

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KURŞUNA MARUZ KALAN RAT DOKULARINDA GERANIOL'ÜN
ETKİLERİ**

SEMRA YOLOĞLU

KİMYA ANABİLİM DALI

2017

**T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURŞUNA MARUZ KALAN RAT DOKULARINDA GERANİOL'ÜN
ETKİLERİ**

Semra YOLOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Bu tez 24/05/2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Yrd.Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA
BAŞKAN (DANIŞMAN)**

**Prof. Dr. Ahmet Orhan GÖRGÜLÜ
ÜYE**

**Yrd. Doç. Dr. Miraç UÇKUN
ÜYE**

**Prof. Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdür V.**

**Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No:FEFYL/2015-0005**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KURŞUNA MARUZ KALAN RAT DOKULARINDA GERANIOL'ÜN ETKİLERİ

Semra YOLOĞLU

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Yıl: 2017, Sayfa sayısı: viii + 24

Jüri : Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Prof. Dr. Ahmet Orhan GÖRGÜLÜ
Yrd. Doç. Dr. Miraç UÇKUN

Bu çalışmada sıçanlarda kurşun asetat ile oluşturulan oksidatif strese karşı geraniolün koruyucu etkisini araştırmak amaçlandı. Çalışma için, kontrol grubu (K), kurşun asetat (KA) grubu, geraniol (G) grubu ve kurşun asetat + geraniol (KA+G) grubu olmak üzere dört farklı grup oluşturuldu. Sıçanların karaciğerinde MDA, redükte GSH ve çeşitli minerallerin düzeyleri ile AChE, GST, CAE aktiviteleri belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre KA uygulama grubunda malondialdehit (MDA) düzeyi K grubuna göre önemli düzeyde artarken ($p<0.001$), geraniolün etkisiyle KA+G grubunda MDA düzeyi KA grubuna göre önemli düzeyde azaldı ($p<0.01$). KA grubunda redükte GSH düzeyinde K grubuna göre nisbi bir azalma gözlenmesine rağmen, bütün uygulama gruplarının redükte GSH düzeylerinde K grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmedi. AChE, GST ve CAE enzim aktivitelerinin ise KA grubunda, K grubuna göre önemli düzeyde azaldığı belirlendi ($p<0.01$; $p<0.001$). Ayrıca, kurşun düzeyinin KA grubunda K grubuna göre önemli düzeyde arttığı, KA+G grubunda ise KA grubuna göre önemli düzeyde azaldığı belirlendi ($p<0.001$). Sonuç olarak, kurşun asetat ile oluşturulan oksidatif strese karşı geraniol'ün antioksidan olarak olumlu bir etki gösterdiği ve seçilen biyokimyasal belirteçlerin de bu tür çalışmalar için kullanışlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kurşun, geraniol, enzim, element, sıçan, karaciğer

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECTS OF GERANIOL TO RAT TISSUES INDUCED LEAD

Semra YOLOĞLU

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Year: 2017, Number of pages: viii + 24

Jury : Asst. Prof. Dr. Ahmet ÖZKAYA
Prof. Dr. Ahmet Orhan GÖRGÜLÜ
Asst. Prof. Dr. Miraç UÇKUN

In this study, it was aimed to investigate the protective effect of geraniol against oxidative stress produced by lead acetate in rats. For the study, four different groups as control group (C), lead acetate (LA) group, geraniol (G) group and lead acetate + geraniol (LA + G) group were formed. MDA, reduced GSH and various minerals levels and AChE, GST, CAE activities were determined in the liver of rats. According to the results, MDA level was significantly increased in LA group compared with C group ($p < 0.001$) whereas MDA level was significantly decreased in LA+G group compared with LA group due to effect of geraniol ($p < 0.01$). There was no statistically significant difference in the reduced-GSH levels of all treatment groups compared to the C group, although a relative decrease in the GSH level of the LA group compared to the C group was observed. AChE, GST and CAE enzyme activities were significantly decreased in the LA group compared to the C group ($p < 0.01$; $p < 0.001$). It was also determined that the lead level was significantly increased in the LA group compared to the C group and significantly decreased in the LA + G group compared to the LA group ($p < 0.001$). As a result, it has been concluded that geraniol as an antioxidant against oxidative stress induced by lead acetate has a positive effect and selected biochemical markers are useful for such studies.

Key Words: Lead, geraniol, enzyme, element, rat, liver

TEŐEKKÖR

Yüksek Lisans eğitimin boyunca desteklerini esirgemeyen Adıyaman Üniversitesi kimya bölümü hocalarıma ve danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA' ya teşekkür ederim. Tez çalışmamın finansmanını sağlayan Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Semra YOLOĞLU

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kurşun.....	2
2.2. Geraniol.....	2
2.3. Biyokimyasal Belirteçler	3
2.3.1. Enzimler.....	3
2.3.2. Malondialdehit (MDA).....	5
2.3.3. Glutasyon (GSH, γ -L-glutamil-L-sistein-glisin).....	5
2.4. Mineraller	6
2.5. Çalışmanın Amacı	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	7
3.2. Kimyasal Maddeler	7
3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar.....	7
3.4. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	8
3.5. Homojenizasyon ve Santrifüj İşlemleri.....	8
3.6. Glutasyon S-transferaz Aktivitesi.....	8
3.7. Glutasyon Redüktaz Aktivitesi	9
3.8. Karboksilesteraz Aktivitesi	9

3.9. Asetilkolinesteraz Aktivitesi	9
3.10. Malondialdehit Tayini	10
3.11. Redükte Glutasyon Tayini	10
3.12. Toplam Protein Miktarı Tayini.....	10
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	11
5. BULGULAR	12
6. TARTIŞMA	14
KAYNAKLAR	18
ÖZGEÇMİŞ	24

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 5.1. Karaciğer dokusundaki çeşitli biyokimyasal parametreler	12
Çizelge 5.2. Karaciğer dokusu element düzeyleri.....	13

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. GSH-GSSG Döngüsü	4
Şekil 2.2. Glutatyonun açık formülü	5

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTI	:	Asetilthiokolın iyodid
CAT	:	Katalaz
CDNB	:	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
DTNB	:	5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoik asit
GPx	:	Glutatyon Peroksidaz
GR	:	Glutatyon Redüktaz
GSH	:	Redükte Glutatyon
GST	:	Glutatyon S-transferaz
H ₂ O ₂	:	Hidrojen Peroksit
MDA	:	Malondialdehit
PNPA	:	p-nitrofenil asetat
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	:	Süperoksit Dismutaz

1. GİRİŞ

Kurşun endüstride yaygın olarak kullanılan bir metaldir. Çevresel toksin olarak da bilinen kurşun bileşiklerinin canlılar üzerinde birçok zararlı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Kurşun oksidatif hasara neden olduğundan dolayı membran lipitlerinin ve proteinlerinin yapısını bozmaktadır. Ayrıca hücrenin enerji metabolizmasındaki çeşitli biyokimyasal olaylar üzerine de olumsuz etkileri vardır (Ahamed ve Siddiqui 2007, Amudha ve Pari 2011, Aykin-Burns ve vd. 2003, Benlhabib ve vd. 2004).

Antioksidant etkisi olan biyokimyasal moleküller serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresi azaltmaktadır (Marcello ve vd. 1993). Geraniol (3,7-dimetil-2,6 oktodien-1-ol) özellikle limon ve gül bitkilerinin yapısında bulunan monoterpen türevli bir maddedir. Geraniolün antioksidant, antiinflamatuvar, antikanser ve antiatherojenik etkileri vardır (Ibrahim ve vd. 2015).

Bu tez çalışmasında kurşun asetat ile oksidatif stres oluşturulan ratların karaciğer dokularında geraniolün biyokimyasal parametreler üzerine koruyucu etkisi araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kurşun

Metaller insanları ve yabanıl hayatı tehdit eden en önemli çevresel kirleticilerden biridir (Senbel ve vd. 2016). Endüstriyel faaliyetlerin artışı ile birlikte metaller, organik hidrokarbonlar ve pestisitler gibi toksik ajanların çevredeki miktarları da artmıştır (Gascon ve vd. 2013). Metaller çok düşük konsantrasyonlarda dahi insanlar, hayvanlar ve bitkilerde olumsuz etkilere veya ölüme neden olabilirler (Jarup 2003). Metal toksisitesi oksidatif strese, sinir sistemi fonksiyonlarında bozulmaya, glukoz ve kalsiyum metabolizmasında değişimlere neden olur (Shinkai ve Kaji 2012). Bunun yanı sıra metaller kan, böbrek, karaciğer, üreme sistemi elemanları gibi birçok farklı organ yada doku üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir (Caserta ve vd. 2013).

Kurşun çevrede doğal olarak bulunan ve günlük hayatta yaygın olarak karşılaştığımız toksik bir elementtir. Kurşun periyodik tablonun IVA grubunda “Pb” sembolü ile belirtilen atom numarası 82, atom ağırlığı 207.2 g/mol olan bir elementtir (ANONİM 2017, ATSDR 2007). Kurşun günümüzde hem antropojenik hem de doğal kaynaklardan devamlı olarak çevreye giren önemli bir kirleticidir. Her yıl büyük miktarlarda çevreye girmekte ve canlılar için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Aynı zamanda kurşun, çevremizde ve birçok üründe yıllardır kullanılan toksik bir metal olup davranışsal problemler, felç ve ölüm gibi birçok sağlık sorununa neden olabilmektedir (USEPA 2017).

2.2. Geraniol

Geraniol (GE) zencefil, limon, limon otu, kişniş, hindistancevizi, lavanta gibi çeşitli baharatların ve aromatik bitkilerin esansiyel yağlarında bulunan asiklik bir monoterpendir. GE, çeşitli temizlik ürünlerinde, parfümlerde ve kozmetik ürünlerinde yaygın bir şekilde kullanılır. Ayrıca, tatlandırıcı olarak birçok yiyecek ve içecek de kullanılır. GE, antioksidant, anti-inflamatuar, antiapoptotik ve antikarsinojenik özelliklere sahiptir. Sıçanlardaki son çalışmalar, oral gıda takviyesi olarak verilen geraniolün demir nitritotriasetat ile indüklenen renal oksidatif stresi, tümör oluşumunu

ve hepatokarsinogenezisi etkili bir şekilde baskıladığını göstermiştir (Prasad 2014, Jayachandran ve vd. 2015).

2.3. Biyokimyasal Belirteçler

2.3.1. Enzimler

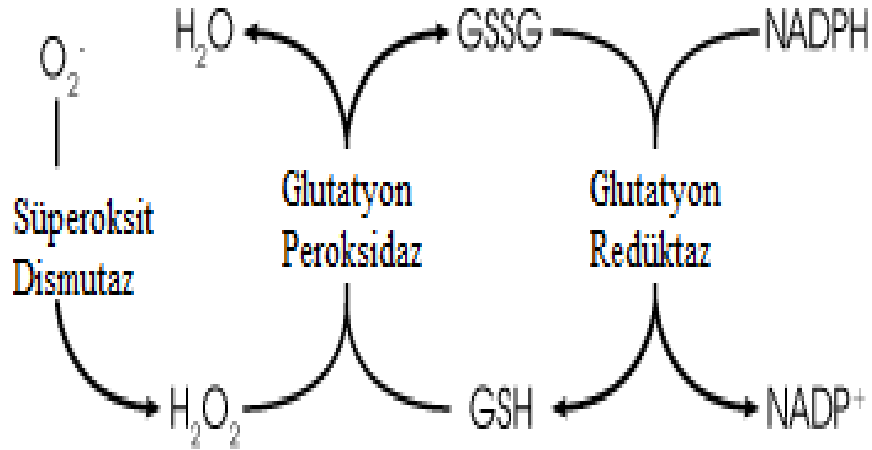
Asetilkolinesteraz (AChE) (E.C. 3.1.1.7), asetilkolin bağımlı nörotransmisyonunda önemli bir rol oynayan özgül bir esterazdır ve nöral transmisyonu sonlandırmadaki önemli fizyolojik fonksiyonları nedeniyle AChE çeşitli kolinerjik toksinler için bir hedefdir (Bukowska ve Hutnik 2006). Asetilkolin merkezi sinir sisteminde, birkaç rolü olan klasik bir nörotransmitterdir. Asetilkolin serbest kaldıktan sonra, tip B karboksilesterazlar ailesine dahil olan ve asetilkolini, kolin ve asetik asite hidrolizleyen asetilkolinesteraz tarafından sinaptik boşluktan hızlı bir şekilde uzaklaştırılır. Tam olarak bazı dokulardaki AChE'nin fizyolojik fonksiyonları açıklığa kavuşturulmamış olsa da, memeli eritrositlerinde ve diğer organlarda da bulunabilirler (Bukowska ve Hutnik 2006, Senger ve vd. 2006).

Glutatyon-S-Transferaz (GST) (E.C. 2.5.1.18), tripeptid glutatyonun tiyol grubu ile reaktif bir elektrofilik merkeze sahip organik moleküllerin konjugasyonunu katalizleyen sitozolik bir enzim grubudur. Faz II enzimidir ve organizmalarda detoksifikasyon sisteminin önemli bir parçasıdır. Reaktif oksijen metabolizmasına karşı hücrelerin korunmasından sorumludur. Çoğu ksenobiyotiğin toksisitesi GST indüksiyonu ile belirlenebilir. GST'nin, prostaglandinlerin ve lökotrienlerin biyosentezi ve hücre içi taşımadaki önemli fonksiyonlarının dışında, oksidatif zarara, DNA'nın ve lipidlerin peroksidatif ürünlerine karşı savunmada da kritik bir rolü vardır (Van der Oost 2003).

Karboksilesteraz (CaE) (E.C. 3. 1. 1. 1), esterlerin, amidlerin ve tioesterlerin hidrolizini katalizleyen esterazların serin hidrolazlar süper ailesinin üyesidirler (Ross ve vd. 2006). CaE'lar, esterleri benzer karboksilik asit ve hidroksillenmiş ürünlere dönüştürebilme kapasitesine sahip enzimlerin büyük bir grubudur. Memeli karboksilesterazları, birçok dokuda hücrenin endoplazmik retikulumunda lokalize olmuşlardır. Hayvanların çeşitli dokuları arasında, en yüksek substrat hidroliz aktivitesi

tipik olarak karaciğerde bulunmuştur. Fakat testis, böbrek ve plazma gibi bazı dokularda da aktivite gözlenmiştir. Önemli miktardaki ilaçlar CaE tarafından metabolize edildiği için, bu enzimlerin her bir dokuda değişen aktiviteleri klinik açıdan da önemlidir (Ross ve vd. 2006, Satoh 2005).

Glutatyon redüktaz (GR) (E.C. 1.6.4.2), hücrede okside glutatyonu (GSSG) redükte glutatyona (GSH), NADPH'a bağımlı olarak katalizleyen bir flavoproteindir (Ermler ve vd. 1991). GSH, çevredeki oksidan moleküllerin etkisini kendi üzerine çekerek hücrenin fonksiyonel proteinlerinin oksidasyonunu engellemektedir. Aynı zamanda oksijen radikallerinin biyolojik moleküllere saldırması sonucunda meydana gelen peroksitleri ortadan kaldırmak için bazı peroksidaz enzimler tarafından da kofaktör olarak kullanılmaktadır. GR, oksidasyon/ redüksiyon tepkimelerinde önemli bir redüktant role sahip olan GSH'nin hücre içi düzeyi azalınca aktive olmakta ve organizmadaki sınırlı olan GSH deposunu tamamlanmaktadır (Şekil 2.1) (Yan ve vd. 1997). Organizmalarda GR aktivitesinin saptanmasının oksidatif stresin iyi bir belirteci olabileceği düşünülmektedir, ancak bu enzim süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzimleri gibi antioksidan savunma sisteminde doğrudan yer almaz (Machala ve vd. 1998, Peixoto ve vd. 2006).



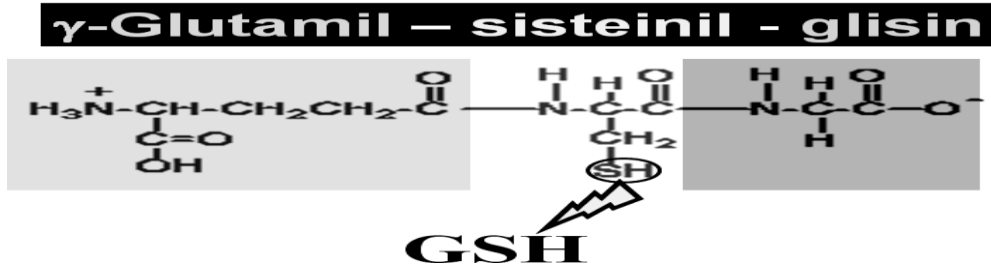
Şekil 2.1. GSH-GSSG Döngüsü

2.3.2. Malondialdehit (MDA)

MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan büyük zincir dağılımı reaksiyonu ürünüdür olup bu sayede oksidatif stresin güvenilir bir göstergesi olarak görev yapar (Ceylan ve vd. 2010).

2.3.3. Glutasyon (GSH, γ -L-glutamil-L-sistein-glisin)

Glutasyon, glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan tripeptittir (Şekil 2.2). Yapısındaki sisteinin tiyol grubu GSH'a antioksidan özelliğini vermektedir. Redükte glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG veya glutasyon disülfid) olmak üzere iki formu bulunan GSH, reaktif oksijen türlerine (ROT), ksenobiyotik zarara karşı, hücrel savunmada ve ilaçların detoksifikasyonunda önemli bir rol oynayan genellikle hücre içi bir antioksidandır (De Quiroga 1991).



Şekil 2.2. Glutasyonun açık formülü

Sahip olduğu sülfidril (-SH) grubundan dolayı kolay elektron verme kapasitesine sahip olan glutasyon, H₂O₂'nin ve lipit peroksitlerinin temizlenmesinde görev yapan GPx ve GST enzimlerine elektron sağlayan bir kofaktör olarak görev yapmaktadır. Böylece reaktif oksijen türlerin detoksifikasyonuna alternatif bir yol olmuştur (Griffith 1999). GSH, E ve C vitamini gibi antioksidanlar ve diğer serbest radikal süpürücülerinin çalışmasını da önemli oranda desteklemektedir (Scott 1991).

2.4. Mineraller

Mineral; hayvan metabolizmasının işlevselliği yönünden çok önemlidir. Eksikliği ve fazlalığı metabolizmada çok ciddi hastalıklara neden olduğu bilinmektedir. Mineraller yapısal olarak ve vitaminler gibi metabolizmada önemli rolleri vardır. Metabolik rolleri; mineral türüne göre değişmekle beraber bazı maddelerle bileşik yaparak organik yapılar oluştururlar ve genel olarak aktivatör, düzenleyici, transmitter olarak işlev görürler. Vücutta asit-baz dengesini, osmotik basıncı, membran geçişini sağlarlar. Sinir ve kas sisteminin işlevleri için gereklidirler (Aksoy 2008).

2.5. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada kurşun asetat verilen Wistar *albino* cinsi erkek sıçanların karaciğer dokularında oluşturulan oksidatif stresin neden olduğu zararların azaltılması amacıyla monoterpen türevli maddelerden geraniol'ün etkileri araştırıldı. Oksidatif stres sonucu oluşan olumsuz etiklerin belirlenmesi için GST, AChE ile GR enzim aktivitelerindeki değişimler, dokudaki kurşun, MDA ve GSH seviyelerindeki değişimler araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Deneyisel süreçte Wistar *albino* cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneyisel Araştırma Merkezi (FÜTDAM)' nden temin edilerek uygulamaları yapıldı. Deneyisel süreçten önce etik kurul kararı FÜTDAM'dan 04.11.2015/181 karar numarası ile alındı. Deney hayvanları etik kurul gereği beslenme şartlarında barındırılarak deneyisel uygulamalara başlandı. Deneyde her grupta 7 sıçan olacak şekilde dört grup oluşturuldu. Sıçanların ortalama ağırlığı 240 gr (240 ±40 gr) dır. Oluşturulan gruplar; Kontrol grubu (K), Geraniol grubu (G), Kurşun asetat grubu (KA) ve Kurşun asetat + Geraniol grubu (KA+G) olarak sınıflandırıldı. Orogastrik yöntemle geraniol 50 mg/kg dozda mısır özü yağında hazırlanarak sıçanlara verildi (Vieria ve vd. 2011). Geraniol uygulaması gün aşırı yapıldı. Kurşun asetat ise 500 ppm konsantrasyonunda içme suyunda hazırlandı (Bennet ve vd. 2007). Deneyisel süreç 30 gün sürdü. Süreç sonunda sıçanlar rompun/ketamin kombinasyonu ile anestezi altına alındı ve dekapitasyonu yapıldıktan sonra karaciğer dokuları alındı. Dokular derin dondurucuda -50°C de muhafaza edildi.

3.2. Kimyasal Maddeler

Fizyolojik su, sülfirik asit, potasyum bikarbonat, etil alkol, izopropil alkol, n-hekzan, metanol, sodyum klorür, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoik asit (DTNB), p-nitrofenil asetat (PNPA), asetilthiokolin iyodid (ACTI), redükte glutatyon (GSH), bovine serum albumin (BSA) ve Bradford ayırıcı.

3.3. Kullanılan Yardımcı Aletler ve Cihazlar

Homojenizatör, santrifüj, mikrolaka okuyuculu spektrofotometre, gaz kromatografisi (GC), İnduktiflenmiş plazma atomik emisyon spektrofotometre (ICP-OES), vorteks, otomatik pipetler, derin dondurucu (-50°C), deney tüpleri ve su banyosu.

3.4. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Bütün enzim aktivitesi ve toplam protein miktarı ölçüm işlemleri, dokuların homojenizasyonu ve santrifüj işleminden hemen sonra, örnekler bekletilmeksizin mikropilaka okuyucu sistem (Thermo™ Varioskan Flash) kullanılarak yapıldı. Enzim aktivitesi ve toplam protein miktarı ölçümlerinde, her bir örnek için üç tekrarlı absorbans okuması yapıldı. Aynı örnek için elde edilen değerler arasında % 10'dan daha büyük korelasyon farkı bulunduğunda, okuma işlemi yinelenildi. Bütün enzimlerin aktiviteleri, örneklerdeki toplam protein düzeyleri ölçüldükten sonra spesifik aktivite (nmol/dk/mg protein) olarak ifade edildi.

3.5. Homojenizasyon ve Santrifüj İşlemleri

Homojenizasyon toplam doku ağırlığının 4 katı hacminde (w/v) soğutulmuş homojenizasyon tamponu (0.1 M, pH 7.4 potasyum fosfat tamponu içinde; 0.15 M KCl, 1 mM EDTA, 1 mM DTT) içinde yapıldı. Dokular politrone homojenizatör kullanılarak, 2000 rpm'de 30 saniye süreyle parçalandı. Homojenizasyon sonrası homojenatlar ependorf tüplerine aktarıldı. Homojenat 16,000 $\times g$ devirde 4°C'de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı alınarak sitozolik enzim aktiviteleri ölçüldü. Çalışmaların tüm aşamalarında örnekler buz içerisinde korundu.

3.6. Glutatyon S-transferaz Aktivitesi

GST aktivitesi Habig ve arkadaşları (1974) tarafından kullanılan yöntem, mikropilaka okuyucu sisteme uyarlanarak spektrofotometrik olarak belirlendi. Reaksiyonda %96'lık etanol içinde hazırlanan 20 mM 1-kloro-2,4- dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak, redükte glutatyon ise kofaktör olarak kullanıldı. On μL süpernatant, 0.1 M, pH 6.5 100 μL fosfat tamponu ve 0.002 M 100 μL GSH karışımı, 10 μL CDNB mikropilaka kuyucuklarına sırası ile pipetlendi. Pipetleme işleminin hemen ardından karışım 15 sn karıştırıldı ve 2 dakika süre ile 25 °C'de 344 nm'de absorbans değişimi kaydedildi.

3.7. Glutasyon Redüktaz Aktivitesi

GR aktivitesi tayini Cribb vd. (1989) tarafından kullanılan mikropilaka sistemi ile ölçüm yöntemine göre yapıldı. Reaksiyon karışımı 0.1 mM, 150 µl 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB), 1.2 mM, 20 µl NADPH ve 20 µl örnek içermektedir. Yirmi µl, 3.25 mM GSSG'nin ilavesi ile reaksiyon başlatıldı. Bütün çözeltiler, 1 mM EDTA içeren, 0.1 M potasyum fosfat tamponunda (pH 7.5) hazırlandı. Reaksiyon ilerledikçe GSSG'den GSH oluşumu nedeniyle azalan DTNB miktarı oda sıcaklığında 3 dakika süre ile 405 nm'de izlendi.

3.8. Karboksilesteraz Aktivitesi

CaE aktivitesi önerilen spektrofotometrik yöntem mikropilaka okuyucu sisteme uyarlandı ve 2 dakika süreyle 405 nm'de absorbans okuması yapıldı (Nousiainen ve Törrönen 1984, Santhoshkumar ve Shivanandappa 1999). Substrat olarak, 26 mM %96'lık etanol içinde hazırlanan *p*-nitrofenol asetat (PNPA) kullanıldı. Reaksiyon solüsyonu, 5 µL örnek ve 250 µL, 0.05 M trizma pH 7.4 tamponu içermektedir. Reaksiyon karışımı 3 dakika 25°C'de ön inkübasyona bırakıldı. Son olarak, son konsantrasyon 0.5 mM olacak şekilde 5 µL PNPA ilave edildikten sonra absorbans değişimi kaydedildi.

3.9. Asetilkolinesteraz Aktivitesi

AChE aktivitesi tayini için Ellman vd. (1961) tarafından kullanılan spektrofotometrik yöntemin, Özmen vd. (1998) tarafından modifiye edilmiş ve mikropilaka okuyucu sistemine uyarlanmış şekli kullanıldı. Enzim aktivitesi ölçümünde asetilkolin iodid (ACTI) substrat olarak kullanıldı ve renk değişimine bağlı olarak ürün oluşumu saptandı. 10 µl süpernatant mikropilaka kuyucuklarına pipetlendi. Süpernatantın üzerine son reaksiyon karışımında 0.701 mM ACTI ve 0.136 mM DTNB olacak şekilde, 0.1 M trizma pH 8.0 tamponu içerisinde hazırlanmış karışımdan 200 µl eklendi. Karışım mikropilaka okuyucuya yerleştirildikten sonra 10 saniye çalkalandı. 25°C'de 1 dakika süre ile 412 nm dalga boyunda absorbans değişimi kaydedildi.

3.10. Malondialdehit Tayini

Lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyi metabolizmada önemli bir parametredir. MDA düzeyi Placer (1966) tarafından önerilen yöntemle göre mikrolaka okuyucu sisteme uyarlanarak belirlendi. Yöntemde reaktif olarak 0,25 N HCl içerisinde %0,375 thiobarbiturik asit ve %15 trikloroasetik asit kullanıldı. Örneklerin 532 nm'de absorbans okuması yapıldı. MDA miktarı nmol/gr doku olarak belirtildi.

3.11. Redükte Glutasyon Tayini

Redükte glutasyon miktarı Moron ve vd. (1979) tarafından geliştirilen yöntemle göre, mikrolaka okuyucu sisteme uyarlanarak ölçüldü. 5 µl süpernatant mikrolaka kuyucuklarına pipetlendi ve üzerine 120 µl 0.5 mM pH 6.8 DTNB çözeltisi eklendi. Reaksiyon karışımının 25°C'de renk değişimine bağlı olarak 412 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçüldü. GSH standart eğrisi kullanılarak elde edilen absorbans değerlerinden örneklerdeki GSH miktarları belirlendi. GSH miktarı nmol/gr doku olarak ifade edildi.

3.12. Toplam Protein Miktarı Tayini

Doku homojenatlarında toplam protein miktarları Bradford (1976) tarafından geliştirilen yöntemle göre, mikrolaka okuyucu sisteme uyarlanarak tespit edildi. Süpernatant örnekleri 1:4 oranında sulandırıldıktan sonra, bu örneklerden 5 µl mikrolaka kuyucuklarına pipetlendi ve üzerine 250 µl Bradford ayırıcı eklendi. Reaksiyon karışımı karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Renk değişimine bağlı olarak, 595 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçüldü.

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20,0 programı ile yapılmış olup gruplar arasındaki karşılaştırma için varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testi kullanılarak belirlendi.

5. BULGULAR

Çizelge 5.1. Karaciğer dokusundaki çeşitli biyokimyasal parametreler

Grup	MDA (nmol/gr doku)	GSH (nmol/gr doku)	AChE (nmol/dk/mg protein)	GST (nmol/dk/mg protein)	CAE (nmol/dk/mg protein)
K	57,17±3,00	4,16±0,49	90,57±6,15	246,00±10,29	6606,29±327,53
G	58,52±4,52 ^z	4,58±0,38	77,71±1,94	196,00±4,23 ^{c,y}	3085,86±174,51 ^{c,x}
KA	90,29±4,30 ^c	3,80±0,30	67,57±3,32 ^b	154,43±5,74 ^c	4095,29±179,46 ^c
KA+G	67,56±1,75 ^z	5,47±0,19 ^x	77,00±4,79	175,71±5,92 ^c	2941,71±250,76 ^{c,x}

Kontrol grubuna göre karşılaştırma a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001
Kurşun asetat grubuna göre karşılaştırma x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Karaciğer dokusundaki çeşitli biyokimyasal parametrelerdeki değişimler çizelge 5.1’de verilmiştir. Karaciğer dokusu MDA düzeyi incelendiğinde K grubuna göre KA grubunda önemli bir artış gözlemlendi (p<0.001). Geraniolün etkisiyle KA grubuna göre kombinasyonlu grupta (KA+G) MDA düzeyi azaldı (p<0.001). KA+G grubu GSH düzeyi KA grubuna göre artış tespit edildi (p<0.05). Kontrol grubuna göre AChE aktivitesinin KA grubunda azaldığı saptandı (p<0.01). Kontrol grubuna göre GST ve CAE aktivitelerinde önemli azalışlar belirlendi (p<0.001).

Çizelge 5.2. Karaciğer dokusu element düzeyleri

Element	K	G	KA	KA+G
Pb (ppb)	31,0±9,95	26,0±8,69	843,67±111,0 ^c	574,24±58,03 ^{cy}
Zn (ppb)	31125,2±1749,3	35706,1±1470,6 ^{ax}	30639,2±257,3	36138,8±410,8 ^{ax}
Mg (ppb)	280791,8±4717,3	273766,1±6699,3	278842,2±3666,1	293493,2±8447,3
Fe (ppb)	144388,5±9564,6	162068,7±4688,4	170731,1±6425,5 ^b	159305,1±14820,2
Cu (ppb)	3692,1±120,6	4062,5±150,4	3661,9±6,9	4099,2±131,2
Mn (ppb)	3014,2±191,7	3108,9±256,1	2951,2±125,9	2926,1±187,9
Ca (ppb)	56417,3±525,8	52402,5±2275,2	50682,8±2838,3	62768,7±334,8
Na (ppm)	687,9±20,7	661,5±36,1	709,8±51,1	806,7±52,9
K (ppm)	4305,7±67,5	4265,5±80,7	4095,9±63,1	4414,2±100,1

Kontrol grubuna göre karşılaştırma; a: p<0.05, b: p<0.01, c: p<0.001
Kurşun asetat grubuna göre karşılaştırma; x: p<0.05, y: p<0.01, z: p<0.001

Karaciğer dokusu element düzeyleri çizelge 5.2’de verilmiştir. Karaciğer dokusu element düzeyleri incelendiğinde, K grubu Pb düzeyine göre KA grubunda önemli artış gözlemlendi (p<0.001). Kombinasyonlu grubun Pb düzeyi KA grubuna göre azaldı (p<0.05). K grubuna göre G ve KA+G grubu Zn düzeyi artış gözlenirken (p<0.05), KA grubunda nispi azalış tespit edildi (p>0.05). K grubunun Fe düzeyine göre KA grubunda artış saptandı (p<0.01). Diğer elementlerin gruplar arasında istatistiksel farklar olmadığı gözlemlendi (p>0.05).

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada kurşun asetat ile oksidatif stres oluşturulmuş rat karaciğer dokularında, bir monoterpen olan geraniolün bazı biyokimyasal belirteçler üzerine etkileri araştırıldı.

Rat karaciğer dokusu MDA düzeyinde kontrol grubuna göre kurşun asetat grubunda istatistiksel olarak artış belirlendi. Bunun yanı sıra, geraniolün etkisiyle kurşun asetatın oluşturduğu yüksek MDA düzeyinde bir azalış gözlemlendi. Wang ve arkadaşları (2012) 8 hafta boyunca Sprague-Dawley ratlara 500 ppm düzeyinde kurşun asetat uygulamasından sonra karaciğer ve böbrek dokusu MDA düzeylerini incelemişlerdir. Araştırma sonuçları, MDA düzeyinin kontrol grubuna göre kurşun asetat grubunda önemli düzeyde arttığını ve kurşun asetatın neden olduğu yüksek lipit peroksidasyonunu antioksidant özellik gösteren flavonoid türevli naringenin maddesinin azalttığı göstermiştir. Benzer şekilde Özkaya ve vd. (2016) yaptıkları çalışmada ise 4 hafta süresince 500 ppm kurşun asetat uygulaması yapılan erkek Wistar albino ratların karaciğer MDA düzeyinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca, araştırmacılar kurşun asetatın karaciğerdeki toksik etkilerini histopatolojik olarak da değerlendirmiş ve kurşunun olumsuz etkilerini vurgulamışlardır. Yapılan birçok çalışmada kurşunun düşük, orta ve yüksek dozlarda karaciğer dokusunda ciddi hasarlara neden olduğu belirtilmiştir. Kurşunun karaciğerde oksidatif stresi arttırdığı ve bunun sonucunda da reaktif oksijen türlerinden olan hidroperoksitleri, singlet oksijeni, hidrojen peroksiti ve süperoksit radikallerini arttırdığı bildirilmiştir (Liu ve vd. 2011, 2012). Bunun sonucu olarak hücrede DNA, protein, lipit ve amino asitlerin ciddi anlamda hasar gördüğü rapor edilmiştir. 7,12-dimetil benz[a]antrosen (DMBA) kansorejen bir maddedir. DMBA uygulanmış farelerin plazma, elektrosit ve deri dokularındaki yüksek lipit peroksidasyon düzeyini geraniolün düşürdüğü tespit edilmiştir (Manoharon ve Selvan 2012). Kahn ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da 12-0-tetradekanolforbol-13-asetat (TPA) ile oksidatif stres oluşturulmuş farelerin deri dokusunda yüksek MDA düzeyini geraniolün azalttığını rapor etmişlerdir (Khan ve vd. 2013). Başka bir çalışmada hidrojen peroksit ile oksidatif stres oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokusunda yüksek MDA düzeyini geraniolün azalttığı bildirilmiştir (Özkaya ve vd. 2017).

Çalışmamızda, kontrol grubu GSH düzeyi ile diğer grupların GSH düzeyleri arasında istatistiksel fark bulunmamasına rağmen, kurşun asetat grubunda nisbi düzeyde azaldığı tespit edildi. Kontrol grubuna göre G ve KA+G gruplarında ise nisbi artışlar gözlemlendi. Geraniol'ün antioksidan etkisiyle G ve KA+G gruplarında GSH düzeyinin arttığını düşünmekteyiz. Kurşunun GSH'nun yapısında bulunan -SH grubuna bağlanarak GSH düzeyini azalttığı bilinmektedir. Liu ve ark., yaptıkları çalışmada, kurşuna maruz bırakılmış sıçan karaciğer dokusunda GSH düzeyini önemli oranda azalttığını, antioksidan olarak kullanılan naringenin ise GSH düzeyini önemli oranda yükselttiğini bildirmişlerdir (Liu ve vd. 2011).

Wang ve vd. (2012) kurşun maruziyetine bırakılmış rat karaciğer ve böbrek dokularında GSH düzeyinin kontrol grubuna göre azaldığını ve antioksidant olarak kullanılan naringenin GSH düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir. Özkaya ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada kurşuna maruz bırakılan ratların karaciğer dokusunda GSH düzeyinin önemli düzeyde azaldığını rapor etmişlerdir. Özkaya ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise H₂O₂ ile oksidatif stres oluşturulmuş ratların karaciğer dokularında GSH düzeyinin önemli düzeyde azaldığını, antioksidant olarak kullanılan geraniolün etkisiyle GSH düzeyinin arttığını bildirmişlerdir.

Monoharon ve vd. (2012) yaptıkları çalışmada DMBA ile deri kanseri oluşturulmuş farelerin karaciğer, deri ve elektrositlerinde kontrol grubuna göre DMBA grubunda GSH düzeyinin önemli düzeyde azaldığını bildirirken geraniolün etkisiyle azalan GSH düzeyinin tekrar arttığını rapor etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada SOD, CAD ve GPx enzim aktivitelerini azaltan DMBA ya karşı geraniolün arttırdığını da bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada Khan ve vd. (2013), TPA ile oksidatif stres oluşturulmuş farelerin deri dokusunda SOD, CAD, GPx, GR, G6PD enzim aktivitelerindeki azalmayı geraniolün düzeltici yönde artırdığı belirtilmiştir.

Yaptığımız çalışmada AChE, GST ve CAE enzim aktivitelerinin kurşun asetat grubunda istatistiksel olarak azaldığı belirlenmiştir. Buna karşın geraniolün etkisiyle AChE ve GST enzim aktivitelerinde kurşun grubuna göre KA+G grubunda nisbi artışlar gözlenmiştir. GSH antioksidant sistemi reaktif serbest radikallere ve diğer oksidan türlere karşı hücrel savunmada önemli bir rol oynar. Bu sistem GSH ve onunla işlevsel olarak ilişkili olan, hidrojen peroksit ve diğer organik hidroperoksitlerin ayrışmasında GSH ile birlikte çalışan GPx, GST, GCL ve GR enzimlerinden oluşur

(McConnachie ve vd. 2007, Chen et al.,2009). Liu ve arkadaşları (2011) tarafından yapılan bir çalışmada kurşun uygulanan sıçan karaciğerlerinde GPx, GST ve GR aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir. Enzim aktivitelerinde ki bu azalışların, ROS ve TBARS düzeyindeki bir artışın yansıması olarak hepatik dokudaki oksidatif stress ve kurşun ile indüklenen hepatotoksisite arasındaki ilişkiyi desteklediğini belirtmişlerdir. Ancak, kurşun tarafından indüklenen hücre içi GPx, GST ve GR aktivitelerindeki azalmanın, kurşun ile birlikte puerarin uygulaması ile bastırıldığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda kurşun asetat verilen ratların karaciğer dokusu kurşun düzeylerinde önemli oranda artışlar gözlemlendi. Geraniol'ün etkisiyle kombinasyonlu grupta kurşun düzeyinde azalma tespit edildi. Kurşun metabolizmada gerek kan gerekse dokularda birikerek toksik etkiye neden olmaktadır (Moniuszko-Jakoniuk ve vd.2003). Geraniol'ün birçok pozitif etkileri vardır. Bu etkileri ile oksidatif stresi, tümör oluşumunu ve hepatokarsinogenezisi etkili bir şekilde baskıladığını göstermiştir (Prasad 2014, Jayachandran ve vd. 2015). Ayrıca DMBA, TPA ve H₂O₂ ile oksidatif stres oluşturulan hayvan dokularında geraniolün antioksidan etki göstererek yüksek lipid peroksidatif etkiyi azalttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda antioksidan enzim parametrelerinde geraniol'ün pozitif etki gösterdiği bildirilmiştir (Monoharon ve vd. 2012, Khan ve vd. 2013, Özkaya ve vd. 2016). Kurşun asetat verilerek oksidatif stres oluşturulan rat karaciğer dokularında antioksidan özellik gösteren naringenin kurşun düzeyini önemli oranda azalttığı rapor edilmiştir (Özkaya ve vd. 2016). Birçok çalışmada benzer şekilde kurşun asetata maruz bırakılmış hayvanların kan, böbrek ve beyin dokularında Pb düzeyinin anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir (Xia ve vd. 2010, Mehana ve vd. 2012). Pb düzeyinin çeşitli dokularda antioksidant özellikli maddeler tarafından azaltılması bu maddelerin şelat bağlama özelliğinden dolayı olduğu rapor edilmiştir (Amudha ve Pari 2011, Pari ve Amudha 2011). Yapılan bir çalışmada geraniolün antioksidant, antikanser, antinflamatuar ve antiatherojenik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (İbrahim ve vd. 2015). Çalışmamızda da geraniolün Pb düzeyini azaltmasını bu maddenin antioksidant özelliğinden dolayı olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca, literatür de geraniolün kurşun gibi toksik maddeler üzerine etkisinin incelendiği çok fazla araştırmanın olmamasının çalışmamızın önemini artırdığını geraniol'ün kurşun düzeyini azaltarak pozitif etki gösterdiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda çinko düzeyinde geraniol ve kombinasyonlu grupta anlamlı değişimler gözlemlendi. Çinko karaciğer fonksiyonları için gerekli bir mineraldir ve eksikliğinde birçok patojenik duruma neden olur (Stamoulis ve vd. 2007). Yaptığımız çalışmada Zn düzeyinde kurşun asetat uygulanan grupta nisbi bir azalış olurken geraniol verilen grupta anlamlı artış gözlemlendi. Bu durumu geraniol'ün antioksidan etkisinin bir sonucu olduğunu söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada kurşun asetat ile oksidatif stres oluşturulan rat karaciğer dokularında geraniolün yüksek lipit peroksidasyon düzeyini ve kurşun düzeyini azalttığı, GSH düzeyini ise arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca karışım uygulanan grupta GST ve AChE enzim aktiviteleri üzerine geraniolün antogonistik etki gösterdiği sonucunu çıkarabiliriz. Sonuçlarımıza göre seçilen biyokimyasal belirteçlerden özellikle GST, AChE, MDA ve GSH'ın bu amaçla kullanışlı biyokimyasal belirteçler olduğunu ve çalışmamızın geraniolün toksik maddeler üzerine etkisi ile ilgili yapılacak olan çalışmalara önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Agency of Toxic Substances and Drug Registry (ATSDR), (2007). Toxicological profile for lead.
- Ahamed, M., Siddiqui, M.K.J., (2007). Low levels lead exposure and oxidative stress: current opinions, *Clin. Chim. Acta*, 383: 57–64.
- Aksoy, M., (2008). *Beslenme Biyokimyası*, Hatipoğlu Yayınevi, 2. Baskı, Ankara,
- Amudha, K., Pari, L., (2011). Beneficial role of naringin, a flavanoid on nickel induced nephrotoxicity in rats, *Chem. Biol. Interact.*, 193: 57–64.
- ANONİM 2017, <http://www.webelements.com/lead/>, Erişim tarihi: 20.05.2017
- Aykin-Burns, N., Laegeler, A., Kellogg, G., Ercal, N., (2003). Oxidative effects of lead in young and adult Fisher 344 rats, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 44: 417–420.
- Benlhabib, E., Baker, J.I., Keyler, D.E., Singh, A.K., (2004). Effects of purified puerarin on voluntary alcohol intake and alcohol withdrawal symptoms in P rats receiving free access to water and alcohol, *J. Med. Food*, 7: 180–186.
- Bennet, C., Bettaiya, R., Rajanna, S., Baker, L., Yallapragada, P. R., Brice, J. J., White, S.L., Bokara, K. K., (2007). Region specific increase in the antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in the brain of rats exposed to lead, *Free radical research*, 41(3): 267-273.
- Bradford, M. M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Bukowska, B., Hutnik, K., (2006). 2, 4-D and MCPA and their derivatives: effect on the activity of membrane erythrocytes acetylcholinesterase (in vitro), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85(3): 174-180.
- Caserta, D., Graziano, A., Lo Monte, G., Bordi, G., Moscarini, M., (2013). Heavy metals and placental fetal-maternal barrier: a mini-review on the major concerns, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 17: 2198–2206.
- Ceylan, M., Sener, S., Bayraktar, A.C., Kavutcu, M., (2010). Oxidative imbalance in child and adolescent patients with attention-deficit/hyperactivity disorder, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 34:1491-1494.

- Chen, Y., Ji, L., Wang, H., Wang, Z., (2009). Intracellular glutathione plays important roles in pyrrolizidine alkaloids-induced growth inhibition on hepatocytes, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 28: 357–362.
- Cribb, A. E., Leeder, J. S., Spielberg, S. P., (1989). Use of a microplate reader in an assay of glutathione reductase using 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), *Analytical biochemistry*, 183(1): 195-196.
- De Quiroga, G. B., Lopez-Torres, M., Pérez-Campo, R., Abelenda, M., Nava, M. P., Puerta, M. L., (1991). Effect of cold acclimation on GSH, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in brown adipose tissue, *Biochemical Journal*, 277(1): 289-292.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., Featherstone, R. M., (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical pharmacology*, 7(2): 88IN191-9095.
- Ermler, U., Ghisla, S., Massey, V., Schulz, G. E., (1991). Structural, spectroscopic and catalytic activity studies on glutathione reductase reconstituted with FAD analogues, *European journal of biochemistry*, 199(1): 133-138.
- Gascon, M., Morales, E., Sunyer, J., Vrijheid, M., (2013). Effects of persistent organic pollutants on the developing respiratory and immune systems: a systematic review, *Environ. Int.* 52: 51–65.
- Griffith, O. W., (1999). Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis, *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9): 922-935.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B., (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *Journal of biological Chemistry*, 249(22): 7130-7139.
- Ibrahim, S. M., El-Denshary, E. S., Abdallah, D. M., (2015). Geraniol, alone and in combination with pioglitazone, ameliorates fructose-induced metabolic syndrome in rats via the modulation of both inflammatory and oxidative stress status, *PloS one*, 10(2): e0117516.
- Jarup, L., (2003). Hazards of heavy metal contamination, *Br. Med. Bull.*, 68: 167–182.

- Jayachandran, M., Chandrasekaran, B., ve Namasivayam, N., (2015). Geraniol attenuates fibrosis and exerts anti-inflammatory effects on diet induced atherogenesis by NF- κ B signaling pathway, *European journal of pharmacology*, 762: 102-111.
- Khan, A. Q., Khan, R., Qamar, W., Lateef, A., Rehman, M. U., Tahir, M., Ali, F., Hamiza, O. O., Hasan, S. K., Sultana, S., (2013). Geraniol attenuates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced oxidative stress and inflammation in mouse skin: possible role of p38 MAP Kinase and NF- κ B, *Experimental and molecular pathology*, 94(3): 419-429.
- Liu, C. M., Ma, J. Q., Sun, Y. Z., (2011). Protective role of puerarin on lead-induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats, *Food and chemical toxicology*, 49(12): 3119-3127.
- Liu, C. M., Ma, J. Q., Sun, Y. Z., (2012). Puerarin protects the rat liver against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(6): 575-582.
- Machala, M., Drzbeek, P., Neča, J., Kolzovz, J., Svobodovz, Z., (1998). Biochemical markers for differentiation of exposures to nonplanar polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, or 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in trout liver, *Ecotoxicology and environmental safety*, 41(1): 107-111.
- Manoharan, S., ve Selvan, M. V., (2012). Chemopreventive potential of geraniol in 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene (DMBA) induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice, *Journal of Environmental Biology*, 33(2): 255.
- Marcello, C., Maria, V., Tesoriere, L., Antonino, B., (1993). Vitamin A inhibits Doxorubicin membrane lipid peroxidation in rat tissues in vivo, *Arch. Biochem. Biophys.*, 302: 103-108.
- McConnachie, L.A., Mohar, I., Hudson, F.N., Ware, C.B., Ladiges, W.C., Fernandez, C., Chatterton-Kirchmeier, S., White, C.C., Pierce, R.H., Kavanagh, T.J., (2007). Glutamate cysteine ligasemodifier subunit deficiency and gender as determinants of acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice, *Toxicol. Sci.*, 99: 628-636.

- Mehana, E. E., Meki, A. R. M., Fazili, K. M., (2012). Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats, *Experimental and toxicologic pathology*, 64(4): 291-295.
- Moniuszko-Jakoniuk, J., Jurczuk, M., Gałaz'yn-Sidorczuk, M., Brzoska, M.M., (2003). Lead turnover and changes in the body status of chosen micro- and macroelements in rats exposed to lead and ethanol, *Pol. J. Environ. Stud.*, 12: 335–344.
- Moron, M. S., Depierre, J. W., Mannervik, B., (1979). Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 582(1): 67-78.
- Nousiainen, U., ve Törrönen, R., (1984). Differentiation of microsomal and cytosolic carboxylesterases in the rat liver by in vivo and in vitro inhibition, *General Pharmacology; The Vascular System*, 15(3): 223-227.
- Ozkaya, A., Sahin, Z., Dag, U., Ozkaraca, M., (2016). Effects of Naringenin on Oxidative Stress and Histopathological Changes in the Liver of Lead Acetate Administered Rats, *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 30 (5): 243-248.
- Ozkaya, A., Sahin, Z., Gorgulu, A. O., Yuce, A., Celik, S., (2017). Geraniol attenuates hydrogen peroxide-induced liver fatty acid alterations in male rats, *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(1): 29-35.
- Özmen, M., Dominguez, S. E., Fairbrother, A., (1998). Effects of dietary azinphos methyl on selected plasma and tissue biomarkers of the gray-tailed vole, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 60(2): 194-201.
- Pari, L., ve Amudha, K., (2011). Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats, *European journal of pharmacology*, 650(1): 364-370.
- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D., Fontainhas-Fernandes, A., (2006). Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85(2): 91-96.

- Placer, Z. A., Cushman, L. L., Johnson, B. C. 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem.*, 16(2), 359–364.
- Prasad, S. N., (2014). Mitigation of acrylamide-induced behavioral deficits, oxidative impairments and neurotoxicity by oral supplements of geraniol (a monoterpene) in a rat model, *Chemico-biological interactions*, 223: 27-37.
- Ross, M. K., Borazjani, A., Edwards, C. C., & Potter, P. M., (2006). Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases, *Biochemical pharmacology*, 71(5): 657-669.
- Santhoshkumar, P., ve Shivanandappa, T., (1999). In vitro sequestration of two organophosphorus homologs by the rat liver, *Chemico-biological interactions*, 119: 277-282.
- Satoh, T., (2005). Toxicological implications of esterases—from molecular structures to functions, *Toxicology and applied pharmacology*, 207(2): 11-18.
- Scott, M. D., Lubin, B. H., Zuo, L., Kuypers, F. A., (1991). Erythrocyte defense against hydrogen peroxide: preeminent importance of catalase, *J. Lab. Clin. Med.*, 118(1): 7- 16.
- Senbel, A. M., Saad, E. I., Taha, S. S., Mohamed, H. F., (2016). Different mechanisms for lead acetate, aluminum and cadmium sulfate in rat corpus cavernosum, *Toxicology*, 340: 27-33.
- Senger, M. R., Rosemberg, D. B., Rico, E. P., de Bem Arizi, M., Dias, R. D., Bogo, M. R., & Bonan, C. D., (2006). In vitro effect of zinc and cadmium on acetylcholinesterase and ectonucleotidase activities in zebrafish (*Danio rerio*) brain, *Toxicology in Vitro*, 20(6): 954-958.
- Shinkai, Y., Kaji, T., (2012). Cellular defense mechanisms against lead toxicity in the vascular system, *Biol. Pharm. Bull.*, 35: 1885–1891.
- Stamoulis, I., Kouraklis, G., Theocharis, S., (2007). Zinc and the liver: an active interaction. *Digestive diseases and sciences*, 52(7): 1595-1612.
- USEPA 2017, <http://www.epa.gov/lead/>, Erişim tarihi: 20.05.2017
- Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P., (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2): 57-149.

- Vieira, A., Heidor, R., Cardozo, M.T., Scolastici, C., Purgatto, E., Shiga, T.M., Barbisan, L.F., Ong, T.P., Moreno, F.S., (2011). Efficacy of geraniol but not of β -ionone or their combination for the chemoprevention of rat colon carcinogenesis, *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 44(6): 538-545.
- Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z., Liu, X., (2012). Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats, *Biological trace element research*, 146(3): 354-359.
- Xia, D., Yu, X., Liao, S., Shao, Q., Mou, H., Ma, W., (2010). Protective effect of *Smilax glabra* extract against lead-induced oxidative stress in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 130(2): 414-420.
- Yan, T., Teo, L. H., Sin, Y. M., (1997). Effects of mercury and lead on tissue glutathione of the green mussel, *Perna viridis* L., *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 58(5): 845-850.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Semra YOLOĞLU

Doğum Yeri: Malatya

Doğum Tarihi: 01.03.1985

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Adıyaman Anadolu Öğretmen Lisesi /2003

Lisans: İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği /2008

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

1-Milli Eğitim Bakanlığı Kabacık Ortaokulu-Şanlıurfa / 2014-2015

2-Milli Eğitim Bakanlığı Elmacık Ortaokulu-Adıyaman / 2015-2017

3-Milli Eğitim Bakanlığı Şehit Turan Çelik İ.H.O-Adıyaman /2017-Devam ediyor.

Yayımları (SCI ve Diğer)