

TC
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIR METAL VE ADRENOMEDULLİN UYGULAMASININ BAZI SIÇAN
DOKULARINDA ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

MEHMET İLKER DOĞRU

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

MALATYA
ŞUBAT 2007

Tezin Başlığı : Ağır Metal ve Adrenomedullin Uygulamasının Bazı Sıçan Dokularında Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Tezi Hazırlayan : **Mehmet İlker DOĞRU**

Sınav Tarihi : 23.02.2007

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

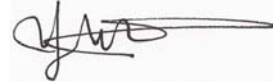
Prof. Dr. Murat ÖZMEN

İnönü Üniversitesi



Prof. Dr. Muhittin YÜREKLİ

İnönü Üniversitesi



Doç. Dr. Işık YULUĞ

Bilkent Üniversitesi



Doç Dr. İsmet YILMAZ

İnönü Üniversitesi



Doç. Dr. Hikmet GEÇKİL

İnönü Üniversitesi



Prof. Dr. Ali ŞAHİN
Enstitü Müdürü

Onur Sözü

Doktora Tezi olarak sunduğum ‘‘Ağır Metal ve Adrenomedullin Uygulamasının Bazı Sıçan Dokularında Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması’’ başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden olduğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.



Mehmet İlker DOĞRU

ÖZET

Doktora Tezi

AĞIR METAL VE ADRENOMEDULLİN UYGULAMASININ BAZI SIÇAN DOKULARINDA ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet İlker DOĞRU

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

85 + ix sayfa

2007

Danışman: Prof. Dr. Muhittin YÜREKLİ

Adrenomedullin (AdM) ilk kez insan feokromositomasından izole edilen, ancak daha sonra pek çok dokuda ifade edildiği keşfedilen, çok fonksiyonlu bir peptittir. AdM'nin en karakteristik biyolojik özelliği çok güçlü hipotansif aktivitesidir. AdM dolaşımdaki bir hormon gibi rol oynar ve çok yönlü biyolojik aktiviteleri başlatır. Son zamanlarda araştırmacılar tarafından AdM'nin antioksidan özelliklere sahip olabileceği ve hücreleri oksidan hasardan koruyabileceği rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, kadmiyum ve kurşuna maruz kalan sıçanların karaciğer, akciğer ve böbreklerinde AdM uygulamasının antioksidan sistem üzerine etkisi araştırılmıştır. Otuz altı dişi Wistar sıçanı, kontrol grubu (K), adrenomedullin grubu (AdM), kadmiyum (Cd), kadmiyum + adrenomedullin (Cd + AdM), kurşun (Pb) ve kurşun + adrenomedullin (Pb + AdM) grubu olacak şekilde altı gruba ayrılmıştır. Cd ve Pb uygulanan gruplardaki sıçanlar dört hafta boyunca içme suyu ile sırasıyla 100 ppm CdCl₂ ve 250 ppm PbCl₂'ye maruz bırakılmıştır. AdM uygulaması yapılan grupta sıçanlara ağır metal uygulamasının üçüncü haftasından itibaren bir hafta boyunca intraperitoneal olarak AdM (3000 ng/kg vücut ağırlığı) enjekte edilmiştir. Sıçanların dokularında katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) seviyeleri ile birlikte histopatolojik değişimler tespit edilmiştir. Aynı zamanda dokulardaki kadmiyum ve kurşun seviyeleri atomik absorpsiyon spektrometre (AAS) ile belirlenmiştir.

Sonuç olarak, kurşuna maruz kalan sıçanlarda AdM uygulaması, karaciğer ve akciğer dokularında lipit peroksidasyon, doku Pb seviyelerinde azalmaya ve hepatik hasarda da azalmaya yol açmıştır. Ancak kadmiyuma maruz kalan sıçanlarda AdM uygulaması bu parametrelerde iyileştirici etki göstermemiştir. Buna ilaveten AdM uygulaması, hem kadmiyuma hem de kurşuna maruz kalan sıçanların bazı antioksidan enzim aktivitelerinde telafi edici sonuçlara yol açmıştır. Çalışmada elde edilen veriler bir bütün olarak değerlendirildiğinde AdM'nin kadmiyum ve kurşun toksisitesinde koruyucu veya telafi edici etkilerinin olabileceği söylenebilir.

ANAHTAR KELİMELER: Adrenomedullin, antioksidan enzimler, lipit peroksidasyonu, kadmiyum, kurşun, sıçan

ABSTRACT

Ph.D.Thesis

THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF HEAVY METAL AND ADRENOMEDULLIN TREATMENT ON THE ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEMS IN SOME RAT TISSUES

Mehmet İlker DOĞRU

Inonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

85 + ix pages

2007

Supervisor: Prof. Dr. Muhittin YÜREKLİ

Adrenomedullin (AdM) is a multifunctional peptide, originally isolated from human pheochromocytoma but later found to be ubiquitously expressed. The most characteristic biological activity of AdM is its very powerful hypotensive activity. AdM acts as a circulating hormone and elicits multiple biological activities. Recently, it has been reported that AdM may possess antioxidant properties and protect cells from oxidant damage.

In this study, we investigated the effect of AdM administration on the antioxidant system in liver, lungs and kidneys of rats exposed to cadmium and lead. Thirty-six female Wistar rats were divided into six groups: Control group (C), adrenomedullin group (AdM), cadmium (Cd), cadmium + adrenomedullin (Cd + AdM), lead (Pb) and lead + adrenomedullin (Pb + AdM) group. In Cd and Pb-treated groups, animals were exposed to cadmium and lead in drinking water containing 100 ppm CdCl₂ and 250 ppm PbCl₂ for four weeks, respectively. In AdM-treated group, animals received intraperitoneal (i.p.) injection of AdM (3000 ng/kg body weight) in the third week of heavy metal treatment for one week. The activities of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD), the level of malondialdehyde (MDA) and histopathological changes were determined in the tissues of rats. Also, cadmium and lead levels in the tissues were determined by atomic absorption spectrometer (AAS).

In conclusion, AdM treatment decreased lipid peroxidation and tissue Pb levels in liver and lung, and also reduced hepatic damage in Pb exposed rats. But in Cd exposed rats, ameliorative effect of AdM treatment was not observed in these parameters. Moreover, AdM treatment compensated some antioxidant enzyme activities in both Cd and Pb exposed rats. When the results are taken together, it can be concluded that AdM may have protective or compensating effect in cadmium and lead toxicity.

KEYWORDS: Adrenomedullin, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, cadmium, lead, rat

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın başlangıcından bitimine kadar her aşamasında çok değerli bilgi birikimlerini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Muhittin YÜREKLİ'ye,

Doktora tez çalışmam süreci içerisinde bölüm imkanlarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Murat ÖZMEN'e,

Çalışmalarda kimya bölümündeki laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan Doç. Dr. İsmet YILMAZ'a, Burhan ATEŞ'e, Selim ERDOĞAN'a ve Ali ERDOĞAN'a,

Histolojik incelemede yardımcı olan Prof. Dr. Mukaddes EŞREFOĞLU ve Dr. Mehmet GÜL'e,

Deney verilerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımlarından dolayı Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Saim YOLOĞLU'na,

Çalışmanın yürütülmesinde proje desteğinden dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (BAPB 2004/21),

Bu tezin deneysel aşamasındaki yardımları ve yazım aşamasındaki manevi katkılarından dolayı eşim Arş. Gör. Arzu DOĞRU'ya,

Varlığı ile bana mutluluk kaynağı olan oğlum Cankat DOĞRU'ya,

Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Genel Bilgiler	1
1.2 Kurşun	4
1.2.1 Kurşunun çevreye dağılımı ve canlılara geçişi	5
1.2.2 Kurşunun canlılara olan etkisi	6
1.2.3 Kurşunun hücre zarlarına etkisi	10
1.2.4 Kurşunun hemoglobin biyosentezine etkisi	10
1.2.5 Kurşunun DNA üzerine etkisi	11
1.2.6 Kurşunun antioksidan savunma sistemlerine etkisi	11
1.3 Kadmiyum	12
1.3.1 Kadmiyumun çevreye dağılımı ve canlılara geçişi	13
1.3.2 Kadmiyumun canlılara etkisi	14
1.3.3 Kadmiyum karsinogenezi	16
1.4 Adrenomedullin	18
1.4.1 Yapı ve moleküler biyoloji	18
1.4.2 Adrenomedullinin doku dağılımı	19
1.4.3 Adrenomedullinin sentez ve salınımı	20
1.4.4 Adrenomedullinin reseptörleri ve sinyal iletimi	20
1.4.5 Adrenomedullinin fizyolojisi	21
1.5 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	23
1.5.1 Reaktif oksijen türleri	24
1.5.2 Serbest radikallerin biyomoleküllere etkileri	24
1.5.3 Serbest radikallere karşı antioksidan savunma sistemleri	26
1.5.4 Enzim yapısındaki antioksidanlar	27
2. KAYNAK ÖZETLERİ	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM	34
3.1 Deneylede Kullanılan Sıçanlar	34
3.1.1 Kurşun uygulaması	34
3.1.2 Kadmiyum uygulaması	34
3.1.3 Adrenomedullin uygulaması	34
3.2 Organların Alınması	35
3.2.1 Karaciğer, akciğer ve böbreklerin alınması ve homojenizasyonu	35
3.3 Toplam Protein Ölçümü	35
3.3.1 Dokulardaki toplam protein tayini	36
3.4 Enzim Aktivite Tayinleri	37
3.4.1 Katalaz aktivite tayini	37
3.4.2 Se-Bağımlı glutatyon peroksidaz aktivite tayini	37
3.4.3 Süperoksit dismutaz aktivite tayini	38
3.5 Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi	40
3.6 Dokulardaki Kurşun ve Kadmiyum Miktar Tayini	41
3.7 Histolojik İnceleme	41

3.8	İstatistiksel Yöntem	41
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	43
4.1	Karaciğer, Akciğer ve Böbrek Dokularında Pb ve Cd Seviyeleri	45
4.1.1	Kurşun seviyesi	45
4.1.2	Kadmiyum seviyesi	47
4.2	Lipit Peroksidasyon Seviyeleri	48
4.3	Enzim Aktivite Sonuçları	50
4.3.1	Katalaz	50
4.3.2	Süperoksit dismutaz	52
4.3.3	Glutasyon peroksidaz	55
4.4	Histolojik İnceleme	57
4.4.1	Karaciğer histopatolojik sonuçları	57
4.4.2	Akciğer histopatolojik sonuçları	61
4.4.1	Böbrek histopatolojik sonuçları	64
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	69
6.	KAYNAKLAR	78
	ÖZGEÇMİŞ	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAS	Atomik absorpsiyon spektrometre
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
AdM	Adrenomedullin
ALA	Aminolevulinik asit
ALAD	Aminolevulinik asit dehidrataz
ANP	Atriyal natriüretik peptit
AVP	Arjinin-vazopressin
BSA	Bovine Serum Albumin
cAMP	Siklik adenzin monofosfat
CAT	Katalaz
CGRP	Kalsitonin gen ilişkili peptit
Cd	Kadmiyum
ÇSS	Çevresel sinir sistemi
DNA	Deoksiribonükleik asit
ET-1	Endotelin-1
GFR	Glomerular filtrasyon oranı
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Redükte glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
GST	Glutasyon-S-transferaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
H-E	Hematoksilen-eosin
HOCl	Hipokloröz asit
HO [•]	Hidroksil radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IL-1 α	İnterlökin-1 α
IL-1 β	İnterlökin-1 β
LPO	Lipit peroksitler
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
MSS	Merkezi sinir sistemi
MT	Metallotionin
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (redükte)
NBT	Nitroblue tetrazolium
NO	Nitrik oksit
O ₂ ^{↑↓}	Tekil oksijen
O ₂ ^{•-}	Süperoksit radikali
Pb	Kurşun
PKC	Protein kinaz C
ROT	Reaktif oksijen türleri
RT-PCR	Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
SH	Sülfidril grubu
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiobarbiturik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TNF- α	Tümör nekroz faktör- α
TNF- β	Tümör nekroz faktör- β

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Toksik özellik gösteren ağır metaller	3
Şekil 1.2.	Absorbe edilen kurşunun insanlardaki dolaşımı	7
Şekil 1.3.	Kurşun ile indüklenen oksidatif streste olası mekanizmalar.....	9
Şekil 1.4.	Kurşunun hem sentezine olan etkisi	11
Şekil 1.5.	Kadmiyum ile indüklenen olası oksidatif stres	16
Şekil 1.6.	Kadmiyum karsinogenezindeki moleküler etkiler	17
Şekil 1.7.	İnsan proAdM'sinin translasyon sonrası sürecinden oluşan AdM ve PAMP	19
Şekil 1.8.	Adrenomedullinin reseptör kompozisyonu ve hücre içi sinyal yolu	21
Şekil 1.9.	Adrenomedullinin biyolojik rolleri	21
Şekil 4.1.	Karaciğer dokusunda Pb seviyelerindeki değişimler	46
Şekil 4.2.	Akciğer dokusunda Pb seviyelerindeki değişimler	46
Şekil 4.3.	Böbrek dokusunda Pb seviyelerindeki değişimler	47
Şekil 4.4.	Karaciğer, akciğer ve böbrek dokusunda Cd seviyelerindeki değişimler	47
Şekil 4.5.	Karaciğer dokusundaki MDA seviyeleri	48
Şekil 4.6.	Akciğer dokusundaki MDA seviyeleri	49
Şekil 4.7.	Böbrek dokusundaki MDA seviyeleri	49
Şekil 4.8.	Akciğer dokusundaki Pb ve MDA seviyelerindeki ilişki	50
Şekil 4.9.	Karaciğer dokusundaki CAT enzim aktivitelerindeki değişimler.	51
Şekil 4.10.	Akciğer dokusundaki CAT enzim aktivitelerindeki değişimler...	52
Şekil 4.11.	Böbrek dokusundaki CAT enzim aktivitelerindeki değişimler...	52
Şekil 4.12.	Karaciğer dokusundaki SOD enzim aktivitelerindeki değişimler.	53
Şekil 4.13.	Akciğer dokusundaki SOD enzim aktivitelerindeki değişimler...	54
Şekil 4.14.	Böbrek dokusundaki SOD enzim aktivitelerindeki değişimler....	54
Şekil 4.15.	Karaciğer dokusundaki GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler	56
Şekil 4.16.	Akciğer dokusundaki GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler	56
Şekil 4.17.	Böbrek dokusundaki GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler	57
Şekil 4.18.	Kontrol grubu karaciğer kesiti	57
Şekil 4.19.	AdM grubu karaciğer kesiti	58
Şekil 4.20.	Pb grubu karaciğer kesiti	58
Şekil 4.21.	Pb grubu karaciğer kesiti	59
Şekil 4.22.	Pb + AdM grubu karaciğer kesiti	59
Şekil 4.23.	Cd grubu karaciğer kesiti	60
Şekil 4.24.	Cd + AdM grubu karaciğer kesiti	60
Şekil 4.25.	Kontrol grubu akciğer kesiti	61
Şekil 4.26.	Pb grubu akciğer kesiti	61
Şekil 4.27.	Pb grubu akciğer kesiti	62
Şekil 4.28.	Pb + AdM grubu akciğer kesiti	62
Şekil 4.29.	Cd grubu akciğer kesiti	63
Şekil 4.30.	Cd + AdM grubu akciğer kesiti	63
Şekil 4.31.	Cd + AdM grubu akciğer kesiti	64
Şekil 4.32.	Kontrol grubu böbrek kesiti	64
Şekil 4.33.	AdM grubu böbrek kesiti	65

Şekil 4.34.	Pb grubu böbrek kesiti	65
Şekil 4.35.	Pb grubu böbrek kesiti	66
Şekil 4.36.	Pb + AdM grubu böbrek kesiti	66
Şekil 4.37.	Cd grubu böbrek kesiti	67
Şekil 4.38.	Cd grubu böbrek kesiti	67
Şekil 4.39.	Cd + AdM grubu böbrek kesiti	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	SOD aktivite tayininde kullanılan çözelti miktarları	39
Çizelge 4.1.	AdM ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak doku kurşun ve kadmiyum seviyeleri	43
Çizelge 4.2.	Adrenomedullin ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak biyokimyasal parametrelerdeki değişimler	44
Çizelge 4.3.	Karaciğer hasar sonuçları	45

1. GİRİŞ

1.1 Genel Bilgiler

Ağır metal terimi genel olarak kirletici ve yüksek oranda toksikolojik veya ekotoksikolojik potansiyele sahip metalleri ve yarı metalleri (metaloit) içine alan bir grup metal için kullanılmaktadır. Bu kapsamdan dolayı ağır metal olarak kabul edilen elementler söz konusu olduğunda, gerçekte birbirlerinden oldukça farklı özellikleri olan elementler topluluğu anlatılmak istenmektedir.

Literatürdeki ağır metal tanımları incelendiği zaman yoğunluk, atom ağırlığı, atom numarası ve diğer kimyasal özelliklere göre çeşitli ağır metal tanımları bulunmaktadır. Yoğunluğa göre yapılan tanımlarda; en düşük 3.5 g/cm^3 den başlamak üzere 7 g/cm^3 ve üzeri yoğunluğa sahip elementlerin ağır metal olduğunu belirten pek çok farklı ağır metal tanımı bulunmaktadır. Atom ağırlığına göre yapılan tanımlarda ise; “atom ağırlığı sodyumdan büyük olanlar” veya “atom ağırlığı 40’dan büyük olan metaller ağır metaldir” şeklinde tanımlar bulunmaktadır. Eğer atom ağırlığı sodyumdan fazla olan metaller ağır metal olarak kabul edilirse, ağır metaller magnezyum elementinden itibaren başlamakta, atom ağırlığı 40’dan fazla olan elementler ağır metal olarak kabul edilirse, ağır metaller skandiyum elementinden itibaren başlamaktadır. Atom numarasına göre yapılan tanımlarda ise; “atom numarası kalsiyumdan fazla olan metaller”, “atom numarası 20 den fazla olan metaller” ve “atom numarası 21 (skandiyum) ila 92 (uranyum) arasında olan metaller ağır metal olarak kabul edilmektedir” şeklinde tanımlar bulunmaktadır. Ağır metallerin skandiyumdan itibaren başladığını belirten tanımlar kabul edildiğinde ise, bu durumda yoğunluğu 3 g/cm^3 ’ün altında olan elementler de ağır metal kategorisine girmektedir [1].

Literatürde pek çok ağır metal tanımı olmasına karşın, günümüzde ağır metaller için herkes tarafından kabul edilmiş ve fikir birliğine varılmış tek bir tanım bulunmamaktadır. Toksikoloji konusunda yaygın bir şekilde ders kitabı olarak kullanılan “Casarett and Doull’s Toxicology” kitabında “ağır metal” teriminin hiç kullanılmaması bu nedenle sürpriz değildir [2]. Duffus ağır metal terimini yanlış kullanılan ve anlamsız bir terim olarak kabul etmekte ve bu nedenle periyodik tablo temelli olarak yeni bir metal sınıflandırılma yapılması gerektiğini bildirmektedir [1]. Ancak bu düşünce bilim dünyasında herkes tarafından henüz kabul edilmediği için bundan sonraki bölümlerde de “ağır metal” terimi tarafımızca kullanılacaktır.

Ağır metaller yer kabuğunun doğal bileşenleri olup bozunmayan ve yok edilmeyen bileşiklerdir [3, 4]. Ağır metallerin genellikle yer kabuğunun derinliklerinde bulunmalarından dolayı, doğal yollar ile canlılara geçme olasılığı azdır. Ancak insan faktörü nedeni ile bu durum günümüzde tamamen ortadan kalkmış ve ağır metaller ekosistemin her tarafında bulunur hale gelmiştir [4, 5]. Son yüz yıl içerisinde madencilik faaliyetlerinin sınırlandırılmamış olması, fosil yakıtların kullanılması, sanayi ve endüstriyel faaliyetlerin artması, bu faaliyetlerde ağır metallerin kullanılması ve ağır metal içeren atıkların doğrudan veya işlemlerden sonra doğaya verilmesi gibi insan faktöründen kaynaklanan nedenlerle biyosferde büyük oranda ağır metal kirliliği gerçekleşmektedir. Bugünün endüstri toplumunda toksik kimyasallara ve ağır metallerle maruz kalma kaçınılmaz hale gelmiştir. Ağır metallerin yaşama olan tehditleri her geçen gün artmaktadır. Çünkü her yıl çevreye eklenen ağır metal kirliliğinin toksisite toplamı, tüm organik ve radyoaktif atıkların birleşiminin toksisite toplamını geçmektedir [6, 7]. Atmosfere giren ağır metaller uzak mesafelere taşınabilmekte ve bazı formları canlıların yaşamını tehdit etmektedir [4].

Bazı ağır metalleri de içine alan çeşitli elementler canlıların yaşamlarını devam ettirilmesi için mutlaka gereklidirler [3]. İz element olarak ta adlandırılan bu metaller/elementler veya bazı formları sebze, meyve, gıda maddeleri ve ticari olarak satılan multi-vitamin ürünlerinde bulunmaktadır [9]. İz elementlere örnek olarak demir, çinko ve bakır verilebilir. Çinko pek çok enzim için kofaktör olarak görev alırken, demir de aneminin önlenmesinde rol oynamaktadır. Normal şartlarda bu metaller canlılarda düşük miktarlarda bulunurlar [7]. Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlarda canlılar için toksik olabilirler [3, 7]. Kurşun, kadmiyum ve cıva gibi ağır metaller ise herhangi bir biyolojik rolü olmayan ve düşük konsantrasyonlarda bile canlılar için toksik olan metallerdir [8]. Şekil 1.1’de periyodik cetvelde toksik özellik gösteren ağır metaller verilmiştir.

1																	18
H	2																He
Li	Be											13	14	15	16	17	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	*	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	#	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	110								

* Lantanitler	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
# Aktinitler	Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr

Şekil 1.1. Toksik özellik gösteren ağır metaller

Ağır metaller metabolize edilemedikleri ve biyobirikim eğilimleri oldukları için tehlikelidirler [3, 7]. Biyobirikim terimi zamanla bir organizmada bir kimyasal konsantrasyonunun, kimyasalın doğadaki konsantrasyonu ile karşılaştırıldığında artması olarak ifade edilmektedir. Biyobirikimin nedeni bileşiğin organizmaya alınmasının ve depolanmasının, metabolize edilmesi veya atılmasından daha hızlı olmasından kaynaklanmaktadır [3]. Meslekleri gereği ağır metallerle maruz kalan insanlar hariç, canlıların ve insanların ağır metallerle maruz kalmalarındaki ana yol kontamine olmuş su ve besinlerin alınması yani besin zinciridir [3, 7, 9]. Ağır metaller ayrıca solunum ve deri yolu ile de organizmaya geçebilmektedirler [7].

Ağır metallerle maruz kalma bir çevresel stres faktörü olarak değerlendirilebilir. Ağır metal stresi ve toksisitesi hemen hemen tüm fizyolojik mekanizmalar üzerine çoklu doğrudan ve dolaylı etkilere sahiptir [6]. Ağır metal toksisitelerinin patofizyolojisi genel olarak benzerdir [10]. Toksik metaller tarafından oluşan hasarın çoğu sebep oldukları oksidatif serbest radikallerin artışından kaynaklanmaktadır [7, 11]. Bu hasarlar artan lipid peroksidasyonunu, DNA hasarını ve protein sülfidril gruplarının oksidasyonunu içermektedir [11]. Ağır metaller pro-oksidan/antioksidan dengesini değiştirmekte ve proteinlerin sülfidril gruplarına karşı yüksek affinite göstermektedirler. Sülfidril gruplarına bağlanmaları sonucu ağır metaller glutasyon metabolizmasının, çeşitli enzimlerin ve hormonların fonksiyonlarının inhibisyonuna yol açarlar [7, 10].

Genel olarak ağır metaller nörotoksik, nefrotoksik, fetotoksik ve teratojenik etkileri olan sistemik toksinlerdir [7]. Hemen hemen bütün organlar ağır metal toksisitesinden etkilenmektedir. Ancak, genel olarak merkezi sinir sistemi (MSS), çevresel sinir sistemi (ÇSS), hematopoietik, böbrek, mide barsak kanalı, kardiovasküler sistem daha büyük oranda etkilenirken, iskelet-kas sistemi ve üreme sistemi daha az oranda etkilenmektedir. Organların bu toksisiteden etkilenme dereceleri metalin türüne, bireyin yaşına ve maruz kalınan doza göre değişmektedir [10]. Ağır metaller metabolik mekanizmaları değiştirerek, nörotransmitter üretimi ve kullanımını etkileyerek, mental ve nörolojik fonksiyonları zayıflatarak, davranış yapısını doğrudan etkileyebilirler. Toksik metaller alerjik reaksiyonları artırabilir, genetik mutasyonlara neden olabilir, biyokimyasal reaksiyonlar için gerekli olan faydalı iz elementleri ile yarışabilir ve antibiyotik olarak rol alıp faydalı bakterileri öldürebilirler. Ağır metallerin biyolojik yarı ömürleri oldukça uzundur ve bazı ağır metaller karsinojenik etkiye sahiptirler. Pek çok ağır metal, plasentaya ve anne sütüne geçebilir ve dolayısı ile çocuklarda da ciddi davranış, entelektüel ve gelişim bozukluklarına yol açabilirler [4, 7]. Çocuklar ağır metallerin toksisitesine daha duyarlıdır. İnorganik kurşun tuzları vücuda besin veya solunum yolu ile girmektedir. Yetişkinlerde besin ile alınan kurşunun yaklaşık % 10'u absorbe edilirken, çocuklarda bu oran % 50 olabilmektedir [10].

Endüstriyel faaliyetlere ilaveten alaşım, lehim, pestisit spreyleri, bakır borular, pişirme kapları, sigara dumanı, diş dolguları, lateks boyalar, piller, elektrokaplama, çelik imalatı ve kozmetikler ağır metal kaynağıdır. Ağır metal zehirlenmelerinde ilk belirtiler bulantıdır. Bulantı ile birlikte baş ağrısı, yorgunluk, kas ağrısı, hazımsızlık, titreme, kabızlık, anemi, beniz sarılığı, baş dönmesi ve koordinasyon bozukluğu ağır metal zehirlenmesindeki erken belirtilerdir. Toksikite arttıkça belirtilerin şiddeti de artmaktadır [8, 12]. Deneysel çalışmalar ağır metallerin çeşitli immün sistem parametrelerini etkilediği ve enfeksiyonlara, otoimmün hastalıklara ve alerjik cevaplara karşı duyarlılığa neden olduğunu göstermektedir [13].

1.2. Kurşun

Kurşun (Lat: *Plumbum*) periyodik tabloda Pb sembolü ile ifade edilen atom numarası 82, yoğunluğu 11.34 g/cm^3 olan kimyasal bir elementtir [14]. Kurşun yumuşak, oldukça yoğun, zehirleyici, kolay dövülebilen bir yeraltı minerali olup, yeni kesildiğinde mavimsi-beyaz, ancak zamanla havada oksitlenmesi sonucu gümüş/mat gri

renkli hale gelmektedir. Kararlı elementler içinde en yüksek atom numarasına sahip olandır. Kurşunun kendisi yıkıma uğramaz ancak, bileşikleri güneş ışığı, hava ve suda değişime uğrar. Bu metal kullanılmakta olan en eski metallere biridir. Geniş dağılım göstermesi ve kolayca çıkarılabilmesi nedeni ile insanlar tarafından 7000 yıldır kullanılmaktadır. Çanakkale yöresinde “Abydos” şehrinde bulunan bir kurşun figür M.Ö. 3000 yılına aittir. Bronz çağda kullanıldığına dair deliller vardır. İlk üretim yapılan kurşun madenlerinden en iyi bilineni Balıkesir-Karaaydın madenidir. Mısır’da eski Mısır medeniyetine ait kurşun borular bulunmuştur [7, 14-16].

Kurşunun yer kabuğunda bulunma sıklığı 12.5 g/t dur. Doğal olarak bulunabilen metaller arasında yer alan kurşunun en çok rastlanılan cevherleri sülfür minerali galen (PbS) ve onun oksitlenmiş ürünleri olan serüsit (PbCO₃) ve anglezit (PbSO₄) tir [16].

1.2.1. Kurşunun çevreye dağılımı ve canlılara geçişi

Yer kabuğunun doğal bir bileşeni olan ve derinliklerinde bulunan kurşun, çok eski tarihlerden itibaren başlayan insan faktörü nedeniyle bugün ekosistemin her yerinde bulunur hale gelmiştir [15-17]. İnsan etkisinden dolayı doğal çevreyi kirleten en önde gelen metallerden birisi de kurşundur [6]. Yirminci yüzyılda kullanılan kurşun miktarı önemli derecede artmıştır. Bu aşırı kullanım neticesinde hava, su ve toprağın bölgesel ve genel kirlenmesi söz konusudur [18]. Kurşun yıkılamadığı için, atmosferde, suda, besinlerde ve kurşunun bulaştığı alanlarda yaşayan canlılarda birikmektedir. Kurşunun bu çevresel birikimi sanayi, boya, benzin vb. geniş endüstriyel kullanım alanlarından dolayı hızlanmaktadır [6].

Günümüzde pek çok ülkede yasaklanmış veya sınırlandırılmış (0.5 g/L) olmasına karşın, bugünkü kurşun kirliliğinde kurşunlu benzin büyük pay sahibidir. Kurşun tetraetil ((CH₃CH₂)₄Pb) 1920’lerden itibaren başlayarak, motorların vuruşu sesini azaltmak amacı ile benzinlere katkı olarak konulmuş ve benzinin oktan sayısı yükseltilmiştir [15, 16, 19]. İçten yanmalı motorlardan çıkan gazlar dünya atmosferine verilmektedir. Kurşun atmosferden (büyük oranda metal oksitleri ve tuzları şeklinde) yağmurla tekrar yeryüzüne inerek çevreye daha fazla yayılmaktadır [19]. Avrupa ülkeleri ve ABD 1970’lerde kurşunlu benzin üretimini yasaklamıştır [19, 20].

Dünyada ABD’den daha fazla kurşuna maruz kalan coğrafya bulunmamaktadır. Yılda 1.3 milyon ton kurşunun piller, lehim, pigmentler, petrol ürünleri, boya ve diğer ürünlerde kullanıldığı tahmin edilmektedir. Kurşun, endüstriyel kaynaklardan dolayı

atmosfere verilmekte, ve canlılara solunum ile veya toprak, su ve besinlere bulaşması neticesinde besin zinciri yolu ile geçmektedir [12, 19]. Tütün bitkisi için kurşun arsenatın insektisit olarak kullanılmasından dolayı sigara kurşun içermektedir. Sigaranın tüketilmesiyle kurşun hem sigara içen insanlara hem de atmosfere geçmektedir. Yapılan kemik analizleri ile eski çağlardaki insanlara göre 500-1000 kat daha fazla kurşun bugünkü modern insanın kemiklerinde bulunmaktadır [19].

Bugünün modern sanayisinde kurşun önemli bir yer almaktadır. Bu nedenle insan popülasyonunun bir kısmı mesleki olarak kurşuna maruz kalmaktadır [21]. Bunun dışında kalan insan popülasyonunun önemli bir kısmı ve diğer canlılar kurşuna su ve besin kontaminasyonu, besin zinciri, endüstriyel emisyon ve kurşun bileşikler içeren akaryakıtlardan kaynaklanan hava kirliliği nedeni ile maruz kalmaktadır [22]. İngiltere’de yetişkin insanların günlük olarak 1.6 µg havadan, 20 µg içme suyundan ve 28 µg besinlerden kurşun aldığı tahmin edilmektedir [20, 23]. Ülkemizdeki durum ile ilgili olarak herhangi bir bilgiye tarafımızca rastlanılmamıştır.

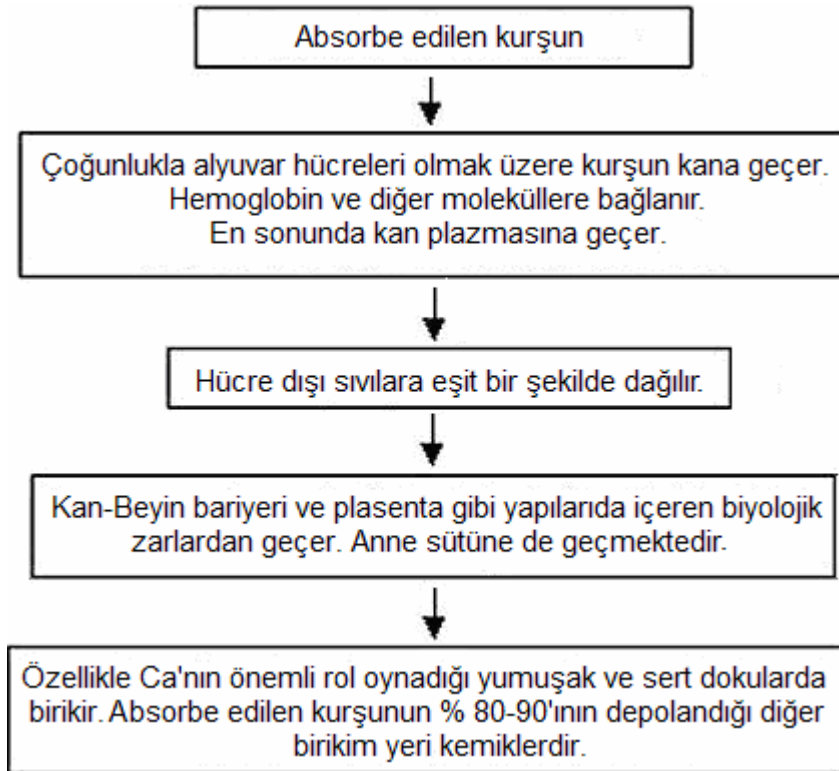
1.2.2. Kurşunun canlılara olan etkisi

Daha önceki bölümler de belirtildiği gibi günümüzün kurşun kirliliğinde en büyük pay madencilik, imalat endüstrisi ve fosil yakıtların yakılması gibi insan kaynaklı faktörlerdir [7]. Kurşunun pek çok ülkede ve sanayide büyük oranda kullanılmasından dolayı, kurşunun toksik etkilerine maruz kalma ve kurşun zehirlenmesi halen görülebilen bir durumdur [15, 22]. Kurşunun insanlar tarafından uzun zamandır kullanılmasından dolayı kurşun zehirlenmesi çok eskilere dayanan bir problemdir. Kurşunun diğer metallerle çok kolay alaşım yapmasından esinlenerek “metalleri yutan metal” (Satürnün çocuklarını yutması gibi) anlamında, kronik kurşun zehirlenmelerine “saturnizm” adı verilmiştir. Geçmişte bilinçsizce kullanılan kurşun çok sayıda ölümlere yol açmıştır [15, 17].

Kurşun yaygın bir çevresel ve endüstriyel kirleticidir. Çevre ve biyolojik sistemlerin her fazında bulunabilir [24]. Kurşun oldukça geniş bir çerçevede deney hayvanlarında ve insanlarda fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal bozukluklara yol açmaktadır [17, 18]. Merkezi ve çevresel sinir sistemi, hematolojik sistem, kardiovasküler sistem, immünolojik sistem, solunum sistemi, böbrekler, karaciğer, erkek ve dişi üreme sistemleri kurşundan olumsuz olarak etkilenmektedir [18, 21]. Düşük seviyede kurşuna maruz kalma insan ve deney hayvanlarında davranışsal

anormallikler, öğrenme bozukluğu ve kavrama yeteneği, işitme kaybı fonksiyonları ile birliktedir. Yüksek dozdaki kurşuna maruz kalma ise hemen hemen tüm organlarda hasara neden olmakta ve hatta canlının ölümüne yol açabilmektedir [25]. Karaciğer, böbrekler ve beyin kurşunun toksik etkileri için ana hedef organlar olarak kabul edilmektedir [24].

Kurşun ve kurşunlu bileşikler sindirim ve solunum yolu ile absorbe edilebilmektedir. Akciğerlerden kurşunun absorpsiyonu oldukça etkili bir şekilde gerçekleşmektedir. Gastrointestinal kanaldan absorpsiyon ise bireyin yaşına göre değişmektedir. Çocuklarda sindirim yolu ile alınan kurşunun % 50 kadarı absorbe edilirken, yetişkinlerde bu oran % 10-20 arasındadır [10, 15, 26]. Kana geçen kurşun uzun süre kanda kalmamaktadır. Buradan yumuşak dokulara ve esas depolanma yeri olan kemiklere geçmektedir. Besinlerle alınan kurşunun önemli bir kısmı (% 90-95) feçes ile atılırken az miktarda böbrekler ve ter ile de atılır. [10, 15, 19]. Absorbe edilen kurşunun insanlardaki dolaşımı Şekil 1.2’de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Absorbe edilen kurşunun insanlardaki dolaşımı

Kurşunun nöronlara kalsiyum kanalları aracılığıyla girdiği, ayrıca troponin C ve kalmodulin gibi kalsiyum bağlayıcı proteinlerde Ca^{2+} 'nin yerini aldığı ve dolayısıyla

kalsiyum aracılıklı işlevleri etkilediği gösterilmiştir [27]. Kurşun kemik dokusunda da kalsiyumun yerini almakta ve kemikleri daha yumuşak hale getirmektedir. Özellikle metabolik aktivitenin yoğun olduğu fibula, tibia ve femur kemik dokularında kurşun fosfatları şeklinde depolanmasından dolayı, radyolojik analizlerde kurşun çizgileri olarak adlandırılan çizgiler şeklinde görülür. Kurşun çizgilerinin genişliği yüklenilen kurşun miktarı ile orantılıdır [15, 19].

Kurşunun toksik etkilerini açıklamak için çeşitli mekanizmalar araştırmacılar tarafından ileri sürülmesine rağmen, hiçbir mekanizma bu toksisiteyi tam olarak açıklayamamaktadır. Bunun nedeni kurşun toksisitesinin biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarının tam olarak bilinmemesinden kaynaklanmaktadır. Ancak deneysel çalışmalardan elde edilen veriler, protein kinaz C (PKC)'nin aktivasyonunda kalsiyumu engellemesi ve/veya reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumundan dolayı, kurşunun toksik etkilerinin ortaya çıktığı ileri sürülmektedir [21]. Son çalışmalar kurşunun toksik etkilerinde, oksidatif stresin önemli mekanizmalardan biri olarak rol aldığını göstermektedir [24, 28]. Bu mekanizmaya göre kurşun ile indüklenen oksidatif stresin, memelilerde var olan hassas prooksidan/antioksidan dengesini bozarak kurşun zehirlenmesinin patogeneze katkıda bulunduğu, kurşunun oksidatif hasar aracılığıyla lipitler, proteinler ve DNA gibi önemli biyomoleküllere zarar verdiği önerilmektedir [18, 29]. Kurşun ile indüklenen oksidatif stres hasarı aşağıdaki mekanizmalardan meydana gelebilir.

- δ -aminolevulinik asit dehidratazın (ALAD) kurşun tarafından inhibisyonu sonucu ALA birikimi. ALA etkin bir endojen serbest radikal kaynağıdır.

- Lipit peroksidasyonunu da dahil olmak üzere, kurşunun doğrudan biyolojik zarlarla etkileşimi.

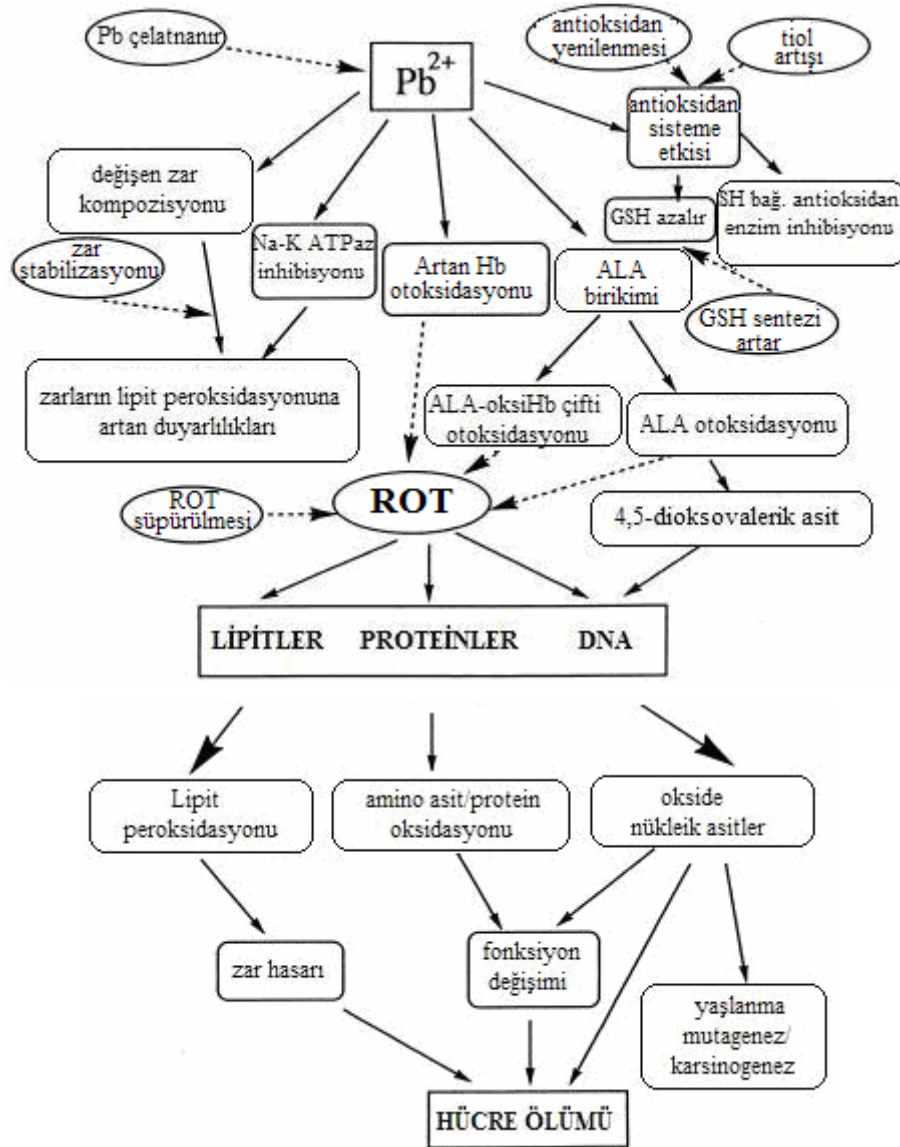
- Hücre içi kalsiyum seviyelerinin artması, bozulan mitokondriyal fonksiyonlar.

- Serbest radikal süpürücü enzimler ve glutatyon seviyelerinde kurşun ile indüklenen azalma. Bu durum kurşunun radikal süpürücü enzimler ve moleküllerdeki metal kofaktörlerine veya sülfidril gruplarına olan yüksek ilgisine bağlanmaktadır [29].

Kurşun toksisitesinin tedavisinde günümüzde kullanılan klinik yöntem şelatlayıcı ajanlardır. Bu ajanlar kurşuna bağlanmakta ve kurşun ile yüklenmiş olan dokudan kurşunun uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Kalsiyum disodyum etilendiamin tetra asetik asit (CaNa_2EDTA), D-penisilamin ve dimerkaprol (British Anti-Lewisite, BAL) şelasyon (antidot) tedavisinde yaygın olarak kullanılan ajanlardır. Ancak bu

ajanlar ciddi yan etkilere sahiptirler [15, 17, 25]. Kurşun ile indüklenen oksidatif streste olası mekanizmalar Şekil 1.3'te gösterilmiştir.

Kurşun toksisitesinde ortaya çıkan olayları, kurşunun kalsiyum ve çinko gibi metallere yarışması, proteinlerin tiol gruplarına olan yüksek ilgisi, ROT oluşumu, endojen antioksidanların baskılanması ve lipit peroksidasyonunun artması şeklinde özetleyebiliriz [6]. Kurşunun bir insan karsinojeni olmasından şüphe edilmektedir [21]. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, kurşun asetat ve kurşun fosfatın karsinojen etkisi olabileceği bildirilmiştir. Ancak kurşunun insan karsinojeni olduğunu söyleyebilmek için veriler yeterli değildir. Kurşun Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından grup 2B (muhtemel insan karsinojeni) olarak listelenmiştir [7].



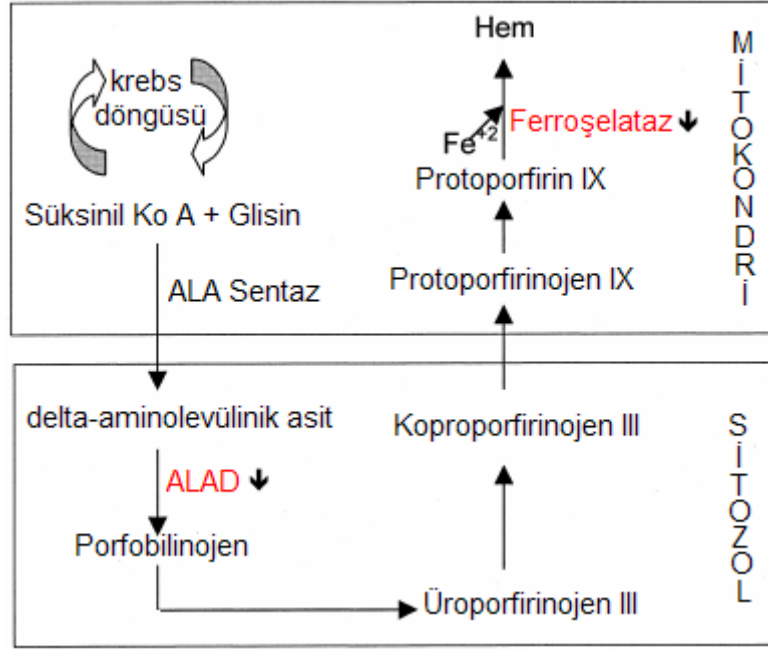
Şekil 1.3. Kurşun ile indüklenen oksidatif streste olası mekanizmalar

1.2.3. Kurşunun hücre zarlarına etkisi

Kurşun hücre zar yapısına ve kompozisyonuna toksik etkiye sahiptir [30]. Kan dolaşımındaki kurşunun büyük çoğunluğunun eritrositlerde bulunmasından dolayı kurşunun toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda eritrositler yaygın olarak kullanılan bir modeldir. Kurşuna maruz kalma ile eritrositlerde bazı membran bağımlı enzimlerin aktiviteleri ve membran proteinlerinin kompozisyonu değişmektedir. Biyolojik membranların ana yapıları protein ve lipitlerdir [17]. Hücre zarlarında yağ asitlerindeki çift bağların varlığı, çift bağa komşu karbon atomundaki C-H bağlarını zayıflatmakta ve hidrojen atomunun uzaklaştırılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu sebepten dolayı hiç çift bağ içermeyen ya da bir veya iki çift bağ içeren yağ asitleri, oksidatif saldırıya karşı ikiden daha fazla çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerine göre daha dirençlidirler [17, 18]. Kurşunun membranlara olan bir başka etkisi de, zardaki yağ asidi kompozisyonunu değiştirmesidir [31]. Biyolojik zarların lipid kompozisyonunun değişmesi zar bütünlüğü, geçirgenliği ve fonksiyonunda değişimler ile sonuçlanabilmektedir [17]. Bu nedenle kurşun ile indüklenen toksisitenin zar enzim aktivitelerini, endo ve ekzositoz, zardan madde taşınımı ve sinyal iletimi gibi zarla ilişkili işlevleri etkilemesi olasıdır [18].

1.2.4. Kurşunun hemoglobin biyosentezine etkisi

Kurşunun en iyi bilenen toksik etkilerinden biri hem biyosentezini engellemesidir [28]. Kurşun hemoglobin ve sitokrom üretiminde ve hem biyosentezinde gerekli olan enzimlerin aktif yerleri için yarışır. Bu yarışma sonucu kanda ve idrarda hem öncüllerinin anormal konsantrasyonları ortaya çıkar. Kurşun zehirlenmesinin tanısında bu bulgular kullanılmaktadır. Kurşun hemoglobin biyosentezindeki etkisini Şekil 1.4'te de gösterilen enzimleri inhibe ederek oluşturmaktadır. Kurşun ile etkilenen bu mekanizmada delta-aminolevünilik asit ve koproporfirinojen III idrar ile atılırken, protoporfirin IX eritrositlerde birikmektedir. Kurşun Na^+/K^+ -ATPaz pompasını ve eritrositlerin zar yapısını bozarak, eritrositlerin yaşam sürelerini kısaltmaktadır [15].



Şekil 1.4. Kurşunun hem sentezine olan etkisi.

1.2.5. Kurşunun DNA üzerine etkisi

Kurşunun DNA'da da oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir. Aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD) kurşunun toksik etkilerine karşı oldukça duyarlıdır ve ortamda aminolevulinik asit (ALA) birikimi nedeni ile ROT oluşumu artmakta ve oksidatif stres meydana gelmektedir. ALA'nın son oksidasyon ürünü 4,5-dioksovalerik asittir. Bu molekülün hem izole DNA hem de nükleozidler içindeki guanin kısımları için oldukça etkili bir alkilleyici ajan olduğu bulunmuştur [32]. Kurşunun gen ifadesini değiştirebileceğine dair veriler de mevcuttur [33].

1.2.6. Kurşunun antioksidan savunma sistemlerine etkisi

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimlerin aktivitelerinde ve glutatyon (GSH) gibi bazı antioksidan moleküllerin konsantrasyonlarında değişikliklerin olduğu kurşuna maruz kalan hayvan ve insanlarla yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Tüm bu çalışmaların kurşun zehirlenmesinin patofizyolojisinde oksidatif stresin olası ilişkisini önermesine rağmen, enzim aktivitelerindeki ve antioksidan moleküllerin konsantrasyonlarındaki değişikliklerin,

oksidatif hasara neden mi olduğu yoksa oksidatif hasar sonucu mu ortaya çıktığı açık değildir [17].

Kurşun, kadmiyum ve cıva gibi bazı ağır metaller sülfidril (SH) gruplarına karşı yüksek affinite gösterirler. Kurşunun fonksiyonel SH grupları içeren çeşitli enzimleri inhibe ettiği gösterilmiştir [17]. Glutasyon reaktif bir SH grubuna sahip enzimatik olmayan antioksidan olarak rol alan bir peptittir [34]. Kurşun SH grubuna bağlanarak GSH seviyelerini ve GSH'ın antioksidan etkilerini azaltmaktadır. Glutasyon redüktaz (GR) antioksidan sistemde yer alan ve aktif bölgesinde disülfid içeren bir enzimdir. Bu durum GR'yi kurşun için bir hedef haline getirmekte ve kurşun bu enzimi inhibe etmektedir. Bunun neticesinde GSH:GSSG oranı azalmakta ve hücreler oksidatif strese daha duyarlı hale gelmektedir [17].

Antioksidan savunmada enzimatik olarak rol alan CAT, GSH-Px ve SOD birer metalloproteinlerdir ve uygun moleküler yapı ve enzimatik aktivite için çeşitli iz elementlere ihtiyaç duyarlar. Bu durum kurşunun diğer metallerle yarışmasından dolayı kurşun toksisitesinde bu enzimleri hedef haline getirir [35]. CAT prostetik grup olarak hem içermektedir. GSH-Px kofaktör olarak selenyuma ihtiyaç duymaktadır. SOD'un aktivite için ise bakır ve çinko gerekmektedir. Kurşun bu enzimlerin süpürücü görevlerini yapmalarını engelleyerek oksidatif hasarın oluşmasına katkıda bulunmaktadır [17].

1.3. Kadmiyum

Kadmiyum (Lat: *Cadmia*) periyodik tabloda Cd sembolü ile ifade edilen atom numarası 48, yoğunluğu 8.65 g/cm³ olan periyodik cetvelde 2B grubunda bulunan elementtir. Nispeten nadir bulunan, yumuşak, bükülüp şekil verilebilen, mavimsi beyaz renkli, toksik bir geçiş metalidir [36-38]. Kadmiyum 1817'de Almanya'da Friedrich Strohmeyer tarafından çinko karbonat (kalamın) içerisinde keşfedilmiştir [38, 39]. Strohmeyer, saf olmayan kalamının ısıtıldığında renk değiştirdiğini, saf kalamının ise renk değiştirmedini fark etmiştir. Günümüzde kadmiyum ve kadmiyum bileşiklerinin yüksek oranda toksik oldukları bilinmesine karşın, eskiden kadmiyum iyoditin eklem büyümesi, kızarıklık ve şişliklerin tedavisinde kullanıldığını British Pharmaceutical Codex bildirmiştir [38].

Kurşunun aksine, keşfedilmesi çok yeni olmasına karşın geçen yüzyılın içerisinde başlayan endüstriyel boyutta kullanımından dolayı yüksek oranda kadmiyum

kirliliği meydana gelmiştir [12, 39]. Kadmiyum Birleşik Devletler Çevre Koruma Dairesi (US Environmental Protection Agency, EPA) tarafından önemli bir çevre kirleticisi olarak listelenmiştir [37, 40].

1.3.1. Kadmiyumun çevreye dağılımı ve canlılara geçişi

Kadmiyum kurşun gibi bir yeraltı minerali olup yer kabuğunda bulunan doğal bir elementtir [7]. Doğada çinko ile ham cevherde birlikte bulunduğundan çinko arıtımında yan ürün olarak kaçınılmaz bir şekilde ortaya çıkmaktadır [23, 39]. Doğal yollar ile besinlere ve suya karışımı düşük orandadır. İnsan kaynaklı endüstrileşme çevreye daha yüksek oranda kadmiyum kirliliğini beraberinde getirmiştir [12]. Doğal kaynaklarla kadmiyumun çevreye ve atmosfere geçişi volkanik aktivite, orman yangınları ve toprak partiküllerinin rüzgar ile taşınması ile olmaktadır. İnsan kaynaklı olarak kadmiyumun çevreye geçişi endüstriyel faaliyetler, metallerin eritilmesi, fosil yakıtların tüketilmesi ve fosfatlı gübrelerin kullanılması ile gerçekleşmektedir. Kadmiyumun insan kaynaklı faktörler tarafından çevreye yayılması, doğal kaynaklar tarafından yayılan miktara göre daha fazla olmaktadır [40].

İnsanlar açısından ele alındığında kadmiyuma maruz kalanların en önemli kısmını meslekleri gereği bu metale maruz kalanlar oluşturmaktadır. Meslekleri gereği kadmiyumla karşılaşmayan insanlara ise en önemli geçiş yolu sigaradır. Sigara ve sigara dumanına maruz kalmayan insanlar ve canlılar için kadmiyuma maruz kalmadaki ana yol endüstriyel faaliyetler sonucu oluşan hava kirliliği ve besin zinciridir [40-42].

Genel popülasyon için besin ile alınan kadmiyum oranı, içme suyu veya atmosferden alınana göre daha fazladır [43]. İnsanlar günlük olarak 0.15 µg havadan, 1 µg sudan kadmiyum almaktadır. Genel olarak çoğu besinlerden kaynaklanmakla birlikte günlük 25-200 µg kadmiyuma maruz kalındığı tahmin edilmektedir [20]. Dünyada insanlar arasında böbrek kadmiyum seviyelerinin en yüksek olduğu toplum Japonlardır. Avrupalılarda böbrek kadmiyum oranları ortalama 10-30 µg/g yaş doku iken Japonlarda bu oran 65-115 µg/g yaş dokudur. Bu fark kadmiyum bakımından zengin topraklarda yetişen pirincin tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu pirincin tüketilmesi Japonya'da günlük olarak alınan toplam kadmiyumun üçte birlik bölümünü oluşturmaktadır [43].

Sigara dumanı önemli bir kadmiyuma maruz kalma yoludur. Sigara dumanındaki kadmiyum miktarı genel olarak besinlerden az olmasına karşın, akciğerler bağırsağa göre kadmiyumu çok daha fazla absorbe ederler [44]. Oral olarak verilen

dozun sadece % 5 kadarı gastrointestinal kanaldan absorbe edilirken, akciğerlerden absorbe edilen kadmiyum oranı ise % 90 civarındadır [45]. Yirmi sigaralık bir paketin tüketilmesinin ardından insanların 2-4 µg kadmiyum aldığı kabul edilmektedir [15, 20, 23].

1.3.2. Kadmiyumun canlılara etkisi

Kadmiyumun canlılar için herhangi bir biyolojik fonksiyonu bulunmamaktadır [38, 41]. Düşük konsantrasyonlarda bile canlılar için oldukça toksik olup canlılar ve eko sistemde birikmektedir [38]. Kadmiyum osteoporoz, non-hipertrofik anfiyem, geri dönüşümsüz böbrek bozuklukları, hipertansiyon, akciğer fibrozis, anemi, eozinofili, anosmia ve kronik rhinitis gibi durumlara neden olabilir [37, 40, 46].

Kadmiyum zehirlenmesine verilen tipik örnek literatüre itai-itai hastalığı olarak geçen durumdur [15, 40]. Kadmiyumla kronik zehirlenmeler, toz ya da buharlarının uzun süre düşük dozlarda solunumu ve besinlere karışan çözünmüş kadmiyum ve tuzlarının alınması ile oluşmaktadır. Bu tür zehirlenmelerde ortaya çıkan belirtiler sindirim bozuklukları (karın ağrısı, kanlı kusma, ishal), diş minerallerinin sarı görünmesi (kadmik sarı), solunum bozuklukları, böbrek bozuklukları, osteopati ve anemidir [15]. Kronik kadmiyum zehirlenmesinde ispatlanmış etkili bir tedavi yoktur [45]. Ağızdan alma sonucu meydana gelen akut zehirlenmelerde gastrik boşaltma (gastrik lavaj, kusturma) gerçekleştirilir. Şelatörler çok etkili değildirler. Hatta Cd-BAL komplekslerinin böbreklerde akut tubülo nefrit oluşturması nedeni ile uygulamaları tehlikeli olabilir [15].

Kadmiyum gastrointestinal kanaldan iyi absorbe edilen bir metal değildir. Ancak absorbe edilen miktarının canlıdan elimine edilmesi kolay değildir [47]. Kadmiyum ve kalsiyumun benzer yük ve boyuta sahip olmaları nedeni ile ($Cd^{2+} = 0.99 \text{ \AA}$, $Ca^{2+} = 0.97 \text{ \AA}$) kadmiyum hücre içine voltaj ve reseptör aracılıklı kalsiyum kanalları aracılığıyla kolaylıkla girebilmektedir [48]. Çeşitli kaynaklarda farklı gösterilmekle birlikte, kadmiyum uzun bir biyolojik yarılanma zamanına (15-20/15-30 yıl) sahiptir [36, 37, 40, 48]. Vücuttan düşük atılım oranı nedeni ile kan, böbrek, karaciğer ve üreme organlarında birikmektedir [48]. Kadmiyum bir kez vücuda alındıktan sonra kandan hızlı bir şekilde temizlenip diğer dokularda konsantre hale gelmektedir. Kadmiyumun birincil derecede birikime uğradığı dokular böbrek ve karaciğerdir [45]. Metalloprotein (MT) proteinleri yüksek sistein içerdiklerinden dolayı kadmiyum gibi ağır metallere

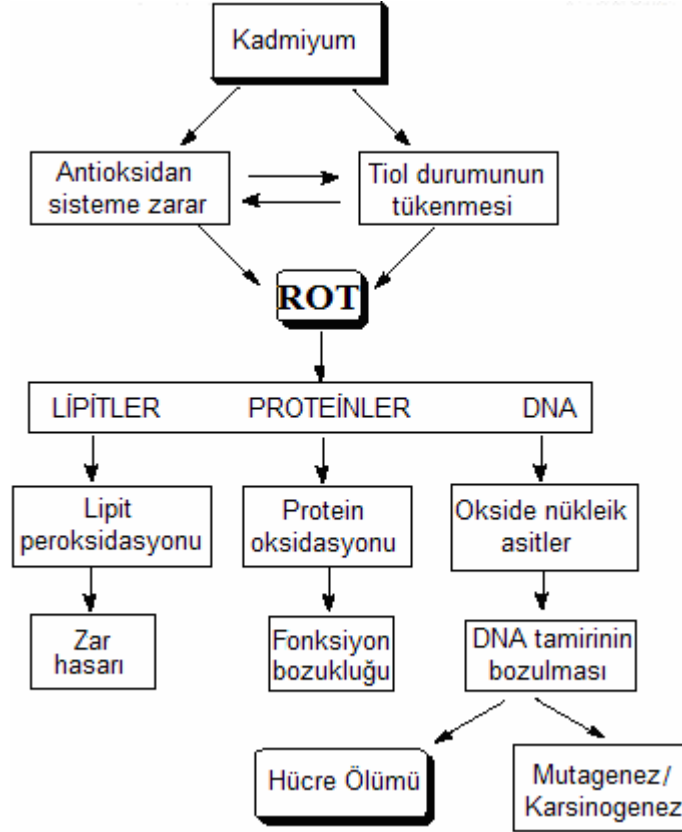
yüksek ilgi duyarlar [49]. Bu iki dokunun yüksek miktarda MT üretebilme yeteneğinden dolayı vücuttaki toplam kadmiyum yükünün çoğunluğunu böbrek ve karaciğer dokuları üstlenmektedirler [15, 45]. Hücrenel MT varlığı kadmiyumun toksik etkilerini önemli derecede azaltabilmektedir. Ancak, muhtemelen MT'lere bağlanmasının bir sonucu olarak vücuttan kadmiyumun atılımı çok yavaştır. Bu nedene ilave olarak yaşlanma ve/veya günlük kadmiyum alınımının devamı sonucunda memelilerde kadmiyum bu iki dokuda daha çok birikmektedir [43]. Organizmadaki bu uzun süreli kadmiyum mevcudiyeti, kadmiyum ile indüklenen neoplastik transformasyonların olasılığını artırmaktadır [45]. Kadmiyum özellikle idrar ve bir kısım feçes ile olmak üzere yavaş atılır. Ayrıca, çok az oranda ter ve tükürük ile de atılmaktadır [15].

Çözünebilir kadmiyum bileşikleri karaciğer, beyin, böbrekler, akciğer, kalp, testisler ve merkezi sinir sisteminde birikebilmekte ve toksik etkilere yol açabilmektedir [37, 50]. Kadmiyumun toksik etkilerinden sorumlu olan moleküler mekanizma(lar) tam olarak aydınlatılmış değildir. Kadmiyum ile indüklenen hasarda; antioksidan enzimlerin engellenmesi, tiol içeren proteinlerde değişimler, enerji metabolizmasında inhibisyon, DNA yapısında değişimler, değişen membran yapı/fonksiyonu önerilmektedir [51].

Moleküler seviyede kadmiyum kalsiyum, çinko, selenyum, krom ve demir gibi gerekli metallerin kullanımını engellemekte ve bağırsaklarından artan absorpsiyon ve diğer dokularda metalotioninlerle artan alıkonmasından dolayı bu esasi metallerin yetersizliği kadmiyum toksisitesini artırmaktadır [41]. Kadmiyumun toksik etkilerinin ortaya çıkmasında çinko aracılıklı çeşitli metabolik olayların engellenmesinin önemli bir yeri vardır. Genellikle çinko tedavisi ile kadmiyumun zararlı etkileri azalmaktadır [45]. Kadmiyumun bağırsak ve böbrek zarlarından taşınımında çinko ve kalsiyum iyonları ile yarışmakta ve aynı taşıma sistemini paylaşmaktadır [41]. Kadmiyum, PKC ve kalmodulinde kalsiyumun normal bağlanma bölgesinden kalsiyumun yerini alabilmektedir. Kalmodulin kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinaz, fosfodiesteraz ve miyozin hafif zincir kinazı da içeren çeşitli enzimlerin ikincil haberci yollarında rol alıp bu enzimleri aktive etmekte ve gen ifadelerini düzenlemektedir. Kadmiyum konsantrasyonlardaki belli seviyeler (0.1-5 μM) Ca^{2+} -ATPaz pompalarını engellemekte ve sonuçta hücre içi Ca miktarı artmaktadır [48]. Kadmiyum ATP sentezini de inhibe etmektedir [52].

Memelilerle yapılan çalışmalarda kadmiyumun ROT oluşumu uyarabileceğini göstermektedir. Bunun sonucunda lipid peroksidasyonu, DNA hasarı artmakta, kalsiyum ve sülfidril homeostazisi değişmekte ve antioksidan savunma bozulmaktadır [53].

Kadmiyum aktif bir redoks metali olmadığı için oksidan rolü açık değildir [36]. Kadmiyumun kendisi doğrudan serbest radikal oluşumunu sağlayamaz ancak, çeşitli mekanizmalarla dolaylı olarak süperoksit ve hidroksil radikali gibi radikallerin oluşumuna yol açar [37]. Şekil 1.5’de kadmiyum ile indüklenen olası oksidatif stres özetlenmiştir.



Şekil 1.5. Kadmiyum ile indüklenen olası oksidatif stres

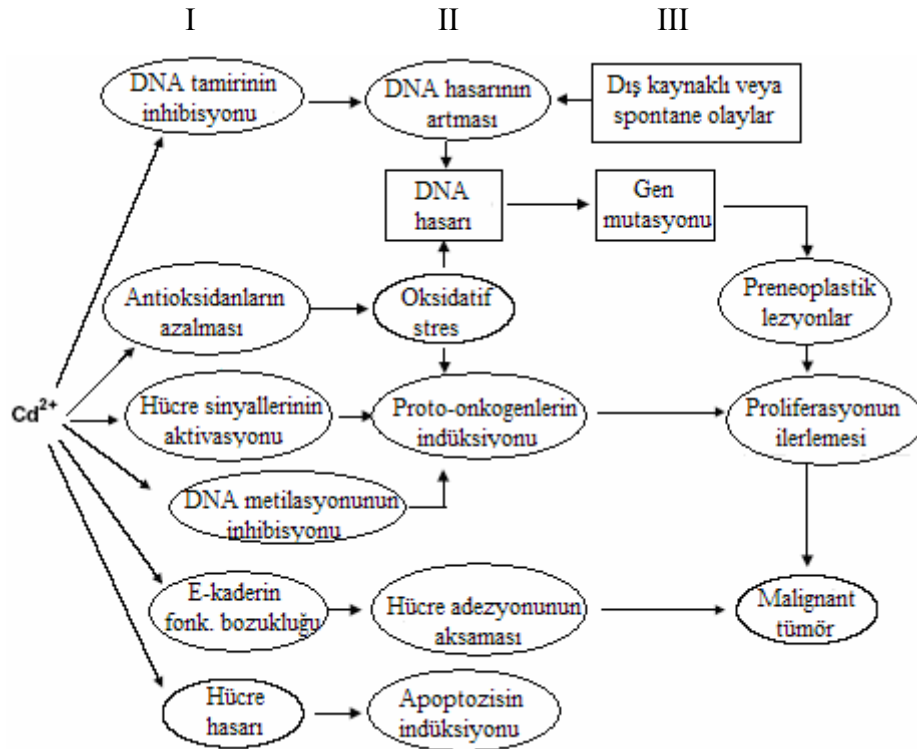
1.3.3. Kadmiyum karsinogenezi

Kadmiyum insanlar için güçlü bir karsinojendir. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (International Agency for Research on Cancer-IARC) ve Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Toksikoloji Programı (National Toxicology Program of the USA) tarafından kadmiyum kategori 1 karsinojen (insan karsinojeni) olarak sınıflandırılmıştır [37, 40, 45, 54]. Kanada ve Almanya’da yapılan vaka kontrol çalışmalarında mesleki olarak kadmiyuma maruz kalanlar ile renal hücre karsinoma arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir. Kadmiyumun bir insan karsinojeni olarak sınıflandırılması deney hayvanları ile yapılan çalışmalardan elde edilen kuvvetli delillerle de desteklenmiştir. Sıçanlara subkutan olarak CdCl₂ uygulaması sonucunda prostat ve pankreas tümörleri

oluşmuştur. Ağızdan sıçanlara kadmiyum uygulaması sonucunda testis tümörleri gelişmiştir. Sıçan ve farelerde enjeksiyon yapılan bölgelere bağlı olarak lokal tümörler oluşmuştur. Gelişmiş ülkelerde kanser ölümlerinden sorumlu olan pankreas kanserinin patogenezinde yüksek oranda kadmiyuma maruz kalan kişilerde kadmiyumun da rolü olabilmektedir. Meslekleri gereği bu ağır metale maruz kalan kişilerde akciğer, prostat, pankreas ve böbrek kanserleri görülebilmektedir [40].

Kadmiyum çoğunlukla genotoksik olmayan bir karsinojendir. Bakteriyal testlerde mutasyonel olmayan bir ajan iken, *in vitro* memeli hücrelerde ise zayıf mutajenik özellik göstermektedir. Ancak, kadmiyum bileşiklerinin genotoksik ajanlarla birlikte olduğu zaman DNA tamirinin kadmiyum tarafından inhibe edilmesi nedeniyle, memeli hücrelerde ko-mutajenik olduğu kanıtlanmıştır [40]. Kadmiyum belirli şartların varlığında genotoksik ve mutajenik olaylara yol açabilmesi için yüksek dozda kadmiyuma maruz kalma gerekmektedir [45].

Kadmiyum karsinogenezinin moleküler mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir [55]. Ancak Şekil 1.6'da kadmiyum karsinogenezinde yer alan moleküler etkiler özetlenmiştir. İlk kolonda kadmiyumun karsinogenezdeki biyokimyasal hedefleri gösterilmiştir. İkinci kolonda ise bu biyokimyasal yolların hücrel fizyolojik sonuçları verilmiştir [40].



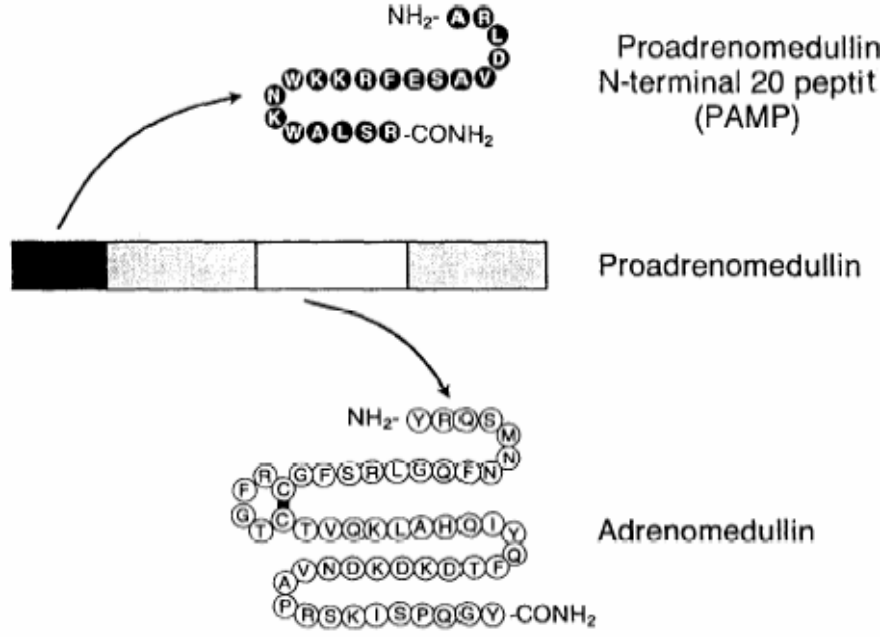
Şekil 1.6. Kadmiyum karsinogenezindeki moleküler etkiler

1.4. Adrenomedullin

Adrenomedullin (AdM) 1993 yılında Kitamura vd. tarafından bazı peptidlerin trombosit siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeylerine etkisini araştırırken insan feokromasitoma hücrelerinde keşfedilmiş, hipotansif etkili 52 amino asitlik endojen vazodilatör bir peptittir. Feokromasitoma hücrelerindeki gibi normal adrenal medulla hücrelerinde de bol miktarda bulunması nedeni ile Kitamura vd. bu peptide adrenomedullin ismini vermişlerdir [56]. AdM'nin keşfinden sonra bu peptidin pek çok dokuda bulunduğu [57] ve bir hormon gibi davranarak otokrin/parakrin tarzda çok yönlü biyolojik aktivite gösterdiği bildirilmiştir [58]. AdM bir intramoleküler disülfid bağı C-terminal amid yapısından oluşan bir polipeptittir. Kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) ile % 27 oranında homoloji göstermesi nedeni ile CGRP süper ailesine dahil edilmiştir [59]. AdM bilinen peptidler arasında en güçlü damar genişletici etkinliğine sahiptir [60].

1.4.1. Yapı ve moleküler biyoloji

AdM altı amino asitlik tek bir rezidü ve CGRP ile amiline benzeyen C-terminal amid yapısı içermektedir [61]. AdM geni, insan, sıçan ve domuzlarda yüksek derecede korunmuştur [59]. Kitamura vd. insan feokromasitoma hücrelerinden cDNA yapısını araştırmışlar ve AdM'nin şifresinin öncülü olan prepro-AdM'den elde etmeyi başarmışlardır. İnsan prepro AdM'si 185 amino asit uzunluğunda olup 164 amino asitlik bir peptid olan proAdM'ne dönüştürülmekte ve bu da 52 amino asitlik biyolojik olarak aktif form olan AdM'ye dönüştürülmektedir [62]. İnsan AdM'sinin genomik DNA'sı 4 ekzon ve 3 intron içermektedir ve olgun AdM dördüncü ekzondan kodlanmaktadır. AdM geni 11. kromozomun tek bir lokusuna yerleşmiştir [59].



Şekil 1.7. İnsan proAdM'sinin translasyon sonrası sürecinden oluşan AdM ve PAMP

1.4.2. Adrenomedullinin doku dağılımı

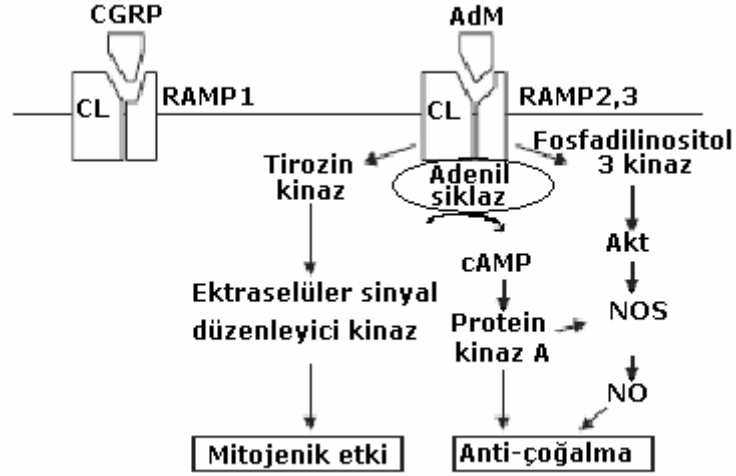
AdM doku dağılımı çeşitli araştırmacılar tarafından çeşitli canlılarda farklı yöntemlerle geniş bir şekilde çalışılmıştır. AdM immünoaktivitesi hem sıçan hem de domuzların adrenal bez, kalp, akciğer, böbreklerinde gösterilmiştir. Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu ile (RT-PCR) domuzların kardiyak miyokardium, böbrek, akciğer, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve epitel hücrelerinde AdM mRNA ifadeleri gösterilmiştir. Sağlıklı insan dokuları ile yapılan RT-PCR çalışmasında da beyin, kalp, akciğer ve adrenal bezlerde AdM mRNA'sı gösterilmiştir [59]. Sıçan köpek, fare ve sığır gibi memeli canlılarda AdM'nin amino asit dizisi rapor edilmiştir. AdM kan, idrar, serebrospinal sıvı, amniyotik sıvı ve sütte de bulunmaktadır. AdM'nin immünoaktivitesinin en fazla olduğu doku adrenal medulladır. Bununla birlikte çeşitli dokularda daha az oranda immünoreaktive göstermektedir. Literatürdeki buna benzer tüm çalışmalar AdM'nin insan dokularında aynı zamanda her yerde bulunan ve bu özelliğinden dolayı çok yönlü biyolojik rollere sahip olduğunu göstermektedir [58].

1.4.3. Adrenomedullinin sentez ve salınımı

AdM sentezinin regülasyon mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak AdM sentezinde çeşitli mekanik ve humoral faktörlerin uyarısına bağlı olduğu düşünülmektedir [61]. Sugo vd. sıçan vasküler düz kas kültürlerinde hücre içi cAMP konsantrasyonlarının AdM üretimini regüle ettiğini göstermişlerdir [63]. Forskolin ve 8-bromo-cAMP'nin AdM gen transkripsiyonu ve üretimini baskılaması, AdM üretiminin hücre içi cAMP konsantrasyonu ile düzenlenebileceğini göstermektedir [59]. Kitamura vd.'nin keşfinden sonra cAMP'nin, AdM'nin sekonder habercisi olduğunu gösteren çalışmalar yayınlanmıştır [64-66]. Sitokinler AdM salgılanmasına yol açmaktadırlar. AdM gen ekspresyonu ve üretimi interlökin-1 α (IL-1 α), interlökin-1 β (IL-1 β), tümör nekroz faktör- α (TNF- α), tümör nekroz faktör- β (TNF- β) ve lipopolisakkarit (LPS) ile belirgin düzeyde artmaktadır [67]. Anestezi uygulanmış sıçanlarda LPS'nin damar içine enjeksiyonu plazma AdM konsantrasyonunu artırmaktadır [68]. AdM hipotansif etkisini en az iki mekanizma ile oluşturmaktadır. İlk mekanizma vasküler düz kas hücrelerine doğrudan etki gösterip cAMP düzeylerini artırmak ve endotel hücrelerine etki edip nitrik oksit (NO) salınımını uyarmak ile olmaktadır. Her iki mekanizmanın sonucunda da vasküler genişleme meydana gelmektedir [59].

1.4.4. Adrenomedullinin reseptörleri ve sinyal iletimi

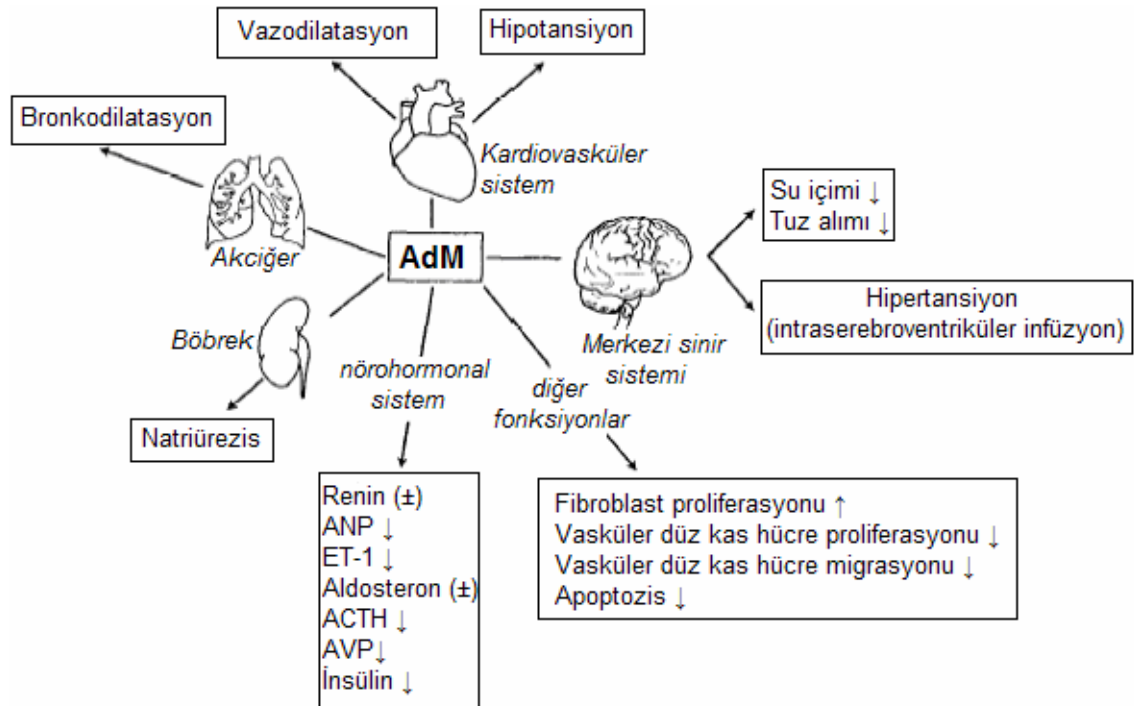
AdM biyolojik aktiviteleri için kalsitonin benzeri reseptör (CL) ve spesifik reseptör aktivitesini modifiye eden proteine (RAMP) ihtiyaç duymaktadır. RAMP ailesi RAMP1, RAMP 2 ve RAMP 3 olmak üzere üç üyeden oluşur. RAMP2 ve RAMP3 sırasıyla AdM1 ve AdM2 reseptörleri olarak da adlandırılmaktadır [69]. AdM'nin biyolojik etkisini CGRP üzerinden ve spesifik AdM reseptörleri (AdM1, AdM2) aracılığı ile gösterdiği bilinmektedir. AdM1 ve AdM2 reseptörlerinde meydana gelen konformasyonel değişiklik sonucunda guanilat siklaz, adenilat siklaz ve protein kinaz A uyarılır ve sonuçta hücre içi cAMP seviyesi artar. cAMP artışı hücre içi kalsiyum miktarının yükselmesi ile sonuçlanır [70].



Şekil 1.8. Adrenomedullinin reseptör kompozisyonu ve hücre içi sinyal yolu

1.4.5. Adrenomedullinin fizyolojisi

AdM'nin biyolojik rolleri Şekil 1.9'da özetlenmiştir.



Şekil 1.9. Adrenomedullinin biyolojik rolleri

a) Damarlar üzerine etkisi

Hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalar ile AdM'nin vasküler tonus üzerinde etkili bir vazodilatör olduğu gösterilmiştir [59]. Köpeklerden izole edilen femoral, renal, koroner, mesenterik ve basiler arterlerde AdM'nin doza bağlı damar gevşemesi yaptığı rapor edilmiştir [61]. Sıçanlardan izole edilmiş aortik arterlerde, insan AdM'nin NO bağımlı gevşeme oluşturduğu, endotelin-1 (ET-1) ve angiotensin II (A-II) salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir [71].

b) Kalp üzerine etkisi

AdM'nin inotropik etkileri hakkında tartışmalı bilgiler mevcuttur. Szokodi vd. AdM'nin (+) inotrop etkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir [72]. Ancak, Ikenouchi vd. tavşan ventrikül myositlerinde AdM'nin (-) inotrop etkili olduğunu bildirmişlerdir [73].

c) Sistemik kardiovasküler etkileri

Anestezi altındaki sıçanlarda AdM'nin damar içi bolus enjeksiyonu sonucunda toplam periferik direnç azaltarak ve kardiyak gücü artırarak AdM'nin doza bağlı olarak ortalama arteriyal kan basıncını azaltmaktadır. AdM kan akışının akciğerler, kalp, dalak, böbrekler, adrenal bezler, ve ince bağırsakta önemli derecede artmasına yol açarken, beyin ve deride bir değişikliğe yol açmamış, iskelet kası ve testislerde ise azalmaya yol açmıştır. Genel olarak yüksek derecede ifade edildiği dokuların çoğunda AdM'nin akış oranını artırması, AdM'nin dolaşımdaki bir hormondan ziyade lokal damar genişletici bir hormon gibi rol aldığını önermektedir [59].

d) Böbreklere etkisi

AdM'nin natriüretik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Köpeklerde yapılan çalışmada böbrek içine verilen AdM'nin belirgin bir diüretik ve natriüretik etki oluşturduğu buna karşın serum fizyolojik verilen diğer böbrekte böyle bir etki oluşturmadığı gösterilmiştir. AdM'nin bu etkisinde artan glomerular filtrasyon oranı (GFR) ve azalan distal tübüler sodyum reabsorpsiyonunun aracılık ettiği düşünülmektedir [74].

e) Merkezi sinir sistemine (MSS) Etkisi

AdM'nin MSS'de su içme ihtiyacını azaltma, tuz alınımında azalma ve gastrik hareketlerde azaltma gibi etkiler yaptığı deneylerle ispatlanmıştır [59].

AdM plazmada normal şartlarda pikomolar konsantrasyonlarda bulunmaktadır [75]. Ancak plazma ve doku AdM seviyeleri hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, akut miyokard infarktüs, kronik böbrek yetmezliği, doku iskemi veya hipoksiya gibi çeşitli durumlarda yükselmektedir. Bu durumun bu patolojik durumlara karşı düzenleyici ve koruyucu rol üstlenmesi nedeniyle olduğu düşünülmektedir [58, 59].

1.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Kuantum kimyasına göre ancak iki elektron bir bağın yapısına girebilmektedir. Elektron çiftleri oldukça karalı yapılardır ve insan vücudunda elektronlar genelde çift halde bulunmaktadır. Bir bağ koptuğunda elektronlar ya birlikte kalmakta ya da ayrılmaktadırlar. Eğer birlikte kalırlarsa oluşan atom bir iyon olur. Ayrılırsa da serbest radikaller oluşur [76].

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren molekül, moleküler parçalar veya atomlar olarak tanımlanabilirler. Eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidirler. Bu nedenle eşleşmemiş elektronların varlığı, serbest radikallere önemli derecede reaktif özellik kazandırmaktadır [76-78]. Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluşabildikleri gibi, çeşitli dış kaynaklı etkenler etkisiyle de oluşabilmektedirler. Oksijen kaynaklı olan radikaller, canlı sistemlerde oluşan radikaller içerisinde en önemli radikal sınıfı olup reaktif oksijen türleri/türevleri (ROT) olarak adlandırılmaktadır [77].

Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde ROT oluşumu normal bir süreçtir [79]. Normal aerobik hücrelerde ROT oluşumu ve antioksidan koruma arasında hassas bir denge vardır. Aşırı ROT üretimi ve/veya yetersiz antioksidan savunma nedeni ile ROT konsantrasyonundaki artış lipitler, membranlar, proteinler ve nükleik asitleri içeren hücre yapılarına hasar vermekte ve bu durum genel olarak oksidatif hasar veya oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır [18, 77, 80]. ROT'lar tüm hücrel makromoleküller ile reaksiyona girebilmekte ve biyomoleküllerde modifikasyonlara yol açabilmektedir. Bu nedenle ROT'lar biyomoleküller için zararlı ajanlardır. Zararlı etkileri nedeni ile ROT'lar davranışsal anormalliklere, sitotoksositeye ve mutajenik hasarlara neden olabilirler [81]. Başlıca serbest radikal kaynakları aşağıda verilmiştir [82].

1. Endojen kaynaklar

- Mitokondriyal elektron taşıma zinciri
- Redoks döngüsü
- Araşidonik asit metabolizması
- Fagositik hücreler ve endotelial hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar
- Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler
- Otooksidasyon reaksiyonları

2. Eksojen kaynaklar

- Diyet faktörleri
- Çevresel faktörler
- İlaçlar

1.5.1 Reaktif oksijen türleri (ROT)

Oksijen kaynaklı olan radikaller (ROT), serbest radikaller içerisinde en önemli radikal sınıfıdır [77, 83]. Başlıca reaktif oksijen türleri şunlardır; Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (HO^{\cdot}), hipokloröz asit ($HOCl$), tekil oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$), peroksil radikali (ROO^{\cdot}), organik peroksit radikali ($RCOO^{\cdot}$), perhidroksil radikali (HO_2^{\cdot}), alkoksil radikali (RO^{\cdot}). Hidrojen peroksit, tekil oksijen ve hipokloröz asit eşlenmemiş elektron içermemelerine karşın, diğer radikalleri meydana getirebildiklerinden dolayı ROT'lar içerisinde dahil edilmektedirler [82].

1.5.2. Serbest radikallerin biyomoleküllere etkileri

Serbest radikaller biyomoleküllere saldırarak onlara zarar verme yeteneğine sahiptirler [77].

• Lipitlere etkileri

Serbest radikaller biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etki etmekte ve lipit peroksidasyonuna yol açmaktadır [84]. Doymamış yağ asitlerindeki bir hidrojen atomunun çıkması peroksidasyonun başlamasına neden olur ve böylece yağ asidi zinciri lipit radikali niteliği kazanır. Radikal dayanıksız olup, çift bağların yerini değiştirir ve oksijenle reaksiyonu sonucu lipit peroksil radikaline dönüşür. Lipit peroksil radikalleri diğer doymamış yağ asitlerine etkiyerek yeni radikalleri oluşturur; bir yandan da

hidrojen atomları olarak hidroperoksitlere dönüşürler. Hidroperoksitlerin parçalanmasıyla lipit alkoksi radikalleri açığa çıkar. Lipit peroksidasyonu antioksidan reaksiyonlarla sonlanır veya devam ederek daha ileriye gider [85]. Lipit peroksidasyon ürünleri olarak açığa çıkan lipit peroksitleri, hidroperoksitleri ve aldehitleri zar yapısına doğrudan, diğer hücre bileşenlerine ise aldehit üreterek dolaylı olarak zarar verirler. Bu da pek çok hastalığın ve doku hasarının oluşmasına neden olur. Zar yapısının bozulması sonucu malondialdehit (MDA) oluşmaktadır [86]. MDA lipit peroksidasyonunun en önemli belirtecidir.

• **Proteinlere etkileri**

Proteinler radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmünoglobulin G ve albümin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulmaktadır [85].

• **Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri**

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek mutasyona ve hücre ölümüne yol açabilirler. Hidroksil radikali bazlarla kolayca reaksiyona girebilir. Hidrojen peroksit ise zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücrelerde fonksiyon bozukluğu ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Bu nedenle DNA serbest radikallerden kolay zarar görebilen bir biyomoleküldür [87]. DNA zincirlerindeki kırılmalar ve mutasyonlar serbest radikallerin yol açtığı hasarlardır [88].

• **Karbonhidratlara etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Açığa çıkan okzoaldehitler, nükleik asitler ve proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı zararlı etkilere yol açabilirler [88].

1.5.3. Serbest radikallere karşı antioksidan savunma sistemleri

Normal fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı hücreler antioksidan savunma sistemleri tarafından korunmaktadır. Antioksidan sistemler endojen-eksojen, enzimatik-enzimatik olmayan veya birincil-ikincil-üçüncül antioksidanlar gibi çok çeşitli şekilde sınıflandırılabilirler. Sınıflandırma şeklinin farklı olmasına karşın, antioksidan sistemin temel görevi, serbest radikal oluşumunun önlenmesi ve/veya oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesidir [82, 88]. Antioksidan sistem;

A) Enzimatik Antioksidanlar:

1) Primer:

- Süperoksit Dismutaz (SOD)
- Katalaz
- Selenyum bağımlı Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)
- Glutasyon-S-Transferaz (GST)
- Glutasyon Redüktaz (GR)

2) İlişkili olanlar:

- NADPH-Kinon Oksidoredüktaz
- Epoksit Hidrolaz
- UDP-Glukronil Transferaz
- Sulfonil Transferaz
- Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G6PD)
- Fosfoglukonat Dehidrojenaz

B) Enzimatik Olmayan Antioksidanlar:

- 1) Glutasyon
- 2) Vitamin C
- 3) Vitamin E
- 4) Vitamin A
- 5) Flavinoidler
- 6) Melatonin
- 7) Ürik Asit
- 8) Albümin
- 9) Haptoglobulin

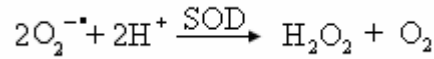
- 10) Sistein
- 11) Seruloplazmin
- 12) Transferrin ve Laktoferrin
- 13) Ferritin
- 14) Oksipurinol
- 15) Ubikinon
- 16) Bilirubin
- 17) Mannitol
- 18) Lipoik asit
- 19) Hemopeksin

şeklinde sınıflandırılabilir [82].

1.5.4. Enzim yapısındaki antioksidanlar

• Süperoksit dismutaz (SOD)

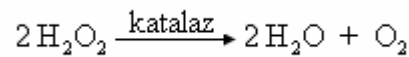
Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir.



Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki $\text{O}_2^{\cdot-}$ düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. SOD’un CuZn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olmak üzere izoenzimleri bulunmaktadır [82].

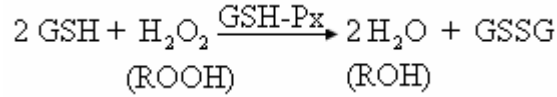
• Katalaz (CAT)

Katalaz esas olarak peroksizomlarda bulunan ve yapısında dört hem grubu içeren bir hemoproteindir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. Katalaz hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalayan bir enzimdir [82].



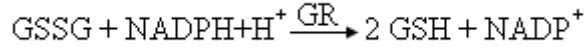
• **Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)**

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Sitozolda yerleşmiş, dört selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. Karaciğerde en yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta; kasta düşük aktivite gösterir. GSH-Px, aşırı hidrojen peroksit varlığında glutasyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG, glutasyon disülfid) oksidasyonunu katalize eder; bu arada H₂O₂ de suya dönüştürülerek detoksifiye edilmiş olur [82].



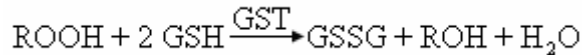
• **Glutasyon redüktaz (GR)**

Yukarıdaki reaksiyondan da görüldüğü gibi glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Bu okside formun ileride kullanılmak üzere tekrar redükte glutatyona dönüştürülmesi gereklidir. Çünkü organizmanın glutasyon deposu sınırlıdır. GR, NADPH varlığında glutasyon disülfiti tekrar redükte glutatyona (GSH) çevirir [82].



• **Glutasyon-S-transferaz (GST)**

GST'ler iki protein alt biriminden oluşan bir enzim ailesidir. Genel olarak üç sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere (ROOH) karşı GST'ler Se-bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi gösterirler [82].



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kurşun ve kadmiyumun toksik etkilerinin ortaya çıkmasına neden olan mekanizma(lar) tam olarak bilinmemekle birlikte, deneysel veriler oksidatif stresin bu etkilerin ortaya çıkmasında rol alabileceğini göstermektedir [21, 51]. Kurşunun oksidatif stresi indüklediğine dair yayınlanan ilk makale 1965 yılında yayınlanan Willis'in makalesidir [89]. Günümüzde de metallerin neden oldukları oksidatif hasar pek çok araştırmacı tarafından araştırılmaya devam etmektedir.

Willis'in makalesinde çeşitli metallerin esansiyel yağ asitlerin oksidasyon oranını artırdığı bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada kurşunun diğer metallere göre etkisiz kaldığı belirtilmiştir [89]. Bu çalışmadan yıllar sonra Yiin ve Lin, MDA analiz yöntemini kullanarak kurşun uygulaması ile lipit peroksidasyonunun arttığını rapor etmişlerdir [90]. Bu sonuç diğer araştırmacılar tarafından da doğrulanmıştır [91, 92]. Shafiq ur-rehman vd. yapmış olduğu çalışmada beyin dokusunun çeşitli bölgelerinde kurşun konsantrasyonu ile birlikte lipit peroksidasyonu oranlarını da ölçmüşlerdir. Bu çalışmada beynin değişik bölgelerinde kurşun konsantrasyonunun artış oranına benzer bir şekilde lipit peroksidasyonunun da arttığını bildirilmiştir [91].

Moreira vd. yapmış oldukları çalışmada gebelik ve laktasyon döneminde Wistar sıçanlara 500 ppm kurşun asetat uygulamışlar ve bu sıçanların 23 günlük sütten kesilmiş ve 70 günlük yetişkin yavruların hipotalamus, hipokampus ve striatum'larında SOD, GSH-Px ve GR enzim aktivitelerini ve kan kurşun seviyelerini çalışmışlardır. Araştırmacılar azalan antioksidan fonksiyonlar nedeni ile oksidatif stresin ortaya çıktığı sonucuna varmışlardır [29]. Ding vd. lipit peroksidasyon ürünleri ve hidroksil radikal seviyelerini ölçtükleri çalışmalarında sıçan aortik endotel hücrelerini 0, 0.01, 0.1, 0.5 ve 1 ppm kurşun asetat ile 1, 24 ve 48 saat boyunca inkübe etmişlerdir. Araştırmacılar 48 saatlik inkübasyon sonunda MDA ve 2,3 dihidroksibenzoik asit (hidroksil radikali ölçümü) oluşumunun önemli derecede arttığını bulmuşlardır. Bu verilere göre kurşuna maruz kalan deney hayvanlarda gözlenen etkilere benzer şekilde, izole endotel hücrelerinde kurşuna maruz kalmanın hidroksil radikali oluşumunu teşvik ettiği ve oksidatif stresi indüklediği sonucuna varmışlardır [93].

Patra vd. kurşuna maruz kalan sıçanların karaciğer, böbrek ve beyin dokularında askorbik asit (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E) ve L-metiyonin gibi antioksidanların oksidatif stres parametreleri üzerine etkilerini ve kurşun seviyelerini araştırmışlardır. Sonuçta araştırmacılar askorbik asit ve α -tokoferol uygulamasının doku kurşun

seviyelerini azaltmadığını ancak lipit peroksit (LPO) seviyelerini azaltarak kurşun ile indüklenen oksidatif stresi tersine çevirerek antioksidan etkilerini gösterdiklerini bildirmişlerdir [27]. Literatürde kurşun uygulamasına bağlı olarak artan ROT oluşumunu bildiren *in vitro* çalışmalar bulunmaktadır [94, 95]. Tandon vd. kurşuna maruz kalan sıçanların kan ve beyin dokularında şelatlayıcı ajan, antioksidan ve bunların birlikte muamelesinin kurşun ile indüklenen oksidatif strese olan etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar antioksidan madde ve şelatlayıcı ajanın ayrı ayrı uygulanması sonucunda, kanda kurşun ile indüklenen ALAD, CAT enzim aktivitelerinin ve MDA seviyelerinin tersine çevrildiğini, beyinde ise MDA seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu iki ajanın birlikte uygulanması sonucunda ise kurşun ile indüklenen oksidatif stres parametrelerinin daha belirgin bir şekilde restore edildiği rapor edilmiştir [96].

Doğal antioksidanların ve tiol şelatörlerin ayrı ayrı ve beraber kullanıldığı bir çalışmada Flora vd. kurşuna maruz kalan sıçanların kan, beyin, böbrek ve karaciğer dokularında SOD, CAT, GSH-Px, ALAD, total GSH gibi oksidatif parametrelerdeki ve kurşun seviyelerindeki değişimleri araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar C vitamininin, E vitaminine göre oksidatif stresi daha etkili bir şekilde azalttığını bildirmişlerdir. Bunu karşı olarak araştırmacılar, E vitamininin mezo-2,3-dimerkapto süksinik asit (DMSA) veya monoizozamil DMSA (MiADMSA) şelatörleri ile birlikte uygulanması sonucunda, dokulardaki kurşun seviyelerinin daha etkili bir şekilde azaldığını rapor etmişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar MiADMSA kullanıldığında bazı yan etkiler ve bakır azalması nedeniyle, kronik kurşun zehirlenmelerinde DMSA'nın vitamin C/E ile kombine muamelesinin daha etkili olacağını önermektedirler [28]. Yine benzer bir çalışmada Saxena vd. kurşuna maruz kalmış sıçanlarda, kan ve dokularda kurşun seviyesinin azalması ve kurşun ile indüklenen oksidatif stresin geri kazanımında DMSA, monometil DMSA (MmDMSA) ve mono-sikloheksil DMSA (MchDMSA) gibi tedavi edici ajanların etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar ALAD, SOD, GSH-Px, GST ve kurşun seviyeleri gibi parametreleri çalışmışlardır. Sonuç olarak bu ajanların biyokimyasal parametrelerin geri kazanımında ve doku kurşun seviyelerinin azalmasında önemli etkiler gösterdikleri bildirilmiştir [25].

Dearth vd. yapmış oldukları çalışmada iki farklı sıçan türü kullanarak kurşun toksisitesinde tür farklılığının önemli olup olmadığını araştırmışlardır. Araştırmacılar dişi Fisher 344 ve Sprague-Dawley sıçanlarına gebelik öncesinden başlayıp yavrularını süttten kesinceye kadar içme suyu ile kurşun uygulamışlardır. Süttten yeni kesilmiş

yavrularla yapılan çalışmalarda Fisher yavrularının kurşuna karşı daha duyarlı olduğu, Sprague-Dawley yavrularının ise daha dirençli olduğu, bu nedenle düşük doz kurşun çalışmalarında Fisher ırkının daha güvenilir bir model olabileceği bildirilmiştir [5].

El-Sokkary vd. kurşuna maruz kalan sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında SOD, total GSH, lipid peroksidasyon (LPO) ürünleri ve histolojik parametreleri kullanarak melatoninin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Melatonin uygulaması sonucunda lipid peroksidasyonunun azaldığı, SOD aktivitesi ve GSH seviyelerinin düzeldiği ve dokulardaki morfolojik hasarın azalarak kontrol grubuna benzediği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir [6].

Kadmiyumun da oksidatif stresi indüklediğine dair çeşitli yayınlar literatürde yer almaktadır. Bagchi vd. sıçanlara kronik düşük dozda kadmiyum klorür uygulamasının karaciğer ve beyin dokularında oksidatif stres parametrelerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar yöntem olarak lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde tiobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS) oluşumunu, DNA hasarının belirlenmesinde de tek zincir kırılmalarında (Single-Strand Breaks, SSB) alkalın elüsyon metodunu kullanmışlardır. Sonuçta araştırmacılar düşük dozdaki kadmiyum uygulamasının karaciğer ve beyin lipid peroksidasyonunu ve nükleer DNA hasarını arttırdığını ve bu durumun toksisite ve kanser oluşumunda rol alabileceğini rapor etmişlerdir [50].

Stajn vd. kadmiyum klorür uygulanmış sıçanların kan ve böbrek dokularında antioksidan savunma sistemini ve selenyumun kadmiyum toksisitesindeki olası koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada CAT, SOD, GSH-Px, GST enzim aktiviteleri, total GSH seviyeleri ile birlikte kadmiyum seviyeleri belirlenmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak, selenyumun antioksidan savunma sistemini iyileştirici yönde kısmen etkili olduğunu ve kadmiyum ile indüklenen nefrotoksisitenin önlenmesinde yetersiz olduğunu bildirmişlerdir [53].

Lupeol (pentasiklik triterpen) ve ester türevi lupeol linoleatın, kadmiyum uygulanmış sıçanların karaciğer dokusunda koruyucu etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada araştırmacılar SOD, CAT, GSH-Px, G6PD, GST, GR enzim aktivitelerinin yanı sıra MDA seviyelerini de çalışmışlardır. Bu araştırmanın sonucunda Sunitha vd. triterpen uygulamasının peroksil radikallerinin süpürülmesi ve antioksidan enzim sisteminin güçlendirilmesinde rol aldığını bildirmişlerdir. Linoleik esterinin bu etkide lupeolden daha yararlı olduğunu rapor etmişlerdir [97].

Casalino vd. kadmiyuma maruz kalan sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında CAT, MnSOD ve CuZnSOD enzim aktivitelerinin yanı sıra TBARS

konsantasyonu aracılığıyla lipit peroksidasyon seviyelerini çalışmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmanın sonucunda lipit peroksidasyonunda önemli artış ile birlikte, MnSOD ve CAT aktivitelerinde önemli inhibisyon bildirmişlerdir [51].

Tandon vd. yaptıkları çalışmada kadmiyuma maruz kalan sıçanların kan, beyin ve karaciğer dokularında şelatlayıcı ajan, antioksidan ve bunların birlikte uygulanması sonucunda MDA ve total glutatyon seviyeleri ile CAT ve SOD enzim aktiviteleri gibi oksidatif parametrelerdeki ve kadmiyum seviyelerindeki değişimleri araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar kadmiyum uzaklaştırma yeteneği olmasa bile, antioksidan uygulamasının oksidatif stresi azaltması nedeniyle yararlı etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. Antioksidan ve şelatlayıcı ajanların birlikte kullanımlarında dokularda kadmiyum oranının azaldığı rapor edilmiştir [46].

Karsinojenik olmayan dozda (15 ppm) kadmiyum uygulanmış sıçanlarla yapılan bir çalışmada Alvarez vd. prostat dokusunda histolojik inceleme ile birlikte lipit peroksidasyonunu, CAT, SOD, GSH-Px ve G6PD antioksidan enzim aktivitelerini ve kadmiyum seviyelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar kadmiyuma maruz kalmanın prostat dokusunda önemli morfolojik değişikliklere yol açtığını ve bu morfolojik değişikliklerin lipit peroksidasyonu ve oksidatif stresten kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir [81].

Alkol ile birlikte sigara kullanımının temel alındığı bir çalışmada Jurczuk vd. sıçanlara kadmiyum ve etanolü ayrı ayrı ve birlikte uygulamışlardır. Araştırmacılar sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında MDA seviyelerini, SOD ve CAT enzim aktivitelerini ve kadmiyum seviyelerini çalışmışlardır. Çalışmanın sonunda kadmiyum ve alkolün ayrı ayrı oksidatif stresi indükleyebilmelerine rağmen, birlikte kullanımlarında daha şiddetli bir durumun ortaya çıkmadığı bildirilmiştir [98].

AdM yeni keşfedilen ve çok fonksiyonlu bir peptid olması nedeniyle, bilim insanlarının dikkatini oldukça fazla çekmekte ve yaygın olarak çalışılmaktadır. Son yıllarda çeşitli araştırmacılar tarafından AdM'nin antioksidan özellik gösterebileceğine dair raporlar yayınlanmaktadır [99-101]. Ancak ağır metallerin neden oldukları toksisite şartlarında AdM'nin etkisi ile ilgili literatürde herhangi bir bilgiye tarafımızca rastlanmamıştır. Bununla birlikte ağır metal uygulaması canlılar için bir stres faktörü olarak değerlendirilebilir. Konuya bu perspektiften bakıldığında, çeşitli stres şartlarında canlılardaki AdM seviyelerinin değişimi ile ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur.

Psikolojik stres modeli olarak akademik stresin kullanıldığı bir çalışmada Al-Ayadhi tıp fakültesi öğrencilerinde nörohormonal değişimleri araştırmıştır. Bu çalışma

sonucunda araştırıcı final sınavları döneminde öğrencilerin plazma AdM seviyelerinin, sınav öncesi döneme göre önemli seviyede yükseldiğini bildirmiştir [102].

Fujioka cerrahi stres şartlarında yapmış olduğu çalışmada ameliyat öncesi ve sonrası plazma AdM seviyelerini araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda insanlarda plazma AdM seviyelerinin ameliyat öncesine göre önemli derecede arttığı rapor edilmiştir [103].

Shan ve Krukoff çeşitli fizyolojik stres modelleri kullanarak yapmış oldukları çalışmalarında sıçan merkezi sinir sisteminde proadrenomedullin mRNA dağılımını araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda stres şartları altında proadrenomedullin mRNA'sının geniş bir dağılım gösterdiği bildirilmiştir [104].

Boldt vd. yaptıkları çalışmada yeni doğanlarda doğum stresinin AdM seviyeleri üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Normal doğum ve sezeryan ile doğan bebeklerde yapılan bu çalışmada normal doğum ile doğan bebeklerde AdM seviyelerinin sezeryan ile doğan bebeklere göre önemli olarak yüksek olduğu bildirilmiştir [105]. Tüm bu sonuçlar çeşitli fizyolojik ve psikolojik stressrlere karşı AdM'nin düzenleyici ve/veya koruyucu bir rol oynayabileceği fikrini akla getirmektedir.

Canlıların hayatlarının devamı için i ortamın değişmez tutulması yani homeostazis şarttır. Homeostazisin sağlanması pek çok organ rol almaktadır. Ancak bazı organlar daha önemli roller üstlenmektedirler. Örneğin karaciğer vücudun diğer sistemleri ile ilişkisi olan, karmaşık pek çok biyokimyasal ve detoksifikasyon olaylarının rol aldığı önemli bir organdır. Metabolizmanın kontrolü, plazma proteinlerinin yapımı, karbonhidratların depolanması, yağ metabolizması, bazı hormonların inaktivasyonu ve çeşitli ilaç ve zehirlerin detoksifikasyonu gibi aktiviteler karaciğerin önemli rollerindedir. Homeostazisin korunmasında, vücudun asit-baz dengesinin sağlanması ve kan pH'sının sabit tutulması önemli rol oynamaktadır. Bilindiği gibi kandaki CO₂ basıncının kan pH'sına önemli etkisi vardır. Ayrıca metabolizma sonucu oluşan asitlerin salınımı asit-baz dengesi için oldukça önemlidir. Memelilerde asit salınımı böbrekler ve akciğerler tarafından yapılmaktadır. Dolayısıyla homeostazis için bu organlar da oldukça önemlidirler [106]. Bu nedenle; yapılan bu çalışma ile kurşun ve kadmiyum uygulaması sonucu indüklenen oksidatif stres şartlarında, AdM'nin karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneylerde Kullanılan Sıçanlar

Deneylerde İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Birimi tarafından üretilen Wistar ırkı dişi sıçanlar kullanıldı (n=36). Sıçanlar; kontrol (K), adrenomedullin (AdM), kurşun (Pb), kurşun + adrenomedullin (Pb + AdM), kadmiyum (Cd) ve kadmiyum + adrenomedullin (Cd + AdM) uygulama grubu olmak üzere eşit sayıda altı gruba ayrıldı. Sıçanlar deney gününe kadar 12 saat aydınlık/karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odada, özel kafeslerde barındırıldı. Sıçanların ağırlıkları 190-240 g arasında olup, sıçanlara standart sıçan yemi ve içebildikleri kadar su verildi.

3.1.1. Kurşun uygulaması

Kurşun deney gruplarına, içme sularında 250 ppm $PbCl_2$ olacak şekilde dört hafta boyunca kurşun uygulandı. Kurşun gruplarının tükettikleri su miktarı dört hafta boyunca her gün aynı saatte olmak üzere tespit edildi. Tüketilen su miktarına göre Pb ve Pb + AdM gruplarının aldıkları $PbCl_2$ miktarı ortalama olarak sırasıyla 36.76 $PbCl_2/kg/gün$ ve 34.13 $PbCl_2/kg/gün$ olarak hesaplandı.

3.1.2. Kadmiyum uygulaması

Kadmiyum deney gruplarına, içme sularında 100 ppm $CdCl_2$ olacak şekilde dört hafta boyunca kadmiyum uygulandı. Kadmiyum gruplarının tükettikleri su miktarı dört hafta boyunca her gün aynı saatte olmak üzere tespit edildi. Tüketilen su miktarına göre Cd ve Cd + AdM gruplarının aldıkları $CdCl_2$ miktarı ortalama olarak sırasıyla 11.45 $PbCl_2/kg/gün$ ve 10.02 $CdCl_2/kg/gün$ olarak hesaplandı.

3.1.3. Adrenomedullin uygulaması

Adrenomedullin deney gruplarına üçüncü haftadan itibaren başlamak üzere, bir hafta boyunca hergün 3000 ng/kg vücut ağırlığı olacak şekilde intraperitoneal (i.p.) enjeksiyon ile serum fizyolojik içerisinde çözündürülen AdM (Calbiochem Adrenomedullin 1-50, Rat) uygulandı.

3.2. Organların Alınması

Sıçanları bayıltmak için anestezi madde olarak ketamin kullanıldı. Sıçanlara ketamin 75 mg/kg'lık dozda i.p. enjeksiyon ile verildi ve bayıltma işlemi 3-4 dakika içerisinde tamamlandı. Tüm uygulama ve kontrol grubundaki sıçanların bayıltma işleminden sonra, abdomenlerden bir kesik yapılarak vücudun iç kısmı yukarı doğru göğüs kafesine kadar açıldı. Bu esnada iç organlara temas edilmemesine özen gösterildi. Kalbin vena cava'sı kesilip, kalpten ve vücuttan kanı uzaklaştırmak için kalbe 20 mL serum fizyolojik enjekte edilerek perfüzyon işlemi tamamlandı.

3.2.1. Karaciğer, akciğer ve böbreklerin alınması ve homojenizasyonu

Perfüzyon işleminden sonra karaciğer, akciğer ve böbrekler tamamen alındı. Dokular serum fizyolojik ile tekrar perfüze edilerek temizlendi ve enzim aktivite, lipit peroksidasyon, atomik absorpsiyon spektrometre (AAS) ve histoloji çalışmaları için dört kısma ayrıldı. Doku örnekleri taraları alınmış deney tüplerine alınarak doku ağırlıkları kaydedildi.

Enzim aktiviteleri için doku tartım işleminden sonra, 1/4 w/v oranında PBS tamponu (pH 7.4) eklenerek buz içerisinde PVC, Kinematica, Status homojenizatörü ile tüm doku örneği parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Homojenizasyon işlemlerinin ardından doku örnekleri +4 °C'de, 17.000 g'de 10 dakika Ole Dich 157.MP mikrosantrifüj cihazı ile santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant örnekleri enzim aktivite ve toplam protein analizleri yapıncaya kadar - 70 °C'de derin dondurucuda saklandı.

Lipit peroksidasyonu için doku tartım işleminden sonra, 1/4 w/v % 1.15'lik KCl çözeltisi ile homojenizasyon işlemi yapıldı. Homojenat örnekleri analizler yapıncaya kadar - 70 °C'de derin dondurucuda saklandı.

3.3. Toplam Protein Ölçümü

Enzim aktivite ve lipit peroksidasyonu ölçümlerinden önce, doku süpernatant ve homojenatlarında toplam protein miktarını saptamak için Lowry yöntemi uygulandı [107]. Bu yöntemde standart protein çözeltisi olarak BSA (Bovine Serum Albumin) kullanıldı. Standart stok çözelti olarak 1 mg/mL konsantrasyonunda çözelti hazırlandı ve bilinmeyen örneklerin çalışma aralığına göre 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 ve 120

$\mu\text{g/mL}$ 'lik BSA çözeltileri kullanıldı. Lowry yöntemi için hazırlanan çözeltiler şu şekildedir.

A çözeltisi

- % 2'lik Na_2CO_3 'ün 0.1 N NaOH'taki çözeltisi : 100 hacim
- % 2'lik Na₂K-tartarat çözeltisi : 1 hacim
- % 1'lik CuSO_4 çözeltisi : 1 hacim

A çözeltisi, yukarıdaki üç çözeltilinin ölçümden hemen önce hazırlanıp, belirtilen hacim oranlarının karıştırılmasıyla hazırlandı.

B Çözeltisi

- Folin Fenol Ayıracı : 1 hacim
- De-iyonize su : 1 hacim

B çözeltisi, belirtilen hacim oranlarının karıştırılmasıyla hazırlandı.

3.3.1. Dokulardaki toplam protein tayini

- Tüm tüplere (kör, standart ve bilinmeyen) A çözeltisinden 2.5 mL pipetlendi.
- Standartlara yukarıda belirtilen BSA çözeltilerinden, bilinmeyenlere de 10 μL örneklerden pipetlendi.
- Tüpler vortekslenip 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 1:1 oranında hazırlanan B çözeltisinden 250 μL tüm tüplere pipetlendi. Tüpler vorteksledikten sonra renk oluşumu için karanlıkta 45 dakika bekletildi.
- Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometre cihazı ile 695 nm dalga boyunda örneklerin absorbansı okundu.
- Standart BSA çözeltilerinden hazırlanan standart grafiğinden yararlanılarak bilinmeyen örneklerdeki 1 mL'deki protein miktarı hesaplandı.

3.4. Enzim Aktivite Tayinleri

3.4.1. Katalaz aktivite tayini

Karaciğer, akciğer ve böbrek süpernatant örneklerinde katalaz enziminin aktivite tayini Luck yönteminde bazı modifikasyonlar yapılarak saptandı [108]. Bu yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- 1/15 M Na-K fosfat tamponu (Na₂HPO₄-KH₂PO₄) pH 7.
- Derişik (% 35) H₂O₂ çözeltisi

Hazırlanan Na-K-fosfat tamponunun 100 mL'sine, 160 µL derişik H₂O₂ çözeltisi pipetlendi. Oluşan bu çözeltilerden 1000 µL alınıp kör olarak kullanıldı. Karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında katalaz aktivitesini belirlemek için yine aynı karışımdan 1000 µL alınıp kuarz küvete pipetlendi ve üzerine karaciğer dokularında 5 µL, akciğer dokularında 20 µL, böbrek dokularında 10 µL süpernatant eklendi. Küvet bir kez karıştırılıp Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda (30 sn. boyunca) absorbans değişimi okundu. Elde edilen bu optik dansite farkından mL'deki enzim ünite sayısı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$C = \frac{\Delta OD \times 1 \text{ dk} \times 1000}{0.036 \times \mu\text{L süpernatant}}$$

3.4.2. Se-Bağımlı glutatyon peroksidaz aktivite tayini

Karaciğer, akciğer ve böbrek süpernatant örneklerinde Se-bağımlı GSH-Px enziminin aktivitesi Lawrence ve Burk yönteminde bazı modifikasyonlar yapılarak ölçüldü [109]. Bu yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- 5 mM EDTA içeren 50 mM K-fosfat tamponu (KH₂PO₄-K₂HPO₄) pH 7.0
- NaN₃ (Sodyum azid) : 1 mM
- H₂O₂ : 2.5 mM
- NADPH : 2 mM
- GSH (Redükte glutatyon) : 2 mM
- GSSG Redüktaz : 5 U/mL

Kör için 1 mL tampon, 30 µL NADPH, 30 µL GSH, 30 µL NaN₃ ve 60 µL GSSG redüktaz çözeltileri kuarz küvete pipetlendi. 37 °C’de 5 dk. inkübasyona bırakılan küvete 20 µL H₂O₂ pipetlendi ve Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda (1 dk. boyunca) absorbans değişimi okundu. Karaciğer, akciğer ve böbrek dokuları için 10 µL süpernatant pipetlendikten sonra kör örnekteki gibi inkübasyona bırakıldı ve 340 nm dalga boyundaki absorbans değişimi okundu. Elde edilen bu optik dansite farkından mL’deki enzim aktivite tayini aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$C = \frac{\Delta OD}{6220/mL}$$

3.4.3. Süperoksit dismutaz aktivite tayini

Karaciğer, akciğer ve böbrek süpernatant örneklerinde SOD enziminin aktivite tayini Sun vd. göre yapıldı [110]. Bu yöntem ksantin-ksantin oksidaz (XO) sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesinin, SOD enzimi tarafından inhibisyonu temeline dayanmaktadır. Bu yöntemde 1 ünite SOD aktivitesi, NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- Ksantin : 0.3 mM
- EDTA : 0.5 mM
- Na₂CO₃ : 400 mM
- NBT : 150 µM
- BSA : 1 g/L
- CuCl₂ : 0.8 mM
- (NH₄)₂SO₄ : 2 M
- Ksantin oksidaz : 0.16 U/mL (2 M’lık (NH₄)₂SO₄ çözeltisi ile hazırlandı)

SOD enzim aktivitesinin tayininde kullanılacak olan reaksiyon karışımı aşağıda belirtilen çözeltiler oranları kullanılarak oluşturuldu.

- Ksantin : 40 mL
- EDTA : 20 mL
- NBT : 20 mL
- Na₂CO₃ : 12 mL
- BSA : 6 ml

SOD enzim aktivitesinin tayininde örneklerin hazırlanması aşağıda verilmiştir.

- Örnek süpernatantlar kloroform/etanol (3/5 V/V) karışımı ile 1:1 oranında karıştırıldı.
- Bu karışım +4 °C’de ve 14.000 rpm’de 30 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası elde edilen süpernatandan enzim aktivitesi ve protein miktarı tayin edildi.

SOD enzim aktivitesinin tayininde Çizelge 3.1’de gösterilen oranlar kullanılarak ölçüm yapılmıştır.

Çizelge 3.1. SOD aktivite tayininde kullanılan çözeltiler miktarları

	Kör	Örnek
Reaktif karışımı	2.9 mL	2.9 mL
Örnek süpernatant	---	50 µL
Distile su	50 µL	---
Ksantin oksidaz çözeltilisi	50 µL	50 µL

- Deney tüpleri oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda reaksiyon 1 mL 0.8 mM CuCl₂ pipetlenmesi ile durduruldu.
- Kör ve örnek tüplerden 3’er mL alınarak distile suya karşı Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometre cihazı ile 560 nm dalga boyunda absorban değerleri okundu.
- SOD aktivitesi sonucu örneklerde oluşan yüzde inhibisyon aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(A \text{ kör} - A \text{ örnek})}{A \text{ kör}} \times 100$$

3.5. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Karaciğer, akciğer ve böbrek homojenatlarında lipit peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA düzeylerinin ölçümü Buege ve Aust'a göre yapıldı [111]. Bu yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- % 15'lik Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi : 1 hacim
- % 0.375'lik Tiobarbiturik asit (TBA) çözeltisi : 1 hacim
- 0.25 N'lik HCl çözeltisi : 1 hacim

Yukarıdaki üç çözeltinin belirtilen hacim oranlarının karıştırılmasıyla lipit peroksidasyonu analizinde kullanılacak çözelti hazırlandı.

Karaciğer, akciğer ve böbrek homojenatlarında MDA seviyelerinin tayini aşağıda verilmiştir.

- 10 mL'lik santrifüj tüplerine hazırlanan çözeltiden 4 mL pipetlendi.
- Örnek tüplerine 1 mL homojenat pipetlendi.
- Tüpler vortekslendi.
- Örnekler kaynar suda (95-100 °C) 15 dk. inkübe edildi.
- Örnekler bir süre oda sıcaklığında bekletildikten sonra su içerisinde soğutuldu ve 3500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
- Süpernatantların 535 nm dalga boyundaki absorbansları Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometre ile okundu.

MDA miktarları aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. MDA-TBA kompleksi için molar absorptans katsayısı; $\epsilon: 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$$C = \frac{OD}{1.56 \times 10^5} \times \frac{\text{Toplam hacim}}{\text{Örnek hacmi}}$$

3.6. Dokulardaki Kurşun ve Kadmiyum Miktar Tayini

Karaciğer, akciğer ve böbreklerden alınan taze doku ağırlıkları kaydedildi. Doku örneklerine 4 mL derişik nitrik asit (% 65 HNO₃) ve 2 mL perklorik asit (% 60 HClO₄) pipetlendikten sonra geri soğutuculu sistemde klasik parçalama tekniği ile örnekler çözünürleştirildi. Daha sonra örneklerin hacmi de-iyonize su ile 10 mL'ye tamamlandı. Doku örneklerindeki kurşun ve kadmiyum miktarları, her metal için ayrı ayrı hazırlanan 0.5-5 ppm lineer aralıktaki standartlara karşı alevli atomik absorpsiyon spektrometre (Philips PU 9100 x AAS) cihazı ile saptandı. Kurşun analizi için Pb oyuk katot lambası (Thermo Electron Corporation Hollow Cathode Lamp) ile AAS'de 217 nm dalga boyunda [24], kadmiyum analizi için ise Cd oyuk katot lambası (Photron Hollow Cathode Lamp) ile 228.8 nm dalga boyunda [46] ölçüm yapıldı.

3.7. Histolojik İnceleme

Doku örnekleri % 10'luk nötral formaldehit ile fiksasyon işleminin ardından 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkandı. Örnekler % 70'den absolüye kadar dereceli etil alkol serileri ile dehidrate edildiler. Dehidratasyonun ardından örnekler 1.5 saat ksilolde şeffaflandırıldı ve 60°C'de erimiş parafine konulup parafin içerisine gömülerek bloklandı. Lipshaw marka rotary mikrotom kullanılarak parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve bu kesitlere histolojik inceleme için Hematoksilen-eosin (H-E) boyama yöntemi uygulandı. Hazırlanan preparatlarda Lyca DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd.; Cambridge, U.K) ile genel histolojik yapı incelendi ve fotoğrafları çekildi. Hepatik hasar hepatosit nekroz, vakuolizasyon, sinuzoidal dilatasyon ve konjesyon, hemoraji ve infiltrasyon değerlendirmesi ile skorlandırıldı.

3.8 İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS for Windows Version 10.0 paket programı ile yapıldı. Değişkenlere ilişkin veriler ortalama ± standart hata ile verildi. İki deney grubunun karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. Deney sonuçlarının ikili karşılaştırmalarında ise en küçük önemli fark (LSD) yöntemi kullanıldı. Kontrol ve AdM gruplarında kadmiyum seviyelerinin

tespit edilememesi nedeniyle sayıları ikiye düşen Cd ve Cd + AdM gruplarındaki Cd seviyelerinin karşılaştırılmasında bağımsız örnek T-testi kullanıldı. Dokulardaki ağır metal ve MDA seviyeleri arasındaki ilişki Pearson korelasyon ve regresyon analizi ile yapıldı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Adrenomedullin ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak sıçanların karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında MDA seviyeleri, CAT, SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri, doku kurşun ve kadmiyum seviyeleri ile birlikte dokuların histopatolojisi araştırıldı. Çalışmanın amacına yönelik olarak yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen veriler Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Sonuçlar doku kurşun ve kadmiyum seviyeleri, lipit peroksidasyon seviyeleri, enzim aktivitelerindeki değişimler ve histolojik inceleme olmak üzere dört başlık altında incelendi.

Çizelge 4.1. AdM ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak doku kurşun ve kadmiyum seviyeleri, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)

	Pb Seviyeleri (µg/g taze doku)			
DOKULAR	Kontrol	AdM	Pb	Pb + AdM
KARACİĞER	0.60 ± 0.04	0.59 ± 0.04	3.54 ± 0.33 ^{a, b}	2.86 ± 0.28 ^{a, b}
AKCİĞER	0.63 ± 0.08	0.60 ± 0.08	7.95 ± 0.88 ^{a, b}	5.20 ± 0.60 ^{a, b, c}
BÖBREK	0.89 ± 0.08	0.80 ± 0.05	9.51 ± 1.18 ^{a, b}	12.36 ± 1.42 ^{a, b}
	Cd Seviyeleri (µg/g taze doku)			
DOKULAR	Kontrol	AdM	Cd	Cd + AdM
KARACİĞER	Tespit edilemedi	Tespit edilemedi	0.93 ± 0.09	0.76 ± 0.01
AKCİĞER	Tespit edilemedi	Tespit edilemedi	2.46 ± 0.09	3.18 ± 0.65
BÖBREK	Tespit edilemedi	Tespit edilemedi	3.03 ± 0.37	3.33 ± 0.24

Çizelge 4.2. Adrenomedullin ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak biyokimyasal parametrelerdeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna, ^d Cd grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c,d} $p < 0.05$)

KARACİĞER	MDA (nmol/mg prot)	CAT (U/mg prot)	SOD (U/mg prot)	GSH-Px (U/mg prot)
Kontrol	0.16±0.006	205.02±2.95	188.47±6.64	24.12±1.14
AdM	0.13±0.011	201.01±3.73	141.42±5.53 ^a	32.06±1.07 ^a
Pb	0.32±0.017 ^{a,b}	239.68±5.93 ^{a,b}	188.14±9.86 ^b	16.04±1.60 ^{a,b}
Pb + AdM	0.24±0.015 ^{a,b,c}	214.40±4.34 ^c	149.68±4.09 ^{a,c}	24.81±2.28 ^{b,c}
Cd	0.20±0.006 ^{a,b}	190.54±3.07 ^a	139.12±7.33 ^a	21.90±2.03 ^b
Cd + AdM	0.23±0.019 ^{a,b}	219.50±5.42 ^{a,b,d}	179.24±8.86 ^{b,d}	18.44±1.81 ^{a,b}
AKCİĞER				
Kontrol	0.13±0.007	28.64±1.54	231.19±5.34	17.59±1.08
AdM	0.15±0.008	25.89±2.64	230.04±6.91	19.27±1.91
Pb	0.21±0.013 ^{a,b}	26.21±1.98	247.70±10.19	19.91±2.71
Pb + AdM	0.17±0.008 ^{a,c}	29.34±2.39	348.41±19.22 ^{a,b,c}	26.22±1.90 ^{a,b,c}
Cd	0.17±0.005 ^a	22.32±1.88 ^a	140.38±8.54 ^{a,b}	15.70±1.45
Cd + AdM	0.25±0.02 ^{a,b,d}	28.86±1.71 ^d	206.80±7.99 ^{a,b,d}	18.82±2.04
BÖBREK				
Kontrol	0.22±0.014	102.40±1.30	240.01±7.39	12.84±0.85
AdM	0.23±0.007	83.12±2.63 ^a	177.59±6.96 ^a	18.02±1.74 ^a
Pb	0.28±0.011 ^{a,b}	91.21±1.65 ^{a,b}	149.49±7.52 ^{a,b}	12.49±0.70 ^b
Pb + AdM	0.28±0.013 ^{a,b}	103.50±2.07 ^{b,c}	190.53±9.37 ^{a,c}	16.67±1.28 ^{a,c}
Cd	0.29±0.01 ^{a,b}	93.91±1.40 ^{a,b}	133.62±6.08 ^{a,b}	13.43±1.08 ^b
Cd + AdM	0.27±0.009 ^{a,b}	94.48±2.33 ^{a,b}	134.52±6.03 ^{a,b}	10.21±1.92 ^b

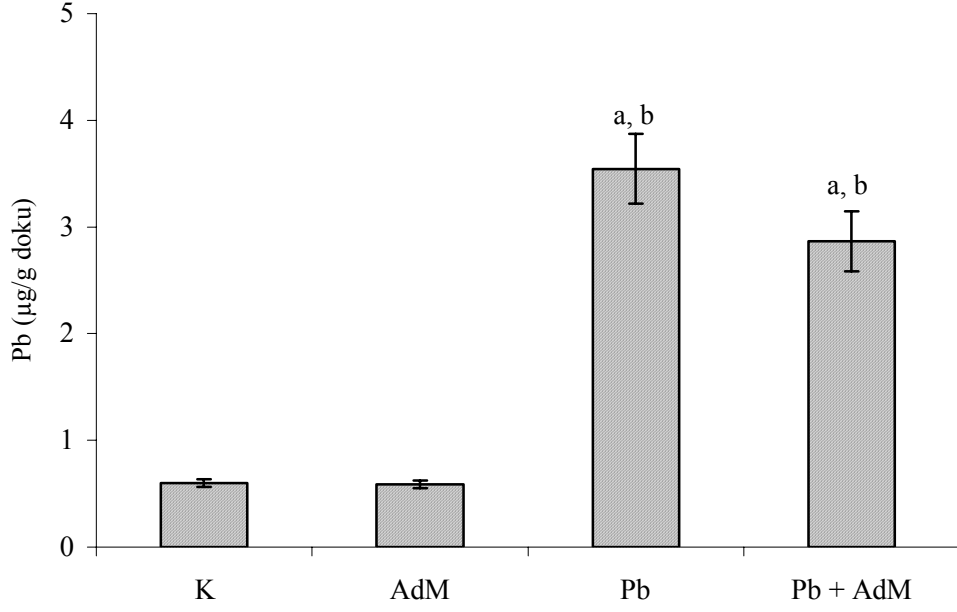
Çizelge 4.3. Karaciğer hasar sonuçları, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b} $p < 0.05$)

GRUPLAR	SKOR
Kontrol	0.33 ± 0.21
AdM	0.50 ± 0.22
Pb	6.83 ± 0.31 ^{a,b}
Pb + AdM	5.50 ± 0.99 ^{a,b}
Cd	4.60 ± 0.74 ^{a,b}
Cd + AdM	5.80 ± 1.35 ^{a,b}

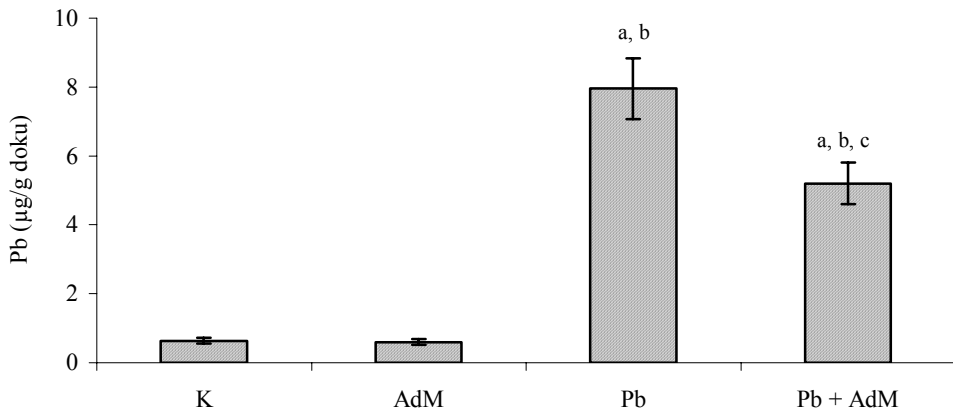
4.1. Karaciğer, Akciğer ve Böbrek Dokularında Pb ve Cd seviyeleri

4.1.1 Kurşun seviyesi

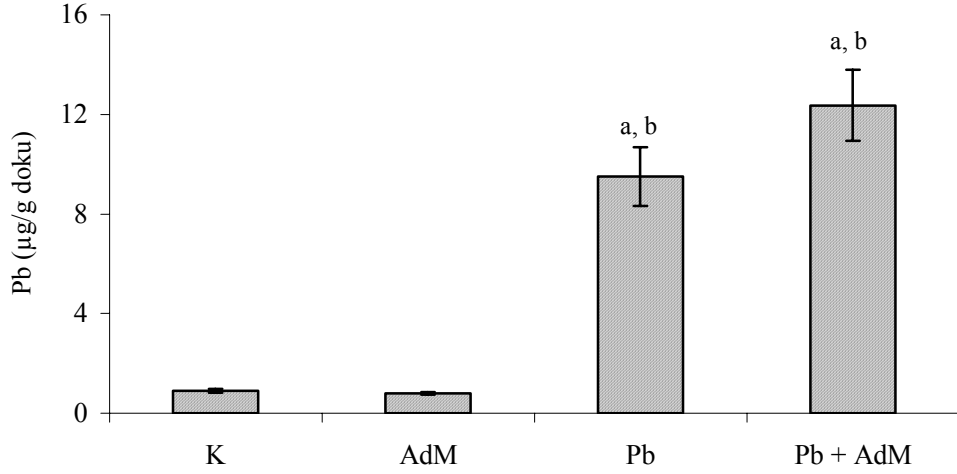
Karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında kurşun uygulamasına bağlı olarak kurşun seviyeleri kontrol ve AdM gruplarına göre Pb ve Pb + AdM gruplarında önemli derecede artmıştır ($p < 0.05$). Akciğer dokusunda AdM uygulaması ile, Pb grubuna göre Pb + AdM grubunda kurşun seviyelerinde önemli azalma saptanmıştır ($p < 0.05$). Buna karşın karaciğer ve böbrek dokusunda Pb grubu ile Pb + AdM grubu arasında kurşun seviyeleri bakımından bir fark bulunmamıştır. Adrenomedullin ve kurşun uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularındaki kurşun seviyelerindeki değişimler sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Karaciğer dokusunda Pb seviyelerindeki değişimler, ^aK grubuna, ^bAdM grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b} $p < 0.05$)



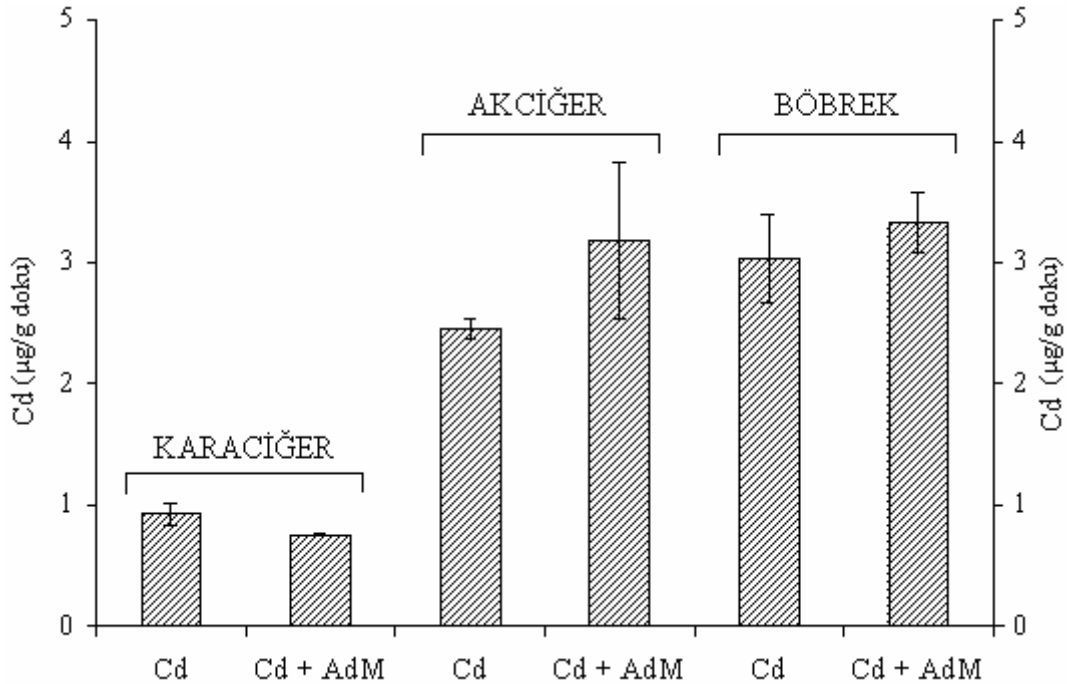
Şekil 4.2. Akciğer dokusunda Pb seviyelerindeki değişimler, ^aK grubuna, ^bAdM grubuna, ^cPb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)



Şekil 4.3. Böbrek dokusunda Pb seviyelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b} $p < 0.05$)

4.1.2 Kadmiyum seviyesi

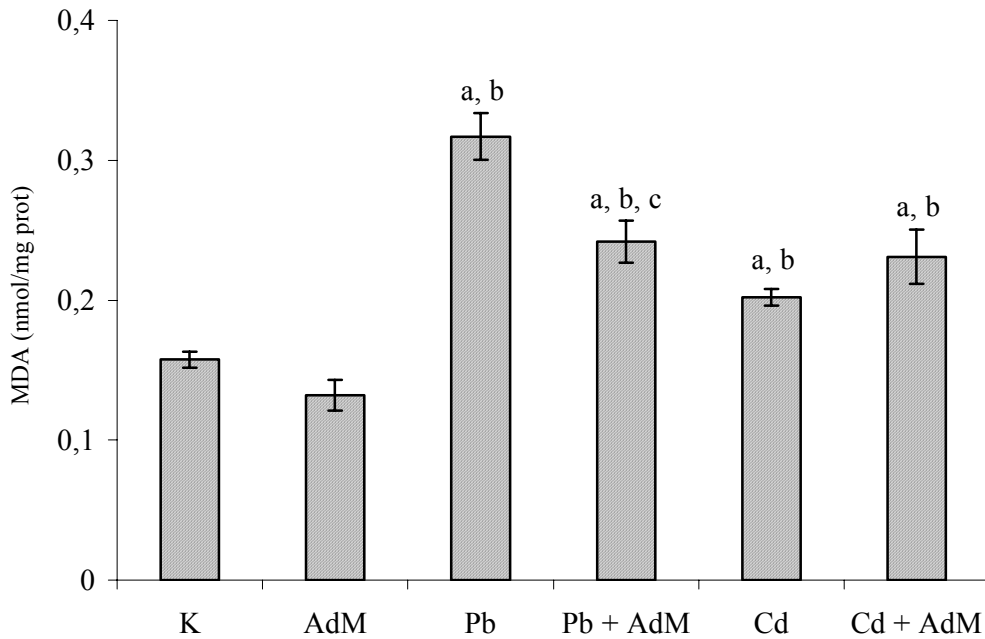
Kontrol ve AdM gruplarındaki hayvanların karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında kadmiyum seviyeleri tespit edilememiştir. Her üç dokuda da kadmiyum seviyeleri bakımından Cd grubu ile Cd + AdM grubu arasında bir fark yoktur. Adrenomedullin ve kadmiyum uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularındaki kadmiyum seviyelerindeki değişimler Şekil 4.4’de gösterilmiştir.



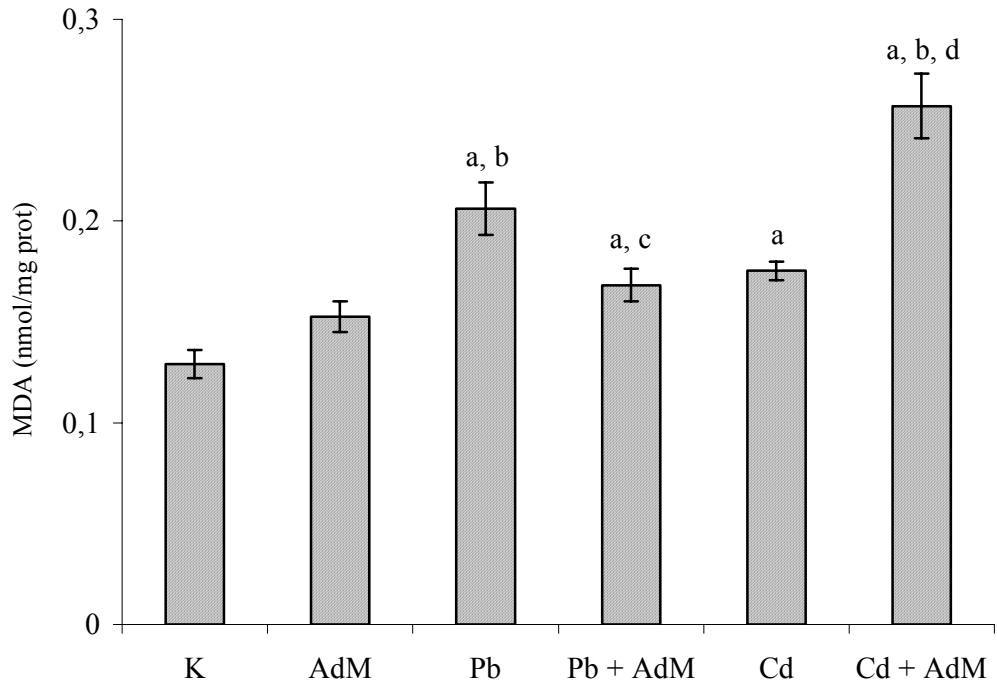
Şekil 4.4. Karaciğer, akciğer ve böbrek dokusunda Cd seviyelerindeki değişimler

4.2. Lipit Peroksidasyon Seviyeleri

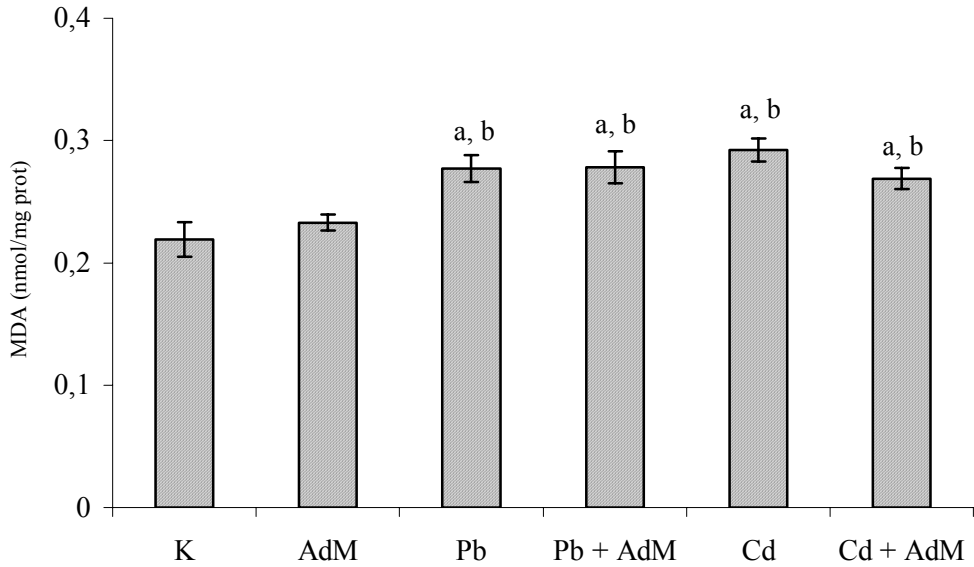
Lipit peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA seviyeleri karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında belirlendi. Her üç dokuda da kurşun ve kadmiyum uygulamasına bağlı olarak kontrol grubuna göre MDA seviyelerindeki artış istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$). Karaciğer ve akciğer dokusunda Pb + AdM grubundaki MDA seviyelerindeki azalış, Pb grubuna göre önemlidir ($p < 0.05$). Buna karşın akciğer dokusunda Cd + AdM grubundaki MDA seviyeleri, Cd grubuna göre önemli derecede artmıştır ($p < 0.05$). Böbrek dokusunda ise AdM uygulaması, hem Pb hem de Cd grubunda MDA seviyelerinde önemli bir değişime yol açmamıştır ($p > 0.05$). Adrenomedullin ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularındaki MDA seviyelerindeki değişimler sırasıyla Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Karaciğer dokusundaki MDA seviyeleri, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)

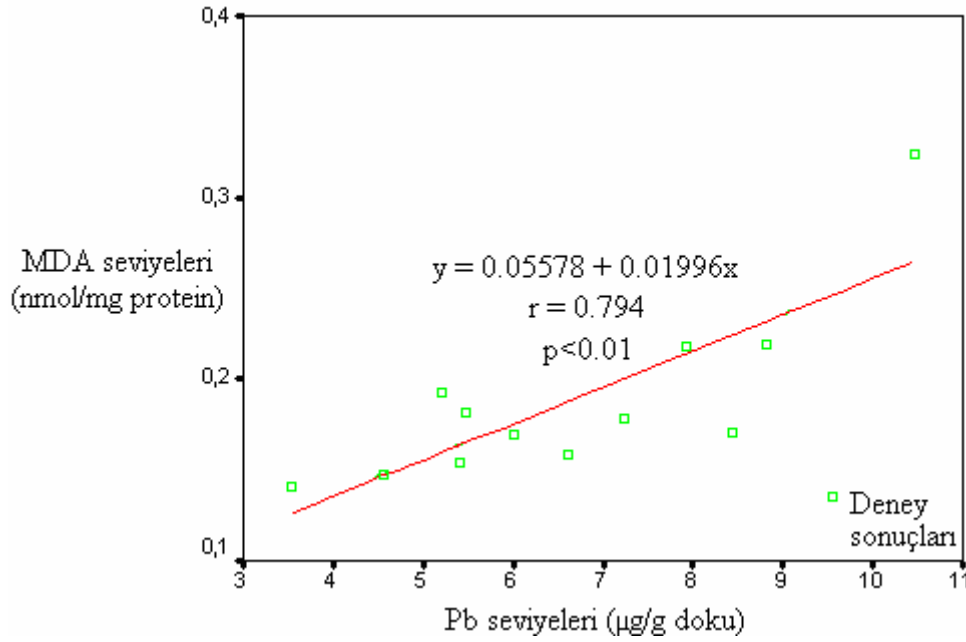


Şekil 4.6. Akciğer dokusundaki MDA seviyeleri, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna, ^d Cd grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c,d} $p < 0.05$)



Şekil 4.7. Böbrek dokusundaki MDA seviyeleri, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b} $p < 0.05$)

Dokulardaki ağır metal miktarları ile lipit peroksidasyonunun en önemli göstergelerinden biri olan MDA seviyeleri arasında bir ilişki olup olmadığı istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu değerlendirme için her bir dokudaki değişkenler (ağır metal-MDA seviyeleri) arasındaki ilişki, Pearson korelasyon ve regresyon analizi ile yapıldı. Analiz sonuçlarına göre sadece akciğer dokusunda kurşun seviyeleri ile MDA seviyeleri arasında pozitif korelasyon belirlendi. Bu analizin sonucu Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



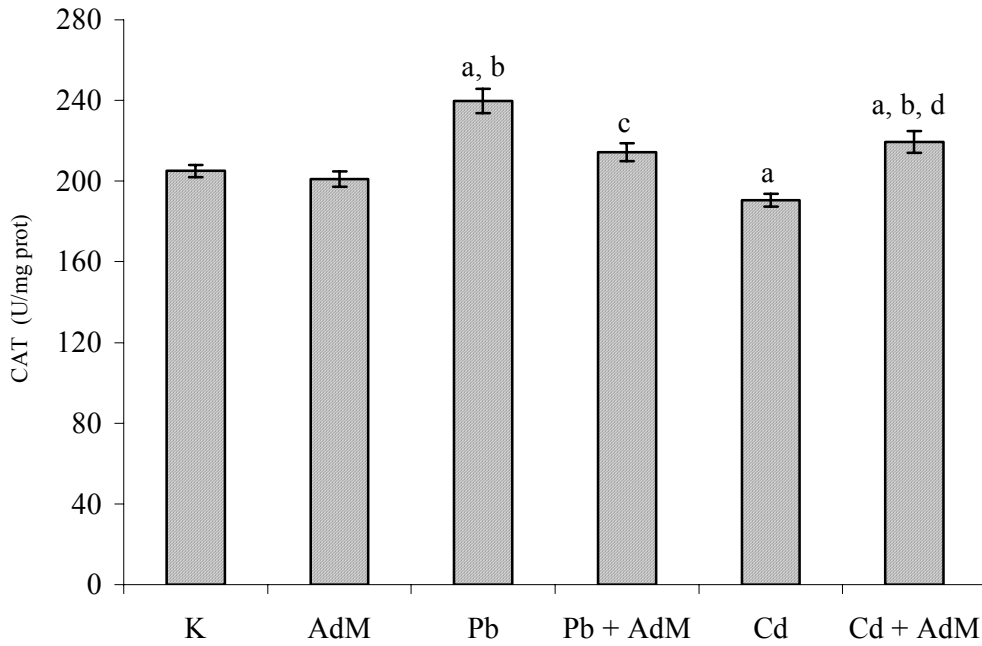
Şekil 4.8. Akciğer dokusundaki Pb ve MDA seviyelerindeki ilişki

4.3. Enzim Aktivite Sonuçları

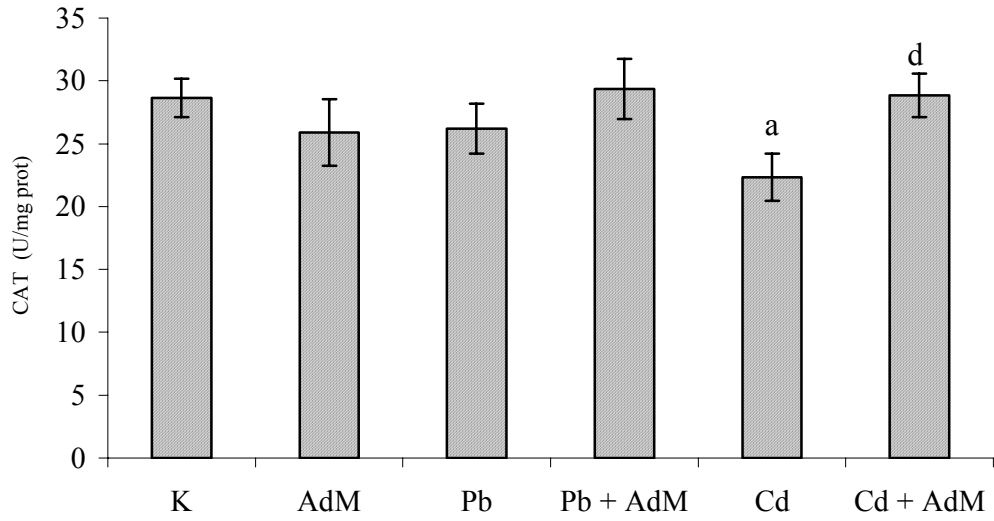
4.3.1 Katalaz

Karaciğer dokusunda Pb grubunda katalaz enzim aktivitesi, kontrol ve AdM gruplarına göre önemli seviyede artmıştır ($p < 0.05$). Pb + AdM grubunda katalaz enzim aktivitesi Pb grubuna göre önemli seviyede azalarak kontrol grubu seviyesine gelmiştir. Kadmiyum uygulamasına bağlı olarak Cd grubunda katalaz enzim aktivitesi kontrol grubuna göre önemli derecede azalmıştır ($p < 0.05$). Buna karşın Cd + AdM grubunda katalaz enzim aktivitesi tüm deney gruplarına karşı önemli derecede artış göstermiştir ($p < 0.05$). Akciğer dokusunda Cd grubunda katalaz aktivitesindeki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Buna ilaveten kadmiyuma maruz kalan sıçanlara AdM uygulaması sonucunda CAT enzim aktivitesi önemli derecede yükselmiş ($p <$

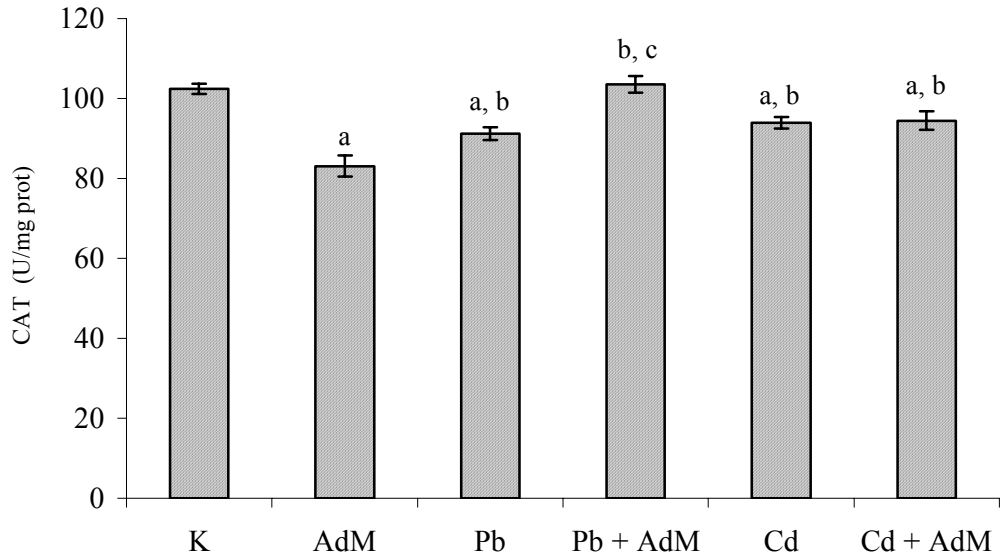
0.05) ve kontrol gruplarındaki seviyeye gelmiştir. Diğer tüm grupların katalaz aktivitesindeki değişimleri kontrol grubuna göre önemli değildir ($p > 0.05$). Böbrek dokusunda ise hem kurşun hem de kadmiyum uygulamasına bağlı olarak, katalaz enzim aktivitesi Pb ve Cd gruplarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0.05$). Buna ilaveten AdM grubunda da katalaz enzim aktivitesi kontrol grubuna göre önemli azalış göstermiştir ($p < 0.05$). Ancak kurşun grubuna AdM uygulaması sonucunda katalaz enzim aktivitesinde Pb grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış ($p < 0.05$) gözlenmiş ve enzim aktivitesi kontrol grubu seviyesine yükselmiştir. Buna karşın kadmiyuma maruz kalan sıçanlara AdM uygulaması, kadmiyum grubuna göre katalaz enzim aktivitesinde bir değişikliğe yol açmamıştır. Adrenomedullin ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularındaki CAT enzim aktivitelerindeki değişimler sırasıyla Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Karaciğer dokusundaki CAT enzim aktivitelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna, ^d Cd grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c,d} $p < 0.05$)



Şekil 4.10. Akciğer dokusundaki CAT enzim aktivitelerindeki değişimler, ^aK grubuna, ^dCd grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,d} $p < 0.05$)

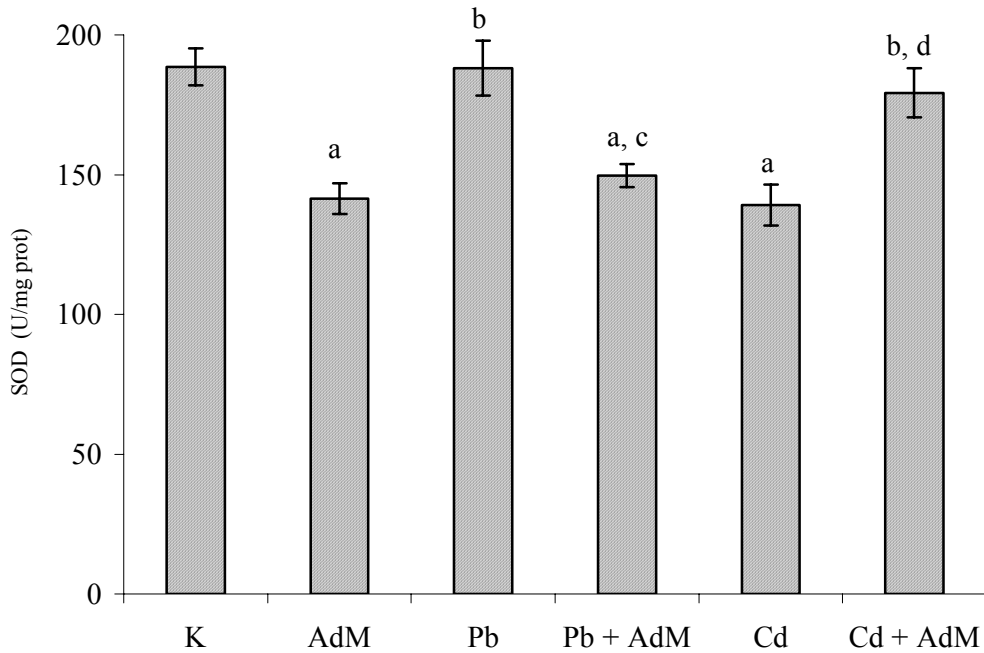


Şekil 4.11. Böbrek dokusundaki CAT enzim aktivitelerindeki değişimler, ^aK grubuna, ^bAdM grubuna, ^cPb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)

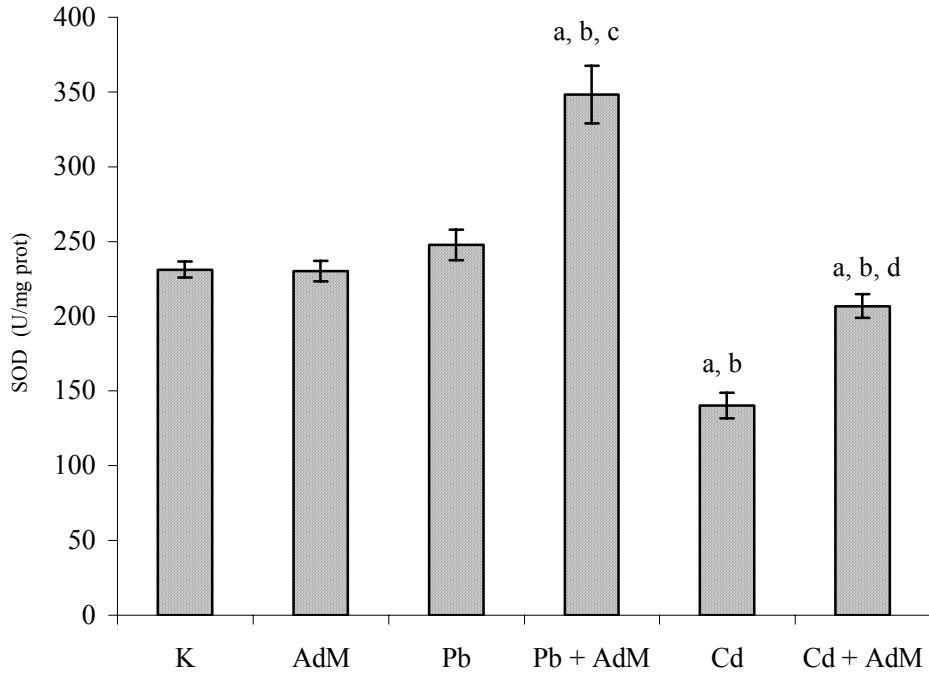
4.3.2. Süperoksit dismutaz

Karaciğer dokusunda Pb uygulamasına bağlı olarak Pb grubunda SOD enzim aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre bir değişim bulunmamaktadır. AdM uygulaması kontrol grubuna göre SOD enzim aktivitesini önemli düzeyde baskılamış, ($p < 0.05$) buna ilaveten Pb + AdM grubunda da enzim aktivitesi Pb ve kontrol grubuna

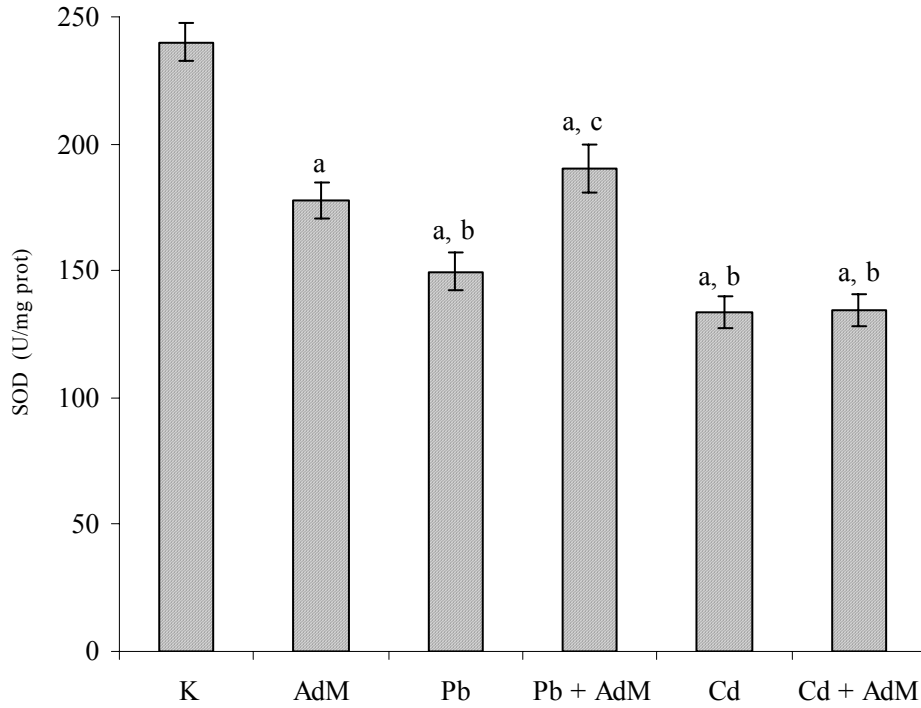
göre önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0.05$). Buna karşın Cd uygulamasına bağlı olarak Cd grubunda kontrol grubuna göre önemli derecede azalan enzim aktivitesi ($p < 0.05$), AdM uygulamasına bağlı olarak önemli oranda yükselerek ($p < 0.05$) kontrol grubu seviyesine gelmiştir. Akciğer dokusunda kontrol, AdM ve Pb grupları arasında enzim aktivitesi bakımından bir fark bulunmamaktadır. Ancak Pb + AdM grubunda SOD enzim aktivitesi bu üç gruba göre önemli düzeyde yükselmiştir ($p < 0.05$). Cd grubunda ise enzim aktivitesi kontrol ve AdM grubuna göre önemli düzeyde azalmış ($p < 0.05$) ancak AdM uygulamasına bağlı olarak Cd + AdM grubunda enzim aktivitesi Cd grubuna göre önemli derecede yükselmiştir ($p < 0.05$). Böbrek dokusunda AdM grubu SOD aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0.05$). Buna ilaveten Pb ve Cd uygulamalarına bağlı olarak sırasıyla Pb ve Cd gruplarında SOD aktivitesi kontrol ve AdM gruplarına göre önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0.05$). AdM uygulamasına bağlı olarak Pb + AdM grubunda enzim aktivitesi Pb grubuna göre önemli düzeyde artarken ($p < 0.05$) Cd + AdM grubunda Cd grubuna göre bir değişim bulunmamaktadır. Adrenomedullin ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularındaki SOD enzim aktivitelerindeki değişimler sırasıyla Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Karaciğer dokusundaki SOD enzim aktivitelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna, ^d Cd grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c,d} $p < 0.05$)



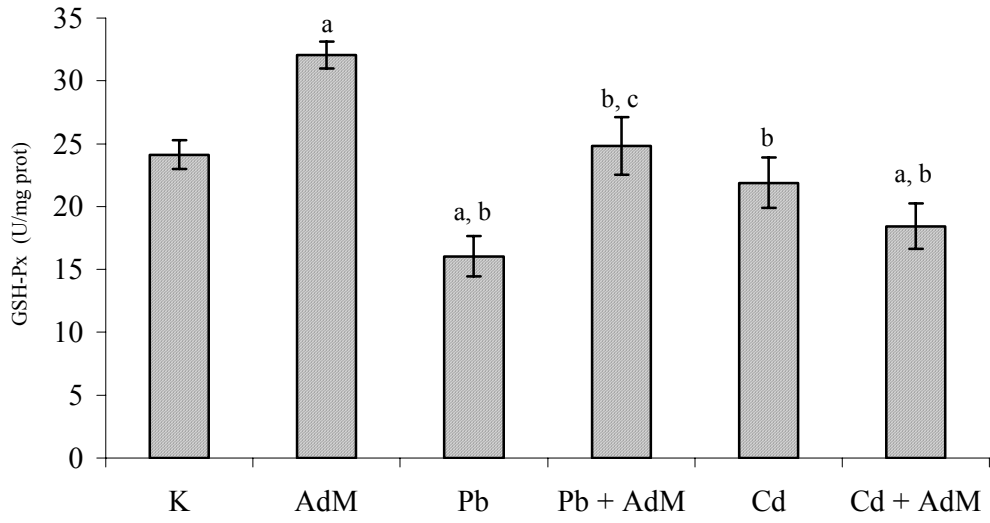
Şekil 4.13. Akciğer dokusundaki SOD enzim aktivitelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna, ^d Cd grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c,d} $p < 0.05$)



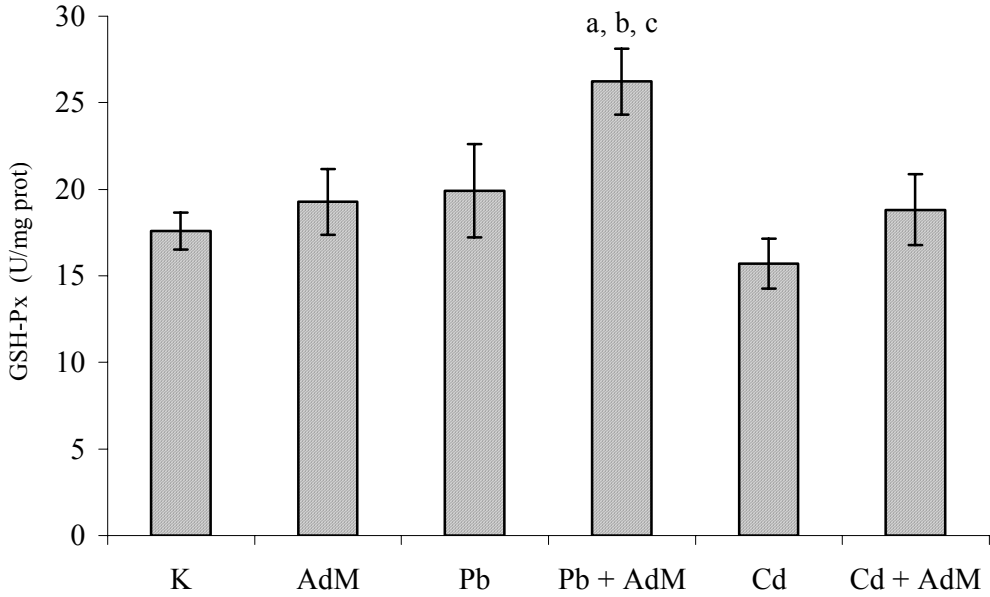
Şekil 4.14. Böbrek dokusundaki SOD enzim aktivitelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)

4.3.3. Glutasyon Peroksidaz

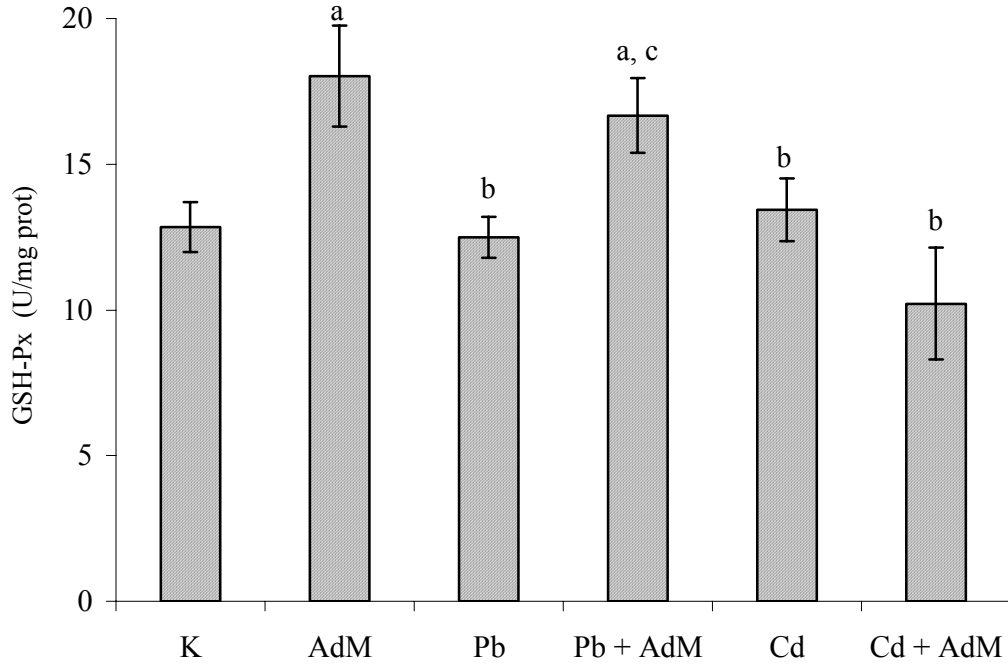
Karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre AdM grubunda GSH-Px enzim aktivitesi önemli düzeyde yükselmiştir ($p < 0.05$). Kurşun uygulamasına bağlı olarak Pb grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalan enzim aktivitesi ($p < 0.05$) Pb + AdM grubunda önemli düzeyde artmış ve kontrol grubu seviyesine gelmiştir ($p < 0.05$). Kadmiyum uygulamasına bağlı olarak Cd grubundaki enzim aktivitesi kontrol grubuna göre azalmakla birlikte, bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0.05$). Ancak Cd + AdM grubunda enzim aktivitesi daha da azalarak kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0.05$). Bununla birlikte Cd ve Cd + AdM grubu arasındaki fark önemli değildir ($p > 0.05$). Akciğer dokusunda kontrol, AdM ve Pb grupları arasında enzim aktivitesi bakımından bir fark bulunmamaktadır. Ancak Pb + AdM grubunda GSH-Px enzim aktivitesi bu üç gruba göre önemli düzeyde yükselmiştir ($p < 0.05$). Kadmiyum uygulaması sonucunda kontrol, AdM, Cd ve Cd + AdM grupları arasında GSH-Px enzim aktiviteleri bakımından bir fark yoktur. Böbrek dokusunda ise karaciğer dokusundaki duruma benzer şekilde, AdM uygulaması kontrole göre enzim aktivitesini AdM grubunda artırmıştır ($p < 0.05$). Kurşun uygulamasına bağlı olarak Pb grubunda kontrol grubuna göre bir değişim meydana gelmemiştir. Ancak Pb + AdM grubunda enzim aktivitesi kontrol ve Pb gruplarına göre önemli düzeyde artmıştır ($p < 0.05$). Buna karşın kadmiyum uygulamasına bağlı olarak Cd ve Cd + AdM gruplarındaki enzim aktivitesindeki değişimler kontrol grubuna göre önemli değildir ($p > 0.05$). Adrenomedullin ve ağır metal uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularındaki GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler sırasıyla Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Karaciğer dokusundaki GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)



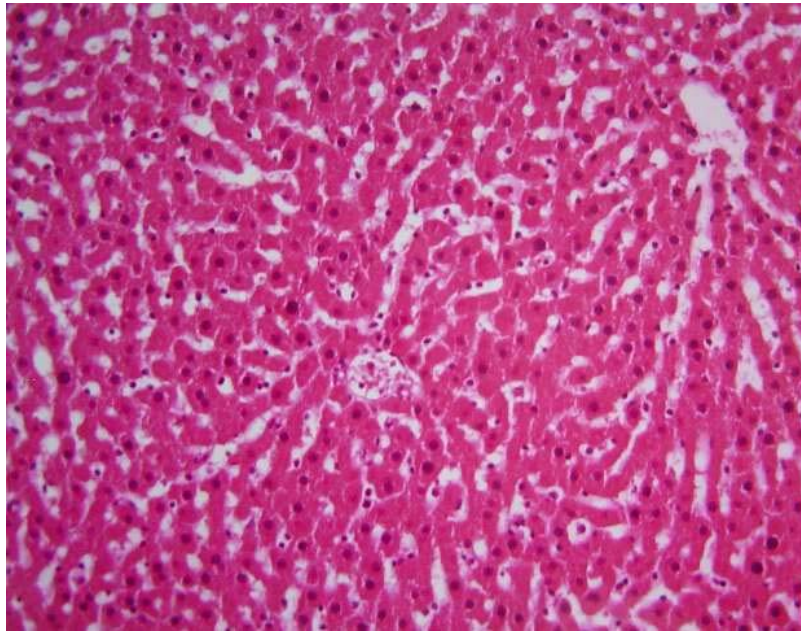
Şekil 4.16. Akciğer dokusundaki GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)



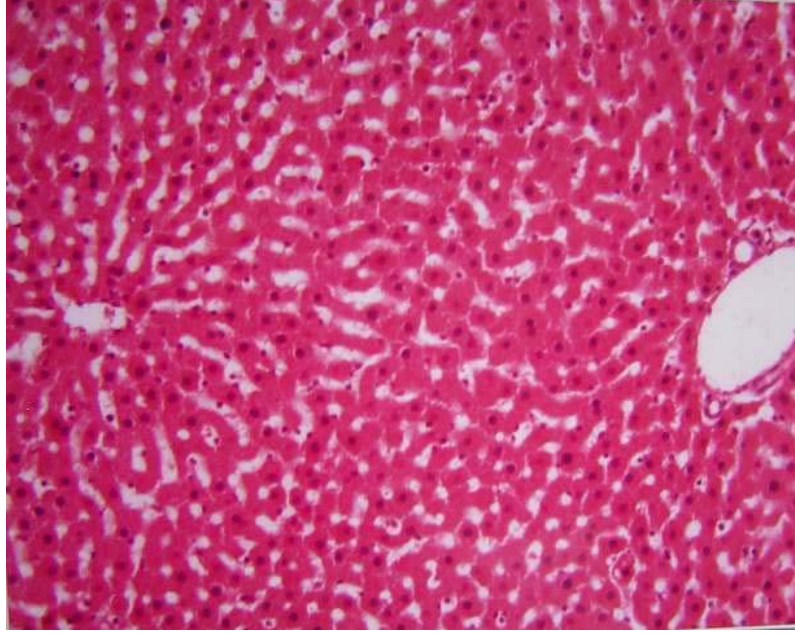
Şekil 4.17. Böbrek dokusundaki GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler, ^a K grubuna, ^b AdM grubuna, ^c Pb grubuna göre değişimler istatistiksel olarak önemlidir (^{a,b,c} $p < 0.05$)

4.4. Histolojik İnceleme

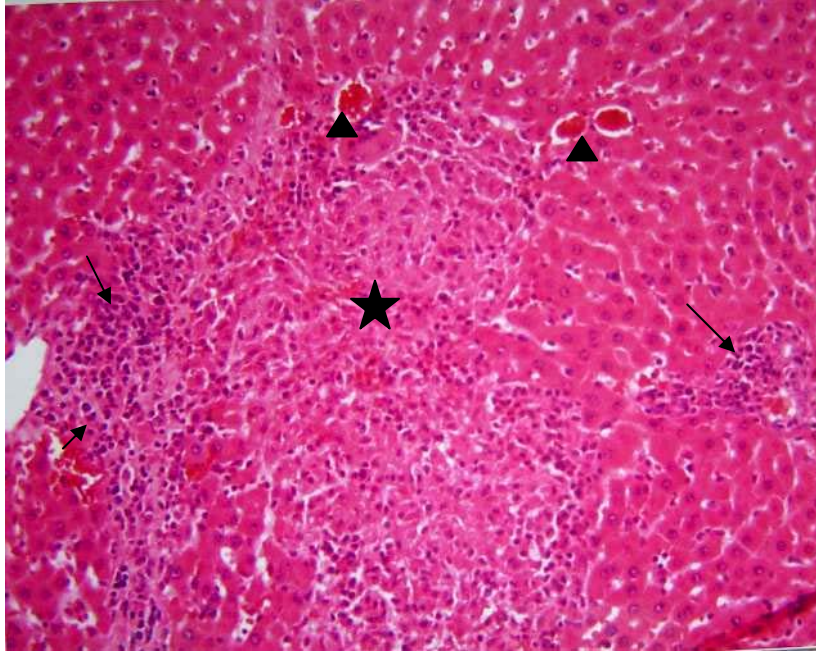
4.4.1. Karaciğer histopatolojik sonuçları



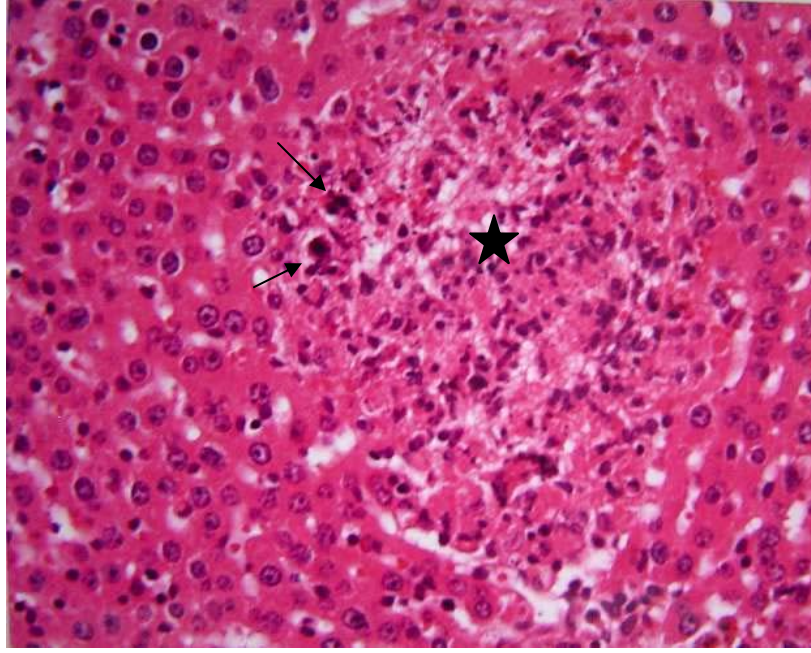
Şekil 4.18. Kontrol grubu karaciğer kesiti, normal histolojik görünüm, H-E x 10



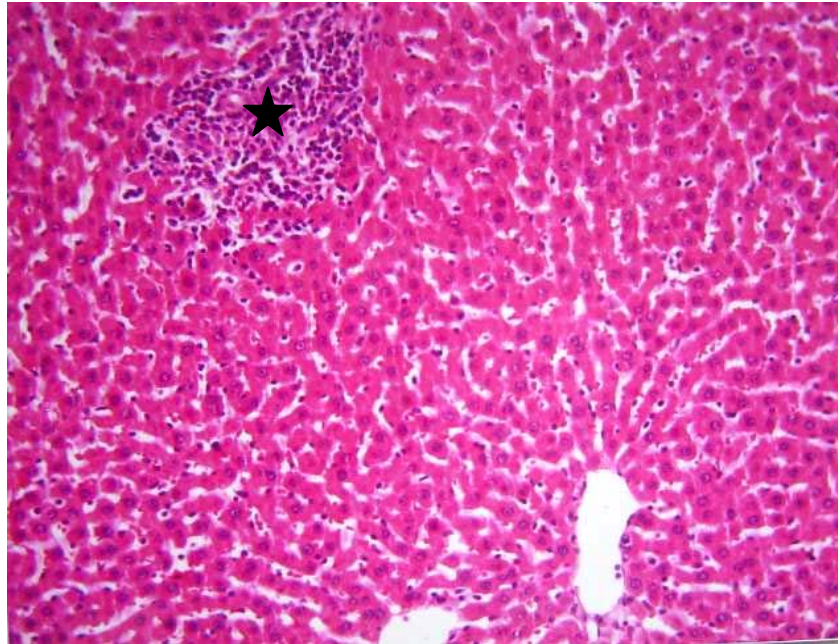
Şekil 4.19. AdM grubu karaciğer kesiti, normal histolojik görünüm, H-E x 10



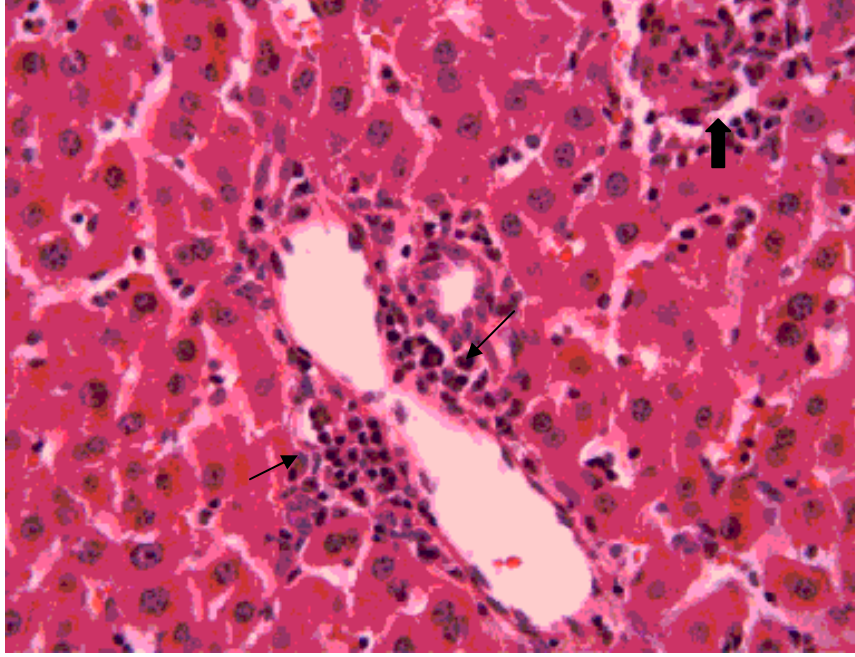
Şekil 4.20. Pb grubu karaciğer kesiti, yaygın nekroz (★), infiltrasyon (→), konjesyon (▲), H-E x 10



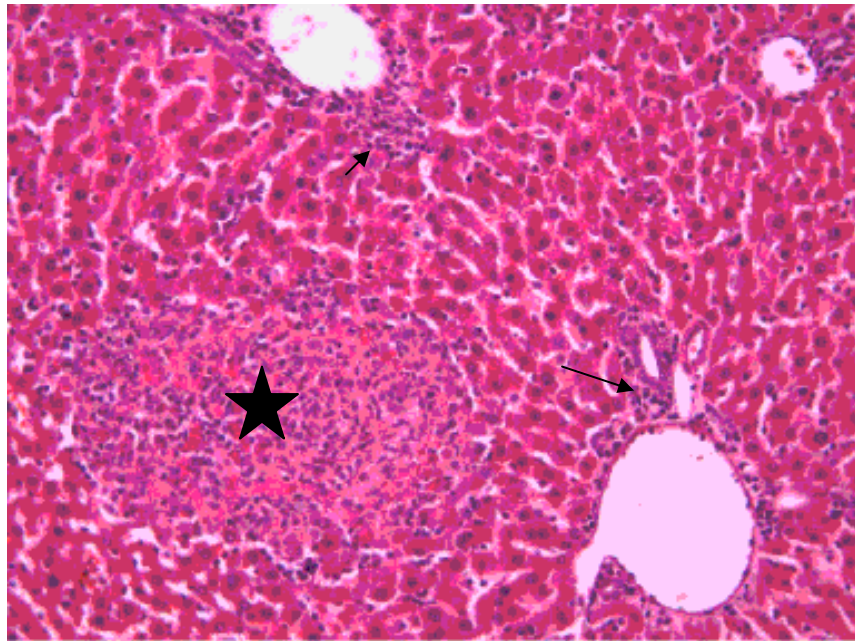
Şekil 4.21. Pb grubu karaciğer kesiti, Nekroz (★), bazofilik granülüzasyon (→), H-E x 20



Şekil 4.22. Pb + AdM grubu karaciğer kesiti, küçük nekroz alanı ve infiltrasyon (★), H-E x 10

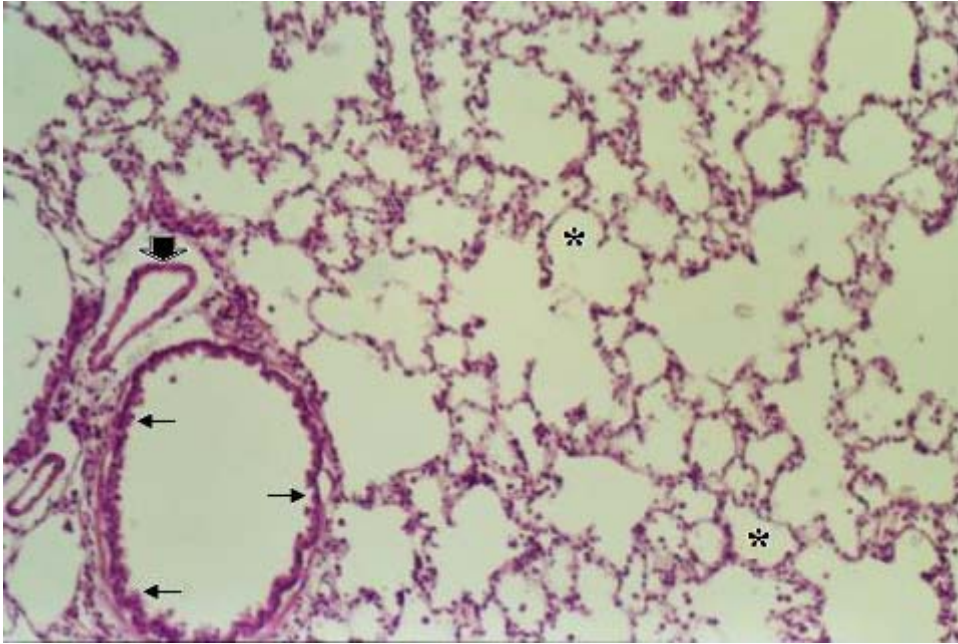


Şekil 4.23. Cd grubu karaciğer kesiti, Nekroz (↑) ve portal alanda infiltrasyon (→)
H-E x 40

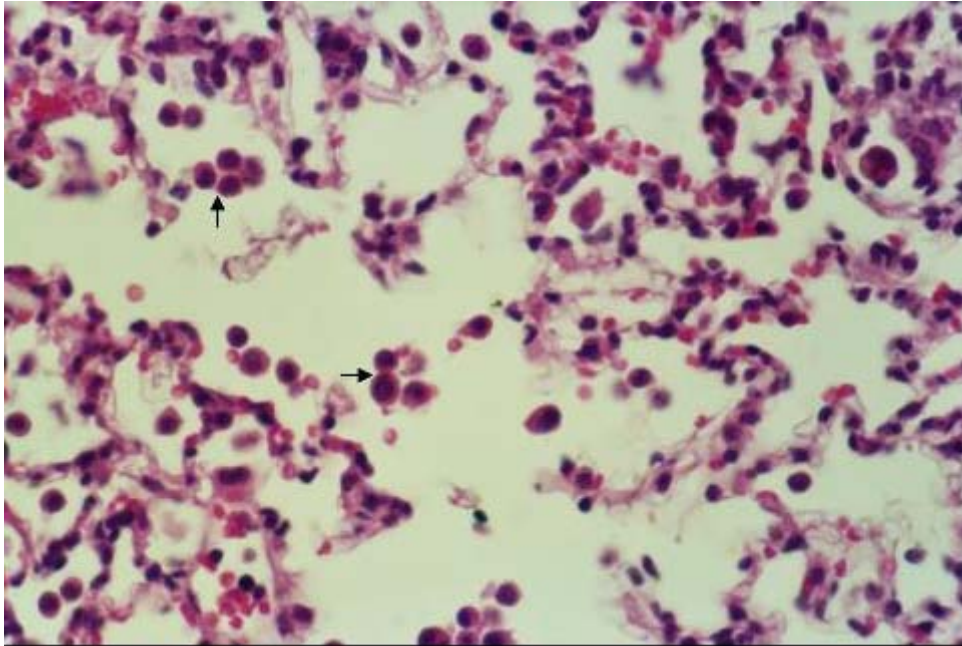


Şekil 4.24. Cd + AdM grubu karaciğer kesiti, Nekroz (★) ve infiltrasyon (→), H-E x 20

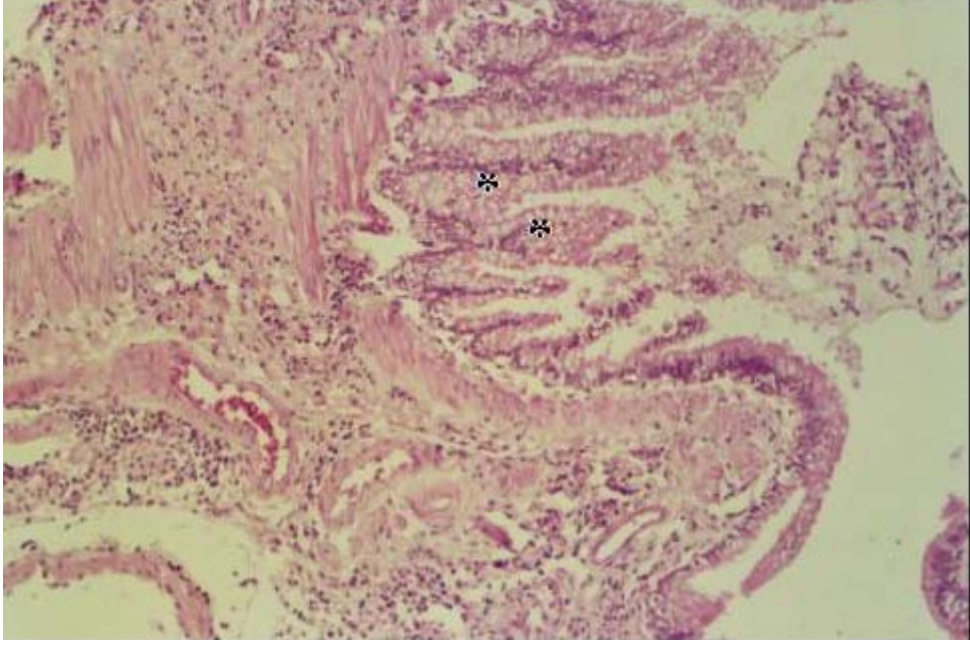
4.4.2. Akciğer histopatolojik sonuçları



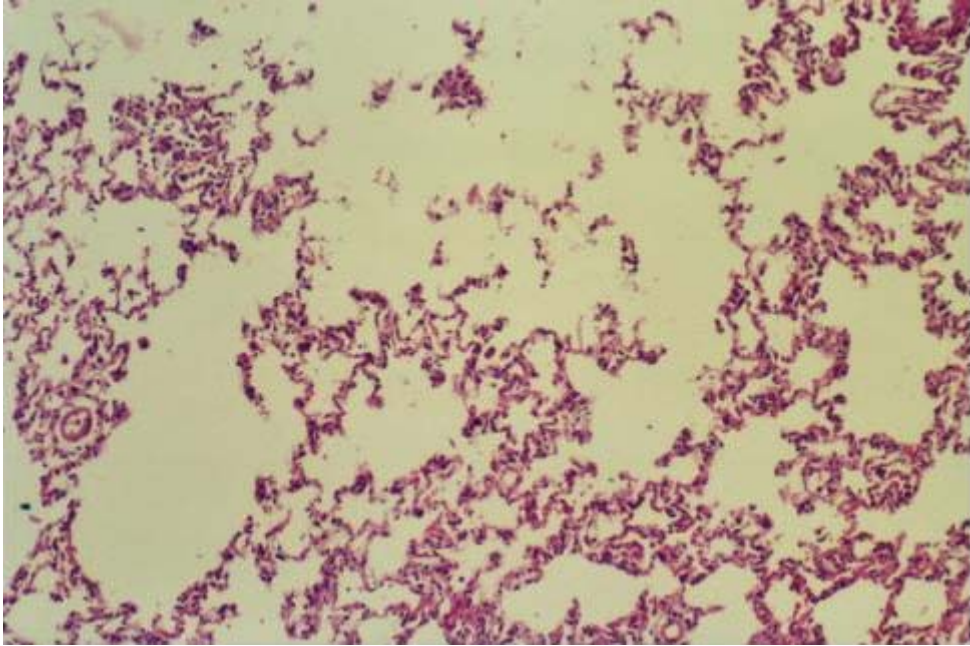
4.25. Kontrol grubu akciğer kesiti, normal histolojik görünüm, Alveol (*), bronşiol (→), damar (↓), H-E x 10



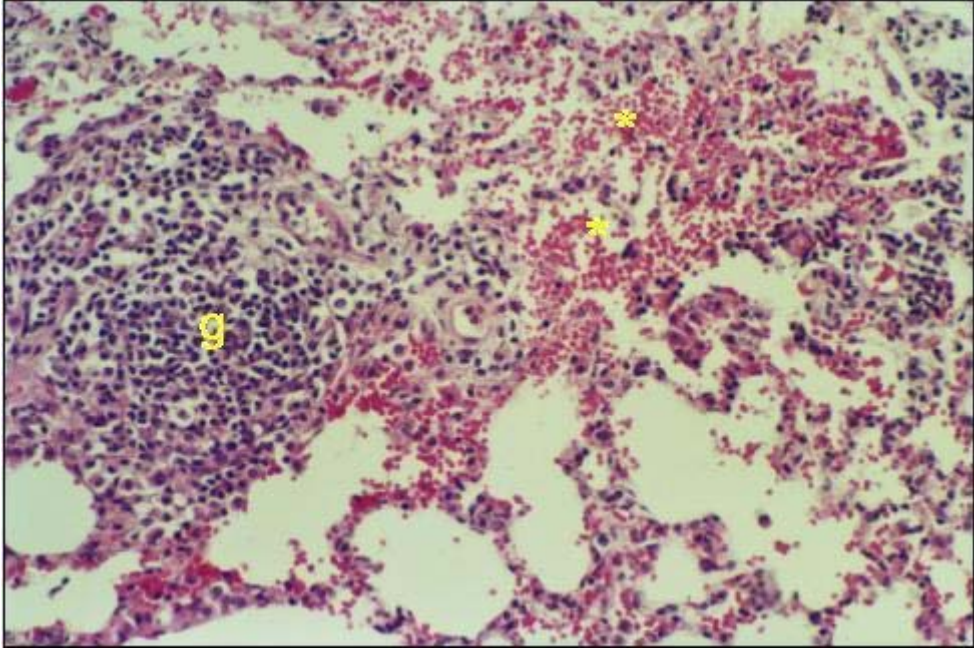
Şekil 4.26. Pb grubu akciğer kesiti, Alveolar septalarda kopma ve alveollerde düzensizlik, alveolar makrofajlarda artış (→), H-E x 40



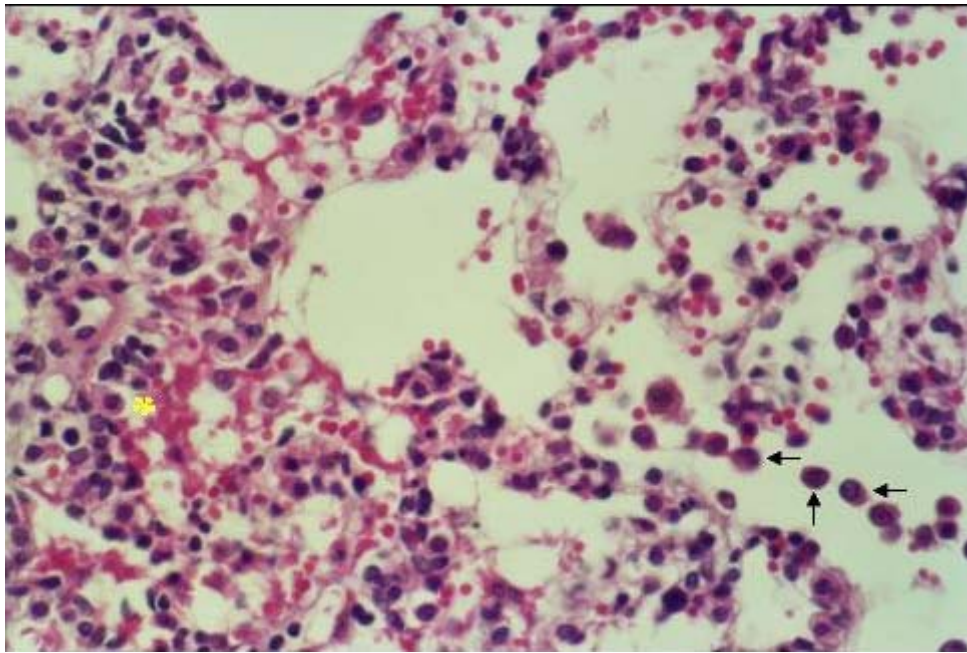
Şekil 4.27. Pb grubu akciğer kesiti, Bronş epitelinde dejenerasyon (*), H-E x 10



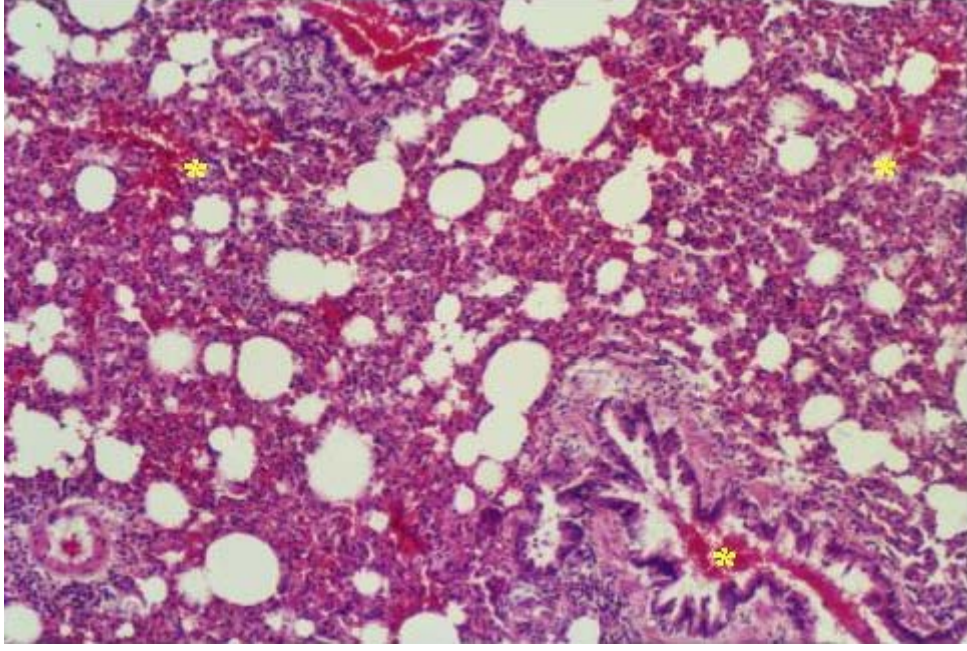
Şekil 4.28. Pb + AdM grubu akciğer kesiti, Alveolar septalarda parçalanma ve alveollerde düzensizlik, H-E x 10



Şekil 4.29. Cd grubu akciğer kesiti, granülamatoz bağ doku artışı (g) ve infiltrasyon, alveolar alanda yoğun eritrosit (*), H-E x 40

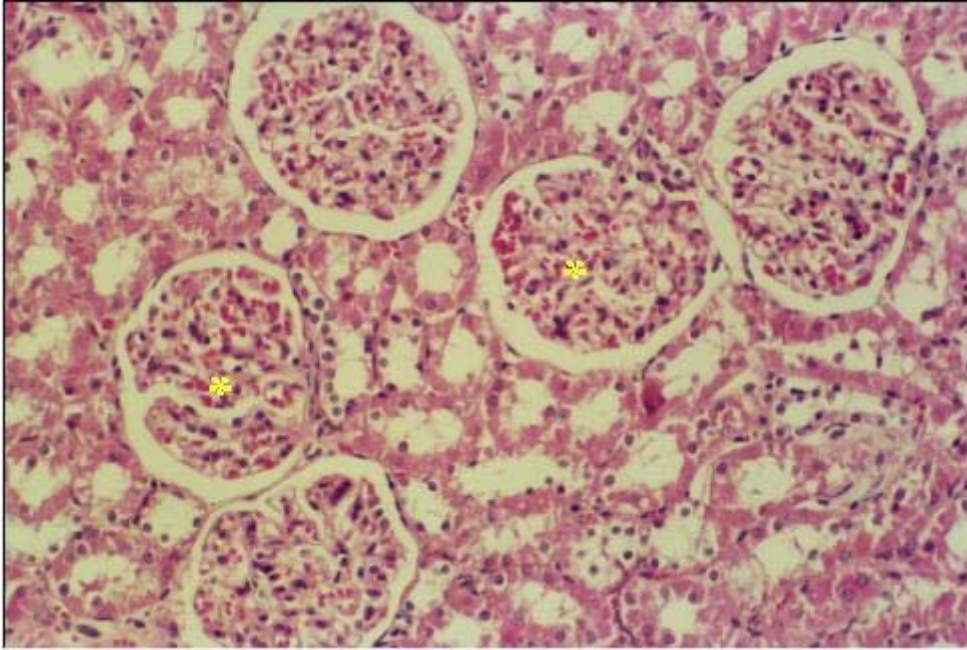


Şekil 4.30. Cd + AdM grubu akciğer kesiti, Alveolar septalarda kalınlaşma ve hücresel artış (*), alveol içinde eritrositler ve alveolar makrofajlar (→) H-E x 40

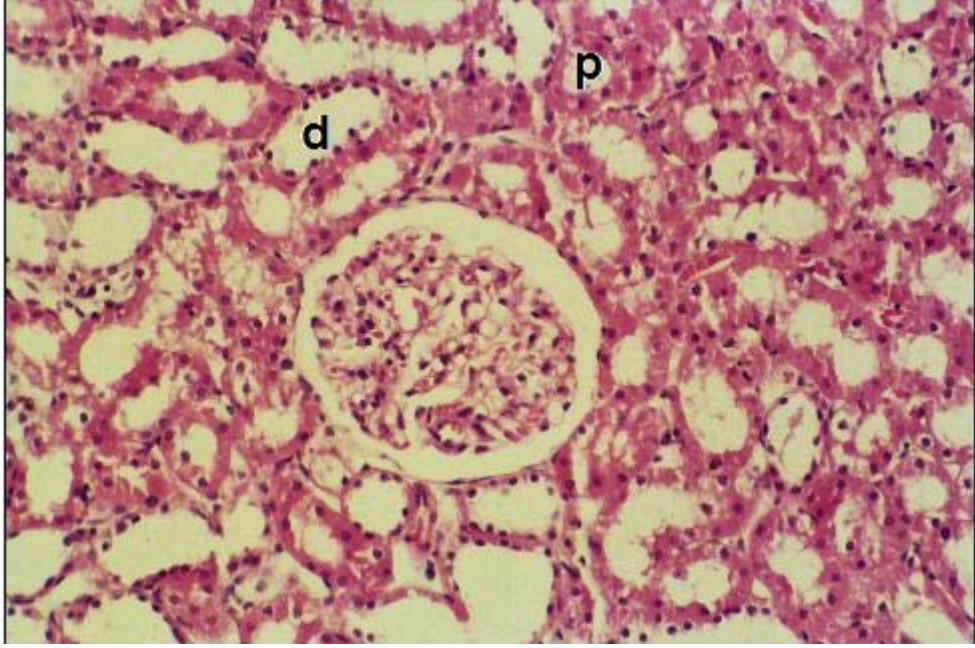


Şekil 4.31. Cd + AdM grubu akciğer kesiti, Alveolar septalarda kalınlaşma, alveol yapısında bozulma, infiltrasyon ve hemoraji (*), H-E x 10

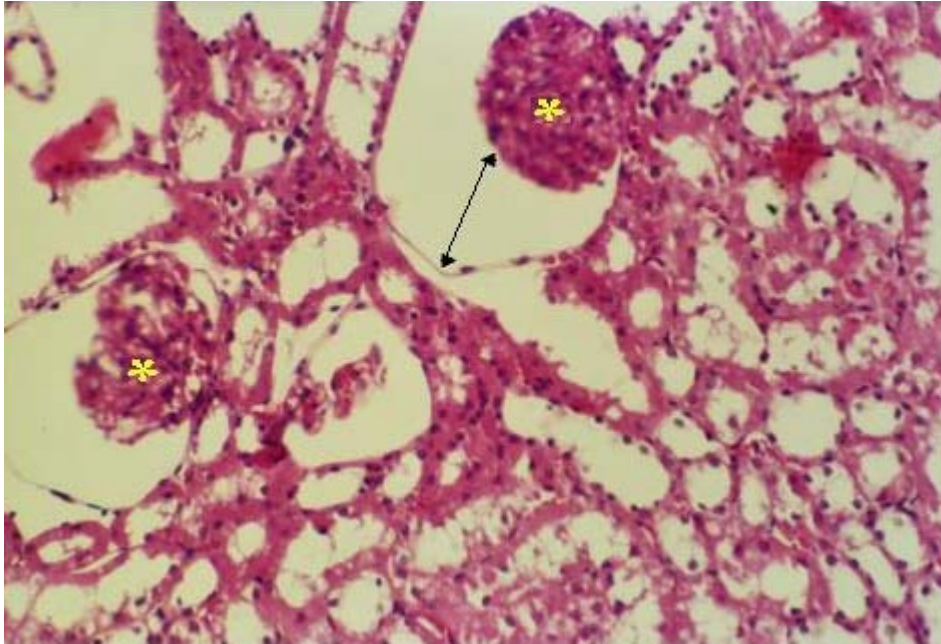
4.4.3. Böbrek histopatolojik sonuçları



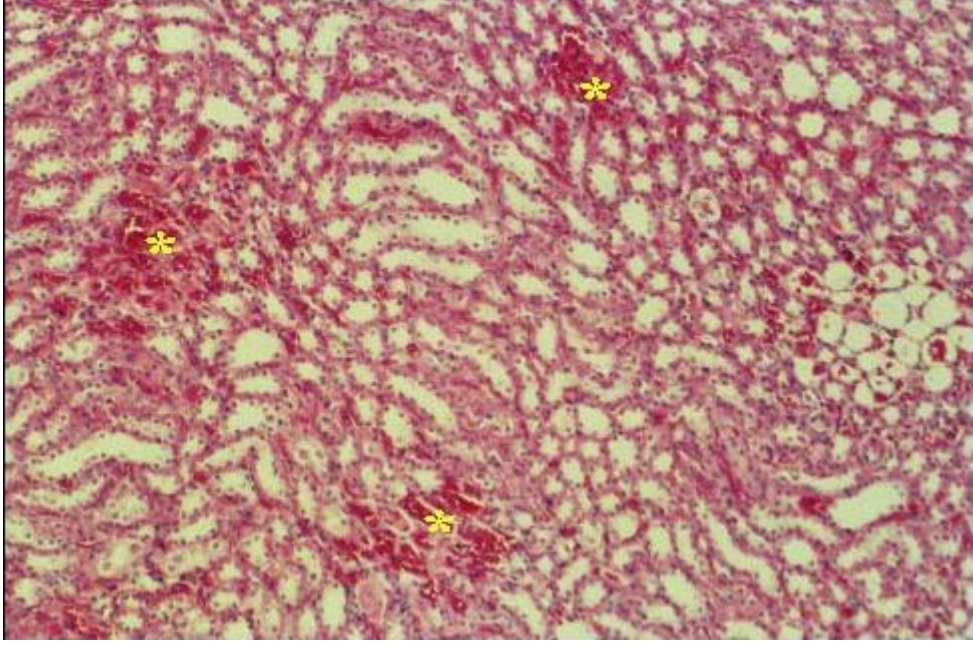
Şekil 4.32. Kontrol grubu böbrek kesiti, normal histolojik yapıda böbrek korteksi, Glomerul (*), H-E x 20



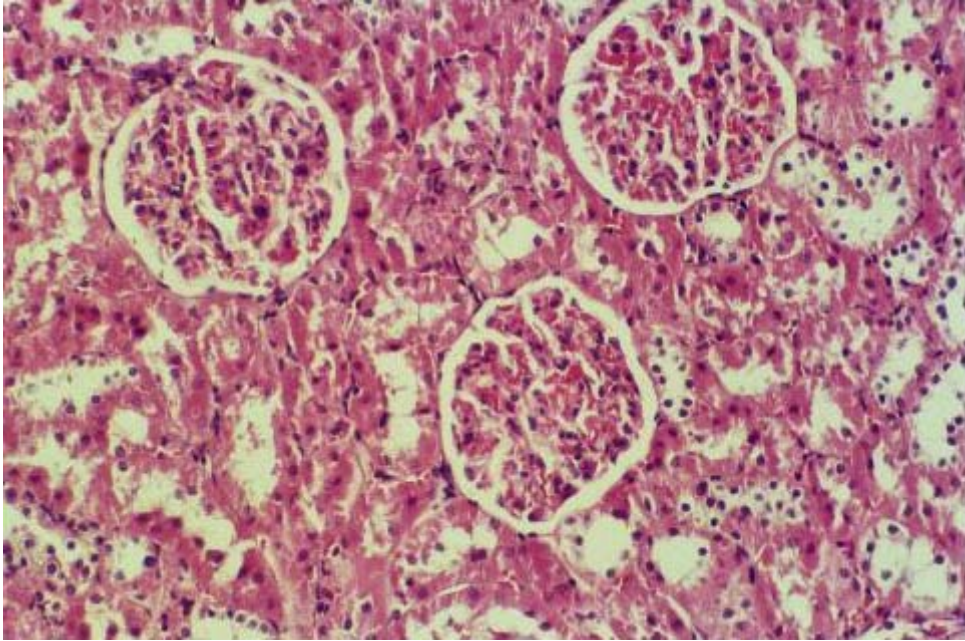
Şekil 4.33. AdM grubu böbrek kesiti, normal histolojik yapıda böbrek korteksi, distal tübül (d), proksimal tübül (p), H-E x 20



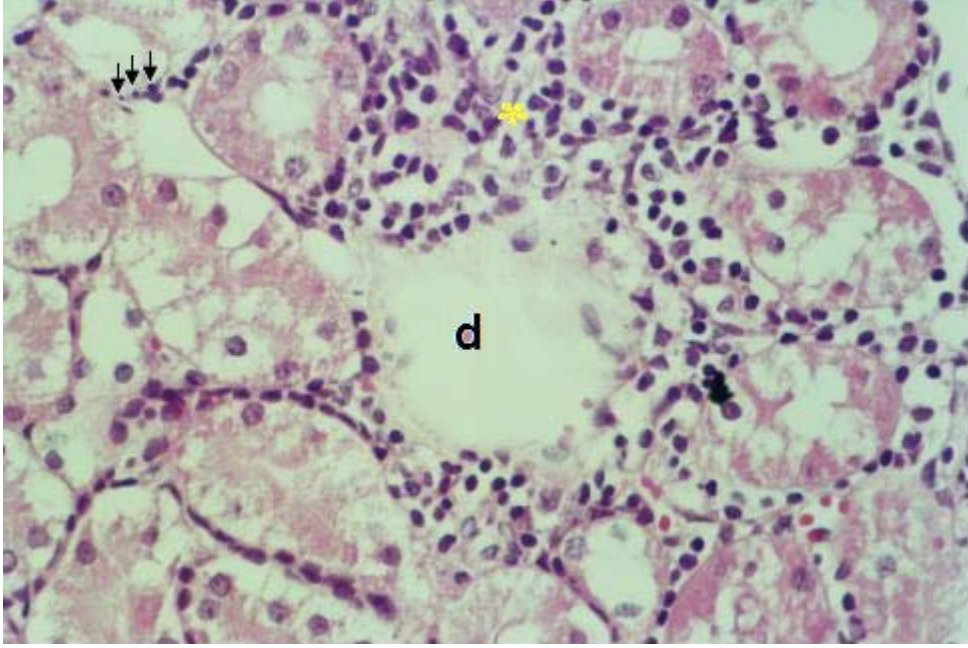
Şekil 4.34. Pb grubu böbrek kesiti, Glomerular kollaps (*), Bowman aralığında genişleme (↔), H-E x 20



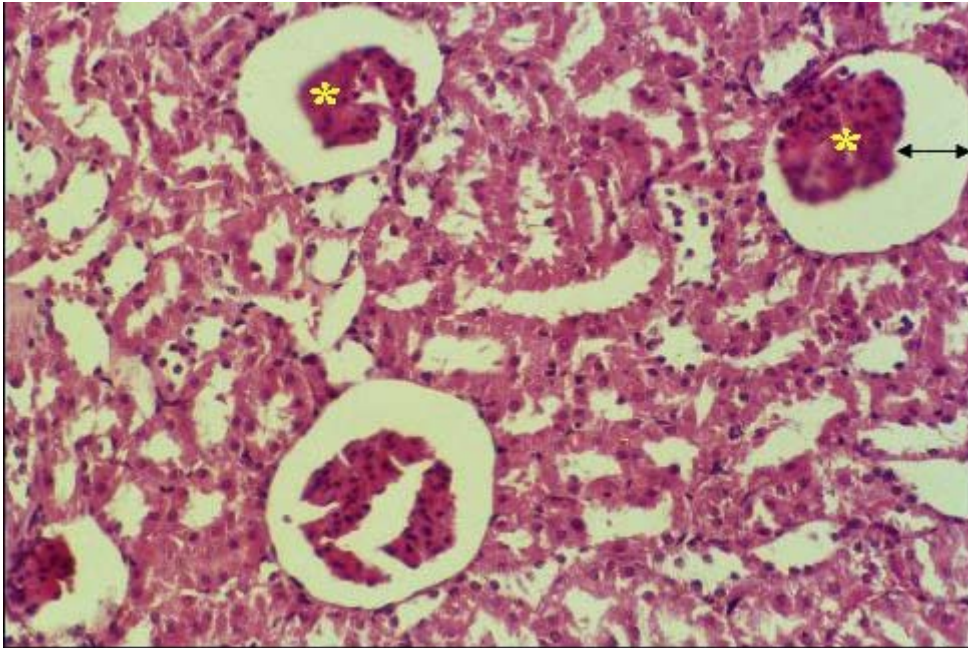
Şekil 4.35. Pb grubu böbrek kesiti, Peritubular alanda hemoraji (*), H-E x 10



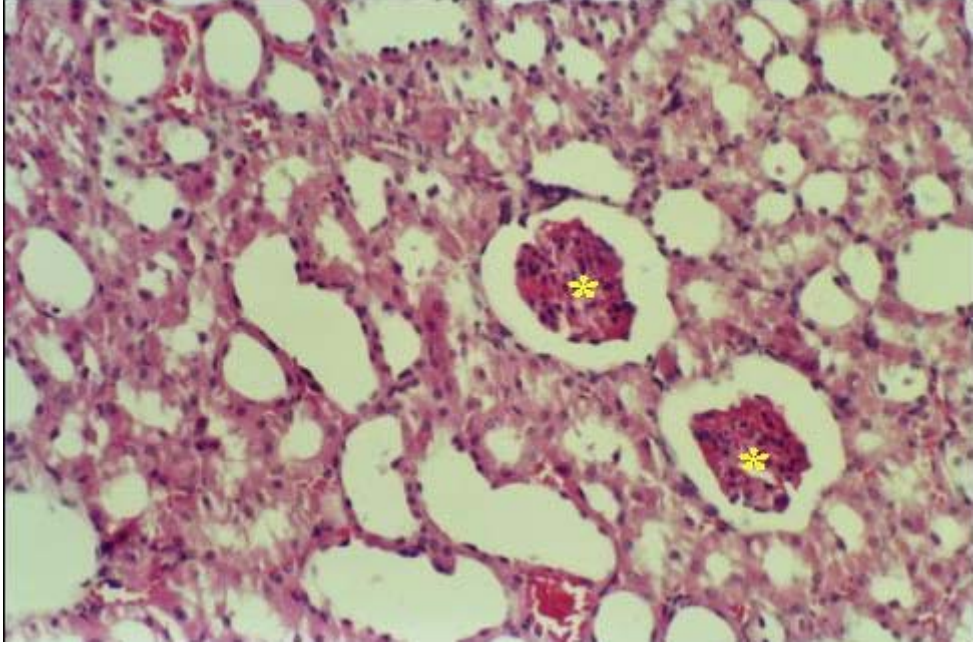
Şekil 4.36. Pb + AdM grubu böbrek kesiti, Normal histolojik yapıda glomerul ve tübüller, H-E x 20



Şekil 4.37. Cd grubu böbrek kesiti, peritubular alanda infiltrasyon (*), tübül epitelinde dejenerasyon (d), piknotik nükleuslar (↓), H-E x 40



Şekil 4.38. Cd grubu böbrek kesiti, glomerular kollaps (*), Bowman aralığında genişleme (↔), H-E x 20



Şekil 4.39. Cd + AdM grubu böbrek kesiti, glomerular kollaps (*), H-E x 10

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ağır metaller yer kabuğunun doğal bileşenleri olmakla birlikte, bozunmayan ve yok edilmeyen özelliktedir. Ağır metallerin genellikle yer kabuğunun derinliklerinde bulunmaları nedeniyle, doğal yollar ile canlılara geçme olasılığı azdır. Ancak, özellikle geride bıraktığımız son yüz yıl içerisindeki insan faktörü nedeniyle, bu durum günümüzde tamamen ortadan kalkmış ve ağır metaller ekosistemin her tarafında bulunur hale gelmiştir [3-7]. Bu nedenle günümüzde ağır metal kirliliği ve dolayısıyla canlıların ağır metallere maruz kalmaları önemli bir çevre problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Alınan tedbirlerin tekrar gözden geçirilip, gerekli yeni düzenlemelerin ve yasal yaptırımların hayata geçirilmemesi durumunda bu sorunun daha büyük boyutlar kazanacağı açıktır.

Canlıların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için, çeşitli metabolik olaylarda rol alan ve ağır metal kategorisi içerisinde yer alıp iz elementler olarak adlandırılan çeşitli metaller, canlılar için mutlak gereklidirler [3]. Bu elementler genel olarak canlılarda düşük seviyelerde bulunmaktadır. Bununla birlikte canlılar için önemli olan bu metallerin konsantrasyonunun arttığı durumlarda canlılara toksik etkileri söz konusu olmaktadır [7]. Buna karşın, canlılarda herhangi bir biyolojik rolü olmayan kurşun ve kadmiyum gibi ağır metaller düşük seviyelerde bile canlılar için toksik olabilmektedirler [8].

Ağır metallerin canlıları giderek daha fazla oranda etkilemesi nedeniyle literatürde ağır metaller ile indüklenen toksisite ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Özellikle kurşun, kadmiyum ve cıva gibi endüstriyel boyutta kullanımı olan ağır metallerin canlılara olan etkisi yaygın bir şekilde araştırmacılar tarafından çalışılmaktadır. Ancak ağır metallerin neden oldukları toksisitenin ortaya çıkmasında rolü olan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Bununla birlikte deneysel çalışmalardan elde edilen veriler, ağır metal toksisitesinde indüklenen oksidatif hasarın, toksik etkilerin ortaya çıkmasında rol alabileceğini göstermektedir [21, 51]. Kaynak özetleri bölümünde aktarılan ve literatürde yer alan diğer kurşun ve kadmiyum ile indüklenen toksisite çalışmalarında genel olarak, toksik etki nedeniyle serbest radikal oluşumunun artması, lipid peroksidasyonunun artması, DNA hasarı, sülfidril grubu içeren proteinlerin fonksiyonlarını tam olarak yerine getirememeleri ve çeşitli enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler ortaya çıkabilmektedir [7, 10, 11].

Adrenomedullin Kitamura vd. tarafından keşfedilen çok fonksiyonlu bir peptittir. Hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, pulmoner hipertansiyon, kronik böbrek yetmezliği, doku iskemi veya hipoksia, sitokinlerle oluşan yangı hasarı gibi patolojik durumlara karşı cevap olarak plazma ve doku AdM seviyeleri artmaktadır. Artan doku ve plazma AdM seviyelerinin humoral veya otokrin/parakrin tarzda toksik faktörler tarafından ortaya çıkan doku hasarına veya doku iskemi ve patolojik olarak bozulan dolaşıma karşı düzenleyici olarak fonksiyon yaptığı kabul edilmektedir [58, 59]. Hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, pulmoner hipertansiyon gibi çeşitli rahatsızlığı olan insanlara tedaviye yönelik intravenöz ve/veya intraarteriyel AdM infüzyon çalışmaları literatürde bulunmaktadır. Buna ilaveten son yıllarda AdM'nin endojen bir antioksidan olarak rol alıp koruyucu rol üstlenebileceğine dair çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır [99-101].

Adrenomedullinin son yıllarda ortaya çıkan bu özelliğinden dolayı, literatürde herhangi bir veriye rastlayamadığımız kurşun ve kadmiyum gibi ağır metal toksisitesinde, AdM'nin koruyucu bir rolünün olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bu kapsamda, yaptığımız çalışmada lipit peroksidasyonu son ürünü olan MDA seviyeleri, antioksidatif savunma sisteminin primer antioksidan enzimleri olan CAT, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerindeki değişimler, dokulardaki ağır metal seviyeleri ve histolojik değişimler çalışılmıştır.

Kurşun ve kadmiyum uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde yükselmiştir. Bu sonuç literatürdeki pek çok çalışma ile paralellik göstermektedir [6, 22, 24, 51, 98]. Her üç dokuda AdM grubundaki MDA seviyeleri kontrol grubu MDA seviyelerine göre istatistiksel olarak önemli bir değişiklik göstermemiştir. Böbrek dokusunda AdM uygulamasına bağlı olarak Pb + AdM grubunda MDA seviyelerindeki değişimler Pb grubuna göre istatistiksel olarak önemli değildir. Buna karşın karaciğer ve akciğer dokularında ise Pb + AdM gruplarında MDA seviyeleri Pb gruplarına göre istatistiksel olarak önemli seviyede azalmıştır. AdM hücre içi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inhibe edebilme yeteneğine sahiptir [99]. Bu nedenle karaciğer ve akciğer dokularında Pb + AdM gruplarında MDA seviyelerindeki azalma AdM'nin bu özelliği ile açıklanabilir. Buna karşın kadmiyum uygulamasına bağlı olarak her üç dokuda da MDA seviyeleri bakımından Cd gruplarına göre Cd + AdM gruplarında, kurşun gruplarındaki gibi, iyileştirici bir etki tespit edilememiştir. Genel olarak ağır metaller canlıların tüm dokularına toksik etki gösterebilirler. Ancak

canlıların toksisiteden etkilenme dereceleri metalin türüne, canlının yaşına, maruz kalınan doz ve doku çeşidine göre değişebilmektedir [10]. Örneğin bizim çalışmamızda karaciğer ve böbrek dokularında Cd + AdM gruplarında MDA seviyeleri Cd gruplarına göre önemli bir değişim göstermez iken, akciğer dokusunda Cd + AdM grubunda MDA seviyeleri Cd grubuna göre önemli düzeyde artarak daha da yükselmiştir.

Akciğer dokusunda kontrol ve AdM grupları arasında SOD enzim aktivitesi bakımından bir fark bulunmazken, karaciğer ve böbrek dokularında enzim aktivitesi kontrol gruplarına göre AdM gruplarında önemli düzeyde azalmıştır. Kadmiyum uygulamasına bağlı olarak üç dokuda da Cd gruplarında SOD aktivitesi kontrol gruplarına göre önemli düzeyde azalmıştır. Bu sonuçlar literatürdeki çalışmalar ile uygunluk göstermektedir [51, 97, 98]. AdM uygulamasına bağlı olarak karaciğer ve akciğer dokularında Cd + AdM gruplarında SOD aktivitesi Cd gruplarına göre önemli düzeyde artmış, karaciğer dokusunda kontrol grubu seviyesine yükselmiştir. Ancak böbrek dokusunda SOD enzim aktivitesi bakımından Cd ve Cd + AdM grupları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Kurşun uygulamasına bağlı olarak karaciğer ve akciğer dokularında kontrol grupları ile Pb grupları arasında SOD enzim aktivitesi bakımından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Patra vd. yapmış oldukları çalışmada kurşun uygulamasına bağlı olarak kontrol grubuna göre değişmeyen SOD aktiviteleri bildirmişlerdir [24]. Böbrek dokusunda ise Pb grubunda SOD enzim aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. El-Sokary vd. çalışmalarında kurşun uygulamasına bağlı olarak böbrek dokusunda azalan SOD enzim aktivitesini rapor etmişlerdir [6]. Tarafımızca yapılan çalışmada AdM uygulamasına bağlı olarak akciğer ve böbrek dokularının Pb + AdM gruplarında SOD enzim aktivitesi Pb gruplarına göre önemli düzeyde artarken, karaciğer dokusunun Pb + AdM grubunda Pb grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Kurşun ve kadmiyum gibi ağır metaller çinko gibi elementler ile yarışabilmektedirler [6, 41]. Bu ağır metallerin SOD enzimindeki çinko ile olan etkileşimleri sonucu SOD aktivitesi inhibe edilebilir. Böbrek dokusunun kontrol grubuna göre Pb grubundaki SOD enzim aktivitesindeki azalma bu şekilde açıklanabilir. Bununla birlikte Bauer vd. yapmış oldukları çalışmada ¹¹¹Cd'nin CuZnSOD molekülünde Zn'nin yerini alabilme ve bu enzimin inaktif formunu (Cu¹¹¹CdSOD) oluşturabilme yeteneğinde olduğunu göstermiştir [112]. Çalışmamızda üç dokuda da Cd uygulamasına bağlı olarak SOD enzim aktivitelerinde meydana gelen azalma bu durumdan da kaynaklanabilir.

Karaciğer ve böbrek dokularında AdM gruplarındaki GSH-Px enzim aktiviteleri kontrol gruplarına göre önemli düzeyde artarken, akciğer dokusunda GSH-Px enzim aktiviteleri bakımından AdM grubu ile kontrol grubu arasında bir fark bulunmamaktadır. Kurşun ve kadmiyum uygulamasına bağlı olarak akciğer ve böbrek dokularında sırasıyla Pb ve Cd gruplarında GSH-Px aktivitesi bakımından kontrol gruplarına göre önemli bir değişim tespit edilmemiştir. Ochi vd yaptıkları çalışmada kadmiyum uygulamasına bağlı olarak GSH-Px enzim aktivitesi bakımından uygulama gruplarında kontrol grubuna göre bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir [113]. Karaciğer dokusunda da kadmiyum uygulamasına bağlı olarak Cd grubunda GSH-Px enzim aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre bir fark bulunmamaktadır. Ancak Cd + AdM grubunda GSH-Px enzim aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Buna karşın karaciğer dokusunda Cd grubu ile Cd + AdM grubu arasındaki fark önemli değildir. Ancak karaciğer dokusunda kurşun uygulamasına bağlı olarak Pb grubunda GSH-Px enzim aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Shukla vd. kadmiyum uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunu da içeren çeşitli sıçan dokularında azalan GSH-Px aktiviteleri rapor etmişlerdir [114]. Se-bağımlı GSH-Px uygun moleküler yapı ve aktivite için selenyuma ihtiyaç duymaktadır. Kurşun ve selenyum arasındaki antagonistik etkiden dolayı selenyum alımı azalmakta, bu durumda da selenyuma kofaktör olarak ihtiyaç duyan GSH-Px aktivitesi azalabilmektedir [17, 18]. Buna karşın AdM uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunun Pb + AdM grubunda GSH-Px enzim aktivitesi Pb grubuna göre önemli seviyede artarak kontrol grubu düzeyine yükselmiştir.

Katalaz enzim aktiviteleri bakımından kontrol ve AdM grupları arasında karaciğer ve akciğer dokularında herhangi bir fark bulunmaz iken, böbrek dokusunda AdM grubunda CAT enzim aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Kurşun ve kadmiyum uygulamasına bağlı olarak böbrek dokusunda CAT enzim aktiviteleri sırasıyla Pb ve Cd gruplarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Pb + AdM grubunda AdM uygulaması sonucunda katalaz enzim aktivitesi restore edilerek kontrol grubu seviyesine yükselmiştir. Ancak Cd + AdM grubunda AdM uygulaması Cd grubuna göre katalaz aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir değişime yol açmamıştır. Böbrek dokusunda kontrol grubu ile Pb ve Cd gruplarındaki katalaz enzim aktivitesindeki sonuçlarımız Flora vd., Casalino vd. ve Jurczuk vd.'nin çalışmalarıyla uyumludur [28, 51, 98]. Kadmiyum uygulamasına bağlı olarak hem karaciğer hem de akciğer dokularının Cd grubunda CAT enzim aktivitesi kontrol

grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Bu sonuçlar literatürdeki çalışmalar ile paralellik göstermektedir [97, 98]. AdM uygulamasına bağlı olarak her iki dokuda da Cd + AdM gruplarında CAT enzim aktivitesi Cd gruplarına göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Akciğer dokusunda Cd + AdM grubundaki bu artış enzim aktivitesini kontrol grubu seviyesine yükseltirken, karaciğer dokusunda Cd + AdM grubundaki enzim aktivitesi kontrol grubuna göre de önemli düzeyde artış göstermiştir. Buna karşın kurşun uygulamasına bağlı olarak akciğer dokusundaki katalaz enzim aktivite sonuçları bakımından kontrol, AdM, Pb ve Pb + AdM grupları arasında bir fark bulunmamaktadır. Kurşunun hem sentezini inhibe ettiği bilinmektedir. Katalaz enziminin hem içeren bir enzim olmasından dolayı kurşun katalaz aktivitesinde azalmaya yol açabilir [36]. Bu duruma ilaveten Jurczuk vd. yapmış oldukları çalışmada kadmiyum uygulaması sonrasında böbrek, karaciğer ve serumda demir seviyelerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Katalaz enzimi aktif merkezinde demir içerdiğinden dolayı Cd uygulamasına bağlı olarak katalaz enzim aktivitesindeki azalmanın Fe eksikliğinden dolayı kaynaklanabileceğini rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda katalaz enzim aktivitesindeki azalmalar kurşun ve kadmiyumun bu etkilerinden kaynaklanabilir. Ancak tarafımızca yapılan çalışmada karaciğer dokusunda kurşun uygulamasına bağlı olarak Pb grubunda CAT enzim aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde yükselmiştir. Literatürde de kurşun uygulamasına bağlı olarak artan CAT aktivitesin bildiren çaklışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda araştırmacılar artan CAT aktivitesini, Pb toksisitesine karşı hücrelerin göstermiş oldukları bir savunma mekanizması olarak açıklamışlardır [22, 46, 115]. Bununla birlikte bizim çalışmamızda olduğu gibi karaciğer dokusunda azalan GSH-Px aktivitesi, artan CAT enzim aktivitesi ile telafi edilmiş olabilir.

Kurşun uygulamasına bağlı olarak karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında kontrol ve AdM gruplarına göre kurşun seviyeleri önemli düzeyde artmıştır. AdM uygulamasına bağlı olarak Pb + AdM grubunda akciğer dokusunda kurşun seviyeleri Pb grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. AdM yapısında aynen glutatyon redüktazın aktif bölgesinde olduğu gibi bir disülfid bağı içermektedir. Kurşunun bu disülfid bağı ile etkileşime girerek GR enzimi inaktive ettiği bildirilmiştir [17, 36]. Bu nedenle AdM'nin de kurşun ile etkileşime girerek dokuda kurşun seviyelerini azaltması olasıdır. Karaciğer ve böbrek dokularında da kurşun uygulamasına bağlı olarak Pb ve Pb + AdM gruplarında kurşun seviyeleri kontrol ve AdM gruplarına göre önemli düzeyde yükselmiştir. Ancak karaciğer ve böbrek dokularında Pb ve Pb + AdM grupları arasında

kurşun seviyeleri bakımından istatistiksel olarak bir fark yoktur. Literatür bilgilerimize göre kurşun yumuşak dokularda birikim yapma özelliğine sahiptir. Humphreys yapmış olduğu çalışmada kurşunun yumuşak dokular içerisinde en fazla böbrekte biriktiğini rapor etmiştir [116]. Yapmış olduğumuz çalışmada da en fazla kurşun birikimi böbrek dokusunda olmuştur. Kurşun miktarının fazla olmasından dolayı AdM böbrek dokusunda Pb seviyelerini azaltıcı etki gösterememiş olabilir.

Kontrol ve AdM uygulama gruplarının dokularında kadmiyum miktarı tespit edilebilecek miktarda bulunamadı. Bunun nedeni kadmiyuma maruz kalmayan sıçanların Cd seviyeleri AAS'de standart olarak kullanılan en düşük dozdaki Cd seviyesinden de az olmasından kaynaklanmaktadır. Her üç dokuda da Cd ve Cd + AdM grupları arasında Cd seviyeleri bakımından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Buna ilaveten Cd ve Cd + AdM gruplarının günlük Cd'ye maruz kalma değerlerinde de istatistiksel olarak bir fark yoktur.

Kısa dönemli kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallere maruz kalma *in vitro* ve *in vivo* olarak antioksidan enzimlerin aktivitelerinde genelde azalmaya yol açmaktadır. Buna karşın yükselen doz ile birlikte ve maruz kalınan sürenin uzamasıyla bazı antioksidan enzim aktivitelerinde artışlar literatürde yer almaktadır. Bu durumun genlerin adaptif olarak indüklenmesinden kaynaklandığı düşünülebilir [40].

Kurşunun antioksidan enzimler üzerine inhibitör etkileri, hücrelerin antioksidan savunmalarını bozmakta/zayıflatmakta ve bu nedenle hücreler oksidatif ataklara daha duyarlı hale gelmektedir [36]. Kadmiyum içinde olası bu mekanizma geçerlidir. Bu durum çalışmamızda elde edilen artan lipit peroksidasyonunu açıklayabilir.

Karaciğer, akciğer ve böbrek dokularındaki ağır metal miktarları ile, lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA seviyeleri arasında bir ilişki olup olmadığının değerlendirilmesi için Pearson korelasyon ve regresyon analizi yapıldı. Bu istatistiksel analize göre sadece akciğer dokusunda kurşun seviyeleri ile MDA seviyeleri arasında pozitif korelasyon belirlendi. Çizelge 4.1'de de gösterildiği gibi, AAS analizi sonucu sadece akciğer dokusunun Pb + AdM grubunda, Pb grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde Pb seviyeleri azalmıştır. Deneysel ve istatistiksel olarak elde edilen bu iki veri birbirlerini destekler niteliktedir.

Günümüzdeki ağır metal zehirlenmelerindeki genel tedavi şekli şelatör uygulaması ile metallerin vücuttan atılıp seviyelerini düşürmektir. Etkili bir şelatlama için ajanın hücre içi bölgelere ulaşım ağır metalleri sıkı bir şekilde bağlaması gerekir [25]. Örneğin kurşun zehirlenmelerinde hastanın kandaki kurşun seviyesine göre çeşitli

şelatlar uygulanmaktadır. Ancak şelatların kandaki kurşun seviyelerini azaltmalarına rağmen, bu şelatların güvenilirliği ve yararlılığı sorgulanmalıdır. Çünkü şelatlar yan etkilere de sahiptirler (ateş, taşikardi, mide bulantısı, istifra, terleme, anormal soluma, ensefalopati, nefrotoksisite, eozonofili, lökopeni, trombositopeni, vs.). Şelatlar intravenöz, intramuskular, oral tarzda verilebilir. Günümüzde kalsiyum disodyum etilendiamin tetra asitik asit (CaNa_2EDTA), British anti-lewisite (BAL), dimercaprol, D-Penisilamin, süksimer yaygın olarak kullanılan şelatör ajanlardır [17, 25]. Kurşun zehirlenmesi için kullanılan en umut verici ajan CaNa_2EDTA dır. Ancak bu ajan yüksek dozlarda nekroz nedeni ile hücre ölümüne yol açabilme gibi ciddi dezavantajlara sahiptir [25].

Ağır metallerin toksik etkilerinin ortaya çıkmasında oksidatif stres de rol oynamaktadır. Şelatörlerin bu istenmeyen özelliklerinden dolayı araştırmacılar kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallerin toksik etkilerinin giderilmesinde antioksidanların, doğal besinlerin tek başlarına veya şelatörlerle beraber kullanımının olduğu çeşitli çalışmalar planlamışlardır. Örneğin kurşuna maruz kalan deneklerde Pande ve Flora α -lipoik asit (LA) ve süksimerin [22], Shalan vd. vitamin C ve silimarinin (silymarin) [21], Saxena vd. mezo-2,3-dimerkaptosüksinik asitin monoesterlerinin [25], Tandon vd. antioksidan ve şelatlayıcı ajanların ayrı ayrı ve birlikte kullanımlarının [96] ve Flora vd. vitaminler ve tiol şelatörlerin [28] kurşun toksisiteindeki etkilerini araştırmışlar ve yararlı özelliklerini bildirmişlerdir. Kadmiyuma maruz kalan deneklerde de Stajn vd. selenyumun [53], Sunitha vd. lupeol ve lupeol linoleatın [97] ve Tandon vd. antioksidan ve şelatlayıcı ajanların ayrı ayrı ve birlikte kullanımlarının [46] kadmiyum toksisiteindeki etkilerini araştırmışlar ve yararlı özelliklerini bildirmişlerdir.

Yukarıdaki çalışmalarda da vurgulandığı gibi, bir molekülün oksidatif stres şartlarında koruyucu etkisi olduğundan bahsedebilmek için lipit peroksidasyonu seviyelerinin azalmasına yol açmasının yanı sıra, enzim aktivitelerini de düzenlemesi gerekmektedir. Bununla birlikte bazı moleküller kan ve dokudaki ağır metal seviyelerinin de azalmasına neden olabilirler.

Son yıllarda AdM'nin antioksidan özellik gösterip oksidatif şartlarda koruyucu bir rol oynayabileceğine dair literatürde çeşitli çalışmalar yer almaktadır [99-101]. Chen vd. yapmış oldukları çalışmada *in vitro* olarak AdM'nin sıçan serebral endotel hücrelerinde oksidatif hasara karşı koruyucu rolü olduğunu bildirmişlerdir [101].

AdM^{-/-} fareleri (AdM knockout mice) embriyonik olarak letaldirler. Ancak AdM^{+/-} fareleri mevcuttur ve bu deney hayvanları fertildir. AdM^{+/-} farelerinin doku ve

plazma AdM seviyeleri AdM^{+/+} farelerinin yarısı seviyesindedir. Angiotensin II'nin yüksek tuz diyeti ile uygulanması önemli bir organ hasar modelidir. Angiotensin II bu hasarı (muhtemelen) artan oksidatif stres ile yapmaktadır. Ando ve Fujita bu model ile oluşturulan deney şartlarında AdM^{+/-} farelerinde organ hasarının daha fazla olduğunu ve bu durumun oksidatif strese bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle araştırmacılar (iç kaynaklı) AdM'nin koruyucu rol oynayabileceğini bildirmişlerdir [117].

Shimosawa vd. yine angiotensin II ve tuz diyet modelinin kullanıldığı bir çalışmada, AdM^{+/-} farelerinin daha yüksek oksidatif strese maruz kaldığını göstermişlerdir. Araştırmacılar izoprostan ve 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) gibi oksidatif stres belirteçlerinin idrardaki seviyelerini araştırmışlardır. Ayrıca elektron spin rezonans metodu kullanarak real-time oksidan üretimini belirlemişlerdir. Araştırmacılar AdM uygulamasıyla artan oksidatif stresin azaldığını rapor etmişlerdir [118].

AdM oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynayabilmesine karşın, AdM'nin bu rolünde yer alan hücrel mekanizmalar ve AdM'nin bu fonksiyonu tam olarak açıklanamamıştır [99]. Ancak AdM oksidatif stresi inhibe ederek organ hasarına karşı koruyucu rol oynayabilir [118].

Bu çalışma ile literatürde herhangi bir bilgiye rastlayamadığımız kurşun ve kadmiyum toksisitesinde AdM'nin koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Yaptığımız çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda, AdM'nin kurşun ve kadmiyumun neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin sınırlı ve belirli bir düzeyde olduğunu söyleyebiliriz. AdM'nin koruyucu etkisinin sınırlı olmasının nedeni uygulanan AdM'nin miktarı, uygulama süresi, uygulama şekli, doku özgülüğü, uygulanan ağır metal çeşitliliği ve süresinden kaynaklanabilir.

Doku farklılığına göre koruyucu etki de farklılık gösterebilmektedir. Örneğin karaciğer ve akciğer dokularında kurşun grubuna AdM uygulaması lipit peroksidasyonunu önemli düzeyde azaltırken, bu etki böbrek dokusunda görülmemiştir. Buna ilaveten, kurşuna maruz kalan sıçanlarda AdM uygulaması ile akciğer dokusunda hem kurşun seviyeleri hem de lipit peroksidasyon seviyeleri önemli derecede azalırken, karaciğer dokusunda AdM uygulaması kurşun seviyelerinde bir değişime yol açmamasına karşın, lipit peroksidasyon seviyelerini azaltarak koruyucu etki göstermiştir. Buna ilaveten karaciğer dokusunda AdM uygulamasına bağlı olarak Pb + AdM grubunda toplam hepatik hasar skoru Pb grubuna göre azalmıştır. Ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli düzeyde değildir. Ancak, istatistiksel olarak önemli olmamasına karşın, karaciğer dokusunda AdM uygulamasına bağlı olarak lipit

peroksidasyonundaki ve hepatik hasar skorunda tespit edilen azalma dikkat çekicidir ve bu iki parametre birbirlerine paralellik göstermektedir.

Doku özgüllüğü enzim aktivitelerinde de farklı sonuçlar ortaya çıkarabilir. Örneğin böbrek dokusunda kontrol grubuna göre azalan Pb grubundaki SOD aktivitesi, AdM uygulaması ile Pb + AdM grubunda yükselerek kontrol grubu seviyesine gelmiştir. Ancak SOD enzim aktivitesi bakımından bu durum karaciğer ve akciğer de tespit edilememiştir. Karaciğer ve akciğer dokusunda Pb grupları kontrol grubuna göre bir fark göstermezken, karaciğer dokusunda Pb + AdM grubunda SOD enzim aktivitesi kontrole göre daha da azalmış, buna karşın akciğer dokusunda Pb + AdM grubunda kontrol grubuna göre daha da artmıştır.

Ağır metal çeşidi değiştiği durumlarda da farklı sonuçlar elde edilmiştir. MDA seviyeleri Pb + AdM grubunda Pb grubuna göre karaciğer ve akciğer dokularında azalmış durumdayken, yine aynı dokularda Cd + AdM gruplarında Cd gruplarına göre MDA seviyeleri yükselmiştir.

Ağır metallerin uygulama süreleri ve dozları da deney grupları arasında farklı sonuçlar çıkmasına neden olabilir. Örneğin bir çalışmada iki ay boyunca 200 ppm kadmiyum alan sıçanların böbrek dokularındaki Cd seviyeleri 100-250 µg/g olarak belirlenmiş ve bu sıçanlarda renal bozukluklar tespit edilmiştir. Buna karşın sekiz ay boyunca 40 ppm kadmiyum alan sıçanların böbrek dokularındaki Cd seviyeleri 90-200 µg/g olarak belirlenmiş ancak sıçanlarda renal bozukluk tespit edilememiştir [119].

AdM'nin biyolojik cevaplarının oldukça yavaş gelişebileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir [75]. Bu nedenle daha uzun süreli AdM uygulaması AdM'nin koruyucu etkisinin görülmesinde etkili olabilir. Buna ilaveten AdM'nin humoral veya otokrin/parakrin tarzda toksik faktörler tarafından ortaya çıkan doku hasarına karşı düzenleyici olarak fonksiyon yaptığı kabul edilmektedir [58]. Bu nedenle AdM'nin uygulama şekli de koruyucu etkinin ortaya çıkmasında önemli olabilir. AdM'nin intravenöz veya intraarteriyel uygulamaların, intraperitoneal uygulamaya göre dokulara AdM'nin daha etkin bir şekilde ulaşmasını sağlayabilir. Sonuç olarak kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallerle maruz kalan canlılarda AdM'nin olası koruyucu etkisinin ortaya çıkabileceği ve bunun için AdM uygulamasının optimize edilmesi gerektiği düşüncesindeyiz. Bu optimizasyon sonucunda AdM'nin koruyucu etkisinin daha belirgin bir şekilde ortaya çıkması durumunda, AdM'nin ağır metal toksisitesindeki moleküler etkileri ile ilgili çalışmaların yapılması gerektiği kanatındeyiz.

6. KAYNAKLAR

1. J.H. Duffus, *Heavy metals-A meaningless term?*, **Pure Appl. Chem.**, 74:5 (2002) 793-807.
2. C.D. Klaasen, L.J. Casarett and J. Doull, Casarett and Doull's Toxicology-The Basic of Poisons, in C.D. Klaasen (Ed.) 6th Ed., McGraw-Hill, New York, 2001.
3. <http://www.food-info.net/tr/metal/intro.htm>
4. <http://www.defra.gov.uk/Environment/consult/airheavymetal/03.htm>
5. R.K. Dearth, J.K. Hiney, V. Srivastava, W.L. Dees and G.R. Bratton, *Low level lead (Pb) exposure during gestation and lactation: assessment of effects on pubertal development in Fisher 344 and Sprague-Dawley female rats*. **Life Sciences**, 74:9 (2004) 1139-1148.
6. G.H. El-Sokkary, G.H. Abdel-Rahman and E.S. Kamel, *Melatonin protects against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats*. **Toxicology**, 213:1-2 (2005) 25-33.
7. http://tuberoze.com/Heavy_Metal_Toxicity.html
8. <http://www.lef.org/protocols/prtcls-txt/t-prtcl-156.html>
9. J. Bernier, P. Brousseau, K. Krzystyniak, H. Tryphonas and M. Fournier, *Immunotoxicity of heavy metals in relation to great lakes*, **Environ. Health Perspect.**, 103:9 (1995) 23-34.
10. <http://www.emedicine.com/emerg/topic237.htm>
11. S.J. Stohs and D. Bagchi, *Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions*, **Free Radic. Biol.**, 18:2 (1995) 321-336.
12. http://beta-glucan-info.com/glucosamine_safety.htm
13. M. Colombo, C. Hamelin, E. Kouassi, M. Fournier and J. Bernier, *Differential effects of mercury, lead and cadmium on IL-2 production by jurkat T cells*, **Clinical Immunology**, 111:3 (2004) 311-322.
14. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kur%C5%9Fun>
15. İ. Dökmeci, *Toksikoloji, Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi*, 3. baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2001.
16. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kur%C5%9Fun>
17. H. Gurer and N. Ercal, *Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning?* **Free Radic Biol Med.**, 29:10 (2000) 927-945.
18. P.C. Hsu and Y.L. Guo, *Antioxidant nutrients and lead toxicity*. **Toxicology**, 180:1 (2002) 33-44.
19. <http://www.healthy.net/library/books/Haas/minerals/pb.htm>
20. <http://www.defra.gov.uk/Environment/consult/airheavymetal/04.htm>
21. M.G. Shalan, M.S. Mostafa, M.M. Hassouna, S.E. Hassab El-Nabi and A. El-Refaie, *Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements*. **Toxicology**, 206:1 (2005) 1-15.
22. M. Pande and S.J.S. Flora, *Lead induced oxidative damage and its response to combined administration of α -lipoic acid and succimers in rats*. **Toxicology**, 177:2-3 (2002) 187-196.
23. <http://www.lenntech.com/heavy-metals.htm>
24. R.C. Patra, D. Swarup and S.K. Dwivedi, *Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats*. **Toxicology**, 162:2 (2001) 81-88.
25. G. Saxena, U. Pathak and S.J.S. Flora, *Beneficial role of meso-2,3-dimercaptosuccinic acid in the mobilization of lead and recovery of tissue oxidative injury in rats*. **Toxicology**, 214:1-2 (2005) 39-56.

26. H. Hu, *Harrison's principles of Internal medicine*, in A.S. Fauci, E. Braunwald, K.J. Isselbacher, J.D. Wilson, J.B. Martin, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo (Eds.), *Chapter 397: Heavy metal poisoning*, 14th ed. McGraw-Hill, New York, 1998, 2564-2569.
27. S.M. Chen, S. Swilley, R. Bell, S. Rajanna, S.L.N. Reddy and B. Rajanna, *Lead induced alterations in nitrite and nitrate levels in different regions of the rat brain*. **Comp. Biochem. Physiol.**, 125:3 (2000) 315-323.
28. S.J.S. Flora, M. Pande and A. Mehta, *Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication*. **Chemico-Biological Interactions**, 145:3 (2003) 267-280.
29. E.G. Moreira, G.J.M. Rosa, S.B.M. Barros, V.S. Vassilieff and I. Vassilieff, *Antioxidant defense in rat brain regions after developmental lead exposure*. **Toxicology**, 169:2 (2001) 145-151.
30. W.E. Donaldson and S.O. Knowles, *Is lead toxicosis a reflection of altered fatty acid composition of membranes?*, **Comp. Biochem. Physiol. C**, 104:3 (1993) 377-379.
31. S.O. Knowles and W.E. Donaldson, *Dietary modification of lead toxicity: effects on fatty acid and eicosanoid metabolism in chicks*, **Comp. Biochem. Physiol. C**, 95:1 (1990) 99-104.
32. T. Douki, J. Onuki, M.H. Medeiros, E.J. Bechara, J. Cadet and P Di Mascio, *DNA alkylation by 4,5-dioxovaleric acid, the final oxidation product of 5-aminolevulinic acid*, **Chem. Res. Toxicol.**, 11:2 (1998) 150-157.
33. T.G. Rossman, *Cloning genes whose levels of expression are altered by metals: Implications for human health research*, **Am. J Ind. Med.**, 38:3 (2000) 335-339.
34. T. Ishikawa and H. Sies, "Glutathione as an antioxidant: toxicological aspects", in D. Dolphin, R. Poulson, O. Avramovic (Eds), *Glutathione chemical, biochemical and medical aspects Part B*, Wiley-Interscience Publication, New York, 1989, 85-111.
35. B.B. Gelman, I.A. Michaelson and J.S. Bus, *The effect of lead on oxidative hemolysis and erythrocyte defense mechanisms in the rat*, **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 45 (1978) 119-129.
36. N. Ercal, H. Gurer-Orhan and N. Aykin-Burns, *Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal induced oxidative damage*, **Current Topics in Medicinal Chemistry**, 1 (2001) 529-539.
37. M. Valko, H. Morris and M.T.D. Cronin, *Metals, Toxicity and Oxidative Stress*, **Current Medicinal Chemistry**, 12:10 (2005) 1161-1208.
38. <http://en.wikipedia.org/wiki/Cadmium>
39. C.J.D. Maciel, G.M. Miranda, D.P. de Oliveira, M.E.P.B. de Siqueira, J.N. Silveira, E.M.A. Leite and J.B.B. da Silva, *Determination of cadmium in human urine by electrothermal atomic absorption spectrometry*, **Analytica Chimica Acta**, 491:2 (2003) 231-237.
40. M. Waisberg, P. Joseph, B. Hale and D. Beyersmann, *Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis*, **Toxicology**, 192:2-3 (2003) 95-117.
41. M. Abdollahi, A. Dehpour and P. Kazemian, *Alteration by cadmium of rat submandibular gland secretory function and the role of the L-arginine/nitric oxide pathway*, **Pharmacological Research**, 42:6 (2000) 591-597.
42. <http://www.canoshweb.org/odp/html/cadmium.htm>
43. T. Kawada and S. Suzuki, *A review on the cadmium content of rice, cadmium intake, and accumulation in the kidneys*, **J Occup. Health**, 40:4 (1998) 264-269.

44. http://en.wikipedia.org/wiki/Cadmium_Poisoning
45. M.P. Waalkes, *Cadmium carcinogenesis in review*, **J Inorganic Biochemistry**, 79:1-4 (2000) 241-244.
46. S.K. Tandon, S. Singh, S. Prasad, K. Khandekar, V.K. Dwivedi, M. Chatterjee and N. Mathur, *Reversal of cadmium induced oxidative stress by chelating agent, antioxidant or their combination in rat*, **Toxicology Letters**, 145:3 (2003) 211-217.
47. <http://www.healthy.net/scr/article.asp?pageType=article&Id=2049#rice>
48. M.C. Henson and P.J. Chedrese, *Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction*, **Exp. Biol. Med.**, 229: (2004) 383-392.
49. K. Zierold, *Heavy metal cytotoxicity studied by electron probe X-ray microanalysis of cultured rat hepatocytes*, **Toxicology in Vitro**, 14:6 (2000) 557-563.
50. D. Bagchi, P.J. Vuchetich, M. Bagchi, E.A. Hassoun, M.X. Tran, L. Tang and S.J. Stohs, *Induction of oxidative stress by chronic administration of sodium dichromate and cadmium chloride to rats*, **Free Radic. Biol. Med.**, 22:3 (1997) 471-478.
51. E. Casalino, G. Calzaretto, C. Sblano and C. Landriscina, *Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium*, **Toxicology**, 179:1-2 (2002) 37-50.
52. L. Patrick, *Toxic metals and antioxidants: Part II. The role of antioxidants in arsenic and cadmium toxicity*, **Alternative Medicine Review**, 8:2 (2003) 106-128.
53. A. Stajin, R.V. Zikic, B. Ognjanovic, Z.S. Saicic, S.Z. Pavlovic, M.M. Kostic and V.M. Petrovic, *Effect of cadmium and selenium on the antioxidant defense system in rat kidneys*, **Comp. Biochem. Physiol.**, 117:2 (1997) 167-172.
54. C. Giaginis, E. Gatzidou and S. Theocharis, *DNA repair systems as targets of cadmium toxicity*, **Toxicol. App. Pharmacol.**, (2006) Article in Pres.
55. M.P. Waalkes, *Cadmium carcinogenesis*, **Mutation Research**, 533:1-2 (2003) 107-120.
56. K. Kitamura, K. Kangawa, M. Kawamoto, Y. Ichiki, S. Nakamura, H. Matsuo and T. Eto, *Adrenomedullin: A novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma*, **Biochem. Biophys Res. Commun.**, 192:2 (1993) 553-560.
57. Y. Ichiki, K. Kitamura, K. Kangawa, M. Kawamoto, H. Matsuo and T. Eto, *Distribution and characterization of immunoreactive adrenomedullin human tissue and plasma*, **FEBS Lett.**, 338:1 (1994) 6-10.
58. T. Eto, *A review of the biological properties and clinical implications of adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP), hypotensive and vasodilating peptides*, **Peptides**, 22:11 (2001) 1693-1711.
59. M. Jougasaki and J.C. Burnett, *Adrenomedullin: Potential in physiology and pathophysiology*, **Life Sciences**, 66:10 (2000) 855-872.
60. S. Kalman, *Adrenomedullin: Yeni bir renal düzenleyici peptid*, **Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi**, 4:2 (2002) 198-201.
61. Ö. Güneysel, *Multifonksiyonel bir peptid; Adrenomedullin*, **T. Klin. J Med. Sci.**, 24 (2004) 159-166.
62. K. Kitamura, J. Sakata, K. Kangawa, M. Kojima, H. Matsuo and T. Eto, *Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 194:2 (1993) 720-725.

63. S. Sugo, N. Minamino, H. Shoji, K. Kangawa and H. Matsuo, *Effects of vasoactive substances and cAMP related compounds on adrenomedullin production in cultured vascular smooth muscle cells*, **FEBS Lett.**, 369: (1996) 311-314.
64. V.T. Yeung, S.K. Ho, M.G. Nicholls and C.S. Cockram, *Adrenomedullin, a novel vasoactive hormone, binds to Mouse astrocytes and stimulates cyclic AMP production*, **J Neurosci. Res.**, 46:3 (1996) 330-335.
65. R.M. Edwards, W. Trizna, E. Stack and N. Aiyar, *Effect of adrenomedullin on cAMP levels along the rat nephron: comparison with CGRP*, *Am. J Physiol.*, 271:4 (1996) F895-F899.
66. E.N. Chini, E. Choi, J.P. Grande, J.C. Burnett and T.P. Dousa, *Adrenomedullin suppresses mitogenesis in rat mesangial cells via cAMP pathway*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 215:3 (1995) 868-873.
67. S. Sugo, N. Minamino, H. Shoji, K. Kangawa, K. Kitamura, T. Eto and H. Matsuo, *Interleukin-1, tumor necrosis factor and lipopolysaccharide additively stimulate production of adrenomedullin in vascular smooth muscle cells*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 207:1 (1995) 25-32.
68. H. Shoji, N. Minamino, K. Kangawa and H. Matsuo, *Endotoxin markedly elevates plasma concentration and gene transcription of adrenomedullin in rat*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 215:2 (1995) 531-537.
69. T. Ishimitsu, H. Ono, J. Minami and H. Matsuoka, *Pathophysiologic and therapeutic implications of adrenomedullin in cardiovascular disorders*, **Pharmacology & Therapeutics**, 111:3 (2006) 909-927.
70. G.U. Halaç, “İskemik İnmede İlk 72 Saat Plazma Adrenomedullin Düzeyinin Lezyon Lokalizasyonu, Etiyolojik Alt Gruplar ve Prognozla İlişkisi”, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1.Nöroloji Kliniği, İstanbul, 2005.
71. Q. Tian, D. Zhao, D.Y. Tan, Y.T. Zhao, Q.H. Li, J.X. Qui, L.W. Song, C.N. Gong, J. Yang, N. Lipton, A.L. Hyman, J. Tang and J.K. Chang, *Vasodilator effect of human adrenomedullin(13-52) on hypertensive rats*, **Can. J Physiol. Pharmacol.**, 73:7 (1995) 1065-1069.
72. I. Szokodi, P. Kinnunen, P. Tavi, M. Weckstrom, M. Toth and H. Ruskoaho, *Evidence for cAMP-independent mechanisms mediating the effects of adrenomedullin, a new inotropic peptide*, **Circulation**, 97:11 (1998) 1062-1070.
73. H. Ikenouchi, K. Kangawa, H. Matsuo and Y. Hirata, *Negative inotropic effect of adrenomedullin in isolated adult rabbit cardiac ventricular myocytes*, **Circulation**, 95:9 (1997) 2318-2324.
74. M. Jougasaki, L.L. Aarhus, D.M. Heublein, S.M. Sandberg and J.C. Burnett, *Role of prostaglandins and renal nerves in the renal actions of adrenomedullin*, **Am. J Physiol.**, 272:2 (1997) F260-F266.
75. M.G. Nicholls, J.G. Lainchbury, L.K. Lewis, D.O. McGregor, A.M. Richards, R.W. Troughton and T.G. Yandle, *Bioactivity of adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide in man*, **Peptides**, 22:11 (2001) 1745-1752.
76. <http://www.bioclub.hacettepe.edu.tr/makales/fizyo/05.html>
77. M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic and M. Mazur, *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*, **Chemico-Biological Interactions**, 160:1 (2006) 1-40.
78. T.F. Slater, *Free radical mechanisms in tissue injury*, **Biochemical Journal**, 222:1 (1984) 1-15.

79. J. Karla, A.K. Chaudhary and K. Prasad, *Increased production of oxygen free radicals in cigarette smokers*, **Int. J Exp. Path.**, 72:1 (1991) 1-7.
80. S. Aydin, I. Aral, N. Kilic, I. Bakan, S. Aydin and F. Erman, *The level of antioxidant enzymes, plasma vitamins C and E in cement plant workers*, **Clinica Chimica Acta**, 341:1-2 (2004) 193-198.
81. S.M. Alvarez, N.N. Gomez, L. Scardapane, F. Zirulnik, D. Martinez and M.S. Gimenez, *Morphological changes and oxidative stress in rat prostate exposed to a non-carcinogenic dose of cadmium*, **Toxicology Letters**, 153:3 (2004) 365-376.
82. <http://www.gata.edu.tr/temelbilimler/biyokimya/seminer/OKS%C4%B0DAT%C4%B0F%20STRES.doc>
83. M.D. Scott, B.H. Lubin, L. Zuo and F.A. Kuypers, *Erythrocyte defense against peroxide: Preeminent importance of catalase*, **J Lab. Clin. Med.**, 118:1 (1991) 7-16.
84. B. Halliwell, *Antioxidants in human health and disease*, **Annu. Rev. Nutr.**, 16 (1996) 33-50.
85. J.M.C. Gutteridge, *Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage*, **Clin. Chem.**, 41:12B part 2 Supp. S (1995) 1819-1828.
86. J. Emerit, C. Beaumont and F. Trivin, *Iron metabolism, free radicals and oxidative injury*, **Biomed. Pharmacother.**, 55:6 (2001) 333-339.
87. A. Agrawal and R.K. Kale, *Radiation induced peroxidative damage: Mechanism and significance*, **Indian J Exp. Biol.**, 39:4 (2001) 291-309.
88. B. Ateş “İntestinal iskemi-reperfüzyon uygulamalarında değişik antioksidanların koruyucu etkilerinin araştırılması” Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, 2001.
89. E.D. Willis, *Mechanisms of lipid peroxide formation in tissues. Role of metals and haematin proteins in the catalysis of the oxidation of unsaturated fatty acids*, **Biochem. Biophys. Acta**, 98 (1965) 238-251.
90. S.J. Yiin and T.H. Lin, *Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid*, **Biol. Trace Elem. Res.**, 50:2 (1995) 167-172.
91. S. Shafiq-ur-Rehman, S. Rehman, O. Chandra and M. Abdulla, *Evaluation of malondialdehyde as an index of lead damage in rat brain homogenates*, **Biometals**, 8:4 (1995) 275-279.
92. R. Sandhir and K.D. Gill, *Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats*, **Biol. Trace Elem. Res.**, 48:1 91-97.
93. Y.X. Ding, H.C. Gonick and N.D. Vaziri, *Lead promotes hydroxyl radical generation and lipid peroxidation in cultured aortic endothelial cells*, **Am. J Hypertens.**, 13:5 (2000) 552-555.
94. S.R. Ribarov and P.G. Bochev, *Lead-hemoglobin interaction as a possible source of reactive oxygen species. A chemiluminescent study*, **Arch. Biochem. Biophys.**, 213:1 (1982) 288-292.
95. H.P. Monteiro, E.J.H. Bechara and D.S.P. Abdalla, *Free radical involvement in neurological porphyries and lead poisoning*, **Mol. Cell. Biochem.**, 103:1 (1991) 73-83.
96. S.K. Tandon, S. Singh, S. Prasad, S. Srivastava and M.K.J. Siddiqui, *Reversal of lead-induced oxidative stress by chelating agent, antioxidant or their combination in the rat*, **Environmental Research**, 90:1 (2002) 61-66.
97. S. Sunitha, M. Nagaraj and P. Varalakshmi, *Hepatoprotective effect of lupeol and lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats*, **Fitoterapia**, 72:5 (2001) 516-525.

98. M. Jurczuk, M.M. Brzoska, J. Moniuszko-Jakuniuk, M. Galazyn-Sidorczuk and E. Kulikowska-Karpinska, *Antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to cadmium and ethanol*, **Food Chem. Toxicol.**, 42:3 (2004) 429-438.
99. T. Yoshimoto, N. Fukai, R. Sato, T. Sugiyama, N. Ozawa, M. Shichiri and Y. Hirata, *Antioxidant effect of adrenomedullin on angiotensin II-induced reactive oxygen species generation in vascular smooth muscle cells*, **Endocrinology**, 145:7 (2004) 3331-3337.
100. Y.N. Cao, K. Kuwasako, J. Kato, T. Yanagita, T. Tsuruda, J. Kawano, Y. Nagoshi, A.F. Chen, A. Wada, T. Sukanuma, T. Eto and K. Kitamura, *Beyond vasodilation: The antioxidant effect of adrenomedullin in Dahl salt-sensitive rat aorta*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 332:3 (2005) 866-872.
101. L. Chen, B. Kis, D.W. Busija, H. Yamashita and Y. Ueta, *Adrenomedullin protects rat cerebral endothelial cells from oxidant damage in vitro*, **Regulatory Peptides**, 130:1-2 (2005) 27-34.
102. L.Y. Al-Ayadhi, *Neurohormonal changes in medical students during academic stress*, **Ann. Saudi Med.**, 25:1 (2005) 36-40.
103. S. Fujioka, *Increased plasma concentration of adrenomedullin during and after major surgery*, **Surgery Today**, 31:7 (2001) 575-579.
104. J. Shan and T.L. Krukoff, *Distribution of proadrenomedullin mRNA in the rat central nervous system and its modulation by physiological stressors*, **J Comp. Neurol.**, 432:1 (2001) 88-100.
105. T. Boldt, P. Luukkainen, F. Fyhrquist, M. Pohjavuori and S. Andersson, *Birth stress increases adrenomedullin in the newborn*, **Acta Paediatrica**, 87:1 (1998) 93-94.
106. A. Noyan, Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, Dokuzuncu Baskı, Meteksan Anonim Şirketi, Ankara, 1996.
107. O. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, *Protein measurements with folin phenol reagent*, **J Biol. Chem.**, 193 (1951) 265-275.
108. H. Luck, *Catalase*, *Methods of Enzymatic Analysis*, in H.U. Bergmeyer (Ed.) Varleg Chemie, Academic Pres, new York, 1963, p. 885-888.
109. R.A. Lawrence and R.F. Burk, *Glutathione peroxidase-activity in selenium-deficient rat liver*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 71:4 (1976) 952-958.
110. Y. Sun, L.W. Oberley and Y. Li, *A simple method for clinical assay of Superoxide dismutase*, **Clin. Chem.**, 34:3 (1988) 497-500.
111. J.A. Buege and S.D. Aust, *Microsomal lipid peroxidation*, **Methods Enzymol.**, 52 (1978) 302-310.
112. R. Bauer, I. Demeter, V. Hasemann and J.T. Johansen, *Structural properties of the zinc site in Cu, Zn-superoxide dismutase; perturbed angular correlation of gamma ray spectroscopy on the Cu, ¹¹¹Cd-superoxide dismutase derivative*, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 94 1980 1296-1302.
113. T. Ochi, K. Takahashi and M. Ohsawa, *Indirect evidence for the induction of a pro-oxidant state by cadmium chloride in cultured mammalian cells and a possible mechanism for the induction*, **Mutat. Res.**, 180 (1987) 257-266.
114. G.S. Shukla, T. Hussain, R.S. Srivastava and S.V. Chandra, *Glutathione peroxidase and catalase in liver, kidney, testis and brain regions of rats following cadmium exposure and subsequent withdrawal*, **Ind. Health** 27:2 (1989) 59-69.
115. H. Gurer-Orhan, H.U. Sabır and H. Özgüneş, *Correlation between clinical indicators of lead poisoning and oxidative stress parameters in controls and*

- lead-exposed workers*, **Toxicology** 195:2-3 (2004) 147-154.
116. D.J. Humphreys, *Effects of exposure to excessive quantities of lead on animals*, **British Veterinary Journal** 147:1 (1991) 18-30.
117. K. Ando and T. Fujita, *Lessons from the adrenomedullin knockout mouse*, **Regulatory Peptides**, 112:1-3 (2003) 185-188.
118. T. Shimosawa, H. Matsui, G. Xing, K. Itakura, K. Ando and T. Fujita, *Organ-protective effects of adrenomedullin*, **Hypertens. Res.**, 26: (Suppl) (2003) S109-S112.
119. M. Satoh, H. Koyama, T. Kaji, H. Kito and C. Tohyama, *Perspectives on cadmium toxicity research*, **Tohoku J. Exp. Med.**, 196 (2002) 23-32.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında İstanbul'da doğdu. İlköğrenimini Malatya'da, orta öğrenimini Ankara'da tamamladı. 1995 yılında Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünde başladığı yüksek öğrenimini, 1999 yılında İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünde tamamladı. Aynı yıl başladığı Yüksek Lisans eğitimini 2001 yılında tamamladı. 2001 yılından itibaren Doktora eğitimine başlayan Mehmet İlker DOĞRU, 1999 yılından itibaren İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli ve bir çocuk babası olup İngilizce bilmektedir.