



Antioxidative effects of tannic acid, cacao oil and st. john's wort oil on the oxidative stress induced by cadmium in packed human erythrocytes

İbrahim Uğur ÇALIŞ^{*1}, Ahu SOYOCAK², Aylin DAL¹, Hülyam KURT¹, Ertuğrul ÇOLAK³,
Didem TURGUT COŞAN¹

ORCID: 0000000329072035; 0000000309992774; 0000000233829451; 0000000324339925; 0000000332511043;
0000000284886405

¹ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Eskişehir, Turkey

² İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul, Turkey

³ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, Eskişehir, Turkey

Abstract

Cadmium (Cd) is among the heavy metals causing environmental pollution and can cause temporary or permanent oxidative stress in the cells. Antioxidative enzyme mechanisms may be inadequate in the response of living organisms to oxidative stress caused by these toxic substances. In this study, in order to prevent Cd induced oxidative stress, the possible protective effects of (TA), cacao oil (CO) and St. John's Wort oil (JWO) on lipid erythrocytes and antioxidant enzymes were investigated. We prepared packed erythrocytes from the blood samples of 7 healthy volunteers. Experiment groups consisting of control, Cd, TA, CO, JWO and their combinations (Cd+TA, Cd+CO ve Cd+JWO) were arranged. In all groups, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were measured. Comparisons between groups of normally distributed variable were evaluated by One-Way variance analysis (ANOVA). Comparisons between groups of not normally distributed variable were evaluated by Kruskal-Wallis test. After Cd administration SOD activity was increased in TA (3507± 68.2 u/gHb), CO (3518 ±170.0 u/gHb) and JWO (3469±249.5 u/ gHb) groups compared to Cd group. After Cd administration MDA levels were decreased in CO (52,1±24,3 nmol/gHb) and JWO (54,1±23,7 nmol/gHb) groups compared to Cd group. However, it did not change in the TA (61,5±50,0 nmol/gHb) group. After Cd administration CAT activity was increased in TA (228,2±31,3 u/gHb), CO (281,6±295,3 u/gHb) and JWO (267,8±69,4 u/gHb) groups compared to Cd group (196,2±223,0 u/gHb). These results indicate that HF and SCI may reduce Cd-induced oxidative stress, but TA is not very effective in terms of MDA levels. These data obtained in terms of other studies may be guiding.

Key words: cadmium, oxidative stress, human erythrocytes

----- * -----

İnsan eritrosit paketinde kadmiyum ile indüklenen oksidatif strese tannik asit, kakao ve sarı kantaron yağının antioksidatif etkileri

Özet

Kadmiyum (Cd), çevre kirliliğine neden olan ağır metaller arasında yer almakta ve hücrelerde geçici veya kalıcı oksidatif strese sebep olabilmektedir. Bu toksik maddelerin oluşturduğu oksidatif strese canlı organizmaların oluşturduğu yanıtta antioksidatif enzim mekanizmaları yetersiz kalabilmektedir. Bu çalışmada, Cd ile indüklenen oksidatif stresi önlemek amacıyla, antioksidan etkileri bilinen tannik asit (TA), kakao yağı (KY) ve sarı kantaron yağının (SKY) insan eritrositlerindeki lipit peroksidasyonu ve antioksidan enzimler üzerine olası koruyucu etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmada, 7 sağlıklı gönüllüden kan örnekleri alınarak eritrosit paketleri hazırlanmıştır. Hazırlanan eritrosit paketlerinden kontrol, Cd, TA, KY, SKY ve kombinasyonlarını (Cd+TA, Cd+KY ve Cd+SKY) içeren deney grupları oluşturulmuştur. Tüm gruplarda süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve katalaz (KAT) enzim düzeyleri ölçülmüştür. Normal dağılım gösteren ve göstermeyen değişken grupları arasındaki karşılaştırmalar Tek Yönlü Varyans

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905333662680; Fax.: +905333662680; E-mail: ugur0620@gmail.com

analizi (ANOVA) ve Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir. SOD aktivitesinin Cd grubuna göre (3231±214,6 ü/gHb), Cd uygulaması sonrası TA (3507±168,2 ü/gHb), KY (3518±170,0 ü/gHb) ve SKY (3469±249,5 ü/gHb) uygulanan gruplarda arttığı gözlemlendi. MDA aktivitesinin Cd grubuna göre (60,3±14,9 nmol/gHb), Cd uygulaması sonrası KY (52,1±24,3 nmol/gHb) ve SKY (54,1±23,7 nmol/gHb) uygulanan gruplarda azaldığı ancak TA (61,5±50,0 nmol/gHb) uygulanan grupta değişmediği gözlemlendi. KAT aktivitesinin Cd grubuna göre (196,2±223,0 ü/gHb), Cd uygulaması sonrası TA (228,2±31,3 ü/gHb), KY (281,6±295,3 ü/gHb) ve SKY (267,8±69,4 ü/gHb) uygulanan gruplarda arttığı gözlemlendi. Bu sonuçlar KY ve SKY'nin Cd ile indüklenen oksidatif stresi azaltabileceğini ancak MDA düzeyleri açısından TA'nin çok fazla etkili olmadığını göstermektedir. Yapılacak diğer çalışmalar açısından elde edilen bu veriler yol gösterici olabilecektir.

Anahtar kelimeler: kadmiyum, oksidatif stres, insan eritrositi

1. Giriş

Oksijen, yaşam için oldukça önemlidir. Fakat metabolizma sonucu ortaya çıkan bazı reaktif oksijen türleri hücre ve dokulara zarar verme potansiyeline sahiptir [1, 2]. Reaktif oksijen türleri moleküler oksijenle kıyaslandığında kimyasal olarak daha aktif yapıdadırlar [3]. Hücrelerdeki oksijen metabolizması gibi endüstriyel atık kirliliği, radyasyon, pestisitler ve kirlenmiş sular serbest radikallerin oluşumuna yol açabilmektedir [4]. Metabolizma sonucu oluşan, O²⁻ (süperoksit radikali), OH (hidroksil radikali) ve H₂O₂ (hidrojen peroksit) gibi reaktif oksijen türleri (ROS) DNA'da kırıklara neden olurken bazların yapısını bozmaktadırlar [4]. Hücrenin normal redoks durumunun bozulmasıyla peroksitler ve serbest radikallerin üretilmesiyle protein, lipid ve DNA'da dahil olmak üzere hücrenin tüm kısımları zarar görmektedir [5].

Kadmiyum (Cd), nikel-kadmiyum piller, boyalar, plastikler, elektrokimya gibi endüstriyel atıkların suya ve çevreye karışmasıyla bitkilerde birikmektedir. Bitkilerde biriken bu Cd'un büyük bir kısmı gıda ve su yolu ile birlikte canlıya geçmektedir. Bunların yanında sigara tüketimiyle de Cd maruziyeti olmaktadır. Cd insanlarda ve hayvanlarda serbest radikal oluşumuna yol açarak, hücresele seviyede hasarı indüklemekte aynı zamanda hücresele redoks tepkimelerinde önemli olan onarım sürecine de hasar vermektedir [6].

Sıçan karaciğer, böbrek ve beyin dokularında oluşan oksidatif hasara karşı antioksidan ajanlar olan vitamin C, vitamin E ve tannik asit gibi polifenolik bileşenler etkili olabilmektedir. Taninlerce zengin tannik asit, çay, kahve, üzüm, fındık gibi bitkilerde yaygın olarak bulunmakta ve bitkinin predatörlerine karşı savunmasında görev yapmaktadır. Ayrıca tannik asidin antioksidan etkisinin olduğu da belirtilmektedir. Yaptığımız bir başka çalışmada da tannik asidin beyin dokusundaki MDA seviyelerini azaltıcı etkili olduğu belirlendi [7-9].

Hypericum cinsi Clusiaceae familyası ve Hypericoideae alt familyasına dahil olan *Hypericum perforatum* L. (sarı kantaron) yağı (St. John's Wort Oil) Türkiye'de çeşitli bölgelerde bulunmaktadır. Geçmiş tarihlerden günümüze kadar mide ağrısı, sinir hastalıkları yaraları iyileştirici etkisi bilinen sarı kantaron, son zamanlarda klinik deneylerde kullanılan ve tıpta popüler olarak kullanılan bir bitkidir [10, 11].

Hypericum perforatum örnekleri *in vitro* da iyi derecede antioksidan aktivite göstermektedir [12].

Kakao, *Theobroma cacao* bitkisinin tohumlarından üretilmektedir. Milattan önce 600 yılından itibaren Mayalar ve Azteklerin bu bitkiyi kullandığı bilinmektedir. Kakao, epikateşin, kateşin ve prosiyanidinler gibi yüksek miktarlarda flavonoidler ihtiva eder. Kakao flavonoidleri güçlü antioksidanlar olarak kabul edilir ve radikal süpürücü etkilidirler [13].

Ağır metal toksisitesinin en çok etkilediği hücreler eritrositlerdir, *in vitro* çalışmalarda Cd'un eritrositlerde oksidatif stresi arttırdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir [14, 15]. Eritrositler, oksidatif strese karşı oksijenle yüksek konsantrasyonda karşılaşmaları sonucu yapılarındaki hemoglobinin kolayca otooksidasyona uğraması ve membranlarının lipid peroksidasyona duyarlı olması ve hasar gören yapı taşlarını tamir etme yeteneklerinin az olması nedeniyle oldukça hassas yapıdadırlar [16].

Cd gibi oksidatif stres oluşturan bazı ajanların neden oldukları hasarı azaltmak ya da tamamen ortadan kaldırmak için çeşitli antioksidan maddeler uygulanmaktadır. Bu çalışmada, ağır metal Cd'un uygulanması sonucu insan eritrositlerinde meydana gelen hasarın belirlenmesi, antioksidan enzim sistemlerinde meydana gelen değişikliklerin incelenmesi için etkinlikleri çeşitli çalışmalarla gösterilmiş olan TA, KY ve SKY'nin olası etkilerinin karşılaştırılması olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve yöntem

Çalışmada sigara ve alkol kullanmayan 23-47 yaş arası 7 sağlıklı gönüllüden alınan 6 ml kan örneğinden eritrosit paketi hazırlandı (Etik kurul no: 80558721/14) Deney için kontrol grubu ile Cd sonrası TA, KY ve SKY uygulanan 8 deney grubu oluşturuldu [17-19] (Tablo 1). Tüm gruplara ait 7 örnekte SOD, MDA ve KAT ölçümleri yapıldı.

Sağlıklı gönüllülerden alınan kanlar EDTA'lı tüplere kondu. 6 ml kan 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılarak kalan kana 3 ml serum fizyolojik kondu. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atılarak kalan kana 3 ml PBS kondu. Bu işlem 3 kez tekrar edildi. Süpernatant atılıp kalan kana 3 ml RPMI 1640 besiyeri koyduktan sonra içerisinde 7 ml besiyeri bulunan tüplere aktarıldı. Total hacim 13 ml'ye tamamlanarak 1'er ml olacak şekilde 8 tüpe dağıtıldı. Bu tüplere uygun solüsyonlar eklenerek 37°C'de su banyosunda 1 saat inkübe edildi.

İnkübasyonun ardından örneklerde MDA, SOD ve KAT spektrofotometrik olarak ölçülerek enzim aktiviteleri belirlendi. Serbest radikal analizleri için; süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite düzeyi (ünite/gram hemoglobin) Yi Sun ve ark. (1988) metodu ile; malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyon düzeyi (nanomol/ gram hemoglobin) Uchiama ve Mihara (1978) metodu ile, katalaz (KAT) enzim aktivite düzeyi (ünite/gram hemoglobin) Goth L. (1991) metodu ile, hemolizat (kan) örneklerinde belirlendi [20-22]. Normal dağılım gösteren değişken grupları arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve normal dağılım göstermeyen değişken grupları arasındaki karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi.

Tablo 1. Deney grupları ve uygulanan madde miktarları

| Deney Grupları (n=7) | Madde miktarları |
|---------------------------------|------------------|
| Kontrol | - |
| Kadmiyum (Cd) | 150 µM |
| Tannik Asit (TA) | 50 µM |
| Kakao yağı (KY) | 1 µl/ml |
| Sarı Kantaron Yağı (SKY) | 1 µl/ml |
| Cd+ TA | 150 µM+50 µM |
| Cd+ KY | 150 µM+1 µl/ml |
| Cd+ SKY | 150 µM+1 µl/ml |

3. Bulgular

Çalışmada kontrole grubuna göre ($49,7 \pm 18,4$ nmol/gHb) MDA seviyesinin Cd uygulanan grupta ($60,3 \pm 14,9$ nmol/gHb) arttığı, KAT aktivitesinin kontrol grubuna göre ($508,7$ ü/gHb) Cd uygulanan grupta ($196,2$ ü/gHb) azaldığı, SOD aktivitesinin ise, kontrol grubuna göre ($3531 \pm 140,4$ ü/gHb), Cd grubunda ($3231 \pm 214,6$ ü/gHb) azaldığı gözlenmiştir. SOD aktivitesinin Cd grubuna göre ($3231 \pm 214,6$ ü/gHb), Cd uygulaması sonrası TA ($3507 \pm 168,2$ ü/gHb), KY ($3518 \pm 170,0$ ü/gHb) ve SKY ($3469 \pm 249,5$ ü/gHb) uygulanan gruplarda arttığı gözlemlendi. MDA aktivitesinin Cd grubuna göre ($60,3 \pm 14,9$ nmol/gHb), Cd uygulaması sonrası KY ($52,1 \pm 24,3$ nmol/gHb) ve SKY ($54,1 \pm 23,7$ nmol/gHb) uygulanan gruplarda azaldığı ancak TA ($61,5 \pm 50,0$ nmol/gHb) uygulanan grupta değişmediği gözlemlendi. KAT aktivitesinin Cd grubuna göre ($196,2 \pm 223,0$ ü/gHb), Cd uygulaması sonrası TA ($228,2 \pm 31,3$ ü/gHb), KY ($281,6 \pm 295,3$ ü/gHb) ve SKY ($267,8 \pm 69,4$ ü/gHb) uygulanan gruplarda arttığı gözlemlendi. (Tablo 2). Bu sonuçlara göre Cd uygulanan gruplarda SOD ve KAT düzeylerinin kontrole göre daha düşük, MDA değerlerinin daha yüksek olduğu, kadmiyum uygulaması sonrası antioksidan madde uygulanan gruplarda TA'nın MDA değerlerini değiştirmediği gözlenmiştir. Cd'un neden olduğu oksidatif stresi ortadan kaldırmada TA'ya göre, KY ve SKY daha etkili bulunmuştur. Gözlenen farklar bulunmakla birlikte sonuçların istatistiksel açıdan anlamlılığı gösterilememiştir.

Tablo 2. Deney grupları ve bunlara ait SOD (ü/gHb), MDA (nmol/gHb) ve KAT (ü/gHb) aktiviteleri (ortalama \pm standart sapma; $p < 0.05$)

| Gruplar | SOD ü/gHb (ortalama \pm ss) | MDA nmol/gHb (ortalama \pm ss) | KAT ü/gHb (ortalama \pm ss) |
|---------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| Kontrol | $3531 \pm 140,4$ | $49,7 \pm 18,4$ | $252,0 \pm 78,0$ |
| Kadmiyum (Cd) | $3231 \pm 214,6$ | $60,3 \pm 14,9$ | $196,2 \pm 223,0$ |
| Tannik Asit (TA) | $3531 \pm 159,1$ | $45,6 \pm 19,0$ | $254,1 \pm 66,6$ |
| Kakao Yağı (KY) | $3543 \pm 159,4$ | $41,3 \pm 16,0$ | $245,8 \pm 68,3$ |
| Sarı Kantaron Yağı (SKY) | $3554 \pm 136,4$ | $52,5 \pm 27,7$ | $243,2 \pm 33,9$ |
| Cd+ TA | $3507 \pm 168,2$ | $61,5 \pm 50,0$ | $228,2 \pm 31,3$ |
| Cd+ KY | $3518 \pm 170,0$ | $52,1 \pm 24,3$ | $281,6 \pm 295,3$ |
| Cd+ SKY | $3469 \pm 249,5$ | $54,1 \pm 23,7$ | $267,8 \pm 69,4$ |
| Gruplar arası fark | $p=0,050$ | $p=0,347$ | $p=0,709$ |

4. Sonuçlar ve tartışma

Sunulan bu çalışmada oksidatif stres ajanı olarak eritrositlere uygulanmak üzere Cd seçilmiştir. Cd zehirlenmelerinde birçok organ zarar görür. Kadmiyumun vücuttaki dağılımı, alınış yolu, dozu ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Kadmiyum vücutta kan hücrelerine ve kan dolaşımındaki proteinlere bağlanarak diğer organlara taşınır. Elimine edilmesinde rol oynayan karaciğer ve böbrek kadmiyum toksisitesinin ana hedefidir. Kadmiyum serbest radikal

oluşumuna neden olması ve antioksidan savunma sisteminde bozukluğa neden olması nedeniyle sitotoksiktir. Bununla birlikte kadmiyum direkt olarak serbest oksijen radikali üretmekten çok, mitokondriyal elektron transfer zincirini etkileyerek ya da glutatyon tüketimini artırarak indirekt yoldan da serbest radikal üretimine katkıda bulunur [23, 24].

Serbest radikaller hücrede DNA, lipid, protein, karbohidratlar gibi bileşiklerine etki ederek onların bozulmasına ve böylece lipid peroksidasyonuna neden olur [25]. Malondialdehit (MDA), hücre lipidlerinin yapılarının okside edilerek bozulması ile oluşan ana metabolit olup, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir [26]. Serbest radikallerden kaynaklanan oksidasyonları önleyen, oluşan serbest radikalleri yakalayan ve stabilize eden maddeler ise antioksidan olarak bilinir. Antioksidanlar, oluşan serbest radikallerle reaksiyona girerek yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Doğal antioksidan kategorisindeki katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) gibi enzim sistemleri, serbest radikalleri yok etme özelliğine sahiptir. Bu enzimler, serbest radikallerin proteinler, lipidler ve DNA gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini önleyebilmektedirler [23].

Zikic ve arkadaşlarının akvaryum balıklarının eritrositlerinde yaptığı bir çalışmada kadmiyum (Cd)'un SOD ve KAT aktivitelerini önemli derecede azalttığını bildirmişlerdir [27].

Diğer bir çalışmada Shukla ve ark. intraperitoneal olarak verilen kadmiyumun katalaz aktivitesini engellediğini bildirmiştir [28]. Yine Hussain ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada intraperitoneal olarak uygulanan kadmiyum asetatın lipid peroksidasyonuna yol açtığı, SOD enzim aktivitesini inhibe ettiği bildirilmektedir [29]. Kara ve arkadaşlarının kadmiyum ile yaptığı bir çalışmada kadmiyumun MDA seviyelerini yükselttiği gözlenmiştir [30].

El Sayed ve arkadaşları ağır metal olan kurşunla farelerde oluşturulan oksidatif strese, kurşunun SOD ve KAT aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Yine bu çalışmada kurşunla birlikte verilen tannik asit SOD ve KAT'ın aktivitesini olumlu yönde etkilemiştir [31].

Çalışmamızda lipid peroksidasyonun göstergelerinden olan MDA düzeylerinin, Cd uygulaması sonrası arttığı, antioksidan enzim sistemlerinden SOD ve katalazın ise düştüğü gözlemlendi. Cd nedeni ile oluşan bu olumsuz tablonun düzeltilmesinde etkili olabileceği düşünülen çeşitli doğal antioksidan bileşenler uygulandığında ortaya çıkan sonuçlar literatürdeki bilgilerle karşılaştırıldı. Flavonoidler, özellikle epikateşin ve kateşin Fe ve Cu gibi metalleri şelatlarlar. Flavonoidler, peroksil, peroksintrit, süperoksit ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil gibi radikalleri nötralize ederler [32]. Bir flavanoid olan TA'nın demir iyonlarına etki ederek tekli oksijen, azot oksit ve hidroksil radikallerinin oluşumunu önlediği gösterilmiştir [33].

Lenfositlerle yapılan bir çalışmada H₂O₂ ile indüklenmiş oksidatif DNA stresinde TA'nın DNA hasarını azalttığı gözlenmiştir [34]. TA'nın demir iyonlarına bağlanarak (şelasyon) hidroksil radikali oluşumunu önlemek yoluya oksidatif hasarı engellediği ileri sürülmüştür [33]. Bunun yanı sıra tannik asidin antioksidan etkisinin in vitro insan lenfositlerinde H₂O₂ aracılı DNA hasarlarında Fe, Cu gibi metalleri ve serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırarak gösterdiği bildirilmiştir [34]. Çalışmamızda Cd uygulaması ile azalan SOD seviyesinin artırılmasında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte TA'nın etkili olabileceği gözlemlendi.

Bir diğer flavanoid KY doğal bir antioksidandır. Jalil ve arkadaşlarının obez ve diyabetik ratlarda yaptığı bir çalışmada kakaonun SOD enzim aktivitesini arttığı, katalaz aktivitesinin kakao uygulanan grupta azaldığını bildirmişlerdir [35]. Çalışmalarda kakao'nun antioksidan sistemini olumlu etkilediği vurgulanmaktadır. Kakao ile süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesinin artırılması O₂ ve H₂O₂ gibi enzim substratlarının doğrudan nötralizasyonuna bağlı olabilir. Kakao fenoller, süperoksit dismutaz gibi güçlü antioksidanların up-regülasyonu için önemli bir role sahip olabilir. Çalışmamızdan elde edilen veriler Cd uygulaması sonrası SOD, katalaz düzeyleri ve MDA açısından kakaonun olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Noori ve arkadaşları tarafından yapılan ve kakaonun antioksidan rolünün araştırıldığı bir çalışmada, sıçan karaciğer, kalp ve böbrek dokularında farklı dokularda SOD, katalaz ve MDA'nın farklı sonuçlar verdikleri bildirilmiştir. Bu çalışmada kakao uygulanan gruplarda karaciğer dokusunda SOD, katalaz ve MDA da artış olurken, kalp dokusunda SOD ve MDA'da değişiklik gözlenmemiş ancak katalaz aktivitesi artmıştır. Aynı çalışmada böbrekte SOD, katalaz ve MDA'da değişiklik görülmemiştir [36]. Çalışmamızda Cd uygulaması ile artan MDA seviyesini düşürmede, azalan SOD ve KAT aktivitesini arttırmada KY'nin etkili olduğu gözlemlendi.

Çalışmamızda kullanılan bir diğer antioksidan bileşik olan *Hypericum perforatum* (sarı kantaron) ile çeşitli çalışmalar yapılmıştır. El-Sherbiny ve arkadaşları tarafından scopolamin ile sıçan beyinde oluşturulan oksidatif stres sonrası uygulanan *Hypericum perforatum* (sarı kantaron) ekstraktlarının MDA seviyelerini düşürdüğü, SOD seviyelerini değişmediği gösterilmiştir [37]. Rotenonun toksik etkisiyle yapılan bir çalışmada farklı olarak sarı kantaron ekstraktının sıçan beyinde MDA seviyelerini azalttığı ve katalaz aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Çalışmamızda Cd uygulaması ile artan MDA seviyesini düşürmede, azalan SOD ve KAT aktivitesini arttırmada SKY'nin etkili olduğu gözlemlendi.

Kaynaklar

- [1] Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.
- [2] Zhou D, Shao L, Spitz DR. (2014). Reactive oxygen species in normal and tumor stem cells. *Advances in cancer research*: Elsevier. p. 1-67. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420117-0.00001-3>
- [3] Nawar WW. (1996). Lipids. In "Food Chemistry", O.R.Fennema. 3rd ed. New York: Marcel Dekker; p. 225-319.

- [4] Kaur C, Kapoor HC. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *International journal of food science & technology*. 36:703-25. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.00513.x>
- [5] Wijeratne SS, Cuppett SL, Schlegel V. (2005). Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in Caco-2 human colon cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53:8768-74. <https://doi.org/10.1021/jf0512003>
- [6] Attia A, Ibrahim F, EL-Latif NAA, Aziz SW. (2014). Antioxidant effects of curcumin against cadmium chloride-induced oxidative stress in the blood of rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 6:33-40. <https://doi.org/10.5897/JPP2014.0316>
- [7] Calis IU, Cosan DT, Saydam F, Kolac UK, Soyocak A, Kurt H, et al. (2016). The effects of monosodium glutamate and tannic acid on adult rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 18. DOI: <https://doi.org/10.5812/ircmj.37912>
- [8] Katie E, Thorington R. (2006). *Squirrels: the animal answer guide*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- [9] Kuppasamy UR, Das NP. (1993). Protective effects of tannic acid and related natural compounds on *Crotalus adamanteus* subcutaneous poisoning in mice. *Pharmacology & toxicology*. 72:290-5. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1993.tb01652.x>
- [10] Altay V, Karahan F, Sarcan YB, İlçim A, Fen MKÜ. (2015). An ethnobotanical research on wild plants sold in Kırıkhan district (Hatay/Turkey) herbalists and local markets. *Biological Diversity and Conservation*. 8:81-91.
- [11] Ekren S. (2010). *Hypericum perforatum L. Klonlarının Bazı Tarımsal ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma*. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 16.
- [12] Sanchez-Reus M, del Rio MG, Iglesias I, Elorza M, Slowing K, Benedi J. (2007). Standardized *Hypericum perforatum* reduces oxidative stress and increases gene expression of antioxidant enzymes on rotenone-exposed rats. *Neuropharmacology*. 52:606-16. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.09.003>
- [13] Ramiro-Puig E, Castell M. (2009). Cocoa: antioxidant and immunomodulator. *British Journal of Nutrition*. 101:931-40. <https://doi.org/10.1017/S0007114508169896Published>
- [14] Bansal A, Bhatnagar D. (1996). Cadmium induced lipid peroxidation and antioxidant enzymes in vitro in human erythrocytes. *Fresenius Environmental Bulletin*. 5:460-5. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(96\)00052-5](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(96)00052-5)
- [15] Coşan DT, Aylin D, Soyocak A, Çolak E, Çiçek A, Hülyam K. (2017). Kadmiyum toksisitesi oluşturulan sıçanlarda tannik asitin, ağır metal giderimi ve bazı biyokimyasal değerler üzerine etkisinin araştırılması. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 18:146-53.
- [16] Kılınç İ, Altuntaş İ, Kaptanağası M, Doğuç DK, Mollaoglu H, Kaleli S. (2003). Chlorpiriphos-ethyl'in rat plazmasında in vivo lipoperoksidatif etkisi ile melatonin ve vitamin C+ vitamin E'nin koruyucu etkilerinin araştırılması. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 10.
- [17] Hasan SA, Ali B, Hayat S, Ahmad A. (2007). Cadmium-induced changes in the growth and carbonic anhydrase activity of chickpea. *Turkish Journal of Biology*. 31:137-40.
- [18] Abed M, Herrmann T, Alzoubi K, Pakladok T, Lang F. (2013). Tannic acid induced suicidal erythrocyte death. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 32:1106-16. <https://doi.org/10.1159/000354510>
- [19] Dasgupta A, Tso G, Szelei-Stevens K. (2006). St. John's wort does not interfere with therapeutic drug monitoring of 12 commonly monitored drugs using immunoassays. *Journal of clinical laboratory analysis*. 20:62-7. <https://doi.org/10.1002/jcla.20098>
- [20] Sun Y, Oberley LW, Li Y. (1998). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry*. 34:497-500.
- [21] Uchiyama M, Mihara M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical biochemistry*. 86:271-8. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)
- [22] Goth L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica chimica acta*. 196:143-51. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(91\)90067-M](https://doi.org/10.1016/0009-8981(91)90067-M)
- [23] Karaca Ö, Sunay FB, Kuş MA, Gülçen B, Özcan E, Ögetürk M, et al. (2014). Kadmiyum ile Oluşturulan Deneysel Karaciğer Hasarına Karşı Melatoninin Etkilerinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Düzeylerde İncelenmesi. *Fırat Tıp Derg.* 19:110-5.
- [24] Rani A, Kumar A, Lal A, Pant M. (2014). Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *International journal of environmental health research*. 24:378-99. <https://doi.org/10.1080/09603123.2013.835032>
- [25] El-Sokkary GH, Nafady AA, Shabash EH. (2010). Melatonin administration ameliorates cadmium-induced oxidative stress and morphological changes in the liver of rat. *Ecotoxicology and environmental safety*. 73:456-63. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.09.014>
- [26] Shaikh ZA, Vu TT, Zaman K. (1999). Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicology and applied pharmacology*. 154:256-63. <https://doi.org/10.1006/taap.1998.8586>
- [27] Žikić R, Štajn A, Pavlović S, Ognjanović B, Saičić Z. (2001). Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes and plasma transaminases of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) exposed to cadmium. *Physiol Res*. 50:105-11.

- [28] Shukla GS, Hussain T, Srivastava RS, Chandra SV. (1989). Glutathione peroxidase and catalase in liver, kidney, testis and brain regions of rats following cadmium exposure and subsequent withdrawal. *Industrial health*. 27:59-69.
- [29] Hussain T, Shukla GS, Chandra S. (1987). Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: in vivo and in vitro studies. *Pharmacology & toxicology*. 60:355-8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1987.tb01526.x>
- [30] Kara H, Karatas F, Canatan H, Servi K. (2005). Effects of exogenous metallothionein on acute cadmium toxicity in rats. *Biological trace element research*. 104:223-32.
- [31] El-Sayed IH, Lotfy M, El-Khawaga O-AY, Nasif WA, El-Shahat M. (2006). Prominent free radicals scavenging activity of tannic acid in lead-induced oxidative stress in experimental mice. *Toxicology and industrial health*. 22:157-63. <https://doi.org/10.1191/0748233706th256oa>
- [32] Sutherland BA, Rahman RM, Appleton I. (2006). Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration. *The Journal of nutritional biochemistry*. 17:291-306. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.10.005>
- [33] Lopes GK, Schulman HM, Hermes-Lima M. (1999). Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1472:142-52. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(99\)00117-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(99)00117-8)
- [34] Wu L, Chu C, Chung J, Chen C-H, Hsu L-S, Liu J-K, et al. (2004). Effects of tannic acid and its related compounds on food mutagens or hydrogen peroxide-induced DNA strands breaks in human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 556:75-82. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.07.004>
- [35] Jalil AMM, Ismail A, Pei CP, Hamid M, Kamaruddin SHS. (2008). Effects of cocoa extract on glucometabolism, oxidative stress, and antioxidant enzymes in obese-diabetic (Ob-db) rats. *Journal of agricultural and food chemistry*. 56:7877-84. <https://doi.org/10.1021/jf8015915>
- [36] Noori S, Nasir K, Mahboob T. (2009). Effects of cocoa powder on oxidant/antioxidant status in liver, heart and kidney tissues of rats. *J Anim Plant Sci*. 19:174-8.
- [37] El-Sherbiny DA, Khalifa AE, Attia AS, Eldenshary EE-DS. (2003). Hypericum perforatum extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 76:525-33. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.09.014>

(Received for publication 16 June 2019; The date of publication 15 December 2019)