



Kurşun Uygulanan Ratların Bazı Dokularında (Kalp, Akciğer, Beyin, Dalak, Kas) Oksidatif Stress Üzerine Naringenin Etkisi*

Mine ERİŞİR¹, Fulya BENZER², Ahmet ÖZKAYA³, Üzeyir DAĞ⁴

1. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE.
2. Munzur Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tunceli, TÜRKİYE.
3. Adıyaman Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Adıyaman, TÜRKİYE.
4. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik ve Bilimleri Bölümü, Kahramanmaraş, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
05.08.2016	22.06.2017	25.04.2018

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Erışir M, Benzer F, Özkaya A, Dağ Ü: Kurşun Uygulanan Ratların Bazı Dokularında (Kalp, Akciğer, Beyin, Dalak, Kas) Oksidatif Stress Üzerine Naringenin Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13 (1): 34-41, 2018. DOI: 10.17094/ataunivbd.417125

Öz: Naringenin oksidatif strese karşı direnci artıran bir flavonoiddir. Bu çalışmada kurşun maruziyeti ile ratların kalp, akciğer, beyin, dalak ve kas dokularında lipid peroksidasyon ve bazı antioksidanların ayrıca bu parametreler üzerine naringenin etkisinin araştırılması hedeflendi. Naringenin 50 mg/kg dozda mısır yağında çözülerek orogastrik sonda ile kurşun asetat ise günlük 500 ppm olacak şekilde içme suyuna karıştırılarak 4 hafta boyunca verildi. Kurşuna maruz kalan ratların beyin, akciğer, dalak ve kas dokularının MDA düzeylerinde istatistik olarak anlamlı artış ($P<0.001$), kalp dokusunda ise anlamsız artış saptandı ($P>0.05$). Kurşun uygulaması beyin, dalak, kas dokusunda GSH-Px aktivitesinde, kalp, akciğer ve kas dokusunda CAT aktivitesinde, akciğer ve kas dokusunda ise GSH konsantrasyonunda istatistik olarak önemli azalmalara sebep oldu ($P<0.05$). Tek başına naringenin uygulanması MDA'nın kalp ve kasta önemli azalmasına, akciğerde ise önemli artmasına sebep oldu ($P<0.05$). Kurşunla beraber naringenin kullanılması kalp, akciğer, beyin, kas, dalak dokularında artmış MDA düzeylerini önemli olarak ($P<0.05$) azaltmasına rağmen akciğer ve dalak dokusunda artan MDA düzeylerini normale döndüremediği görüldü. Kurşunla beraber naringenin ilavesinin bu dokularda genelde azalan GSH-Px, CAT aktivitelerini ise önemli olarak artırdığı ($P<0.05$) saptandı. Ayrıca kurşunun etkisi ile akciğer ve kasta azalan GSH düzeyleri ve kalpte artan GSH düzeylerinin naringenin uygulanması ile normale döndüğü tespit edildi. Sonuç olarak, kurşun uygulanmasının, özellikle hücre antioksidanlarını tüketerek lipid peroksidasyonunda artışa neden olduğu ve naringenin uygulanmasının, bazı dokularda (beyin, kas) kurşunun sebep olduğu oksidatif stresin engellenmesinde yararlı olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kurşun, Naringenin, Oksidatif stres.

The Effect of Naringenin on Oxidative Stress in Some Tissues (Heart, Lung, Brain, Spleen, Muscle) of Lead-treated Rats

Abstract: Naringenin, a flavonoid increases resistance against oxidative stress. The present study aims to investigate the effect of lead on lipid peroxidation and some antioxidants in heart, lung, brain, spleen, muscle and the effect of naringenin on these parameters. Naringenin was administered by orogastric gavage (50 mg/kg, dissolved in corn oil) and lead acetate was given as daily 500 parts per million in drinking water for 4 weeks. In the rats exposed to lead, MDA levels in the brain, lungs, spleen and muscle tissues significantly increased ($P<0.001$), in the heart tended to increase but not significantly ($P>0.05$). Lead caused a statistically significant decrease in GSH-Px activity of the brain, spleen and muscle tissues, in CAT activity of the heart, lung and muscle tissues, in GSH concentration of the lungs and muscle tissues ($P<0.05$). The administration of alone naringenin caused a statistically significant decrease in MDA levels in the heart and muscle, but a significant increase in the lung ($P<0.05$). Although increased MDA levels in the heart, lungs, brain, muscle and spleen tissues were significantly decreased by use of the naringenin together with lead ($P<0.05$), increased MDA levels in the lungs and spleen tissues could not be recovered to the normal level. Generally the decreased GSH-Px and CAT activities in these tissues due to lead were significantly increased by naringenin supplementation ($P<0.05$). In addition, the reduced GSH levels in lung and muscle, the increased GSH levels in heart with effect of lead were returned to the normal by naringenin. Lead particularly causes to an increase in lipid peroxidation by consuming antioxidants of cells. Naringenin was able to prevent as tissue-specific (brain, muscle) the oxidative stress caused by lead.

Keywords: Lead, Naringenin, Oxidative stress.

✉ Mine ERİŞİR

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE.
e-posta: mineerisir@yahoo.com

*Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi (Proje No: FEFYL-2011/0015) tarafından desteklenmiştir.

GİRİŞ

Endüstride yaygın olarak kullanılan kurşun, vücutta hiçbir biyokimyasal ve fizyolojik görevi olmayan toksik ağır bir metaldir (1). Kurşun en zararlı ve kümülatif çevresel kirleticilerden biri olup su, hava, toprak ve besin kaynaklarının maruz kalması ile tüm biyolojik sistemleri etkiler. Mesleki kurşun maruziyetinin ana kaynakları benzin, kurşunlu boyalar ve pillerdir (2). Endüstrileşmeye paralel olarak biosferde yayılır ve insan vücudundaki miktarı artar (1). Kurşunun eliminasyonu yavaş olduğu için zararlı seviyeleri dokularda birikebilir ve insan ve hayvanlarda fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal bozukluklara neden olur (2).

Reaktif oksijen türevi (ROT) bileşikler; hücrelerde normal biyokimyasal reaksiyonlar sırasında meydana gelen son derece toksik bileşiklerdir (3). ROT bileşikler lipid, protein ve nükleik asit gibi makromolekülleri okside edebilirler. Özellikle hücre zarlarında bulunan doymamış yağ asitleri oksidasyona duyarlı olup bunların oksidasyonu lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını başlatır. Lipid peroksidasyonu sonucu, lipid peroksitler ve diğer ara ürünler oluşur (4) ve hücre membranlarının özelliklerini ve fizyolojik fonksiyonlarını etkileyen bu ürünlerin en yaygını malondialdehit (MDA)'dir (5).

ROT bileşiklerinin zararlı etkilerine karşı hücrelerde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri bulunur. Bunlar superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) gibi enzimatik ve glutatyon (GSH), α -tokoferol, karotenoidler ve C-vitamini gibi enzimatik olmayan antioksidanlardır (6,7).

Kurşun maruziyetinin önemli etkilerinden biri kurşunun prooksidan/antioksidan dengesini bozmasından kaynaklanmakta olup kurşun maruziyetinden sonra ROT'un artarak lipid, protein ve nükleik asit gibi hücre bileşenlerine zarar verdiği bilinmektedir (8,9).

Doğal bir flavonoid olan naringenin, turuncgil meyvelerinde, domateste, çilekte, greyfurtta ve kakaoda yaygın olarak bulunmaktadır. Naringenin farmakolojik olarak potansiyel bir antioksidan kabul edilmiş, antikanserojen, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antimutajenik, hepatoprotektif ve nefroprotektif aktiviteleri ölçülmüştür (10,11).

Kurşun karaciğer ve böbrekte en yüksek oranda depo edilirken, kalp, akciğer, beyin, dalak, kas ve kemiklerde de dağıldığı bildirilmiştir (8). Kurşun maruziyetine bağlı olarak karaciğer ve böbrekte oksidan ve antioksidan dengenin bozulduğu ve meydana gelen oksidatif stresin antioksidanlar aracılığı ile düzeltilmesine ilişkin çok sayıda çalışma mevcuttur (8,10-14). Bu çalışmada kurşun maruziyeti ile kalp, akciğer, beyin, dalak ve kas oksidatif stres parametrelerinin ve bu parametreler üzerine naringenin etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada 28 adet yetişkin, 240 ± 40 gr ağırlığında erkek *Wistar albino* rat kullanıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜTDAM)'nden temin edildi. Hayvanlar $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 12 saat ışık altında ve 12 saat te karanlıkta muhafaza edilip, ad *libitum* olarak ticari pelet yemi (Elazığ Yem A.Ş) ve içme suyu verildi. Araştırma için etik kurul izni alındı (Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel Hayvanları Etik Komitesi No: 03.03.2011-59). Ratlar her grupta 7 rat olacak şekilde sırasıyla dört gruba ayrıldı; Kontrol, Naringenin, Kurşun asetat ve Kurşun asetat + Naringenin grubu. Naringenin 50 mg/kg dozda olacak şekilde mısır yağında çözülerek 30 gün boyunca orogastrik sonda ile uygulandı (15). Kurşun asetat ise günlük 500 ppm olacak şekilde 30 gün boyunca içme suyuna karıştırıldı (16). Kontrol grubu ratlarına orogastrik olarak mısır yağı verildi. 30 günün sonunda ratlar xylazine HCl / ketamin HCl kombinasyonu ile anestezi edilerek dekapitasyonla

dokuları çıkarıldı. Alınan kalp, akciğer, beyin, dalak ve kas dokuları analizlere kadar -20°C'de saklandı.

MDA, GSH, CAT, GSH-Px tayini için doku örnekleri iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra tartılarak %1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılıp, kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edildi. Homojenat soğutmalı santrifüjde +4°C'de MDA, GSH, CAT analizleri için 3.500 rpm'de 15 dakika, GSH-Px analizi için 14.000 rpm'de 55 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlarda analizler yapıldı.

Doku örneklerindeki MDA düzeyleri Placer ve ark. (17) tarafından modifiye edilen yöntemle göre ölçüldü. Yağ asidi peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, tiobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan pembe renk 532 nm'de okundu ve MDA seviyesi nmol/g doku olarak verildi.

CAT aktivitesini ölçmek için Aebi (18) metodu kullanıldı. H₂O₂'in örnekte bulunan CAT etkisi ile yıkımlanması sonucu absorbansta meydana gelen azalma 240 nm'de tespit edildi ve sonuçlar k/g protein olarak ifade edildi.

GSH-Px aktivitesi Lawrence ve Burk (19) metoduna göre tayin edildi ve U/mg protein olarak verildi. Substrat olarak H₂O₂ kullanılarak NADPH'in NADP'ye dönüşümü 340 nm'de absorbansdaki değişimle ölçüldü.

GSH tayini Sedlak ve ark. (20) tarafından bildirilen metotla yapıldı. Bu metot 5.5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) eklendiğinde sülfidril gruplarının oldukça stabil sarı renk oluşturması temeline dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir. GSH seviyesi µmol/g protein olarak belirtildi.

Homojenatlardaki protein miktarı standart olarak sığır serum albümini kullanılarak Lowry ve ark. (21) yöntemine göre ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki farkın kontrolünde SPSS 10.0 istatistik programı kapsamında tek yönlü varyans analizi ve Tukey testinden faydalanıldı, sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi. Önem seviyesi P<0.05 olarak alındı.

BULGULAR

Kurşuna maruz kalan ratların beyin, akciğer, dalak ve kas dokularının MDA düzeylerinde istatistik olarak anlamlı artış (P<0.001) (Tablo 2-4), kalp dokusunda ise anlamsız artış saptandı (P>0.05) (Tablo 1). Kurşun ratların beyin, dalak, kas dokusunda GSH-Px aktivitesinde, kalp, akciğer ve kas dokusunda CAT aktivitesinde, akciğer ve kas dokusunda ise GSH konsantrasyonunda istatistik olarak önemli azalmaya sebep oldu (P<0.05) (Tablo 1-5). Ayrıca kalp dokusunda GSH seviyesinde (P<0.001) (Tablo 1) ve dalak dokusunda CAT aktivitesinde (P<0.05) (Tablo 4) önemli artış saptandı.

Tek başına naringenin uygulanması MDA'nın kalp ve kasta önemli azalmasına (Tablo 1, 5), akciğerde ise önemli artmasına (Tablo 2) sebep oldu (P<0.05). Naringenin uygulaması kalp GSH düzeyi (P<0.001) ile beyin ve kas GSH-Px aktivitesinde (P<0.05) önemli azalmaya sebep olurken kalp GSH-Px aktivitesi (P<0.001), beyin CAT aktivitesi (P<0.05), dalak CAT aktivitesi ve GSH düzeyinde (P<0.001) önemli artışa sebep oldu (Tablo 1, 3-5).

Kurşunla beraber naringenin kullanılması sonucu kalp, akciğer, beyin, kas, dalak dokularında artan MDA düzeyleri önemli olarak azaldı, bu dokularda genelde azalan GSH-Px, CAT aktiviteleri ise önemli olarak arttı (Tablo 1-5) (P<0.05). Kurşunun etkisi ile akciğer ve kasta azalan GSH düzeyleri (Tablo 2,5) ile kalpte artan GSH düzeyleri (Tablo 1) naringenin ilavesiyle normal seviyelerine yaklaştı.

Tablo 1. Ratların kalp dokusundaki MDA, GSH, GSH-Px ve CAT seviyeleri üzerine kurşun ve naringenin etkisi.
Table 1. Effect of lead and naringenin on MDA, GSH, GSH-Px and CAT levels in heart tissue of rats.

Gruplar	MDA (nmol/g doku)	GSH (μ mol/g protein)	GSH-Px (U/mg protein)	CAT (k/g protein)
Kontrol	182.50 \pm 11.85 ^a	100.50 \pm 0.76 ^a	3.50 \pm 0.09 ^a	205.66 \pm 9.80 ^a
Naringenin	152.00 \pm 10.71 ^{bz}	88.50 \pm 1.11 ^{dt}	11.10 \pm 0.57 ^{dt}	195.33 \pm 10.10 ^{az}
Kurşun	203.00 \pm 10.14 ^a	112.66 \pm 1.08 ^d	2.66 \pm 0.05 ^a	154.05 \pm 2.55 ^b
Kurşun + Naringenin	105.16 \pm 3.93 ^{dt}	97.66 \pm 0.84 ^{at}	10.46 \pm 0.67 ^{dt}	301.50 \pm 14.74 ^{dt}

Kontrol grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: P>0.05, b: P<0.05, c: P<0.01, d: P<0.001
 Kurşun grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: P<0.05, z: P<0.01, t: P<0.001
 MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, CAT: Katalaz.

Tablo 2. Ratların akciğer dokusundaki MDA, GSH, GSH-Px ve CAT seviyeleri üzerine kurşun ve naringenin etkisi.
Table 2. Effect of lead and naringenin on MDA, GSH, GSH-Px and CAT levels in lungs Tissues of Rats.

Gruplar	MDA (nmol/g doku)	GSH (μ mol/g protein)	GSH-Px (U/mg protein)	CAT (k/g protein)
Kontrol	76.48 \pm 3.40 ^a	181.33 \pm 1.54 ^a	2.10 \pm 0.33 ^a	280.15 \pm 19.49 ^a
Naringenin	92.88 \pm 1.77 ^b	174.66 \pm 3.50 ^{at}	2.41 \pm 0.15 ^a	265.51 \pm 9.06 ^{ay}
Kurşun	101.96 \pm 4.89 ^d	144.33 \pm 7.86 ^d	2.67 \pm 0.08 ^a	213.16 \pm 5.35 ^c
Kurşun + Naringenin	92.06 \pm 2.06 ^{by}	171.66 \pm 2.80 ^{at}	3.31 \pm 0.41 ^b	237.66 \pm 8.81 ^b

Kontrol grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: P>0.05, b: P<0.05, c: P<0.01, d: P<0.001
 Kurşun grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: P<0.05, z: P<0.01, t: P<0.001
 MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, CAT: Katalaz.

Tablo 3: Ratların beyin dokusundaki MDA, GSH, GSH-Px ve CAT seviyeleri üzerine kurşun ve naringenin etkisi.
Table 3. Effect of lead and naringenin on MDA, GSH, GSH-Px and CAT levels in brain Tissue of Rats.

Gruplar	MDA (nmol/g doku)	GSH (μ mol/g protein)	GSH-Px (U/mg protein)	CAT (k/g protein)
Kontrol	99.50 \pm 5.24 ^a	145.02 \pm 2.89 ^a	27.66 \pm 0.88 ^a	60.17 \pm 1.82 ^a
Naringenin	102.33 \pm 3.54 ^{az}	139.05 \pm 1.60 ^a	23.16 \pm 1.01 ^{bt}	65.41 \pm 1.62 ^{by}
Kurşun	126.83 \pm 4.43 ^d	147.33 \pm 4.77 ^a	13.16 \pm 1.07 ^d	58.66 \pm 1.05 ^a
Kurşun + Naringenin	110.50 \pm 4.25 ^{ay}	144.07 \pm 3.33 ^a	23.50 \pm 1.62 ^{bt}	66.33 \pm 1.87 ^{by}

Kontrol grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: P>0.05, b: P<0.05, c: P<0.01, d: P<0.001
 Kurşun grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: P<0.05, z: P<0.01, t: P<0.001
 MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, CAT: Katalaz.

Tablo 4. Ratların dalak dokusundaki MDA, GSH, GSH-Px ve CAT seviyeleri üzerine kurşun ve naringenin etkisi.
Table 4. Effect of lead and naringenin on MDA, GSH, GSH-Px and CAT levels in spleen Tissue of Rats.

Gruplar	MDA (nmol/g doku)	GSH (μ mol/g protein)	GSH-Px (U/mg protein)	CAT (k/g protein)
Kontrol	79.66 \pm 3.05 ^a	132.66 \pm 5.01 ^a	5.02 \pm 0.36 ^a	140.51 \pm 4.65 ^a
Naringenin	84.51 \pm 2.27 ^{at}	152.31 \pm 1.28 ^{dt}	4.96 \pm 0.20 ^a	237.41 \pm 7.57 ^{dt}
Kurşun	115.83 \pm 5.07 ^d	130.12 \pm 2.55 ^a	4.09 \pm 0.36 ^b	161.17 \pm 7.50 ^b
Kurşun + Naringenin	99.61 \pm 1.72 ^{dt}	145.66 \pm 2.67 ^{cz}	7.13 \pm 0.33 ^{dt}	170.42 \pm 3.65 ^c

Kontrol grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: P>0.05 b: P<0.05, c: P<0.01, d: P<0.001
 Kurşun grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: P<0.05, z: P<0.01, t: P<0.001
 MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, CAT: Katalaz.

Tablo 5. Ratların kas dokusundaki MDA, GSH, GSH-Px ve CAT seviyeleri üzerine kurşun ve naringenin etkisi.
Table 5. Effect of lead and naringenin on MDA, GSH, GSH-Px and CAT levels in muscle Tissue of Rats.

Gruplar	MDA (nmol/g doku)	GSH (μ mol/g protein)	GSH-Px (U/mg protein)	CAT (k/g protein)
Kontrol	95.56 \pm 2.87 ^a	97.66 \pm 1.37 ^a	9.59 \pm 0.21 ^a	181.51 \pm 12.82 ^a
Naringenin	82.78 \pm 2.46 ^{ct}	98.75 \pm 1.86 ^{ay}	7.35 \pm 0.38 ^b	156.61 \pm 8.16 ^{az}
Kurşun	127.85 \pm 3.46 ^d	92.43 \pm 1.03 ^b	7.03 \pm 0.58 ^c	113.33 \pm 9.83 ^d
Kurşun + Naringenin	93.96 \pm 2.88 ^{at}	98.65 \pm 2.10 ^{ay}	10.16 \pm 0.88 ^{az}	143.41 \pm 5.16 ^{cy}

Kontrol grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları a: P>0.05, b: P<0.05, c: P<0.01, d: P<0.001
 Kurşun grubuna göre diğer grupların istatistiksel farklılıkları y: P<0.05, z: P<0.01, t: P<0.001
 MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, CAT: Katalaz.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kurşun zehirlenmesinin önemli etkilerinden biri antioksidan sistemin azalması ve serbest radikallerin üretimiyle oksidatif stresin oluşumudur (8,9). Birçok çalışmada kurşun alımının karaciğer ve böbrekte MDA'da artışa sebep olduğu bilinmektedir (8,11-14). Bu çalışmada kurşunla muamele akciğer, beyin, kas, dalak dokularının MDA seviyelerinde önemli artışa sebep oldu. Çeşitli çalışmalarda da beyin (9,13,22,23), kalp ve akciğer (14) için MDA'da artış bildirilmiştir. Beyinde artan ROS üretiminin hippokampustaki nöronların yıkımı ile öğrenme-kavrama ve hafıza fonksiyonlarının kötüleşmesine sebep olduğu bildirilmiş (24,25) ve merkezi sinir sistemi kurşun toksisitesi için primer hedef olarak gösterilmiştir (23).

Antioksidan enzimler ROS'un şekillenmesini baskılayarak veya etkilerini engelleyerek oksidatif hasara karşı hücrel savunmanın ilk hattı olarak göz önünde tutulur. Kurşun antioksidan enzim ve moleküllerdeki sülfhidril grupları (-SH) ve metal kofaktörleri için yüksek affiniteye sahip olup antioksidanlarda azalmaya sebep olur (9). Bu çalışmada kurşunun beyin, dalak, kas, kalp dokusunda GSH-Px aktivitesinde azalmaya sebep olduğunu saptadık. GSH-Px selenyum içeren bir enzim olup GSH kullanarak H_2O_2 'i su ve lipid hidroperoksidlere detoksifiye eder. Kurşun GSH-Px'in kofaktörü olan ve aktif merkezinde yer alan selenyum ile yer değiştirerek veya enzimin -SH grubuna geriye dönüşümsüz bağlanarak GSH-Px'in inaktivasyonuna yol açmaktadır (8,9). Çeşitli çalışmalarda beyinde yetersiz antioksidant savunma enzimleri (SOD, CAT, GSH-Px) ile total antioksidan kapasite ve artmış oksidatif stres kurşun nörotoksitesinin sebebi olarak önerilmiştir (9,13,25).

Katalaz prostetik grup olarak hem içeren tetramerik bir enzim olup hidrojen peroksidin su ve oksijene yıkımını katalize eder (26). Bu çalışmada akciğer, kalp ve kas dokusunda CAT aktivitesinde önemli azalma saptanmıştır. Upasani ve ark. da (14) kurşunun akciğer ve kalp dokusunda lipid peroksidasyonda artışa sebep olurken CAT ve GSH'da

azalmaya sebep olduğunu tespit etmiştir. Kurşunun hem sentezinin inhibitörü olduğu ve dolayısıyla katalazın azalmış üretimine ve düşük aktivitesine sebep olduğu bildirilmiştir (8). Ayrıca kurşun tarafından CAT aktivitesinde gözlenen azalma, kurşunun gastro-intestinal kanaldan demirin absorpsiyonunu azaltmasıyla da ilişkilendirilmiştir (9).

GSH, serbest radikallere ve diğer oksidant türlere karşı temel rol oynayan intrasellüler antioksidant bir savunma sistemidir. GSH'ın en önemli fizyolojik fonksiyonlarından biri bazı proteinler ve enzimlerdeki tiyol gruplarını korumaktır (12). Bu çalışmada kurşuna maruz grubun akciğer ve kas dokusunda GSH konsantrasyonunda önemli azalma tespit edildi. Çeşitli çalışmalarda kurşun maruzunda bazı dokularda GSH seviyelerinde azalmalar tespit edilmiştir (8,12-14). Kurşunun -SH gruplarına bağlanarak GSH seviyesini ve antioksidant aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (27). Ayrıca GSH, ilaç ve zehir gibi besin olmayan maddelerle birleşerek onların biotransformasyonunu ve atılımını da sağlar (12,28). GSH'un tükenmesi, hücrelerde H_2O_2 'in artmasına ve artan H_2O_2 ise hem GSH'u indirgenmiş formda muhafaza eden GSH reduktazın inhibisyonuna hemde sitotoksitesinin artmasına sebep olur (29).

İlginç olarak bu çalışmada kurşunun etkisi ile kalp dokusunda GSH seviyesinde ve dalak dokusunda CAT aktivitesinde önemli artış saptanmıştır. Oyagbemi ve ark. da (30) kurşuna maruz kalan ratların böbreğinde CAT ve GST aktivitelerinde doza bağımlı artış saptamıştır. Toksik maddelere maruzdan sonra antioksidan enzim aktivitelerindeki artışın toksik maddelere maruza karşı koruyucu bir adaptasyon olarak hizmet verdiği önerilmiştir (30).

Farmakolojik olarak potansiyel bir antioksidan kabul edilmiş olan naringenin, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan seviyelerini artırır, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu inhibe eder (11,31). Kurşun üzerine naringenin etkisinin

tayin edildiği bu çalışmada, naringenin özellikle akciğer, beyin, kas, dalak dokularında artmış MDA düzeyleri üzerine önemli azaltıcı etkisi, bu dokularda genelde azalan GSH-Px, CAT aktivitelerinde ise önemli artırıcı etkisi tespit edilmiştir. Ayrıca kurşunun etkisi ile akciğer, dalak ve kasta azalan GSH düzeylerini de naringenin artırmıştır. Keza kurşunun etkisi ile kalpte artan GSH düzeylerini de naringenin normale döndürmüştür. Son zamanlarda naringenin kan beyin bariyerini aşarak beyine girebildiği çeşitli alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi patofizyolojik durumlarda oksidatif hasarı önleyebildiği belirtilmiştir (32). Bu çalışmada da naringenin kurşuna maruz kalan ratlarda beyinde artan MDA düzeylerini önemli olarak azaltmıştır. Ayrıca doksozobisin ve etanolün sebep olduğu kalp toksisitesine karşı naringenin oksidatif stresi önleyici etkileri saptanmıştır (10,33). Naringenin ROS ve serbest radikalleri azaltıcı etkisi B halkasının hidroksil grubunun elektron verici özelliğinden kaynaklanabilir (34).

Naringenin diğer bir özelliği de metal şelatlama özelliğidir (35). Kurşun antioksidan enzim ve moleküllerdeki sulfhidril grupları için yüksek affiniteye sahip olup antioksidan enzim ve moleküllerde azalmaya sebep olur (9,27). Naringenin kurşunu şelatlama özelliğinin de enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların sulfhidril gruplarını korumada etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızdaki önemli bir noktada tek başına naringenin alınması dokulardaki antioksidanlarda değişikliklere ve MDA'nın kalp ve kasta önemli azalmasına, akciğerde ise önemli artmasına sebep olmasıdır. Oysaki karaciğer, böbrek, kalp ve beyinde yapılan çalışmalarda tek başına naringenin bu parametreler üzerine etkisiz olduğu görülmüştür (10,11,32,36). Akciğer de MDA'daki artışın sebebi çalışılan antioksidanların herhangi bir değişim göstermemesiyle ilişkili olabilir.

Sonuç olarak kurşun hücrelerin özellikle antioksidanlarını tüketerek lipid peroksidasyonda artışa sebep olur. Kurşunla beraber kullanılan

naringenin kurşunun sebep olduğu oksidatif stresi dokuya özgü (beyin, kas) engelleyebilmiştir. Hepatoprotektif ve nefroprotektif özelliği bilinen naringenin (10,11) bu çalışmanın sonuçlarına göre de antioksidan özellik göstermiş olup kurşunun sebep olduğu oksidatif strese karşı tüm dokuları korumada yeterli bulunmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Mutlu N., Ersan Y., Nur G., Koç E., 2011. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against lead acetate-induced hepatotoxicity in mice. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17 (Suppl A), 1-5.
2. Assi MA., Hezmee MN., Haron AW., Sabri MY., Rajion MA., 2016. The detrimental effects of lead on human and animal health. *Vet World*, 9, 660-671.
3. Cheeseman KH., Slater TF., 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*, 49, 481-493.
4. Akkuş İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 32-37, Mimoza Yay. Konya.
5. Comporti M., 1989. Three models of free radical induced cell injury. *Chem Biol Interact*, 72, 1-56.
6. Miller JK., Brzezinska-Slebodzinska E., 1993. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J Dairy Sci*, 76, 2812-2823.
7. Stahl W., Sies H., 1997. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes*, 46, 14-18.
8. Omobowale OT., Oyagbemi AA., Akinrinde AA., Saba AB., Daramola OT., Ogunpolu BS., Olopade JO., 2014. Failure of recovery from lead induced hepatotoxicity and disruption of erythrocyte antioxidant defence system in Wistar rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 37, 1202-1211.
9. Kadeyala PK., Sannadi S., Gottipolu RR., 2013. Reversal effect of monoisoamyl dimercaptosuccinic acid (MiADMSA) for arsenic and lead induced perturbations in apoptosis and antioxidant enzymes in developing rat brain. *Int J Dev Neurosci*, 31, 586-97.
10. Jayaraman J., Veerappan M., Namasivayam N.,

2009. Potential beneficial effect of naringenin on lipid peroxidation and antioxidant status in rats with ethanol-induced hepatotoxicity. *J Pharm Pharmacol*, 61, 1383-1390.
11. Wang J., Yang Z., Lin L., Zhao Z., Liu Z., Liu X., 2012. Protective effect of naringenin against lead-induced oxidative stress in rats. *Biol Trace Elem Res*, 146, 354-359.
12. Alcaraz-Contreras Y., Garza-Ocanas L., Carcano-Diaz K., Ramirez-Gomez XS., 2011. Effect of glycine on lead mobilization, lead-induced oxidative stress, and hepatic toxicity in rats. *J Toxicol*, 2011, 1-7.
13. 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. *J Ethnopharmacol*, 130, 414-420.
14. Upasani CD., Balaraman R., 2003. Protective effect of Spirulina on lead-induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytother Res*, 17, 330-334.
15. Jain A., Yadav A., Bozhkov AI., Padalko VI., Flora SJ., 2011. Therapeutic efficacy of silymarin and naringenin in reducing arsenic-induced hepatic damage in young rats. *Ecotoxicol Environ Saf*, 74, 607-614.
16. Bennet C., Bettaiya R., Rajanna S., Baker L., Yallapragada PR., Brice JJ., White SL., Bokara KK., 2007. Region specific increase in the antioxidant enzymes and lipidperoxidation products in the brain of rats exposed to lead. *Free Radic Res*, 41, 267-273.
17. Placer ZA., Cushman LL., Johnson BC., 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16, 359-364.
18. Aebi H., 1984. Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol*, 105, 121-126.
19. Lawrence RA., Burk RF., 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun*, 71, 952-958.
20. Sedlak J., Lindsay RH., 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205.
21. Lowry OH., Rosebrough NJ., Farr AL., Randall RJ., 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 265-275.
22. Wang Z., Yan Y., Yu X., Li W., Li B., Qin C., 2016. Protective effects of chitosan and its water-soluble derivatives against lead-induced oxidative stress in mice. *Int J Biol Macromol*, 83, 442-449.
23. Shahandeh M., Roshan VD., Hosseinzadeh S., Mahjoub S., Sarkisian V., 2013. Chronic exercise training versus acute endurance exercise in reducing neurotoxicity in rats exposed to lead acetate. *Neural Regen Res*, 8, 714-722.
24. Cole GM., Teter B., Frautschy SA., 2007. Neuroprotective effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol*, 595, 197-212.
25. Soleimani E., Goudarzi I., Abrari K., Lashkarbolouki T., 2016. The combined effects of developmental lead and ethanol exposure on hippocampus dependent spatial learning and memory in rats: Role of oxidative stress. *Food Chem Toxicol*, 96, 263-72.
26. Gutteridge JM., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 41, 1819-1828.
27. Saxena G., Pathak U., Flora SJ., 2005. Beneficial role of monoesters of meso-2,3-dimercaptosuccinic acid in the mobilization of lead and recovery of tissue oxidative injury in rats. *Toxicol*, 214, 39-56.
28. Christie NT., Costa M., 1984. In vitro assessment of the toxicity of metal compounds : IV. Disposition of metals in cells: Interactions with membranes, glutathione, metallothionein, and DNA. *Biol Trace Elem Res*, 6, 139-158.
29. Abdel Moneim AE., Dkhil MA., Al-Quraishy S., 2011. Effects of flaxseed oil on lead acetate-induced neurotoxicity in rats. *Biol Trace Elem Res*, 144, 904-913.
30. Oyagbemi AA., Omobowale TO., Akinrinde AS., Saba AB., Ogunpolu BS., Daramola O., 2015. Lack of reversal of oxidative damage in renal tissues of

- lead acetate-treated rats. *Environ Toxicol*, 30, 1235-1243.
31. Kannappan S., Palanisamy N., Anuradha CV., 2010. Suppression of hepatic oxidative events and regulation of eNOS expression in the liver by naringenin in fructose-administered rats. *Eur J Pharmacol*, 645, 177-184.
32. Chtourou Y., Fetoui H., Gdoura R., 2014. Protective effects of naringenin on iron-overload-induced cerebral cortex neurotoxicity correlated with oxidative stress. *Biol Trace Elem Res*, 158, 376-83.
33. Han X., Pan J., Ren D., Cheng Y., Fan P., Lou H., 2008. Naringenin-7-O-glucoside protects against doxorubicin-induced toxicity in H9c2 cardiomyocytes by induction of endogenous antioxidant enzymes. *Food Chem Toxicol*, 46, 3140-3146.
34. van Acker FA., Schouten O., Haenen GR., van der Vijgh WJ., Bast A., 2000. Flavonoids can replace alpha-tocopherol as an antioxidant. *FEBS Lett*, 473, 145-148.
35. Fernandez MT., Mira ML., Florêncio MH., Jennings KR., 2002. Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study. *J Inorg Biochem*, 92, 105-111.
36. Chtourou Y., Fetoui H., Jemai R., Ben Slima A., Makni M., Gdoura R., 2015. Naringenin reduces cholesterol-induced hepatic inflammation in rats by modulating matrix metalloproteinases-2, 9 via inhibition of nuclear factor κ B pathway. *Eur J Pharmacol*, 746, 96-105.