

**CİVA İLE OKSİDATİF STRES OLUŞTURAN RATLARDA POLYDATİNİN
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Duygu İÇYER

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

Tez No: 2022-001

Afyonkarahisar

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYEN VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS

CİVA İLE OKSİDATİF STRES OLUŞTURAN RATLARDA
POLYDATİNİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Hazırlayan
Duygu İÇYER

Danışman
Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

Tez No: 2022-0039

AFYONKARAHİSAR

Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No:
“20.SAĞ.BİL.28”

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Besin Hijyen ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda** Duygu İÇYER tarafından hazırlanan “Civa ile Oksidatif Stres Oluşturan Ratlarda Polydatinin Etkisinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 15/09/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Zeki GÜRLER

İmza

Üye

Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

İmza

Üye

Doç. Dr. Halil YALÇIN

İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

..... / / tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

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

İmza

Duygu İÇYER

ÖZET

CİVA İLE OKSİDATİF STRES OLUŞTURAN RATLARDA POLYDATİNİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, civa (Hg) ile oksidatif stres oluşturan ratlarda polydatinin etkisi araştırıldı. 35 adet wistar albino cinsi rat beş gruba ayrıldı. Grup I negatif kontrol ve Grup II pozitif kontrol olarak belirlendi. Pozitif kontrol grubuna 7. gün sonunda 5mg/kg dozunda civa tek doz intraperitoneal olarak verildi. III, IV ve V. gruplara sırasıyla 25mg/kg, 50 mg/kg, 100mg/kg dozlarında polydatin 7 gün boyunca gastrik gavaj yoluyla verildi ve bu gruplara 7. gün sonunda 5mg/kg civa tek doz intraperitoneal olarak verildi. Ratlardan alınan kan, karaciğer, beyin, böbrek, akciğer, kalp ve testis doku örneklerinde antioksidan enzim aktiviteleri (katalaz CAT ve süperoksitdismutaz, SOD), redükte glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) seviyeleri belirlendi. Ayrıca, histopatolojik incelemeler gerçekleştirildi. Böbrek ve karaciğer örneklerinde TNF- α , IFN- γ ve NF-kB yangısal genlerinin moleküler analizi gerçekleştirildi. Civa uygulaması rat dokularında antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya neden oldu. Ayrıca, GSH düzeylerinde de azalmaya sebep oldu. Bununla birlikte, MDA düzeyini yükseltti. TNF- α , IFN- γ ve NF-kB ekspresyon düzeylerini yükseltti ve doku hasarına neden oldu. Polydatin uygulaması artan dozlarda koruyucu etki gösterdi. Sonuç olarak, civa uygulamasıyla meydana gelen oksidatif strese karşı polydatinin koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Civa, lipid peroksidasyon, oksidatif stress, rat

SUMMARY

DETERMINATION OF THE EFFECT OF POLYDATIN AGAINST MERCURY-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RATS

This study aimed to determine the effect of polydatin in rats that caused oxidative stress by mercury (Hg). 35 Wistar albino rats were divided into five groups. Group I was determined as negative control and Group II as positive control. At the end of the 7th day, a single dose of 5mg/kg mercury was administered intraperitoneally to the positive control group. Groups III, IV, and V were given 25mg/kg, 50mg/kg, and 100mg/kg doses of polydatin, respectively, for 7 days by gastric gavage, and at the end of the 7th day, a single dose of 5mg/kg mercury was given intraperitoneally. Antioxidant enzyme activities (catalase CAT and superoxide dismutase, SOD), reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels were determined in blood, liver, brain, kidney, lung, heart and testes tissue samples taken from rats. In addition, histopathological examinations were performed. Molecular analysis of IFN- γ , TNF- α and NF- κ B inflammatory genes was performed in kidney and liver samples. Mercury application caused a decrease in antioxidant enzyme activities in rat tissues. It also caused a decrease in GSH levels. However, it did raise the MDA level. It increased the expression levels of TNF- α , IFN- γ and NF- κ B and caused tissue damage. Polydatin administration showed a protective effect at increasing doses. Consequently, it was determined that polydatin had a protective effect against oxidative stress caused by mercury application.

Keywords: lipid peroxidation, mercury, oxidative stress, rat

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın belirlenmesi ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ'e, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. Zeki GÜRLER'e, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı hocalarımız Doç. Dr.Recep KARA ve Öğr. Gör. Ali SOYLU'ya, ayrıca Dr. Öğr. Üyesi Fahriye ZEMHERİ NAVRUZ ve Dr. Öğr. Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e; her daim yanımda olan ve hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen anneme, babama, ablama, enişteme ve tez çalışmalarım sırasında hayatıma giren eşime tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam Afyon Kocatepe Üniversitesi BAP koordinatörlüğü tarafından 20.SAĞ.BİL.28 kodlu proje kapsamında desteklendi. Verilen desteklerden dolayı teşekkürlerimi iletirim.

Duygu İÇYER

Afyonkarahisar

2022

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	I
SUMMARY	II
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IV
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
RESİMLER DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	4
2.1. Civa Türleri	4
2.2. Civanın Kullanım Alanları ve Canlılarda Sağlık Üzerine Etkileri	
2.3. Civa Zehirlenmelerinde Acil Tedavi ve Destek Tedavisi	6
2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	6
2.4. Polydatin ve Sağlık Üzerine Etkileri	7
2.5. Antioksidanlar Sistemi	8
3. MATERYAL ve METOT	9
3.1. Deney Hayvanları	9
3.2. Deneysel Aşama	9
3.3. Anestezi ve Sakrifikasyon Aşaması	9
3.4. Doku Homojenizasyonu	10
3.5. Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktivitesinin Tayini	10
3.6. Malondialdehit ve Redükte Glutasyon Tayini	11

3.7. Histopatolojik Değerlendirme	12
3.8. Moleküler Analizler	12
3.9. İstatiksel Analiz	13
4. BULGULAR	14
4.1. Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişimler	14
4.1.1. Kan ve Dokularda Malondialdehit Seviyesi	15
4.1.2. Kan ve Dokularda Redükte Glutasyon Seviyesi	16
4.1.3. Süperoksit Dismutaz Aktivite Düzeyleri	17
4.1.4. Katalaz Aktivite Düzeyleri	18
4.1.5. Böbrek ve Karaciğer Gen Parametreleri	19
4.2. Histopatolojik Bulgular	22
4.2.1. Beyin Histopatolojik Değerlendirmesi	22
4.2.2. Akciğer Histopatolojik Değerlendirmesi	22
4.2.3. Kalp Histopatolojik Değerlendirmesi	23
4.2.4. Karaciğer Histopatolojik Değerlendirmesi	23
4.2.5. Böbrek Histopatolojik Değerlendirmesi	23
4.2.6. Testis Histopatolojik Değerlendirmesi	23
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	30
7. KAYNAKLAR	31
8. EKLER	40
8.1. Deney Hayvanları Etik Kurul Kararı	40
ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALP: Alkalen Fosfataz

AO Savunması: Antioksidan Savunması

CAT: Katalaz

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

GLA: Gama Linoleik Asit

GSH: Redükte Glutasyon

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

GSSG: Yükseltgenmiş Glutasyon

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

Hg: Civa

İR: İskemi-reperfüzyon

LPA: Lipid Peroksidasyonu

MDA: Malondialdehit

OS: Oksidatif Stres

PD: Polydatin

ROO.: Peroksil radikali

ROS: Reaktif Oksijen Türler

SOD: Süperoksit Dismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

TBA: Tiyoarbütirik Asit

TGK: Türk Gıda Kodeksi

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

SAYFA

Şekil 4.1. Karaciğer dokusu IFN-gamma mRNA ekspresyon düzeyi	19
Şekil 4.2. Böbrek dokusu IFN-gamma mRNA ekspresyon düzeyi	19
Şekil 4.3. Karaciğer dokusu NFkB mRNA ekspresyon düzeyi	20
Şekil 4.4. Böbrek dokusu NFkB mRNA ekspresyon düzeyi	20
Şekil 4.5. Karaciğer dokusu TNF- α mRNA ekspresyon düzeyi	21
Şekil 4.6. Böbrek dokusu TNF- α mRNA ekspresyon düzeyi	21



ÇİZELGELER

	SAYFA
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primer dizileri	13
Çizelge 4.1. Kan ve Dokularda MDA düzeyleri	15
Çizelge 4.2. Kan ve Dokularda GSH düzeyleri	16
Çizelge 4.3. Eritrosit ve Dokularda SOD enzim aktivite düzeyleri	17
Çizelge 4.4. Eritrosit ve Dokularda CAT enzim aktivite düzeyleri	18



RESİMLER

	SAYFA
Resim 2.1. Beyin Histopatolojik Değerlendirmesi	22
Resim 2.2. Akciğer Histopatolojik Değerlendirmesi	22
Resim 2.3. Kalp Histopatolojik Değerlendirmesi	23
Resim 2.4. Karaciğer Histopatolojik Değerlendirmesi	23
Resim 2.5. Böbrek Histopatolojik Değerlendirmesi	23
Resim 2.6. Testis Histopatolojik Değerlendirmesi	23

1. GİRİŞ

Yüksek yoğunluklu ve düşük toksisiteli metaller "ağır metaller" olarak tanımlanır. Ağır metaller özellikle bitkilerin biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonlarını doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir (Zengin ve Munzuroğlu, 2003).

Ağır metaller iki gruba ayrılır; Grup 1 ağır metallerde bakır, çinko, demir ve manganez gibi düşük miktarları organizmalar için gerekli ve faydalı olan metallerdir. 2. Grup ağır metaller ise çok düşük konsantrasyonlarda bile vücuda toksik olan metallerdir. 2. grupta civa, kurşun ve kadmiyum gibi bir metaller yer almaktadır (İnandı, 2016).

Ağır metaller metabolize edilemedikleri zaman çok zehirlidir ve vücut tarafından emildiğinde yumuşak dokularda birikim gösterir (Baby vd., 2010). Vücuda besin zinciri, su, hava veya cilt teması gibi çeşitli yollarla girebilirler (Yalçın vd., 2007). Civa, merkezi sinir sistemine etki eden toksik bir ağır metaldir. Dünyadaki en zehirli yirmi maddeden biri de civadır (ATSDR, 2006).

Civa yüzyıllardır tıbbi ve ticari olarak kullanılmaktadır. Latince Hydrargyros olarak ifade edilen civa kimyada 'Hg' ile simgelenmekte ve oda sıcaklığında sıvı halde bulunan, atom numarası 80 olan 357°C'de kaynayan -38,9°C'de donmakta olan bir elementtir (Clarkson vd., 2003; Kozin ve Hansen, 2013). Civa buharı toksik ve kokusuzdur. Günümüzde mantar ilacı olarak tarımda, klor ve sodyum hidroksit endüstrisinde, kağıt ve selüloz endüstrisinde, plastik ve elektrikli ev aletleri imalatında ve aynı zamanda madencilikte de yaygın şekilde kullanılmaktadır (Eisler, 1987; Özbolal ve Tuli, 2016).

Doğada civa elemental, organik (metil ve etil civa gibi) ve inorganik halde bulunur. Civa canlı vücudunda doğal olarak bulunamaz. Yeryüzünden çıkan gazlar ve volkanik faaliyetler ile çevreye yayılmaktadır. Civa akümülatör, lamba, termometre, amalgam vb. çeşitli endüstriyel işlem ve ürünlerde yaygın olarak kullanılan bir elementtir. Canlılarla beslenen ve derin sularda yaşayan balıklar civayı vücutlarında biriktirir. Bu tür balık ve balık yağlarını tüketen canlılarda metil civa zehirlenmesi meydana gelir. İnsan sinir sistemi civaya çok duyarlıdır (Tegzes, 2013; Erkmen, 2010; Carocci vd., 2014).

Civa vücutta doğal olarak oluşmayan, biyo birikim özelliklerine sahip ve oldukça toksik olan ağır bir metaldir ve civa zehirlenmesi insanlarda birtakım sinirsel bozukluklarla birlikte öğrenme yeteneğini, yürümeyi, görsel-uzaysal becerileri ve hafızayı etkilediği belirlenmiştir (Zahir vd., 2005; Çöp vd., 2013).

Civa periyodik tablonun 80. elementi olup gümüş-beyaz renktedir. Oldukça uçucu bir metal olan civa oda sıcaklığında sıvı formdadır. Hem inorganik hem de organik bileşiklerin yapısında bulunur (Clarkson ve Marsh, 1982; Jensen, 2003; Takcı 2013). Organik ve inorganik civa bileşiklerinin etki mekanizması birbirine benzerdir. Hayvanlarda en zehirli ve en uzun ömürlü civa bileşiği ise metil civadır. Civa emildikten sonra hızla böbrek ve beyinin çeşitli kısımlarında birikir. Sonuç olarak çeşitli enzimlerin, yapısal ve taşıyıcı proteinlerin etkinliği engellenir (Kara vd., 2017). Civa zehirlenmesi mikrotübül hasarına, mitokondriyal yıkıma, bronşit ve astım gibi solunum yolu hastalıklarına, çocuklarda doğum kusurlarına ve gelişim bozukluklarına yol açmaktadır. Maruziyet sonucunda, saç dökülmesi, sinir sistemi ve sindirim sistemi bozuklukları oluşur. (Kara vd., 2017; Çavuşoğlu vd., 2018).

Keçilerde deneysel olarak 43 gün boyunca verilen 150 mg civa klorür içeren su, sindirim sistemi ve böbrek görev bozukluğuna neden olmuştur. Metil civa genç ve yetişkin sığır ve koyunlara 4 hafta süreyle uygulandığında koordinasyon kaybı ve yürüme bozuklukları, görme, sindirim ve boşaltım sistemlerinde bozukluklara neden olmuştur. Civa, laboratuvar hayvanlarında böbrek kanserine neden olduğundan, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA), civa ve bileşiklerinin insanlarda kansere sebep olabileceğini beyan etmiştir. WHO ve FAO, gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum civa miktarını 0,5 mg/kg olarak belirlemişlerdir (WHO, 1999; Erkmen, 2010).

Civa zehirlenme vakalarını iyileştirmek için şelasyon uygulamasından başka etkili bir tedavi bulunmamaktadır (Çöp vd., 2013). Civanın, tarım, madencilik veya endüstriyel alanlarda yoğun kullanımı sonucunda su ekosistemlerine girmekte ve konsantrasyonu her geçen gün artmaktadır (Kaya, 2016). Su ortamında, civa elemental, inorganik veya organik bileşikler şeklinde bulunur (Black vd., 2007).

Kirlenmemiş sudaki civa seviyesi 0,1 mg/L'yi geçmez. Ancak civa endüstrisine yakın sularda civa seviyeleri insan sağlığını tehdit edecek seviyelere ulaşabilmektedir. Örneğin selüloz, kağıt, klor-alkali ve seramik endüstrisinin olduğu alanlardan alınan su örneklerinde civa seviyeleri 0,0005 ile 0,23 mg/L arasında bulunmuştur (Devlin, 2006; Bollen vd., 2008). Maden sahalarında sudaki civa içeriği 0,0001-19,82 mg/L gibi çok yüksek seviyelere ulaşabilmektedir (Gammons vd., 2006). Balık dokularında maksimum düzeyde civa birikimi, civa ile kirlenmiş su ekosistemlerinde bulunmuştur. Dünya Sağlık Örgütü, insan tüketimi ve gıda güvenliği için balık dokusundaki civa düzeylerinin 0,5 µg/g'ı geçmemesi gerektiğini belirtmiştir (Lima vd., 2005). Civanın hem inorganik hem de organik formları tüm canlılar için oldukça zehirlidir (Plessi vd., 2001).

Suda yaşayan canlı ekosistemlerde uzun süre kalıcılığa sahip olan civa suda ya da su çevresinde yaşayan organizmalarda birikim gösterebilmekte ve besin zinciri aracılığıyla canlılara ve insanlara ulaşabilmektedir. Sonuçta civa kontaminasyonu ekosistem ve insanlar için ciddi bir risk oluşturmaktadır (Kaya, 2016).

Civa, hücrel biyomoleküllerin sülfhidril gruplarına affinite gösterir. Bu sebeple vücuda alındıktan sonra, glutatyon, civa glutatyon ve sistein gibi düşük moleküler ağırlıklı tiyollere ile tiyol içeren proteinlere tutunarak doku ve organlarda uzun zaman kalabilmekte lipid, protein ve DNA oksidasyonuna neden olan serbest radikallerin oluşumuna sebep olmaktadır. Ayrıca, ağır metallerin DNA'ya bağlanabilmeleri söz konusudur. Bu nedenle hasarlı enzim ve protein üretimine sebep olmaktadır (Perotoni vd., 2004; Güler ve Can, 2017). Böylece civa serbest oksijen türlerinin ve oksidatif stresin oluşumunu indükleyerek önemli hücrel savunma mekanizmalarını bloke ederek ve lipid peroksidasyonunu uyarmaktadır. Civa canlılar ve insanlarda mutajen, teratojen, kanserojen ve nörotoksik etkiler gösterir (Berntssen vd., 2003; Boğa, 2007; Diez, 2008).

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1. Civa Türleri

Metalik civa oda sıcaklığında buharlaşabilmekte olup buharı akciğerden hızla emilir ve merkezi sinir sistemine ulaşır. Havadaki civa miktarının 10 mg/m³'ün üzerinde olması sağlık için tehdit oluşturmaktadır. 1 mg/m³ üzerindeki miktarlarda kimyasal pnömoniye neden olabilir. Metalik civa deriden kolaylıkla emilir ve cıvaya direkt temas ciddi zehirlenmelere neden olmaktadır (Horowitz vd., 2002; Başer, 2014). Günlük hayatımızda civanın kullanıldığı gereçler barometre, termometre, bazı piller, amalgam pompa ve termostattır. Civa kullanan alanlarda çalışan kişilerde metalik cıvaya maruziyet daha sık görülmektedir (Cherry vd., 2002; Tominack vd., 2002).

Yüksek düzeylerde cıvaya maruz kalma sonrası, mortalitenin esas nedeni akciğer hasarıdır. Civa toksisitesinde pulmoner ödem, bronşiyal epitel erozyonu, asidoz, koma ve ölüm meydana gelebilir. Ateş, titreme, öksürük, halsizlik, nefes darlığı, diş eti iltihabı, halüsinasyonlar, nörolojik belirtiler, eritem, el ve ayaklarda soyulma görülebilir (Fisher ve Amler 2005). Kronik civa maruziyeti sırasında ekstremitelerin sürekli istemsiz hareketleri, miyopi, polinörit, ödemli diş bozuklukları gözlemlenebilir. Gastrointestinal sistemden sıvı elemental civa emilimi çok düşüktür. Metil civa kan-beyin bariyerini, plasentayı ve süt kanallarını geçer. Metil civa gaita ile vücuttan atılmaktadır (Ngim vd., 1992; Liang vd., 1993).

Metil civanın hemoglobine bağlayıcı doğası nedeniyle, vücutta cıvayı ölçmek için en spesifik gösterge kırmızı kan hücrelerindeki civa konsantrasyonudur, ancak ölçümü zordur (Sakamoto vd., 2002). Civa, kandaki civa konsantrasyonuna göre saçın keratinizasyon aşamasında kükürtlü aminoasitlerine bağlanarak saça nüfuz eder. Saçtaki total civanın %70-80'i metil civadır. Metil civa çocuklarda daha fazla hasarlara neden olabilmektedir (Cox vd., 1989; WHO, 1999). Yüksek dozlarda metil cıvaya temas serebral palsy benzeri tabloya sebep olur iken, düşük miktarlarda nörogelişimsel geriliklere ve bellek sorunlarına yol açabilmektedir (Amin-Zaki vd., 1979; Davidson vd., 2004; Steuerwald vd., 2000).

Civa daha çok inorganik formda bulunur. Balıklar inorganik civayı solungaçları, bağırsakları veya derileri yoluyla emer ve dokularda yüksek düzeylerde biriktirebilmektedir (Gharaei vd., 2011; Çöğün vd., 2012). İnorganik civa eser düzeyde bile oldukça zehirli bir metaldir (Plessi vd., 2001). İnorganik civa bileşikleri metanojenik bakteriler tarafından metillenir ve organik civaya dönüştürülür (Davidson vd., 2004). İnorganik civa bileşikleri civa tuzları olarak da isimlendirilir ve bu tuzların en önemlisi merkürük civadır. Çünkü merkürük civanın suda çözünürlüğü çok yüksektir ve daha zehirlidir. İnorganik civa tuzlarının lipitte çözünürlüğü düşüktür. Bu nedenle plasenta ve kan beyin bariyerlerini rahat geçemezler; fakat beyin hasarına yol açabilirler (Erkekoğlu ve Kadioğlu, 2013; Park ve Zheng, 2012). Civa emildikten sonra hızla beyin ve böbreğin çeşitli kısımlarında birikir. Civa tuzları en başta nefrotoksik olup proksimal tubuler hücreleri etkilemektedir Civa zehirlenmesi oksidatif strese, bağışıklık sisteminin baskılanmasına, DNA sentezinin ve hücre içi kalsiyum dengesinin bozulmasına sebep olur. Organik civa başlıca sinir sistemini etkilemektedir ve fetal beyin hücreleri civanın toksik etkilerine yetişkinlerden daha duyarlıdır (Cope vd., 2004; Rafati-Rahimzadeh vd., 2014).

2.2. Civanın Kullanım Alanları ve Canlılarda Sağlık Üzerine Etkileri

Civanın yerel kullanım alanları 1970'den beri gitgide azalmaktadır. Birçok civa formunun yüksek toksisite göstermesi nedeniyle kullanımı durdurulmuştur. Önemli bir element olan civa alkali bataryalarda kullanılmaktadır. Metalik civa, diş dolgularında kullanılmakta ve organik civa bileşikleri bazı laksatif ilaçlarda kullanılmaktadır (ATSDR, 2006; Kaya, 2008; IARC, 1993).

Civa insanlarda çeşitli organlar üzerinde toksik etkilere neden olur. Civanın karaciğer fonksiyonlarında, böbreklerde, gastrointestinal sistem ve beyinde ciddi etkilere neden olur. Bunların yanı sıra santral anomalilere de neden olduğu bildirilmiştir (Akkoyun vd., 2020). Metalik civanın buharlaşması için ısıtılmasına gerek yoktur, civa oda sıcaklığında da buharlaşır. Emilimi bağırsaklardan, ciltten ya da akciğerlerden kolayca gerçekleşir. Emilen civa böbrek, karaciğer, immün sistem ve beyin üzerine toksik etki yapar (Sonçağ ve Yurdakök, 2010).

Civanın kalpte birikimi kardiyomiyopatiye neden olmaktadır (Çağlayan, 2018). İnorganik civanın lipitte çözünürlüğü düşük olduğundan plasenta ve kan beyin bariyerini kolay geçemez; fakat nörolojik hasara yol açabilirler (Özbolat ve Tuli, 2016). Kapalı yerlerde birkaç saat içinde akciğer ödemi ve akut pnömoni gelişme ihtimali yüksektir. Endikasyon varsa ek oksijen verilmelidir. Gerektiği takdirde pozitif basınçlı ventilasyon uygulanabilir (Akcan ve Dursun., 2008).

2.3. Civa Zehirlenmelerinde Acil Tedavi ve Destek Tedavisi

Civa vücutta hızlı bir dağılım gösterir ve kan yarı ömrü kısadır. Civanın çok büyük bir kısmı idrarla atıldığı için civa zehirlenmesinin tanısında 24 saatlik idrarda civa miktarı değerlendirilmektedir (Çağlayan, 2018). Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Laboratuvarlarında hiç civa zehrine maruz kalmamış bireylerde idrar ve kan civa miktarları 5 µg/L'nin altında olarak belirtilmektedir (Akcan ve Dursun., 2008). İşyerlerinde civaya maruz kalan bireylerde haftalık ölçümlerde kan civa düzeyi 15 mikrogram/L'nin altında olmalıdır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2007). Ağır metaller canlılarda sadece konsantrasyonlarına bağlı olarak etki göstermezler, etkileri metal iyonunun yapısına ve canlı türüne göre değişir (Kahvecioğlu vd., 2008).

Tedavide en başta hasta kaynaktan uzaklaştırılmalıdır çünkü organ yetmezliği gelişebilir. Bunun önlenmesi için genel destekleyici önlemler ve sıvı resüsitasyonunu uygulamak gerekir. Vücut fonksiyonlarında elektrolit anormallikleri görülebilir. Bunların da düzeltilmesi gerekir. Elementel civa için hastanın giysileri çıkarılır ve civanın ciltten uzaklaştırılması sağlanır. Sonra oral polietilen glikol solüsyonu uygulanabilir ve deri altı birikintisi varsa cerrahi olarak uzaklaştırılır. Organik civa kontaminasyonu söz konusu ise aktif kömür uygulanır (Akcan ve Dursun, 2008; McNutt, 2013).

2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Dış orbitalinde bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron taşıyan serbest radikaller, molekül ağırlığı düşük, kararsız yüksek enerjili molekül veya atomlar olarak ifade edilmektedir (Mercan., 2004; Karabulut ve Gülay, 2016).

Bu bağlamda bazı radikallerin çok fazla reaktif etkiye sahip oldukları ve bundan dolayı diğer moleküller ile elektron değiş tokuşu gerçekleştirebilecekleri saptanmıştır. Bu durumun oluşması sonucunda yükseltgen ya da indirgen karakter sergileyebilmektedirler. Yüksek aktiflikleri sebebiyle biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin 6 ila 10 saniye ve daha düşük yarılanma ömürleri vardır. Vücutta ise, serbest radikallerin üretimi bütün hücrelerde normal hücresel işlevlerin bir parçası olarak devam edegelmektedir. Dış ve iç kaynaklı serbest radikallerin fazla üretilmesi sonucu birçok hastalık ortaya çıkmaktadır (Ansari, 1997; Konukoğlu, 1997; Young ve Woodside, 2001).

Oksidatif stres kısaca, metabolizmada serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik olarak ifade edilebilir. Oksidatif stres, protein, enzim, karbonhidratlar, lipid ve DNA gibi makromoleküllere zarar verir ve hücre zarı hasarına neden olur. Oksidatif stres reaktif oksijen türleri (hidrojen peroksit ve süperoksit anyon radikali gibi) ile başlar. Hidrojen peroksit ve süperoksit anyon radikali güçlü oksidanlardır. Fakat dokularda oluşan reaksiyonlar neticesinde tehlikeli oksidanlara dönüşebilmektedirler (Jain, 2006; Hassimotto vd., 2008; Cemeli vd., 2009; Pellegrini vd., 2009). Oksidatif strese bağlı olarak DNA hasarı oluşabilmekte ve DNA zincir kırılmaları meydana gelebilmektedir. Yapısal proteinlerin ve enzimlerin zarar görmesi sonucu hücre ölümü gerçekleşebileceği gibi kanser, kardiyovasküler, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklar meydana gelebilmektedir. (Ratnam vd., 2006; Kusano ve Ferrari, 2008; Pellegrini vd., 2009; Cemeli vd., 2009). Sigara kullanımı, hava kirliliği, kötü beslenme alışkanlıkları ve stres de endojen ve eksojen olarak oksidatif strese yol açmaktadır (Cornelli, 2009; Davidson ve Decker, 2009; Kapoor vd., 2009). Metil civa beyinde astrosit ve mikroglia hücrelerde ve çok nadiren nöronlarda birikim göstererek oksidatif strese sebep olur (Eto vd., 2010). Metilciva maruziyeti, astrositlerdeki glutasyon depolarının tükenmesine neden olur ve nöronal oksidatif hasara yol açar (Hancıoğlu vd., 2017)

2.4. Polydatin ve Sağlık Üzerine Etkileri

Asya'da geleneksel tıpta *polygonum cuspidatum* bitkisinin kökleri yaygın kullanılmaktadır. *Polygonum cuspidatum*'da emodin, resveratrol, quercetin, polydatin ve kateşin gibi birçok bileşen mevcuttur. Ancak bitkinin asıl bileşeni polydatindir.

Polydatin (resveratrolin 3-O- β -mono-D-glukosit) resveratrolün glikoziti olan önemli bir stilbenoidtir (Zhou vd., 2005; Shan vd., 2008). Polydatin antioksidan (Koneru vd., 2017; Arslan-Acaroz vd., 2018) antibakteriyel (Shan vd., 2008) ve anti-anjiyogen (Wang vd., 2004; Hu vd., 2019) etkiler göstermektedir. Polydatin öğrenme ve hafızanın güçlendirilmesinde faydalı olduğu. Ayrıca sıçanlarda vasküler demans modelinde de MDA üretimini azalttığı, CAT ve SOD aktivitelerini artırdığı belirlenmiştir (Li vd., 2012; Zhang vd., 2015). Alzheimer hastalığı sürecinde amiloid- β peptid birikimi ortaya çıkmaktadır. Bu birikime karşı polidatinin inhibitör aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Rivière vd., 2007; Rivière vd., 2010). Hiperlipidemik tavşanlarda yapılan çalışmada polidatinin lipid profilini azalttığı (Xing vd., 2009), iskemi/reperfüzyonla indüklenen sıçanlarda ise nöroprotektif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Cheng vd., 2006). Polidatin Asya’da hiperkolesterolemi, kronik bronşit, sarılık, hipertansiyon, kardiyovasküler ve anti-enflamatuvar hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (Peng, 2013; İnce, 2014; Tang ve Tan, 2019).

2.5. Antioksidanlar Sistemi

Antioksidan terimi genel bir ifadedir. Gıdalarda bulunan antioksidanlar ve onların biyoyararlanımları bir çok faktöre göre değişkenlik gösterebilmektedir. Bunlar arasında gıda maddesinin cinsi, iklim, gıdanın hasat yöntemi ve zamanı, depolama ve depolama ısısı , nem, ışık, gıdanın hazırlanma şekli, kişi ve toplumların tüketim alışkanlırı sayılabilir. Antioksidanlar, non-enzimatik ve enzimatik olarak değerlendirilirler: glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) birinci derece enzimatlere, glukoz 6- fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve glutatyon redüktaz (GR) ikinci derece enzimatlere örnek verilmektedir (Yılmaz, 2010). Antioksidan enzimlerin oksidatif stres altında indüklenebilirliği onların önemli bir özelliğidir. Bu indüklenmeler strese karşı önemli bir adaptasyon yanıtıdır fakat artan stres altında düzeylerini baskılanabilmesi söz konusudur. CAT ve SOD antioksidan enzimleri hücrelerin en önemli antioksidan savunma sistemleridir ve kirleticilere karşı ilk savunma hattını bu enzimler oluşturur (Kaya, 2008; Kaya 2016).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma öncesi Etik Kuruldan (Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu-AKUHADEK) çalışma için Etik Kurul onayı alındı ve sonra çalışmada 200-300 g ağırlığında 35 Wistar albino türü erkek rat kullanıldı. Temin edilen ratlar gruplara ayrıldı ve deneysel aşamaya geçmeden önce 7 gün süreyle ortama adaptasyonları sağlandı. Ratlar deney hayvanları ünitesindeki kafeslerde düzenli havalandırılan, $24\pm1^{\circ}\text{C}$ 'ta ve 12 saat aydınlık/karanlık ortamda bulunduruldu. Günlük kontrolleri yapıldı ve içme suları her gün taze olarak verildi.

3.2. Deneysel Aşama

Çalışmada kullanılan Polydatin (İnce vd., 2014) ve Civa (Kumar vd., 2013; Şener vd., 2007) verilme miktarları daha önce yapılan çalışmalar esas alınarak belirlendi. Erkek ratlar her grupta 7'şer adet olacak şekilde; I. Grup: kontrol (% 0.9 NaCl, i.p.) , II. Grup: 5 mg/kg dozunda civa (HgCl_2) verildi, III., IV. ve V. gruplara 5 mg/kg dozunda tek intraperitoneal enjeksiyon civa (HgCl_2)'ya ilave olarak 25; 50 ve 100 mg/kg dozlarda polydatin gastrik gavaj yoluyla 7 gün boyunca her gün uygulandı. Son uygulamalardan 24 saat sonra deney hayvanlarından ketamin ve ksilazin anestezisi altında intrakardiyak kan ve ayrıca karaciğer, akciğer, böbrek, kalp, testis ve beyin dokuları alındı. Laboratuvarında hızlı bir şekilde ön işlemleri gerçekleştirildi. Bu alınan materyallerden bazı biyokimyasal parametreler ile lipid peroksidasyon ve antioksidatif parametrelerin belirlenmesine yönelik analizler histopatolojik incelemeler yapıldı. Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi yapıldı ve parametreler arası ilişkiler saptandı.

3.3. Anestezi ve Sakrifikasyon Aşaması

Deney hayvanları ketamin ve ksilazin anestezisi uygulandı. Intrakardiyak kan, beyin, kalp, testis, böbrek karaciğer, ve akciğer dokuları alındı. Laboratuvarında hızlı bir şekilde ön işlemler yapıldı. Anestezi sonlandığında intrakardiyal olarak EDTA'lı şırınga ile 3 ila 5 cc kan almak amacıyla göğüs kafesi açıldı. Hemen ardından zaman kaybetmeksizin servikal dislokasyon yapıldı. Bu şekilde sakrifikasyon işlemi sonlandırılmış oldu. 10

dakika boyunca 3.000 devir/dakika çalıştırılan santrifüj ile kan örneklerinin plazmaları ayrıldı. 1.5'lik ependorf tüplere ayrılan plazmalar analizleri gerçekleştirilene kadar -80 °C 'de muhafaza edildi.

Ratlara sakrifiye işlemi uygulandıktan sonra, önceden açtığımız göğüs kafesinin hemen yanında bulunan batın bölgesi de cerrahi yöntemler kullanılarak açıldı ve ratların karaciğerleri çıkarıldı. Tüm dokulardan birer parça moleküler ve biyokimyasal incelemelerin gerçekleştirilmesi amacıyla -80 °C 'de muhafaza edilmeye bırakıldı. Kalan doku parçaları ise, histopatolojik olarak takip edilmek üzere alındı.

3.4. Doku Homojenizasyonu

Winterbourn vd. (1975) tarafından ortaya atılan yöntem doğrultusunda Eritrositler hazırlanması için kullanıldı. Bu bağlamda eritrositler, kan numunelerinin 3500 rpm'de 15 dakika boyunca ve 4°C santrifüjlenmesi ve ardından 7.4 pH'a sahip eş yoğunluklu tuzlu su tampon solisyonu ile üç kez yıkanarak elde edildi. Bu işlemin ardından, alyuvarların izotonik salin tampon solüsyonu içeren eşit hacimde Eppendorf tüplerine aktarıldı. Bu eritrositler -20 °C'de flakonlarda muhafaza altına alındı. Analize geçilmeden evvel, eritrosit süspansiyonu soğuk deiyonize su kullanılarak ölçüm için hazır hale getirildi. Doku ve doku örneklerinin hazırlanması için uygulanacak yöntem İnce ve ark. (2014) olarak belirlenmiş ve hayata geçirilmiştir. Özetle, hayvanlar sakrifiye edilerek karaciğer, kalp, böbrek, akciğer, testis ve beyin dokuları izotonik soğuk ve tuzlu su tamponu kullanılarak yıkandı. Dış dokudan doku örnekleri arındırıldı ve soğutulmuş 0.15 M, 7.4 pH değerlerindeki Tris-HCL tamponu kullanılarak durulandı. Numunelerin homjenatları (%10, w/v) bir Tris-HCl tamponu utilize edilerek hazırlandı. Sonrasında homojenize hale gelmiş olan dokular 10 dakika boyunca 3.500 rpm'de ve 4 °C'de santrifüj edilerek ölçüm gerçekleştirilinceye kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Lipid peroksidasyon parametrelerinin (GSH, SOD, MDA ve CAT dahil olmak üzere) ölçümünde eritrositler ve doku homojenatları kullanıldı.

3.5. Süperoksid Dismutaz ve Katalaz Aktivitesinin Tayini

CAT ve SOD, oksidatif hasara karşı hücrelerin korunmasında rol oynar. (Guerin vd., 2001). Eritrosik lizatu ile doku homojenatındaki SOD aktivitesinin tayininde daha önce tasvir edildiği şekilde Sun vd. 1988 tarafından öne sürülen metod kullanılarak

gerçekleştirildi. Söz konusu metottun uygulanmasında, bir süper oksit akışı meydana getiren ve bunun bir belirteci olarak Nitroblue Tetrazolyim'u (NBT) mavi formazon'a indirgeyen ksantin oksidaz ve ksantin arasında meydana gelen reaksiyona dayanmaktadır. Spektrofotometrik olarak ölçüm 560 nm'de gerçekleştirilme ve SOD aktivitesi dokuda g protein başına U ve eritrositte U/gHb olarak verildi.

CAT aktivitesinin tayin edilebilmesi amacıyla sırasıyla Aebi vd (1974) ve Luck vd (1955) tarafından bildirilen yöntemler kullanılarak eritrosit lizatında ve doku homojenatında belirleme yapıldı. Adı geçen yöntemler H_2O_2 'nin katalaz ile su ve oksijene ayrışması yoluyla çalışmaktadır. Ultraviyole spektrumunda 240 nm'de, H_2O_2 , maksimum absorpsiyon sağlar. Oda sıcaklığında indirgeme hızı 45 sn. süresince 240 nm'de ölçüldü ve eritrositlerde k/gHb ve dokularda k/ μ g protein(k; nmol/dk) olarak belirtildi. Dokularda mevcut olan protein (Lowry vd., 1951) ve eritrositlerde bulunan hemoglobin (Drabkin ve Austin 1935) içeriği sırasıyla daha önce bildirilen metotlara göre gerçekleştirildi.

3.6. Malondialdehit ve Redükte Glutasyon Tayini

Lipid peroksidasyonunun belirteci olarak malndialdehit (MDA) seviyesi kullanıldı. Adı geçen seviye, gerek tam kan (Draper ve Hardley 1990) numuneleri gerekse de doku homojenatları (Ohkawa vd., 1979) için daha önce bildirilen metotlara göre belirlendi. Söz konusu yöntemler, MDA reaksiyonunun ve tiyobarbitürik asit reaksiyonun trofotometrik olarak elde edilen rengini ölçer. MDA konsantrasyonu, MDA-tiyobarbitürik asit kompleksiin kanda nmol/ml ve dokuda nmol/g cinsinden absorbans katsayısı ile belirlenerek 532 nm'de bir çift ışıklı spektrofotometre (Shimadzu 1601, Tokyo, Japonya) ile ölçüldü.

Doku ve kan numunelerindeki GSH konsantrasyonu daha önce Beutler vd., (1993) tarif ettikleri gibi ölçüldü. Özetle, 0,2 ml numune ve 1,8 ml damıtılmış su birlikte karıştırılarak numuneye 100 ml distile suda 1,67 g HPO_3 , 30 g NaCl., 0,2 g EDTA (toplam 3 ml çökeltme solüsyonu) eklendi. Bu karışım, yaklaşık 5 dakika bekletildikten sonra süzüldü ve süzüntü (2 ml) bir başka tüpte 5.5'-Dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (1 ml) ve 0.3 M Na_2HPO_4 (8 ml) ile karıştırıldı. Sonuçlar 412 nm'de spektrofotometrik

olarak (Shimadzu 1601 UV–VIS spektrofotometre, Tokyo, Japonya) belirlendi ve nmol/g ıslak doku ve nmol/ml kan olarak verildi.

3.7. Histopatolojik Değerlendirme

Disseke ratların akciğer, böbrek, kalp, beyin ve akciğer dokuları toplanarak %10 formaldehit solüsyonunda sabitlendi. Sonrasında adı geçen dokular tekniğine uygun olarak histolojik doku takip işlemleri ile analiz edildi. Doku numuneleri 2 ila 3 mm kalınlığında ve uygun ebatlarda küçültüldü ve doku takip kasetlerine yerleştirildi. Yıkama işleminden sonra 50, 70, 80, 96'lık ve absolüt alkol'de bekletildi ve ardından ksilol, ksilollü parafin daha sonrasında 58 °C'de erimiş parafinde 2'şer saat bekletilerek bloklama işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen parafin blokları miktorom (Leica, RM 2245) ile 5 mikron kalınlığında kesilerek alınan numuneler su banyosu (Leica, HI 1210) üzerinden lamellere aktarıldı. Yaklaşık on dakika kadar kurutma işleminden sonra histopatolojik metotlarla analiz edildi. Elde edilen kesitlerin hepsi uygun boyama yöntemi (HE) olan hematoksilen-eosin ile boyandı. (Luna, 1968). Elde edilen boyanmış numuneler, binoküler ışık mikroskopunda (Eclipse Ci, Nikon, Tokyo, Japan) incelendi. Takiben örneklerden resim elde etmek için mikroskopik görünüme ilişkin görüntüler Nikon DS Fİ3 ile elde edildi (Nikon DS Fİ3, microscopic digital camera systems, Tokyo, Japan).

3.8. Moleküler Analizler

Kaciğer ve böbrek dokularında IFN- γ , TNF- α ve NFkB genlerinin ekspresyon seviyelerine incelendi. Bu dokular RNAlater Solusyonunda (Thermo Fisher Scientific, USA) bekletilerek uygulama işlemlerine kadar muhafaza edildi (- 80°C'). GeneJet RNA Purifikasyon Kiti (Thermo Fisher Scientific, USA) ile RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen RNA'ların miktarı ve kalitesi A260/A280 UV dalga boylarında ölçüldü (Multiskan™ FC Mikroplate Fotometre, Thermo Fisher Scientific, USA). RNA oranları cDNA miktarı toplamda 1µg RNA düzeyinde hesaplanarak kullanıldı.. DNaz I uygulanan RNA'dan RevertAid H Minus Single Strand cDNA Sentez Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) yardımıyla cDNA elde edildi. Çalışmada kullanılan primerler NCBI web sitesinden alınan bilgiler gereği Rattus norvegicus'a has β -aktin, NFkB, IFN- γ , TNF- α , ve genlerine ait mRNA dizileri kullanılarak ve FastPCR 6.0 (Kalendar vd.,

2009) bilgisayar paket programıyla işlenerek kontrol edildi. Çizelge 3.1’de primer dizileri verildi. Gen ekspresyon seviyelerindeki farklılıkları deney gruplarına göre belirlemek için real- time PCR metodu uygulandı. Metod gereği seçilen ilgili genlerin ve housekeeping gen (β -Aktin) ekspresyonu, alınan doku örnekleri Bio RAD real-time PCR cihazı ile incelendi. Daha sonra Real- time PCR sonuçları Bio RAD CFX Manager 3.1 yazılımı kullanılarak analiz edildi. PCR karışımı, forward ve revers primerler (1 μ l, 10 pmol), SybrGreen karışımı (10 μ l, Maxima SYBR Green qPCR Master Karışımı) ve ROX Solüsyonu, (Thermo Fisher Scientific, USA), cDNA (1 μ l) ve su (7 μ l) eklenerek, toplam hacim 20 μ l’ye ayarlandı. Amplifikasyon eğrilerine ait olan döngü eşiği (Ct) parametreleri ile genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinin nisbi değişimleri belirlendi (Pfaffl, 2001). β -aktin geni endojen kontrol geni olarak kullanılarak diğer genlerle yapılan işlemlerde ekspresyon düzeyleri açısından her bir örneğe ait β -aktin geni ekspresyon düzeyine göre normalizasyon uygulandı.

3.9. İstatiksel Analiz

Gruplar arasındaki farklılık ve ortalamalar ise Tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile belirlendi. Posthoc test olarak Duncan testi kullanıldı. Hesaplamalar için SPSS 15.0 for Windows paket programı kullanıldı.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primer dizileri

Gen	Oligonükleotit Dizisi		Gen Bankası No
β -Aktin	F	GAGGGAAATCGTGCGTGACA	NC_005111.4
	R	ACATCTGCTGGAAGGTGGAC	
NF κ B	F	TCCCCAAGCCAGCACCCCAG	NM_199267. 2
	R	GGCCCCCAAGTCTTCATCAGC	
TNF- α (Takahashi ve ark., 2018)	F	CGAGTGACAAGCCCGTAGCC	NM_012675. 3
	R	GGATGAACACGCCAGTCGCC	
IFN- γ	F	AAGACAACCAGGCCATCAGC	NM_138880. 3
	R	TTCACCTCGAACTTGGCGATG	

4. BULGULAR

4.1. Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişimler

Çalışmamızda oluşturulan deneme ve kontrol gurubundan alınan örneklerde (kan, kalp, karaciğer, beyin, akciğer, böbrek, testis doku ve kan örnekleri) MDA, GSH, SOD VE CAT düzeyleri tayin edilmiştir. Bu göstergelerin 7 günlük araştırma süresi sonundaki dokulardakidüzeylerine ait bulguların istatistiksel değerleri ve karşılaştırmasına ilişkin grafik ve tablo aşağıda verilmiştir.



4.1.1. Kan ve Dokularda Malondialdehit Seviyesi

Pozitif kontrol olarak sadece civa uygulanan grupların kan ve doku örneklerinde MDA düzeyleri polydatin verilen gruplara göre anlamlı seviyede artışa neden oldu. Farklı dozlarda polydatin uygulanması MDA düzeylerinin civa grubuna kıyasla anlamlı derecede kontrole yaklaştırdığı belirlendi.

Kan ve doku örneklerine ait MDA seviyeleri Çizelge 4.1’de verildi.

Çizelge 4.1. Kan ve Dokularda MDA düzeyleri

MDA	Kan (nmol/ml)	Böbrek (nmol/g doku)	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Kontrol	36,41±8,42 ^c	11,25±3,86 ^c	9,76±3,67 ^b	6,62±1,82 ^c	4,05±1,32 ^c	7,41±3,07 ^c	3,09±1,12 ^c
Civa	73,44±20,48 ^a	23,59±4,9 ^a	19,4±7,22 ^a	12,1±2,58 ^a	14,78±4,68 ^a	15,87±4,56 ^a	6,66±0,91 ^a
Civa+Poldatin 25	64,18±21,14 ^{ab}	18,54±5,28 ^{ab}	15,68±6,53 ^{ab}	11,43±2,21 ^a	10,08±3,05 ^b	14,06±2,03 ^a	6,11±2,28 ^a
Civa+Poldatin 50	52,79±10,14 ^{bc}	16,98±4,18 ^b	14,4±4,45 ^{ab}	10,19±1,91 ^{ab}	9,45±3,24 ^b	12,94±2,48 ^{ab}	5,23±1,95 ^{ab}
Civa+Poldatin 100	41,28±12,38 ^c	15,86±5,71 ^{bc}	12,85±4,73 ^b	8,28±2,13 ^{bc}	6,67±1,7 ^{bc}	10,05±2,87 ^{bc}	4,07±1,52 ^{bc}

4.1.2. Kan ve Dokularda Redükte Glutasyon Seviyesi

Polydatin uygulanan grupların kan ve doku örneklerinde GSH değerlerinin pozitif kontrol grubunun değerlerine kıyasla yükseldiği gözlemlendi. Bununla birlikte, sadece civa uygulanan grubun GSH seviyesi negatif kontrol ve polydatin uygulanan gruplara kıyasla azaldığı belirlendi. Kan ve doku örneklerindeki GSH düzeylerinin değişimi Çizelge 4.2’de verildi.

Çizelge 4.2. Kan ve Dokularda GSH düzeyleri

GSH	Kan (nmol/ml)	Böbrek (nmol/g doku)	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Kontrol	32,36±9,63 ^a	19,69±6,45 ^a	12,2±5,06 ^a	6,03±1,76 ^a	9,24±2,85 ^a	8,87±2,72 ^a	5,49±1,9 ^a
Civa	12,26±2 ^c	4,88±1,63 ^c	3,06±0,97 ^d	1,83±0,56 ^d	2,79±1,2 ^c	2,99±1,24 ^c	1,76±0,71 ^c
Civa+Poldatin 25	16,76±6,61 ^{bc}	6,79±2,31 ^{bc}	4,74±1,81 ^{cd}	2,76±1,1 ^{cd}	3,04±0,57 ^c	3,56±1,11 ^c	2,34±0,91 ^c
Civa+Poldatin 50	20,56±7,89 ^{bc}	10,5±3,55 ^b	6,46±2,67 ^{bc}	4,05±1,35 ^{bc}	4,92±2,02 ^{bc}	6,55±1,89 ^b	3,17±1,04 ^{bc}
Civa+Poldatin 100	24,77±8,88 ^{ab}	16,76±3,93 ^a	9,19±2,24 ^{ab}	4,7±1,53 ^{ab}	7,03±2,33 ^b	7,02±1,71 ^{ab}	3,87±1,66 ^b

4.1.3. Süperoksid Dismutaz Aktivite Düzeyleri

Civa uygulaması eritrosit ve diğer dokularda SOD enzim aktivitesinin negatif kontrol ve polydatin gruplarına kıyasla azalmasına neden oldu. Bununla birlikte, farklı dozlarda polydatin uygulaması SOD aktivitesinde pozitif kontrole göre artışlar saptandı. Eritrosit ve diğer dokulardaki SOD düzeylerinin değişimi Çizelge 4.3'te verildi.

Çizelge 4.3. Eritrosit ve Dokularda SOD enzim aktivite düzeyleri

SOD	Eritrosit (U/gHb)	Böbrek (U/μg protein)	Karaciğer (U/μg protein)	Kalp (U/μg protein)	Beyin (U/μg protein)	Akciğer (U/μg protein)	Testis (U/μg protein)
Kontrol	110,95±32,85 ^a	22,2±8,53 ^a	18,79±7,09 ^a	14,46±3,66 ^a	8,31±1,95 ^a	12,52±3,42 ^a	5,59±1,2 ^a
Civa	40,07±10,93 ^c	7,77±2,43 ^c	6,34±2,18 ^c	2,19±0,84 ^d	1,25±0,36 ^c	3,69±1,07 ^c	1,18±0,39 ^d
Civa+Poldatin 25	57,49±23,31 ^{bc}	12,22±3,19 ^{bc}	8,62±3,19 ^c	6,62±1,56 ^c	1,8±0,65 ^c	5,36±2,08 ^c	1,41±0,39 ^{cd}
Civa+Poldatin 50	88,95±33,21 ^{ab}	15,64±6,2 ^{ab}	10,62±3,83 ^{bc}	7,19±2,41 ^c	4,97±1,11 ^b	8,07±2,57 ^b	2,1±0,27 ^c
Civa+Poldatin 100	98,92±40,29 ^a	21±8,65 ^a	15,05±6,16 ^{ab}	10,58±3,27 ^b	5,23±1,36 ^b	9,32±2,32 ^b	3,24±1,07 ^b

4.1.4. Katalaz Aktivite Düzeleri

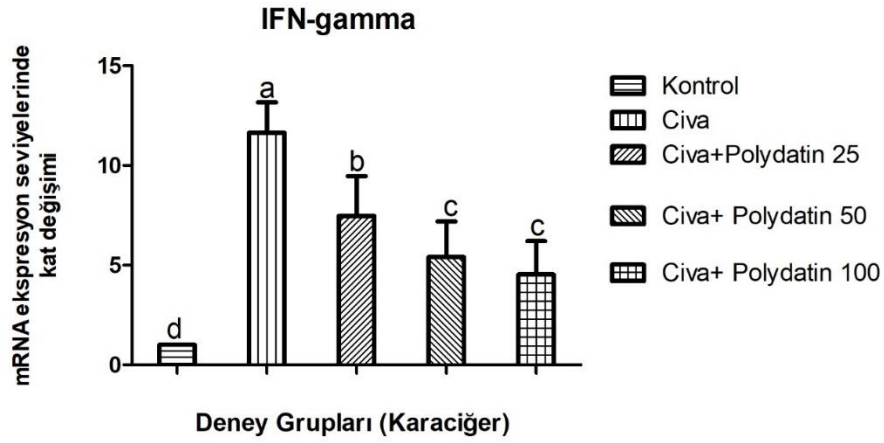
Civa uygulaması eritrosit ve dokularda CAT enzim aktivitesinde düşüşe sebep oldu. Bununla birlikte polydatin uygulaması ile enzim aktivitesi olumlu yönde artış gösterdi. Eritrosit ve diğer dokulardaki CAT düzeylerinin değişimi Çizelge 4.4'te verildi.

Çizelge 4.4. Eritrosit ve Dokularda CAT enzim aktivite düzeyleri

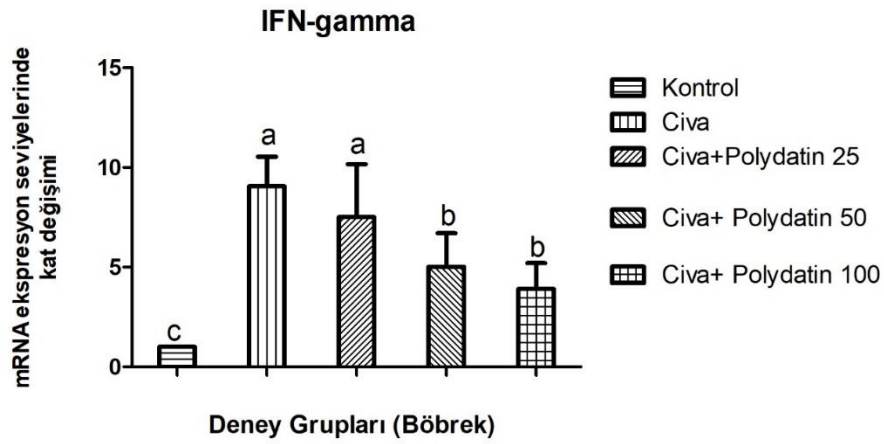
Katalaz	Eritrosit (k/gHb)	Böbrek (k/μg protein)	Karaciğer (k/μg protein)	Kalp (k/μg protein)	Beyin (k/μg protein)	Akciğer (k/μg protein)	Testis (k/μg protein)
Kontrol	68,86±16,43 ^a	33,1±13,06 ^a	23,96±9,7 ^a	5,74±2,18 ^a	11,8±4,08 ^a	18,74±5,64 ^a	5,39±1,81 ^a
Civa	35,17±10,26 ^c	15,51±2,24 ^c	10,56±3,27 ^c	3,09±1,19 ^b	4,19±1,76 ^d	8,86±2,51 ^c	2,14±0,61 ^c
Civa+Poldatin 25	41,23±13,86 ^{bc}	19,71±6,49 ^{bc}	12,25±3,76 ^c	3,83±1,33 ^{ab}	5,56±2,19 ^{cd}	12,81±3,37 ^{bc}	2,36±0,73 ^c
Civa+Poldatin 50	47,37±15,96 ^{bc}	21,7±6,85 ^{bc}	15,78±5,85 ^{bc}	4,16±1,19 ^{ab}	8,02±2,52 ^{bc}	14,56±4,79 ^{ab}	3,29±1,37 ^{bc}
Civa+Poldatin 100	54,69±15,43 ^{ab}	25,77±8,18 ^{ab}	20,2±7,81 ^{ab}	5,26±2,0 ^a	8,73±2,45 ^b	15,31±5,44 ^{ab}	4,13±1,53 ^{ab}

4.1.5. Böbrek ve Karaciğer Gen Parametreleri

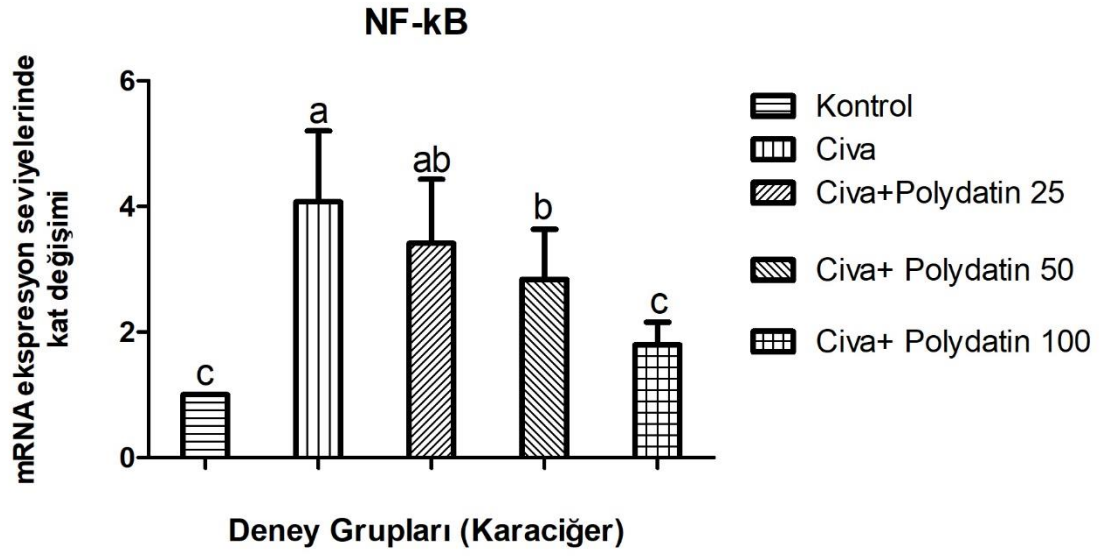
Karaciğer ve böbrek dokularındaki doku hasarı ile ilgili genlerin (IFN-gamma ,TNF- α ve NFkB) ekspresyon düzeyleri belirlendi. Sonuçlar Şekil 4.1, şekil 4.2, şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5 ve şekil 4.6’de gösterildi.



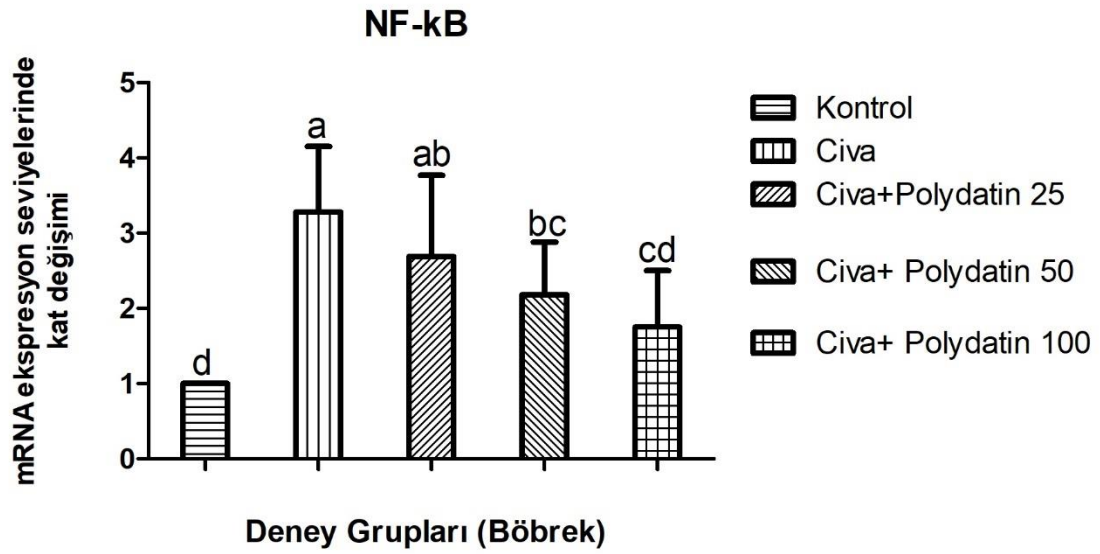
Şekil 4.1. Karaciğer dokusu IFN-gamma mRNA ekspresyon düzeyi (a, b, c, d) farklı harfler istatistiksel farklılıkları ifade eder ($p<0.05$).



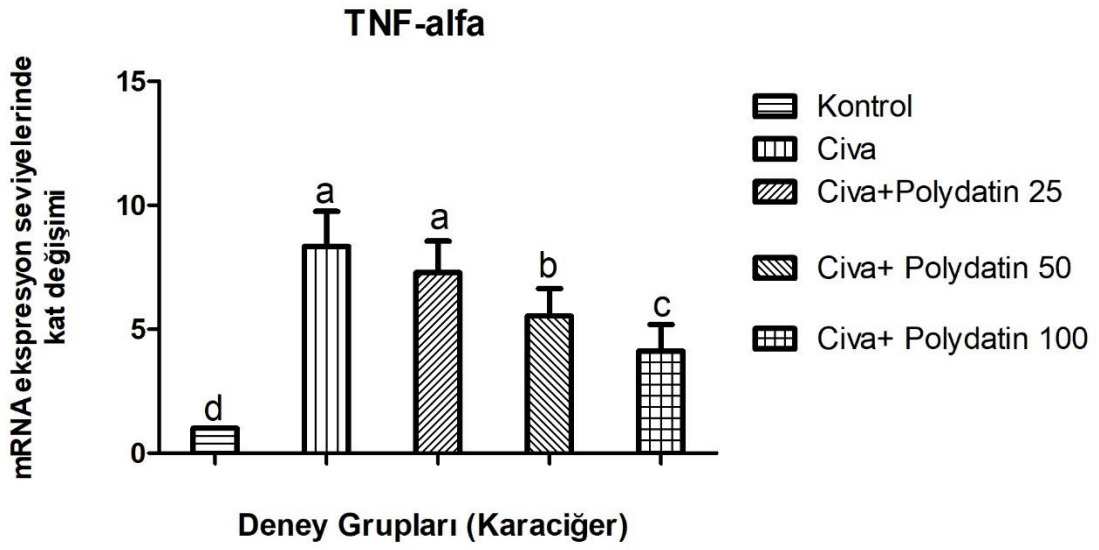
Şekil 4.2. Böbrek dokusu IFN-gamma mRNA ekspresyon düzeyi (a, b, c) farklı harfler istatistiksel farklılıkları ifade eder ($p<0.05$).



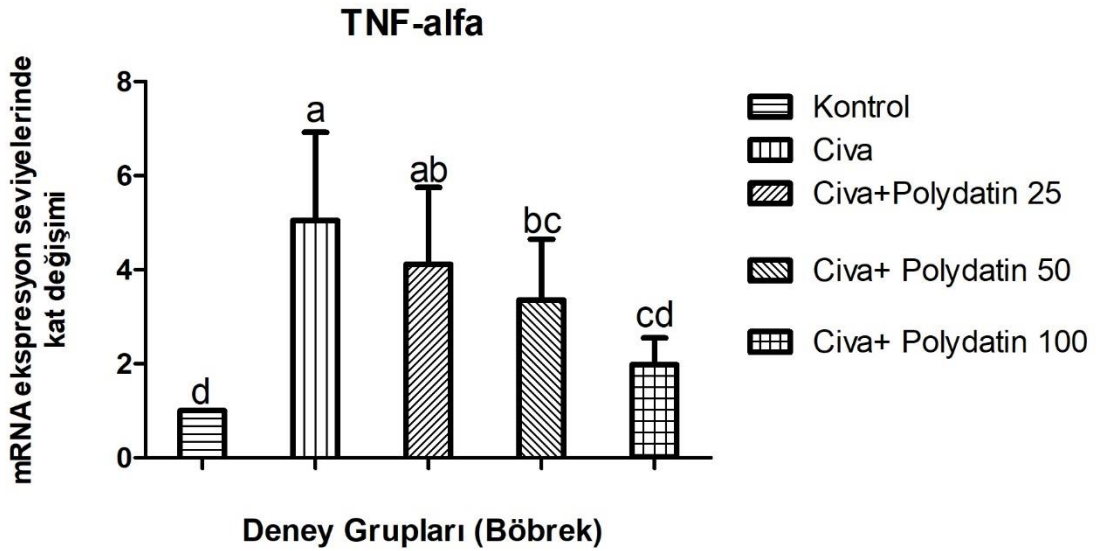
Şekil 4.3. Karaciğer dokusu NFkB mRNA ekspresyon düzeyi (a, b, c) farklı harfler istatistiksel farklılıkları ifade eder ($p<0.05$).



Şekil 4.4. Böbrek dokusu NFkB mRNA ekspresyon düzeyi (a, b, c, d) farklı harfler istatistiksel farklılıkları ifade eder ($p<0.05$).



Şekil 4.5. Karaciğer dokusu TNF- α mRNA ekspresyon düzeyi (a, b, c, d) farklı harfler istatistiksel farklılıkları ifade eder ($p<0.05$).



Şekil 4.6. Böbrek dokusu TNF- α mRNA ekspresyon düzeyi (a, b, c, d) farklı harfler istatistiksel farklılıkları ifade eder ($p<0.05$).

4.2. Histopatolojik Bulgular

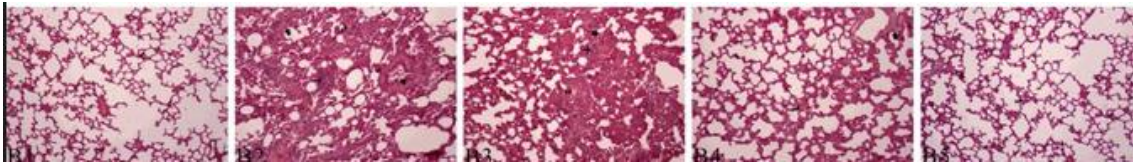
Beyin dokusunda, nöronlarda vakuolizasyon oluşumları, damarlarda hiperemi, fokal glia hücre infiltrasyonu görüldü. Akciğer dokusunda interalveoler septal dokuda kalınlaşma, intersitisyel bölgede MNH infiltrasyonu alanları, alveollerde ödem oluşumu, bronşiyal epitel hücrelerinde hiperplazik görünüm belirlendi. Kalp dokusunda myokard hücrelerinde hyalin dejenerasyonu alanları, myokardda hafif hyalin dejenerasyonu görüldü. Karaciğer dokusunda pericentral bölgelerde vakuoler dejenerasyon alanları, kupffer hücre sayısında artış görüldü. Böbrek dokusunda glomeruluslarda bowman boşluğunda genişliğinde artma, tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif farklılıklar, intertubuler bölgede MNH infiltrasyonu alanları görüldü. Testis dokusunda TSK'larda şiddetli nekroz oluşumu görüldü.

4.2.1. Beyin Histopatolojik Değerlendirmesi



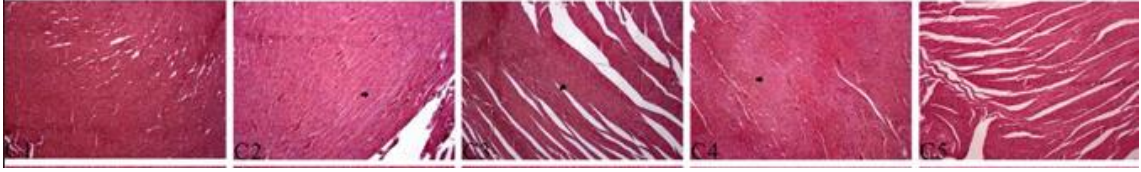
Resim 4.1 Beyin Histopatolojik Değerlendirmesi, Kalın ok (damarlarda hiperemi), ince ok (nöronlarda vakuolizasyon oluşumları), ok başı (Fokal glia hücre infiltrasyon)'u göstermektedir.

4.2.2. Akciğer Histopatolojik Değerlendirmesi



Resim 4.1 Akciğer Histopatolojik Değerlendirmesi, Kalın ok (interalveoler septal dokuda kalınlaşma), İnce ok (İntersitisyel bölgede MNH infiltrasyonu alanları), kıvrımlı ok (Alveollerde ödem oluşumu), ok başı (Bronşiyal epitel hücrelerinde hiperplazik görünüm)'ü gösterir.

4.2.3. Kalp Histopatolojik Değerlendirmesi



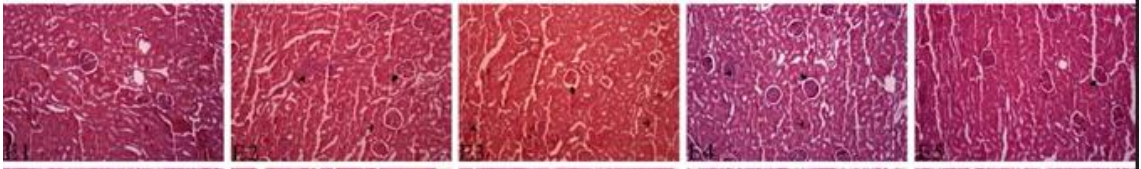
Resim 4.3 Kalp Histopatolojik Değerlendirmesi, Kalın ok (Myokard hücrelerinde hyalin dejenerasyonu alanları), Ok (Myokardda hafif hyalin dejenerasyonu)' u göstermektedir.

4.2.4. Karaciğer Histopatolojik Değerlendirmesi



Resim 4.4 Karaciğer Histopatolojik Değerlendirmesi, Kalın ok (Pericentral bölgelerde vakuoler dejenerasyon alanları), İnce ok (Kupffer hücre sayısında artış)'ı göstermektedir.

4.2.5. Böbrek Histopatolojik Değerlendirmesi



Resim 4.5 Böbrek Histopatolojik Değerlendirmesi, kalın ok (Glomeruluslarda bowman boşluğunda genişleme), ince ok (Tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler), ok başı (İntertubuler bölgede MNH infiltrasyonu alanları)'nı göstermektedir.

4.2.6. Testis Histopatolojik Değerlendirmesi



Resim 4.6 Testis Histopatolojik Değerlendirmesi, kalın ok (TSK'larda şiddetli nekroz oluşumu)'nu göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bas ve Kalender, (2016) yılında Wistar ratlarında testis dokularında kurşun nitrat ve cıva klorürün etkilerini değerlendirdiler. Erişkin erkek sıçanlara 4 hafta süreyle 45 mg/kg canlı ağırlık ve 0.02 mg/kg canlı ağırlık dozlarında ağızdan kurşun ve cıva uygulamaları, MDA seviyelerinde ve antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, CAT, GPx ve GST) önemli bir artışa neden olduğunu gördüler. Adelakun vd, (2020) yılında hazırladıkları çalışmada, Solanum melongena (SM) kullanarak 32 yetişkin erkek Wistar ratlarını 8'erli 4 gruba bölerek (Grup 1, kontrol grubu olarak ayarlandı ve 10 ml/kg/gün distile su verildi, Grup 2, 500 mg/kg B.W SM verildi, Grup 3, 40 mg/kg B.W HgCl₂ verildi ve Grup 4, 500 mg/kg B.W SM ve 40 mg/kg B.W HgCl₂ verildi) 28 gün boyunca günde bir kez gastrik gavaj yoluyla uygulandı. Uygulama sonunda, testiküler oksidatif stres belirteçleri yani malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) değerlendirdiklerinde ratlarda SOD, CAT, GPx ve GSH'ta artış yaşandığını MDA ise azalma olduğunu gözlemlediler. Su ve arkadaşları, (2008) yılında gerçekleştirdikleri çalışmada rat dokularının birikimlerinde ve oksidatif stresinde selenyum (Se) ve cıva (Hg) etkileşimini değerlendirmişlerdir. Ratlar, bir kontrol ve 4 uygulama grubu olmak üzere 5 gruba ayrılmış, uygulama yapılan rat gruplarına, annelerinin gebeliğinden itibaren gavaj yoluyla farklı miktarlarda cıva klorür (HgCl₂) ve dl-selenomethionine (SeMet) verilmiştir. Biyokimyasal yöntemlerle dokuların glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri belirlenmiştir. Hg, tespit edilen dokuların çoğunda GSH ve SOD'un azaldığı, MDA düzeylerinin ise arttığını görmüşler ancak Se'nin aynı dokularda bir karşı etki oluşturduğunu saptamışlardır. Bu çalışma, Se ve Hg etkileşiminin birikimleri etkilediğini ve Se'nin, Hg'nin neden olduğu inhibisyonu antagonize edebileceğini ileri sürmüşlerdir. Santos Chemelo vd., (2021) yılında uyguladıkları araştırmada cıva klorürün (HgCl₂) ratların periferik kanları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, 20 yetişkin Wistar erkek ratı, kontrol ve uygulama grubu olmak üzere 10'ar kişilik 2 gruba ayırmışlardır. 45 gün süresince kontrol grubuna 0,375 mg/kg dozunda distile su, uygulama grubuna ise 0,375 mg/kg dozunda HgCl₂ intragastrik gavaj yoluyla uygulanmış. Uygulama sonunda uzun süreli bu maruz bırakma kan hücrelerindeki cıvayı artırmış, GSH seviyelerinde azalma şekillenmiştir. Wiggers ve arkadaşları,

(2008) yılında uyguladıkları çalışmada düşük cıva konsantrasyonlarına maruz kalmanın aort ve mezenterik direnç arterlerinde endotel bağımlı tepkilerini analiz etmişlerdir. Wistar ratlarına cıva klorür (1. doz 4.6 µg/kg, müteakip doz 0.07 µg.kg-1.gün-1 im, 30 gün) uygulanmıştır. Uygulama sonunda, süperoksit dismutaz (SOD, 150 U/ml) ve NADPH oksidaz inhibitörü aposinin (0.3 mM), cıvaya maruz kalan ratlarda aortta fenilefrin kaynaklı kasılmayı kontrol grubuna göre azaltmıştır. Düşük konsantrasyonlarda cıvaya maruz kalma, oksidatif stresteki artışların neden olduğu azalmış NO biyoyararlanımının bir sonucu olarak endotelial disfonksiyonu teşvik etmiştir. Bu bulgular, düşük konsantrasyonlarda bile cıvanın kardiyovasküler hastalık için çevresel bir risk faktörü olduğuna dair kanıt sunmuştur. Oliveira vd., (2020) yılında cıva ile indüklenen hipokampal ROS üretimini, sinaptik plastisite, anksiyeteyi değerlendirmek amacıyla 11 erkek Wistar Rat'ını 30 gün boyunca her günün sonunda 8 ng/mL'lik bir kalıntı konsantrasyonu sağlamak için HgCl₂'ye maruz bırakılmışlardır. Western blot tahlili sonucunda GPx ve SOD düzeylerinin azaldığını görmüşlerdir. Hg'ye maruz kalan grupta CA1 ve CA3 bölgelerinde artan ROS üretimi gözlenmiştir. Sonuç olarak, elde ettikleri verilerde, düşük dozlarda HgCl₂'nin uzun süreli hafızanın bozulmasına ve hipokampusta azalmış antioksidan protein ekspresyonu ile artan ROS üretimi arasındaki dengesizliğe yol açtığını göstermişlerdir. Adelakun vd, (2018) yılında gerçekleştirmiş oldukları bu çalışmada, Wistar ratlarında Ocimum basilicum'un cıva klorür (HgCl₂) ile indüklenen hepatotoksisite üzerindeki terapötik potansiyellerini incelemişlerdir. Bir kontrol ve beş deney grubundan oluşan bu çalışmanın sonucunda, O. basilicum ekstresi alan ratların antioksidan parametrelerin (SOD, CAT, GPx ve GSH) azalmış olduğu ve cıva klorür tüketimininden dolayı MDA değerinin yükseldiğini görmüşlerdir. Bu veriler neticesinde, O. basilicum'un ratlarda cıva klorürün neden olduğu hepatotoksisitede serbest radikal aracılı oksidatif strese karşı koruma sağladığını keşfetmişlerdir. Fatıha vd., (2022) yılında yaptıkları araştırmada, Pistacia atlantica'nın sulu ekstraktının ratlarda cıva kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etkisini değerlendirmişlerdir. Cıva klorür (HgCl₂) intraperitoneal olarak (haftada bir kez 2.5 mg/kg'da) uygulanmış ve P. atlantica, 32 gün boyunca ratlara 150 mg/kg vücut ağırlığı günlük dozunda gavaj yoluyla oral yoldan verilmiştir. Bu sonuçlar, HgCl₂'nin glutatyon seviyesinde önemli bir azalmaya ve antioksidan sistem katalaz (CAT), Glutatyon peroksidaz (GPx), Glutatyon S transferazın (GST) enzimatik aktivitesine böbrek

seviyesinde neden olduğunu göstermektedir. Bu değişiklikler, yüksek düzeyde renal Malondialdehit (MDA) ve hidroperoksitler (LOOH) tarafından artırılan lipid peroksidasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, bu bitkinin ekstraktının cıvanın zararlı etkisine karşı bir antioksidan ve koruyucu etkisi olabileceğini göstermiştir. Raeeszadeh vd, (2021) yılında yapmış oldukları çalışmada, *Medicago sativa* L.'nin (Alfalfa) etanolik ekstraktının sıçanların böbrek ve karaciğerindeki cıva hasarı üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Otuz Wistar ratı rastgele beş gruba ayrılmış, kontrol grubu, S grubu (2 mg/kg cıva klorür) ve cıvaya ek olarak 250, 500 ve 750 mg'lık dozlarda yonca özü alan T1, T2 ve T3 grupları oluşturmuşlardır. Böbreğin ve karaciğerin bir kısmı histopatolojik değerlendirme için kullanılmıştır. Histopatolojik değerlendirmede S grubunda glomerüler ve tübüler hasar ve hepatik nekroz görülmüş ve bu durumların T3 grubunda düzeldiği görülmüştür. S grubunda, karaciğer hücrelerinin nekrozu, piknotik ve hiperkromik nükleer hücreleri, sitoplazmik proteinlerin birikmesi ve eozinofilizasyonu, parankimal kanama, mononükleer inflamatuvar hücrelerin portal ven etrafındaki alana şiddetli infiltrasyonu tespit edilmiştir. T1 grubunda, periferik alanda mononükleer inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, merkezi ven tıkanıklığı, hepatoselüler asidofilik sitoplazma ve Glisson kapsülü altındaki kanamaya rastlanılmıştır. T2 grubunda ise, triad portuna, Kupffer hücrelerinin hiperplazisine, normal hepatosit çekirdeği etrafındaki lenfositlerine ve plazma hücrelerinin mononükleer inflamatuvar hücrelerinin infiltrasyonuna rastlanılmıştır. T3 grubunda, triad portunda mononükleer inflamatuvar hücrelerin düşük penetrasyonuna, hepatositlerin çoğunlukla normal haline, çekirdeğin dejeneratif değişiklik göstermediğine ve hafif merkezi ven tıkanıklığı belirlenmiştir. Ijaz vd., (2021) yılında yaptıkları çalışmada, timerosalin (Timerosal, aşıllarda %49.6 cıva içeren koruyucu olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.) rat karaciğeri üzerindeki toksik etkilerini analiz etmişlerdir. Yirmi dört yetişkin erkek albino rat dört gruba (n=6) dağıtılmış. Birinci grup kontrol grubu olarak kabul edilmiş. İkinci, üçüncü ve dördüncü gruplara sırasıyla 0,5, 10 ve 50 µg/kg timerosal (i.m.) uygulanmıştır. 30 gün sonra, karaciğer dokularını analiz etmek için rat kesilmiştir. Histopatolojik çalışmada, timerosal ile tedavi edilen ratların karaciğer dokularında yağlı değişiklikler, lobüler yapının bozulması ve çekirdeklerin dejenerasyonu gibi durumlar gözlenmiştir.

Ince vd. (2016) arseniğe kronik maruziyetin üreme etkilerini inceledikleri çalışmada polidatinin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla 35 wistar erkek sıçanda beş eşit gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna normal diyet ve çeşme suyu, kontrol grubu dışındaki deney gruplarına içme suyu yoluyla arsenik (100 mg/l, ağızdan yaklaşık 1/50 LD50) ve diğer gruplara polidatin ağızdan 60 gün boyunca 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarında uygulanmıştır. Arsenik uygulaması, sıçanların testis dokusunda sperm motilitesini, glutatyon seviyesini, süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerini azaltmıştır. Buna karşılık, arsenik uygulanan grupta malondialdehit seviyesi ve DNA tahribatı yüksek düzeylerde bulunmuştur. Histopatolojik olarak, testis dokusunda sperm konsantrasyonunun azaldığı ve Sertoli hücrelerinin dejenerasyonu gözlemlendiği bildirilmiştir. Polidatin uygulaması, sıçanların testislerinde arsenik kaynaklı lipid peroksidasyonunu, DNA hasarını, antioksidan enzim aktivitesini olumlu yönde tersine çevirdiği bildirilmiştir. Araştırmanın sonuçlarına göre, polidatinin arsenik kaynaklı lipid peroksidasyonunu azalttığını, antioksidan savunma mekanizmasını geliştirdiğine ek olarak sıçanların testislerinde doku tahribatını yeniden oluşturduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada, polidatinin sıçanlarda sisplatin kaynaklı oksidatif stres üzerindeki olası koruyucu etkisini değerlendirilmiştir. Bu amaçla, erkek wistar albino sıçan standart kemirgen diyeti ile beslenmiş ve 5 eşit gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna on gün boyunca hem ağızdan hem de intraperitoneal (i.p.) fizyolojik tuzlu su uygulanmıştır. İkinci gruba oral olarak fizyolojik tuzlu su vermiştir ve yedinci günde 7 mg/kg dozunda tek sefer i.p. sisplatin enjeksiyonu uygulanmıştır. Üçüncü, dördüncü ve beşinci gruplara, sisplatin enjeksiyonundan yedi gün önce başlayarak sırasıyla 25, 50 ve 100 mg/kg/gün polidatin uygulanmış ve 7 mg/kg tek i.p. sisplatin yedinci günde enjekte edilmiştir. Sisplatin, malondialdehit düzeylerinde önemli artış ve glutatyon düzeylerinde azalmaya neden olmuştur. Ayrıca sisplatin uygulaması eritrosit ve dokularda süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerini azaltmıştır. Ayrıca sisplatin uygulaması, DNA hasarını arttırmış ve serum biyokimyasal parametrelerini etkilemiş, AchE aktivitesini ise azaltmıştır. Bununla birlikte, polydatin uygulaması, sisplatin kaynaklı oksidatif stresin, lipid peroksidasyonunun ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinin tersine çevrilmesiyle neden olmuştur. Sonuç olarak, polydatin sıçanlarda sisplatin kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etki göstermiştir, antioksidan savunma mekanizmasını arttırmış ve dokularını yenilemiştir (Ince vd, 2014).

Wang vd. (2017), sıçanlarda doksorubisinin neden olduğu kardiyotoksisiteyi azaltmada polidatin ve C vitamininin sinerjistik etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmanın sonuçlarına göre polidatin ve C vitamini kombinasyonunun, antioksidan etkisiyle miyokardiyal koruyucu etkileri artırma ve enerji metabolizmasını iyileştirme yeteneğine sahip olduğunu bildirilmiştir. Zhang vd (2012) farelerde polidatinin karbon tetraklorür (CCl₄) ile indüklenen akut karaciğer hasarı üzerindeki olası hepatoprotektif etkileri ve ilgili mekanizmaları araştırdı. CCl₄'ün (50 µl/kg) intraperitoneal enjeksiyonu, serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve hepatik malondialdehit (MDA) seviyelerinde önemli bir artışa ve ayrıca TNF- α , IL-1 β , COX-2, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve NF- κ B ekspresyonunda belirgin bir artışa neden olmuştur. Öte yandan CCl₄ maruziyeti sonrasında glutatyon (GSH) içeriği ve glutatyon transferaz (GST), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinde azalma gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, 5 gün boyunca polidatinin önceden uygulanmasıyla bu bulguları tersine çevirdiği bildirilmiştir. TGF-21 mRNA ve protein ekspresyon seviyeleri, polidatin uygulaması artmıştır. Bu sonuçlar, polidatinin, antioksidan stres ve antienflamatuvar etkiler yoluyla fareleri CCl₄'ün neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruduğunu göstermiştir.

Başka bir çalışmada, etanol kaynaklı hepatotoksisite üzerinde polidatinin hepatoprotektif etkisini ve potansiyel mekanizmalarının değerlendirilmesi amaçlandı. Polidatin uygulamasının serumdaki alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalın fosfataz (ALP) ve laktat dehidrojenaz (LDH) düzeylerini önemli ölçüde azalttığını, malonaldehit (MDA) ve trigliseriti (TG) baskıladığını belirtildi. Polidatinin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi, muhtemelen sitokrom P450 2E1'in (CYP2E1) aşağı regülasyonu ve nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör 2 (Nrf2) ve onun hedef geni haem oksijenaz-1'in (HO-1) yukarı regülasyonu ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Ayrıca, polidatinin, reseptör 4 (TLR4) ve nükleer faktör kappa B (NF-KB) p65'i aşağı regüle ederek proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, polidatin uygulamasının, oksidatif stresi baskılayarak etanolün neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruma sağladığı bildirildi (Huang vd., 2017).

Zhang vd., (2013) yılında gerçekleştirdikleri araştırmada, *Aralia elata*'nın kök kabuğundan elde edilen suda çözünür bir polisakkaritin deneysel cıva kaynaklı kardiyovasküler oksidatif hasara karşı olası koruyucu etkisini rat modelinde araştırmayı amaçlamışlardır. *Aralia elata*, serum LDH, TNF- α ve NO metabolit düzeylerinin yanı sıra serum antioksidan kapasitesi, LDH ve TNF- α üzerindeki etkisi, sırasıyla genel doku hasarı ve proinflamatuvar oluşumun değerlendirilmesi için serum örneklerinde test etmişlerdir. LDH ve TNF- α seviyeleri, salin uygulanan Hg grubunda ($p < 0,001$) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir artış gösterirken, *Aralia elata* uygulaması, Hg uygulanan grupla kıyaslandığında meydana gelen bu yükselmeyi azalttığı gözlemlenmiştir ($p < 0,001$). Penna vd., (2009) yılında yaptıkları çalışmada, IL-4 veya IFN-g serum seviyelerindeki testiküler ve epididimal morfolojik değişiklikleri ve değişiklikleri analiz etmek için yetişkin erkek Sprague Dawley ratlarına 1 ila 7 ay boyunca deiyonize su içinde 0.01, 0.05 veya 0.1 mg/ml cıva klorürü oral yolla (HgCl₂) vermişlerdir. Bu uygulamanın sonrasında, IFN-g'de ölümcül olmayan cıva dozları ve IL-4 serum seviyeleri incelenmiştir; elde edilen seviyeleri tedavi süresi göz önüne alarak analiz etmeye karar vermişler ve bunun neticesinde, kontrole grubuna kıyasla 7 ay boyunca ağızdan cıva alan ratlarda önemli ölçüde daha yüksek bir IFN-g seviyesi tespit etmişlerdir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Cıva yaygın bulunan çevresel ve endüstriyel bir kirletici metaldir. Cıva maruziyeti insan ve hayvanlarda birçok doku ve organa zarar verebilir. Cıva nörotoksik, nefrotoksik ve immunitoksik özellikler göstermektedir. Bu çalışmada cıva uygulaması ile ratların kan ve diğer dokularında, lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA seviyesinde artış, GSH seviyesinde azalma ve antioksidan enzim etkinliğinde düşüş olduğu belirlendi. Doku örneklerinde cıva kaynaklı hasara ait histopatolojik farklılıkların olduğu belirlendi. Cıva ile eş zamanlı verilen 25, 50 ve 100 mg/kg dozda polydatin uygulamasının ise oluşan durumları tersine çevirdiği görüldü. Sonuç olarak polydatinin cıva ile indüklenen doku tahribatına karşı antiinflamatuvar, ve antioksidan etkisi ile birlikte doku koruyucu olarak gösterdiği saptandı. Özellikle polydatin yönünden zengin gıdaların tüketilmesinin, insan sağlığı açısından cıva başta olmak üzere doku hasarına sebep olan ağır metallerin maruziyetine karşı koruyucu etkilerinin olma potansiyeli görülmüştür.

Bu çalışmada bir bir ağır metal olan cıva, sebep olduğu doku tahribatına karşı polydatinin asitin koruyucu etkisinin belirlenmesi literatüre ek olarak bilgilerin girmesine olanak sağlamıştır. Bununla birlikte, ayrıca ağır metal kaynaklı oluşabilecek negatif etkilerin azaltılmasında polydatinin kullanılabileceğini göstermiştir.

7. KAYNAKLAR

- Adelakun, S.A., Omotoso, O.D., Akingbade, G.T. (2018). Therapeutics potential of *Ocimum basilicum* following mercury chloride-induced hepatotoxicity in rats (*Rattus norvegicus*). *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 5(11): 725-737.
- Adelakun, S.A., Ukwenya, V.O., Akingbade, G.T., Omotoso, O.D., Aniah, J.A. (2020). Interventions of aqueous extract of *Solanum melongena* fruits (garden eggs) on mercury chloride induced testicular toxicity in adult male Wistar rats. *Biomedical Journal*, 43(2): 174-182.
- Aebi, H. (1974). Catalase in vitro, İçinde: Methods of enzymatic analysis. Ed. Bergmeyer, U., Academic Press. New York. s: 673-677.
- Akcan A.B., Dursun O. (2008). Cıva zehirlenmeleri. *J Curr Pediatr*, 6: 72-75.
- Akkoyun, H.T., Bengü, A.Ş., Bayramoğlu Akkoyun, M., Ulucan, A., İzgi, M.S., Şahin, Ö., Ekin, S., Melek, Ş. (2020). Cıva II klorürün sıçan beyin dokusunda oluşturduğu toksisiteye karşı borik asidin koruyucu etkisinin incelenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9 (2): 127-133
- Amin-Zaki, L., Majeed, M.A., Elhassani, S.B., Clarkson, T.W., Greenwood, M.R., Doherty, R.A. (1979). Prenatal methylmercury poisoning. Clinical observations over five years. *Am J Dis Child*. 133 (2): 172-177.
- Ansari, K.N. (1997). The free radicals--the hidden culprits--an update. *Indian Journal of Medical Sciences*, 51(9): 319-336.
- Arslan-Acaroz, D., Zemheri, F., Demirel, H.H., Kucukkurt, I., Ince, S., Eryavuz, A. (2018). In vivo assessment of polydatin, a natural polyphenol compound, on arsenic-induced free radical overproduction, gene expression, and genotoxicity. *Environ Sci Pollut Res*, 25(3): 2614-2622.
- ATSDR, (2006). Agency for Toxic Substances and Disease Registry, CERCLA Priority List of Hazardous Substances
- Baby, J., Raji, J.S., Biby, E.T., Sankarganesh, J., Jeevitha, M.V., Ajisha, S.U., Rajan, S.S. (2010). Toxic effect of heavy metals on aquatic environment. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 4(4): 939-952.
- Bas, H., Kalender, S. (2016). Antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by lead nitrate and mercury chloride in male rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59: 1-9.
- Başer, S. (2014) Cıva İçeren Amalgam Diş Dolguları ve İnsan Sağlığına Etkileri, Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Bitirme Ödevi, 69s, Kayseri.
- Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M. (1993). Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.*, 61: 882-888.
- Berntssen, M.H.G., Aatland, A., Handy, R.D. (2003). Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behaviour in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr, *Aquatic Toxicology*, 65: 55-72.
- Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M. (1993). Improved method for the determination of

- blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61: 882–888.
- Bollen, A., Wenke, A., Biester, H. (2008). Mercury speciation analyses in HgCl₂-contaminated soils and groundwater--implications for risk assessment and remediation strategies. *Water Res*, 42: 91-100.
- Black, F.J., Bruland, K.W., Flegal, A.R. (2007). Competing ligand exchange solid phase extraction method for the determination of the complexation of dissolved inorganic mercury (II) in natural waters, *Anal. Chim. Acta*, 598: 318–333.
- Boğa, A. (2007). Ağır metallerin özellikleri ve etki yolları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(3): 218-234.
- Carocci, A., Rovito, N., Sinicropi, M.S., Genchi, G. (2014). Mercury Toxicity and Neurodegenerative Effects. In: Whitacre, D. (eds) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, vol 229. Springer
- Cemeli, E., Baumgartner, A., Anderson, D. (2009). Antioxidants and the Comet assay. *Mutat Res.*, 681: 51–67.
- Cheng, Y.F., Zhang, H.T., Sun, L.S., Guo, S.L., Ouyang, S., Zhang, Y.J., Xu, J. (2006). Involvement of cell adhesion molecules in polydatin protection of brain tissues from ischemia-reperfusion injury. *Brain Res.*, 1110: 193-200.
- Cherry, D., Lowry, L., Velez, L., Cotrell, C., Keyes, D.C. (2002) Elemental mercury poisoning in a family of seven. *Fam Community Health*, 24: 1-8.
- Clarkson, T.W., Marsh, D.O. (1982). Mercury toxicity in man: Clinical, biochemical, and nutritional aspects of trace elements, Ed.: Prasad, A.S., New York, s: 549-568.
- Clarkson, T.W., Magoş, L., Myers, G.J. (2003). The toxicology of mercury current exposures and clinical manifestations. *N Engl J Med*, 349: 1731.
- Cope W.G., Leidy R.B., Hodgson E. (2004). *Classes of Toxicants: Use Classes*. İçinde: A Textbook Of Modern Toxicology. 3. Baskı, Ed.: Hodgson, E. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Cornelli, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clin Dermatol*, (27): 175–194.
- Cox, C., Clarkson, T.W., Marsh, D.O., Amin-Zaki, L., Tikriti, S., Myers, G.G. (1989). Dose-response analysis of infants prenatally exposed to methyl mercury: an application of a single compartment model to single-strand hair analysis. *Environ Res.*, 49(2): 318-332.
- Çağlayan, C., 2018. Ratlarda cıva (II) klorür kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarı üzerine rutin in etkilerinin araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 137s, Erzurum.
- Çavuşoğlu, K., Acar, A., Yalçın, E. (2018). Cıva (Hg) Ağır Metal İyonunun Allium cepa L. (Soğan)'da Teşvik Ettiği Fizyolojik, Sitogenetik ve Anatomik Değişimlerin Araştırılması. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6: 887-892.

- Çöğün, H.Y., Fırat, Ö., Fırat, Ö., Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Kargın, F., Kötemen, Y. (2012). Protective effect of selenium against mercury induced toxicity on hematological and biochemical parameters of *Oreochromis niloticus*, *J. Biochem. Mol. Toxic.*, 26(3): 117-122.
- Çöp, E., Çengel Kültür, E., Erdoğan Bakar, E. (2013). Metalik civa zehirlenmesi ve nöropsikolojik etkileri: bir olgu sunumu. *Türk Psikiyatri Dergisi*, 25 (1): 60-64.
- Davidson, G.P., Decker, T.R. (2009). Chemopreventive role of fruits and vegetables in oropharyngeal cancer. *Nutr Clin Pract.*, 24: 250-260.
- Davidson, P.W., Myers, G.J., Weiss, B. (2004). Mercury exposure and child development outcomes. *Pediatrics*. (113): 1023-1029.
- Devlin, E.W. (2006). Acute toxicity, uptake and histopathology of aqueous methylmercury to fathead minnow embryos. *Ecotoxicology*, (15): 97-110.
- Diez, S. (2008). Human health effects of methylmercury exposure, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 198: 113–132.
- dos Santos Chemelo, V., Bittencourt, L.O., Aragão, W.A. B., dos Santos, S.M., Souza Rodrigues, R.D., Ribeiro, C.H.M.A., Monteiro, M.C., Lima, R.R. (2021). Long-term exposure to inorganic mercury leads to oxidative stress in peripheral blood of adult rats. *Biological Trace Element Research*, 199(8): 2992–3000.
- Drabkin, D.L., Austin, J.H. (1935). Spectrophotometric studies II. preparations from washed blood cells; nitric oxide hemoglobin and sulfhemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*, 112: 51-65.
- Draper, H.H., Hardley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186: 421-431.
- Eisler, R. (1987). Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. *Contam. Hazard Rev.*, 10: 1-63.
- Eto, K., Marumoto, M., Takeya, M. (2010). The pathology of methylmercury poisoning (Minamata disease): The 50th Anniversary of Japanese Society of Neuropathology *Neuropathology*, 30 (5): 471-479.
- Erkekoğlu, P., Kadioğlu E. (2013). Civa zehirlenmesi ve tedavisi. *Toksikoloji Bülteni*, 37: 6-9.
- Erkmen, O. (2010). Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Derg.* 53(3): 220-235.
- Fatiha, B., Omar, K., El Azhari, M. (2022). Mercury-Induced Acute Nephrotoxicity in Rats: Treatment with Aqueous Extract of *Pistacia atlantica* (Desf). *Tropical Journal of Natural Product Research*, 5 (12): 2063-2067.
- Fisher, J.F., Amler, S.N. (2005). Mercury exposure: Evaluation and intervention the inappropriate use of chelating agents in the diagnosis and the treatment of putative mercury poisoning. *NeuroToxicology*. (26): 691-699.
- Gammons, C., Slotton, D.G., Gerbrandt, B., Weight, W., Young, C.A., Mcneary, R.L., Camac, E., Calderon, R., Tapia, H. (2006). Mercury concentrations of fish, river water, and

- sediment in the Rio Ramis-Lake Titicaca watershed, Peru, *Sci. Total Environ.* 368: 637-648.
- Gharaei, A., Ghaffari, M., Keyvanshokoo, S., Akrami, R. (2011). Changes in metabolic enzymes, cortisol and glucose concentrations of Beluga (*Huso huso*) exposed to dietary methylmercury, *Fish Physiol. Biochem.*, 37: 485-493.
- Guerin, P., Mouatassim, S.E.I., Menezo, Y. (2001). Oxidative Stress and Protection Against Reactive Oxygen Species in The Pre-Implantation Embryo and Its Surroundings. *Hum Reprod Update*, 7: 175-189.
- Güler A., Can P. (2017) Kimyasal kontaminantların çevre sağlığı ve gıda güvenliği üzerine etkileri *Sinop Uni J Nat Sci*, 2 (1): 170-195.
- Hancıoğlu, C., Kar, F., Kanbak, G. (2017). Kronik cıva maruziyeti: oksidatif stres ve nörotoksosite. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 10 (3): 58-64.
- Hassimotto, N.M.A., Pinto, M.D.S., Lajolo, F.M. (2008). Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. *J Agric Food Chem.*, 56: 11727–11733.
- Horowitz, Y., Greenberg, D., Ling, G., Lifshitz, M. (2002). Acrodynia: a case report of two siblings. *Arch Dis Child.*, 86: 453-455.
- Hu, W.H., Wang, H.Y., Kong, X.P., Xiong, Q.P., Poon, K.K.M., Xu, L., Tsim, K.W.K. (2019). Polydatin suppresses VEGF-induced angiogenesis through binding with VEGF and inhibiting its receptor signaling. *The FASEB Journal*, 33(1), 532-544.
- Huang, Q. H., Xu, L. Q., Liu, Y. H., Wu, J. Z., Wu, X., Lai, X. P., & Xie, Y. L. (2017). Polydatin protects rat liver against ethanol-induced injury: involvement of CYP2E1/ROS/Nrf2 and TLR4/NF-B p65 pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- IARC (1993). International Agency For Research On Cancer. Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry: Evaluation of carcinogenic risks to humans. 58.
- Ijaz, M.U., Ashraf, A., Ismail, H., Imran, M., Al-Ghanim, K.A., Rauf, A., Al-Misned, F., Ahmed, Z., Samad, A., Riaz, M.N., Mahboob, S. (2021). Administration of vaccine preservative thimerosal produces impairment in rat liver. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64: 1-8.
- İnandı, A.Ş., 2016, *Oreochromis Niloticus*'un Kan Dokusundaki Biyokimyasal Parametrelerin Kullanılarak Cıva Toksisitesi Üzerine Zeolitin Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 67s, Adıyaman
- İnce, S., Arslan Acaröz, D., Neuwirth, O., Demirel, H.H., Denk, B., Küçükkurt, I., Turkmen, R. (2014). Protective effect of polydatin, a natural precursor of resveratrol, against cisplatin-induced toxicity in rats. *Food Chem Toxicol.*, 72: 147-153.
- Ince, S., Avdatek, F., Demirel, H. H., Arslan-Acaroz, D., Goksel, E., & Kucukurt, I. (2016). Ameliorative effect of polydatin on oxidative stress-mediated testicular damage by chronic arsenic exposure in rats. *Andrologia*, 48(5), 518-524.
- Jain, S.K. (2006) Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. *Pathophysiology*. 13(3): 127-128.

- Jensen, W.B. (2003). The place of zinc, cadmium, and mercury in the periodic table. *J Chem Edu*, 80(8): 952.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal Sireli, G., Güven, A., Timur, S. (2008). Metallerin çevresel etkileri-II. *Metalurji Dergisi*. 136: 46-53.
- Kalendar, R., Lee, D., Schulman, A.H. (2009). FastPCR Software for PCR Primer and Probe Design and Repeat Search. *Genes, Genomes & Genomics*. 3: 1-14.
- Kapoor, V.K., Dureja, J., Chadha, R. (2009). Herbals in the control of ageing. *Drug Discov Today*, 14(19–20): 992-998
- Kara, H., Das, Y.K., Aksoy, A. (2017). Veteriner hekimliği alanında cıva, kurşun, kadmiyum, arsenik ve bakır toksikasyonları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*. (2): 30-37.
- Karabulut H., ve Gülay M.Ş. (2016). Serbest Radikaller, *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* 4(1): 50-59.
- Kaya, Ö. (2016). Cıva Toksisitesi Üzerine Selenyumun Koruyucu Rolününoreochromis Niloticus'un Solungaç Ve Karaciğer Dokularındaki Oksidatif Stres Parametreleri ile Değerlendirilmesi, Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 68s, Adıyaman.
- Kaya, S. (2008). Otopside Alınan Beyin Örneklerinde Cıva ve Kurşun Düzeylerinin Belirlenmesi. Disiplinlerarası Adli Tıp Anabilim Dalı Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, 99s, Ankara.
- Koneru, M., Sahu, B.D., Gudem, S., Kuncha, M., Ravuri, H.G., Kumar, J.M., Sistla, R. (2017). Polydatin alleviates alcohol-induced acute liver injury in mice: Relevance of matrix metalloproteinases (MMPs) and hepatic antioxidants. *Phytomedicine*, 27: 23-32.
- Konukoğlu, D. (1997). Serbest radikaller ve önemleri. *Aile Hek Derg.* 1(4): 197-200.
- Kozin, L.F., Hansen, S.C. (2013). Mercury handbook: chemistry, applications and environmental impact. Royal society of chemistry.
- Kumar, D., Singh, S., Singh, A.K., Rizvi, S.I., 2013. Pomegranate (Punica granatum) peel extract provides protection against mercuric chloride-induced oxidative stress in Wistar strain rats. *Pharm. Biol.* 51, 441–446. <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.738333>
- Kusano, C., Ferrari, B. (2008). Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Haliç University J Cell Mol Biol.*, 7 (1): 1-15
- Li, R.P., Wang, Z., Sun, M.X. (2012). Polydatin protects learning and memory impairments in a rat model of vascular dementia. *Phytomedicine*. 19: 677-681.
- Liang, Y.X., Sun, R.K., Chen, Z.Q., Li, L.H. (1993). Psychological effects of low exposure to mercury vapor: Application of computeradministered neurobehavioral evaluation system. *Environmental Res.*, 60: 320-327.
- Lima, A.P.S., Sarkis, J.E.S., Shihomatsu, H.M., Muller, R.C.S. (2005). Mercury and selenium concentrations in fish samples from Cachoeira do Piria Municipality, ParaState, Brazil, *Environmental Res.*, 97: 236-244.

- Luck, H. (1955). Catalase. İçinde: Methods in Analysis. Éd. Bergmeyer, H.U. Academy Press, Londra, s: 885-894.
- Lowry, O.H. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193: 265-275.
- Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of armed forces institute of pathology. 3rd Ed, McGraw-Hill Book Company, New York; 1-253.
- McNutt, M. (2013). Mercury and health. *Science*, 341(6153): 1430-1430.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYÜ Vet Fak Derg.*, 15(1-2): 91-96.
- Ngim, C H., Foo, S.C., Boey, K.W., Jeyaratnam, J. (1992). Chronic neurobehavioural effects of elemental mercury in dentists. *Occupational and Environmental Medicine*, 49(11): 782-790.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2): 351-358.
- Oliveira, L.F., Rodrigues, L.D., Cardillo, G.M., Nejm, M.B., Guimarães-Marques, M., Reyes-Garcia, S.Z., Zuqui, K., Vassallo, D. v., Fiorini, A.C., Scorza, C.A., Scorza, F.A. (2020). Deleterious effects of chronic mercury exposure on in vitro LTP, memory process, and oxidative stress. *Environ Sci Pollut Res*, 27(7): 7559-7569.
- Özbolat, G., Tuli, A. (2016). Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4): 502-521.
- Park, J.D., Zheng, W. (2012) Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J Prev Med Public Health*, 45(6): 344–352.
- Pellegrini, N., Miglio, C., Del Rio, D. (2009). Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *Int J Food Sci Nutr.*, 60 (Suppl 2): 12-22.
- Peng, C., Du, Q.H., Zhang, H. (2013). Polydatin: a review of pharmacology and pharmacokinetics. *Pharmaceutical biology*, 51(11):1347-1354.
- Penna, S., Pocino, M., Marval, M.J., Lloreta, J., Gallardo, L., Vila, J. (2009). Modifications in rat testicular morphology and increases in IFN- γ serum levels by the oral administration of subtoxic doses of mercuric chloride. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 55(2–3): 69-84.
- Perottoni, J., Lobato, L.P., Silveira, A., Rocha, J.B.T., Emanuelli, T. (2004). Effects of mercury and selenite on d-aminolevulinate dehydratase activity and on selected oxidative stress parameters in rats, *Environ. Res.* (95): 166-173.
- Pfaffl, M.W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*, 29: 9.
- Plessi, M., Bertelli, D., Monzani, A. (2001). Mercury and selenium content in selected seafood, *J. Food Comp. Anal.*, 14: 461-467.
- Raeeszadeh, M., Moradi, M., Ayar, P., Akbari, A. (2021). The Antioxidant Effect of *Medicago sativa* L.(Alfalfa) Ethanolic Extract against Mercury Chloride (HgCl₂) Toxicity in Rat

Liver and Kidney: An in Vitro and in Vivo Study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (2021): 1-10.

Rafati-Rahimzadeh M., Rafati-Rahimzadeh M., Kazemi S., Moghadamnia A.A. (2014). Current approaches of the management of mercury poisoning; need of the hour. *DARU J Pharm Sci*, 22(46): 1-10.

Ratnam, D.V., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release*. 113: 189–207.

Rivière, C., Richard, T., Quentin, L. (2007). Inhibitory activity of stilbenes on Alzheimer's β -amyloid fibrils in vitro. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 15: 1160-1167.

Rivière, C., Papastamoulis, Y., Fortin, P.Y. (2010). New stilbene dimers against amyloid fibril formation. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 20: 3441–3443.

Sakamoto, M., Kubota, M., Matsumoto, S. (2002). Declining risk of methylmercury exposure to infants during lactation. *Environ Res*. 90: 185-189.

Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H. (2008). Antibacterial properties of *Polygonum cuspidatum* roots and their major bioactive constituents. *Food Chem*. 109: 530-537.

Sonçağ, A., Yurdakök, K. (2010). İntrauterin toksik ağır metal etkilenimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Derg*, 53, 145-158.

Steuerwald, U., Weihe, P., Jørgensen, P. J., Bjerve, K., Brock, J., Heinzow, B., Budtz-Jørgensen, E., Grandjean, P. (2000). Maternal seafood diet, methylmercury exposure, and neonatal neurologic function. *J Pediatr*, 36(5): 599-605.

Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 34: 497-500.

Şener, G., Sehirli, Ö., Tozan, A., Velioğlu-Övünç, A., Gedik, N., Omurtag, G.Z., 2007. Ginkgo biloba extract protects against mercury(II)-induced oxidative tissue damage in rats. *Food Chem. Toxicol*. 45, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.024>

T.C. Sağlık Bakanlığı. (2007). RSHMB, Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü. Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri, 227-232.

Takcı, Ş. (2013). Prematüre Bebeklerde Kan Transfüzyonu Öncesi ve Sonrası Eritrosit Kurşun ve Civa Düzeylerinin İncelenmesi. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi.

Tang, K.S., Tan, J.S. (2019). The protective mechanisms of polydatin in cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol*. 842:133-138.

Tegzes, J.H. (2013). Mercury. İçinde: Small Animal Toxicology. Eds. Peterson, M.E., Talcott, P. A. Elsevier/Saunders. St. Louis. s: 629-634.

Tominack, R., Weber, J., Blume, C., Madhok, M. (2002) Elemental mercury as an attractive nuisance: Multiple exposures from a pilfered school supply with severe consequences. *Pediatr Emerg Care*. 18: 97-100.

- Wang, S. S., Zheng, Z. G., Weng, Y. Q., Yu, Y. J., Zhang, D. F., Fan, W. H., Dai, R., Hu, Z. (2004). Angiogenesis and anti-angiogenesis activity of Chinese medicinal herbal extracts. *Life*. 74: 2467-2478.
- Wang, H. L., Cui, X. H., Yu, H. L., Wu, R., Xu, X., & Gao, J. P. (2017). Synergistic effects of polydatin and vitamin C in inhibiting cardiotoxicity induced by doxorubicin in rats. *Fundamental & clinical pharmacology*, 31(3), 280-291.
- WHO. (1999). Some Chemicals That Cause Tumours of the Kidney or Urinary Bladder in Rodents and Some Other Substances. 73: 329-338.
- Wiggers, G.A., Peçanha, F.M., Briones, A.M., Pérez-Girón, J.v., Miguel, M., Vassallo, D.v., Cachofeiro, V., Alonso, M.J., Salaices, M. (2008). Low mercury concentrations cause oxidative stress and endothelial dysfunction in conductance and resistance arteries. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 295(3): 1033-1043.
- Winterbourn, C.C., Hawkins, R.E., Brain, M., Carrell, R.W. (1975). The estimation of red cell superoxide activity. *J Lab Clin Med*. 55: 337-341.
- Xing, W. W., Wu, J. Z., Jia, M., Du, J., Zhang, H., Qin, L. P. (2009). Effects of polydatin from *Polygonum cuspidatum* on lipid profile in hyperlipidemic rabbits. *Biomed Pharmacother.*, 63: 457-462.
- Yalçın, E., Maraş, M., Çavuşoğlu, K. (2007). Kurşun ve civa ağır metal iyonlarının albino farelerde canlı ağırlık ve serum alkalin fosfatase düzeyi üzerine etkisi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1): 61-67.
- Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(2): 143-153.
- Young I.S., Woodside J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*; 54: 176-186
- Zengin, F.K., Munzuroğlu Ö., (2003). Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.) kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine kadmiyum (cd++) ve civa (hg++)'nın etkileri, *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 24(1): 64-75.
- Zhang, H., Yu, C. H., Jiang, Y. P., Peng, C., He, K., Tang, J. Y., & Xin, H. L. (2012). Protective effects of polydatin from *Polygonum cuspidatum* against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046574>
- Zhang, J., Lu, S., Wang, H., Zheng, Q. (2013). Protective role of *Aralia elata* polysaccharide on mercury(II)-induced cardiovascular oxidative injury in rats. *Int J Biol Macromol*, 59: 301-304.
- Zhang, Y., Li, S., Wang, W., Xu, C., Liang, S., Liu, M., Zhang, R. (2015). Beneficial effects of polydatin on learning and memory in rats with chronic ethanol exposure. *Int J Clin Experim Pathol*, 8(9): 11116.
- Zahir, F., Rizwi, S.J., Haq, S.K., Khan, R.H. (2005). Low dose mercury toxicity and human health. *Environ Toxicol Pharmacol*, 20(2): 351-360.

Zhou, C.S., Xiang, H.Y., Xiao, J.B., Lei, Q.F. (2005). Quantitative determination of resveratrol and piceidin Polygonum cuspidatum Sieb. et Zucc. by HPLC. *Chin J Pharm Anal.* 25: 534–536.

