

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURŞUN ZEHİRLENMESİ OLUŞTURULAN RATLARDA  
LEVAMİZOLÜN OKSİDATİF STRES VE SİTOKİNLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**Veteriner Hekim Ayşe ÇIRAK**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Emine BAYDAN**

**2018 – KIRIKKALE**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURŞUN ZEHİRLENMESİ OLUŞTURULAN RATLARDA  
LEVAMİZOLÜN OKSİDATİF STRES VE SİTOKİNLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**Veteriner Hekim Ayşe ÇIRAK**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Emine BAYDAN**

**Bu tez, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
2017/049 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

**2018 – KIRIKKALE**

## KABUL VE ONAY

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner, Ortak Program) Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25.07.2018

İmza

Prof. Dr. Ender YARSAN  
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. Miyase ÇINAR  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

İmza

Doç. Dr. Ebru YILDIRIM  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

İmza

Doç. Dr. Fatma KOCASARI  
M.Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

İmza

Doç. Dr. Hüsametdin EKİCİ  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	III
İçindekiler	IV
Önsöz	VI
Simgeler ve Kısaltmalar	VIII
Şekiller	IX
Çizelgeler	X
ÖZET	XI
SUMMARY	XIII
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Kurşun (Pb)	3
1.1.1. Kurşun Zehirlenmesi	5
1.1.2. Kurşun Zehirlenmesinin Mekanizması	7
1.1.3. Toksikokinetik	7
1.1.4. Kurşunun Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	8
1.1.5. Kurşunun Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi	10
1.1.6. Kurşun Zehirlenmesinin İmmun Sistem ve Sitokinler Üzerine Etkisi	11
1.1.7. Kurşun Zehirlenmesinin Sağaltımı	13
1.2. Levamizol	14
1.2.1. Levamizolün Etki Şekli	15
1.2.2. Levamizolün Etkileri	15
1.2.3. Levamizolün Farmakokinetiği	16
1.2.4. Levamizolün Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	16
1.2.5. Levamizolün İmmun Sistem ve Sitokinler Üzerine Etkisi	17
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	20
2.1. Araç ve Gereçler	20
2.1.1. Kullanılan Deneysel Hayvanları	20
2.1.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	20
2.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
2.2. Yöntem	22
2.2.1. Grupların Belirlenmesi ve Deneysel Uygulama	22
2.2.2. Kan Örneklerinin Alınması	23
2.2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi	23
2.2.4. Elisa Kitlerinin Hazırlanması ve Deneysel Prensipleri	24
2.2.5. Malondialdehit (MDA) Analiz Metodu	28
2.2.6. İstatistiksel Analizler	28
<b>3. BULGULAR</b>	29
3.1. Ratların Canlı Ağırlık Bulguları	29
3.2. Plazma Biyokimya Bulguları	29
3.3. Plazma Oksidatif Stres Parametreleri	31
3.4. İnterlökin 18, İnterferon Gamma, İmmunoglobulin G ve E Bulguları	31
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	33
4.1. Kurşun ve Levamizolün Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi	33

4.2. Kurşun ve Levamizolün Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	35
4.3. Kurşun ve Levamizolün İmmun Parametreler Üzerine Etkisi	38
<b>KAYNAKLAR</b>	42
<b>EKLER</b>	55
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	56



## ÖNSÖZ

Kurşun zehirlenmesi dünyadaki en eski mesleki tehlike olmakla birlikte, modern endüstride önemli yeri olan kurşun, depolama ve pil üretimi dahil olmak üzere piring, lehim olarak boru ve metal alaşımları, boya, cam ve seramik içeren geniş bir ticari kullanım alanı bularak halen kullanılmakta olan toksik bir çevre kirleticidir.

Bağışıklık hücrelerinin görev yapması açısından önemli olan oksidatif – antioksidatif denge bağışıklık hücrelerinde sinyal iletimini, gen ekspresyonunu ve membran lipidlerinin bütünlüğünün korunmasını sağlar. Oksidatif stres parametresi olan Malondialdehit (MDA)' in kurşun asetat verilen ratlarda plazma, kas dokusu, karaciğer ve beyin dokusunda önemli ölçüde artması kurşunun, hücrelerin prooksidan/oksidan dengelerini bozarak oksidatif strese sebep olduğunu göstermiştir.

Bağışıklık ve yangısal yanıtın oluşmasında etkili olan sitokinler, hormon benzeri etki göstererek hücreler üzerinde birden fazla etki oluştururlar. T lenfositlerini daha fazla uyardığı için hücresel bağışıklık üzerine etkisi humoral bağışıklık üzerine etkisinden daha fazladır.

Antelmintik tedavide aktif olarak kullanılan levamizolün doğal bağışıklıkta etkili olan IL12 ve IL18 sitokin üretimini artırarak INF $\gamma$  sentezini artırdığı, bunun sonucunda da Tip 1 immün yanıtı aktif hale getirerek immün sistemi düzenlediği bir gerçektir.

Bu çalışma ile kurşun zehirlenmesi oluşturulan ratlarda oral olarak verilen levamizolün oksidatif stres ve sitokinler üzerine etkisi araştırılmıştır. Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2017/049 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve hayatımda yol gösterici rol model olan çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Ebru YILDIRIM' a, tecrübeleriyle bizi yönlendiren ikinci danışman hocam Prof. Dr. Emine BAYDAN' a, aldığımız eğitim aşamasında engin bilgilerini bizimle paylaşan Prof. Dr. Ender YARSAN' a, tezimin her aşamasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Miyase ÇINAR' a, yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Hüsamettin EKİCİ' ye

teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca zamanını ayıran Araş. Gör. Dr. Enes GÜNCÜM ve Araş. Gör. Yaşar ŞAHİN' e ve mesai arkadaşlarım Vet. Hek. Recep YILDIZ, Vet. Hek. Tolga TRAK ve Vet. Hek. Ebru EKİZCE 'ye teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tüm hayatım boyunca desteklerini ve şefkatlerini üzerimden hiç eksik etmeyen canım anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ALAD	Amino Levülinik Asit Dehidrogenaz
BAL	British anti Lewisite
Ca	Kalsiyum
CaNa <sub>2</sub> EDTA	Kalsiyum Disodyum Etilen Diamin Tetra Asetikasit
CAT	Katalaz
CRP	C Reaktif Protein
DA	Derialtı
Dİ	Damarıçi
DMSA	Dimerkapto Süksinik Asit
GGPD	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GGT	Gama Glutamin Transpeptidaz
IFN $\gamma$	İnterferon Gamma
Ig	İmmunoglobulin
IL	İnterlökin
LA	$\alpha$ Lipoik Asit
MDA	Malondialdehit
NAC	N-Asetil Sistein
NK	Doğal Katil
Pb	Kurşun
PCO	Protein Karbonil
PHA	Fitohemaglütinin
PPR	Koyun Keçi Vebası
8-OHG	8-Hidroksi Guanin
SAM	S-Adenozil-L-Metiyonin
SOD	Süperoksitdismutaz



## ŞEKİLLER

Şekil 1.1	Kurşun cevheri	4
Şekil 1.2	Levamisolün Kimyasal Yapısı	15
Şekil 2.1	Deney Grupları ve İçme Suları	23
Şekil 2.2	Mikroplak Okuyucu	26



## ÇİZELGELER

Çizelge 1.1	Kurşuna İlişkin Temel Bilgiler	3
Çizelge 1.2	Antioksidan Enzimlerin Sınıflandırılması	10
Çizelge 2.1	Çalışma Grupları Ve Pb Asetat Ve Levamizolun Gruplara Uygulanması	22
Çizelge 2.2	SOD Standartlarının Hazırlanışı	24
Çizelge 2.3	CAT Standartlarının Hazırlanışı	25
Çizelge 2.4	Ig E Standartlarının Hazırlanışı	25
Çizelge 2.5	Ig G Standartlarının Hazırlanışı	25
Çizelge 2.6	IFN $\gamma$ Standartlarının Hazırlanışı	26
Çizelge 2.7	IL 18 Standartlarının Hazırlanışı	26
Çizelge 3.1	Deney Gruplarının Ağırlıkları	29
Çizelge 3.2	Deney Gruplarındaki ratlarda plazma biyokimyasal parametreler	30
Çizelge 3.3.	Deney Gruplarındaki ratlarda bazı plazma MDA düzeyleri ve SOD, CAT aktiviteleri	31
Çizelge 3.4.	Deney Gruplarındaki ratlarda INF- $\gamma$ ve IL-18 düzeyleri	32
Çizelge 3.5.	Deney Gruplarındaki ratlarda Ig G ve E düzeyleri	32

## ÖZET

### **Kurşun Zehirlenmesi Oluşturulan Ratlarda Levamizolün Oksidatif Stres ve Sitokinler Üzerine Etkisi**

Levamizol, veteriner hekimlikte antelmintik ve immunmodulatör olarak kullanılan bir ilaçtır. Kurşun, zehirliliği çok iyi bilinen çevre kirletici bir metaldir. Bu çalışmanın amacı, kurşun zehirlenmesi oluşturulan ratlarda immunomodulatör etkili levamizolün oksidatif stres ve sitokin cevap üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Çalışma Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Etik no:16/82) tarafından onaylandı. Çalışmada 40 adet, 2-3 aylık erkek Wistar rat kullanıldı. Ratlar 10 ' ar lık 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu olan birinci gruba gavaj ile fizyolojik tuzlu su (FTS), ikinci gruba gavaj ile FTS ve içme suyuna 2000 ppm kurşun asetat, üçüncü gruba 2 mg/kg gavaj ile levamizol, dördüncü gruba ise 2 mg/kg gavaj ile levamizol ve 2000 ppm kurşun (Pb) asetat içme suyuna 5 hafta boyunca verildi. Çalışmanın sonunda, anestezi altında kanları kalpten alındı. Heparinli tüplerdeki kan örnekleri, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip, plazmaları ayrıldı. Alanin amino transferaz (ALT), alkalın aminotransferaz (AST), alkalın fosfataz (ALP) aktiviteleri ve albumin, kreatinin, total protein, trigliserid, total kolesterol, ürik asit, total bilirubin, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL-kolesterol), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL-kolesterol), kalsiyum, glikoz değerleri otoanalizör cihazında okundu. Aynı zamanda malondialdehid (MDA) aktivitesi ölçüldü ve ticari kitlelerle superoksiddismutaz, katalaz, IL18, INF-gama ve IgE, IgG seviyelerine mikropalak okuyucu ile bakıldı.

Yapılan analiz sonucunda, 5 hafta boyunca 2000 ppm Pb asetat verilen grupta MDA aktivitesi, kontrol ve 2 mg/kg levamizol verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı; buna karşılık Pb+L grubunda, Pb grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı tespit edilmiştir (P<0,001). Süperoksid dismutaz (SOD) değerinin, Pb+levamizol verilen gruplarda, Pb verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir (P=0,029). Katalaz (CAT) değerinin, Pb verilen grupta levamizol, kontrol ve Pb+levamizol grubuna göre önemli düzeyde arttığı tespit

edilmiştir ( $P<0,001$ ). IL 18 ile INF-gama aktivitelerinde deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır ( $P>0,05$ ). Ig G değeri levamizol ve Pb+levamizol gruplarında Pb grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ( $P\leq 0,01$ ). Ig E ise gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir. ( $P>0,05$ ). Plazma ALT aktivitesi ve total kolesterol düzeyi Pb verilen grupta diğer çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur; levamizol uygulaması yükselen ALT ve total kolesterol seviyesini anlamlı olarak düşürmüştür ( $P<0,001$ ). Yapılan çalışma sonuçları kısmende olsa levamizolün kurşun zehirlenmesi tedavisinde ek bir kullanım alanı bulabileceğini; ayrıca kurşunun en çok etkilediği karaciğer ve beyin gibi organlarda ileri çalışmaların yapılması ile daha kesin verilere ulaşılabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kurşun, levamizol, oksidatif stres, rat, sitokin

## SUMMARY

### **The Investigation of the Effect of Levamisole on Oxidative Stress and Cytokines in rats Exposed to Lead Poisoning**

Levamisole is a drug that is used as an antelmintic and immunomodulator in veterinary medicine. Lead, is common known environmental polluting toxic metal. This study aimed to explore the effect of immunomodulator levamisole on oxidative stress and cytokine response in lead exposed rats.

This study meet with approval by local ethical committee of Kırıkkale University (Ethics no: 16/82). A total of 40, 2-3 month old male Wistar rats were handled in the study. The rats were separated into 4 groups each containing 10 rats. The first group was control group and given physiological saline (FTS) with gavage, the second group was given FTS with gavage and 2000 ppm lead acetate in drinking water, the third group was given 2 mg/kg levamisole with gavage, and the fourth group was given 2 mg/kg levamisole and 2000 ppm lead (Pb) acetate in drinking water for 5 weeks. At the end of the study, blood was drawn from the heart under anesthesia. Blood samples were taken from heparinized tubes and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes to obtain plasma. Alanine amino transferase (ALT), alkaline aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) activities and albumin, creatinine, total protein, triglyceride, uric acid, total bilirubin, total cholesterol, low density lipoprotein (LDL cholesterol), high density lipoprotein (HDL- cholesterol), calcium glucose levels were measured in the autoanalyzer. At the same time, malondialdehyde activity was measured and superoxidomycutase (SOD), catalase CAT, levels and IL18, INF gamma and IgE, IgG levels were studied in microplate reader with commercial kits.

As a result of the analysis, the MDA activity in the group given 2000 ppm Pb acetate for 5 weeks increased significantly compared to the control and the group given 2 mg / kg levamisole; whereas in Pb + levamisole given group, it was found to decrease statistically compared to the group Pb ( $P < 0,001$ ). Superoxide dismutase (SOD) value were significantly increased in Pb + levamisole groups compared to the Pb group ( $P = 0.029$ ). Catalase (CAT) value was found to be higher in the Pb group than in the

levamisole, control, and Pb + levamisole groups ( $P < 0.001$ ). No difference was found among IL18 and INF gamma activity in experimental groups ( $P > 0.05$ ). Ig G levels were significantly higher in the levamisole and Pb + levamisole groups than in the Pb group ( $P \leq 0.01$ ). Ig E was not statistically different among the groups ( $P > 0.05$ ). Plasma ALT activity and total cholesterol level were statistically higher in the Pb group than in the other experimental groups, and levamisole administration significantly lowered elevated ALT and total cholesterol levels ( $P < 0.001$ ). The results of the study, in part, suggest that levamisole may find additional use in the treatment of lead poisoning; also it has been concluded that further studies can be achieved by conducting further studies in organs such as the liver and brain, which are most affected by lead.

**Key words:** Cytokines, lead, levamisole, rat, oxidative stress

## 1. GİRİŞ

Kurşun (Pb), hem insanlarda hem hayvanlarda zehirlenmelere sebep olan başlıca metallere biri olmakla birlikte (Kaya 2014), endüstri ve tıp alanında sıkça kullanılır. Kurşun modern endüstride pil üretimi, pirinç, lehim olarak metal alaşımları, boya, cam ve seramik sanayinde kullanılan toksik bir çevre kirleticidir (Alabbassi ve ark. 2008, Karamala ve ark. 2011). Kurşun sinir, kan, kas ve kapillar damar zehiri olarak da bilinir. Bu sistemlerle ilgili enzim veya enzim tepkimelerini değiştirebilir (Kaya ve Akar 2000). Canlı organizmada özellikle sülfidrilli gruplara ve bazı nükleofilik fonksiyon gruplarına bağlanarak kalsiyum ve vitamin D metabolizmasını değiştirir.

Kurşun, hücrelerde özellikle kalsiyumun etkisini taklit etmesi, sinirsel olarak sinir uçlarından dopamin, asetilkolin ve gamma aminobutirik asit gibi nörotransmitterlerin salınımını değiştirmesi gibi sebeplerle zehirli etki oluşturur (Thompson 2007).

Kurşun zehirlenmesinin oksidatif stresin birkaç göstergesinde değişikliğe sebep olduğu ve serbest radikallerin aracılık ettiği hücre hasarının Pb nörotoksitesine bağlı olarak patolojik bir rol oynadığı düşünülmektedir (Adonaylo ve Oteiza 1999).

Oksidatif stres belirteci olan malondialdehit (MDA)' in Pb asetat verilen ratlarda plazma, kas dokusu, karaciğer ve beyin dokusunda önemli ölçüde artması Pb' nin, hücrelerin prooksidan/oksidan dengelerini bozarak oksidatif strese sebep olduğunu göstermiştir (Dağ 2012). Kurşun zehirlenmesinin oksidatif stresi başlattığı bilinmektedir (Patra ve ark. 2011). Bu durum göz önüne alınarak Pb zehirlenmesinden korunmak için, vücuttaki antioksidan savunma sistemini uyarmak iyi bir sağıltım uygulaması olabilir. Bağışıklık sistemi üzerinde de negatif etkisi olan Pb ile ilgili *in vivo*, *ex vivo* ve *in vitro* yetişkin fare çalışmaları, aşırı derecede toksik olarak kabul edilenlerin çok altındaki seviyelerde Pb maruziyetinin, yetişkin farelerde Th1 ile bağlantılı tepkileri (örn., IFN  $\gamma$  üretimi) inhibe ettiğini ve Th2 ile ilgili yanıtlar (örneğin IL4, IL5, IL10, IL13 ve IgE üretimi) geliştirdiğini göstermiştir ki bu Pb' nin hayvan sistemlerinde bağışıklığı baskılayan bir madde olabileceği anlamına gelir (Heo ve ark. 1996, Miller ve ark. 1998).

Günlük hayatta maruziyetin çok fazla olduğu ağır metal zehirlenmelerinden biri olan Pb zehirlenmesinde şelatör madde ve antioksidan enzimler kullanılmaktadır.

Kullanılan şelatör maddeleri başında; British Anti-Lewisite (BAL, dimerkaprol, 2,3-dimerkaptopropanol), dimerkaptosüksinik asit (DMSA) süksimer, D-Penisilamin, kalsiyum disodyum etilen diamin tetraasetik asit (CaNa<sub>2</sub>EDTA) gelmektedir. Vitamin E, selenyum, çinko, vitamin C, S-adenozil-L-metiyonin (SAM), N-asetilsistein (NAC),  $\alpha$ -lipoik asit (LA), kaptopril, taurin, vitamin B<sub>6</sub> gibi antioksidanlar da sağaltıma yardımcı olmaktadır (İskender 2012).

İmidazol türevi bir ilaç olan levamizol, helmintlerin gangliyonlarını sürekli uyararak, çizgili kaslarında spastik felçlere neden olduğu için antelmintik olarak kullanılmaktadır. Renoux ve Renoux (1974) tarafından fareler üzerinde yapılan çalışmalarda levamizolün antelmintik etkisinin yanında bağışıklık üzerine de etkisi olduğu tespit edilmiştir ve bu etkileri nedeniyle levamizol, bağışıklık sisteminin baskılandığı durumlarda da kullanılan ilaçlardan biri haline gelmiştir. Oksidatif – antioksidatif denge, bağışıklık hücrelerinin görev yapması açısından önemlidir. Bu denge bağışıklık hücrelerinde sinyal iletimini, gen ekspresyonunu ve membran lipidlerinin bütünlüğünün korunmasını sağlar (Meydani ve ark. 1995). Levamizolün oksidasyon-antioksidasyon denge üzerine etkisi hakkında yapılan çalışmalar göstermiştir ki; levamizol, oksidatif stresi azaltmakta ve antioksidan aktiviteyi artırmaktadır. Bir immün uyarıcı olarak levamizol, immünolojik hücrelerin yüzeylerinde timopentin reseptörlerine bağlanır ve immünolojik olarak yetkin hücreler içine T lenfositlerini inhibe eder. Klinik deneylerde levamizolün çeşitli bulaşıcı hastalıklarda ve bazı kanserlerde terapötik etkinliğe sahip olduğu ve buna bağlı olarak bağışıklığı (Biswajit ve ark. 2014) aynı zamanda doğal bağışıklıkta etkili olan IL-10 ve IL-12 sitokin üretimini artırdığı, INF- $\gamma$  upregülasyonu ile birlikte Th1 T yardımcı immun yanıtı tetiklediği, bu uyarımın IL-18 sitokin tarafından meydana geldiği, dolayısıyla levamizolün IL-18' in tetiklenmesiyle Tip1 immun yanıtı karşı bağışıklık dengesini dengeleyerek etki ettiği bildirilmiştir (Kayaalp 2000, Chen ve ark. 2008, Szeto ve ark. 2000).

Bu çalışmanın amacı; Levamizolün Pb zehirlenmesi oluşturulan ratlarda sitokinler ve oksidatif stres üzerine etkisinin araştırılarak, Pb zehirlenmesinde alternatif bir tedavi yaklaşımı olup olamayacağını ortaya koymaktır.



## 1.1. Kurşun (Pb)

Kurşun oldukça zehirli bir ağır metaldir. Düşük dozlarda bile bu zehirli etkisi görülebilmektedir Doğada kalıcılığı çok uzundur, dolayısıyla çevreye bulaşma söz konusu olduğunda doğanın döngüsel sistemine dahil olmaktadır (WHO 2003). Temel bilgileri Çizelge 1.1’ de gösterilen Pb; aküler, borular, pirinç, lehim, boya, cam ve seramik sanayii gibi metal alaşımlarının üretimi de dahil olmak üzere geniş bir ticari alanda kullanılmaya devam etmektedir (Sithisarakui ve ark. 1999). Periyodik tablonun 6A grubu metallere olan Pb; sülfür, karbonat, sülfat, kromat tuzları şeklinde doğal olarak bulunan ve atom numarası 82 olan gri-mavi renkli bir elementtir (Doğan 2012) ve Resim 1.1’ de de gösterildiği gibi cevher halinde bulunur.

**Çizelge 1.1.** Kurşuna İlişkin Temel Bilgiler (Dündar ve Aslan 2005)

<b>İsim</b>	Kurşun
<b>Sembol</b>	Pb
<b>Atom no</b>	82
<b>Atom ağırlığı</b>	207.2 atomik kütle birimi
<b>Sınıflandırma</b>	Ağır Metal
<b>Nötron Sayısı</b>	125
<b>Proton ve Elektron Sayısı</b>	82
<b>Kaynama Noktası</b>	1740.0 °C (2013.15 °K, 3164.0°F)
<b>Erime noktası</b>	327.5 °C (600.65 °K, 621.5 °F)
<b>Yoğunluk</b>	11.34 g/cm <sup>3</sup>
<b>Renk</b>	Maviye yakın



Şekil 1.1. Kurşun cevheri (Anon a)

1970'lerden sonra boyalarda ve ev eşyalarında Pb miktarlarında sınırlamalar yapılmıştır. Ancak 2005'te dünyada kullanılan Pb miktarı 7.13 milyon ton civarına gelmiştir. Sırlanmış seramik eşyalarda ve kurşunlanmış kristallerde uzun süre bekletilen zayıf asidik sıvılar, Pb'nin buralardan asidik sıvılara geçerek alınmasına olanak sağlar. 1978 yılından itibaren birçok ülkede kurşunsuz benzin kullanımının zorunlu hale getirilmesi maruziyeti azaltmıştır (Özkan ve ark. 2018)

Kurşun, birçok önemli katyonun, özellikle kalsiyum, demir, çinko, sodyum ve potasyumun metabolizmasını kontrol eden düzenleyici mekanizmalara müdahale eder; aynı zamanda hücrel ve mitokondriyal membranların bütünlüğünü değiştirir, böylece hücrel kırılabilirliği artırır ve dejeneratif süreçleri kolaylaştırır (Rio ve ark. 2001). Pb'nin kalsiyum emiliminin hormonal regülasyonu üzerine etkisi vardır, diyetle kalsiyumun azalması Pb toksisitesi artır (Anetor ve ark. 2005).

### 1.1.1. Kurşun Zehirlenmesi

Kurşun zehirlenmesi insanlık tarihi kadar eskidir ve ciddi sonuçları bulunmaktadır (Wani ve ark. 2015). Zehirlenme durumunda en çok etkilenen vücut sistemleri merkezi ve çevresel sinir sistemi, böbrek fonksiyonları ve vasküler sistemdir. Erken dönem Pb zehirlenmesi belirtileri diffuz kas zayıflığı, halsizlik, yaygın kas ağrısı, eklem ağrısı ve artrit, iştah kaybı, baş ağrısı, uyuklama, libidonun azalması, kilo kaybı, huy ve mizaç değişikliğidir. Kronik maruziyet sonrası; karın ağrısı ve kramplar, mide bulantısı ve kusma, kısa süreli hafıza kaybı, depresyon, koordinasyon bozukluğu, konstipasyon ve konsantrasyon bozukluğu görülür. Kan Pb düzeyi insanda 30 µg/dL üstünde olduğunda şiddetli zehirlenmelerin yanısıra felç, şiddetli letarji, ve abdominal kolik oluşur. Kurşundan özellikle çocuklar çok etkilenmektedir. Kurşuna maruz kalan çocuklarda dönüşümlü aminoasidüri, büyümenin durması, hiperaktivite, kafa içi basıncının artması ve karın ağrısı görülmektedir (Patrick 2006). Bir dönem, özellikle küçük hayvan pratiğinde kazaen görülen Pb zehirlenmesi olguları çok sık görülürken, boyalardan, benzinlerden Pb'nin çıkarılması gibi alınan tedbirlerle zehirlenmenin görülme oranı azalmıştır. Kedilerde ise Pb zehirlenmesi olguları çok sık rapor edilmemekle beraber literatür taramada 45 yıllık bir süreçte 70 olgu sunumuna rastlanmıştır (Knight ve Kumar 2003). Aygün ve ark (2004) Türkiye' deki Yarseli Baraj Gölü' nden tutulan *Carassius carassius*' un kaslarında kurşun miktarını araştırmışlar ve kurşun miktarının 0,6 ila 2,8 mg / kg FW arasında olduğunu, ortalama kurşun miktarının yasal limiti aşmadığını ancak bulunan en yüksek kurşun düzeyinin halk sağlığı açısından risk taşıdığını göstermişlerdir.

Kurşun daha çok inhalasyon, sindirim ve deri yoluyla emilim şeklinde vücuda alınmakta olup; kan Pb seviyesi 90-400 µg/dL dir. Plazma Pb seviyesinin 40-80 µg/dL'ye olması durumunda protoporfirin metabolizması ve oksidasyon redüksiyon reaksiyonları baskılanabildiğinden kandaki Pb seviyesinin 400 µg/dL'yi aşması istenmez (Dündar ve Aslan 2005). Ancak günlük hayatta maruziyet sonrası meydana gelen Pb zehirlenmesi, yaşam boyu olumsuz sağlık etkileri olabilecek önemli bir çevresel hastalıktır. Kurşuna en duyarlı canlılar çocuklar ve en çok maruz kalanlar fakir ve gelişmekte olan ülkelerde yaşayanlardır (Meyer ve ark. 2008). Kurşun emilimi en çok sindirim sistemi yoluyla olur, Pb eritrositlere bağlanarak özellikle kanlanan organlarda iki aşamalı bir dağılım gösterir. Pasif dağılım dediğimiz ilk aşama

karaciğer, böbrek, dalak gibi en çok kan giden organlara olur ki yüksek düzeyde Pb geçici olarak bulunurken ikinci dağılım aşamasında ise bu organlardan kemiklere geçerek depolanır. Kronik Pb zehirlenmesinde Pb'nin %90-98'i kemiklerde bulunmaktadır. Yüksek süt verimi, beslenme yetersizliği, asidoz, stres, kalsiyum yetersizliği gibi durumlarda ise kemiklerden kalsiyum ile birlikte mobilize olarak kan Pb seviyesini yükselmesine bağlıda Pb zehirlenmesi şekillenebilmektedir. (Doğan 2012). Kurşun asetat sığırları 6-7 mg/kg/gün, atları 1-7 mg/kg/gün ve koyunları 8 mg/kg/gün dozda oral yolla zehirleyerek öldürürken kuru madde esasına göre 50 ppm alındığında zehirlenmelere, 100 ppm alındığında ölümlere neden olmaktadır (Doğan 2012).

Kurşun zehirlenmesinden etkilenen organlar arasında Pb' nin en çok depolandığı organ olan karaciğer gelmektedir, onu böbrek izler. Karaciğer portal sistem yoluyla sindirim kanalından emilen Pb' ye maruz kalan ilk organdır. Kurşun kaynaklı hepatotoksisite üzerine yapılan daha önceki çalışmalar, karaciğer biyotransformasyonu, kolesterol metabolizması, hepatosit aşırı yayılması ve Pb kaynaklı hepatosit hiperplazisine bağlı nükleik asit sentezinde değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur (Mudipalli 2007, Abdel Moneim ve ark. 2011).

Ratlarda yapılan bir çalışmada, 1 ay boyunca deri altı (DA) yolla 100 mg/kg/gün kurşun asetat maruziyetinin, serum AST, ALT ve ALP aktivitelerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu artışın sebebi büyük olasılıkla kurşun zehirlenmesinin sebep olduğu hepatotoksik etkidir. Kurşun karaciğerde birikerek hücre zar geçirgenliğini önler ve hücrelerde hasara sebebiyet sonucu kanda AST, ALT ve ALP düzeyleri artar. Bu ratlarda ayrıca serum üre ve kreatinin seviyesindeki anlamlı artış böbrek hasarına işaret eder (Alabbasi ve ark. 2008).

Akut ve kronik tipte zehirlenmeye sebep olan Pb, fizyolojik, biyokimyasal ve davranış bozuklukları meydana getirir. Kan proteinlerini sentezleyen enzimlerin baskılanmasına bağlı olarak anemi meydana gelirken alyuvar zarı dayanıklılığı azalır. Kemiklerde kalsiyumun yerine depolanır ve daha çok böbrek ve karaciğerde birikir ve beyin, merkezi sinir sistemi ve hematopoetik sistem gibi hemen hemen vücudun tüm organ ve sistemleri üzerine toksik etki gösterebilmektedir (Erdoğan ve ark. 2005, Altınsoat ve ark. 1997). Mishra ve ark (2003) yapmış olduğu bir çalışmada kan Pb seviyeleri 6,5, 17,8 ve 128 µg / dL ortalama olan üç işçi grubu (n = 84) incelenmiş ve

fitohemaglutinin (PHA) lenfosit proliferasyonu kontrol grubuna göre inhibe edildiği, doğal katil (NK) hücre aktivitesinden etkilenmediği tespit edilmiştir.

### **1.1.2. Kurşun Zehirlenmesinin Mekanizması**

Kurşun zehirlenmesinin, canlıdaki kalsiyumun (Ca) etkisini taklit ederek veya inhibe ederek ya da sülfidril, amin, fosfat ve karboksil gruplarına bağlanarak, hayati proteinleri etkileyerek meydana geldiği düşünölmektedir. Kurşun, beyin kapillarları, nöronlar, hepatositler, ve arterlerde hücre içi Ca düzeyini artırarak, düz kasların kasılmasına ve dolaylı yoldan hipertansiyona neden olur. Kurşun, kanda ferroselataz, aminolevulinik asit sentetaz, aminolevülinik asit dehidraz enzimlerini etkileyerek, heme biyosentezine karışır. Hemogloblin seviyesi düşer ve sonuçta anemi görölür. Heme sentezinin etkilenmesi böbrek ve nörolojik parametreleri de etkiler. Kurşun kemiklerde 1,25–dihidroksivitamin D düzeyini etkileyerek, Ca homeostazisi ve kemik hücre fonksiyonunu etkiler. Sinir sisteminde ise sinir hücrelerinde ikincil haberci olan Ca yerine geçerek, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını ve Ca akışını inhibe eder, sonunda nörotransmitter madde salınımını önler. Böylece sinaptik ileti önlenir. Kurşun, astroglialarda glutamat geri alınımını ve glutamat sentezini inhibe ederek, merkezi sinir sisteminin başlıca uyarıcı nöromediyatörü olan glutamatın üretimini durdurur (Handej ve Trombetta 2004).

### **1.1.3. Toksikokinetik**

Pb en çok sindirim ve solunum sisteminden emilir. Yetişkinlerde gastrointestinal sistemden emilim % 10 kadarken çocuklarda bu oran % 40'a kadar yükselir. Havadan solunan Pb' un ise emilimi formuna bağlıdır (Klaassen 2009).

Emilen Pb vücutta hareketli bir havuz oluşturur ve vücuda dağılır. Kurşun öncelikle kırmızı kan hücrelerine ilgi gösterir. Total Pb un sadece % 1-%5'i plazmada bulunur. Kan Pb ve serum Pb düzeyi arasında bifazik bir ilişki bulunmaktadır. Pb kanda 40 µg/dL' nin altında olduğunda bu ilişki doğrusal, üstünde olduğu zaman ise dalgalı bir hal almaktadır. Bu fenomenin nedeni, eritrosit morfolojisinin değişmesi ve buna bağlı olarak Pb için daha az bağlanma noktasının kalmasına bağlanmaktadır.

Pb'un yaklaşık yarısı kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobine bağlanmaktadır. Pb'un kandan dokulara geçmesi 4-6 haftalık bir süreç gerektirir (Philip ve Gerson 1994).

#### **1.1.4. Kurşunun Oksidatif Stres Üzerine Etkisi**

Serbest radikaller tarafından meydana getirilen oksidatif stres; normal işlevini yürüten hücre ve organizmalardaki moleküllerde oksidatif hasarın birikimi ile oluşan bir durumdur (Çaylak 2011).

Genel anlamda serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerindeki artış ve bunları nötralize eden antioksidanların yetersiz kalması durumunda oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres, serbest radikallerin oluşturduğu makromoleküllerin oksidatif hasarı sonucunda meydana gelen MDA, protein karbonil (PCO), 8-hidroksiguanin (8-OHG) gibi maddelerin, kan ve dokuda miktarının belirlenmesi ile açığa çıkar. Bunlardan MDA dokulardaki lipid hasarının göstergesi olarak kullanılan biyokimyasal bir belirteçtir (Özcan ve ark. 2015).

Kurşuna bağlı meydana gelen oksidatif stres, Pb' nin hücre zarı, DNA ve antioksidan savunma sistemleri üzerine etkileri sonucunda meydana gelir. Hücre zarında bulunan yağ asitlerindeki çift bağların varlığı, çift bağlara bitişik karbon (C) atomu üzerindeki C-H bağlarını zayıflatır ve hidrojen (H)'nin ayrılması kolaylaşır. Bu nedenle çift bağ olmayan ya da en fazla 2 çift bağa sahip olan yağ asitleri, ikiden fazla çift bağa sahip doymamış yağ asitlerine göre oksidatif stres oluşumuna daha dirençlidir. Linoik, linolenik ve araşidonik asitin Pb ile inkübasyonundan sonra oksidatif stresin son ürünü olan MDA konsantrasyonunun yağ asitlerinin çift bağ sayısına bağ olarak arttığı yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Kurşuna bağlı oksidatif hasarın başka bir mekanizması ise membrandaki yağ asiti kompozisyonu üzerine olan etkisidir. Yağ asiti zincir uzunluğu ve doymamışlık, peroksidasyona karşı membran duyarlılığına bağlı olduğu için Pb ile indüklenen araşidonik asit uzaması, membrandaki lipid peroksidasyonundan sorumlu olabilir. Bir diğer mekanizma hücrelerin antioksidan savunma sistemi üzerinedir. Pb, kadmiyum ve civa gibi sülfidril gruplarına yüksek affinite gösteren diğer metaller, merkaptidler, sistenin sülfidril grubu ve diğer aminoasit yan zincirleri ile daha az kararlı bileşikler oluşturur. Kurşun aminolevülinik asit dehidrogenaz (ALAD), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz

(CAT), glutasyon peroksidaz (GPx), glukoz-6 fosfat dehidrojenaz (GGPD) gibi çeşitli enzimlerde fonksiyonel SH- gruplarını inhibe ederek antioksidan aktivitelerini değiştirdiği tespit edilmiştir. GPx, SOD ve CAT Pb toksitesi için potansiyel hedeflerdir çünkü bu antioksidan enzimler, uygun yapı ve aktivite için çeşitli gerekli iz elementlere bağlıdır (Hsu ve Guo, 2002).

Endüstri işçilerinde biyokimyasal belirteçlerle Pb kaynaklı oksidatif stres ve olumsuz sağlık etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada oksidatif stres (MDA, GGT) ve yapısal belirteçlerin (yüksek duyarlılıklı CRP) önemli oranda arttığı, kan basıncının yükselmesine rağmen maruz kalan grupta hemoglobin değerlerinin azaldığı, Pb'a maruz kalan işçilerde serum üre, ürik asit, fosfat düzeyinin ve ALT aktivitesinin önemli ölçüde yükseldiği ve serum albümin, total protein ve glomerüler filtrasyon hızının azaldığı tespit edilmiştir. Kurşun maruziyeti sonucu MDA seviyesindeki artış, serum gamma glutamin transpeptidaz (GGT), C reaktif protein (CRP), üre, kreatinin ve ürik asit ile pozitif korelasyon gösterdiği için Pb maruziyetinin, çalışan işçilerde hematolojik, renal ve hepatik işlevlerdeki olumsuz değişikliklerle oksidatif stresi artırdığı sonucuna varılmıştır (Mohammad ve ark. 2008). Dört hafta boyunca oral yolla 0, 10, 50 ve 100 mg/kg ağırlıkta Pb asetat verilen ratlarda MDA'nın doza bağlı bir şekilde kademeli olarak arttığı tespit edilmiştir (Xu ve ark. 2008). Bu da oksidatif stresin doza bağlı olarak şiddetinin değiştiğini gösterir.

Antioksidan enzimlerin azalmış aktiviteleri genellikle oksidatif stresle ilişkilendirilir. Kurşun asetata maruz kalan ratlarda, hepatik antioksidan enzim düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük seviyelerde görüldüğü bildirilmiştir. Antioksidan enzim aktiviteleri üzerine mevcut bulgular, Pb'ye maruz bırakılan sıçanların karaciğerlerinde antioksidan enzimlerde önemli düşüşler daha önceki bazı araştırmalara uygundur; bu değişiklikler, süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksit birikiminin yol açtığı sayısız zararlı etkilere atfedilebilir. Ayrıca, Pb<sup>+2</sup> iyonunun antioksidan enzim aktivitesi için gerekli olan metal iyonlarıyla (Cu<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup> gibi) rekabet ettiği ve antioksidan enzimlerde bir kayıp veya azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark. 2013).

### 1.1.5. Kurşunun Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), alkalin fosfat (ALP) gibi antioksidanlar, savunma yanıtında çok önemli bir rol oynamaktadır. Buna ek olarak, MDA plazma membranında oksidatif hasarın belirteçleri olarak kullanılabilir (Wang ve ark. 2006). Çizelge 1.2' de antioksidan enzimlerin vücuttaki görev ve özellikleri verilmiştir.

**Çizelge 1.2.** Antioksidan Enzimlerin Sınıflandırılması (Çaylak 2011).

Antioksidan Enzimler	Fonksiyonları	Özellikleri
Superoksit dismutaz (SOD)	O <sub>2</sub> · <sup>-</sup> 'i hidrojen peroksit olarak dönüştürerek oksidasyonu tamponlar	Mn-SOD CuZn-SOD (en çok bulunan formu) Fe-SOD Ni-SOD Cu-SOD
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksidi su ve atomik oksijene dönüştürür.	Peroksizomlarda yer alan tetramerik bir proteindir.
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Glutasyonu okside ederek hidrojen peroksit ve suya dönüştürür.	Selenoprotein (Se <sup>2+</sup> içerir), ve GSH (Glutasyon) kullanır.

Farmand ve ark (2005), 12 hafta boyunca içme suyunda 100 ppm kurşun asetat verilen sıçanlarda, renal korteks, medulla ve torasik aortta SOD, CAT GPx ve guanilat siklaz aktivitesinde meydana gelen düzensizlik sonucunda hipertansiyon meydana geldiğini göstermişlerdir. Düşük düzey Pb' a maruz kalan resamlarda oksidatif stres durumunu incelemek için yapılan bir çalışmada SOD ve CAT antioksidan enzim aktivitelerinin resamlarda kontrol gruplarından önemli ölçüde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca lipid peroksidasyon ise resamlarda kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur (Mohammad ve ark. 2008). Son dönemde yapılan çalışmalar SOD, CAT, GPx, gibi antioksidan enzim aktivitelerinin Pb tarafından engellendiği bildirilmiştir (Bolin ve ark. 2006, Wang ve Wang 2011).



Kurşun ve diğer metaller (civa ve kadmiyum) sülfidril gruplara yüksek affinite gösterdiği için Pb'nin ALAD, SOD, CAT, GPx ve G<sub>6</sub>PD (glukoz-6-fosfat dehidrojenaz) gibi birkaç fonksiyonel sülfidril gruplarını inhibe ederek antioksidan aktiviteyi değiştirdiği yapılan çalışmalarda gözlenmiştir (Chiba ve ark. 1996, Hsu 1981). Öte yandan, kadmiyum, arsenik ve Pb gibi redoks inaktif metaller, toksik etkilerini, sülfidril protein gruplarına bağlanma ve glutatyonun tükenmesi yoluyla gösterirler (Jomova ve Valko 2011).

Tiyol içeren bileşikler, -SH (sülfidril) gruplarına Pb bağlar ve antioksidan özelliğe sahiptirler. Bu nedenle tiyol içeren antioksidanlar, Pb zehirlenmesi için faydalı olabilir. Çaylak ve ark (2007) yapmış olduğu bir çalışmada da Pb maruziyeti ile değişen oksidatif stres parametreleri ve antioksidan enzim düzeyleri üzerine tiyol içeren antioksidanların yararlı etkileri tespit edilmiştir.

Patra ve ark göre (2011) GPx, CAT ve SOD, Pb toksisitesi için potansiyel hedeflerdir. Antioksidan enzimler uygun moleküler yapı ve aktivite için gerekli çeşitli iz elementlere bağlıdır. Antioksidan savunmanın bozulması, oksidatif hasara daha duyarlı olan hücrelerin neden olduğu çeşitli enzimler üzerine Pb' nin inhibitör etkisinin sonucu olduğu düşünülmektedir.

#### **1.1.6. Kurşun Zehirlenmesinin İmmun Sistem ve Sitokinler Üzerine Etkisi**

Sitokinler, başta immün sistem hücreleri olmak üzere birden fazla hücre tarafından üretilen ve salgılanan, T ve B hücrelerinin ve hemapoetik hücrelerin gelişimi ve farklılaşmasında görev alan, buna bağlı olarak immün yanıtın her aşamasında hormon benzeri etki oluşturarak, hücreler arası iletişimi sağlayan protein ya da glikoprotein yapısındaki sinyal molekülleridir (Diker 1998, Güner ve ark. 1997). Ayrıca yangı gibi biyolojik faaliyetler, hücrelerin çoğalması, gelişmesi ve aktivasyonu, morfogenezis gibi olayları da düzenlerler (Dalkılıç ve ark. 2012).

T yardımcı hücre soyları farklı sitokinleri üretmekte olup; Th1 hücreleri interferon gama (IFN  $\gamma$ ), IL2, IL15 ve Tümör Nekrozis Faktör (TNF) üretirken, Th2 hücreleri IL4, IL5, IL6, IL9 ve IL13 üretmektedirler. Bununla birlikte her ikisi Th1 ve Th2 hücreleri olmak üzere IL10 üretmektedirler (Zidek ve ark. 2009). Doğal bağışıklıkta

görev alan sitokinler; IL1, IL18, TNF, IL6, IL15, IL12, IL10, INF ( $\alpha$ - $\beta$ ), IL23, IL27 iken kazanılmış bağışıklıkta görev alan sitokinler ise IL-2, IL-4, IL 5, IL13, IL17, ve INF  $\gamma$ ' dir. Ayrıca bağışıklık sistemini uyaran ve Th1 tarafından salınan INF  $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL2, IL6 ve IL12 proinflamatuvar sitokinler olup, immun sistemi baskılar. Th2 tarafından salınan IL4, IL5, IL10 ve TGF- $\beta$  sitokinler ise yangı önleyici sitokinlerdir (Böyük 2015).

İlk olarak IFN  $\gamma$  indükleyici bir faktör olarak tanınan IL 18, yapısal olarak IL 1'e, fonksiyonel olarak da IL12'ye benzemektedir. Makrofajlardan ve kuffer hücrelerinden mikrobiyal etkiye karşı sentezlenen immün düzenleyici bir sitokindir. Ayrıca sinoviyal hücreler, adrenal korteks hücreleri, dendritik hücreler, mikrogial hücreler, intestinal epitelyal hücreler gibi çok farklı hücrelerden sentezlenir (Bilgehan 2005). IL18, Ig E yapımını inhibe eder, T ve NK hücrelerinin olgunlaşmasını sağlar, bu hücrelerin sitokin salınımını ve böylece sitotoksitesini artırır. IFN  $\gamma$  üretimini uyardığı için IL 12 ile sinerjistik etki gösterir. Yapılan çalışmalarda IL12 ile birlikte IL18 eksikliğinde, intrasellüler mikroorganizmalara karşı yok denecek kadar az IFN  $\gamma$  sentezlendiği görülmüştür (Sugawara ve ark. 1999). IL18 (interferon-indükleyici faktör) ve IL12, T hücrelerinde IFN  $\gamma$  indüksiyonunda belirgin bir sinerjizm sergiler. Bu sinerjik etkinin mekanizmasına yönelik araştırmalar, IL12'nin, IL18 reseptörünün, interferon-gamma üreten hücreler üzerindeki ekspresyonunu arttırdığını ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte IL18, Th1 hücrelerinin gelişimini indüklemese de, IL12 tarafından Th1 hücrelerinin etkili indüksiyonu ve aktivasyonu için gereklidir. IL12 ve IL18'in hem doğal hem de edinilmiş bağışıklığı aktive etmesine rağmen, aktif makrofajlarla aşırı üretimi bağışıklık sisteminin bozulması dahil olmak üzere çoklu organ bozukluklarına neden olabilir (Okamura ve ark. 1998).

Ortalama 74,8  $\mu$ g/dL kan Pb seviyeli işçilerle yapılan çalışmalarda CD4 + hücreleri ve C3 ve C4 komplement seviyelerinde önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir (Ünderger ve ark. 1996, Başaran ve Ünderger 2000). Pinklerden ve ark (1998) Pb' ye maruz kalan ve kalmayan işçiler arasında CD3 + hücreleri, CD4 + T hücreleri, CD8 + T hücreleri, B hücreleri ya da doğal katil hücre (NK) yüzdelerinde önemli bir fark bulamamışlar ancak yapılan diğer çalışmalarda T hücreli mitojenlere cevap olarak gelişen değişiklikler kurşun işçilerinde rapor edilmiştir. Kan Pb seviyeleri 30-70  $\mu$ g/dL aralığındaki kurşun işçilerinde değişken immun parametreler tanımlanmıştır. T hücresi

alt polinasyonlarındaki değişiklikler, T hücreleri mitojenlerine yanıt ve polimorfonükleer lökositlerin azaltılmış kemotaksisi gibi etkiler bildirilmiştir. Kan Pb ve serum immünoglobulin E' nin (Ig E) seviyesindeki artış arasındaki ilişkilerin önemi çocuklarla ilgili birkaç çalışmada bildirilmiştir. Bu IgE seviyelerinin değerlendirilmesi önemlidir. Çünkü; IgE alerjik astım dahil olmak üzere Tip1 hipersensitivite reaksiyonlarında birincil mediatördür (ATSDR 2007).

Kan Pb düzeyleri  $\geq 0,48 \mu\text{mol} / \text{L}$  ( $10 \mu\text{g} / \text{dL}$ ) olan 38 okul öncesi çocuğun serum immünoglobulin (IgG, IgM ve IgE) konsantrasyonları incelenmiş ve kan Pb seviyeleri  $\leq 0,48 \mu\text{mol} / \text{L}$  olan 35 okul öncesi çocukla karşılaştırılmıştır. Populasyondaki IgG, IgM ve IgE serum konsantrasyonlarında hiçbir fark gözlenmemiştir. Yüksek kan Pb düzeyi olan grubun erkek ve kız çocuklarının IgG, IgM ve IgE değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, IgG ve IgM, yüksek kan Pb düzeyi kadın grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük iken, IgE yüksek kan Pb düzeyi kadın grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. ( $P < 0.05$ ). Kan Pb konsantrasyonu ile serum immünglobinleri IgG ve IgM arasında bir ilişki gösterilmemiştir, ancak bu popülasyonda IgE ve kan Pb düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu veriler, Pb' nin IgG, IgM ve IgE üzerindeki etkisinin kadınlarda erkeklere göre daha güçlü olduğunu ve IgE üretimini uyularak Pb' nin bu süreçte rol oynayabileceğini göstermektedir (Sun ve ark. 2003).

#### **1.1.7. Kurşun Zehirlenmesinin Sağaltımı**

Kurşunun tedavi yöntemleri çeşitlilik arz etmektedir. Metaller, O-, S- ve N- taşıyan bileşiklerle OH, COOH, SH, NH<sub>2</sub>, NH ve N varlığında kompleks yapacak şekilde birleşirler, bu bileşikler şelasyon olarak tanımlanır. İlaç olarak kullanılacak ideal şelasyon maddenin suda çözünmesi, biyotransformasyona uğramaması, organizmada metal depolarına ulaşabilmesi, metallerle toksik olmayan kompleksler yaparak organizmadan kolaylıkla atılabilmesi ve esansiyel elementlere özellikle kalsiyum ve çinkoya ilgisinin düşük olması beklenir. Akut zehirlenme durumlarında ağız yolu ile verilen 200-300 g magnezyum sülfat sindirim sisteminde kurşunu, sülfat tuzu şeklinde çöktürerek dışkı ile atılımını sağlar. Kurşunu bağlayıcı olarak damar içi (Dİ) ya da deri

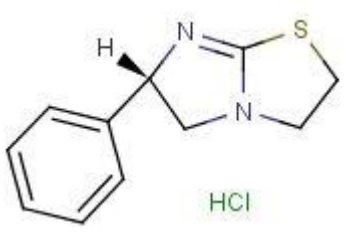
altı (DA) yolla kalsiyum, disodyum etilen diamin tetra asetik asit (CaNa<sub>2</sub>EDTA) kullanılır (Kara ve ark. 2016).

Akut zehirlenmelerde tıbbi kömür, magnezyum sülfat gibi tuzlu sürgütler ile atılımı sağlanırken yumurta akı, ferri hidrat gibi maddeler ile de emilimi engellenerek sağaltım yapılabilir. Ayrıca antidot olarak kalsiyum-disodyum EDTA kullanılarak Pb ile şelat oluşturulup atılım hızlandırılarak kan Pb seviyesi düşürülür (Doğan 2012). Kronik Pb maruziyeti olan bireylerde en fazla kullanılan şelasyon ajanı CaNa<sub>2</sub>EDTA ve d-penisillamindir, bu bileşikler ekstraselüler sıvıdaki Pb ile atılabilen kompleksler oluşturarak Pb'nin kan ve yumuşak dokulardan uzaklaşmasını sağlarlar (Söylemezoğlu ve ark. 2009).

## **1.2.Levamizol**

İmidazotiyazol türevi bir ilaç olan levamizol (Şekil 1.2), hidroklorür ve monobazik fosfat halinde bulunur. Hidroklorür tuzu beyaz-krem renkte, kokusuz, suda çok iyi çözünen, kristalize tozudur. Monobazik fosfat tuzu ise parenteral formda kullanılır (Kaya 2013). İlk kez 1966 yılında antelmintik ajan olarak tanıtılan levamizolün, 1972 yılında belirtilen antelmintik özelliğinin yanında immunmodülasyon ve immunstimulasyon etkisinin de olduğu ilk kez gösterilmiştir (Üstündağ 2010).

Çok çeşitli immünomodülatör etkilere sahip bir antelmintik madde olan levamizol, çeşitli hastalıklarda tedaviye yardımcı olarak başarıyla kullanılmıştır. İmmünmodüle edici etkileri nedeniyle levamizole, başarılı birçok hastalıkta kullanılmıştır. Dermatolojik hastalıkta, leproz, kollajen vasküler hastalıklar, enflamatuar cilt hastalıkları ve bozulmuş bağışıklığı olan çeşitli nedenlerden dolayı parazitik, viral ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır (Biswajit ve ark. 2014).



Şekil 1.2. Levamizolün Kimyasal Yapısı (Anon b).

### 1.2.1. Levamizolün Etki Şekli

Düşük dozlarda aralıklı olarak kullanıldığında bağışıklığı güçlendirici bir özelliği olan levamizol, helmintleri felç ederek parazitlerin dışarı atılmasını sağlar. Otonomik gangliyonların sürekli uyarılmasına bağlı şekillenen kas kontraksiyonları sonucu felç durumu meydana gelmektedir (Kaya 2013). Yüksek yoğunlukta ise parazitlerde fumarat redüktaz enzim sistemini inhibe etmesine bağlı olarak karbonhidrat metabolizmasını bozmaktadır. Kolinesteraz enzimini inhibe ederek asetilkolinin fazlaca birikmesine ve bu mediyatörle ilişkin muskarinik ve nikotinik etkilerin daha da belirgin olarak ortaya çıkmasından ileri geldiği anlaşılmıştır (Şanlı 1999). Yıldırım (2005)'ın tavşan trakeası üzerine levamizolün etkisini araştırdığı bir çalışmada, levamizolün tavşan trakeasındaki etkisinin özellikle muskarinik reseptörler yolu ile ortaya çıktığı belirlenmiştir. Başlangıçta antelmintik olarak kullanılan levamizol; B lenfosit, T lenfosit, monosit ve makrofajların baskılanmış bağışıklık fonksiyonunu da düzelttiği için, bağışıklığın düzenlenmesi ve güçlendirilmesi için kullanılmaktadır (Brunton ve ark. 2006).

### 1.2.2. Levamizolün Etkileri

İnsan ve hayvanlarda özellikle bağışıklık sistemini etkileyen levamizol, ince bağırsak, kalın bağırsak, abomazum da bulunan yuvarlak kurtların çoğu ve kalpte bulunan *D. immitis* mikrofilerine karşı etki gösterir (Kaya 2013). Lenfositler, makofajlar ve granülositler gibi immun hücreleri direk uyararak ya da onların salgılanmasını, hareketliliğini ve proliferasyonlarını arttırarak etki eder (Kayaalp 2000b). Yapılan çalışmalar levamizolün B lenfositleri üzerine önemli değişikliğe sebep olmadığı, buna

karşılık T lenfositleri daha fazla uyardığı için hücresel immünite üzerine etkisinin humoral immünite üzerindeki etkisinden daha fazla olduğu bildirilmiştir (Boura 1984).

### **1.2.3. Levamizolün Farmakokinetiği**

Oral ya da parenteral uygulama sonrasında hızla emilen levamizol vücuda hızlı bir dağılım gösterir. Ratlarda ağızdan alındığında yarılanma ömrü 1 saatken, ineklerde kas içi uygulandığında dört saattir (Abdelsalam 1986). Büyük ölçüde biyotransformasyona uğrayan levamizol başlıca idrar (% 60) ve dışkı (% 40) ile atılırken verilen ilacın yaklaşık %1’lik kısmı ilk 12 saatte karaciğer ve böbreklerde bulunur (Kaya 2013).

### **1.2.4. Levamizolün Oksidatif Stres Üzerine Etkisi**

Levamizol antelmintik etkisinin yanında, bağışıklığı da güçlendiren çok yönlü bir maddedir. Aynı zamanda pek çok çalışmada antioksidan etkinliği de gösterilmiştir. Paksoy ve ark (2015) ineklerde memebaşı papillamatozunun tedavisinde *tarantula cubensis* özütü ve levamizol kullanmışlar ve levamizolün yükselen total oksidan statü (TOS) seviyesini azalttığını göstermişlerdir.

Organizmadaki her hücre oksidatif hasar sonucu meydana gelen serbest radikallere karşı bir savunma mekanizması oluşturmaktadır ki bunlar; SOD, CAT, GPx, glutatyon redüktaz (GSSGR) gibi radikalleri elimine edici nitelikte olan enzimler ile A, E, C, lipoik asit gibi antioksidan enzimlerdir (Dağ 2012). Reaktif oksijen ara maddelerinin oluşumu, bu antioksidan savunma mekanizmalarının süpürme kapasitesini aştığında, zararlı serbest radikaller, enzimler, proteinler, DNA ve membran lipidleri gibi kritik biyomoleküllere oksidatif hasar verme olasılığını artırır (Hsu ve Guo 2002).

Subklinik mastitisli ineklerde 6 gün boyunca meme içi uygulanan % 4’lük levamizol sonrasında kan ve süt serumu SOD ve GSH-Px aktiviteleri düşük bulunmuştur. Mastitisli ineklerin kan ve süt serumundaki alkalin fosfat aktivitesi,

kontrol grubundaki ineklere göre yüksek bulunmuş olup levamizol uygulaması ile deneme grubundaki ALP enzim aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir (Yarım 2001).

*Syphacia muris* ile enfekte ratların levamizol ve levamizol+vitamin C ile tedavisinin oksidatif hasara etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada levamizolün hem tek başına hem de vitamin C ile beraber uygulandığında SOD ve CAT aktivitelerinin hem kanda hem de dokularda anlamlı bir şekilde arttığı ve oksidatif hasarı azalttığı tespit edilmiştir (İnce ve ark. 2010).

Babiuk ve Mishra (1982), buzağılarda transporttan önce uygulanan levamizolün antikor yanıtını artırdığını gözlemlemişlerdir. Bu, levamizolün stres sırasında, hastalıkları önlemek için kullanılabileceğini göstermektedir.

### **1.2.5. Levamizolün İmmun Sistem ve Sitokinler Üzerine Etkisi**

İnterferonlar, interleukinler (IL) ve büyüme faktörleri gibi endojen bağışıklığı uyarıcı memeli genomlarından elde edilmektedirler ve doğuştan gelen bağışıklığı arttırmak için tasarlanmışlardır. Yeni nesil rekombinant sitokinler, immün sistemin spesifik bileşenleri üzerinde seçici etkilere sahiptir (Rush ve Lunn 2004). Levamizol, helmintlerin gangliyonlarını sürekli uyararak çizgili kaslarında spastik felçlere neden olarak antelmintik tedavinin yanı sıra lenfositler, makrofajlar ve granülositler gibi immün hücreleri direk uyararak, ya da onların hareketliliğini ve proliferasyonları artırarak bağışıklığı uyarıcı etkisi de vardır (Kayaalp 2000a).

Levamizol T hücre aracılı immüniteyi düzenler ve IFN ve IL2 aktivitesini artırır. Ancak bazen baskılayıcı T lenfositlerini diğer T lenfositleri alt tiplerine göre daha fazla stimüle edip bağışıklığı baskılayabilir, Th-1 hücrelerinden salınan sitokinler (özellikle IFN  $\gamma$ ) fagositik hücreleri (makrofaj ve nötrofilleri) aktive ederek fungal maddelerle savaşta önemli rol oynar (Üstündağ 2010).

Hayvanlarda görülen viral ve bakteriyel hastalıklarda yapılan çalışmalar levamizolün hücresel immün yanıtı aktifleştirdiğini göstermiştir. *Corynebacterium pseudotuberculosis*, brusellozis, sığırlarda mastitis ve rhinotracheitis gibi hastalıklarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Gökçe ve ark. 1997).

Sitokinler başta immün sistem hücreleri olmak üzere birden fazla hücre tarafından üretilen ve salgılanan, T, B ve hemapoetik hücrelerin gelişimi ve farklılaşmasında görev alan, buna bağlı olarak immün yanıtın her aşamasında hormon benzeri etki oluşturarak, hücreler arası iletişimi sağlayan protein ya da glikoprotein yapısındaki sinyal molekülleridir (Diker 1998, Güner ve ark. 1997). Ayrıca yangı gibi biyolojik faaliyetler, hücrelerin çoğalması, gelişmesi ve aktivasyonu, morfogenez gibi olayları da düzenler (Dalkılıç ve ark. 2012). Genel olarak Th1 ve Th2 hücrelerinin sentezledikleri sitokinlerin, birbirleri üzerinde inhibitör etkileri bulunmaktadır. Th2 hücrelerinin sentezledikleri IL4, IL10 ve IL13 gibi sitokinler, Th1 hücrelerinin proliferasyonunu ve sitokin sentezlemelerini inhibe etmektedirler. Th1 hücrelerince salgılanan IFN  $\gamma$  ise, Th2 hücrelerinin aktivasyonunu engelleyebilmektedir (Arcak 2009). Sitokin yanıtın hücre savunmasındaki önemi günümüzde pek çok hastalığın tedavi alternatifi olarak görülmektedir ve yapılan çalışmalar bu amacı gütmektedir. Levamizol bağışıklığı uyararak ve düzenleyerek sitokin yanıtı uyarabilen başlıca maddelerden birisidir.

De-La-Rosa-Arana ve ark (2012) yapmış oldukları çalışmada levamizol ve stafilokokların humoral yanıtı artırmaya yönelik kullanılabilirliğini ve aynı zamanda INF  $\gamma$  nın trişinellaya karşı koruma ile ilgili olabildiği sonucuna varmışlardır. Makrofaj tespitinden 1-4 gün önce oral tek doz levamizol verilen farelerde üretilen makrofajların IL1 üretimini iki kat artırdığı, buna karşılık aynı makrofajların IL 6 ve TNF üretiminde ise azalmaya sebep olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak levamizolün sitokin üretimini etkilediği sonucuna varılmıştır (Kimball ve ark. 1992).

Levamizolün immün yanıt ve kanser tedavisindeki etkileri üzerine yapılan bir çalışmada T hücreleri ve dendritik hücrelerden türeyen monositlerin aktivasyonu ve olgunlaşmasında levamizolün moleküler mekanizması incelenmiş olup dendritik hücreli levamizol tedavisinin IL10 ve IL12 üretimini artırdığı, levamizol tedavisinin INF  $\gamma$  sekresyonunu uyararak Tip1 immün yanıtı karşı T hücrelerinin aktivasyonunu artırdığı görülmüştür (Chen ve ark. 2008).

Brown Norway ratlarının levamizol ile tedavisi sonrasında yapılan ölçümlerde doza bağlı serum IFN  $\gamma$  seviyesinde yükselme, IgE seviyesinde düşme meydana gelmiş, sitokin gen ekspresyonunun detaylı analizinde IFN  $\gamma$ ' nın artması, IL4'ün azalması dikkat çekmiştir. IL18, IFN  $\gamma$ ' nın üretimini güçlü bir şekilde uyarıcı sitokin



niteliğinde olup bu uyarım IL12 tarafından da gerçekleşmektedir, ancak bu çalışmada uyarımın sadece IL18 kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler neticesinde levamizolün IL18 in tetiklenmesiyle Tip 1 immün yanıtı karşı bağışıklık dengesini sıfırlayarak etki ettiği sonucuna varılmıştır (Szeto ve ark. 2000).

### **Çalışmanın Amacı**

Bağışıklık sisteminin uyarılması ya da korunması yolu ile canlılarda enfeksiyonlara ya da zehirlenmelere karşı direnç geliştirilmesi çok eskiden beri bilinen bir konudur. Kurşun; akut, subakut ve kronik nitelikte zehirlenme oluşturan ağır bir metaldir. Aynı zamanda çevre kirliliği yaratmaktadır. Hayvanlardaki yuvarlak solucanlara etki ettiği için antelmintik olarak kullanılan levamizol, özellikle T hücrelerinin ve fagositlerin etkinliğini artırarak konakçı direncini yükselttiği, bu değişiklikleri de IL12, IL18 ve IFN  $\gamma$  sitokin salınımlarında meydana getirdiği artışa bağlı olarak yaptığı çalışmalarla kanıtlanmıştır. Levamizol tedavisinin oksidatif stres parametresi olan MDA seviyesinde azalmaya ve SOD, CAT, GSH gibi antioksidan enzim seviyelerinde ise önemli ölçüde artışa sebep olduğu kanıtlanmıştır. Levamizolün Pb zehirlenmesinde özellikle oksidatif stres ve sitokinler üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi insanlarda özellikle çocuklarda ve hayvanlarda sık karşılaşılan Pb zehirlenmesinde alternatif bir sağaltım seçeneği veya koruyucu yöntem sunabilir. Yapılan literatür taramasında levamizolün kurşun zehirlenmesine karşı kullanıldığına dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı Pb zehirlenmesi oluşturulan ratlarda levamizolün oksidatif stres ve sitokinler üzerine etkisini saptamaktır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Araç ve Gereçler

#### 2.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmada hayvan materyali olarak 2-3 aylık, 40 adet erkek Wistar rat kullanıldı. Tüm hayvanlar deney süresince (35 gün) Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde bakıldı. Çalışma Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu' nun 12.10.2016 tarih ve 16/82 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

#### 2.1.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmada Kırıkkale üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan cihaz ve malzemelerden yararlanıldı.

- Mikroplate okuyucu (Thermo Scientific Multiscan GO, ABD)
- ICP-OES (Spectroblue)
- Santrifüj Cihazı (Hettich Üniversal 32 R-Almanya)
- Hassas Terazı (Precisa XB 220 A-İsviçre)
- Otomatik Pipetler (Eppendorf Research plus 300-500)
- Distile Su (Tetra – Zeneer RO 180)
- Cerrahi Malzemeler (makas, penset, bistüri)
- Fizyolojik Tuzlu Su
- Rat Besleme Kanülü

- İçme Suyu
- Plate Yıkama Banyosu
- -20°C ve -80°C Derin Dondurucu
- +4°C Soğutucu
- Balon Joje ve Cam tüpler
- Ependorf Tüp (1,5 mL)

### 2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Levamisol (Sigma L-9756): 250 ml FTS içerisine 20 mg levamisol çözülerek haftalık hazırlandı ve günlük gavaj yöntemi ile levamisol ve levamisol+Pb Asetat grubunda kullanıldı.

Kurşun asetat (Merck Kurşun (II) Asetat 1.07375.0250-Almanya): 2 lt içme suyunda 2000 ppm çözülerek günlük olarak hazırlanan Pb Asetat, hazırlanan 5 N HCL çözeltisi ile çökelti oluşturması engellendikten sonra ticari içme suyuna verilerek kullanıldı.

Hazırlanışı: Balon jojeye 250 mL içme suyu eklendi ve Pb asetat çökmesini önlemek için 5N HCL çözeltisinden 0.25 mL ilave edildi. Daha sonra tartılan 4 g Pb asetat balon jojeye eklendi ve çözdürmek için dairesel hareketlerle karıştırıldı. Tamamen çözülme sağlanınca ticari içme suyu 2 L ye tamamlanarak günlük olarak Pb Asetat ve Levamisol+Pb Asetat gruplarında içme suyu olarak kullanıldı.

Pental (Pental Sodyum 1 g İ.E. ULAGAY)

Rat (IgE) ELİSA Kit (201-11-0453) (SunRed-Çin)

Rat (IgG) ELİSA Kit (201-11-0454) (SunRed-Çin)

Rat (IL18) ELİSA Kit (201-11-0118) (SunRed-Çin)

Rat (IFN  $\gamma$ ) ELİSA Kit (201-11-0104) (SunRed-Çin)

Rat (CAT) ELİSA Kit (201-11-5106) (SunRed-Çin)

Rat (SOD) ELİSA Kit (201-11-0169) (SunRed-Çin)

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Grupların Belirlenmesi ve Deneysel Uygulama

Deneyleerde kullanılan 2-3 aylık ortalama 300-400 g ağırlığında 40 adet erkek Wistar Rat bir haftalık bakımın ardından Çizelge 2.2.1' de belirtildiği gibi 10' arlı 4 gruba ayrıldı. Tüm hayvanlar, deney boyunca 20-22°C'de 12 saat aydınlık 12 saat karanlık bir ortamda tutuldu. Hayvanlarda yem ve su ad libitum olarak verildi (Kontrol grubundan iki adet rat gavaj uygulama hatası sonucunda öldüğü için çalışmaya 38 adet rat ile devam edilmiştir).

**Çizelge 2.1.** Çalışma grupları ve Pb asetat ve levamizolun gruplara uygulanması

Gruplar	Uygulama
Grup 1 (Kontrol)	Fizyolojik Tuzlu su (FTS) gavaj ile 5 hafta
Grup 2	Fizyolojik Tuzlu su (FTS) gavaj ile 5 hafta, 2000 ppm Pb asetat içme suyuna 5 hafta (Caylak ve ark 2008)
Grup 3	2 mg/kg levamizol gavaj ile 5 hafta (Sadigh-Eteghad ve ark. 2010)
Grup 4	2 mg/kg levamizol gavaj ile 5 hafta (Sadigh-Eteghad ve ark. 2010), 2000 ppm Pb asetat içme suyuna 5 hafta (Caylak ve ark. 2008)

Kontrol grubu olan birinci gruba; 5 hafta boyunca 2 mg/kg rat besleme kanülü ile fizyolojik tuzlu su (FTS),

Kurşun asetat grubu olan ikinci gruba, 5 hafta boyunca 2 mg/kg rat besleme kanülü ile fizyolojik tuzlu su (FTS) ve 2000 ppm içme suyuna 5 hafta boyunca Pb asetat (Caylak ve ark 2008),

Levamizol (L) Grubu olan üçüncü gruba, 5 hafta boyunca 2 mg/kg rat besleme kanülü ile levamizol (Sadigh-Eteghad et ark. 2010),

Levamizol+Pb Asetat Grubu (L+Pb) olan dördüncü gruba ise 5 hafta boyunca 2 mg/kg rat besleme kanülü ile levamizol ve 2000 ppm Pb asetat içme suyuna verildi.



Şekil 2.1. Deney grupları ve içme suları

Günlük uygulama öncesinde tartılarak ağırlıklarına göre Levamizol uygulaması yapıldı. Şekil 2.1 de belirtildiği üzere içme suyunda çözdürülen kurşun asetat, kurşun ve levamizol+kurşun gruplarında içme suyu olarak kullanıldı.

### 2.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Beş haftalık bakım ve uygulama sonrasında, 8 saat aç bırakılan tüm hayvanlar intra peritoneal (İP) uygulanan 1 ml pental sodyum ile anestezi altına alındı. Her hayvandan kanlar intra kardiyak olarak antikoagülanlı (heparinli) tüplere alındı. Kan örnekleri +4 °C 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ependorfa alınan plazma örnekleri analize kadar -80 °C de saklandı.

### 2.2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

Plazmada AST (EC 2.6.1.1) ve ALT (EC 2.6.1.2) aktiviteleri, trigliserid, total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-kolesterol), total bilirubin, total protein, albumin, glukoz, üre, kreatinin ve Ca düzeyleri otoanalizör ile (Gesam Chem 400, İtalya) ölçüldü.

#### 2.2.4. Elisa Kitlerin Hazırlanması ve Deney Prensipleri

Çalışmada IL 18, INF  $\gamma$ , Ig G, Ig E düzeyleri, SOD ve CAT aktiviteleri ticari test kitleri (SunRed, Çin) ile deney prensibi doğrultusunda belirlenmiştir.

Standartlar çizelge 2.2, çizelge 2.3, çizelge 2.4, çizelge 2.5, çizelge 2.6 ve çizelge 2.7 de belirtildiği gibi hazırlandı ve her bir örnek gözüne 40  $\mu$ L örnek, 10  $\mu$ L SOD antibody ve 50  $\mu$ L streptovidin HRP eklendi. Hafifçe dairesel hareketlerle sallandı ve 37 °C’ de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kuyucuklar boşaltılarak 1-2 dakika bekleme sonrası yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. 50  $\mu$ L chromojen A çözeltisi ve 50  $\mu$ L chromojen B eklenerek yavaşça karıştırıldı ve 37 °C’de 10 dakika ışıksız ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her bir göze 50  $\mu$ L stop solüsyonu eklendi ve mavi rengin sarıya dönmesi ile reaksiyon durduruldu. 15 dakika içerisinde 450 nm optikal yoğunlukta resim 2.2 de gösterildiği gibi mikropate okuyucuda (Thermo Scientific Multiscan GO, ABD) okundu.

Çizelge 2.2. SOD standartlarının hazırlanışı

64 ng/mL	Standart No.5	120 $\mu$ L orijinal standart + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı (diluent)
32 ng/mL	Standart No.4	120 $\mu$ L standart No 5 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
16 ng/mL	Standart No.3	120 $\mu$ L standart No 4+ 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
8ng/mL	Standart No.2	120 $\mu$ L standart No 3 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
4 ng/mL	Standart No.1	120 $\mu$ L standart No 2 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı

Çizelge 2.3. CAT standartlarının hazırlanışı

160 ng/mL	Standart No.5	120 µL orijinal standart + 120 µL standart sulandırıcı (diluent)
80 ng/mL	Standart No.4	120 µL standart No 5 + 120 µL standart sulandırıcı
40 ng/mL	Standart No.3	120 µL standart No 4+ 120 µL standart sulandırıcı
20 ng/mL	Standart No.2	120 µL standart No 3 + 120 µL standart sulandırıcı
10 ng/mL	Standart No.1	120 µL standart No 2 + 120 µL standart sulandırıcı

Çizelge 2.4. Ig E standartlarının hazırlanışı

8 KU/L	Standart No.5	120 µL orijinal standart + 120 µL standart sulandırıcı (diluent)
4 KU/L	Standart No.4	120 µL standart No 5 + 120 µL standart sulandırıcı
2 KU/L	Standart No.3	120 µL standart No 4+ 120 µL standart sulandırıcı
1 KU/L	Standart No.2	120 µL standart No 3 + 120 µL standart sulandırıcı
0,5 KU/L	Standart No.1	120µL standart No 2 + 120 µL standart sulandırıcı

Çizelge 2.5. Ig G standartlarının hazırlanışı

32 mg/ml	Standart No.5	120 µL orijinal standart + 120 µL standart sulandırıcı (diluent)
16 mg/ml	Standart No.4	120 µL standart No 5 + 120 µL standart sulandırıcı
8 mg/ml	Standart No.3	120 µL standart No 4+ 120 µL standart sulandırıcı
4 mg/ml	Standart No.2	120 µL standart No 3 + 120 µL standart sulandırıcı
2 mg/ml	Standart No.1	120µL standart No 2 + 120 µL standart sulandırıcı

Çizelge 2.6. IFN  $\gamma$  standartlarının hazırlanışı

200 ng/L	Standart No.5	120 $\mu$ L orijinal standart + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı (diluent)
100 ng/L	Standart No.4	120 $\mu$ L standart No 5 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
50 ng/L	Standart No.3	120 $\mu$ L standart No 4+ 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
25 ng/L	Standart No.2	120 $\mu$ L standart No 3 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
12,5 ng/L	Standart No.1	120 $\mu$ L standart No 2 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı

Çizelge 2.7. IL 18 standartlarının hazırlanışı

80 ng/L	Standart No.5	120 $\mu$ L orijinal standart + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı (diluent)
40 ng/L	Standart No.4	120 $\mu$ L standart No 5 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
20 ng/L	Standart No.3	120 $\mu$ L standart No 4+ 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
10 ng/L	Standart No.2	120 $\mu$ L standart No 3 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı
5 ng/L	Standart No.1	120 $\mu$ L standart No 2 + 120 $\mu$ L standart sulandırıcı



Şekil 2.2. Mikroplate okuyucu

Tüm ELİSA kitlerin uygulama prensibi aynı olup özeti aşağıda belirtilmiştir.



## ÖZET

Çözelti örnek ve standartları hazırla



Hazırlanan örnek ve standartları ve örnekleri ekle enzim ile işaretli antikorları 37 °C de 60 dakika inkübe et



5 kez yıkama çözeltisi ile (0,35 ml koy ve 1-2 dk bekle ve yıka), Kromojen solüsyon A ve B 2 yi ekle ve 37 °C ' de 10 dakika ışıksız ortamda inkübe et.



Stop çözeltiyi ekle



10 dakika içinde ELİSA da ölç



Hesapla

Mikroplak okuyucuda ise plazma IL18, INF  $\gamma$ , Ig G ve Ig E düzeylerine bakıldı (Şekil 2.2).

Ayrıca ticari kitlerle superoksiddismutaz, katalaz, ve malondialdehid parametrelerine bakıldı. Plazmada tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerine spektrofotometrik olarak bakıldı (Moreno ve ark. 2003).

### 2.2.5. MDA Analiz Metodu

Plazmadaki tiyobarbitürik asit reaksiyonları (TBAR) ile MDA düzeylerinin belirlenmesi, Buege ve Aust SD (1978)'un yöntemiyle hesaplandı.

Reaktifler: Trikloroasetik asit (Merck 1.00810), Absolute etanol (Merck 1.00983), bütülen hidroksitoluen (BHT) (Merck 817074), tiyobarbitürik asit (TBA)

Metod, MDA ve tiyobarbitürik asidin (TBA) reaksiyonu üzerine asidik koşullar altında pembe bir rengin oluşmasına dayanır. Kısaca tiyobarbitürik asit (0.375 m / v, TBA), hidroklorik asit (0.25 N, HCl), trikloroasetik asit çözeltisi (% 15, w / v, TCA) 1: 1: 1 (A çözeltisi) ile birleştirildi ve karıştırıldı. 1000 µL'lik A solüsyonu (1000 µl) ve BHT (10 µL), her biri 0.5 ml'lik numuneler içeren tüm serumun santrifüj tüplerine eklenmiştir. Bu inkübasyondan sonra, tüm test tüpleri soğutuldu. Tüpler 14000 rpm'de 5 dakika 4°C'de santrifüj edildi. Daha sonra, üstteki süpernatant örnekleri test tüplerine aktarıldı. Numunelerin absorbansı bir mikropilaka okuyucu (Thermo Scientific Multiscan GO, ABD) kullanılarak 536 nm'de ölçüldü. MDA konsantrasyonu, TBA-MDA kompleksinin absorbans katsayısına göre hesaplandı ( $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ) ve µmol / L'yi ifade etti.

### 2.2.6. İstatistiksel Analizler

Sunulan çalışmada elde edilen veriler aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiştir. Gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemliliği OneWay ANOVA, gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için Duncan testi (*post hoc*) uygulanmıştır. İstatistik analizler SPSS 15.0 paket programında yapılmıştır. Yapılan testlerde  $P < 0.05$  değeri önemli olarak kabul edilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Ratların Canlı Ağırlık Bulguları

Deney boyunca tüm hayvanların günlük canlı ağırlıkları ölçülmüş ve grupların günlük ortalama ağırlıkları belirlenmiştir. Deney sonunda da tüm grupların ilk ortalama ağırlıkları ile son ortalama ağırlıkları arasındaki fark ölçülerek deney uygulama boyunca grup bazlı ağırlık artışı hesaplanmış ve Çizelge 3.1 de belirtilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Deney gruplarının ağırlıkları (g)

Parametreler	Kontrol (n:8)	Pb (n:10)	Lev (n:10)	Pb+Lev (n:10)	P
İlk tartım (g)	330,63±9,04	338,70±7,83	345,90±10,01	332,90±9,09	ÖD
Son tartım(g)	392,00±8,78	391,4±10,66	408,90±15,46	388,60±12,50	ÖD
Canlı ağırlık artışı(g)	61,38±9,02	52,70±9,81	63,00±15,16	55,70±17,75	ÖD

ÖD: Önemli değil. n: hayvan sayısı P>0,05

Yapılan çalışmada kurşuna maruz kalan sıçanların canlı ağırlık artışının kontrol grubuna göre sayısal olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05).

#### 3.2. Plazma Biyokimyasal Parametreler

Biyokimyasal bulgular değerlendirildiğinde (Çizelge 3.2), 5 haftalık deney periyodu boyunca, deney grupları arasında plazma AST enzim aktivitesi ve total bilirubin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (P>0,05). Plazma ALT aktivitesi ve total kolesterol düzeyi Pb verilen grupta diğer deney gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunurken, levamizol ve Pb+levamizol verilen gruplarda istatistiksel olarak diğer gruplara göre düşük bulunmuştur (P<0,001). Üre düzeyi ise Pb verilen grupta diğer gruplara göre daha yüksekken, Pb+levamizol verilen

grupta diğ er gruplara göre daha düşük çı kmıştır (P<0,001). Trigliserid, HDL kolesterol, kreatinin, total bilirubin, albümin, glukoz ve kalsiyum düzeyleri kurşun ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak değişmemiştir (P>0,05). HDL kolesterol, kreatinin, total protein, glukoz, kalsiyum düzeyleri ise levamizol ve Pb+levamizol verilen gruplarda, kontrol ve kurşun verilen gruplara göre düşük bulunmuştur (P<0,001).

**Çizelge 3.2.** Deney gruplarındaki ratlarda plazma biyokimyasal parametreleri

Parametreler	Kontrol	Pb	lev	Pb+lev	P
AST (U/L)	199,41±20,52 (n=7)	244,37±5,55 (n=8)	210,13±17,25 (n=10)	236,03±12,88 (n=9)	0,160
ALT (U/L)	51,71±2,48 <sup>b</sup> (n=7)	58,87±2,68 <sup>a</sup> (n=8)	39,70±2,29 <sup>c</sup> (n=10)	38,37±1,88 <sup>c</sup> (n=8)	0,000
Total kolesterol (mg/dL)	113,71±3,34 <sup>b</sup> (n=7)	132,57±4,50 <sup>a</sup> (n=7)	82,25±3,42 <sup>c</sup> (n=8)	83,86±7,25 <sup>c</sup> (n=7)	0,000
HDL- kolesterol(mg/dl)	44±1,90 <sup>a</sup> (n=7)	43,12±0,95 <sup>a</sup> (n=8)	35,33±1,72 <sup>b</sup> (n=9)	32,14±2,01 <sup>b</sup> (n=7)	0,000
Trigliserid (mg/dL)	38,43±1,42 <sup>a</sup> (n=7)	42,25±3,77 <sup>a</sup> (n=8)	28,10±1,22 <sup>b</sup> (n=9)	35,28±2,61 <sup>ab</sup> (n=7)	0,002
Ure (mg/dL)	106,86±1,12 <sup>b</sup> (n=7)	118,29±1,95 <sup>a</sup> (n=7)	100,37±3,83 <sup>bc</sup> (n=8)	93,86±2,86 <sup>c</sup> (n=7)	0,000
Kreatinin (mg/dL)	1,69±0,04 <sup>a</sup> (n=7)	1,81±0,06 <sup>a</sup> (n=8)	1,44±0,03 <sup>b</sup> (n=10)	1,41±0,07 <sup>b</sup> (n=8)	0,000
Total protein (g/dL)	4,90±0,14 <sup>a</sup> (n=7)	4,64±0,18 <sup>a</sup> (n=8)	3,81±0,05 <sup>b</sup> (n=10)	3,76±0,06 <sup>b</sup> (n=8)	0,000
Albumin(g/dL)	2,31±0,03 <sup>a</sup> (n=7)	2,12±0,10 <sup>ab</sup> (n=8)	1,84±0,13 <sup>c</sup> (n=10)	1,93±0,08 <sup>bc</sup> (n=8)	0,001
Glukoz(mg/dL)	253,57±13,73 <sup>a</sup> (n=7)	292,00±22,53 <sup>a</sup> (n=8)	190,77±7,03 <sup>b</sup> (n=9)	169,29±9,07 <sup>b</sup> (n=7)	0,000
Kalsiyum (mg/dL)	12,64±0,12 <sup>a</sup> (n=7)	12,10±0,47 <sup>a</sup> (n=8)	10,26±0,17 <sup>b</sup> (n=10)	10,00±0,09 <sup>b</sup> (n=8)	0,000
Total bilirubin(mg/dL)	1,12±0,09 (n=7)	0,99±0,04 (n=8)	1,10±0,06 (n=10)	1,10±0,04 (n=8)	0,394

<sup>a,b,c</sup>. Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbirinden farklıdır. P<0,05 n: hayvan sayısı

### 3.3. Plazma Oksidatif Stres Parametreleri

Çalışma sonunda tüm grupların plazma örnekleri ile yapılan analizler sonucunda ölçülen MDA, CAT ve SOD değerleri çizelge 3.3 de verilmiştir. Buna göre; MDA değerinin, Pb verilen grupta kontrol ve levamizol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı buna karşılık Pb+levamizol grubunda Pb grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir (P<0,001).

Süperoksid dismutaz değerinin, Pb+ levamizol verilen grupta, Pb verilen gruba göre anlamlı şekilde artarken (P=0,029), Pb verilen grupta da kontrol grubuna göre sayısal olarak azaldığı tespit edilmiştir (P>0,05). Katalaz değerinin, Pb verilen grupta levamizol, kontrol ve Pb+levamizol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir (P<0,001).

**Çizelge 3.3.** Deney gruplarındaki ratlarda plazma MDA düzeyleri ve SOD, CAT aktiviteleri

Parametreler	Kontrol (n=8)	Pb (n=10)	Lev (n=10)	Pb+Lev (n=8)	P
MDA (µmol/L)	0,99±0,02 <sup>c</sup>	1,33±0,11 <sup>a</sup>	1,03±0,03 <sup>cb</sup>	1,11±0,03 <sup>b</sup>	0,000
SOD (U/ml)	2,98±0,52 <sup>ab</sup>	1,87±0,34 <sup>b</sup>	2,43±0,28 <sup>ab</sup>	3,57±1,28 <sup>a</sup>	0,029
CAT(nmol/dk/ml)	4,40±0,70 <sup>c</sup>	12,52±0,57 <sup>a</sup>	7,62±1,25 <sup>b</sup>	4,93±0,47 <sup>c</sup>	0,000

<sup>a,b,c</sup>Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbirinden farklıdır P<0,05. n: hayvan sayısı

### 3.4.İnterlökin 18, Interferon Gamma, Immunglobulin G ve E Bulguları

İnterferon indükleyici faktör olarak da bilinen IL 18 ile IFN  $\gamma$  aktivitelerinin, çizelge 3.4' te belirtildiği gibi gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır (P>0,05).

**Çizelge 3.4.** Deney gruplarındaki ratlarda INF  $\gamma$  ve IL18 düzeyleri

Parametreler	Kontrol	Pb	Lev	Pb+Lev	P
INF $\gamma$ ( ng/L )	4,45 $\pm$ 0,52 (n=8)	3,94 $\pm$ 0,82 (n=10)	5,09 $\pm$ 0,51 (n=10)	5,90 $\pm$ 2,02 (n=10)	0,171
IL18 ( ng/L)	22,79 $\pm$ 1,91 (n=7)	18,86 $\pm$ 2,97 (n=7)	21,62 $\pm$ 3,40 (n=7)	24,80 $\pm$ 1,07 (n=7)	0,421

P>0,05. n: hayvan sayısı

İmmun sistemin önemli parametrelerinden biri olan Ig G; 5 haftalık deney süresi sonunda, levamizol ve Pb+levamizol grubunda Pb grubuna göre çizelge 3.5' te belirtildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır (P $\leq$ 0,01). Ig E ise gruplar arasında istatistiksel olarak fark göstermemiştir (P>0,05).

**Çizelge 3.5.** Deney gruplarındaki ratlarda Ig G ve E düzeyleri

Parametreler	Kontrol	Pb	Lev	Pb+Lev	P
	(n=8)	(n=10)	(n=10)	(n=10)	
Ig G(mg/mL)	1,20 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	1,13 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	1,35 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	1,30 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,013
Ig E(kU/L)	1,26 $\pm$ 0,04	1,24 $\pm$ 0,07	1,35 $\pm$ 0,05	1,33 $\pm$ 0,05	0,505

<sup>a,b</sup> Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar birbirinden farklıdır P<0,05. n: hayvan sayısı

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, 5 hafta boyunca kurşun asetatı maruz kalmış ratlar üzerinde levamizolün oksidatif stres ve immün parametreler yönünden etkisi araştırıldı. Bu amaçla bazı biyokimyasal parametreler, oksidatif stres parametrelerinden MDA, antioksidan enzim parametrelerinden SOD ve CAT aktiviteleri ile immün parametrelerden Ig G ve Ig E, sitokinlerden ise IL 18 ve IFN  $\gamma$  seviyelerine bakıldı.

##### 4.1. Kurşun ve Levamizolün Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmada deney gruplarına, 5 hafta süre ile verilen 2000 ppm Pb asetat, 2 mg/kg verilen levamizol ve 2000 ppm Pb asetat + 2 mg/kg levamizolün karaciğer fonksiyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek için serum AST ve ALT aktiviteleri araştırıldı. ALT sitoplazmik bir enzim iken, AST hem mitokondri hem de sitoplazmada bulunan bir enzimdir. Karaciğer fonksiyonunun değerlendirilmesinde, ALT ve AST gibi kandaki hepatik enzimlerin düzeylerine bakılır. Bu enzimlerin enzimatik aktivitesindeki yükselmeler, karaciğer hücrelerinin hücre zarı geçirgenliğinde veya hücre zarında meydana gelen hasarın miktarına bağlı olabilir (Alwaleedi 2015). Offor ve ark (2017) 28 gün boyunca gavaj ile 60 mg/kg Pb asetat verilen ratlarda serum AST, ALT, ALP, bilirubin, total kolesterol ve üre aktivitesinde anlamlı artışa neden olurken albümin ve total protein düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. İbrahim ve ark (2012) ratlarda farklı dozlarda kurşun asetatın (LD 50'nin 1/20, 1/40 ve 1/60) serum AST, ALT aktivitelerini, glikoz değerini artırdığını, total protein ve albumin düzeylerini düşürdüğünü ifade etmişlerdir. Sunulan çalışmada bazı araştırmacıların (Azoz ve Raafat 2012, İbrahim ve ark. 2012, Azab 2014, Offor ve ark. 2017) bulgularına uyumlu olarak Pb'na maruz kalan ratlarda AST ( $P>0.05$ ) ve ALT( $P<0,001$ ), total kolesterol ( $P<0,001$ ) ve üre ( $P<0,001$ ) aktiviteleri artmıştır. Plazma AST ve ALT' nin aktivitesinin artışı, karaciğerde mikrozomal membran akışkanlığının fazla olması, serbest radikallerin üretimi ve hayvanların kurşun asetat ile muamele edildiğinde karaciğer hücrelerinde değişiklik olmasına bağlanır (İbrahim ve ark. 2012).

Kurşunun ratlarda serum glikoz düzeyinde doğrudan veya dolaylı bir etki gösterdiği bilinmektedir (Ashour ve ark. 2007). Sunulan çalışmada İbrahim ve ark. (2012)'nin bulgularına paralel olarak serum glikoz değerleri artmış, fakat istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Kan glukoz seviyelerindeki yükselmeler, dokulardan kana, glikojenoliz ve glukoneojenez yoluyla glikoz taşınımındaki artışa veya glikozun kandan dokulara geçiş oranının düşmesine bağlı olabilir (İbrahim ve ark. 2012). Kurşun verilen gruba levamizol ilavesi glikoz değerlerini istatistiki olarak önemli düzeyde azaltmıştır ( $P<0,001$ ). Azalmanın nedeni levamizolün antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Üç ay boyunca içme suyu ile % 2 kurşun asetat verilen ratlarda ALT, AST, ALP aktivitelerinin ve kolesterolün arttığı, total protein değerinin azaldığı belirtilmiştir. (Moussa ve Bashandy 2008). Serum total protein değerinin azalmasının, kurşunun neden olduğu hem hepatik hem de renal hasardan (Ahmed ve Shalaby 1999), kurşunun plazma proteinlerine bağlanarak hepatositlerde protein sentezini bozmasından (Goering 1993) kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bunların yanı sıra; serum total protein değerlerinin azalması, kurşun intoksikasyonu ile indüklenen hepatik DNA ve RNA'daki düşüşe (Shalan ve ark. 2005) veya protein sentezi için serbest amino asitlerin kullanımının azalmasına bağlı olabileceği de (Moussa and Bashandy 2008) bildirilmiştir. Sunulan çalışmada Pb' ye maruz kalan ratlarda total protein ve albümin değerlerinde değişiklik olmamıştır.

Böbrekler, böbrek hasarına ve hatta böbrek yetmezliğine neden olabilen toksik maddelerin etkisine özellikle duyarlıdır. Birçok çalışma, kurşun maruziyeti ve böbrek etkileri arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir (Missoun ve ark. 2010, Baş ve Kalender, 2015, Gargauri ve ark. 2018). Serum üre değerlerinin akut ve kronik böbrek hastalığında artmış olduğu ve ayrıca renal perfüzyonun azalması ile dolaşımdaki kan hacminin azaldığı bildirilmiştir (Cameron ve Greger 1998). Üre, protein katabolizmasının temel son ürünüdür. Glukoneogenez için hızlandırılmış amino asit deaminasyonu ile birlikte oluşan protein katabolizması sonucu ile üre seviyelerini arttığı bilinmektedir (Ashour ve ark. 2007). Ghorbe ve arkadaşları (2001) 30 gün boyunca %0,3 oranında içme suyuyla kurşun asetat verilen ratlarda kanda üre ve kreatinin değerlerinin arttığını bildirmişlerdir. Bu iki parametrenin artışı böbrek yetmezliğini göstermektedir. Bu çalışmada Offar ve ark (2017)'na uyumlu olarak



kurşun asetat uygulaması serum üre seviyesinde anlamlı bir artışa ( $P < 0,001$ ) neden olmuş, ancak serum kreatinin seviyesinde sadece hafif bir artış görülmüştür. Levamizol uygulanması ile serum üre ve kreatinin değerlerinde anlamlı şekilde azalma görülmüştür. Bu parametrelerin azalmasının nedeni levamizolün antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceğini akla getirmektedir.

Lipid ve lipoprotein anormallikleri aterosklerozun patogenezinde ve progresyonunda anahtar rol oynar (Chrysohoou ve ark. 2004). Jesuorsemwien ve ark (2016) 6 hafta boyunca. içme suyu ile 0.10g/l Pb sülfat alan ratlarda total kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserid değerlerinin arttığını bildirmişlerdir. Kurşuna maruz kalmanın kolesterol metabolizmasını değiştirdiğini ve böylece kurşuna maruz kalan kişilerde kardiyovasküler hastalık ve ateroskleroz riskini artırdığı belirtilmiştir (Shyam ve ark. 2012). Sunulan çalışmada Offar ve ark (2017)'na benzer olarak, kurşun asetat uygulaması total kolesterolün yükselmesine neden olmuştur. Total kolesterol ve HDL-kolesterol değerleri, levamizol muamelesi ile azalmıştır. Total kolesterol seviyesinin artması, kurşunun sitokrom P-450 aktivitesini baskılamasından kaynaklanabilir (Alvares ve ark. 1975). Bu da kolesterolün vücuttan atılması için önemli yol olan safra asitlerinin biyosentezini sınırlayabilir (Offar ve ark. 2017).

#### **4.2. Kurşun ve Levamizolün Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi**

Organizmada serbest radikallerin artışı ve bunların etkilerini engelleyen antioksidanların yetersizliğine bağlı olarak oksidatif dengenin bozulması durumunda membran lipidlerinde, proteinlerde ve nükleik asitlerde meydana gelen oksidatif hasarlar başta kanser olmak üzere diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve yangısal bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinden sorumludur (Özcan ve ark. 2015). Son yıllarda yapılan çalışmalarla bakır, kadmiyum, civa, kurşun ve arsenik gibi ağır metallerin serbest radikal üreterek membranlarda lipid peroksidasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Çınar ve Şahin 2018).

Kurşun, biyolojik sistemler ve hücreler üzerinde dolaylı oksidatif etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Kurşun maruziyeti heme ve hemoglobin sentezini önleyerek ve eritrosit morfolojisini değiştirerek alyuvarlarda ciddi oksidatif hasara neden olur

(Legget 1993). Birçok çalışma, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu gibi inaktif oksidatif hasar parametrelerinin yanı sıra kurşuna maruz kalan hayvanların kan ve dokularında CAT, SOD, GSH ve askorbik asit gibi antioksidan savunmalarda azalma olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, Pb toksisitesinin patofizyolojisinde oksidatif stresin bir rol oynadığını düşündürmektedir (Flora ve ark. 2004, Çaylak ve ark. 2008, Xu ve ark. 2008, Liu ve ark. 2010, Çınar ve Şahin 2018). Okediran ve ark (2017) 2 hafta boyunca 200, 300 ve 400 ppm oral olarak kurşun asetat verilen ratlarda doza bağlı olarak plazma MDA konsantrasyonunun arttığını, CAT ve SOD aktivitelerinin azaldığını belirtmişlerdir. Kronik olarak içme suyuna 6 hafta boyunca % 0,4 kurşun asetat verilen bir çalışmada, ratlarda plazma MDA düzeyinin arttığı, SOD aktivitesinin ise azaldığı belirtilmiştir (Hamed ve ark. 2010). Çelik ve ark (2004) yapmış oldukları bir çalışmada 15 gün boyunca 80 ppm ve 160 ppm oral yolla kurşun asetat verilen tavşanların 15' inci günlerde eritrositlerde plazma MDA seviyeleri artarken, CAT aktivitesi 160 ppm kurşun asetat verilen grupta azaldığı, Cu-Zn SOD aktivitesi ise her iki grupta da azaldığını belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada da Hamed ve ark (2010); Okediran ve ark (2017); Yarsan ve ark (2004) ile Toz ve Değer (2018)'in bulgularına uyumlu olarak Pb verilen ratlarda kontrol grubuna göre MDA düzeylerinde artış ve SOD aktivitesinde azalmalar bulunmuştur. Plazma CAT aktivitesinde kurşun verilen grupta Okediran ve ark (2017)'nin bulgularına zıt olarak artış görülmüştür. Katalaz aktivitesinin artmasının nedeni kurşun alan ratlarda görülen lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA'nın artışına karşılık kompanze etmek için olabileceği düşünülmektedir Malondialdehit'in artışı serbest radikallerin zararlı etkilerini önleyen savunma sisteminin aktivitesinin azalmasına bağlı olabilir. Kurşun içeren birçok ağır metalin reaktif oksijen türlerinin (ROS) veya serbest radikallerin üretimini artırdığı ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu arttıracığı, doymuş yağ asitlerini azalttığı ve membranların doymamış yağ asitleri içeriğini arttığı bilinmektedir (Maleeka ve ark. 2001). Kurşun, lipidlerin peroksidasyonunu artırarak oksidatif hasara yol açmaktadır. Hidroperoksitler, tekli oksijen ve hidrojen peroksit dahil olmak üzere ROS üretimi ve antioksidan rezervlerinin doğrudan tükenmesi gibi iki ayrı yolla kurşun toksisitesi serbest radikal hasarına yol açmaktadır (Ercal ve ark. 2001).

Süperoksid dismutaz bir metalloprotein olup, süperoksit anyonunu enzimatik olarak detoksifiye ederek antioksidan fonksiyonlarını gerçekleştirir. SOD, süperoksiti

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüştürür ve aktivitesi için bakır ve çinkoya ihtiyaç duyar. SOD, antioksidan etkisi, Fe<sup>+3</sup> iyonunu Fe<sup>+2</sup> ye indirgeyerek OH<sup>-</sup> radikalinin oluşmasını önler ve böylece antioksidan bir etki meydana getirir (Çaylak 2011).

Sunulan çalışmada, plazmada SOD aktivitesi Pb grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak değişirse de (P>0,05) sayısal olarak bir azalma oluşmuştur. SOD aktivitesinin azalması; Pb ve SOD için temel kofaktörler olan plazma bakır ve çinko gibi temel metaller arasındaki etkileşimle kısmen açıklanabilir (Patil ve ark. 2006, Hamed ve ark. 2010). Diğer bir olası açıklama ise, süperoksit anyonlarının çok fazla üretilmesi SOD konsantrasyonunda düşüşe neden olabilir (Hamed ve ark. 2010).

Ercal ve ark (2000) tarafından yapılan bir çalışmada içme suyuna 5 hafta boyunca 2000 ppm kurşun asetat verilen erkek Fisher 344 ratlarda lenfositlerde ve karaciğer örneklerinde MDA seviyeleri, kurşun maruziyetinden sonra önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Çaylak ve ark (2008) tarafından 5 hafta boyunca 2000 ppm kurşun asetat verilen erkek Wistar albino ratlarda serum MDA konsantrasyonunun tüm kurşun verilen gruplarda kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiş olup, bu çalışmada da 5 hafta 2000 ppm kurşun asetat verilen ratlarda MDA seviyesi yükselmiştir (P<0,001) (Çizelge 3.3).

Mohammad ve ark (2008) tarafından düşük dozda kurşuna maruz kalan ressamlar üzerinde yapılan bir çalışmada antioksidan enzim SOD ve CAT aktiviteleri ressamalarda (p <0.01) kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük, lipid peroksidasyonunun ise anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Çok yönlü bir madde olan levamizolün oksidatif stres üzerine etkisini değerlendiren Anderson ve ark (1981), levamizolün H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve süperoksit üretimini *in vitro* önlediğini göstermişlerdir. Karbontetraklorürün hepatotoksik etkisinin altında yatan en önemli sebebinin lipid peroksidasyon olduğunu belirten Yoshikawa ve ark (1982), ratlarda karbontetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturmuş ve levamizolün karaciğerde lipid peroksidasyonu önlediğini belirtmişlerdir. Broyler civcivlerde aflatoksikosis olgusuna karşı levamizol kullanan Ulaiwi (2018), ALT aktivitesinin düzeldiğini bu düzelmenin levamizolün antioksidan etkisine bağlı olabileceğini ileri sürmüştür. Meme papillomatozlu ineklerde levamizol ve *tarantula cubensis* özütünün etkisini araştıran bir çalışmada, levamizol uygulanmasının 15. gününde total oksidatif kapasitenin, levamizol uygulaması yapılmadan önceki düzeyine göre istatistiksel

olarak daha düşük olduğunu göstermişlerdir (Paksoy ve ark. 2015). Sunulan çalışmada da MDA düzeyi levamizol uygulaması ile kurşunun oluşturduğu oksidatif stres belirteci olan MDA düzeyini anlamlı bir şekilde düşürmüştür ( $P<0.001$ ). Yiğit ve ark (2012) broylerlerde bakır toksisitesine karşı levamizolü kullanmış; levamizol MDA, SOD ve CAT aktivitesini değiştirmemiştir.

İnce ve ark (2010) *Syphacia muris* enfeksiyonu sonucu meydana gelen oksidatif hasarın levamizol ve levamizol+ vitamin C nin etkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada, *S. muris* enfeksiyonu belirgin olarak MDA düzeyini artırmış ve sıçanların kanında ve dokusunda levamizol ve levamizol + C vitamini tedavisi sonucunda ise MDA düzeyinin azaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca *S. muris* ile enfekte gruplarda, SOD ve CAT aktivitesinin düşük olması, bu enzimlerin, organizmada artan oksidatif stresle başa çıkmadaki tüketimi ile ilişkili olabileceği, buna karşılık levamizol ve levamizol + C vitamini tedavisi, enfekte gruba kıyasla konakçının kanında ve dokularında SOD ve CAT aktivitesini önemli ölçüde artırdığı sonucuna ulaşmışlardır. Sunulan çalışmada İnce ve ark (2010) çalışmasına uyumlu olarak 5 haftalık 2000 ppm Pb uygulamasının azalttığı SOD aktivitesi anlamlı bir şekilde yükselmiştir.

#### **4.3. Kurşun ve Levamizolün İmmun Parametre ve Sitokinler Üzerine Etkisi**

Levamizol, antelmintik sağaltımın yanında özellikle kanser gibi kronik hastalıklar başta olmak üzere bağışıklık sistemini etkileyen pek çok hastalığın tedavisinde kullanılan bir maddedir. Levamizol, serum komplement aktivitesini, lökosit fonksiyonlarını ve lenfositlerden sitokin üretimini artırır (Mulero ve ark. 1998).

Levamizol tek başına bağışıklığı düzenleyici etkiye sahip olmayabilir, Undiandeye ve ark (2014) 4 hafta boyunca oral olarak verilen levamizolün tek başına immün hücrelerin üretimini indüklemediğini, koyun keçi vebası (PPR) aşısı uygulamasından önce verildiğinde bağışıklığı uyardığını ortaya koymuştur. Ancak uzun süre tek başına uygulandığında, T ve B lenfositlerin duyarlılığının arttığı yapılan bir çalışmada kanıtlanmıştır (Shah ve ark. 2011). Bu farklı sonuçlar levamizolün uygulama sıklığı, uygulama yöntemi gibi çeşitli yöntemlerle ilişkili olabileceği

düşüncesini doğurmaktadır. Levamizolün T hücreleri yardımı ile IgG antikor yanıtı da artırıcı bir etki gösterdiği kaydedilmiştir (Baydan 1995).

Ercal ve ark (2000) 5 hafta boyunca 2000 ppm Fisher 344 ratlarının içme suyuna kurşun asetat vermişler ve serum IgG, IgM ve IgA değerinin azaldığını tespit etmişlerdir. İmmunglobulin seviyelerindeki bu düşüşün, kurşunun *in vivo* B hücre fonksiyonlarını etkilemesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Sunulan çalışma sonuçları da bu sonuçlarla uyumludur. Yapılan çalışmada levamizol uygulaması IgG seviyesini düzeltmiştir. Krakowski ve ark (1999) yapmış oldukları bir çalışmada, levamizol enjekte edilen kısıraklardan doğan yavruların, hücre aracılı immun tepkilerinde ve yüksek lizozim aktivitesinde bir artış olduğunu ve daha yüksek serum IgG ve IgM seviyelerine sahip olduklarını göstermişlerdir. Sunulan çalışmada da levamizol verilen gruplarda IgG seviyesi yükselmiştir. Rashid (2016) tek başına levamizol uygulamasının, IgG üretimini uyardığını ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da IgG seviyelerinde bir artış olduğunu gözlemlemiştir. Aynı şekilde levamizol uygulanan buzağuların deneyde 1, 8, 15 ve 22. günlerde yüksek IgG konsantrasyonları (Pekmezci ve Çakıroğlu 2009) sunulan çalışma ile uyumludur (Çizelge 3.5). IgG' nin yapılan tüm çalışmalarda ve bizim çalışmamızda levamizol grubunda artış göstermesi levamizolün immun yanıtı artırması yönünde değerlendirilebilir.

Enterotoksemi aşısı ile birlikte levamizol uygulamasında çalışmanın 35. gününden sonra serum IgE seviyesinde azalma meydana gelmiş ve bu da ne levamizol ne de aşının alerjen bir etki göstermediğini doğrulamıştır (Rashid 2016). Bu çalışmada deney grupları arasında IgE düzeylerinde bir değişiklik olmamıştır ( $P>0,05$ ).

Levamizol ile ilgili güncel araştırmalar, bağışıklık tepkisi ve kanserlerin tedavisi üzerindeki etkisi üzerine yoğunlaşmıştır. Son zamanlarda levamizol ile ilgili yapılan çalışmalarda; levamizolün IL18 in indüksiyonu ile Th1 yanıtı aktive ettiği gösterilmiştir (Szeto ve ark. 2000). Üstündağ (2010) çalışmasında *Candida albicans* ile infekte edilen makrofaj hücrelerine eş zamanlı levamizol uyguladığı kuyucukta, hem kontrole göre hem de makrofaj hücrelerinin tek başına *C.albicans* (M+C) ve tek başına levamizol (M+L) ile kültüre edildiği kuyucuklara göre, IL18 üretiminde

istatistiksel bir artış gözlemiş ( $p<0,05$ ) ancak sunulan çalışmada IL18 değerinde sayısal bir artış gözlenirken istatistiksel olarak önemli bir artış meydana gelmemiştir.

Mishra ve ark (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, Pb' ye maruz kalan bireylerin serum örneklerinde IFN düzeylerinde kontrollerle karşılaştırıldığında, bu çalışmanın sonuçlarına benzer bir şekilde her hangi bir fark bulunmamıştır. Yoshimoto ve ark (1998) böbrek kültüründe yapmış oldukları bir çalışmada, IL18' in tek başına IFN  $\gamma$  üretimini artırmadığı, IL12 nin katkısıyla B hücrelerinden (% 99 IgM<sub>1</sub>), IL12 ve IL 18'e yanıt olarak doza bağımlı IFN  $\gamma$  üretimi meydana geldiğini göstermişlerdir.

Düşük seviyelerde bile kurşun maruziyetinin yetişkin farelerde IFN  $\gamma$  üretimini inhibe ederek Th1 yanıtı baskıladığı ve IL4, IL5, IL10, IL13 ve IgE üretimini artırarak Th2 yanıtın aktif hale getirdiği gösterilmiştir (Miller ve ark. 1998, Heo ve ark. 1996). Bu da kurşunun hayvan sistemlerinde bağışıklığı baskılayan bir madde olabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca Miller ve ark (1998) tarafından yapılan çalışmada, Pb ile IgG düzeyleri arasında dengeli olmasa da artış ve azalış meydana geldiği ancak istatistiksel olarak bir önem arz etmediği tespit edilmiştir. IFN- $\gamma$  seviyesinin 500 ppm Pb verilen grupta 100 ppm Pb verilen gruba göre belirgin olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Sunulan bu çalışmada da, sitokin seviyelerinde istatistiksel olarak bir fark bulunmasada ( $P>0,05$ ) sayısal olarak IFN  $\gamma$  seviyesi Pb verilen grupta azalmış, levamizol verilen grupta ise artmıştır. T hücreleri ve dendritik hücrelerden türeyen insan monositlerinin aktivasyonu ve olgunlaşması üzerine levamizolün moleküler mekanizmasını inceleyen Chen ve ark (2007), insan dendritik hücrelerinin, lipopolisakkarit (LPS) ile birlikte uygulanan levamizol ile tedavisi sonucunda Th1 immun yanıtın aktivasyonu sonucunda IL12, IL10 ve IFN  $\gamma$  üretiminin arttığını tespit etmişlerdir. Dendritik hücre aktivasyonu ve olgunlaşmasının bir indükleyicisi olan LPS, levamizol uygulamasında sitokin sentezi üzerinde pozitif bir etki göstermiştir. Görüldüğü üzere verilen doz, uygulama farklılıkları levamizolün immun parametreler ve sitokinler üzerine etkisinde farklı sonuçlar doğurmaktadır. Sunulan bu çalışmanın, diğer çalışmalara göre farklı çıkmasının nedeni, çalışmada aşı ya da LPS gibi bir antijenin kullanılmaması olabilir.

Sonuç olarak; 5 hafta 2000 ppm kurşun asetat uygulaması, ALT aktivitesi, total kolesterol, üre değerlerinde değişikliklere neden olmuş, oksidatif hasara yol açtığı

MDA düzeyindeki yükselme ile tespit edilmiş, uygulanan levamizolün ise oksidatif hasarı azalttığı MDA düzeylerinin düşmesi ile gösterilmiştir. Yapılan çalışma sonuçları, kurşun zehirlenmesi vakalarında levamizolün kısmen de olsa destekleyici tedavi amacıyla kullanım alanı bulabileceği ve ileride yapılacak çalışmalara ışık tutabileceğini göstermiştir. Ayrıca kurşunun en çok etkilediği dokular karaciğer ve beyin dokuları olduğundan, bu dokularda da ileri çalışmaların yapılması daha kesin sonuçlara ulaşılmasını sağlayacaktır.



## KAYNAKLAR

- ABDEL MONEİM AE, DKHİL MA, AL-QURAIŞHY S (2011) The redox status in rats treated with *flaxseed* oil and lead-induced hepatotoxicity. *Biol Trace Elem Res.*;143(1):457-467.
- ABDELSALAM EB (1986) The effects of levamisole (L-Tetramisole) in domestic animals. *Acta Vet.* 35:23-30.
- ADONAYLO V. N, OTEİZA PI (1999) Pb<sup>2+</sup> promotes lipid oxidation and alterations in membrane physical properties. *Toxicology.* 132:19-32.
- AHMED YF, SHALABY SIA. (1999). Clinopathological and histopathological studies on chronic lead intoxicated in male Bakri sheep. *Afric. J. Agric. Sci.* 18: 19-37.
- ALABBASSİ M. G, HUSSAİN S. A, ALİ S. H. (2008) Therapeutic Effects of Melatonin in Lead-Induced Toxicity in Rats, *Iraqi J Pharm Sci.* 17(2): 47-54.
- ALTINSAAT Ç, UZUN M, SULU N, ÖZTÜRKMEN A (1997) Deneysel İntraperitoneal Pb Asetat Uygulamasının Kobaylarda Elektrokardiogram Üzerine Etkisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* 44: 259-265.
- ALWALEEDİ SA (2015) Hematobiochemical changes induced by lead intoxication in male and female albino mice. *National Journal of Physiology. Pharmacy and Pharmacology.* 6(1):46-51.
- ALVARES A P, KAPELNER S, SASSA S, KAPPAS A (1975). Drug metabolism in normal children, lead poisoned children and normal adults. *Clin. Pharmacol. Ther.* 17:179-183.
- ANDERSON R, OOSTHUIZEN R, GRABOW G (1981) Prevention of peroxidase mediated inhibition of neutrophil motility and lymphocyte transformation by levamisole, OMPI, sodium aurothiomalate, indomethacin and tolmetin *in vitro.* *International Journal of Immunopharmacology.* 3(2): 123-132.
- ANETOR J, AKİNGBOLA T, ADENİYİ F, TAYLOR G ( 2005) Decreased total and ionized calcium levels and haematological indices in occupational lead exposure as evidence of the endocrine disruptive effect of lead. *Indian journal of occupational and environmental medicine.* 9(1):15-21.
- ANONİM (2018a). Kurşun cevheri. [[http://www.mta.gov.tr/v3.0/bilgi\\_merkezi/kursun](http://www.mta.gov.tr/v3.0/bilgi_merkezi/kursun)]. Erişim tarihi: 18.05.2018.



ANONİM (2018b). Levamizolün Kimyasal Yapısı. [https://www.google.com.tr/search?q=levamizol&safe=active&rlz=1C1CHZL trTR706TR707&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiNq7viwcfcAhVNZ1AKHY2TC3cQ\\_AUICigB&biw=1366&bih=635#imgrc=StQvGK0eMuf7NM:](https://www.google.com.tr/search?q=levamizol&safe=active&rlz=1C1CHZL trTR706TR707&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiNq7viwcfcAhVNZ1AKHY2TC3cQ_AUICigB&biw=1366&bih=635#imgrc=StQvGK0eMuf7NM:)

ARCAK S (2009) Kistik Ekinokokkozisde Proinflamatuvar Sitokin, Sitokin Reseptör ve Kemokin Yanıtı. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

ASHOUR AERA, YASSIN MM, NM. NMA, RM ALI (2007). Blood, serum glucose and renal parameters in lead-loaded albino rats and treatment with some chelating agents and natural oils. *Turk J Biol.* 31: 25-34

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2007) Toxicological profile for lead (Draft for Public Comment) Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

AYGUN O, YARSAN E, AKKAYA R. (2004). Lead and copper levels in muscle meat of crucian carp (*Carassius carassius*, L. 1758) from Yarseli Dam Lake, Turkey. *Bull Environ Contam Toxicol*, 72(1):135-40.

AZAB, E. A. (2014). Hepatoprotective effect of sesame oil against lead induced liver damage in albino mice: histological and biochemical studies. *Am. J. Biosci.* 2: 1-11.

AZOZ HA, RAAFAT RM (2012). Effect of lead toxicity on cytogenicity, biochemical constituents and tissue residue with protective role of activated charcoal and casein in male rats. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 6: 497-509.

BABIUK LA, MİSRA V (1982) Effect of levamisole in immune responses to bovine herpesvirus-1. *Am J Vet Res.* 43:1349.)

BASARAN N, ÜNDEGER U (2000) Effects of lead on immune parameters in occupationally exposed workers. *Am J Ind Med.* 38:349-354.

BAŞ H, KALENDER Y (2016). Nephrotoxic effects of lead nitrate exposure in diabetic and nondiabetic rats: Involvement of oxidative stress and the protective role of sodium selenite. *Environmental Toxicology.* 31(10):1229-1240.

BAYDAN E (1995). İmmunodepresant ve İmmunostimulantlar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 42:45-56.

- BİLGEHAN H (2005). Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Barış Yayınları, İzmir. s:285-359.
- BİSWAJİT D, SUVAKANTA D, CHANDRA CR, JASHABİR C (2014). An Overview of Levamisole Hydrochloride with Immuno-Stimulant Activity. *Am. J. Pharm Health Res.* 2(4)
- BOLIN CM, BASHA R, COX D, ZAWİA NH, MALONEY B, LAHİRİ DK (2006). Exposure to lead and the developmental origin of oxidative DNA damage in the aging brain. *The Faseb Journal.* 20(6): 788-790.
- BOURA P, RAPTOPOULOV GM, ACRIVIADIS F. GOULIS G (1984) Reevaluation of the effect of levamisole in chronic brucellosis : in vitro and in vivo effect on monocyte phagocytosis. *J Immunopharmacol*, 6:135-146.
- BÖYÜK G ( 2015) Sitokinler. Fizyoloji AD. Danışman: Prof. Dr. A. Arzu YİĞİT Doktora Semineri Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale.
- BRUNTON LL, LAZO JS, PARKER KL (2006) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Trerapeutics. Tedavinin Farmakolojik Temeli. Çeviren: SÜZER Ö, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti, İstanbul, s:1405-1432.
- CAMERON JS, GREGER R (1998). Renal function and testing offunction. (Davidson AM, Cameron JS, Grunfeld JP, Kerr DNS, Rits E, Winearl GC eds.) *Oxford Textbook of Clinical Nephrology.* s:36-39
- CHEN LY, LİN LY, CHİANG BL (2008). Levamisole enhances immune response by affecting the activation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 151:174-181.
- CHİBA M, SHİNOHARA A, MATSUSHİTA K, WATANABE H, IHABA Y (1996) "Indices of lead-exposure in blood and urine of lead-exposed workers and concentrations of major and trace elements and activities of SOD, GSH-Px and catalase in their blood," *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 178(1) s: 49-62.
- CHRYSOHOOU C, PANAGİOTAKOS DB, PİTSAVOS C, KOSMA K, BARBETSEAS J, KARAGİORGA M, LADİ AND STEFANADİS C (2004). Distribution of serum lipids and lipoproteins in patients with beta thalassaemia major; an epidemiological study in young adults from Greece. *Lipids Health Dis.* 3:3
- ÇAYLAKE (2011) Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi.* 9 (1) : 73-83

- ÇAYLAK E, AYTEKİN M, HALİFEOĞLU İ (2008). Antioxidant effects of methionine, α-lipoic acid, N-acetylcysteine and homocysteine on lead-induced oxidative stress to erythrocytes in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, (60) 4–5, s: 289-294.
- ÇAYLAK E, HALİFEOĞLU İ, AYDIN S, TELO S, BULMUŞ Ö, ÇELİK H (2007). Sülfür içeren bileşiklerin Pba maruz kalmış ratlarda karaciğer, böbrek ve beyin total antioksidan kapasite düzeylerine etkisi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 27:823-828.
- ÇINAR M, ŞAHİN Y (2018) Hayvanlarda çevre kirlenici maddelerin oksidatif hasar üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol*. 4(1):46-57
- DAĞ Ü (2012) Pb asetat ile oksidatif strese maruz kalan sıçan dokularında bazı biyokimyasal parametreler üzerine naringenin etkisi. Kimya AD. Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA Yüksek Lisans Tezi Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adıyaman.
- DALKILIÇ E, GÜL C. BÜLENT, ALKIŞ N (2012) Interlökin -6: İnflamasyonda Başrol Oyuncularından. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 38: 157-160.
- DE-LA-ROSA-ARANA JL, CAMPOS-RODRÍGUEZ R, RÍVERA-AGUIJAR V, ESCOBAR-GUTIÉRREZ A, MÍLIAR-GARCÍA Á, HERRERA-GONZÁLEZ NE, JARILLO-LUNA RA (2012) Comparative effects of levamisole, Staphylococcus, and Freund's adjuvant on rat immunization with excretory and secretory antigens of *Trichinella spiralis* muscle larvae. *Parasitology research*, 111:1599-1605.
- DİKER S (1998).Sitokinler. Alındı: İmmunoloji.,Ed.: KS Diker, 2. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. s: 85-93.
- DOĞAN A (2012) Toksikoloji. Mineraller. Eser Basın Yayım Dağıtım Matbaacılık, Kars. s:138-222.
- DÜNDAR Y, ASLAN R (2005). Yaşamı Kuşatan Ağır Metal Pbun Etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 6:1-5.
- ERCAL N, NEAL R, TREERATPHAN P, LUTZ M, HAMMOND TC, DENNRY PA, SPİTZ DR (2000) A Role for Oxidative Stress in Suppressing Serum Immunoglobulin Levels in Lead-Exposed Fisher 344 Rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*. 39: 251-256.

- ERCAL N, GURER-ORTHAN H, AYKİN-BURNS N (2001). Toxic metals and oxidative stress. Part 1. Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem* 1:529-39.
- ERDOĞAN Z, ERDOĞAN S, AKSU T, BAYTOK E (2005) The effects of dietary lead exposure and ascorbic acid on performance, lipid peroxidation status and biochemical parameters of broilers. *Turk J Vet Anim Sci*;29:1053-1059.
- FARMAD F, EHDAÏE A, ROBERTS CK, SİNDHU RK (2005). Lead-induced dysregulation of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and guanylate cyclase. *Environ Res.* 98:33-39.
- FLORA SJS, PANDE M, KANNAN GM, MEHTA A (2004) Lead induced oxidative stress and its recovery following co-administration of melatonin or N-acetylcysteine during chelation with succimer in male rats, *Cell. Mol. Biol.* 50:543–OL551.
- GARGOURİ M, SOUSSİ A, AKROUTİ A, MAGNÉ C, EL FEKİ A. (2018). Ameliorative Effects Of Spirulina Platensis Against Lead-Induced Nephrotoxicity In Newborn Rats: Modulation Of Oxidative Stress And Histopathological Changes.. *Excli. Journal.* 17:215-232
- GHORBE F, BOUJELBENE M, MAKNİ-AYADİ F, GUERMAZİ F, KAMMOUN A, MURAT J, CROUTE F, SOLEİLHAVOUP JP, FEKİ AE (2001). Effect of Chronic Lead Exposure on Kidney Function in Male and Female Rats: Determination of a Lead Exposure Biomarker. *Physiology and Biochem.* 5(109): 457-463, 467.
- GOERING PL (1993). Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. *Neurotoxicology* 14: 45–60.
- GÖKÇE G, IRMAK K, SURAL E, UZLU E 1997. Koyun Çiçeğinde İmmunomodülatörlerin Sağaltıcı ve Koruyucu Etkileri Üzerinde Klinik Gözlemler. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 211-215.
- GÜNER İ, ÖZMEN D, BAYINDIR O (1997) Cytokines. *T Klin J Med Sci* 17: 65-74.
- HALLÉN IP, JÖNSSON S, KARLSSON MO, OSKARSSON A (1996) Toxicokinetics of lead in lactating and nonlactating mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 136(2):342-7.
- HAMED EA, MEKİ AR MA, ABD EL-MOTTALEB NA (2010). Protective effect of green tea on lead-induced oxidative damage in rats blood and brain tissue homogenates. *J. Physiol Biochem.* 66:143-151.

- HARDEJ D, TROMBETTA LD (2004) Metals. Alındı: Clinical Toxicology Barile FA (Ed), Chapter 24, CRCpres LLC, London, s. 308-310
- HEO Y, PARSONS PJ, LAWRENCE DA (1996). Lead Differentially Modifies Cytokine Productionin Vitroandin Vivo. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 13(1):149-157.
- HOFFMAN DJ, HEİNZ GH, SİLEO L, AUDENT DJ, CAMPBELL JK, LECAPTAİN LJ, OBRECTH HH (2000). Developmental toxicity of lead-contaminated sediment in Canada geese (*Branta canadensis*). *J. Toxicol. Environ. Health A* 59, 235–252.
- HSU JM (1981) “Lead toxicity as related to glutathione metabolism,” *Journal of Nutrition*, 111(1), s: 26–33.
- HSU PC, GUO YL (2002) Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology*. 180(1):33-44.
- İBRAHİM, N. M., EWEİS, E. A., EL-BELTAGİ, H. S., AND ABDEL-MOBDY, Y. E. (2012). Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2: 41–46.
- İNCE S, KOZAN E, KUCUKKURT I, BACAK E (2010) The effect of levamisole and levamizole + vitamin C on oxidative damage in rats naturally infected with *Syphacia muris*. *Exper Parasitol*.124: 448-452.
- İSKENDER H (2012). Humatın Pb Zehirlenmesinde Şelatör Etkisi. Doktora Tezi Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- JESUORSEMWEN EB; EBIKERE II; OZEDE IN, EGHOMWANRE AF (2016) Hematobiochemical changes of lead Poisoning and amelioration with Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water in wistar albino rats. *J. Appl. Sci. Environ.* 20(1):89-94.
- JOMOVA K, VALKO M (2011) Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 283 (2011) 65–87.
- KARA H, DAŞ YK, AKSOY A (2016) Veteriner Hekimliği Alanında Civa, Pb, Kadmiyum, Arsenik ve Bakır Toksikasyonları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics* 2016;2(3):30-37.

- KARAMALA SK, CH S L, Y A, RAO TS C S, VASULU DS PİDUGU AP (2011) Hematobiochemical changes of lead Poisoning and amelioration with *Ocimum sanctum* in wistar albino rats, *Veterinary World*. 4(6):260-263.
- KAYA S (2013) *Veteriner Farmakoloji*. Antelmintikler Medisan Yayın Serisi:75. Ankara. s:469-525.
- KAYA S, AKAR F (2014) *Metaller*. *Veteriner Toksikoloji*. Eds: S Kaya, İ. Pirinçci. Medisan Ankara. s: 141-184.
- KAYAALP OS (2000 a) *Tıbbi Farmakoloji* 1. 9.baskı, Antelmintik İlaçlar, Hacettepe-Taş, Ankara, s: 336-342.
- KAYAALP OS (2000 b) *Tıbbi Farmakoloji* 1. 9.baskı, İmmun Sistem Bozuklukları ve İmmunomodülatör İlaçlar, Hacettepe-Taş, Ankara, s: 408-418.
- KİMBALL ES, SCHNEİDER CR, FİŞHER MC, CLARK MC. CLARK C (1992) Levamisole causes differential cytokine expression by elicited mouse peritoneal macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, 52: 349-356.
- KLAASSEN CD (2009) Ağır metaller ve ağır metal natagonistleri. Alındı: Goodman & Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli, Süzer Ö Çeviri Ed Nobel Tıp Kiapevi, İstanbul s. 1753-1775.
- KNİGHT TE, KUMAR MS (2003) Lead toxicosis in cats-a review. *J Feline Med Surg*. 5(5):249-255.
- KRAKOWSKİ L, KRZYŻÇANOWSKİ J, WRONA Z, SİWICKİ AK (1999). The effect of nonspecific immunostimulation of pregnant mares with 1,3/1,6 glucan and levamisole on the 50 immunoglobulin levels in colostrum, selected indices of nonspecific cellular and humoral immunity in foals in neonatal and postnatal period. *Vet Immunol Immunopathol*, 68, 1, 1- 11.
- LEGGETT RW (1993) An age-specific kinetic model of lead metabolism in humans. *Environ Health Perspect*. 101:598–616.
- LİU C, ZHENG Y, LU J, ZHANG Z, FAN S, WU D, MA J (2010) Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis. *Environ. Toxicol. Pharmacol*. 29 :158–166.

- MALEEKA A, JARMUSZKIEWICZ W, TOMASZEWSKA B (2001) Antioxidative defense to lead stress in subcellular compartments of pea root cells. *Acta Biochim Pol* 48: 687-698.
- MEYDANI SN, WU D, SANTOS MS, HAYEK MG (1995) Antioxidant and immune response in aged persons: overview of present evidence. *Am J Clin Nutr* 62: 1462-1476
- MEYER PA, BROWN MJ, FALK H. Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutat Res.* 2008;659(1-2):166–175.
- MILLER TE, GOLEMBOSKI KA, HA RS, BUNN T, SANDERS FS, DIETERT RR (1996). Developmental exposure to lead causes persistent immunotoxicity in Fischer 344 rats. *Toxicol Sci* 1998;2:129–135.; Heo Y, Parsons PJ, Lawrence DA. Lead differentially modifies cytokine production in vitro and in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol.* 138:149–157.
- MISHRA KP, SINGH VK, RANI R, YADAV VS, CHANDRAN V, SRIVASTAVA SP SETH PK (2003) Effect of lead exposure on the immune response of some occupationally exposed individuals. *Toxicology* 188:251-259.
- MISSOUN F, SLIMANI M, AOUES A (2010). Toxic effect of lead on kidney function in rat Wistar. *African Journal of Biochemistry Research.* 4(2): 21-27.
- MOHAMMAD IK, MAHDI AA, RAVIRAJA A, NAJMUL I, IQBAL A, THUPPIL V (2008). Oxidative stress in painters exposed to low lead levels. *Arh Hig Rada Toksikol.* 59:161-169.
- MOUSSA SA, BASHANDY SA (2008) Biophysical and biochemical changes in the blood of rats exposed to lead toxicity. *Roman.anj. biophys.*18(2): 123–133
- MULERO V, ESTEBAN M.A, MUNXOZ J, MESEGUER J (1998). Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology.* 8: 49–62.
- MUDIPALLI A (2007) Lead hepatotoxicity & potential health effects. *Indian J Med Res.* 126(6):518–27.
- OFFOR SJ, MBAGWU HOC, ORISAKWE OE (2017) Lead Induced Hepato-renal Damage in Male Albino Rats and Effects of Activated Charcoal. *Frontiers in Pharmacology.* 4: 1-10.

- OKAMURA H, KASHIWAMURA SI, TSUTSUI H, YOSHIMOTO T, NAKANISHI K (1998). Regulation of interferon- $\gamma$  production by IL-12 and IL-18. *Current Opinion in Immunology*, 10(3) s: 259-264.
- OKEDİRAN BS, BİOBAKU KT, OLAİFA FH, ATATA AJ (2017) Haematological and antioxidant enzyme response to Lead toxicity in male Wistar rats. *Ceylon Journal of Science*. 46(2):31-37.
- ÖZCAN O, ERDAL H, ÇAKIRCA G, YÖNDEN Z (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*. 6 (3): 331-336.
- ÖZKAN E, TAŞLIPINAR MY, YEŞİLKAYA Ş. Ağır Metal Zehirlenmeleri. [<http://www.jcam.com.tr/files/KATD-1599.pdf>] Erişim Tarihi: 18.06.2018.
- PATİL AJ, BHAGWAT VR, PATİL JA, DONGRE NN, AMBEKAR JG, JAİLKHANİ R, DAS KK (2006) Effect of lead (Pb) exposure on the activity of superoxide dismutase and catalase in battery manufacturing workers (BMW) of western Maharashtra (India) with reference to heme biosynthesis. *Int J Environ Res Public Health* 3:329–337.
- PAKSOY Z, GÜLESCİ N, KANDEMİR FM, DİNÇEL GÇ (2015). Effectiveness of levamisole and tarantula cubensis extract in the treatment of teat Papillomatosis of cows. *Indian J Anim Res* 49(5): 704-708.
- PATRA RC, RAUTRAY AK, SWARUP D (2011) Oxidative Stress in Lead and Cadmium Toxicity and Its Amelioration. SAGE-Hindawi Access to Research Veterinary Medicine International Volume, Article ID 457327, 9 pages
- PATRİCK L (2006) Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Altern Med Rev*. 11(1):2-22.
- PEKMEZCİ D, CAKİROĞLU D (2009). Investigation of immunomodulatory effects of levamisole and vitamin E on immunity and some blood parameters in newborn Jersey calves. *Vet Res Commun*. 33 (7):711-721.
- PHİLİP AT, GERSON B (1994) Lead poisoning--Part I. Incidence, etiology, and toxicokinetics. *Clin Lab Med*. Jun. 14(2):423-444.
- PİNG-CHİ H, YUELIANG LG (2002) Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology*. 180 (1): 33-44.



- PINKERTON LE, BIAGINI RE, WARD EM, HULL RD, DEDDENS JA, BOENIGER MF, SCHNORR TM, MACKENZIE BS BA, LUSTER MI (1998) Immunologic findings among lead-exposed workers. *Am J Ind Med.* 33(4):400-408.
- RABINOWITZ MB(1991) Toxicokinetics of bone lead. *Environ Health Perspect.* 91: 33–37.
- RASHID BM (2016). The effects of immunostimulants (zinc, levamisole, vitamin AD<sub>3</sub>E) use together with enterotoxemia vaccine on immunoglobulins in sheep. Master Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- RENOUX G, RENOUX M (1974) Modulation of immune reactivity by phenylimidothiazole salts in mice immunized by sheep red blood cells. *The Journal of Immunology.* 113 (3): 779–90.
- RIO B, FROQUET R, PARENT-MASSIN D (2001). In vitro effect of lead acetate on human erythropoietic progenitors. *Cell Biology and Toxicology.* 17 (1): 41-50.
- RUSH BR, LUNN DP (2004). Immunomodulation in Horses: Indications and Preparations. In 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. <http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2004/Rush/chapter.asp?LA=1> Erişim Tarihi: 24.07.2007).
- SADIGH-ETEGHAD S, KHAYAT-NURI H, ABADI N, GHAVAMI S, GOLABI M (2011). Synergetic effects of oral administration of levamisole and Echinacea purpurea on immune response in Wistar rat. *Research in Veterinary Science.* 91:82-85.
- SHAH D, LONDHE V, MAZUMDER R, PARIKH R (2011). Can levamisole alone maintain the immunity. *Int J Pharm Pharm Sci.* 3(2):161-164.
- SHALAN.MG, MOSTAFA MS, HASSOUNA MM, HASSAB EL-NABI SE, ELRAFAIE A (2005). Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. *Toxicology.* 206. 1–1
- SHYAM VS, PRADEEP K, VIRENDRA A, ANOOP V AND MURTHY R (2012). Lipid profiles with increase blood lead level: risk of cardiovascular disease in battery workers of Lucknow City. *J Indian Acad Forensic.* 34(4): 0971-0973.
- SITHISARANKUI P, WEAVER VM, DAVOLI CT, STRICKLAND PT (1999) Urinary  $\delta$ -aminolevulinic acid in lead-exposed children. *Biomarkers.* s: 281-289.

- SÖYLEMEZOĞLU T, KAYAALTI Z, YILMAZ H, ODABAŞI M (2009) Kronik Metal Zehirlenmesinde Kalsiyum Disodyum Etilendiamin Tetraasetat Tedavisinin Pb Düzeylerine Etkisi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 38(1) 17-27.
- SUGAWARA I, YAMADA H, KANEKO H, MIZUNO S, TAKEDA K, AKİRA S (1999). Role of interleukin-18 in mycobacterial infection in IL-18-gene-disrupted mice. *Infect Immunol*. 67(5): 2585-2589).
- SUN L, HU J, ZHAO Z, Lİ L, CHENG H 2003 Influence of exposure to environmental leadon serum immunoglobulin in preschool children. *Environ Res*. 92:124-128.
- SZETO C, GİLLESPİE KM, MATHİESON PW (2000) Levamisole induces interleuken-18 and shifts type 1/type 2 cytokine balace. *Immunology*. 100:217-224.
- ŞANLI Y (1999) Veteriner Klinik Farmakoloji. Antelmintikler. Kişisel Yayınlar, Ankara. s:885-950.
- THOMPSON, LJ (2007) Copper. Alındı: *Veterinary Toxicology Basic and Clinical Principles*. Ed: RC Gupta. s: 438-441.
- UNDİANDEYE UJ, ODERİNDE BS, EL-YUGUDA A, BABA SS (2014). Immunostimulatory effect of levamisole on the immune response of goats to Peste des Petits Ruminants (PPR) vaccination. *World J. Vaccines*. 4: 88-95.
- ULAIWİ A.H (2018). Effect of levamisole, vitamin E ans selenium against aflatoxicosis in broilers chicken. *Veterinary World*. 11: 248-253.
- ÜNDEGER U, BASARAN N, CANPİNAR H, KANSU E (1996) Immune alterations in lead-exposed workers. *Toxicology*. 109(2-3):167-172.
- ÜSTÜNDAĞ MB (2010) U-937 İnsan Makrofajlarının Candida Albicans ile Enfekte Edilmesi Sonrası Uygulanan Levamizolün İmmün Yanıtı Ve Oksidatif Strese Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- WANG JQ, WU JH, ZHANG ZM (2006) Oxidative stress in mouse brain exposed to lead. *Ann Occup Hyg.* 50(4):405–409.
- WANG Y, WANG S, CUI W, HE J, WANG Z, YANG X (2013) Olive leaf extract inhibits lead poisoning-induced brain injury. *Neural Regen Res.* 8(22):2021–9.
- WANG Y, WANG SQ (2011) Effects of lead exposure on histological structure and antioxidant capacity in the cerebellum of 30-day-old mice. *Neural Regen Res.* 6(14):1077–1081.
- WANİ A L, ARA A, USMANİ JA (2015) Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology.* 8(2), 55–64.
- WHO(2003).LeadReview.[http://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr\\_lead.pdf](http://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr_lead.pdf)]. Erişim:31.05.2018.
- XU J, LIAN L, WU C, WANG X, FU W, XU L (2008). Lead induces oxidative stress, DNA damage and alteration of p53, Bax and Bcl-2 expressions in mice. *Food and Chemical Toxicology.* 46: 1488–1494.
- YARIM GF (2001) Subklinik Mastitisli İneklerde Memeçi Levamizol Uygulamasında Kan ve Sütte Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz, Alkalen Fosfataz ve İmmunoglobulin G Düzeyleri. Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ÇELİK S, BAL R, YARSAN E, DURGUT R (2004). Effects of lead on lipid peoxidation in rabbits. *The Indian Veterinary Journal* 81(7):765-768
- YILDIRIM E (2005) Tavşan Trakeası üzerine Levamizolün etkisinin tek başına ve Triklorfonla birlikte araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* 52(1):23-28.
- YİĞİT AA, CİNAR M, YİLDİRİM E. (2012). The effects of levamisole on oxidative stress induced by copper intoxication in broilers. *N Z Vet J.* 60(5):273-7.
- YOSHİKAWA T, FURUKAWA Y, WAKAMATSU Y, KONDO M (1982). Protection by BCG, levamisole, PS-K, OK-432 and vitamin E against carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Hepato Gastroenterology.* 29(6): 240-242.

YOSHIMOTO T, TAKEDA K, TANAKA T, OHKUSU K, KASHIWAMURA SI, OKAMURA H, AKIRA S, NAKANISHI K (1998). IL12 Up-Regulates IL18 Receptor Expression on T Cells, Th1 Cells, and B Cells: Synergism with IL18 for IFN  $\gamma$  Production. *The journal of immunology*. 161:3400-3407.

ZÍDEK Z, ANZENBACHER P, KMONÍČKOVÁ E (2009). Current status and challenges of cytokine pharmacology. *British Journal of Pharmacology*. 157: 342-361.



## EKLER

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi:12.10.2016

Toplantı Sayısı:16/08

Karar No:16/ 82

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik 12.10.2016 Çarşamba günü saat 15:00'de Prof.Dr.Siyami KARAHAN'ın başkanlığında toplanarak gündemdeki konuları görüştü.

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ebru YILDIRIM tarafından yürütülen 'Kurşun Zehirlenmesi Oluşturulan Ratlarda Levamizolün Oksidatif Stres ve Sitokinler Üzerine Etkisinin Araştırılması.' isimli projesinin Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelere uygun olduğuna karar verilmiştir.

PROJEDE GÖREVLİ PERSONEL			
Sıra	Proje Görevi	İsim	Kurum
1	Yürütücü	Doç. Dr. Ebru YILDIRIM	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fak. Farm. ve Toksikoloji ABD
2	Araştırmacı	Prof Dr Emine BAYDAN	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakül. Farm. ve Toksikoloji ABD
3	Araştırmacı	Ayşe ÇIRAK	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fak. Farm. ve Toksikoloji ABD

Prof.Dr.Siyami KARAHAN

Başkan

Prof.Dr.Mürat YILDIRIM

Başkan Vekili

Prof.Dr.Umut TEKİN

Üye

Yrd.Doç.Dr.Uğur TIFTIKÇI

Üye

Yrd.Doç. Dr.Serap YÖRÜBULUT

Üye

Mustafa AKIN

Üye

Prof.Dr.Zehal AKTUNA

Üye

Doç.Dr.Mustafa TÜRK

Üye

Yrd.Doç.Dr.Nahit PAMUKOĞLU

Üye

Yusuf BOSTANCI

Üye

Yaşar ŞAHİN

Üye

ASİİNİN AYNIĞIR

Prof Dr Siyami KARAHAN  
Müdür

## Özgeçmiş

### I. Bireysel Bilgiler

Adı :Ayşe  
Soyadı :ÇIRAK  
Doğum yeri ve tarihi :Kalecik-20.05.1986  
Uyruğu :TC  
Medeni durum :Bekar  
E-mail :ayse.cirak@tarim.gov.tr  
İletişim :0312 857 10 51  
Cep : 0506 318 51 61

### II. Eğitim

:Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

### III. Ünvanlar

:Veteriner Hekim

### IV. Mesleki Deneyim

:7 yıl

### V. Üye Olduğu Bilimsel Kurumlar

:

### VI. Bilimsel İlgi Alanları

:

### VII. Bilimsel Etkinlikler

:

Aldığı burslar

:

Projeler

:YILDIRIM E, ÇIRAK A, BAYDAN E “Kurşun Zehirlenmesi Oluşturulan Ratlarda Levamizolün Oksidatif Stres ve Sitokinler Üzerine Etkisinin Araştırılması”. Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi Projesi. Proje No: 2017/049 (Araştırmacı)

Seminerler

:Antinematodal İlaçların Sitokinler Üzerine Etkisi  
Kırıkkale - 2015

### VIII. Diğer Bilgiler

:

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

: