en iç tabakasıdır. Üç komponentten oluşmaktadır.

a-Endotel: Tek tabakalı yassı epitel hücrelerinden oluşur.

b-Bazal lamina: Başlıca kollojen, proteoglikan ve glikoproteinlerden oluşan ince bir ekstraselüler tabakadır.

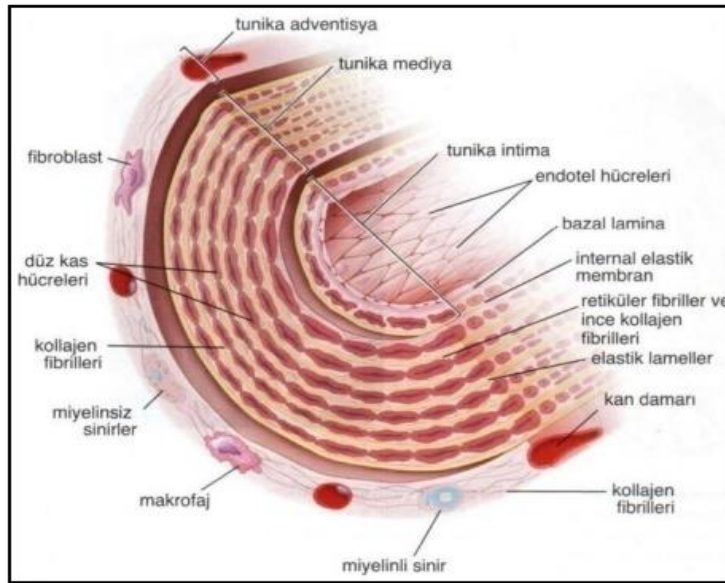
c-Subendotelyal tabaka: Gevşek bağ dokusundan oluşan tabakadır. Seyrek olarak düz kas hücreleri içermektedir.

Arterlerde ve arteriyollerde intimanın subendotelyal tabakası internal elastik membran (membrana elastik interna) adı verilen fenestralı(pencereli) elastik materyalden

oluşan yaprak benzeri bir tabaka ya da lameller içeren bir yapıyla media tabakasından ayrılmaktadır. Fenetrasyon, maddelerin tabakalardan kolaylıkla difüzyonla geçmesine böylelikle damar duvarının derinlerindeki hücelere ulaşmaşmasına imkân sağlar(17).

Tunika media: Orta tabaka olarak adlandırılındüz kas hücrelerinin sarmallaşarak dizildiğitabakadır. Kas hücrelerinin arasında, damar şekline göre değişen miktarlarda elastik liflerler, retiküler liflerler (tip III kollajen), proteoglikanlar ve amorf ara madde bulunmaktadır. Arterlerde diğerlerine kıyasla daha kalın olan tunika mediata tabakası, internal elastik membrandan eksternal elastik membrana uzanmaktadır. Tunika medyayı tunika adventisyaadan ayıran frestalı eksternal membrandır. Tunika medianın tüm eksternal komponentleri düz kas hücrelerince üretilir.

Tunika adventisya: En dış tabakaya verilen addır. Esasen boyuna dizimli kollajen lifler (tip I kollajen) ve az miktarda elastik lifler ihtiva eden bağ dokusundan oluşur. T.adventisya tabakası damarları kuşatan bağ dokusuyla birleştiğinden, çevre bağ dokusuylaaralarındabelirgin bir sınır bulunmaz. Bu tabaka bazı damarlarda kalın bazı damarlarda incedir. Büyük arter ve venlerin bu tabakasında, düz kas kasılma mekanizmasını denetleyen bir sinir ağı (nervi vaskülaris) ve damar duvarının besin alış verişini sağlayan bir damar sistemi içermektedir(vaza vazorum) (9,16,18).



Şekil 2.2 Büyük bir Arterin Şematik Diyagramı(9).

2.1.4.Damar endoteli ve işlevleri

Yetişkin bir insan vücudunda dolaşım sistemi, içleri endotel denen tek katlı yassı epitel ile döşenmiş yaklaşık 60000 mil uzunluğunda farklı büyüklükte damarlardan oluşmaktadır. Endotel, yassı, uzun ve poligonal şekilli, süreklilik gösteren ve uzun eksenleri kan akımı yönünde dizilmiş tek katlı endotel hücreleri tabakasından oluşmaktadır. Lümene bakan yüzeyleri çeşitli yüzey adhezyon molekülleri ve reseptörler (düşük dansiteli lipoprotein(LDL), insülin, histamin) üretmektedir.Endotel hücrelerinin en önemli görevlerinden biri kan hemostazıdır.Bu hücrelerin fonksiyonel özellikleri farklı uyaranlara yanıt olarak değişmektedir.Endotel aktivasyonu diye bilinen bu süreç birçok damar hastalığının patogenezinin sorumludur.(örn:ateroskleroz). Virüs ve bakteri kökenli antijenler, sitotoksinler, kompleman ürünleri, lipid ürünleri ve hipoksi(oksijen yetmezliği) gibi faktörler endotel aktivasyonunu tetiklemektedir.Aktive olan endotel hücreleri yeni yüzey adezyon molekülleri salgılamakla bunların yanı sıra kan koagülasyonu kontrol eden molekülleri, farklı sitokinler, lenfokinler,büyüme faktörleri,vazokonstriktör ve vazodilatör maddeleri de üretirler.Endotel hücreleri damarların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasında önemli rol almaktadırlar.

2.1.5.Endotel hücrelerinin fonksiyonları

- Seçici geçirgen bariyerin devamlılığının sağlanması: Küçük ve büyük moleküllerin kan ve dokular arasında seçici geçişlerine imkân sağlamaktadır. Bu hareket moleküllerin büyüklüğü ve yüküyle alakalıdır. Endotel küçük, hidrofobik (yağda çözünen) moleküller (örn. Oksijen, karbondioksit) için geçirgendir ve bunlar endotel hücre membranının çift tabakasından basit difüzyonla geçerler. Bununla birlikte, su ve hidrofilik (suda eriyen) moleküller (örn. Glukoz, amino asitler, elektrolitler) endotel hücre membranından basit difüzyonla geçemezler. Bu moleküller ve çözülmüş maddeler ya aktif transport ile plazma membranından taşınıp ekstraselüler alana (transsellüler yollar) salgılanmalı ya da iki epitel hücresi arasındaki zonula okludensi geçerek paraselüler yolla taşınmalıdır. Transsellüler yollar büyük miktarda materyali kandan hücreye taşımak için çok sayıda küçük pinositotik vezikülleri kullanmaktadır. Ayrıca, bazı spesifik moleküller (örn. LDL, kolesterol transferrin) reseptör-aracılı endositoz yoluyla (klatrin-bağımlı bir süreç) taşınmaktadır ve bu süreç endotelial- spesifik yüzey

reseptörlerini kullanmaktadır. Bazı kan damarlarında, daha büyük moleküller endotel hücrelerinde bulunan ve transmisyon elektron mikroskobu preparatlarında gözlenebilen fenestralardan taşınmaktadırlar.

- Kan plateletleri ve subendotelyal doku arasındaki nontrombojenik bariyerin devamlılığının sağlanması: Antikoagülanların, antitrombojenik maddelerin üretimi ile sağlanmaktadır. Normal endotel, yüzeyine plateletlerin yapışmasını ya da yüzeyinde trombüs oluşumunu desteklememektedir. Endotel hücrelerinin hasarlanması, bu hücrelerin von Willebrand faktör ya da plazminojen-aktivatör inhibitörü gibi protrombojenik ajanlar (trombüs oluşumunu ilerleten ajanlar) salıvermelerine neden olmaktadır.
- Kan akımının ve damar direncinin düzenlenmesi: Vazokonstriktörlerin (endotelinler, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE), prostaglandin H₂, tromboksan A₂ ve vazodilatörlerin ((NO), prostasiklin) salgılanması ile sağlanmaktadır.
- İmmün yanıtların regülasyonu; Lenfositlerin endotel yüzeyiyle etkileşimlerinin kontrolüyle sağlanmaktadır. Bu, başlıca endotelin serbest yüzeyinde adezyon moleküllerinin ve bunların reseptörlerinin ekspresyonunun yanında üç sınıf interlökinin (IL-1, IL-6 ve IL-8) salgılanması ile sağlanmaktadır.
- Hormon sentezlenmesi ve diğer metabolik aktiviteler: Granülosit makrofajkoloni stimüle edici faktör (GM-CSF), granülositkoloni stimüle edici faktör (G-CSF) ve makrofaj kolonistimüle edici faktör(M-CSF) gibi hemopoetik koloni stimüle edici faktörlerin, çeşitli büyüme faktörlerinin (fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve platelet-kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)) sentezlenmesi ve salgılanmasıyla yapılmaktadır. Endotel hücreleri heparin ve dönüştürücü büyüme faktörü B (TGF- β) gibi büyüme inhibitörlerini de sentezlemektedirler. Endotel hücreleri kan basıncını kontrol eden renin-anjiyotensin sisteminde anjiyotensin 1'in anjiyotensin 2 ye dönüşümünün yanında kanda taşınan çeşitli maddelerin (norepinefrin, trombin, prostaglandinler, bradikinin ve serotonin) inaktivasyonunda ya da inaktif forma dönüşümünde işlev görmektedirler.
- Lipoproteinlerin modifikasyonu: Oksidasyon ile gerçekleştirilmektedir. Başlıca LDL 'ler ve çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL'ler) endotel tarafından üretilen serbest radikaller ile okside edilmektedirler. Modifiye LDL'ler hızlıca

makrofajlar tarafından endositozla alınır ve köpük hücreleri oluşur. Köpük hücreleri, ateromatöz plak oluşumunun tipik bir özelliğidir.

2.1.6.Endotelden salınan mediyatörler

Endotel, damar duvarlarının içini döşeyen hücre tabakası olup, damar sisteminin normal işlevini yerine getirmesi için lazımdır. Dolaşım sistemindeki eritrositler, kan ve dokular arasında fiziksel ve işlevsel bir bariyer görevi yapar. Endotel aynı zamanda hücre adezyon ve damar duvarı inflamasyonunda görev alır. Damar sisteminin gelişmesinde, anjiyogenez vaskülogenezin korunması gibi olaylarda da önemlidir (19,20). Endotel hücreleri dışsal uyaranlara karşı heterojenik yanıtlar verir ve vasküler homeostaziyi düzenlemede çok önemlidirler. Endotel hücreleri adolesan dönemde genellikle inaktiftirler ancak, yaralanma veya patolojik durumlarda anjiyogenez oluşumunu başlatma kapasitesini de muhafaza ederler (21).

Endotelden kaynaklanan vazodilatör ve vazokonstriktör unsurlar, hücre adezyon molekülleri, sitokinler ve kemokinler gibi çeşitli mediyatörlerin düzenlenmesi yoluyla vasküler tonus, permeabilite, pıhtılaşma ve damar inflamasyonu gibi süreçleri ayarlayabilirler. Bunlara ilave olarak damar tonusu, lökosit göçü, kan pıhtılaşması, elektrolit alımı, besin alışverişi ve hipoksik dokunun neovaskülarizasyonunu da düzenlemekle görevlidirler (22). Öte yandan koroner anjiyoplasti, stent takılması, şeker hastalığı, yüksek tansiyon ve immünolojik hasarlanma gibi olaylardan kaynaklanan vasküler yaralanmalar, endotel fonksiyon bozukluğuna sebep olabilir (22,23). Vasküler endoteldeki zarar, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalığın başlangıcı için patolojik rolü alır (19).

Endotel hücreleri hemostaziyi sağlamak için bazı mediyatörler salgılamaktadır. Bunlardan NO, prostasiklin (PGI₂) vazodilatasyonu sağlarken; endotelin-1 (ET-1), trombosit (platelet) aktivasyon faktörü (PAF) ve Anjiyotensin II ise vazokonstriksiyona neden olur (24).

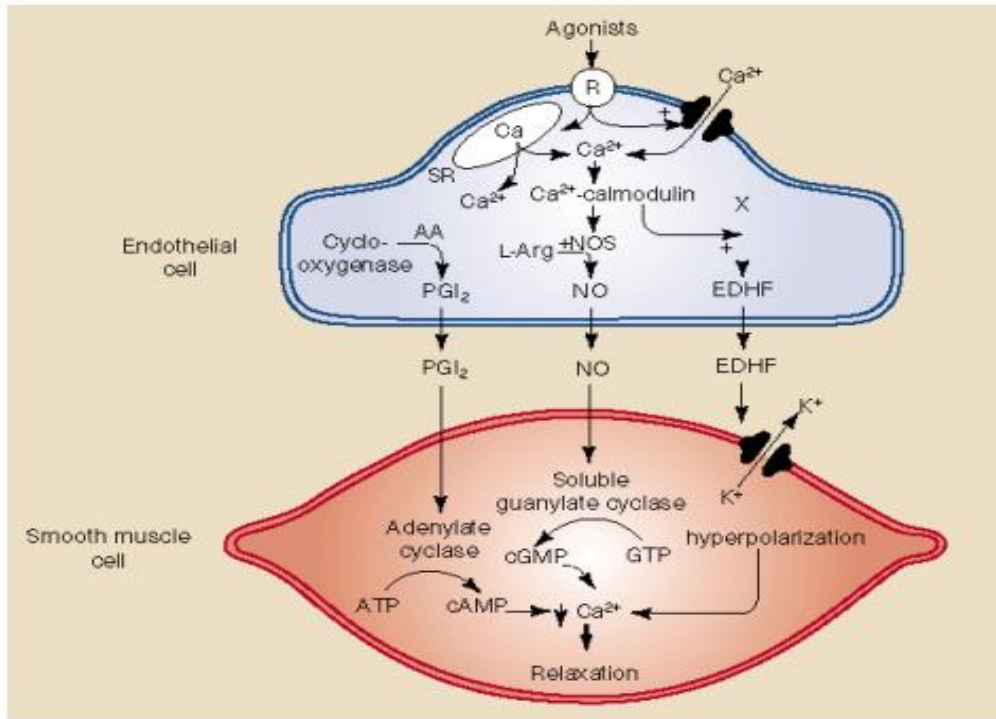
Endotelden salgılanan mediyatörler Tablo 2’de özetlenmiştir (40,41).

2.1.6.1.Nitrik oksit (NO)

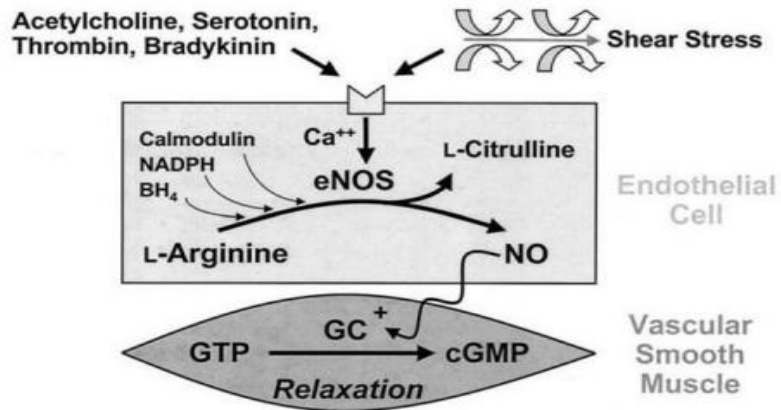
NO, yıllarca otomobillerin egzoz dumanında, fosil yakıtlardan açığa çıkan dumanda ve sigara dumanında bulunan, ozon tabakasının incelmekten sorumlu tutulan ve buna bağlı olarak küresel ısınmaya sebep olan oldukça zararlı bir atmosfer

kirleticisi olarak görülmekteydi. Fakat 1980li yıllarda Furchgot ve ark.'nın tariflediği endotel kökenli gevşetici faktörün 1987 yılında Palmer ve arkadaşları tarafından NO olduğunun gösterilmesi iki atomlu bu basit molekülün fizyolojik rolüne yönelik ilgiyi arttırmıştır. NO, 1992 yılında Science dergisi tarafından yılın molekülü seçilmiştir. 1998 yılında Furchgot, Zawadski, Louis, Ignora ve Ferid Murad'ın Nitrik oksidin kardiyovasküler sistemde sinyal molekülü olmasıyla ilgili keşifleri Nobel fizyoloji ödülü kazanmalarına neden olmuştur(25).

NO, depolanmayan ve etki bölgesine serbestçe difüze olan bir gazdır. Kovalent bağla bağlı iki atoma sahiptir. Endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak da bilinen NOeşleşmemiş bir elektron taşıyan yüksüz gaz formunda bir moleküldür. NO'nun bu özelliği onu eşsiz bir mesajcı haline getirir. Yani yüksüz olduğundan membranlardan kolayca geçer, eşleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeni ile hızlı reaksiyona girebilir. Yarılanma süresi sadece 3-5 saniye kadar kısadır. NO, endotelden sentezlendikten sonra vasküler düz kas hücrelerine difüze olur. Düz kas hücrelerinde guanilat siklazin hem içeriğine bağlanarak bu enzimi aktif hale getirir. Aktifleşen guanilat siklaz, guanozin 5-trifosfattan (GTP) siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşmasını katalizler. cGMP hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu düşürerek vasküler düz kasın vazodilatasyonuna neden olur.

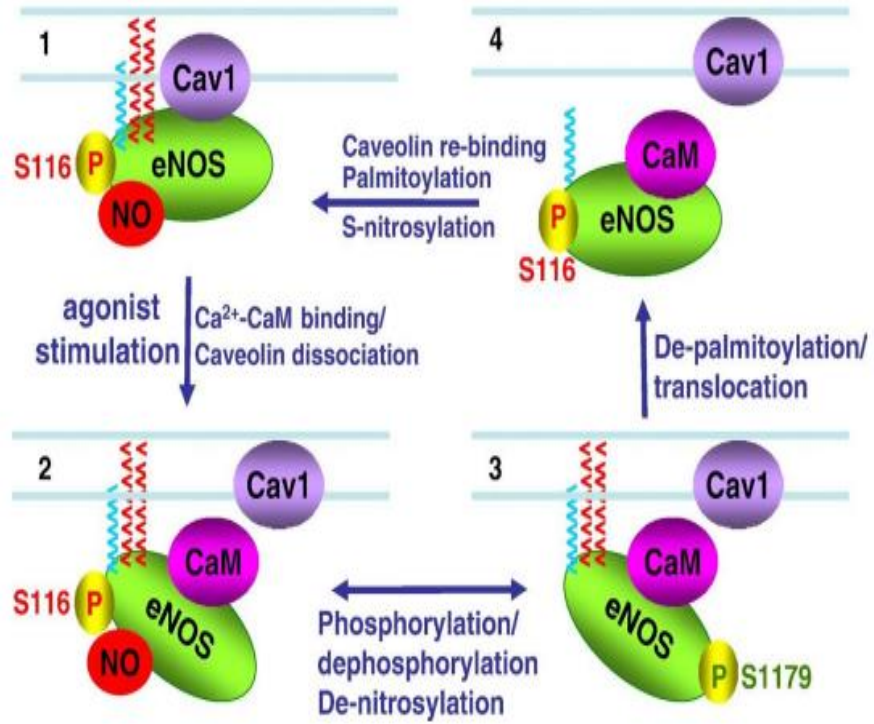


Şekil 2.3 NO mekanizması



Şekil 2.4 NO sentezi

NO salınmasıyla vasküler yapıların tonusu belirlenmektedir. NO salınmasına neden olan uyarıcılar asetilkolin, kan akımı (shear stress), bradikinin, katekolamin, serotonin, ADP, ATP, kalsiyum gen ilişkili peptid, histamin platelet aktive edici faktör thrombin Substance-P'dir. NO, vücuttaki L-arjinin aminoasitinden nitrik oksit sentetaz (NOS) katalizörlüğünde sentezlenmektedir (26)(Şekil.3). NOS'un üç farklı izoformu bulunmaktadır. Bunlardan vasküler tonüsü ayarlayan ve az miktarda ve sürekli üretilen formuna endotelial izoform (eNOS) denir. Nöronal izoform (nNOS), aynı şekilde düşük miktarda üretilir ve sinaptik şekillenme, nörotransmisyon gibi nörolojik olayları düzenler. Uyarılabilir form (iNOS), inflamatuvar durumlarda yüksek miktarda üretilerek hücre aracılı immün tepkide etkili bir komponenttir. nNOS ve eNOS izoformları NO üretmek için Ca^{2+} - kalmmodulin kompleksine bağımlıdır, ancak iNOS Ca^{2+} - kalmmodulin kompleksinden bağımsız olarak NO üretir. NO sentezi ile ilgili ilk bilgiler aktif makrofajlardan elde edilmiştir. Aktif olmayan inflamatuvar hücrelerde NO görülmezken aktif inflamatuvar hücrelerde NO tespit edilmiştir. Aktive edilen bu inflamatuvar hücrelerden NO salgılandığı için bu hücrelerdeki NOS indüklenebilir NOS (iNOS) olarak adlandırılmıştır. Araştırmalar sonucunda eNOS'un kaveola diye isimlendirilen yerde bulunduğu tespit edilmiştir. Kaveola endotel hücre zarının girintilenmesiyle oluşan ve zarın özelliklerini taşıyan içinde transmembran protein olan kaveolinin bulunduğu bir yapıdır. Normalde kaveolin eNOS'un görev yapmasını inhibe etmektedir. Endotele dışardan uyarı geldiğinde hücre içinde Ca-kalmmodulin kompleksi oluşturularak ve eNOS'a bağlanarak bu etkiyi ortadan kaldırılmaktadır. NO sentezi hücre içindeki kalsiyum miktarı belli bir seviyeye ininceye kadar devam eder. Ca belli bir seviyeye indikten sonra kalmmodulin eNOS'dan ayrılır ve eNOS- kaveolin kompleksi tekrar oluşmaktadır (Şekil.5). NO, L-arjininin amino asitinden NOS katalizörlüğünde sentezlenmektedir. L-arjinin üre döngüsünün bitiminde oluşur ve kanda $100 \mu M$ bulunmaktadır. Endotel hücrelerinde ise L-arjinin yoğunluğu $100-1000 \mu M$ arasında değişen miktarda bulunabilmektedir.



Şekil 2.eNOS aktivasyonu

NO damar tonusunun belirlenmesi, trombosit agregasyonunun engellenmesi gibi çok önemli görevleri olan çok önemli bir moleküldür. Endotel tarafından üretilen NO, nitrovazodilatörlere benzer şekilde prostasiklin ile benzerlik göstererek trombositlerin kümeleşmesini ve damar duvarına yapışmasına engel olmaktadır. Endotelin bu etkisiantitrombotik özelliğinden kaynaklanmaktadır. Kümeleşen plateletlerden salgılan ADP molekülü, Serotonin ve trombin faktörü, endotelinde bulunan özel reseptörüne bağlanarak NO salınmasına sebep olmaktadır. NO trombositlerin yüzeyinde P-selektinin oluşmasını ve fibrinin glikoprotein 2b-3a reseptörüne bağlanması için gerekli olan forma girmesini de engellemektedir. Bununla birlikte trombositlerde de NOS bulunmakta ve hücreye dışarıdan alınan L-arjinin trombositlerden NO sentezini artırıp trombositlerin aktifleşmesini engellemektedir(27).

Aterosklerozun önlenmesi endotelin normal koşullarda antiinflamatuvar özellikte olmasıyla engellenmektedir. NO, lökositlerin agregasyonunu engelleyerek antiadezif ve antiaterosklerotik özellik sergilemektedir. NO metabolizması sonucu idrarda ve kanda nitrat ve nitrit bileşikleri oluşmaktadır. Nitrat plazmada NO'nun oksidasyonu sonucu oluşurken, kanda nitratsabit olmadığından hemen nitrite dönüşmektedir. Bu yüzden kandaki nitrit, nitrat konsantrasyonundan 100 kat daha fazla olmaktadır.

2.1.6.2. Prostaglandin (PGI₂)

Prostaglandin (PGI₂) vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu önler. Bunu trombositlerin aktivasyonunu ve mitojen serbestleşmesini inhibe ederek sağlar. PGI₂'nin güçlü bir vazodilatasyon özelliği vardır. Endotelial arakidonik asit metabolizmasından üretilen, yarılanma süresi 10 sn olan, siklooksijenaz benzeri bir yapıdır. Endotel hücreleri hücrel prostaglandinin baş kaynağıdır; PGI₂'nin etkisi lokal vasküler damar duvarına aynı zamanda endotele giren kan hücrelerine yöneliktir (24,29).

PGI₂, normal koşullar altında sentezlenmeyen 20 karbonlu çoklu doymamış yağ asidi arakidonattan (arachidonate) yapılmış hormondur. Endotel disfonksiyonu durumunda veya vasküler hemodinamide bozulmalar durumunda sentezlenir. Sentezlenmesini uyaran faktörler arasında pulsatile basınç, bradikinin, trombin, serotonin ve PEGF sayılabilir. PGI₂ aynı zamanda trombosit aktivasyonu, salgılanması, yapışmasını ve monositler ile endotel arasındaki etkileşimi engeller (24). PGI₂'ler birkaç dakikada daha belirgin olan akciğere ait damarlarda sistemik vazodilatasyona sebep olurlar.

2.1.6.3. Endothelin-1 (ET-1)

21 aminoasitten oluşan peptid yapıda endotel hücrelerinden salınan bir mediyatör olan endothelin-1 (ET-1), oksijen yetmezliği, iskemi ve shear stress ile uyarılan, en güçlü vazokonstriktör ajanlardan biridir. ET-1'in üç izoformu bulunmaktadır. Bunlar ET-1, ET-2, ET-3 tür. Sadece ET-1 damar endotel tarafından üretilmektedir. ET-1, salınmasını takiben damar düz kas hücrelerinde Endothelin-A (ETA) ve Endothelin-B₂ (ETB₂) reseptörlerine bağlanarak suretiyle vazokonstriksiyonu başlatmaktadır. ET-1 sentezindeki artış, endotel hücrelerinde ETB₁ miktarının azalması ve damar düz kas hücrelerinde ETB₂ ve ETA reseptör miktarlarının artması ile azalan gevşemeye ve kasılma artışına sebep olmaktadır. Damar etkinleştirici özellik göstermesinin yanında

düz kas hücre artmasını uyarak vasküler yeniden düzenleme ve lökosit yapışmasına yardım eder. Böylece inflamasyonda ve ateroskleroz oluşmasında aktif rol alır(29). ET-1'in plazmada seviyesi normal koşullarda düşüktür; yüksek tansiyon, diyabet, ateroskleroz, kalp krizi, kalp yetersizliği ve böbrek yetersizliği gibi bazı hastalıklarda plazmadaki düzeyinin arttığı tespit edilmiş ve bu hastalıkların patogenezinde rol aldığı düşünülmektedir(30).

2.1.6.4. Platelet aktive edici faktör (PAF)

Fizyolojik özellikleri açısından platelet(trombosit) aktive edici faktör (PAF)'ler güçlü bir fosfolipit özelliği gösterirler. Bunun yanında polimorfonükleer monositler, lökositler ve makrofajların aktivasyonunu da trombositler gerçekleştirmektedir. İnaktifplateletler normalde endotelle etkileşime girmezler. Fakat endotelde bir hasar olduğundaortaya çıkan subendotelial bölgeye geçip oraya yapışarak trombüs meydana getirirler. Bu trombüs epitel hücre yüzeyindebulunanPAF'ın lökosit üzerindeki reseptörlere bağlanarak jukstakrin-sinyal iletimi sağlamasıyla oluşmaktadır. Güçlü bir fosfolipit aktivatörü olarak bilinen PAF'ler lökosit trafiğinde, trombosit yapışmasında, inflamasyonve anafilakside görev alır(29, 31). Çoğu hücrede normalde PAF seviyesi düşüktür ve bunun sebebinin PAF oluşumunun zardaki bir uyarana bağlı olduğu düşünülmektedir. PAF'leri, trombositlerle vetrombositlerden bağımsız farklı kardiyovasküler etkiler gösterirler(32).

2.1.6.5. Tümör nekroz faktör (TNF- α)

TNF- α , ilk defa 1984 'de aktive makrofajlardan izole edilen homotrimer yapıda bir mediyatördür. Normaldemakrofaj ve monositlerden sentezlenen ve bazıdurumlarda T-lenfosit, nötrofil, mast hücreleri, fibroblast, yağ hücreleri, B lenfositlerve endotel hücrelerinden de sentezlenebilen glikoprotein yapıda bir sitokindir. Doku hasarlanması veya oksidatif stres sonrasında kanda ilk belirlenebilen sitokinTNF- α dır. Çoğu immün hastalıkta inflamasyonun tetiklenmesinde ve sürdürülmesindeaktif rol almaktadır(33).

TNF- α , romatizmal hastalıklar, immün hastalıklar ve insulin direnci gibi inflamatuvar durumların patogenezisinde, interlökinlerden 1 ve 6 ile birlikte sitokin metabolizbasınıbaşlatmada görev almaktadır. Vasküler endotel hücrelerinde; vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM1), intersellüler adezyon molekülü 1 (ICAM1) ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinin sentezinin artmasına sebep olurlar.Aynı zamandahücre büyümesi farklılaşması, apoptozis, nekrotik hücre ölümü, tümör

gelişimi, viral replikasyon, enerji metabolizması ve bağışıklık sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi çeşitli olaylarda rol oynamaktadır(34).

Sentez ve salınımını başlatan uyaranların başında lipopolisakkaritler gelse de çok çeşitli uyaranlar vardır. Özellikle gram(+) bakteriler, parazitler, virüsler ve kanser hücreleri, kompleman sistemi aktivasyonu, interleokinlerden IL-1, IL-2 ve interferonlar ve hatta TNF- α bile salınımı artırır. Salınımı baskılayanlar IL-10 ve prostaglandindir(35).

Uyarı sonrası 30 dk içinde ekspresyon başlar. 90-120. dk'larda en yüksek seviyesine ulaşırken, 4 saatte belirlenemeyecekkadar düşmektedir. TNF- α üretimi sırasında makrofa hücrelerindeki TNF gen başlama bölgesindeki transkripsiyon oranında 50 ve mRNA'nın translasyon kapasitesi üzerinde ise yüzlerce kat artış sayesinde üretiminde bin kat fazla artış sağlanabilmektedir(36).

TNF- α 'nın etkisi inflamatuvar hastalıkların farklı evrelerinde çeşitli hücrelerde farklılık gösterebilmektedir. TNF- α 'nın enfeksiyonlara karşı savunmada organizmayı aktive etmesi içindüşük konsantrasyonda olması gerekir. Aksine yüksek konsantrasyonlarda inflamasyona ve doku hasarına sebep olduğu gösterilmiştir. TNF- α 'nın uyarılma süresi, hücredeki konsantrasyonu, hücrenin tipi ve reseptörlerin dağılımı arasındaki kompleks etkileşim fizyolojik ya da patolojik etki oluşumunda önemlidir.

TNF- α akut inflamasyon durumunda endotel hücrelerini adezyon moleküllerini ve küçük sitokinleri üretmesi için uyarır. Neticede inflamasyon sırasında nötrofil ve makrofajların agregasyonuna aracılık etmektedir. Siklooksijenaz 2 (COX-2) ve prostaglandin sentezinde artışa neden olarak ve ateş yükselmesi için hipotalamusu etkiler. IL-1, IL-6 ve Gm-CSF uyarımına yol açarak akut faz yanıtı oluşmasında görev alır. TNF- α 'nın enerji metabolizmasının yürütülmesinde de önemi büyüktür TNF- α ayrıca, virüs çoğalmasını baskılamakta ve patojenlerin makrofajlar tarafından yok edilmesini sağlamaktadır. TNF- α gösterdiği sitotoksik etkisi sayesinde T lenfositleri ve natural killeri uyarak, virüs ve parazitlere karşı savaşır. Oluşturduğu serbest radikaller de antiparazit etkisiye yardım eder. Şok durumunda TNF indüklenmesiyle meydana gelen Prostaglandin, lökotrien ve PAF salınımı, sürfaktan inhibisyonuna ve nötrofil saldırısına neden olarak, endotel hasarına yol açar(38).

TNF- α 'nın etkileri Tablo.1' de özetlenmiştir(37).

Tablo 2.1 TNF α Etkileri

Makrofaj 	- Olgunlaşmada destek - Kemokin salınımında artma - IL-1 yapımında artma	Osteoklast 	- RANKL ekspresyonunda artma - Rezorpsiyonda artış
Monosit 	- Olgunlaşmada destek - IL-1 yapımında artma	Hepatosit 	- Akut faz yanıtında artış
T hücresi 	- Olgunlaşmada destek - Proliferasyon sağlama	Endokrin 	- Adipoz dokuda üretilebilir. Kilo kaybı sonrası üretimi ve reseptörünün sayısı azalır - Preadiposit genlerinde indüklenme - Lipolizde uyanım, serbest yağ asitlerinin salınımında artış - Adiponektin sentezinde baskılanma - Diabetes mellitusda hiperglisemi proinflamatuvar durum yaratır. Oksidatif stres artar. Sonuçta, TNF-α'da artış olur. Beta hücrelerinde insülin sinyali inhibisyonu gelişir - İnsülin reseptöründe tirozin fosforilasyonu inhibe edilir, - Glut 4 mRNA'sı azaltılır ve insülin direnci gelişir - Lipoprotein lipaz inhibe edilir ve katabolik süreç hızlanır
B-hücresi 	- Olgunlaşmada destek - Antikor üretimi	Miyosit 	- Basınç ve volüm artışında kalpten salınabilir - Kalp yetersizliğinde reseptörleri artar - Sol ventrikül dilatasyonuna neden olur - İntraselüler kalsiyum artışını önleyerek kasılma disfonksiyonu yapar - Endotel kaynaklı nitrik oksit sentezi uyarak, nitrik oksit salınımını artırır. Miktar artınca fizyolojik olan stresten koruma etkisi kaybolur, miyosit ve endotelde disfonksiyon ve apoptoza yol açar
Endotel 	- Kemokin salınımında artma - VEGF salınımında artma - IL-1 yapımında artma - Selektin başta olmak üzere adezyon molekülleri ekspresyonunda artma - Hücre infiltrasyonu ve anjiyogenezde artma - Trombomodulin sentezinde engellenme - ekstremsel pıhtılaşma yolunda uyanım, plazminojen aktivatörlerinde azalma, neticede, prokoagülan etkiye artma	Glia 	- Sinaptik iletişimde modifikasyon sağlama
Fibroblast 	- Gelişime destek ve çoğalmayı sağlama - Tip 1 kollajen geninde baskılanma ve kollajen sentezinde azalma - Proteoglikan sentezini önleme ve kırıkta rezorpsiyonunda artış	Sinoviyosit 	- Metalloproteinaz sentezinde artma ve kırıkta hasar gelişimi

Tablo 2.2Endotelden salgılanan mediyatörler(40, 41)

	Etkilenen Mediyatör	Etkileyen Faktör/Maddeler	Etkisi
Vazodilatatör Mediyatörler	Nitrik Oksit (NO)	shear stress	Artar
		Oksijen yetmezliği	
		Nörotransmitterler	
		Serotonin, adenosin, trombin	
		Otakoidler (histamin, bradikinin, endotelin)	
		cGMP analogu	Azalır
		TNF-alfa	
		Hiperlipisemi	
		Süperoksit	
		Yüksek tansiyon	
		Lipoprotein -a	
		oxLDL	
		CRP artışı	
		Miyokardial hipoksi	
	Prostasiklin (PGI ₂)	Pulsatil basınç	Artar
		Bradikinin	
		Trombin	
		Serotonin	
		PEGF	
		ATP	
		Süperoksit radikalleri	
Vazodilatatör Mediyatörler	Endotelin-1 (ET-1)	Yüksek tansiyon	Azalır
		Şeker hastalığı	
		İnflamatuvar sitokinler	
		CRP	
		yüksekkolesterol	
		Anjiyotensin-II	
		Epinefrin	
		İnsülin	
		Kortizol	
		Vazopressin	
		TGF-beta	
		Endotoksin	
		Ox-LDL	
		Siklosporin	
		Glukoz	
		PGI ₂	
		Heparin	
		NO	
		Demir ve kalsiyum şelatörleri	
		Adrenomedullin	
		BQ-123 (ET reseptör antagonisti)	
	Anjiyotensin-II	Hipertansiyon	Artar
	Platelet aktive edici faktör (PAF)	Sitokinler (interferon, TNF-alfa)	Artar
		Kalsiyum kanal blokörleri	Azalır
		Kalmodulin inhibitörü	
		Kalsiyum şelatörleri	
		Prostasiklin	
		Doğal ve sentetik antagonistler (ginkgolid, glitoksinler, alfa-bulnesene, lexipafant, rupatadin, EGb761)	
		Kortikosteroidler	

2.1.6.6. Anjiyotensin II

Vücutun birçok dokusundan salgılanan anjiyotensinojen, renin tarafından parçalanır ve anjiyotensin-I meydana gelir. Sonrasında ACE eşliğinde anjiyotensin-II (Ang-II)'ye dönüşür. Ang-II, vazokonstriksiyon yoluyla etki gösterir. AT-1 ve AT-2 reseptörlerine bağlanıp kan basıncını düzenlenmesi, elektrolit dengesi, inflamasyon, vasküler proliferasyon ve vasküler fonksiyonları üzerine etki eder. Ang-II ayrıca, AT-2 reseptörü aracılığıyla eNOS'ı aktive eder ve Ang-II ile indüklenen vazokonstriksiyonu etkileyerek NO ve PGI₂ üretiminde artışa neden olabilir(39).

2.1.7. Endotel disfonksiyonu ve hastalıklar

Endotel normalde, yüzeyi kaygan ve parlak, vazodilatasyona meyilli bir dokudur. Fakat sigara içiciliği, yüksek tansiyon, şeker hastalığı, dislipidemi, şişmanlık gibi bilinen damarsal risk durumları, mekanik, hemodinamik ve kimyasal etkiler sonucu endotelin yapısı bozulur. Yüksek tansiyon, hiperhomosisteinemi, yüksek lipid, sigara kullanımı, yaşlılık ve ateroskleroz endotel fonksiyon bozukluğunun önde gelen sebeplerindendir(42).

Normal damar tonusu, endotel tarafından salgılanan vazokonstriksiyona ve vazodilatasyona sebep olan mediyatörler arasındaki dengeyle sağlanır. Endotel disfonksiyonu daha çok endotele bağımlı vazodilatasyonda bozulmayı belirtmek amacıyla kullanılmaktadır. Yanı sıra endotel disfonksiyonu endotel hücreleri ile lökosit, trombosit ve mediyatör maddelerle ilişkisindeki bozuklukları, anormal endotel fonksiyonuna sebep olan durumları ifade etmek için de kullanılır(43). Neticede bozulmuş fonksiyona sahip endotel dengeyi sağlayamaz ve vazokonstriksiyon, inflamasyon ve tromboz artar. Endotel disfonksiyonu, vazodilatatör maddelerin kullanımındaki azalışla kendini göstermekte olup; en önemlisi ise NO salınımının azalmasıdır. Normal endotel NO salgılayarak vazodilatasyona neden olarak asetilkoline cevap verir. Endotelial disfonksiyonda ise düz kas aktivasyonu karşılıksız kalır ve cevap vazokonstriksiyona dönüşür. Endotelial disfonksiyon aterosklerozun hem erken döneminde ve oluşmasında hem de geç döneminde aktif plak oluşumunda rol almaktadır. Endotelial disfonksiyon ve ateroskleroz hastalığı arasındaki bu ilişki ele alındığında, endotel disfonksiyonu kardiyovasküler hastalıkların başlamasını tetikleyebilir(44).

2.1.7.1.Diabetes mellitus (DM):

DM'lu bireylerde endotel fonksiyon bozukluğunun mekanizması; var olan antioksidan savunma sistemlerinin etkisiz hale gelerek oksidatif stresin artması, ileri glikozillenme ürünlerinin artarak NO'nun etkisiz hale gelmesi, ardından LDL'nin oksidasyona duyarlılığının artması ve insülin direnci sonucunda insülinin NO üzerinden meydana getirdiği koruyucu etkinin ortadan kalkması şeklinde olmaktadır (45,46).

2.1.7.2.Hipertansiyon:

Yüksek tansiyonda; endotelyal hasar sonucu salınan mediatörlerden kaynaklanan damar tonusu yükselmektedir. Hiper tansiyon ilaçları endotel fonksiyon bozukluğunun düzelmesi endotelyal disfonksiyonun yüksek kan basıncından ileri geldiğini düşündürmektedir. Hipertansiyon hastalarında endotel fonksiyon bozukluğuna yol açan mekanizmalar;

- NO üretiminde azalma
- Damar düz kasların endotelden salınan vazodilatörlere yanıtının azalması
- Vazokonstriktörlere duyarlılık ve endotele bağlı vazokonstriktör salınımının artması
- Shear stres sebebiyle endotelin hasarlanması

2.1.7.3.Obezite:

Obezite hastalarında endotel fonksiyon bozukluğuna yol açabilecek patolojik durumlar arasında insüline direnç, kandaki artmış yağ asitleri görülebilmektedir. Obezite koagulatif ve fibrinolitik olaylarda birçok faktörün aktivite ve konsantrasyonlarını değiştirerek tromboza neden olabilir.

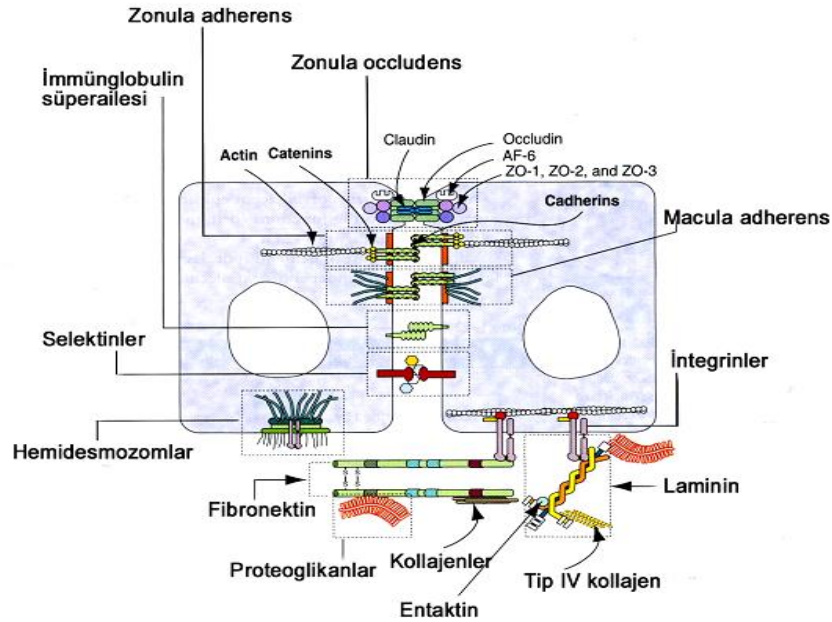
2.1.7.4.Sigara:

Sigara dumanında fazla miktarlarda serbest radikaller, peroksinitritler, fenol ve türevleri, epoksitler ve nitrozaminler gibi antioksidan sistemlerini inhibe edici zararlı maddeler bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar kronik sigara içiciliğinin endotel fonksiyon bozukluğuna yol açtığını ve dolaylı olarak NO üretiminde azalmaya sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Bunun sonucunda kalp-damar hastalığı oluşması ve ilerlemesini hızlandırdığı da belirlenmiştir. Sigara dumanında Cd da dahil birçok kimyasal maddenin bulunması serbest radikallerin ve aromatik hidrokarbonların sigara kullanımından

kaynaklanan endotelial disfonksiyonun oluşmasında anahtar rol aldıkları düşünülebilir. Sigara içen kişilere endotel fonksiyonlarının iyileşmesi için verilen L-arjinin ve tetrahidrobiopterin tedavilerinin etkinliği NO sentezinde de bozulmalar olabileceğini düşündürmektedir(47, 48).

2.2.Adezyon molekülleri

Son yılların moleküler biyoloji anlamında en çarpıcı gelişmelerinden biri, hücre ile matriks arasındaki ilişkiyi sağlayan hücre-adezyon molekülleri alanında olmuştur. Canlılarda hücrelerin birlikteliğine imkan veren moleküller yapıştırıcılar “Hücre Adezyon Molekülleri (Cell Adhesion Molecules; CAM)” diye isimlendirilir(49).



Şekil 2.6. Hücre-Hücre adezyon molekülü tipleri (<http://bioweb.wku.edu>)

Hücre adezyonunun hücre büyümesi ve farklılaşması hücrelerin dokudaki yerleşimi, immün sistem hücrelerinin aktivasyonu ve birbirleriyle ilişkileri, lökosit trafiği, tumor hücrelerinin büyümesi ve yer değiştirmesi gibi birçok fizyopatolojik olaylarda rol aldığından önemi gittikçe artmaktadır(50, 51).

Adezyon moleküllerinin yapıları çalışmalarda embriyogenez, hücre proliferasyonu, immün yanıt ve inflamasyonda önemli görevleri olmakla beraber, yanı sıra alerjik durumlar, astım, iskemi, septik şok, ateroskleroz, kollagen dokusuyla ilgili

hastalıklar, şeker hastalığı, karaciğer ve böbrek yetmezlikleri, kanser gibi birçok patolojik durumdada rol aldığı bilinmektedir(52).

En Önemli Hücre Adezyon Molekülleri

En önemli adezyonmolekülü aileleri:

- 1) İntegrinler
- 2.) Kadherinler
- 3.) Selektinler
- 4.)İmmünoglobulin (Ig) Süpergen Ailesi
- 5.) Proteoglikanlardır(53).

2.2.1.İntegrinler

İntegrinler vücutta var olan lökositlerin endotel hücresi üzerinde yaptığı hareketin ardından lökositler ile endotel hücresinin yüzeyi arasında kuvvetli bir adezyonmeydana geldiğigerçekleştirilen araştırmalar sonucu ortaya çıkarılmıştır(54).

2.2.2.Kaderinler

Hücreler arası adezyonda görev alan trans-membran proteinlerdir. Kaderinler aynı zamanda epitelyal-mezenkimal geçiş, hücre göçü gibi süreçlerde kateninler(β -katenin/Wnt sinyal yolağı) aracılığıyla hücre sinyalizasyonunda görev yapar. Adlarından daanlaşılaacağı üzere yapı ve fonksiyonlarında Ca^{+2} bağımlıdırlar(55).

Kaderinler dört grupta incelenirler:

- Tip 1 kaderinler-E-Kaderin, N-Kaderin, P-Kaderin
- Tip 2 kaderinler
- Desmozomal kaderinler
- Protokaderinler

E-kaderin çoğu epitel doku ve epitel hücre farklılaşmasında görev alırlar. Hücrenin lateral kısmında bulunan E-kaderinler, komşu hücresinin membranındaki aynı çeşit kaderinleriyle homofilik bağlantı kurarlar. Hücre-hücre homofilik bağlantı

Ca²⁺bağımlıdır ve hücreler arasında fermuar benzeri(sıkı bağlantı noktaları) bir adezyon modeli oluşturlar(56).

Rahim, plasenta, testisler, akciğerler ve karaciğerler gibi hemorajik hasarlanmaya açık organ ve dokularda, Cd öncelikli olarak mikrovasküler geçirgenliği artırmaktadır. Endotel hasarı sonucu bozulan bariyerden kanın şekilli elemanları ve protein gibi moleküller kapillerden dokuların arasındaki boşluklara sızar.Kapiller endotel hücrelerindeki bağlanmaya aracılık eden komplekslerinyapısının, geçirgenliğin artmasıyla bozulduğu düşünülmektedir. Yapıyla ilgili bu değişikliklerin, böbrek epitel kültürü hücrelerinde E-kadherine (endotelyal kadherin) bağlı yolakların Cd tarafından bozulması sonucu oluşan değişikliklere benzediği düşünülmektedir(57).

Epitel ve endotel hücrelerin yapışmasında kaderinler görev alır. Kaderin ailesinde E-kadherinler ve VE-kadherinlerbirbirine yapışarak bağlantı sağlayan hücrelerde olan, tek geçişli transmembran proteinlerindendir. Cd' un endotel fonksiyon bozukluğu üzerine olan etkisiele alındığında, hücrelerdeki kadherin&kaderin bağlantısındakibozukluk, baz alınabilir(58).

E-kadherin epitelyal hücrelerde fazlaca bulunabilirken, damar endotel hücrelerinde VE-kadherin baskın olarak bulunmaktadır. Cd ile indüklenen akciğer hasarlanmasında alveolar septum fonksiyonlarının bozulmasının altında VE-kadherinin fonksiyonundaki bozulma nedeniyle artan mikrovasküler geçirgenlik yatmaktadır. Bu nedenle alveoller içerisine sızıntı başlamakta ve daha sonrasında sızıntı giderek artmaktadır. Bu durumda ise lökositler aktive olurve akciğer hasarı ve fibroza yol açaninflatuvar mediatörler salgılanmaya başlar. Bu bilgilere bakılarak Cd'un akciğerlere yaptığı toksik etki VE-kadherin görevinin bozulmasıyla ortaya çıkmaktadırdenilebilir(59,60).

2.2.3.Selektinler

Kardiyovasküler sistemdelökositler trombositler ve endotel hücreleri arasındaki etkileşimi selektinler sağlarlar. Selektinler, glikoprotein yapıda vasküler hücresel adhezyon moleküllerindendir. Hücrede karbonhidratların ve proteinlerin ligandlarına bağlanabilmektedirler. Selektinlerin önemi lökositlerin erken dönem yuvarlanması, damar duvarına yapışması ve göçündeki fonksiyonundan kaynaklanmaktadır(62).

Selektinler bulundukları hücre tipine; lökositlerde bulunana L-Selektin, endotel hücrelerde bulunana E-Selektin ve plateletlerde bulunan P-Selektin olarak sınıflandırılırlar.

L-selektinler :

Lökositlerde bulunmakta ve endotel hücresi üzerindeki ligandıyla etkileşime girmektedir. L-selektinler kemik iliğinden, timositlerden, natural T ve B hücrelerinden, monosit ve granüositlerdendoğal olarak sentezlenirler. Görevi inflamasyondanötrofillerin enfeksiyonbölgesine birikmesi için gerekli yuvarlanmanın sağlanmasıdır(61).

E-selektinler :

Endotoksinlerin, TNF'lerin ya da İnterlökinlerin uyarısı sonucundaendotel hücrelerin yüzeylerinden sentezlenmektedirler. Görevleri arasında lökositlerin gevşek olarak endotel hücrelerine tutunması P-selektin ile beraber nötrofil yapışması ve lökosit migrasyonusayılabılır. Diğer selektinlerden farklı olarak E-selektinler yalnızca endotel hücrelerinde sentezlenip salınır, granülosit ve monositlerin adezyonunu kolaylaştırırlar (63).

P-selektinler :

P-Selektin grubu platelet ve endotel hücrelerin yüzeylerinde bulunur ve E-selektinle beraber lökositlerin endotelyal hücre yüzeyine gevşek olarak tutunmalarından sorumludurlar.

2.2.4.İmmünoglobulin (Ig) süpergen ailesi

Yapı itibariyle immunoglobulinlere benzedikleri için böyleadlandırılmışlardır. Molekül çeşitliliği açısındançok zengin olanİmmunglobulin süper ailesi homofilik ve heterofilik etkileşimler gösterirler. İmmunglobulin süper ailesi üyeleri birbirine disülfid bağlarıyla bağlanmaktadır. Yapılarında transmembran kısım ile sitoplazmik kuyruk adı verilen iki kısım bulunur(55).

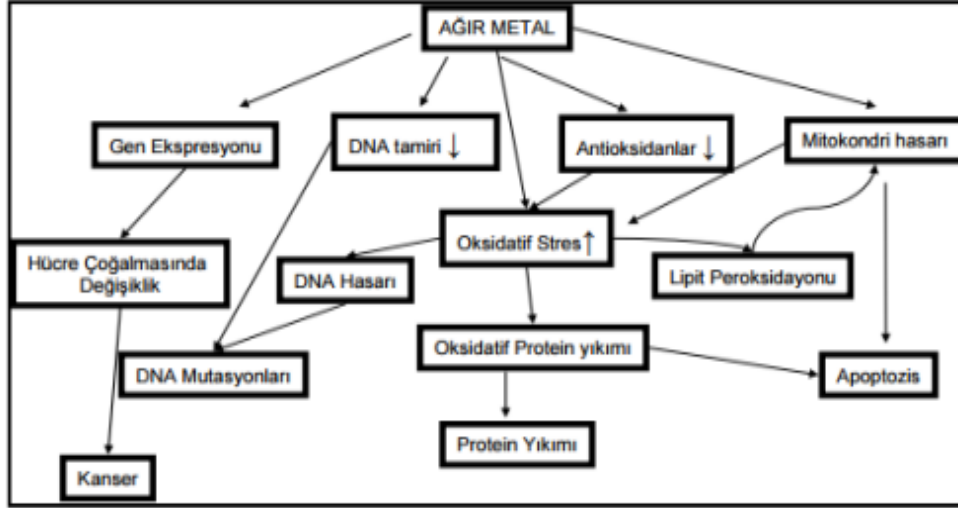
2.2.5.Hücre yüzey proteoglikanları (PG)

Yaygın şekilde dokularda bulunan yapısal olarak farklı proteinlerdir. Çekirdek bir protein ve buna bir veya daha fazla kovalan olarak bağlanmış sülfatlı bir disakkarit olan ve glikozaminoglikan denen karbonhidrat zincirinden oluşmaktadır. GAG'lar; heparan, dermatan, kondroitin veya keratin sülfat gibi çeşitlere ayrılır ve bunlar aynı proteoglikanlarda tek veya kombinasyon şeklinde bulunurlar. Sekrete edilen intraselüler ve mebrana bağlı proteoglikan tipleri bulunmaktadır (64).

2.3.Ağır metaller

Çevre kirliliğine sebep olan kimyasallar arasında; ağır metaller başı çeker. Ağır metaller hem çevre koşullarına dayanıklı aynı zamanda biyolojik sistemlere zarar veren maddelerdir. Bu ağır metaller doğal olarak besin zincirine geçerek canlılarda kümülatif olarak birikerek toksik etki oluşturmaktadır. Bunlara ilave olarak teknolojiye artan ilgiyle gelen bilinçsiz elektronik alet tüketimi sonucu ortaya çıkan elektronik atıkların (e-atık) prosedürüne uygun olmayan yöntemlerle toplanması, depolaması ve bertaraf edilmesi sebebiyle açığa çıkan ağır metaller tüm canlıları ve çevreyi olumsuz etkilemektedir(1).

Ağır metallerin toksisitesi neredeyse bütün fizyolojik mekanizmalar üzerine öyle ya da böyle etki etmektedir ve toksisitenin patolojisi hemen hemen benzerlik göstermektedir(3). Toksisite oluşumunda maruz kalınan madde, dozu, etkilenme şekli, etkilenme zamanı ve sıklığı önemlidir. Öte taraftan etkilenilen maddenin kimyasal özellikleri, diğer kimyasallarla etkileşimi, yaşam biçimi ve immun sistem ağır metallerin oluşturacağı toksisitenin boyutunu değiştirebilmektedir(2).



Şekil 2.7Ağır metallerin hücre içi etkileri (70)

2.3.1.Kurşun(Pb)

Periyodik cetvelin 4A grubunun en metalik elementi olan Kurşun doğada en çok bulunan formları galena, serüsit ve anglesittir(67).

Endüstriyel olarak yaygın biçimde kullanılan Pb, biyokimyasal reaksiyonlarda yer almazlar, organik-Pb ve inorganik-Pbşeklinde bulunmaktadır. Çevre ve canlıların sağlığı açısından tehdit oluşturanmajör ağır metallerden biridir. İnorganik-Pb, atmosfer içinde partiküllerşeklinde bulunur iken organik-Pb uçucu yapısından dolayı, genellikle gıdalara ve içme-kullanma sularına karışmaktadır. Bu nedenle organik-Pb, inorganik-Pb'na kıyaslanırların sağlığını daha fazla tehdit etmektedir. Hem sanayideki kullanımındaki yaygınlığı, hem de doğal ortamdaki yaygınlığı, Pb'ye, mesleki ve çevresel açıdandaha çok maruz kalınmakta ve bundan da canlılar olumsuz yönde etkilenmektedir(68).

Pbvücuda gastro-intestinal kanaldan ve solunum sistemi yoluyla emilmektedir. Gastro-intestinal kanaldan emilimin derecesi yaşa bağlı olarak farklılık gösterir; yetişkin bireylerdeoral yoldan alınanPb 'nun %10'u emilebilirken, çocuk bireylerde bu oran %40'a çıkmaktadır. Pb aynı zamanda deriyle de emilebilir.Vücuda alınanPb 'un %90'a yakın kısmı kanla eritrosit zarına bağlı olarak, %1'e yakın kısmı serbest olarak, geri kalan kımı ise albümine bağlanarak taşınabilmektedir. Solunumla alınanPb'nin %90'lık kısmı emilir. Dışarı atılma hızı oldukça yavaş olan Pb kandanotuz günde, kemiklerdenise 27 yıl sonra uzaklaştırılır. Pb 'na uzun süre maruz kalındığında ise doku ve organlarda birikir. Önce yumuşak dokulara ve parankimal organlara birikirken, esas

olarak diş ve kemiklerde birikir. Erişkinlerde Pb ‘nun yaklaşık %95’i kemik ve dişlerde akümüle olur(69).

Vücutta biriken Pb iştah kaybı, karın ağrısı, konstipasyon gibi gastro-intestinal problemler; hafıza fonksiyonlarında gerileme, duyuşal ve motor sinirlerin iletim hızı yavaşlaması, depresif davranışlar, geri zekalılık, hafıza yitimi, öğrenme güçlüğü gibi sinirsel marelerin yanı sıra hipertansiyon, hemoglobin sentezinde bozukluk gibi hematolojik anomalilere sebep olmaktadır. Ayrıca kemik kanseri, kemik erimesi gibi aksaklıklar ve bazı böbrek sorunlarına da yol açmaktadır. Pb zehirlenmelerinde kan Pb seviyesi, yetişkinlerde 40-60 µg/dL, çocuk grubunda 40-100 µg/dL aralığındadır ve kolik karın ağrısıyla seyreder.

Pb ‘nun renal sistem üzerindeki etkisi böbreklerde fonksiyonel hasar oluşturmaktadır. Pb seviyesi Kronik böbrek yetmezliği hastalarında normal bireylere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Pb ‘nun diş ve erkek genital sistemleri üzerine olumsuz etki ettiği tespit edilmiştir. Hamilelikte Pb anneden plasentaya ve bebeğe geçmektedir. Pb kemik ve dişler gibi sert organlarda biriktiğinden anne adayının Pb’ a maruz kalması uzun zaman sonra bile bebeğinin Pb’ dan etkilenmesine sebep olabilir. Bu durum embriyonik dönemde organ gelişiminin ve bilişsel gelişimi de olumsuz etkileyebilmektedir. Erkek bireylerin Pb’ a maruz kalması sonucu ürogenital organlarda ve spermatogenezde önemli sorunlara yol açmaktadır (70,71).

2.3.2.Civa(Hg)

Latince “hydragyros” kelimesinden türetilmiş olan civa, 25 derecede sıvı halde bulunan, Periyodik cetvelin 2B grubunda, suda çözünemeyen ağır metal sınıfından bir maddedir(72,73).

Hg, günümüzde özellikle plastik sanayisinde, ölçme ve kontrol cihazlarında (barometre ve termometre gibi), elektrik üretiminde, madencilik sektöründe, kağıt sanayisinde, boyalarda ve diş tedavisi için dolgu olarak geniş bir alanda kullanım gösterir. Bu geniş kullanım yelpazesi Hg çevre kirliliğine neden olur. Hg’ ya canlıların maruziyet kaynağı ve şekli farklı olsada toksik etkisini göstermekte ve insan sağlığını ciddi şekilde tehdit etmektedir(73).

Hg’ nin toksik etkisi bulunduğu forma göre değişmektedir. Hg 3 şekilde bulunabilmektedir. Metalik civa; suda çözünmeyen ama sıvı halde bulunur ve oda sıcaklığında toksik etki gösterecek boyutlarda buharlaşabilir. Buharlaşan Hg monoatomik yapısındadır, yağda çözünmediğinden vücutta büyük miktarlarda

birirmektedir. Buharlaşan metal Hg organizmaya girdiğinde kana karışarak tüm organ ve dokulara ulaşır ve beyinde akümüle olur. Buharlaşan metal Hg akciğerlerden çabucak emilir ve merkezi sinir sistemine dağılır. Merkezi sinir sisteminde harabiyete sebep olur ve asabilik, hafıza zayıflığı, güç kaybı, göz bozukluğu, ekstremitelerde ve başta titreme gibi nörolojik bozukluklara yol açar. İleri safhalarda renal yetmezlik, karaciğer fonksiyon bozukluğuna varan ciddi rahatsızlıklara sebep olabilir. Hg 'ya korunmasız dokunmak bile deri yoluyla emilip toksik etkilere sebep olabilir. Öldürücü doz 10-60 mg/kg'dır(74).

2.3.3.Kadmiyum(Cd)

Gün geçtikçe artan endüstriyel faaliyetler, ilaç snayisi ve gübre üretimi, elektronik atıklar ve endüstriyel atıklar yoluyla atmosfer, su ve toprağa yayılan Cd,besin zincirine geçerek veya soluma yoluylacanlı vücuduna girmektedir. Cd kirliliğinin olduğu ortamlardabüyüyen bitkiler, bu bitkileri besin kaynağı olarak kullanan hayvan ve insanlar, bu hayvanları tüketen diğer canlılarve içme-kullanma suyuna bulaşansanayi atıkları silsilesiyle insana kadar ulaşır. Canlılarınhayatını ciddi derecede etkileyen Cd kaynaklarını; sigara (1 paket sigarad 20-40 µg Cd bulunur), rafine edilmiş yiyecek maddeleri, nikel-kadmiyum piller, su borusu, kahveler, çay, kömür dumanı, deniz kabuklu hayvanları, gübreleme ve ilaç kullanımı ve sanayi baca dumanı olarak sıralayabiliriz(75).

Vücuda girenCd'un yaklaşık %6'sı özellikle böbrek ve akciğerlerde birirmektedir. Bu miktardaki Cd, vücudumuzda bulunan Cd miktarınınhemen hemen yarısı kadardır. Cd'un yarı ömrünün uzun olması sonucunda (20-40 yıl), akciğer ve böbrekdeki Cd miktarı yaş ilerledikçe artış gösterir. Bundan dolayıfazla Cd'dan meydana gelen pulmoner ve renalbozukluklar ellili yaşlardan sonraortaya çıkmaktadır(76).

Son zamanlarda Cd'a maruz kalarak zehirlenme etkisinin en çarpıcı örneği; Japonya Toyamada prinçlere yüksek miktarda Cd karışması sonucu yaklaşık 200 kişil.derecede Cd zehirlenmesi sebebiyle kalıcı kemik ve renal bozukluklar gözükmesidir.

Kronik Cd zehirlenmesi en çok akciğer kanseri ve prostat kanseri gibi hastalıklara neden olmaktadır. Kemik erimesi, anemi, dişlerde dökülme ve koku duyusu kaybı yine Cd'un etkisi arasında sayılabilir(77).

Cd canlılara sadece besin zinciriyle değil aynı zamandasanayi ve endüstride kullanılması sonucu çıkan dumanın solunması yoluyla da geçmektedir. İnşaat işçileri üzerinde vücutta Cd birikimini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada çimentodan çıkan tozlara maruz kalan, 15-82 yaş aralığındaki bireylerin kanlarındaki Cd düzeyi ort.2,328g/l bulunmuşken kontrol grubunda 1,308 g/l bulunduğ u tespit edilmiştir(78).

Cduygulanmasının ardından katalaz, glutasyon ve glutasyon peroksidazdaki miktarlardüşerken; lipit peroksidasyonundakimiktar artmıştır. Bu durum Cd toksitesinin dokularaverdiği hasarlanmanın, anti-oksidan savunma sistemi fonksiyonlarının bozulmasıyla alakalıolduğ unu düşündürmektedir(95).Cd toksitesinin, oksidatif stres ile de alakalı olduğ u yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca Cd'a maruz kalmanın süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve NO sentezine, lipit peroksidasyondaartmaya neden olduğ u, antioksidan enzimleri bozduğ u thiol proteinlerinin yapılarını değ iş tirdiğ i, enerji metabolizması inhibisyonunda rol oynadığ ı, DNA'nın yapı ve membranların fonksiyon bozukluğ una değ iş ikliklere yol açtığ ı bilinmektedir(75,80,81,82).

Hücrelerde doymamış yağ asitlerinin son ürünü Malondialdehitlerdir (MDA). Serbest radikal miktarındaki artma MDA miktarında da fazla artışa yol açar. MDA seviyesi antioksidanların ve oksidatif stresin belirteci olarak kabul görmüştür(83).

Ratlarda yapılan bir çalışmada kadmiyumla uyarılan karaciğ er apoptozu üzerine kurkuminin koruyucu etkilerini araştırılmış. Sıçanların karaciğ er dokuları biyokimya analizleri histopatolojiksel ve inceleme amacıyla çıkarılmıştır. Karaciğ er dokularındaki apoptotik hücre sayısı, TAS (total antioksidan seviyesi), TOS (total oksidan seviyesi), thiol ve MPO düzeyleri, serumda IL-6 ve PCT seviyelerideğerlendirilmiş veCd uygulanmasının karaciğ er üzerinde apoptozu uyardığ ı saptanmıştır. Kurkuminin, karaciğ erde toksik Cd ile indüklenen apoptotik hücre ölümünün azaltılması üzerine olumlu etki göstermiştir olabileceğ i kanısına varmışlardır (84).

Değ iş ik yaş gruplarıdaki sıçanlar üzerinde Cd 'un neden olduğ u böbrek toksitesiüzerine kurkuminin koruyucu etkisinin olup olmadığ ının araştırıldığ ı deneysel bir çalışmada böbrek hasarı histopatolojik olarak değ erlendirilmiş. Cd'un oksidatif stres üzerine olan etkileri Total Antioksidan Seviyesi(TAS),Total Oksidan Seviyesi(TOS),IL-6,pro-kalsitonin, C- reaktif protein(CRP) düzeyleri ölçülerek değ erlendirilmiş. Sonuç olarak Cd grubunda akut histopatolojik bulgular gözlenmiş, en yüksek ortalama TAS genç -yaş lı kurkumin grubundan, en yüksek ort. TOS ise yalnızca yaş lı-Cd grubu sıçanlarda kaydedilmiştir. Genç ve yaş lı sıçanlar üzerinde kurkuminin Cd²⁺dan

kaynaklanan histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği ve renal oksidatif hasarı önlediği belirtilmiştir(85).

Yapılan bir başka çalışmada, ratlara Cd verilmesi sonucu karaciğer hasarımeydana geldiği ve karaciğerden elde edilen homojenatlarında MDA seviyesinde artış, superoksit distumulaz (SOD) ve katalaz aktivitesinde ise azalma olduğu tespit edilmiştir(86).

Dünya çapında dramatik miktarlarda üretim, tüketim ve çevreye salınan Cd bileşiklerine rağmen verimli bir geri dönüşüm yolu yoktur. Bu sebeple insanların Cd bileşiklerine maruz kalması kaçınılmaz ve ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Cd, nikel-kadmiyum pillerde, boya üretiminde pigment olarak, aynı şekilde elektro-kaplamada ve polivinil klorür plastik üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca Cd çoğu gıda maddesinde bulunmakta, besin zinciri yoluyla ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak seviyesi değişen miktarlarda tüm canlılara etki etmektedir(87).

Cd, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı(IARC) 'nın insan karsinogenleri sınıflandırmasında yer almaktadır. Güçlü bir mitojen olmamakla birlikte gen ekspresyonu üzerindeki etkilerinden dolayı bir promotör (başlatıcı) olarak da rol oynamaktadır. Cd, farklı mekanizmalarla kansere neden olmaktadır. Bunlardan en önemlileri; anormal gen ekspresi, DNA'yı onaran enzimlerin inhibe edilmesi sonucu DNA onarımının engellenmesi, oksidatif stres uyandırılması ve E-kaderin fonksiyon bozukluğudur(88).

2.3.3.1.Kadmiyumun apoptotik etkileri

Cd'un, insan ve hayvanlarda çok sayıda vücut hücresi ve eşey hücrelerinde invivo ve in vitro deneylerde apoptoza sebep olduğu gösterilmiştir(89).

Cd, apoptoza birincisi dışsal yolak (Fas-FADD kaspaz 8, kaspaz 10 ya da kaspaz 8'in aktivasyonu ile sonuçlanan plasma membranındaki ölüm reseptörlerinin aktive olması) ve ikincisi içsel yolak (Hücrel stres sinyallerinin kaspaz 9'u aktive etmesi) olmak üzere iki ana yol ile götürmektedir(90).

Cd sıçan fibroblast hücrelerinde, doza ve zamana bağlı olarak kaspaz-3'ün aktivasyonu vasıtasıyla apoptoza neden olmuştur. Bunlara ek olarak normal insan akciğer fibroblast hücre hattı sekonder insan akciğer fibroblast hücrelerinde olan MRC-

5'teCd 'un apoptoza nukleusdaki mitokondri aracılığıyla apoptoz uyarıcı faktör (Apoptosis inducing Factor; AIF) translokasyonu ile sebep olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla Cd 'un toksisitesi reaktif oksijen türlerinin üretimi ve lipid peroksidasyonu ile alakalıdır diyebiliriz(91).

Cd 'un erkeklerde fertilite üzerine meydana getirdiği hasarlara karşı resveratrol ve dialil disülfid bileşiklerinin koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, Cd gruplarında seminifer tübüllerinde hasar meydana getirdiği, sperm oluşumunu engellediği ve germ hücrelerinde apoptozu uyardığı gösterilmiştir(92).

Cd verilerek testislerdemeydana getirilen apoptozis ve testis hasarına karşı etil pirüvatın koruyucu etkisi olup olmadığının araştırılmasının amaçlandığı bir başka çalışma verilerine göre Cd uygulanan grupta germinal epitelde hasarlanma, epitel hücrelerin aralarında vakuolleşme ve bazı yerlerde nekrotik tübül gözlenmiştir. Cd grubunda Johnsen'ın tübül biyopsi skoruyla karşılaştırıldığında seminifer tübül çaplarının azaldığına göre kontrol grubuna kıyasla MDA seviyesinin azaldığı, apoptotik hücre sayısında ise önemli seviyede artış belirlenmiştir. Sonuçta Cd verilmesinin testiste anlamlı derecede histopatolojik değişiklik oluşturduğu fakat koruyucu olarak uygulanan etil pirüvatın oluşan hasar üzerindeki tam olarak koruyucu etki göstermediği yalnızca apoptotik hücre sayısında azalmayı gerçekleştirdiği gözlenmiştir(93).

Belirli bir Cd ögesinin sadece yaklaşık %5'i gastrointestinal sistemden emilmektedir. Akciğerden Cd emilimi %90 kadardır. Cd emildikten sonra hızla vücuda pompalanır ve çeşitli dokularda birikir. Karaciğer ve böbrekteki Cd genellikle toplam vücut yükünün büyük kısmını oluşturur(94).

2.3.3.2. Kadmiyumun antiapoptotik etkileri

Cd'un apoptoza neden olmasının yanı sıra apoptoz oluşumunu engellediğini de gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Cd'nin Çin hamster ovaryum hücrelerinde, kromiyum neden olduğu apoptozu önlediğini gösteren bir çalışmada, Cd'un engelleyici etkisinin kaspaz 3'ü önlemesine bağlı olduğu açıklanmıştır. Cd, apoptotik etki gösteren kromiyum ile karşılaştırıldığında apoptozu önlediği gösterilmiştir. Bununla

birlikte Aktinimisin D, higromisin B gibi metal olmayan apoptotik ajanların oluşturduğu kaspaz-3 aktivasyonunu Cd 'un engellediği saptanmıştır(95).

Cd, ayrıca renal mesengial hücrelerde hem TNF- α ile tetiklenen dışsal yolağı hem de kampotetkin ile tetiklenen içsel yolağı engelleyerek antiapoptotik etki göstermektedir. 10 μ M kadmiyum klorür (CdCl₂) nükleer yoğunlaşma ve prokaspaz 3 ayrılmasını baskılamış, başlatıcı kaspazlar (Hem kaspaz 9 hem de kaspaz 8)'in ve efektör kaspazlar (kaspaz-3 ve kaspaz-4)'in etkilerini azaltmış, kaspaz-8'e bağlı pro-apoptotik Bid yarıklanmasını önlemiş ve dolaylı olarak mitokondriden sitokrom-c sentezini engellemiştir(96). Cd, çeşitli hücreyel protoonkogenler c-jun ve c- myc içeren çeşitli genlerin ekspresyonunu teşvik eder, nükleer translokasyonu ve protein kinaz C'nin aktivitesini uyarmaktadır(89).

2.3.3.3.Kadmiyumun antianjiogenik etkileri

Cd, kaderin aracılı hücre-hücre adezyonunu bozar ve angiogenez için gerekli bir adezyon molekülü olan vasküler endotelyal kaderin adezyon molekülünün yapısını değiştirerek angiogenezi inhibe etmektedir. Endotelyal hücrelerin çoğalmasını, göçünü ve tüp şeklinin oluşmasını engeller(97). Buna ek olarak vasküler yatak oluşumunu, 5 μ M Cd etkili olarak anjiogenezi ve endotelyal hücrelerdeki NOüretimini engellediği yapılan deneyler sonucu tespit edilmiştir(98).

2.3.3.4.Kadmiyumun damar endoteli üzerindeki etkisi

Damar endoteli, kan basıncını düzenlenmesi, anjiyogenez, ateroskleroz, hipertansiyon oluşumu, inflamasyon, tümör oluşumu ve yayılması vb. çok sayıda fizyopatolojik olayda rol alan çok fonksiyonlu bir organdır(99,100,101).

Cdtoksitesinde hedef organın vasküler endotelyum olduğunu gösteren çalışma 1950 yıllarında memelilerin testisinde yapılmıştır. Çalışma sonucunda testiste ödem ve hemoraji geliştiği tespit edilmiştir(102).

İlerleyen çalışmalarda Cd 'un kapiller ve venüllerin endotel hücreler arasındaki bağlantıyı bozduğu ve bunun sonucunda da damar geçirgenliğinin arttığı gözlemlenmiştir(103).

Yapılan bir başka çalışmada Cd 'a yüksek dozda akut maruziyette damar endotelinin bütünlük yapısının bozulması ile vasküler geçirgenliğin arttığı ve bunun

sonucunda etkilenen organlarda ödem, hemoragia, oksiyen yetmezli, inflamasyon ve doku hasarları meydana geldiği belirtilmiştir(104).

Cd'a düşük dozlarda maruz kalma, çoğunlukla kronik Cd maruziyeti etkisi gösterir ve Cd'un yarılanma ömrü uzun olduğu için (15-30 sene) karaciğerde, böbrekte ve kalpde akümüle olur. Vücuda hangi yolla alınırsa alınsın, Cd; kan dolaşımına girerek kanda bulunan proteinlere ve başka maddelere bağlanmaktadır(105,106).

Dolaşıma geçen Cd, ya metallothioneine bağlanmakta ya da albuminler, aminoasitler, sülfhidril, glutatyon ve sistein gibi bileşikler ile etkileşmektedir. Cd'un metallothionein dışındaki proteinlere afinitesi düşüktür. Cd-metallothionein kompleks yapısı, proksimal tübül epiteli gibi bazı özelleşmiş dokular haricindeki çok sayıda dokulardan geçemez; bu nedenle Cd'un nefrotoksikolojik etkisi oluşmaktadır. Büyük damar endotel hücrelerinde Cd toksitesinin incelenebilmesi, damar endotelinin izole edilebilmesinin ardından gerçekleşmiştir. Hücreler düşük konsantrasyondaki Cd'a duyarlılık göstermezken, sadece yüksek dozda Cd maruziyetinde hücre ölümü gözlenmiştir. Düşük konsantrasyondaki Cd toksik etkisini apoptozla değil, endotel fonksiyon bozukluğuna sebebiyet vererek göstermektedir(107, 108, 109).

Akut Cd toksitesini açıklığa kavuşturmak amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda farklı teoriler öne sürülmüştür;

- Cd sülfhidril gruplarının aktivasyonunu engelleyerek oksidatif strese neden olur(110).
- Temel iz elementlerin (Mn, Ni, Zn, Se, Cu) olağan etkilerine müdahale eder(111).
- Ca yollarını inhibe ederek Ca mekanizması üzerine olumsuz etki eder(112).

Gerçekleştirilen çalışmalarda Cd uygulamasının endotelial hücrelerin yapısını ve vasküler düz kas hücrelerinin fonksiyonlarını bozduğu ve bunun sonucunda ateroskleroza neden olabileceği gösterilmiştir(119,120). Düz kas hücreleri Cd toksitesine daha duyarlı hücrelerdir. Cd'un bağlanma afinitesi Ca'a göre daha yüksektir. Ortamdaki düşük konsantrasyonlardaki Cd'un, düz kas hücrelerinde hücreler arası alanda Ca miktarını artırarak ya da hücre içinde toplanarak Ca^{+2} iyonlarını taklit etmesiyle, hücre çoğalmasına yol açabileceği düşünülmüştür. PEGF lerin düz kas hücre mitogenezini başlatabilmesi için hücre içi Ca^{+2} düzeyinin yüksek olması gerektiğinden Cd'un Ca^{+2} ye bağlanma ilgisi yüksektir (113,114).

Yine bir başka çalışmada Cd maruziyetinden sonra gelişen endotel hücre hasarı ve düz kas hücre fonksiyonbozukluğu sonucu kanda fibrinolitik mekanizmaların engellendiği ortaya atılmıştır(115).

Endotelial hücre hasarı, damar düz kas hücre proliferasyonu, intimatabakasında fazla miktarda proteoglikanların birikmesi ve hücreler arası matrikstekki yapıyla ilgilideğişimler ateroskleroz oluşumuna neden olan kilit faktörlerdir. Böylece aterosklerozda Cd maruziyeti sonucu oluşan endotel hasarı ve düz kas hücre fonksiyon bozukluğunun rol oynadığı yapılan çalışmalarla desteklenmiştir(116).

2.3.3.5.Kadmiyumun vücutta emilimi ve dağıtımı

Cd^{+2} 'nin hücreye girmeyöntemiyle alakalı çok sayıda fikir beyan edilmiştir.

Cd 'un iyon benzerliği mekanizmasını kullanarak, iz elementleri taşıyan proteinlerle etkileşim kurarak hücreye alınmaktadır.

Cd, tiyollere bağlanarak hücre içine taşınmaktadır.

Cd endositozla örneğin metallothioneine bağlanak hücre içine alınmaktadır.

Veya Ca^{+2} 'yi taklit ederek Ca^{+2} kanallarından taşınarak hücre içine girmektedir(117).

Cd vücutta Albümin ve Metallothionein(MT) gibi proteinlere bağlı olarak taşınır. Cd kana alındıktan sonra ilk ulaşılan organ karaciğerlerdir. Burada Cd, MT üretimini indükler. Ardışık hepatosit nekrozu ve apoptozdan sonra, Cd-MT kompleksleri sinüzoidal kanla yıkanır. Buradan, emilen Cd'un bir kısmı, Kadmiyum-Glutatyon konjugatları şeklinde safra yollarına salgılama yoluyla entero-hepatik döngüye girer. Safra ağacında enzimatik olarak Cd-sistein komplekslerine indirgenen kadmiyum, ince bağırsaklara yeniden girer. Uzun süreli kadmiyum birikimi için ana organ böbrektir. Ömür boyu alınan Cd, böbrekte kadmiyum birikmesine ve sonuç olarak tübül hücre nekrozuna yol açabilir. Cd'un vücuttan atılımı dışkı ve idrar yoluyla gerçekleşir(118).

Cd vücutta taşındıktan sonra genellikle MT gibi bir sülfidril grubu içeren proteine bağlanır. Yaklaşık %30'u karaciğerde ve %30'u böbreklerde birikir, geri kalanı vücutta dağılır ve yarı ömrü yirmi beş yıldır. Kan, saç ve idrar Cd seviyeleri vücut yükü için zayıf göstergelerdir. Ve maalesef diğer ağır metallerde olduğu gibi esas olarak son

maruziyeti yansıtır. Cd'nin vücut yükünün doğru tahmini, idrar provokasyon testi gerektirmektedir(119).

Cd'un vücutta uzun kalış süresi, kısmen Cd tarafından transkripsiyonel seviyede indüklenen ve metali sıkı bir şekilde bağlayan metal bağlayıcı bir protein olan MT'ne atfedilebilir. Metal, daha az toksik türlere metabolik bozulmaya uğramadığından ve yalnızca zayıf bir şekilde atıldığından, vücudun Cd maruziyetine yanıt verme kapasitesi sınırlıdır. Bu yüzden Cd vücutta depolanma eğilimine gider. Cd'un toksik etkileri genellikle çeşitli çinko aracılı metabolik süreçlere müdahaleden kaynaklanırken, çinko tedavileri sıklıkla Cd'un olumsuz etkilerini azaltır veya ortadan kaldırır(120,121).

2.3.3.6.Kadmiyum maruziyeti

İnsan organizmasına Cd toksisitesinin başlıca etkilerinin, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından Tablo.3'te gösterildiği şekilde olduğu bildirilmiştir(122).

Cd, toksik bir ağır metaldir. İnsanlarda, inhalasyon yoluyla akut Cd maruziyeti pulmoner ödem ve solunum yolu tahrişi ile sonuçlanırken, kronik maruziyet sıklıkla böbrek fonksiyon bozukluğu, anemi, osteoporoz ve kemik kırıklarına yol açar. Cd ayrıca birçok dokuda güçlü bir kanserojendir ve IARC tarafından insan kanserojeni olarak sınıflandırılır. Akut Cd toksisitesinin mekanizmalarının, süperoksit iyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikaller(ROS) üretiminin artmasıyla sonuçlanan, glutatyon ve proteine bağlı sülfhidril gruplarının tükenmesini içerdiği öne sürülmüştür. Cd-arttırılmış ROS, lipid peroksidasyonu üretir ve DNA hasarı ile sonuçlanır(123,124)

Akut zehirlenmeyi takiben esas olarak akciğer, karaciğer, böbrek ve testisleri etkilerken uzun süreli maruziyetlerde nefrotoksisite, immünotoksisite, osteotoksisite ve tümörleri etkiler. Akut Cd aşırı yüklenmesini takiben hayvanlarda serbest radikallerin oluşumuna ilişkin doğrudan kanıtlar bulunurken, kronik Cd toksisitesi ve karsinogenezde ROS'un rolüne ilişkin dolaylı kanıtlar bulunmaktadır. Cd tarafından üretilen süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri, in vivo olarak elektron spin rezonans spektrumları tarafından tespit edilmiştir ve bunlara sıklıkla redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerinin (örn.NF-KB, AP-1 ve Nrf2) aktivasyonu eşlik eder. ROS ile ilgili gen ekspresyonu. Genel olarak Akut Cd zehirlenmesinde oksidatif stresin önemli roller oynadığı kabul edilmektedir(125).

Tablo 2.3İnsanda Cd Toksikitesinin Başlıca Etkileri(122)

Kronik Cd Toksisitesi	Akut Cd Toksisitesi
<u>Endüstride solunumla maruziyetin etkileri:</u> *Anemi, *Renal tubuler disfonksiyon ve renal taşlar, *Kalsiyum metabolizması bozuklukları; kemik lezyonları ve ağrıları, *Solunum sisteminin hasarı (burun, farinks, larinksin kronik inflamasyonu ve anosmi), *Hipertansiyon ve kalp damar hastalıkları, *Sinir sistemi emareleri (şiddetli baş ağrısı,baş dönmesi, uyku problemleri, titreme, karıncalanma uyuşma hissi, kramplar), *İştahsızlık, kilo kaybı, yorgunluk, *Prostat ve akciğer kanserleri.	<u>Solunumla maruziyetin etkileri:</u> *Akut pnömoni ve pulmoner ödeme bağlı akut solunum yetmezliği. <u>Oral maruziyetin etkileri:</u> *Akut gastroenterit: Hızla başlayan şiddetli bulantı ve kusma, karın ağrısı, ishal.
<u>Genel çevreden oral yolla maruziyetin etkileri:</u> *Anemi, *Renal tubuler disfonksiyon, *Kalsiyum metabolizması bozuklukları ve kemikte hasarlar (osteomalazi, osteoporoz), *Hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar.	<u>Diğer Etkileri:</u> *Endüstriyel ve çevresel olarak maruz kalanlarda kromozomal bozuklukların prevalansının arttığı gözlenmesine rağmen mutajenik etkisi olup olmadığı henüz netlik kazanmamıştır. *Plasentada toksik etkilidir ve fetusda büyüme geriliği ve düşük doğum ağırlığına neden olur.

2.4.Ankaferd blood stopper (ABS)

Ankaferd Blood Stopper (ABS) (Ankaferd Health Products Ltd. Istanbul, Turkey), Türklerin tıpta ve halk arasında yüzyıllardır kullandığı beş bitkisel içeriğin farklı oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen hemostatik bir ajandır. Ayrıca, vasküler endotel, kan hücreleri, yeni damar oluşumu, hücre proliferasyonu, vasküler dinamikler ve mediatörler üzerine etkileri olan bitkisel bir karışımdır. Hazırlanmasında kullanılan bitkiler; *Glycyrrhiza Glabra* (Meyan kökü), *Vitis Vinifera* (asma koruğu), kurutulmuş *Alphina Officinarum* (Havlıcan) yaprağı ekstresi, kurutulmuş *Urtica Dioica* (Isırgan otu) kökü ekstresi, kurutulmuş *Thymus Vulgaris* (Kekik otu) ot ekstresidir(8,126).

ABS’de kullanılan bitkilerle ilgili çeşitli araştırmalar yapılmış.

Thymus vulgaris (Kekik otu) yapraklarının ekstresi, antioksidan özellikte olması sebebiyle ile oksidatif hasar, lipidlerin peroksidasyonu ve bu durumların neden olduğu ateroskleroza önler(127).

Yapılan in vitro çalışmalarda *Glycyrrhiza glabra* (Meyan kökü) kök ekstraktının antianjiyotik, antitrombotik, antiinflamatuvar, antioksidan, antiaterosklerotik etkilerinin olduğu vasküler endotel büyüme faktörünün oluşmasını engellediği bildirilmiştir(128).

Vitis vinifera (Asma) ‘danelde edilen yaprak ekstraktı, antiaterosklerotik ve antitümöral etkilere sahiptir(129).

Alpinia officinarum’un (Havlıcan) antispazmotik ve antibakteriyel özellikleri bulunmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda *A. Officinarum* bitkisinin lipopolisakkarit ile indüklenmiş sıçan makrofajlarında NO sentezini engellediği bildirilmiştir(130).

Urtica dioica (Isırgan otu) kök ekstresinin farelerde endotelden kaynaklanan hipotansiyon meydana getirdiği, bu durumun da endotel hücrelerinden NO salınması ve sodyum-potasyum kanalının açılması sonrasında aortaya çıkan vazodilatasyonla ilgili olabileme ihtimali düşünülmüştür(131).

ABS, Türkiye’de Sağlık Bakanlığı tarafından dış kanama yönetiminde onaylanmış, dermal, dış travmatik, postoperatif ve dış kanamalarında güvenliği ve etkinliği kanıtlanmış yeni geliştirilmiş bir topikal hemostatik ajandır(132).

ABS’ nin renal tübüler apoptozda ve endotelial nitrik oksit sentazın ifadeleri üzerine etkilerini araştırmak için böbrekte parsiyel nefrektomi oluşturulmuş sıçan modelinde yapılan bir çalışmada; eNOS, iNOS ve Apoptoz Proteaz Aktifleştirici Faktör-1 (Apaf- 1) ve renal tübüler apoptoz araştırılmıştır. Sonuçlara göre apoptotik hücrelerde önemli bir azalma olmadığı tespit edilmiştir(133).

ABS’nin karın içi, lokal histopatolojik ve hemostatik etkilerini araştırmak amacıyla yapılan deneysel bir karaciğer hasarında, kırk sıçan rastgele olarak birincil sütür grubu (PS) (n=15), ABS grubu (n=15) ve kontrol grubuna (n=10) ayrılmıştır. Çalışmanın verileri deneysel karaciğer travmasında ABS’nin olumlu histopatolojik sonuçlara neden olduğunu düşündürmektedir(134).

ABS ‘nin kanamayı durdurma ve akciğerlerdeki hava kaçağını önleme üzerindeki etkisini deneysel olarak araştırılmıştır. ABS, akciğer parankimindeki hava kaçağını önemli ve etkili bir şekilde durdurur. Kanamayı önemli ölçüde durdursa da standart cerrahi grubuna göre anlamlı bir fark görülmemektedir(135).

Sıçan aşil tendon yaralanması üzerine ABS'nin iyileştirici etkisinin araştırıldığı in vivo sıçan deneyinde ABS grubunun tendon iyileşme skoru kontrol grubuna kıyasla çok düşük olduğu bildirilmiştir. Buradan hareketle ABS tendon iyileştirici bir ajan değildir denilebilir (136).

Bir başka çalışmanın sonuçlarına göre ABS plazma ve serum numunelerinde çok hızlı bir protein ağı oluşumunu indüklemiştir. Pıhtılaşma faktörlerinden 2,5,7,8,9,10,11 ve 13 plazmaya ABS eklenmesinden etkilenmemiştir. Havuzlanmış plazmaya artan oranlarda ABS eklenmesinin ardından protrombin zamanı artmasına bağlı plazmadaki fibrinojen aktivasyonu ve antijen fibrinojen anılanımlı derecede azalmıştır. Biyokimya testleri, taze serumda ABS eklenmesinden sonra toplam protein, albümin ve globulin düzeylerinin düştüğünü gösterdi. Kan hücrelerinin, özellikle eritrositlerin, ABS varlığında hızla toplandığı ve böylece protein ağı oluşumuna katıldığı bulunmuştur (137).

Deneyel distal kolit tedavisinde ABS'nin etkinliğini araştırmayı amaçlanan bir çalışmada; yirmi bir erkek albino sıçan, Sham kontrol (Grup 1), asetik asit ile oluşturulan ve salin ile tedavi edilen kolit (Grup 2), asetik asit ile oluşturulan ve ABS ile tedavi edilen kolit (Grup 3) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Değerlendirme sonucunda ağırlık değişiklikleri ve yüksek kolonik doku MDA ve NO seviyeleri, ABS'nin deneyel distal kolit üzerinde antiinflamatuvar etkileri olabileceğini düşündürmektedir (138).

Hastane enfeksiyonu oluşturan mikroorganizmalar üzerine (örneğin metisiline direç gösteren S. Aureus, E.coli) ABS'nin antimikrobik etkisi araştırılmıştır. Sonuçta 102 mikroorganizma üzerinde ABS antimikrobik etkisini göstermiştir (8).

Yine ABS 'nin anti bakteriyel etkisinin araştırıldığı Akkoç ve arkadaşlarının yaptığı in vitro bir deneyel çalışmada, içlerinde insanlarda hastalık patojeni ve gıdalarda bozulmaya sebep olan gram pozitif ve gram negatif bakterilerin faaliyetlerini ABS 'nin engellediğini rapor etmişlerdir. Çalışma sonucunda ABS +nin Yaraları iyileştirme sürecindeki olumlu etkilerine ilaveten antibakteriyel özelliğinin de olduğu öne sürülmüştür (139).

Aktop ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada varfarin uygulanmış sıçanlarda iki yeni nesil lokal yolla uygulanan hemostatik ajan (CeloX® ve ABS) ın erken dönemde yumuşak doku iyileşmesi üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Varfarin ve kontrol gruplarındaki sıçanların sırtlarına bistüriyle 2'şer cm kesikler atılmıştır. Yaraların biri CeloX®, diğeri ABS ile tedavi edilirken son yaraya hiçbir tedavi uygulanmamıştır. Sonuçta CeloX® uygulanan yarada daha iyi iyileşme olurken ABS

grubunda daha hızlı bir iyileşme olmuştur ve iki ilaç da kanamayı durdurma ve yara iyileşme sürecinde etkili olmuştur sonucuna varılmıştır(140).

Cornelissen ve arkadaşları çalışmalarında ratların normal ve yara oluşturulmuş palatinal mukoperiosteumunda α -düz kas aktin, elastin, tip I ve tip III kollajen dağılımını değerlendirmişlerdir. Deney sonucu yapılan histolojik incelemede yaralanmadan sonraki 4. günde zayıf olan tip I kollajen boyamasının 8. günde artmaya başladığını gözlemlemişlerdir(141).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın deneyleri SDÜ Deney Hayvanları Araştırma Merkezi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D ve Farmakoloji A.D Araştırma Laboratuvarlarının katkılarıyla gerçekleştirilmiştir.

3.1. Gereç

3.1.1. Deney hayvanları

Deneyde kiloları 350-450 gr aralığında, toplam 32 tane Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney sırasında sıçanlar standart rat yemi ile beslendi.

3.1.2. Deney kimyasalları

- Serum fizyolojik
- Cd Klorür (Kadmiyum) (Alfaeaser Cat: 13677 Russia)
- Ankaferd Blood Stopper®(Ankaferd Health Products Ltd. Istanbul, Turkey).

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney planı

Deneyde, her grupta 8 sıçan (n=8) olacak şekilde 4 çalışma grubu oluşturuldu ve toplam 32 erkek sıçan (n=32) kullanıldı. Deneyimiz akut bir çalışma olarak planlandığı için 6 saat olacak şekilde planlandı.

Grup I (Kontrol grubu): Serum fizyolojik, 0,5 ml intraperitoneal yolla verildi.

Grup II (Kadmiyum (CdCl₂) grubu): Kadmiyum klorür, 2,5 mg/kg i.p. yolla verildi.

Grup III (Ankaferd blood stopper grubu): ABS, 0,5 ml i.p. yolla verildi.

Grup IV (Cd + ABS grubu): Kadmiyum 2,5 mg/kg ve ABS 0,5 ml i.p. yolla verildi.

Serum fizyolojik (sf) kontrol grubuna i.p. olarak uygulandı.

2,5mg/kg kadmiyum, sf içinde çözülerek hazırlandı ve i.p. olarak ratlara uygulandı.

2,5 ml'lik ABS hazır solüsyondan i.p. olarak uygulandı.

Deneyimizin başladığı anda ve 6 saat sonrasında deney bitiminde ratların ağırlıkları ölçüldü.

Tablo 3.1 Deney grupları, verilen kimyasalların dozları

Deney Grupları	Hayvan Sayısı	Verilen Kimyasal Türü	Verilen Doz Miktarı	Süre
I	8	Serum fizyolojik	0,5 ml	6 saat
II	8	Kadmiyum	2,5 mg/kg	6 saat
III	8	ABS	0.5 ml	6 saat
IV	8	Kadmiyum+ABS	2,5 mg/kg Cd 0,5 ml ABS	6 saat

6 saatlik deney sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifikasyon gerçekleştirildi. Ratların damar dokuları çıkarıldı. Çıkarılan dokular histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar için %10'luk tamponlu (sodyum fosfat monobazik ve dibazik) nötral formaldehitte tespit edildi.

3.2.2. Histolojik doku takip çalışmaları

%10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda, fiske edilen dokular yıkama işleminden sonra çeşitli işlemlerden geçirildi.

1. Dehidrasyon

%70 'lik alkolde 1 gün

%80'lik alkolde 1 gün

%90'lik alkolde 1 gün

%100'lik alkolde 3 saat bekletildi.

2. Şeffaflaştırma

Şeffaflaştırma için ksilol içinde 5 dk. bekletildi.

3. Emdirme

Sırasıyla; Ksilol+parafinde (60°C etüvde) 5 dk

Sıvı parafinde (60°C etüvde) 3 saat

Sert parafinde 1 gece oda ısısında tutuldu

Ertesi gün sabahtan sert parafinde bulunan dokular etüvde (60°C) eriyinceye kadar bekletildi.

4. Gömme

Dokuların bloklanması sert parafin kullanılmasıyla sağlandı. Hazırladığımız sert parafin bloklarından, mikrotomla 3-5 mikron kalınlığında kesitler alındı.

5.Boyama (Hematoksilen-Eozin)

Preparatlar etüvde 1 saat bekletildi ve parafinin erimesi sağlandı. Preparatlar Ksilol 1 ve ksilol 2’de 20’şer dk bekletildi. Sonra %100, 90, 80, 70’lik alkol serilerinde 10’ar dk bekletildi. Daha sonra distile su’da 5 dk bekletildi. Hematoksilen (MOSLAB Harris Hematoksilen Ref: BKHM00002)’de 3 dk bekletildi. 5dk çeşme suyunda yıkandı. Asit alkol (%80’lik alkol 2/3, HCL 1/3 oranında karıştırılarak hazırlandı) solüsyonuna 2 kez batır çıkar yapıldı. Eozin (DDT eozin) ile 2 dk boyandı ve 1 dk çeşme suyunda yıkandı. Boyanmış preparatlar %70,% 80,% 90 ve %100’lük alkol serisinden 1’er kez batırıp çıkarılarak ksilol-1 şalesinde 10 dk ve ksilol-2 şalesinde 30 dk bekletildi.

6.Preparat Kapaması

Işık mikroskobunda preparatlar incelendi ve görüntü netliği kazanılınca entellan ile preparatların kapama işlemi yapıldı.

Daha sonra immünohistokimya boyaması için malzemeler hazırlandı.

Primer antikor:

- Rabbit Anti-TNF- α (BİOSS Cat: bs-10802R USA).
- Rabbit Anti-eNOS (BİOSS Cat: bs-3447R USA)
- E-cadherin/CDH1 (Thermo Cat: PA5-29252 Taiwan)

TNF- α antikorı 1:300 oranında, eNOS 1:300 ve E-cadherin 1:500 oranında Antibody diluent (Large Volume solüsyonu UltrAb Diluent Thermo Cat: TA-125-UD) ile sulandırıldı.

Sekonder antikor:

Large Volume Anti-polyvalent HRP Kit içerisindeki sekonder antikor (Goat) kullanıldı. (Large Volume Anti-polyvalent HRP cat: TP-125-HL).

Phosphate Buffer Solutaion (PBS)

İmmün boyamada dokuların her işleminden sonra yıkanması için kullanıldı.

Sodium Citrate Buffer:

Citrate Buffer (10X) Heat-Induced Epitope Retrieval (Thermo Scientific cat:AP-9003-999) kullanıldı.

Hidrojen Peroksit:

%3'lük Hidrojen peroksit her seferinde yeniden hazırlanarak kullanıldı.

DAB Kromojen:

DAB (diaminobenzidin): Large DAB Substrate System (RTU) (Thermo Scientific cat: TA-125-HD).

Prospektüse göre 2 ml substrat+1 damla kromojen kullanılarak taze olarak hazırlandı.

İmmünohistokimyasal Boyama Talimatı

- 3-5 mikron kalınlığında elde edilen kesitler 60°C' de etüvde bir saat tutuldu.
- Parafini uzaklaştırmak amacıyla Ksilolde 10 ar dakikadan 2 defa tutuldu.
- Dehidratasyon işlemi için sırasıyla;

- %100'lık, %90'lık, %80'lik, %70'likalkol serisinde 5 er dakika tutuldu.
- Distile suda 5 dk bekletildi
- Sodium Citrate Bufferda 660W ayarlı mikrodalgada 5 dk ısıtıldı ve 20 dk oda ısısında dokular ileberabersoguması için bırakıldı.
- PBS de 3 kez 5 er dakika bekletildi.
- PAP Pen kalem ile polilizinli lamların üzerindeki doku kesitlerinin etrafı çizildi.
- Çizilen dokuları kaplayacak şekilde %3'lük H₂O₂ damlatılarak 20 dk.Odaisısında bekletildi.
- PBS de 3 kez 5 er dakika bekletildi
- Çizilen dokuları kaplayacak şekildeUltra V Block (Large Volume Anti-polyvalent HRP cat: TP-125-HL kit içinden) damlatıldı ve primer antikorlara uygun olacak şekilde 20 dk.bekletildi.
- Lamdaki en son kesite kontrol amacıyla sekonder antikor, diğer kesitlerin üzerine de primer antikor damlatılarak nemli bir kabinde +4C^o'de bir gece bekletildi.
- 1 gün sonunda PBS de 3 kez 5 er dakika bekletildi
- Çizilen dokuları kaplayacak şekilde sekonder antikor damlatıldı ve 45 dk etüvde bekletildi.
- PBS de 3 kez 5 er dakika bekletildi.
- Çizilen dokuları tam olarak kaplayacak şekildeStreptavidin Horseradish Peroksidaz (Large Volume Anti-polyvalent HRP cat: TP-125-HL)damlatılarak 20 dk.beklendi.
- PBS de 3 kez 5 er dakika bekletildi.
- Çizilen dokuları kaplayacak şekilde DAB solüsyonu (Labvision) damlatılarak reaksiyon vermesi için 10dk karanlıkta tutuldu.
- PBS de 3 kez 5 er dakika bekletildi.
- 1,5 dakika hematoksilen de bekletilerek zıt boyama yapıldı.

- Musluk suyuyla 5 dk.yıkandı
- Boyanmış preparatlar %70,% 80,% 90 ve %100'lük alkol serisine 1'er kez batırıp çıkardı.
- Kesitler ksilol-1 ve ksilol-2'de 10'ar dk bekletildi.
- Preparatlar entellanla kapatıldı.

Boyanmış preparatlar ZEISS AX10 ışık mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğrafları çekildi.

3.2.3 Biyokimyasal analizler

Ratlardan alınan kanlar santrifüj edilerek serumlar hazırlandı.

Beckman Coulter AU5800 tipi biyokimya otoanalizör cihazında Rel Assay Diagnostics Total-Native Assay ticari kiti kullanılarak Total Thiol ve Native Thiol parametreleri çalışıldı. Sonuçlar tablo 5'de gösterilmiştir(142).

4.BULGULAR

4.1.Biyokimyasal analiz sonuçları

Tablo 4.1Biyokimya analiz sonuçları

Grup/Parametre	Serum total tiyol	Nativetiyol	Dinamik disülfid
Kontrol-1	304,2	220	42,1
Kontrol-2	682,9	512	85,45
Kontrol-3	518,6	406	56,3
Kontrol-4	361,2	262	49,6
Kontrol-5	308,6	217	45,8
Kontrol-6	422,2	326	48,1
Kontrol-7	233,2	200	16,6
Kontrol-8	220	132	44
ABS-1	342,5	279	31,75
ABS-2	325,52	225	50,26
ABS-3	296	147	74,5
ABS-4	378,6	250	64,3
ABS-5	292	212	40
ABS-6	303,6	224	39,8
ABS-7	557,5	412	72,75
ABS-8	681,4	539	71,2
Kadmiyum-1	604,5	537	33,75
Kadmiyum-2	623,3	578	22,65
Kadmiyum-3	707,2	582	62,6
Kadmiyum-4	606,9	554	26,45
Kadmiyum-5	418,3	356	31,15
Kadmiyum-6			
Kadmiyum-7	370	273	48,5
Kadmiyum-8	373,6	267	53,3
Cd+ABS-1			
Cd+ABS-2	479	358	60,5
Cd+ABS-3	418,8	380	19,4
Cd+ABS-4	387,6	276	55,8
Cd+ABS-5	320,7	237	41,85
Cd+ABS-6	320	245	37,5
Cd+ABS-7	304,2	220	42,1
Cd+ABS-8			

Tablo 4.2 Sıçanların Kan dokularının Oksidatif Stres Belirteçleri

GRUPLAR	TOTAL TİYOL		NATIVE TİYOL		DISULFİDBAĞLARI	
	Ort. $\pm$ SD	pdeğeri	Ort. $\pm$ SD	pdeğeri	Ort. $\pm$ SD	pdeğeri
KONTROL	432,95 $\pm$ 31,73		332,16 $\pm$ 24,00		50,39 $\pm$ 6,80	
CD	308,31 $\pm$ 49,40 ^a	a:p=0.002	209,85 $\pm$ 52,97 ^a	a:p=0.001	49,23 $\pm$ 15,13	
CD+ABS	381,38 $\pm$ 55,68 ^b	b:p=0.041	290,85 $\pm$ 55,62 ^b	b:p=0.020	45,26 $\pm$ 13,89	
ABS	599,54 $\pm$ 94,47 ^b	a:p $\leq$ 0.001 b:p $\leq$ 0.001 c:p $\leq$ 0.001	508,28 $\pm$ 88,14 ^{a,b,c}	a:p $\leq$ 0.001 b:p $\leq$ 0.001 c:p $\leq$ 0.001	45,79 $\pm$ 22,07	

Değerler ort. $\pm$ SD olarak sunulmuştur. Gruplar arasındaki ilişkiler ve biyokimyasal belirteçlerin sonuçları, tek yönlü ANOVA (posthoc LSD) ile değerlendirildi. a: Kontrol grubu ile karşılaştırmayı, b: CD grubu ile karşılaştırmayı, c: CD+ABS grubu ile karşılaştırmayı temsil eder.

CD – Kadmiyum; ABS-Ankaferd Blood Stopper; SD – Standart Sapma.

CD grubundaki ratların kanlarındaki TT ve NT değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı (sırasıyla p=0,002 ve p=0,001).

ABS ile tedavi edilen gruplarda TT ve NT değerleri kadmiyum grubuna göre anlamlı olarak arttı (sırasıyla p=0.041 ve p=0.020).

Sadece ABS uygulanan grupta TT ve NT değerleri diğer gruplara göre anlamlı olarak arttı (tümü için p $\leq$ 0,001).

Grupların karşılaştırılmasında disülfid bağ seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.

4.2.Histolojik bulgular

4.2.1 Histopatolojik değerlendirme

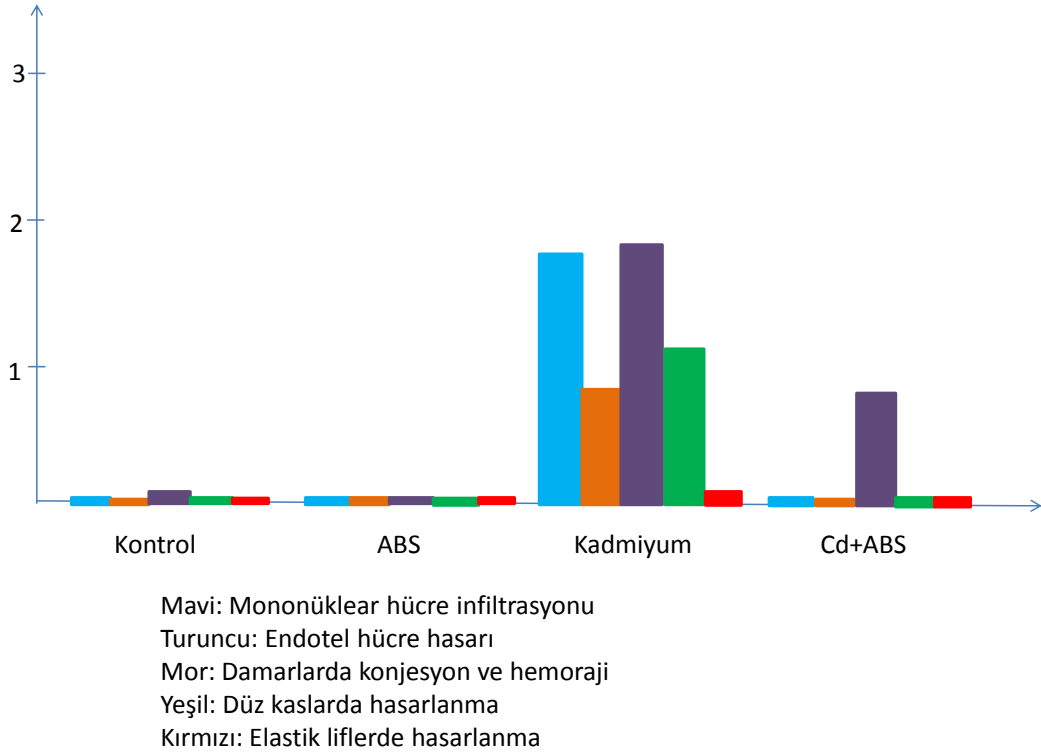
Tablo 4.3Hematoksilen-Eozin değerlendirme tablosu.

Gruplar/Parametreler	Mononükleer hücre infiltrasyonu	Endotel hücre hasarı	Damarlarda konjesyon ve hemoraji	Düz kaslarda hasarlanma	Elastik liflerde hasarlanma
Kontrol-1	+	-	+	-	-
Kontrol-2	-	-	-	-	-
Kontrol-3	-	-	-	-	-
Kontrol-4	-	-	+	-	-
Kontrol-5	-	-	-	-	-
Kontrol-6	-	-	-	-	-
Kontrol-7	-	-	-	-	+
Kontrol-8	-	+	-	+	-
ABS-1	+2	-	++	-	-
ABS-2	-	-	-	-	-
ABS-3	-	-	-	-	-
ABS-4	-	-	-	-	-
ABS-5	+2	-	+2	-	-
ABS-6	-	-	-	-	-
ABS-7	-	-	-	-	-
ABS-8	-	-	-	-	-
Kadmiyum-1	+2	+1	+2	-	-
Kadmiyum-2	+2	+1	+3	+2	-
Kadmiyum-3	+2	+1	+2	+1	+1
Kadmiyum-4	+1	-	+1	-	-
Kadmiyum-5	+1	+2	+1	+2	+1
Kadmiyum-6					
Kadmiyum-7	+2	+2	+2	+2	-
Kadmiyum-8	+3	+2	+2	+2	+2
Cd+ABS-1					
Cd+ABS-2	-	-	+2	-	-
Cd+ABS-3	+1	-	+2	+1	-
Cd+ABS-4	-	+1	-	+1	-
Cd+ABS-5	-	-	-	+1	-
Cd+ABS-6	-	-	-	-	-
Cd+ABS-7	+	+	+	+	+
Cd+ABS-8					

Tablo 4.4 Skorlama tablosu. (Hematoksilen-Eozin ve İmmünohistokimya boyamaları için)

(-) skor	Negatif skor	Hiçbir yapısal değişikliğin olmamasını ifade etmektedir.
(+) skor	1 pozitif skor	Hafif derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir.
(++) skor	2 pozitif skor	Orta derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir.
(+++)	3 pozitif skor	Ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir.

Ayrıca, ImageJ programı ile kesitlerde analizler yapıldı ve elde edilen sayısal veriler, parametrik bir test olan tek yönlü ANOVA ile istatistiksel açıdan değerlendirildi.



Tablo 4.5 Aort Hematoksilen-Eozin Gruplara Göre Değerlendirme Grafiği

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
mononükleer	Between Groups	11,750	3	3,917	7,696	,001
	Within Groups	14,250	28	,509		
	Total	26,000	31			
endotel	Between Groups	6,094	3	2,031	7,459	,001
	Within Groups	7,625	28	,272		
	Total	13,719	31			
damarlardakonjesyon	Between Groups	12,625	3	4,208	6,121	,002
	Within Groups	19,250	28	,688		
	Total	31,875	31			
düzkas	Between Groups	13,094	3	4,365	18,447	,000
	Within Groups	6,625	28	,237		
	Total	19,719	31			
elastiklif	Between Groups	1,750	3	,583	2,613	,071
	Within Groups	6,250	28	,223		
	Total	8,000	31			

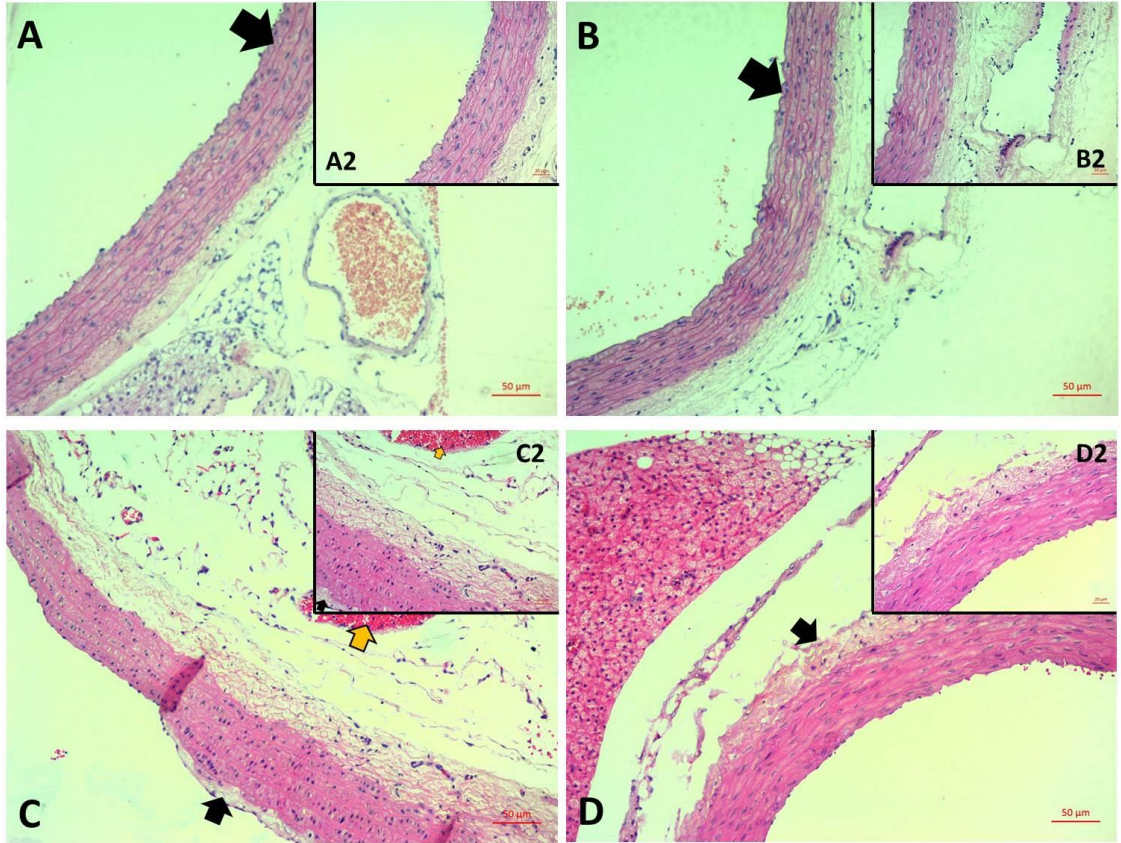
Tablo 4.6 Aort Hematoksilen Eozin Anova İstatistik Sonuçları

Kontrol grubu: Kontrol grubunun aort dokularının ışık mikroskopunda incelenmesi neticesinde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır.

ABS grubu: Sadece ABS verilen grubun aort dokularının incelenmesi sonucunda kontrol grubundan farklı olarak sadece damarlarda hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi ancak bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Buna bağlı olarak ABS grubunda da herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı diyebiliriz.

Cd grubu: Cd verilen hayvanların aort dokularının incelenmesi ve değerlendirilmesi neticesinde birden fazla histopatolojik bulguya rastlanmıştır. Mononükleer hücreinfiltrasyonu, endotel hücre hasarı, damarlarda konjesyon ve hemoraji, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma gözlemlenmiştir. Kontrol ve ABS gruplarıyla istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Özellikle mononükleer hücreinfiltrasyonu, endotel hücre hasarı, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma bulgularının histopatolojik olarak oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir.

Cd+ABS grubu: Cd+ABS verilen ratların aort dokularının değerlendirilmesi ve incelenmesi sonucunda sadece Cd verilen gruba kıyasla histopatolojik bulgulara azalmalar olduğu saptanmıştır. Özellikle Cd grubuna kıyasla Cd+ABS verilen grubun aort dokularında meydana gelen mononükleer hücre infiltrasyonu, endotel hücre hasarı, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma gibi histopatolojik bulgulara azalmalar istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.



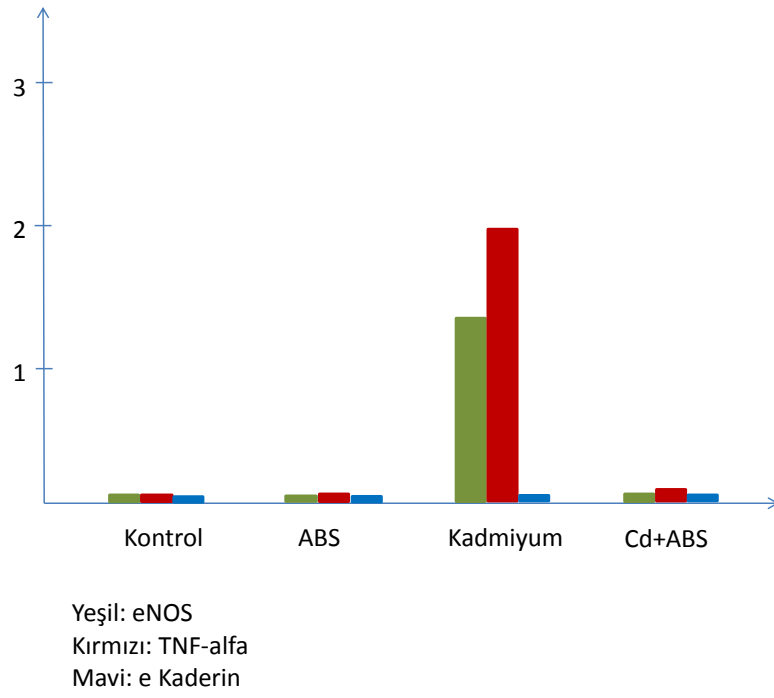
Şekil 4.1 Hematoksilen-Eozin Resimleri

Kontrol grubuna ait aort dokusunda herhangi bir histopatolojik bulgu yoktur. Kontrol grubuna benzer şekilde ABS grubunda da histopatolojik bulgulara çok az rastlanmıştır ve sadece damar yapılarında hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu artışı gözlemlenmiştir. Cd verilen grubun aort dokularının incelenmesi neticesinde mononükleer hücre infiltrasyonu (sarı ok), endotel hücre hasarı (siyah ok), damarlarda konjesyon ve hemoraji (sarı ok), düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma tespit edilmiş ve kontrol ve ABS grubuna göre anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,005$). Cd+ABS verilen grubun preparatlarının incelenmesi sonucunda Cd grubuna kıyasla mononükleer hücre infiltrasyonu, endotel hücre hasarı, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma bulgularında anlamlı azalmalar gözlemlenmiştir ($p < 0,005$). Siyah oklar büyütülen bölgeleri göstermektedir. A=Kontrol (X10) ve A2=Kontrol (X20), B=ABS (x10) ve B2=ABS (X20), C=Cd (X10) ve C2=ABS (X20), D=Cd+ABS (X10) ve C2=Cd+ABS (X20).

4.2.2.İmmünohistokimyasal değerlendirme

Tablo 4.7İmmünohistokimya Değerlendirme Tablosu

Grup/Parametre	eNOS	TNF-Alfa	E-Kaderin
Kontrol-1	+1	+1	-
Kontrol-2	-	+1	-
Kontrol-3	-	-	-
Kontrol-4	-	-	+1
Kontrol-5	-	-	-
Kontrol-6	-	-	-
Kontrol-7	-	-	-
Kontrol-8	+1	-	-
ABS-1	-	-	-
ABS-2	-	+1	-
ABS-3	+1	-	+1
ABS-4	-	-	-
ABS-5	-	+1	-
ABS-6	-	-	-
ABS-7	-	-	-
ABS-8	-	-	-
Kadmiyum-1	+2	+2	+1
Kadmiyum-2	+1	+2	-
Kadmiyum-3			
Kadmiyum-4	+2	+3	-
Kadmiyum-5	+3	+3	+2
Kadmiyum-6	+1	+1	-
Kadmiyum-7	-	+2	+1
Kadmiyum-8	+2	+2	+1
Cd+ABS-1			
Cd+ABS-2	-	+1	-
Cd+ABS-3	-	-	-
Cd+ABS-4	-	-	+1
Cd+ABS-5	+1	+1	-
Cd+ABS-6	+2	+2	-
Cd+ABS-7	-	+1	-
Cd+ABS-8			



Tablo 4.8 Aort İmmunohistokimya Gruplara Göre Değerlendirme Grafiği

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
enos	Between Groups	9,445	3	3,148	6,792	,002
	Within Groups	11,589	25	,464		
	Total	21,034	28			
tnfalfa	Between Groups	17,447	3	5,816	16,730	,000
	Within Groups	8,690	25	,348		
	Total	26,138	28			
ekaderin	Between Groups	1,736	3	,579	2,323	,101
	Within Groups	5,979	24	,249		
	Total	7,714	27			

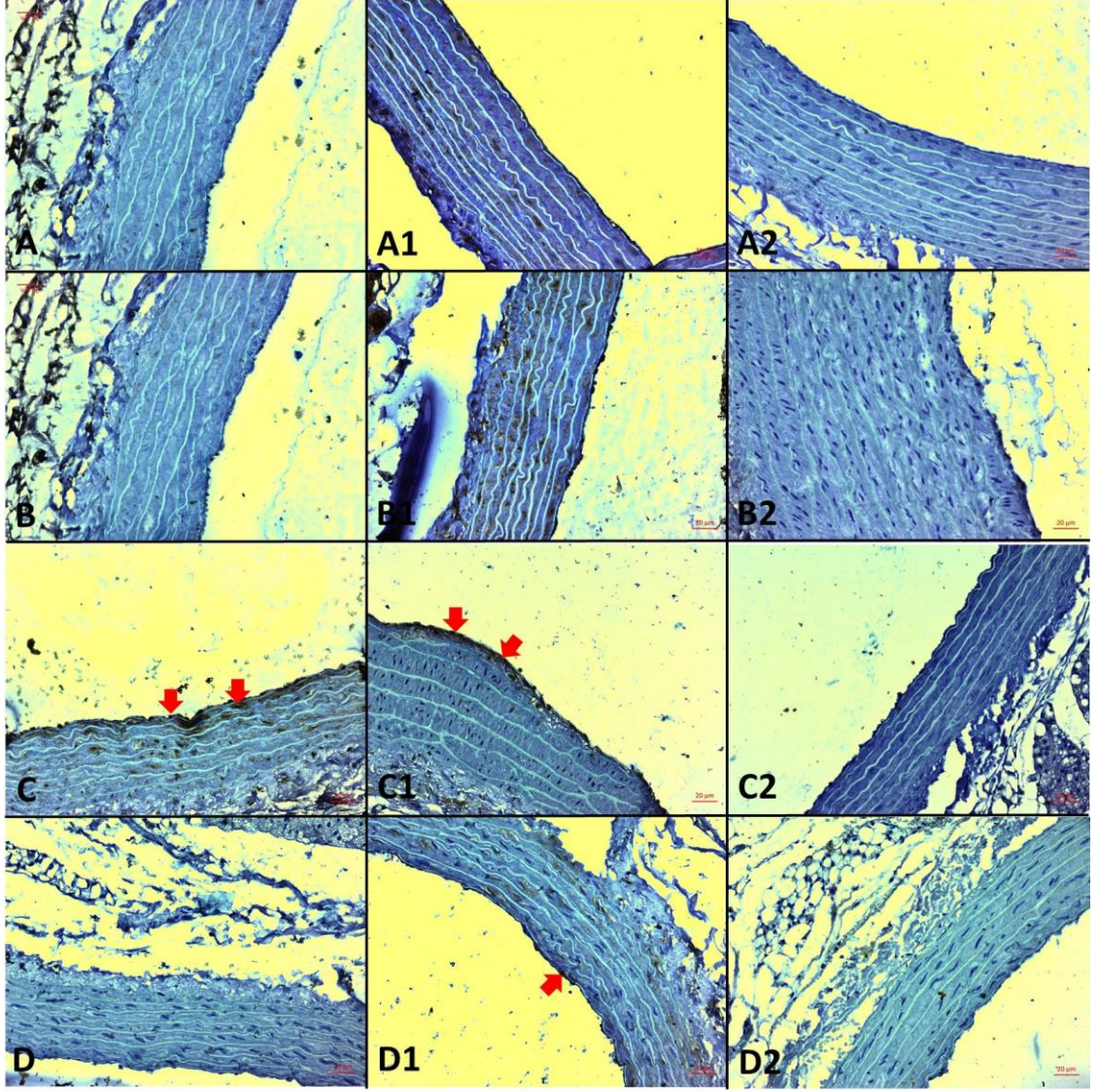
Tablo 4.9 Aort İmmunohistokimya Anova İstatistik Sonuçları

Bütün deney grupları immünohistokimya boyama yöntemi ile boyanarak değerlendirildi. Kontrol grubuna ait boyamaların incelenmesi sonucunda eNOS, TNF- α ve E-kaderin boyamalarının negatif olduğu tespit edildi ve görüntülendi.

ABS grubuna ait rat aort preparatlarının boyanması neticesinde kontrol grubundaki bezer şekilde eNOS, TNF- α ve E-kaderin proteinlerinin ve faktörlerinin sentezlerinin negatif olduğu gözlemlendi.

Cd grubuna ait aort dokularının eNOS, TNF- α ve E-kaderin antikorlarıyla boyanması neticesinde kontrol ve ABS gruplarından istatistiksel açıdan farklı olduğu ve sentezlerinin yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,005$). Özellikle eNOS ve TNF- α sentezlerinin oldukça arttığı gözlemlendi.

Cd+ABS grubuna ait preparatların immünohistokimyasal boyamalarının değerlendirilmesi ve incelenmesi neticesinde Cd grubuna göre eNOS, TNF- α ve E-kaderin sentezlerinin azaldığı tespit edildi. eNOS ve TNF- α düzeylerinin istatistiksel açıdanda anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0,005$).



Şekil 4.2 İmmunohistokimya Resimleri

Kontrol, ABS, Cd ve Cd+ABS grubuna ait aort dokusunun eNOS, TNF- α ve E-kaderin boyama görüntüleri. Cd grubuna ait görüntülerde eNOS ve TNF- α pozitif boyanmaları kırmızı oklarla gösterilmiştir. Cd+ABS grubuna ait aort dokularında ise eNOS boyaması pozitif olarak tespit edildi ve kırmızı okla gösterildi. A=Kontrol (A=TNF- α , A1=eNOS ve A2=E kaderin), B=ABS (B=TNF- α , B1=eNOS ve B2=E kaderin), C=Cd (C=TNF- α , C1=eNOS ve C2=E kaderin) ve D=Cd+ABS (D=TNF- α , D1=eNOS ve D2=E kaderin). (Bütün büyük fotolar X20, küçük fotolar ise X40).

5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Tartışma

Endotel hücrelerinden salgılanan mediyatörler sayesinde vazomotor düzenlenmesini, lökositlerin adezyonu ve inflamasyonu ve trombozisle fibrinolizis arasındaki denge sağlanmaktadır(6).

Anderson ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada endotel hücrelerinin inflamasyon oluşumunda ve damarın trombozise gitmesinde etkin rol oynadığı tespit edilmiştir (6). Bizim çalışmamızda da özellikle Cd vermiş olduğumuz grupta da buna benzer bulgular gözlenmiştir.

Cd'un erkeklerde üreme sistemindemeydana getirdiği hasarlara karşı resveratrol ve dialil disülfidin koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, çalışma grubundan birinin Cd 'un seminifer tübüllerinde hasarmeydana getirdiği, sperm üretimini inhibe ettiği ve eşey hücrelerinde hücre ölümünü uyardığı gözlenmiştir(100).

HALK, K ve ark yapmış olduğu başka bir çalışmada ise Cd'un testis dokusundaki seminifer tübüller üzerine hasarından bahsedilmiş ve resveratrolün koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise Cd'un aortta özellikle subendotel tabakayı oluşturan bağ dokusunda hasarlanmalara neden olduğu tespit edilmiştir. Bizim koruyucu ajanımız olarak verdiğimiz ABS'ninde resveratrol gibi koruyucu etkisinin olduğunu yapmış olduğumuz analizler neticesinde bulunmuştur.

Cd toksisitesinde hedef organın vasküler endotelyum olduğunu gösteren çalışma 1950 yıllarındamemelilerin testisinde yapılmıştır. Çalışma sonucunda testiste ödem ve hemoraji geliştiği tespit edilmiştir (102).

Gunn, S.A ve ark. yapmış olduğu bir deneysel hayvan modeli çalışmasında testis dokusundaki damar yapılarında Cd'a bağlı hemoraji geliştiği ve buna karşın Zn'nun koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiş. Bizim hayvan modeline dayanan projemizde ise ana damar olan aortun t. adventisya tabakasındaki vaza vazorumu oluşturan damarlarda özellikle hemorajiye sebep olduğu bulunmuştur. Oluşan hemorajiye karşı ABS'nin koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırdığımız çalışmamızda hemorajinin histopatolojik olarak azaldığı gözlemlenmiştir.

Doku hasarlanması veya oksidatif stres sonrasında kanda ilk belirlenebilen sitokinTNF- α 'dır. Çoğu immün hastalıkta inflamasyonun tetiklenmesinde ve sürdürülmesinde aktif rol almaktadır(33).

Jan Vilcek ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada doku hasarı veya fiziksel strese kanda ilk saptanabilen sitokin TNF- α olmasından yola çıkarak biz de çalışmamızda Cd vererek oluşturduğumuz endotel hasarlanmasını takiben TNF- α sentezinin artmış olabileceğini ortaya koymak için immunohistokimyasal boyamamızda antikor TNF- α kullandık. Sonuç olarak Cd verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde TNF- α sentezinin arttığını immunohistokimyasal incelemede tespit ettik.Cd'un endotele verdiği hasara karşı koruyucu etkisini araştırdığımız ABS grubunda ise TNF- α 'nınanlamlı ölçüde azaldığını gözlemledik.

Yapılan bir başka çalışmada Cd 'a yüksek dozda akut maruziyette damar endolinin bütünlük yapısının bozulması ile vasküler geçirgenliğin arttığı ve bunun sonucunda etkilenen organlarda ödem, hemoraji, oksiyen yetmezliği, inflamasyon ve doku hasarları meydana geldiği belirtilmiştir(104).

NOLAN C.V ve ark. deneysel çalışmasında Cd'a yüksek dozda akut maruziyetin vasküler endotelyumun bütünlüğünü bozduğunu ve böylece geçirgenliğinin attığı sonuçta hedef organlarda hasarlanma, hemoraji, hipoksi, inflamasyon olduğu gösterilmiştir. Bizde çalışmamızda akut Cd maruziyetinin kontrol grubuna kıyasla endotel ve düz kas tabakasında ve elastik liflerde hasarlanmaya ve hemorajiye sebep olduğunu gösterdik. Akut Cd maruziyetine karşı bu hasarlara karşı koruyucu etkilerini araştırmak için ABS yi kullandık. Cd+ABS grubunda hematoksilen-eozin boyama preparatlarını incelediğimizde Cd grubuna kıyasla mononükleer hücreinfiltrasyonu, endotel hücre hasarı, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma bulgularında anlamlı azalmalar gözlemledik. Böylece ABS' nin Cd'un verdiği hasara karşı koruyucu etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Epitel ve endotel hücrelerin yapışmasında kaderinler görev alır. Kaderin ailesinde E-kadherinler ve VE-kadherinlerbirbirine yapışarak bağlantı sağlayan hücrelerde olan, tek geçişli transmembran proteinlerindendir. Cd' un endotel fonksiyon bozukluğu üzerine olan etkisiele alındığında, hücrelerdeki kaderin&kaderin bağlantısındakibozukluk, baz alınabilir(58).

Prozialeck W.C E-kadherinin epitel hücrelerinde kadmiyum toksisitesi için hedef organ olabileceğini göstermek için çeşitli çalışmalar yapmış, sonuç olarak Cd'unçeşitli epitel hücrelerinde hücreler arası bağlantılar üzerinde nispeten spesifik

zarar verici etkilere sahip olduğunu E-kaderin sentezinde artma olduğunu immunohistokimyasal çalışmalarda göstermiştir. Bizim akut Cd toksitesini araştırdığımız deneysel çalışmamızda; Cd verdiğimiz sıçanlarda 6 saat içinde toksik etkilerinden dolayı endotel hasarı olduğunu bunu takiben venüllerin endotel hücreleri arasında, vasküler geçirgenlikte bir artışa neden olduğunu bunun da ödem ve hemorajiye neden olduğunu düşünmekteyiz. Cd grubuna ait aort dokularının eNOS, TNF- α ve E-kaderin antikorlarıyla boyanması neticesinde kontrol ve ABS gruplarından istatistiksel açıdan farklı olduğu ve sentezlerinin yüksek olduğunu tespit ettik. Cd+ABS grubuna ait preparatların immunohistokimyasal boyamalarının değerlendirilmesi ve incelenmesi neticesinde Cd grubuna göre eNOS, TNF- α ve E-kaderin sentezlerinin azaldığı tespit ettik. Buradan da Cd ‘un E-kaderin sentezini artırdığı koruyucu olarak kullandığımız ABS’nin bu etkiyi anlamlı ölçüde azalttığını düşünmekteyiz.

Emre Huri ve ark.’nın ABS’ nin renal tübüler apoptozda ve endotelial nitrik oksit sentazın ifadeleri üzerine etkilerini araştırmak için böbrekte parsiyel nefrektomi oluşturulmuş sıçan modelinde yaptıkları çalışmalarında; eNOS, iNOS ve apoptoz proteaz aktivleştirici faktör 1(Apaf-1)ve renal tübüler apoptozu araştırmışlar (150). Bizde Cd verdiğimiz sıçanlarda toksik etkiden dolayı oluşan endotel hasarı ve eNOS,TNF- α ve E-kaderin parametrelerini araştırdık.Yaptığımız immunohistokimyasal boyamaları incelediğimizde Cd grubunda kontrol grubuna kıyasla eNOS,TNF- α ve E-kaderin üretiminde artışlar olduğunu gözlemledik.Koruyucu olarak uyguladığımız Cd+ABS grubunda ise eNOS, TNF- α ve E-kaderin üretiminin anlamlı ölçüde azaldığını tespit ettik. Buda ABS nin endotel hasarına karşı iyileştirici etkisi olduğunu düşündürür.

N.Bayındır ve ark.nın sıçanlarda Cd ile oluşturulan karaciğer hasarı ve apoptoz üzerine kurkuminin koruyucu etkilerini araştırdıkları deneysel çalışmalarında karaciğer dokularında Total Oksidan Seviyesi(TOS), Total Antioksidan Seviyesi(TAS), thiol, miyeloperoksidaz(MPO) düzeyleri araştırılmıştır(84).

Kumaş M. ve ark.değişik yaş gruplarıdaki sıçanlar üzerinde Cd ‘un neden olduğu böbrek toksitesisi üzerine kurkuminin koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırıldığı deneysel bir çalışmada böbrek hasarı histopatolojik olarak değerlendirilmiş.Cd’un oksidatif stres üzerine olan etkileri TAS,TOS,IL-6,prokalsitonin, C- reaktif protein(CRP) düzeyleri ölçülerek değerlendirilmiş.Sonuç olarak Cd grubunda akut histopatolojik bulgular gözlenmiş, en yüksek ortalama TAS genç-yaşlı kurkumin grubundan,en yüksek ort. TOS ise yalnızca yaşlı-Cd grubu sıçanlarda kaydedilmiştir. Genç ve yaşlı sıçanlar üzerinde kurkuminin Cd2’dan kaynaklanan

histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği ve renal oksidatif hasarı önlediği belirtilmiştir(85).

Bizim Cd'un damar yapılarına verdiği hasara karşı ABS'nin etkisini araştırdığımız deneysel çalışmamızın biyokimya analizleri kısmında; aort dokusu çok küçük olduğundan homojenizasyon için uygun değildi bu nedenle biyokimya analizleri serum ile yapıldı. Cd'un oksidatif strese yol açtığını göstermek amacıyla oksidatif stres belirteçleri olarak TT, NT ve DB seviyelerine bakıldı. Cd grubundaki ratların kanlarındaki TT ve NT değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,001$). ABS ile tedavi edilen gruplarda TT ve NT değerleri Cd grubuna göre anlamlı olarak arttı (sırasıyla $p=0.041$ ve $p=0.020$). Sadece ABS uygulanan grupta TT ve NT değerleri diğer gruplara göre anlamlı olarak arttı (tümü için $p\leq 0,001$). Grupların karşılaştırılmasında DB seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadı. Cd'un oksidatif strese yol açtığını koruyucu olarak verdiğimiz ABS'nin Cd kaynaklı oksidatif hasar üzerinde iyileştirici etkisi olduğunu düşünmekteyiz(85).

5.2. Sonuç ve öneriler

ABS farklı türdeki beş bitkisel içeriğin farklı oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen ve antioksidan içeriği yüksek olan hemostatik bir ajan olarak aktif şekilde kullanılmaktadır. Özellikle damar endoteli başta olmak üzere kan hücreleri, anjiogenez, hücre proliferasyonu, vasküler dinamikler ve mediatörler üzerine etkileri olduğu olan fitoterapötik özellikleri yüksek bir ilaçtır.

Cd kirlilik oranı yüksek topraklarda yetişen bitkilerle ve bu bitkilerle beslenen hayvanlardan üretilen hayvansal gıdalar ve içme sularına karışan sanayi artıkları aracılığıyla insanlara ulaşmakta ve vücuda alınmaktadır. Günümüzde Cd insanlar tarafından en fazla sigara ve rafine edilmiş yiyecekler ile alınmaktadır. Bunların dışında ise endüstriyel açıdan piller ve kömür kullanımına bağlı olarak oluşan hava kirliliği aracılığıyla da insan vücuduna girmektedir. Cd neredeyse bütün dokularda birikerek hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve NO üretimine yol açtığı, lipid peroksidasyonunu arttırdığı, antioksidan enzimlere zarar verdiği, tiol proteinlerinde değişikliklere sebep olduğu, enerji metabolizmasını inhibe ettiği, DNA yapısında ve membran fonksiyonunda değişikliklere sebep olduğu yapılan çalışmalar neticesinde ortaya konmuştur.

Yapılan birçok çalışma Cd'un karaciğer, böbrek, akciğer ve genital organlarda oluşturduğu hasarların H-E boyamalarla ışık mikroskopunda değerlendirilmesiyle ortaya çıkarılmıştır. H-E boyamalara ek olarak Cd'un DNA hasarına sebep olması ve bununla birlikte oluşturduğu inflamasyonda göstermek için TNF- α , IL-1 β , NFkB ve IL-6 gibi antikorlar immünohistokimyasal boyamalarda yapılmıştır. NO düzeylerinde değişikliklere sebep olmasından dolayı NOS aktivilerinin de immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak gösterildiği çalışmalar yapılmıştır.

Cd'un dokularda meydana getirdiği hasarlanmalar aynı zamanda kandaki biyokimyasal analizlerde desteklenmiştir. Kandaki TAS ve TOS seviyeleri Cd maruziyetine bağlı olarak artmaktadır. Kandaki tiyol seviyeleri ise maruz kalan Cd miktarına ve zamanına bağlı olarak azalmaktadır. Cd brikiminin olduğu ya da Cd'uma maruz kalan dokulardan elde edilen homojenatların biyokimyasal analizleri neticesinde

MDA düzeylerinin arttığı, superoksitdismutaz (SOD) ve katalaz aktivitelerinde ise düşüş olduğu yapılan çalışmalarda bulunmuştur.

Aort dokusunun histokimyasal incelemeleri sonucunda ABS ve kontrol gruplarında hemoraji hariç herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmazken, Cd verilen grupta ise mononükleer hücre infiltrasyonu, endotel hücre hasarı, düz kaslarda ve elastik liflerde hasarlanma bulgularına rastlanmıştır. Ancak Cd ve ABS'nin birlikte verildiği grupta ise mononükleer hücre infiltrasyonunun azaldığı, endotel hücrelerinin, düz kasların ve elastik liflerin Cd'a bağlı olan hasarlanmadan ABS aracılığıyla korunduğu bulunmuştur.

H-E boyamalarına paralel olarak eNOS ve TNF- α immün boyamalarında Cd grubunda artış saptanırken, Cd ve ABS verilen grupta ise her iki markerında azaldığı bulunmuştur.

Biyokimyasal analizler neticesinde Cd grubunda total tiyol ve nativetiylol seviyelerinde azalmalar tespit edilmiştir. Ancak Cd ve ABS'nin birlikte verildiği grupta ise total ve nativetiylol seviyelerinde bir miktar azalma olduğu sonucu bulunmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda akut Cd'a maruz kalan aort dokusunda oksidatif stress ve DNA hasarı oluşmaktadır. ABS ise Cd'un oluşturduğu akut hasarı antioksidan özellikleri sayesinde önlemekte ve azaltmaktadır. ABS'nin bu etkileri Total tiyol ve nativetiylol biyokimyasal analizlerle belirlenmiştir. Ancak çalışmamızda uygulan 6 saatlik süre ABS'nin etkisi için yetersiz olduğunda ortaya koymuştur. Oksidatif strese bağlı olarak oluşan inflamasyonu göstermek içinde eNOS ve TNF- α immünohistokimyasal analizleri yapılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda ABS'nin Cd'una aort dokusunda meydana getirdiği hasarlanmayı azaltabileceğini ancak akut çalışmalardaki sürenin daha iyi korunma sağlamak için uzatılması gerektiğini düşünmekteyiz.

7.KAYNAKLAR

1. Ceylan S, Sanlı Y, 1980. Çevre ve Besin Kirlenmesi. Gıda Bil. Teknol. Derg, 3 (1-2), 76-92.
2. Goyer, R.A, Clarkson, W.T. 2001. Toxic Effects of Metals. Edited by: Klaassen, C.D. Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, 6th ed, McGraw-Hill, USA, 811–827.
3. El-Sokkary, G.H Abdel-Rahman, G.H., Kamel, E.S., 2005. Melatonin Protects Against Lead-Induced Hepatic and Renal Toxicity in Male Rats. Toxicology, 213 (1-2), 25-33.
4. Prozialeck W.C, Edwards, J.R. Woods, J.M., 2006. The Vascular Endothelium as a Target of Cadmium Toxicity. Life Sci 79 (16), 1493-1506
5. Cadmium Toxicity Revisited: Focus on Oxidative Stress Induction and Interactions with Zinc and Magnesium, March 2011, Archives of Industrial Hygiene and Toxicology 62(1):65-76
DOI:[10.2478/10004-1254-62-2011-2075](https://doi.org/10.2478/10004-1254-62-2011-2075)
6. Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. J Am Coll Cardiol. 1999; 34: 631-638
7. Turner J, Belch JF, Khan F. Current Concepts in Assessment of Microvascular Endothelial Function Using Laser Doppler Imaging and Iontophoresis. Trends Cardiovasc Med 2008; 18: 109–116)
8. Tasdelen Fisgin N, Tanriverdi Cayci Y, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, Tulek N. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper®. Fitoterapia. 2009;80:48-50
9. Sabuncuoğlu B. Kardiyovasküler sistem. İçinde: Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas, Baykal B (Çeviri editörü). Histology A text and Atlas, Ross MH, Pawlina W. 6. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2014: 400-30
10. Erkoçak A. Özel Histoloji, 4. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Basımevi, 1982: 9-41

11. Arıncı K, Elhan A. Anatomi, 2. Cilt, 4. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi, 2006:1-17
12. Unur E, Ülger H, Ekinci N. Anatomi, 2. Baskı, Kayseri, Medikal Kitabevi, 2005: 110-14
13. Müftüoğlu S, Dağdeviren A. Kalp ve Damar Sistemi. İçinde: Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi, Dalçık H, Yıldırım M (Çeviri editörleri). The Developing Human: Clinically Oriented Embriology, Moore KL, Persaud TVN. 8. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 2009: 285-330
14. Sadler T. Langman's Medical Embriology. Çeviri: Başaklar AC. Langman Medikal Embriyoloji, 11. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2011: 165-96
15. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology, Text&Atlas. Çeviri: Solakoğlu S, Aytekin Y. Temel Histoloji. 11. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 205-19
16. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji, 1. Baskı, Malatya, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Lmt. Şti., 2009: 3-20
17. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas - Michael H. Ross Wojciech Pawlina/ Çeviri editörü Barış Baysal 6. Baskı- Bölüm 13-Kardiyovasküler sistem/408-411
18. Ozan H. Anatomi, 3. Baskı, İstanbul, Klinisyen Tıp Kitabevleri, 2004:253-78
19. Stephan BCM, Harrison SL, Keage HAD, Babateen A, Robinson L, Siervo M. Cardiovascular disease, the nitric oxide pathway and risk of cognitive impairment and dementia. Curr Cardiol Rep. 2017;19(9):87. <https://doi.org/10.1007/s11886-017-0898-y>
20. Mitra R, O'Neil GL, Harding IC, Cheng MJ, Mensah SA, Ebong ES. Glycocalyx in atherosclerosis-relevant endothelium function and as a therapeutic target. Curr Atheroscler Rep. 2017;19(12):63. <https://doi.org/10.1007/s11883-017-0691-9>
21. Jakobsson L, Franco CA, Bentley K, et al. Endothelial cells dynamically compete for the tip cell position during angiogenic sprouting. Nat. Cell Biol. 2010;12:943-53. <https://doi.org/10.1038/ncb2103>
22. Cho JG, Lee A, Chang W, Lee MS, Kim J. Endothelial to mesenchymal transition represents a key link in the interaction between inflammation and endothelial dysfunction. Front. Immunol. 2018;2(9): <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00294>

23. Goveia J, Stapor P, Carmeliet P. Principles of targeting endothelial cell metabolism to treat angiogenesis and endothelial cell dysfunction in disease. *EMBOMolMed*.2014;6(9):1105- 20.
<https://doi.org/10.15252/emmm.201404156>
24. Limaye V, Vadas M. The Vascular Endothelium: Structure and Function. In: Fitridge R, Thompson M, eds. *Mechanisms of Vascular Disease: A Textbook for Vascular Surgeons*. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2007. p. 1-13
25. Furchott RF, Zawadzki JV. The Obligatory Role of Endothelial Cell in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376
26. Michel et al. Prosective series: Nitric Oxide, Nitric Oxide Synthetases: Which, Where, How and Why. *J. Clin Invest*, Vol 100 November; 1997: 2146- 2152).
27. Charles et al. Nitric Oxide, A physiologic Messenger. *Annals of Internal Medicine* Volume 120, Issue 3 1994; 227-237.
28. Goulopoulou S. Maternal vascular physiology in preeclampsia. *Hypertension*. 2017;70(6):1066-73. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.08821>
29. Boeldt DS, Bird IM. Vascular Adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Endocrinol*. 2017;232(1):R27-R44.
<https://doi.org/10.1530/JOE-16-0340>
30. Gültekin N, Yaldiran A, Özbayrakçı S, Küçükoğlu S, Mutlu H. Endothelin system. *Türkiye Klinikleri J Cardiol*. 1994;7(4): 234-8
31. Massberg S, Brand K, Grüner S, et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med*. 2002;7(196):887-96.
<https://doi.org/10.1084/jem.20012044>
32. Feuerstein G, Boyd LM, Ezra D, Goldstein RE. Effect of plateletactivating factor on coronary circulation of domestic Pig, *Am J Physiol*. 1984;246(3):466-71. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1984.246.3.H466>
33. Vilcek J. First demonstration of the role of TNF in the pathogenesis of disease. *J Immunol* 2008;181(1):5-6
34. Youn BS, Bang S, Klöting N, Park JW, Lee N, Oh JE, Pi KB, Lee TH, Ruschke K, Fasshauer M, Stumvoll M, Blüher M. Serum Progranulin Concentrations May Be Associated with Macrophage Infiltration into Omental Adipose Tissue. *Diabetes*. 2009; 58: 627-636.

35. Tseng WY, Huang YS, Lin HH, Luo SF, McCann F, McNamee K, et al. TNFR signalling and its clinical implications. *Cytokine* 2018;101:19-25.
36. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2010;20(2):87-103
37. Ahmet Çayakar, What is the Tumor Nekrosis Faktor Alpha? *Türkiye Klinikleri J Intern Med* 2018;3(2):67-76/ DOI: 10.5336/intermed.2018-61424
38. Kaltsonoudis E, Zikou AK, Voulgari PV, Konitsiotis S, Argyropoulou MI, Drosos AA. Neurological adverse events in patients receiving anti-TNF therapy: a prospective imaging and electrophysiological study. *Arthritis Res Ther* 2014;16(3):R125
39. Şendağ D, Özçelik N. Heart deficiency and renin-angiotensin system. *Göztepe Tıp Dergisi*. 2001;16:38-44
40. Wu KK, Thiagarajan P. Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annu Rev Med*. 1996;47:315-31. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.47.1.315>
41. Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg*. 2006;16(3):143-52
42. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109:III27-III32.
43. Griffith TM. Modulation of blood flow and tissue perfusion by endothelium derived relaxing factor. *Exp Physiol* 1994; 79:873-913
44. Khrbanda RK, Deanfield J. Functions of the healthy endothelium. *Coroner Artery Disease* 2001; 12:485-91)(Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature* 1993; 362:801-9
45. Watts GF, Playford DA. Dyslipoproteinemia and hyperoxidative stress in the pathogenesis of endothelial dysfunction in non-insulin dependent diabetes mellitus: an hypothesis. *Atherosclerosis* 1998; 141:17-30
46. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T et al. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:6434-8
47. Zeiher AM, Schachinger V, Minners J. Long term cigarette smoking impairs endothelium dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation* 1995; 92:1094-100
48. Campisi R, Czernin J, Schoder H, et al. L-arginine normalizes coronary vasomotion in long term smokers. *Circulation* 1999; 99:491-7

49. Kansas GS, Selectins and their ligands: Current concepts and controversies. Blood 1996; 88: 3259–87
50. Aköz, m., trans-9 18: 1 octadecenoic asit izomerinin solubül hücre adezyon molekülleri (sıcam-1 ve svcam-1) ve insülin benzeri growth faktör (igf-1) düzeylerine etkileri.
51. Gürüyener, K. et al. Complications of varicella zoster. The Indian Journal of Pediatrics, 2002. 69(2): p. 195-196.
52. Yerlikaya, A. et al., Effect of bortezomib in combination with cisplatin and 5-fluorouracil on 4T1 breast cancer cells. Molecular medicine reports, 2013. 8(1): p. 277-281
53. TAÇYILDIZ, N. and A.O. ÇAVDAR, ADEZYON MOLEKÜLLERİ VE METASTAZ. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 1995. 48(2)
54. Terekeci, M.H., B. Şahan, and C. Top, Hücre adezyon molekülleri. PREVALENCE, 2008. 30: p. 38
55. ŞENSOY, E. and Y. ÖZNURLU, Hücre adezyon molekülleri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 2009. 4(1): p. 57-68
56. Malik AB, Lo SK, Vascular endothelial adhesion molecules and tissue inflammation Pharmacol Rev 1996; 48: 213-29
57. NIEWENHUIS, R.J. DIMITRIU, C. PROZIALECK, W.C. (1997). Ultrastructural characterization of the early changes in intercellular junctions in response to cadmium (Cd²⁺) exposure in LLC-PK1 cells. Tox. Appl. Pharm., 142(1):1–12.
58. PROZIALECK, W.C. (2000). Evidence that E-cadherin may be a target for cadmium toxicity in epithelial cells. Tox. Appl. Pharm 164(3):231–249
59. PEARSON, C.A. PROZIALECK, W.C. (2001). E-cadherin, beta-catenin and cadmium carcinogenesis. Med. Hypot., 56(5):573–581
60. BELL, R.R. NONAVINAKERE, V.K., SOLIMAN, M.R. (2000). Intratracheal exposure of the guinea pig lung to cadmium and/or selenium: a histological evaluation. Tox. Lett. 114 (1–3): 101–109
61. Ehrhardt C. Kneuer C. Bakowsky U. 2004. Selectins-an emerging target for drug deliver. Pharmacol. Res., 56, 527–549

62. Özkara, G., O. Öztürk, and H.Y. AYDOĞAN, Kanser ve Metastaz: Hücre Adezyon Molekülleri ve Hücreler Arası Bağlantıların Önemi. Experimed, 2020. 10(1): p. 38-48
63. Gearing AJH. Newman W. 1993. Circulating adhesion molecules in disease. Immunol. Today, 14, 506–512.) (Erdem F. and Alper D. 1997. Adhezyon molekülleri. T. Klin. J. Med. Sci., 17, 75– 77
64. Derici, M.K. and E.D. YILMAZ, Nitrik oksitin kanser gelişimi ve metastaz üzerine etkileri. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 2017. 74(2): p. 161-174.
65. Soylu, A. and S. Kavukçu, Çocu, klarda Henoch Schönlein Purpurası: Patofizyoloji, Tanı ve Tedavi.
66. İstanbulluoğlu H. Piyasada satılan süt ve süt ürünlerinde ağır metal kirliliği (Uzmanlık tezi). Ankara, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, 2011.
67. Dündar Y, Aslan R. Yaşamıkuşatan ağır metal kurşunun etkileri.The Medical Journal of Kocatepe. 2005;6:1-5.
68. Piomelli S. Childhood lead poisoning. Pediatr Clin North Am. 2002;49:1285-304
69. Spiro TG, Purvis Roberts KL, Stigliani WM. Chemistry of the Environment, 3rd edition. US, University Science Books,1996
70. Yılmaz H. Ağır Metal Zehirlenmesi ile İlişkili nörolojik vaka örnekleri <http://www.hisam.hacettepe.edu.tr/isvemeslek hastaliklarisemp/11.pdf>
71. Civelek E. Kurşuna maruz akü fabrikası işçilerinde genotoksik hasarın challenge tekniği ile araştırılması (Yüksek lisans tezi). Ankara, Gazi Üniversitesi,2001
72. Kahvecioğlu Ö, Kartal G, Güven A, Timur S. Metallerin çevresel etkileri-III. Metalurji Dergisi. 2004;138:64-71
73. Clarkson TW, Magos L, Myers GJ. The toxicology of mercury current exposures and clinical manifestations. N Engl J Med.2003;349:1731.
74. Gupta SK, Kaleekal S, Oeshin S. Emergency Toxicology: Management of Common Poisons. 2th. Ed. India, SK Gupta,2003
75. Aydoğdu N, Kanter M, Erbaş H, Kaymak K. Kadmiyuma bağlı karaciğer hasarında taurin, melatonin ve asetil sisteinin nitrik oksit, lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidanlar üzerindeki etkileri. Erciyes Tıp Fak Derg. 2007;29(2): 89-96.

76. Özbek, H. Kaya, Z. Gök, M ve Kaptan, H., 1995. Toprak Bilimi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Genel Yayın No: 73 Ders Kitapları Yayın No:16, ADANA
77. Yağmur, B. Hakerlerler, H ve Kılınç, R. 2003. Gübreler ve İnsan Sağlığı. Çiftçi Dergisi sayı:2
78. Işıklı, B. Demir, T.A., Ürer, S.M., Berber, A., Akar, T ve Kalyoncu, C., 2007. Bir Kırsal Alan Yerleşiminde Kadmiyum Maruziyeti. <http://www.dicle.edu.tr/~halks/m68.htm>
79. Yang J, Chao J, Lin J. Reactive oxygen species may participate in the mutagenicity and mutational spectrum of cadmium in the chinese hamster ovary-K 1 cells. Chem Res Toxicol. 1996;9:1360-67
80. Shiraishi N, Waalkes MP. Acquired tolerance to cadmium induced toxicity in rodent testes. Toxicol Subs Mech. 1996;15:27-42.
81. Ognjanovic BI, Pavlovic SZ, Maletic SD, Zikic RV, Stajn AS, Radojicic RM, Saicic ZS, Petrovic VM. Protective influence of vitamin E on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. Physiol Res. 2003; 52: 563-70
82. Jurczuk M, Brzoska M, Moniuszko J, Galazyn M, Kulikowska E. Antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to cadmium and ethanol. Food Chem Toxicol. 2004;42:429-38 ,
83. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. Wiad Lek. 2004;57(9-10):453-5.
84. N.bayındır ve ark.Protective Effect of Curcumin on Cadmium-Induced Liver Apoptosis in rats.Bezmiale science 2016;3:99-105.
85. KUMAŞ M, EŞREFOĞLU M, BAYINDIR M, IRAZ M , AYHAN S,MEYDAN S (2016) Protective Effects of Curcumin on Cadmium-Induced Renal Injury in Young and Aged Rats.Bezmiale Science 4,no:3(2016):92-98.
86. Koyu A, Gökçimen A, Özgüner F, Bayram DS, Kocak A. Evaluation of the effects of cadmium on rat liver. Mol Cel Biochem. 2006; 284: 81–85)
87. Rahimzadeh, M.R. et al. Cadmium toxicity and treatment: An update. Caspian journal of internal medicine, 2017. 8(3): p. 135.
88. Joseph P. (2009). Mechanisms of cadmium carcinogenesis. Toxicol Appl Pharmacol. 238: 272–279

89. Wätjen W, Cox M, Biagioli M, Beyersmann D. (2002). Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: Mediation by caspase 9 activation. *Biometals*. 15: 15–25
90. Candan, İ. A. Bayram, D. Calapoğlu, N. Ş., Gürbüz, N., Cankara, F. N., Özgöçmen, M., & Armağan, İ. (2017). Kadmiyum verilen dişi sıçanlarda üreme sistemi üzerine melatonin ve selenyumun etkisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 24(3), 84-95.
91. Oh SH, Lee BH, Lim SC. (2004). Cadmium induces apoptotic cell death in WI 38 cells via caspase-dependent Bid cleavage and calpain-mediated mitochondrial Bax cleavage by Bcl-2-independent pathway. *Biochem Pharmacol*. 68(9):1845–1855.
92. Halk K. , Kahveci Z. , Çavuşoğlu İ. , Sırmalı Ş. Resveratrol ve Dialil Disülfitin Sıçan Testisinde Kadmiyum ile Oluşturulmuş Akut Hasara Etkisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2020; 27(3): 273-282.
93. Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum ile Oluşturulan Hasar Üzerine Etil Pirüvatın Etkilerinin Araştırılması Ayça LEKESİZCAN, Mehmet Fatih SÖNMEZ
94. Cadmium carcinogenesis in review Michael P. Waalkes * Inorganic Carcinogenesis Section, Laboratory of Comparative Carcinogenesis, National Cancer Institute at the National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC 27706, USA
95. Xiao W, Liu Y, Templeton DM. (2009). Pleiotropic effects of cadmium in mesangial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 238(3): 315–326.
96. Gunawardana CG, Martinez RE, Xiao W. (2006). Templeton DM. Cadmium inhibits both intrinsic and extrinsic apoptotic pathways in renal mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 290(5): 1074-1082.
97. Woodsa JM, Leoneb M, Klosowskaa K, Lamarc PC, Shaknovskya TC, Prozialeckc WC. (2008). Direct antiangiogenic actions of cadmium on human vascular endothelial cells. *Toxicol in vitro*. 22(3): 643-651.
98. Kolluru GK, Tamilarasan KP, Priya SG, Durgha NP, Chatterjee S. (2006). Cadmium induced endothelial dysfunction: Consequence of defective migratory pattern of endothelial cells in association with poor nitric oxide availability under cadmium challenge. *Cell Biol Int*. 30(5): 427-438.

99. BAUERSACHS, J. SCHAFFER, A. (2004). Endothelial dysfunction in heartfailure: mechanisms and therapeutic approaches. *Curr. Vasc. Pharm.*, 2 (2):115–124
100. DAVIGNON, J. GANZ, P. (2004). Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* (23 Suppl 1) 109: 327-332
101. HOUTMAN, J.P. (1993). Prolonged low-level cadmium intake and atherosclerosis. *Sci. Tox. Environ.* 138(1–3):31–36
102. GUNN, S.A. GOULD, T.C. ANDERSON, W.A.D. (1961). Zinc protection against cadmium injury to rat testis. *Arch. Path.* 71: 274–281
103. AOKI, A. HOFFER, A.P. (1978). Reexamination of the lesions in rat testis caused by cadmium. *Biol. Reprod.* 18 (4): 579–591
104. NOLAN, C.V. SHAIKH, Z.A. (1986). The vascular endothelium as a target tissue in acute cadmium toxicity. *Life Sci.* 39(16):1403–1409.
105. BRIDGES, C.C. ZALUPS, R.K. (2005). Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Tox. Appl. Pharm.* 204: 274–308
106. ZALUPS, R.K. AHMAD, S. (2003). Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Tox. Appl. Pharm.* 186 (3): 163–188.
107. KAJI, T. FUJIWARA, Y. KOYANAGI, E. YAMAMOTO, C. MISHIMA, A. SAKAMOTO, M. KOZUKA, H. (1992a). Protective effect of copper against cadmium cytotoxicity on cultured vascular endothelial cells. *Tox. Lett.* 63(1):13–20.
108. KAJI, T. MISHIMA, A., KOYANAGI, E., YAMAMOTO, C., SAKAMOTO, M., KOZUKA, H. (1992b). Possible mechanism for zinc protection against cadmium cytotoxicity in cultured vascular endothelial cells. *Tox.* 76(3):257–270
109. KISIMOTO, T. FUKUZAWA, Y. ABE, M., ISOBE, M., HASHIMOTO, M., TADA, M. (1991). Cadmium injury of cultured human vascular endothelial cells. *Hum. Cell.* 4(4):329–334.
110. RIKANS, L.E. YAMANO, T. (2000). Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity. *J. Biochem. Molec. Tox.* 14(2):110–117.
111. GOYER, R.A. (1997). Toxic and essential metal interactions. *Ann. Rev. Nutr.* 17:37–50.
112. Kaji, T. Mishima, A. Yamamoto, C., Sakamoto, M., Koizumi, F. (1992). Effect of cadmium on the monolayer maintenance of vascular endothelial cells in culture. *Toxicology.*, 71: 267-276.,

113. Fujiwara, Y. Watanabe, S. Kaji, T. (1998). Promotion of cultured vascular smooth muscle cell proliferation by low levels of cadmium. *Toxicol. Lett.* 94, 175-180
114. Roe, M. W. Hepler, J. R., Harden, T. K., Herman, B. (1989). Platelet-derived growth factor and angiotensin II cause increases in cytosolic free calcium by different mechanisms in vascular smooth muscle cells. *J. Cell. Physiol.* 139: 100-108.
115. Fujiwara, Y. Tsumura, N. Yamamoto, C. Kaji, T. (2002). Differential effects of cadmium on proteoglycan synthesis of arterial smooth muscle cells: increase in small dermatan sulfate proteoglycans, biglycan and decorin, in the extracellular matrix at low cell density. *Toxicology.* 170: 89-101
116. Ross, R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.*, 29: 801-809
117. Kıroğlu O., İzole Fare Özofagus Çizgili Kasının Karboksile Verdiği Cevaplar Üzerine Kadmiyumun Etkisi Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana , 2006
118. Open Access The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health Johannes Godt*1, Franziska Scheidig2, Christian Grosse-Siestrup3, Vera Esche3, Paul Brandenburg3, Andrea Reich3 and David A Groneber
119. Cadmium Toxicity and Treatment Robin A. Bernhoft Bernhoft Centers for Advanced Medicine, 11677 San Vicente Blvd, Suite 208/211, Los Angeles, CA 93023, US
120. Cadmium carcinogenesis Michael P. Waalkes* Inorganic Carcinogenesis Section, Laboratory of Comparative Carcinogenesis, National Cancer Institute at the National Institute of Environmental Health Sciences
121. Alexander Drive, P.O. Box 12233, Mail Drop F0-09, Triangle Park, NC 27706, USA probably as a consequence of binding to MT, cadmium is very slowly eliminated from the body. This long residence time could enhance the probability of neoplastic transformation by cadmium
122. Brzoska, M.M., Moniuszko-Jakoniuk, J. The Influence Of Calcium Content In Diet On Cumulation And Toxicity Of Cadmium In The Organism. *Arch. Toxicol.*, 1998; 72:63-73

123. Contemporary Issues in Toxicology Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis Jie Liu a, Wei Qu a, Maria B. Kadiiska b a Inorganic Carcinogenesis Section, Laboratory of Comparative Carcinogenesis, 124.T.W. Alexander Drive, MD F0-09, Research Triangle Park, NC 27709, USA b Laboratory of Pharmacology and Chemistry, National Institute of Environmental Health Sciences/National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC 27709, USA
125. Review Article Oxidative Stress in Lead and Cadmium Toxicity and Its Amelioration R. C. Patra,^{1, 2} Amiya K. Rautray,¹ and D. Swarup²,
126. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazli S, Akman U, Ozturk Y. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. J Int Med Res. 2008; 36:163-70.
127. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chem Toxicol 2007; 91: 131-7.
128. Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. Int Immunopharmacol 2006; 6: 494-8
129. Barka EA, Belarbi A, Hachet C, Nowak J, Audran JC. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* cocultured with plant growth-promoting rhizobacteria. FEMS Microbiol Lett 2000; 186: 91-5.
130. Matsuda H, Ando S, Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M. Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. Bioorg Med Chem 2006; 14: 138-42
131. Testai L, Chericoni S, Calderone V, Nencioni G, Nieri P, Morelli I, et al. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. J Ethnopharmacol 2002; 8: 105-9
132. Okumuş M, Yüksel KZ, Özbağ D, Çıralık H, Yılmaz Z, Gümüşalan Y, et al. Medicinal plant extract (Ankaferd Blood Stopper) application in deep tissue injuries in rats: histopathological investigation of the effect on regional and systemic tissues. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg 2013; 19:1-7

133. Biphasic effects of ankaferd blood stopper on renal tubular apoptosis in the rat partial nephrectomy model representing distinct levels of hemorrhage Emre Huri, MD, FEBU, Ibrahim C. Haznedaroğlu, MD, Turgay Akgül, MD, Muzeyyen Astarci, MD, Huseyin Ustun, MD, Cankon Germiyanoulu,
134. Effect of ankaferd blood stopper on hemostasis and histopathological score in experimental liver injury. Mustafa Uygur Kalayci 1 , Aliye Soylu 1 , Hasan Erol Eroglu 3 , Dilek Kubilay 4 , Banu Sancak 5 , Ceyhan Ugurluoglu 6 , Ugur Ercin 5 , Yavuz Koca 3 , Oguzhan Karatepe
135. Effect of Ankaferd Blood Stopper on air leakage in the lung and prevention of bleeding: an experimental study Ali Kılıçgün1*, Necla G Sarıkaş 2 , Tanzer Korkmaz3 , Özkan Saydam4 , Çetin Boran5 , Güledal Boztaş
136. Effect of Ankaferd blood stopper® on tendon healing: an experimental study in a rat model of Achilles tendon injury Serdar Ugras
137. <http://imr.sagepub.com/content/36/1/163> The online version of this article can be found at: DOI: 10.1177/147323000803600121 Journal of International Medical Research 2008 36: 163 H Goker, IC Haznedaroğlu, S Ercetin, S Kirazli, U Akman, Y Ozturk and HC Firat Stopper® H
138. Anti-Inflammatory Efficiency of Ankaferd Blood Stopper in Experimental Distal Colitis Model Erdem Koçak, Erdem Akbal1 , Adnan Taş2 , Seyfettin Köklü2 , Gökhan Karaca3 , Murat Can4 , Bahadır Kösem5 , Hüseyin Üstün
139. Akkoç N, Akçelik M, Haznedaroğlu İC, Göker H, Turgut M, Aksu S, et al. In Vitro Anti-Bacterial Activities of Ankaferd Medicinal Plant Extract. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2009; 29: 410-5
140. Aktop S, Alturfan EE, Özer C. Ankaferd Blood Stopper ve Celox'un Varfarin Verilmiş Sıçan Derisinde Glutasyon ve Lipid Peroksidasyon Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. MÜSBEDE 2012; 2: 32-42.
141. Cornelissen AM, Stoop R, Von den Hoff HW, Maltha JC, Kuijpers Jagtman AM. Myofibroblasts and matrix components in healing palatal wounds in the rat. J Oral Pathol Med 2000; 29: 1-7
142. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. Clin Biochem. 2014; 47(18):326-332.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nalan SÜNBÜLCÜ

Eğitim:

2020-2022 ALKÜ , Moleküler Tıp Tezli Yüksek Lisans

2002-2004 ,Celal Bayar Üniversitesi, Tezsiz Yüksek Lisans

1998-2002 , Atatürk Üniversitesi – Fen-Edebiyat fakültesi, Biyoloji bölümü

Mesleki Deneyim:

2010-2022, Sağlık Bakanlığı Alanya halk Sağlığı Laboratuvarı, Biyolog

2007-2010, Özel Hastane, Biyolog

2004-2007, Özel Dersane, Biyoloji Öğretmenliği



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
02.09.2021	08	03

SDÜ Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 02.09.2021 tarihinde saat-10.00'da ZOOM programı üzerinden uzaktan toplanarak aşağıdaki kararlar alınmıştır;

Karar: 03- Proje Yürütücüsü: Dr.Öğr.Üyesi Büşra CANDAN (Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi A.D) Yürütücülüğünde,
Yardımcı Araştırmacılar: Doç. Dr.Halil AŞCI, Dr. Öğr. Üyesi Mehtap SAVRAN, Dr.Öğr.Üyesi İbrahim Aydın CANDAN, Dr. Öğr. Üyesi Yalçın ERZURUMLU, Büşra CANDAN, , Nalan SÜNBÜLCÜ, Malik Ejder GÜLPAK'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı **“Erkek sıçanlarda kadmiyuma bağlı testis dokusunda oluşan toksisiteye karşı ankaferd blood stopper'in etkisinin incelenmesi”** başlıklı ALKÜ Bilimsel Araştırma Projesi etik kurulumuzca oybirliği ile **UYGUNLUĞUNA** karar verilmiştir.