

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



KURŞUN TOKSİKASYONU OLUŞTURULAN
RATLARDA BETA GLUKANIN ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OSMAN ERSİN KANMAZ

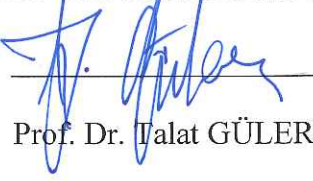
2020

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Talat GÜLER

Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Pınar TATLI SEVEN



Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN



Prof. Dr. Pınar TATLI SEVEN



Doç. Dr. Oktay KAPLAN





ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

OSMAN ERSİN KANMAZ

12.03.2020

PROF. DR. PINAR TATLI SEVEN

HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI

ANABİLİM DALI

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgilerinden her zaman istifade ettiğim ve bana kattığı değeri asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Pınar TATLI SEVEN'e, tez aşamasında her zaman bana yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. İsmail SEVEN'e, yüksek lisans eğitim sürecim boyunca bende emekleri büyük olan Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Besleme Hastalıkları A.D. öğretim üyeleri; Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Prof. Dr. Talat GÜLER, Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN, Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ, Doç.Dr. Cemal ORHAN'a, tez aşamasında yapılan çalışmalarda bilgilerinden yararlandığım Arş. Gör. Dr. Seda İFLAZOĞLU MUTLU'ya, laboratuvar analizlerinde yaptığı katkılardan dolayı, Arş. Gör. Dr. Şeyma ÖZER KAYA'ya ve Arş. Gör. Gözde ARKALI'ya çok teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

Ayrıca yüksek lisans eğitimim boyunca en büyük destekçim olan kıymetli eşim Arş. Gör. Yeşim ASLAN KANMAZ'a çok teşekkür ediyorum.

Osman Ersin KANMAZ

VETERİNER HEKİM

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI.....	I
ONAY SAYFASI.....	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IX
KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
ÖZET.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kurşun.....	2
1.1.1. Kurşunun Organizmaya Giriş Yolları	2
1.1.2. Kurşunun Başlıca Kontaminasyon Kaynakları.....	3
1.1.3. Kurşun Toksikasyonu.....	4
1.1.3.1. Kurşun Toksikasyonunda Klinik Tablo.....	7
1.2. Lipit Peroksidasyon.....	8

1.3. Malondialdehidin (MDA) Oluşumu.....	9
1.4. Serbest Radikaller.....	9
1.5. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	11
1.6. Apoptozis.....	12
1.7. Beta Glukan.....	14
1.7.1. Beta Glukanın Metabolik Etkileri.....	15
2. GEREÇ YÖNTEM.....	19
2.1. Deneme Dizaynı.....	21
2.2. Doku Analizleri.....	21
2.2.1. Homojenatların Hazırlanması.....	21
2.2.2. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü.....	22
2.2.3. Doku CAT Aktivitesi Ölçümü.....	22
2.2.4. Doku GSH Düzeylerinin Ölçümü.....	23
2.2.5. Doku GSH-Px Düzeylerinin Ölçümü.....	23
2.2.6. Doku Protein Tayini.....	23
2.2.7. Western Blot Analizi.....	24
2.3. Spermatolojik Analizler.....	25
2.3.1. Sperm Motilitesi.....	25

2.3.2. Sperm Yoğunluğu.....	25
2.3.3. Anormal Sperm Oranı.....	26
2.4. Verilerin İstatistiki Analizi.....	26
3. BULGULAR.....	28
3.1. Katkıların Canlı Ağırlık, Canlı Ağırlık Değişimleri ve Yem Tüketimi Üzerine Etkileri.....	28
3.2. Karaciğer Dokusu MDA, GSH, GSH-Px, Katalaz Değerleri.....	30
3.3. Grupların Karaciğer Dokusu Western Blot Analizi.....	31
3.4. Sperma Parametreleri	33
4. TARTIŞMA.....	35
5. SONUÇ.....	47
6. KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	60

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Ratlara verilen rasyonun bileşimi ve besin maddesi değerleri	20
Tablo 2: Katkıların canlı ağırlık, canlı ağırlık değişimleri ve yem tüketimi üzerine etkileri.....	29
Tablo 3: Karaciğer dokusu MDA, GSH, GSH-Px, katalaz değerleri.....	30
Tablo 4: Sperma parametreleri.....	34



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Bax-Protein Ekspresyon Düzeyi (Kontrolün yüzdesi).....	31
Şekil 2: Bcl-2 Protein Ekspresyon Düzeyi (Kontrolün Yüzdesi).....	32
Şekil 3: Bax/Bcl-2 Oranı.....	32



KISALTMALAR LİSTESİ

Pb	: Kurşun
Zn	: Çinko
Ca	: Kalsiyum
Se	: Selenyum
Cu	: Bakır
Mg	: Magnezyum
H	: Hidrojen
βG	: Beta Glukan
CA	: Canlı Ağırlık
MDA	: Malondialdehit
CAT	: Katalaz
GSH	: Glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
DTNB	: Di-nitrobenzoikasit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
Bcl-2	: B-cell lymphoma 2

Bax : Bcl-2-associated X protein

ALA : δ -aminolevülinik asidin

ALAD : δ -aminolevülinik asit dehidrataz

YT : Yem Tüketimi

LD : Lethal Doz



ÖZET

Araştırmada bireysel olarak barındırılan 28 adet erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı ve Kontrol, Beta glukan (BG, 50 mg/kg canlı ağırlık (CA)/gün BG, gavaj), Kurşun (Kurşun; 15 mg/kg CA, ip kurşun asetat), Kurşun + BG grubu (Kurşun + BG; 15 mg/kg CA ip kurşun asetat ve 50 mg/kg CA BG, gavaj) olarak dört gruba ayrıldı. Yem tüketimi Kurşun grubuyla karşılaştırıldığında, Kurşun + BG grubunda önemli oranda arttı ($P<0.001$). Kurşun toksisitesi, oksidatif stresin göstergesi olan karaciğer malondialdehiti (MDA) önemli oranda artırdı ($P<0.001$). Beta glukan uygulaması karaciğerde önemli oranda MDA düzeyini azalttı ve GSH-Px aktivitesini artırdı ($P<0.001$). Kurşun uygulaması proapoptotik protein Bax'ın salınımını artırdı, antiapoptotik protein Bcl-2'nin salınımını azalttı ve Bax/Bcl-2 oranını önemli oranda artırdı ($P<0.01$). Aynı zamanda spermatogenezisi bozdu. Kurşun kaynaklı toksisite üzerine beta glukan uygulaması ise oksidatif stresi, spermatogenezisi, apoptotik yolların aktivasyonunu kısmen korudu.

Anahtar Kelimeler: *Kurşun toksisitesi, beta glukan, yem tüketimi, canlı ağırlık değişimi, antioksidan durum.*

ABSTRACT

THE EFFECTS OF BETA GLUCAN ON TOXICITY INDUCED LEAD IN RATS

Twenty-eight Sprague Dawley male rats were housed in individual cages and randomly divided into four groups; Control; Beta glucan (BG; 50 mg/kg body weight (BW)/day of BG, gavage; Lead (Lead; 15 mg/kg BW/day of lead acetate, ip), Lead + BG (Lead+ BG; 15 mg/kg BW/day of lead acetate, ip and 50 mg/kg BW/day of BG, gavage). Feed intake in the Lead+ BG group significantly increased in comparison with that of Lead group ($P<0.001$). Lead toxicity significantly increased MDA indicating oxidative stress. Beta glucan administration significantly decreased MDA levels, and increased the GSH-Px activity in the liver tissue ($P<0.001$). Lead administration increased expression of pro-apoptotic protein Bax, decreased the expression of the antiapoptotic protein Bcl-2 and increased ratio of Bax/Bcl-2 ($P<0.01$). It also impaired spermatogenesis ($P<0.05$). Treatment with Beta glucan on the Lead induced toxicity partially preserved suppressed oxidative stress, the activation of apoptotic pathways and spermatogenesis.

Key words: *Lead toxicity, beta glucan, feed intake, body weight change, antioxidant status.*

1. GİRİŞ

Kurşun toksikasyonu günümüzde kentlerde, kurşun kullanılan endüstride ve kurşun ihtiva eden materyallerle oluşmaktadır. Kurşun kullanımındaki yaygınlık nedeniyle su ve besinler yoluyla kırsal bölgedekiler bile günlük birkaç yüz mikrogram kadar kurşuna maruz kalmaktadır. Kentlerde özellikle endüstriyel atıklar ve motorlu araçların egzoz gazları yüzünden bulaşma artmaktadır. Kurşun zehirlenmesi akut veya kronik olabilmektedir (1). Kurşun bileşikleri; proteinler üzerinde sülfidril, fosfat ya da karboksil köklerine bağlanarak enzimleri etkisiz hale getirir, ayrıca demir, kalsiyum ve çinko ile etkileşim halindedir. Sonuçta hücre membranlarını etkilemek suretiyle sinirsel iletimi bozarak, hücrenin oksidoredüksiyon olaylarını etkiler ve nükleotid yapım-yıkım olaylarını bozup çoklu sistem tahribatı oluşturur (2).

Antibiyotikler, hayvan beslemede yemden yararlanmanın artırılması ve büyüme üzerinde önemli etkileri olduğu için uzun yıllar boyunca kullanılmıştır. Fakat yemlerde antibiyotik kullanımı antimikrobiyal dirence sebep olduğu ve hayvanlarda kalıntı bırakarak insan sağlığını tehlikeye atabileceği endişesi ile 1 Ocak 2006 tarihinde Avrupa Birliği'nde tamamen yasaklanmıştır. Bu yasaklanma ile birlikte yeni doğal katkı maddeleri arayışına girilmiştir. Bu alternatiflerden biri beta glukandır. Beta glukandır; gastrointestinal mikrobiyatayı koruyarak, enterik mikrobiyal hastalıkların kontrol altına alınması ve hayvanların immun sisteminin güçlendirilmesi amacıyla antibiyotiklere alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır (3).

1.1. Kurşun

Kurşun, periyodik tabloda 4A grubunda yer alan en metalik elementtir. Kurşunun atom numarası 82, atom kütlesi ise 207,19 g/mol'dür. Simgesi "Pb" olan kurşun; mavi-gümüş karışımı renge sahip bir metaldir. Erime noktası 327,5 °C, kaynama noktası 1740 °C'dir. Kurşun elementinin kütle numaraları 208, 206, 207 ve 204 olmak üzere 4 izotopu vardır. En yaygın görülen izotopu 207'dir. Kurşunun son katmanında 4 açık elektron olmasına rağmen, genellikle bileşiklerinde +4 yerine +2 değerlik alır. Kurşun canlı yaşamında hiçbir rolü olmayan bir madde olmasına karşın madenlerin çıkarılması ve işlenmesi neticesinde biyosfere yayılmış ve organizmada anlamlı düzeyde artmaya başlamıştır (4, 5, 6).

Kurşun ve bileşikleri, gerek doğada gerek de endüstride, günlük yaşamda ve sağaltım alanında sıklıkla maruz kalınan maddelerdir. Kurşunun organik ve inorganik bileşiklerinin; boya üretimi, akümülatör imalatı ve yenileştirmesi, şehir suyu şebekesi, seramikçilik ve kauçuk üretimi, matbaacılık, pestisit ve antihelmintik, avcılık ve petrol endüstrisi, çeşitli gıda materyallerinin tatlı hale getirilmesi gibi çok geniş kullanımları mevcuttur. Kurşun ve bileşiklerinin 8000 yıla aşkın süredir bu amaçlar için kullanıldığı ve canlı yaşamı ile sürekli temas halinde olduğu göz ardı edilemeyecek bir gerçektir (6, 7).

1.1.1. Kurşunun Organizmaya Giriş Yolları

Yoğunluğu nedeniyle ağır metal olarak sınıflandırılan kurşun, canlı organizmaya; hava, su, toprak ve gıdalar yoluyla giriş yapar. Kurşunun organizmaya giriş yollarında en önemlisi hava yoludur. Kurşunun çıkarılması ve

işlenmesi sonucu ortaya çıkan tozlar ve kurşun bazlı yakıtların çıkardığı duman en önemli hava yayılım yollarıdır. Havadaki yoğunluğunun yüksek olmasına karşın herhangi bir duyu organı ile algılanamadığından kurşun solumak, canlılar tarafından fark edilebilen bir durum değildir. Kurşunun partikül yapısının çok küçük olması ve alveolar bariyerlere takılmadan kolayca akciğerlere ulaşabilmesi nedeniyle hava yoluyla organizmaya girmesi oldukça kolaydır. Kurşun elementinin bir diğer organizmaya giriş yolu ise sindirim sistemidir. Kurşun düşük oranlarda da olsa sindirim sistemince değerlendirilerek kan aracılığıyla dokulara iletilir. Özellikle çocuklarda kurşun içeren boya ve/ya da maddeler ihtiva eden oyuncakların ağza götürülmesi ile kurşun alınması söz konusudur. Kurşunun organizmaya giriş yollarından bir diğeri de deriden emilimidir. Bu durum daha çok organik kurşun bileşikleri için geçerli olsa da yapılan bazı araştırmalar özellikle boya endüstrisinde çalışan işçilerin inorganik kurşun bileşiklerini deri yoluyla alabildiklerini ortaya koymuştur (4, 6, 8, 9).

1.1.2. Kurşunun Başlıca Kontaminasyon Kaynakları

Kurşunun organizmaya zararları, hücresel olayları baskılaması ve hayati organlara zarar vermesi nedeniyle gerçekleşmektedir. Endüstriyel alanlardaki bir takım yasal sınırlandırmalar ve kurşunsuz petrol kullanımının yaygınlaşması ile maruz kalma oranları azalmış olsa da hala tam olarak kontrol altına alınabilmiş değildir. Kurşunun başlıca kontaminasyon nedeni endüstriyel kullanımından kaynaklanmaktadır. Araştırmalar kuzey yarım kürede hava yoluyla 1000 ton kurşun sirkülasyonunu olduğunu göstermektedir. Ayrıca otomobil yakıtları, kurşun içeren

boyalar, oyuncaklar, vinil güneşlikler, sırlı porselenler, bazı cam ürünleri, kurşun-asit piller ve bataryalar bu kontaminasyonun önemli nedenleri arasındadır. Gıda endüstrisinde ise kurşun lehimli ambalajlardaki konserve yiyecekler, kurşunla kontamine sulama alanlarında yetiştirilen sebzeler, meyveler ve yem bitkileri de en önemli kontaminasyon kaynaklarından birisidir. Kurşunun bir diğer önemli kaynağı ise taşıtlardır. Özellikle trafiğin az yoğun olduğu yerlerdeki topraklarda yapılan incelemelerde kurşun 3,75 kg/dekar çıkarken, şehir trafiğine yakın topraklarda bu oran 250 kg/dekar çıkmaktadır. 1960'dan önceki yıllarda sular kurşun borular içerisinde taşınmaktaydı. Bu sular Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği 0,01 mg/l'nin çok üzerinde kurşun içermekteydi. 1960'lardan itibaren bu borular değiştirilerek bakır alaşımlı borular kullanılmaya başlanmıştır. Fakat bu boruların bağlantı noktalarında kullanılan kurşun lehimler nedeniyle su kaynaklı toksikasyonlar hala tam olarak engellenebilmiş değildir (6, 10).

1.1.3. Kurşun Toksikasyonu

İnsanlar günlük olarak 20-400 mg arasında kurşun almaktadır. Birleşmiş Milletler'e bağlı Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) birlikte oluşturdukları uzmanlar komitesi, kurşunun geçici olarak alınması sonucu tahammül edilebilen haftalık alım dozunu (Provisional Tolerable Weekly Intake: PTWI) 3000 mg olarak belirlemiştir. Sağlıklı ruminantların karaciğer ve böbreklerinde 0,5-1,5 ppm, kemiklerinde ise 3-12 ppm arasında kurşun bulunurken, zehirlenme hallerinde bu miktar yüzlerce katına çıkabilir (7, 11).

Kurşunu klinik olarak önemli kılan; kan ve sinir hücrelerinde kronik bir takım değişiklikler oluşturmastandır. Kurşun organizmada homojen bir şekilde dağılmamaktadır. Kurşun intoksikasyonunun en önemli nedeni yüksek dozlarda ve uzun süre maruziyettir. Kurşunun önemli emilim yolları sindirim kanalı ve pulmoner sistemdir. Sindirim kanalındaki emilim yaşa göre değişmekte olup, erişkinlerde ağız yoluyla alınan kurşunun %10'u emilirken, düşük yaşlarda bu oran %40'a kadar yükselmektedir. Vücuda giren kurşunun %85-90'lık bir bölümü kanda eritrosit zarına bağlanarak, %1'i serbest, geri kalanı ise albümine bağlı olarak taşınmaktadır. Hava yoluyla alınan kurşun partiküllerinin %90'ı emilmektedir. Vücuttan atılma hızı oldukça yavaş olan kurşun elementi; kanda 30 gün, kemiklerde 27 yılda atılır. Uzun süre kurşun maruziyeti halinde ise vücutta depolanmaktadır. Kurşun; ilk olarak yumuşak dokularda ve parankimal organlarda dağılım gösterir. Asıl yerleşim yeri kemik ve dişlerdir. Yetişkinlerde birikmiş olan kurşunun yaklaşık %94'ü dişler ve kemiklerde bulunur. Ayrıca kalsiyum elementi ile kurşun elementi iyonik olarak birbirlerine çok benzer. Kurşun iyonları, kalsiyum iyonları gibi kalsiyum taşıyıcıları aracılığı ile taşınır. Diyetteki kalsiyum içeriğinin azlığı, kurşunun taşınma mekanizması ile kalsiyumun taşınma mekanizması yarıştığı için kurşunun emilimini artırır. Yani kurşun ile kalsiyum emilimi birbirine ters orantılıdır. Kurşun ile kalsiyum arasındaki yarış; presinaptik reseptörde gerçekleştiğinde, asetilkolin salınımını uyaran kalsiyumun etkisini baskılar. Kurşunun membran bağlanma bölgelerinde kalsiyum ile yarışması, sinir dokusunda mitokondrial solunumun ve normal işlevlerin bozulmasının temel nedenidir (6, 11, 12).

Kurşunun sülfidril gruplara bağlanma kapasitesi, divalan bir katyon olduğu için oldukça yüksektir. Kurşun maruziyeti sonucu oluşan ürünler enzim ve proteinleri inhibe eder. Kurşun aynı zamanda pirimidin 5'-nükleotidaz aktivitesini bozmakta olup, eritrositlerin içindeki pirimidin nükleotidlerini arttırmaktadır. Bu etki eritrosit elementlerinin olgunlaşmasını önlemek suretiyle, eritrosit sayısında düşmeye ve anemi ile sonuçlanan klinik bir tabloya neden olmaktadır. Bu durum kurşunun en bilinen toksik etkilerinden birisidir. Kan ve idrarda “hem” öncüllerinde normal olmayan oranlar ortaya çıkar. Kurşun; “hem” biyosentezinin iki anahtar enzimi olan “ δ -aminolevülinik asidin (ALA) $\rightarrow$ porfobilinojen” aşamasını katalizleyen δ -aminolevulinik asit dehidrataz enzimi ile “protoporfirin IX $\rightarrow$ hem” aşamasını katalizleyen ferroşelataz enzimini inhibe etmektedir. δ -aminolevulinik asit dehidrataz enzimi (ALA dehidrataz) inhibisyonu dolaşımdaki ALA düzeyinin artmasına neden olmakta ve merkezi sinir sisteminden γ -Amino Bütirik Asit (GABA) salınımını azaltmaktadır. Tam kanda kurşun düzeyi 20 $\mu\text{g/dl}$ 'yi geçtiğinde ALA dehidrataz aktivitesi %50 oranında inhibe olur. Kurşun; Na^+/K^+ -ATPaz pompasını ve eritrositlerin zar yapısını bozarak, eritrositlerin yaşam sürelerini kısaltmaktadır. Bu durumun sonucunda hızla böbrek ve karaciğerde biriken kurşun daha sonraları iskelet sisteminde birikmekte olup doza ve bulaşma süresine bağlı olarak söz konusu organların fonksiyonlarını olumsuz etkileyecektir (11, 13).

Kurşunun insanlarda ve ratlarda; böbrek ve sinir sistemi üzerinde nefrotoksik, nörotoksik ve nefrokarsinojenik etkiler gösterdiği, farelerde ise daha çok nörotoksik etkisinden kaynaklı davranış bozuklukları gösterdiği bildirilmiştir. İçme suyu yoluyla %0,25'lik kurşun-asetat çözeltisi verilen ratların davranış ve sosyal ilişkilerinin bozulduğu, büyüme ve gelişmenin yavaşladığı gözlenmiştir.

İçme suyu ile 1000 ppm kurşun alan ratların ise davranışları incelenmiş, bu ratların öğrenme kapasitelerinin değişmediği lökomotor aktivitenin arttığı saptanmıştır (13, 14).

Kurşunun olumsuz etkileri karın organları veya kanla sınırlı değildir. Kurşun derişimi fazla olan erkeklerde, spermde kromatin yapısı bozulmaktadır. Sperm sayısı, motilite ve spermin normal morfolojisinde bozulma, testiküler atrofi, eklenti bezlerinin ağırlıklarında değişimler ve hipotalamus - testis - hipofiz aksisinde bozulmalar oluşmaktadır. Dişilerde ise spontan abortlar ve nöyral tüp defektleri ile karakterize sorunlar göze çarpar. Deneysel olarak gebe diş ratlara, laktasyonun 21. gününe kadar olan süreçte toplam 120 gün içme suyu yoluyla kurşun asetat verilmiş ve bu dişilerden doğan erkek yavrularda testis hacmi ve ağırlığı, siminifer tubül çapları ve germinal epitelyum yüksekliğinde azalma görülmüştür. Ayrıca doğan bu erkek ratların ergenliğe ulaştıkları dönemde yapılan ölçümlerinde ortalama sperm yoğunluğu ve testosteron seviyesinde azalma belirlenmiştir. Kurşunun tavuk embriyolarındaki etkileri de araştırılmış ve LD50 değeri 30 µg/yumurta civarı bulunmuştur (15).

1.1.3.1. Kurşun Toksikasyonunda Klinik Tablo

Klinik olarak değerlendirildiğinde hafif kurşun toksikasyonu olgularında deride solgunluk dışında bir belirti görülmez. Tanı sadece kan analizleri yoluyla koyulabilir. İleri olgularda ise iştah kaybı, sindirim sisteminde bir takım bozulmalar, kabızlık, bazen ağırlı yutma gibi bozukluklar ortaya çıkabilmektedir. Tüm anemik tablolarda görülen taşikardi, efor sonucu oluşan soluk almada güçlük,

baş dönmesi, kulak çınlaması, halsizlik ve çabuk yorulma belirtileri görülebilir. Dış bakıda deri ve mukozalarda solgunluk, dilde kızarıklık, kabarcık ve küçük çatlaklar görülebilir. Şiddetli gastrointestinal kolik, dış etlerinde mavi renk, kaslarda zayıflama dikkati çeken bulgulardandır. Muhtemel diğer belirtiler ise; diare, iştah kaybı, kronik yorgunluk, konvülsiyon, nöbet, gut, gelişmede gecikme, ağırlaşmış refleks sürecidir. Çok ağır olgularda ağzın kenarlarında çatlamlar, dalakta büyüme ve toprak yeme gibi belirtiler görülmektedir. Kan analizleri incelendiğinde depo demir düzeylerini gösteren serum ferritin düzeyinin düştüğü gözlenir. Total demir bağlama kapasitesinde artış göze çarpar. Eritrositlerde mikrositer hipokrom yani küçük boyut ve solgun renk gözlenir (6, 16).

Kurşun toksikasyonuna karşı en duyarlı hayvanlar sığır ve koyunlardır. Bu hayvanların kurşunu aldığı en önemli kaynak ağız yoluyla sindirim kanalıdır. Sığırların böbrek, karaciğer ve rumen içeriklerinde 0-5 ppm'den az, kaslarında 0-3,4 ppm ve kanlarında da 0-0.24 ppm arasında kurşun bulunabilir. Karaciğerde 10 ppm, böbrek korteksinde 15 ppm ve kemikte de 60 ppm'in üzerinde kurşun bulunması bu maddeyle zehirlenmeye işaret eder. Laboratuvar hayvanlarında ise kurşunun vücuda giriş yolları ve vücuttaki dağılımı üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, vücuda alınan kurşunun; kemik iliğinde, akciğerlerde, karaciğerde ve böbreklerde belirli düzeylere ulaştığı gözlenmektedir (7, 17).

1.2. Lipit Peroksidasyon

Hücre membranında bulunan (fosfolipit, glikolipit, trigliserit ve sterolün içeriğinden bulunan) çoklu doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri

aracılığıyla bir takım farklı ürünlere dönüşerek membranda tahribat oluşturmaya lipit peroksidasyon denmektedir. Bu olay sonucu oluşan ürünler alkol, aldehit, hidroksi yağ asidi, etan ve pentan gibi ürünlerdir. Hayati fonksiyonların idame edilmesi için önemli olan oksijen, serbest oksijen grupları aracılığıyla bu şekilde toksik bir takım etkilerde oluşturmaya olup birçok toksikasyonun temelinde yer almaktadır (18, 19, 20).

1.3. Malondialdehidin (MDA) Oluşumu

MDA, lipit peroksidasyonu olayının önemli göstergelerinden birisi olup üç veya daha fazla yağ asidinin peroksidasyona uğramasıyla oluşan tiyobarbitürik asitle ölçülür (18). Membranda iyon değişiminde bir takım değişmelere neden olması sonucu membran bileşiklerinin çapraz bağlanmasına ve sonuç olarak da iyon geçirgenliklerine ve enzim etkinliklerinde değişmelere neden olur. Bu nedenle de DNA'da ki nitrojenler ile reaksiyon oluşturmaya olup mutajenik, hücre kültürleri açısından ise genotoksik ve karsinojeniktir (21). MDA yağ asitlerinin oksidasyonu ile doğrudan bağlantılı olmasa bile lipit peroksidasyon olayı ile fazlaca bağlantılıdır (18).

1.4. Serbest Radikaller

Alınan besinlerin oksijen aracılığıyla enerjiye dönüştürülmesi esnasında ortaya çıkan bir ya da daha fazla bağlanmamış elektronları olan atom moleküllerine serbest radikal adı verilir. Hücrenin hayati olaylarının gerçekleşmesi için oksijen

vazgeçilmezdir. Oksijen metabolizma esnasında serbest radikallerin temeli olarak tanınan ve önemli derecede reaktif, sabit olmayan, reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüşür. ROS'lar, karbonhidrat, lipit, protein ve DNA gibi önemli hücre yapılarında hasara neden olur (22, 23, 24).

Serbest radikallerin oluşturdukları reaksiyonlar çoğunlukla, moleküllerde H'ın uzaklaşması ile başlar. Bu radikaller pozitif, negatif yükle yüklü ve ya nötr olabilir. Üç farklı yolla hücrelere zarar verebilmektedir. İlki, membrandaki stabil yapıyı yok edip hücre ve dokularda bozulmaya yol açmak suretiyle, ikinci olarak dilsülfid bağ oluşturarak, üçüncü ise hidroksil radikali, peroksinitrit ve nitrojen oksit gibi nitrojen türleri ile DNA hasarı oluşturarak bu etkiyi yaparlar (25).

Kurşun toksisitesinin lipit peroksidasyonu üzerine etkisi iki mekanizma ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. İlk olarak, kurşunun peroksidatif aktivitesi δ -aminolevülinik asidin (δ -ALA) uyardığı reaktif oksijen türleri (ROS)'nin etkisine bağlanmıştır. Kurşunun hem sentezinde yer alan δ -aminolevülinik asit dehidrataz (δ -ALAD) enziminin aktivitesini önleyerek, peroksidatif aktiviteyi ve ROS üretimini arttırdığı yaygın olarak bilinmektedir (26, 27). İkinci olarak ise, indirekt aktivite ile kurşun hücre membranlarının komponentlerine bağlanarak, hücrelerin ROS duyarlılığını ya da antioksidan savunma sistemini değiştirebilmektedir (28). Kurşun karaciğer ve böbrekte en yüksek oranda depo edilirken, kalp, akciğer, beyin, dalak, kas ve kemiklerde dağıldığı bildirilmiştir (14).

1.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidan sistem; singlet oksijen, süperoksit, peroksil radikalleri, hidroksil radikalleri ve peroksinitrit gibi ROS'ların zararlı etkilerine karşı hücreleri koruyan bileşiklerdir (29). Bu bileşiklerin kendilerine özel mekanizmalar ile antioksidan kapasitesini artırması söz konusudur. Bu etki iki şekilde olmaktadır. İlki hidrojen peroksit gibi başlatıcı reaktiflerin ve serbest demir gibi reaksiyonları katalizleyen metallerin uzaklaştırılması ve oksijen yoğunluğunun azaltılması gibi önleyici şekildedir. İkincisi ise serbest haldeki radikalleri bir araya getirme ve onlara proton eklemek suretiyle aktivitelerini baskılama sonuçta da radikal antioksidanların yenilenmesi, düzeltilmesi veya oto-oksidasyonu kırma gibi doğrudan etkilerini içerir (30). Medikal açıdan faydalarında başka antioksidanlar besinlere katılmak suretiyle hava, ışık, ısı gibi etkenlerin sonucu oluşabilecek serbest radikal oluşumu kaynaklı oksidasyonu önlemekte veya geciktirmektedir. Son zamanlarda antioksidanlar yapay olarak üretilmektedir. Sentetik olan bu antioksidanların dezavantajları bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi; in vivo olarak alındıklarında bir takım komplikasyonları olmasıdır. Doğal antioksidanların içerisinde enzimler [süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz, sitokron-C-oksidad, hidroksiperoksidaz], makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, miyogloblin, haptoglobilin) ve mikromoleküller (β -karoten, A-vitamini, C-vitamini, E-vitamini, tokoferoller, tiyol içerenler, glutatyon, metiyonin) sayılabilir. Ek olarak doğal antioksidanlara flavonoid ve fenolik asit içeren fenolik bileşikler, tıbbi ve baharat bitkilerindeki uçucu yağ bileşikleri ilave edilebilir (27, 31, 32, 33, 34).

Antioksidan savunma sistemlerinde GSH önemli rol almaktadır. GSH non enzimatik bir antioksidandır. Önemli fizyolojik ve metabolik fonksiyonları olan, serbest radikalleri, metalleri ve diğer elektrofilik bileşikleri detoksifiye edebilen bir antioksidandır. Non enzimatik reaksiyonlar yoluyla kurşun, bakır, selenyum, krom ve çinko gibi metalleri bağlayabilme özelliğine sahiptir (31, 35, 36). Oksidatif stres durumunda diğer antioksidan enzimler gibi GSH tüketiminin fazla olmasından dolayı GSH aktivitesinde düşme meydana gelir (37, 38, 39). Yine GSH-Px de oksidatif stres metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Nitekim GSH-Px eksikliğinde hidrojen peroksit ve lipid peroksitler detoksifiye edilmezler ve hidroksil ile lipid peroksil radikallerine dönüşürler (40). Katalaz prostetik grup olarak hem içeren tetramerik bir enzim olup hidrojen peroksidin su ve oksijene yıkımını katalize eden önemli bir antioksidan savunma sistemi enzimidir (14). Aynı zamanda CAT koenzim olarak demir protoporfirin (hemin) içerir. Kurşun toksisitesinde CAT önemli bir antioksidan enzimidir.

1.6. Apoptozis

Apoptozis, organizmanın kendi öz kaynakları aracılığıyla yaşlanmış, istenmeyen veya zararlı hücreleri herhangi bir kalıntı bırakmadan öldürmesi işlemidir. Planlanmış hücre ölümü olarak da adlandırılan apoptozis işlemi organizmanın normal fizyolojik işlevlerinden biridir (41).

Apoptotik hücre ölümleri birkaç aşamadan oluşmaktadır. Öncelikle işlemi başlatacak ve genetik mekanizmaları harekete geçirecek bir sinyalin gelmesi gerekmektedir. Bir takım sitokinler bu işlemi gerçekleştirmek amacıyla hücrelere

bağlanarak gereken sinyali gönderir. Bu sinyaller iç ve dış sinyaller olarak ayrılmaktadır. Bu sinyaller sonucu hücre içinde bir grup proteaz aktive olmaktadır, bunlara kaspaz denmektedir. Kaspazlar başlatıcı ve sonlandırıcı olarak ikiye ayrılmaktadır. Hücrenin yok olmasını sağlayan reseptörler, uyarlayıcı proteinler yoluyla mitokondrileri uyararak başlatıcı kaspazları, sonrasında ise bu kaspazlar diğer kaspazları uyarırlar. Gelen sinyaller mitokondrinin dış zarında geçirgenlik artışına sebep olur. Mitokondrilerin dış zarında geçirgenliği bir takım proteinler düzenlemektedir. Bu proteinlerden en önemlisi de Bcl-2'dir. Bcl-2 her ne kadar apoptozis olayını baskılıyor olsa da hücrelerde bulunan ve Bcl-2 ile ilişkili bir takım proteinler planlı hücre ölümlerini desteklemektedir. Bu proteinlerden birisi Bax'dır. Bazı Bcl-2 üyeleri mitokondriyal bütünlüğü bozarken bazıları ise bütünlüğü bozar. Bu etki sonucu sitokrom C gibi mitokondriyal proteinlerin sitozole geçişi kontrol altına alınır. Normal hücrelerde sitokrom C mitokondriyal zarlar arasında bulunmak suretiyle sitozole geçerek apoptozis işlemini başlatır. Bcl-2 bu geçişi engellerken, Bax bu geçişe katkı sunar. Memeli hücrelerinde Bcl-2 bağlantılı 6 protein anti-apoptotik iken, 9 protein pro-apoptotiktir (41, 42).

Hücrenin görevlerini yerine getirmesini sağlayan etkenlerin ortamda olmaması ayrıca hücre içinde serbest radikallerin birikmesi, stres gibi faktörler nedeniyle çözünebilir bir apoptozis destekleyici olan Bad, mitokondriyal dış zarda bulunan Bcl2/Bcl-xl'ye bağlanır. Bu bağlanma Bcl2/Bcl-xl ile pro-apoptotik Bax'ın ilişkisini engeller. Bunun sonucu olarak mitokondriyal dış zarda kanal oluşturan Bax hemosideri veya Bcl-2/Bax hemosideri bazı iyonların mitokondriye geçişine izin verir. Bu olay mitokondrinin yapısını değiştirerek sitokrom C'nin sitozole bırakılmasına sebep olur. Apoptozise sebep olan olaylar zinciri başlamış

olur. Sonuç olarak bir hücredeki Bcl-2/Bax oranı apoptozis açısından oldukça önem arz etmektedir. Zira hücrenin planlı bir hücre ölümüne gidip gitmeyeceği bu orana bağlı olarak değişmektedir. Şayet hücrede Bax oranı fazla ise hücre ölümü gerçekleşecek, Bcl-2 fazla ise hücre ölümü inhibe olacaktır (41, 42).

1.7. Beta Glukan

Hayvan beslemede uzun yıllar boyunca yem katkı maddesi olarak antibiyotikler kullanılmıştır. Yemlere eklenen bu antibiyotikler, büyüme performansı ve yemden yararlanmayı artırmak, bunun yanı sıra hastalıkların tedavi edilmesi ve profilaksi amacıyla kullanılmıştır. Antibiyoti kullanımı zamanla hayvanlarda kalıntı bırakarak bakteriyel direnç sebep olmuş ve bunun neticesinde hayvansal ürünleri tüketen insanlarda sağlığı olumsuz etkilemeye başlamıştır. Avrupa Birliği uyum yasaları gereği hayvansal gıdalarda farmakolojik aktif madde kalıntılarının Maksimum Kalıntı Limiti olarak belirlenen değerler altında olması gerektiğine karar verilmiştir. Bu doğrultuda yasal düzenlemeler ile 1 Ocak 2006 itibariyle antibiyotiklerin hayvan beslemede kullanımı yasaklanmıştır. Bu nedenle hayvan beslemede kullanılan antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilecek katkı maddeleri araştırılmaya başlanmıştır (43, 44).

Beta glukan, antibiyotiklere alternatif olabilecek en önemli doğal katkı maddelerinden birisidir. Glukan, *Saccharomyces cerevisiae*'nın çeperinden elde edilen doğal polisakkarid yapısında bir maddedir. Bitkilerin hücre çeperinde, tahıl tohumlarında, bazı fungus, mantar ve bakterilerde bulunmaktadır. Tahıllar

arasından en çok arpada (2-20 g/100g) ve yulafta (3-8 g/100g) bulunmaktadır (45, 46).

1.7.1. Beta Glukanın Metabolik Etkileri

Beta glukanlar, β -glukozidik bağlarla birbirlerine bağlanmış D glukoz monomerlerinden oluşan nişasta olmayan polisakkaritlerdir. Glukanın makrofajların yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlere etki ettiği 1980’li yılların sonlarında tanımlanmıştır. Makrofajların beta glukan reseptörleri olduğu ve bu reseptörlere bağlanmanın makrofaj aktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Glukanın immun sistem üzerindeki temel aktiviteleri; konağın viral, bakteriyel, fungal ve parazitik enfeksiyonlara karşı direncini artırması ve retiküloendotelyal sistemin fagositik ve proliferatif aktivitesini yükseltmesini kapsamaktadır. Araştırmalar beta glukanın, enfeksiyonlara karşı konağın immün sistemini stimüle etmek suretiyle hümmoral ve hüccresel immüniteyi değıştirdiğini göstermiştir. Beta glukan aracılığıyla doğal öldürücü hücreler, makrofaj, monosit ve nötrofillerin aktifleştii, total lökosit sayısının arttığı, İnterlökin-1 (IL-1), Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α) ve prostaglandin E2 üretiminin de uyarıldığı bildirilmiştir (45, 47, 48).

Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (United States Food and Drug Association: FDA) 1997 yılında gıda ürünlerinin paketleri üzerinde ‘çözünür posa ve tam yulafça (yulaf kepeği, yulaf ezmesi ve yulaf unu) zengin, doymuş yağ ve kolesterolü düşük gıdalar kalp hastalığı riskini azaltabilir’ ifadesinin yazılmasını onaylamış olup, 2005 yılında ise arpayı (tam buğday ve bazı kuru öğütölmüş arpa

ürünleri) çözünür posa kaynağı olarak sağlık beyanına eklemiştir. Son zamanlarda Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority: EFSA) yulaf beta glukani içeren besinler için “yulaf beta glukanın düzenli tüketimi etkin bir şekilde serum düşük dansiteli lipoprotein kolesterol ve total kolesterolü azaltır” iddiasına olumlu görüş vermiştir (46).

Beta glukanın immun sistemin güçlendirici etkisinin yanında yara iyileşmesini hızlandırdığı, barsak anostomozlarının iyileşmesine olumlu etkilerinin olduğu ve peritonitte sağ kalımı arttırdığı yapılan araştırmalarda görülmüştür (47).

Yapılan bir çalışmada; yulaf beta glukani (5 g) içeren ve molekül ağırlığı 70000 Dalton (Da) olan bir içeceğin, arpa beta glukani (5 g) içeren ve molekül ağırlığı 40000 Da olan bir içeceğe göre daha düşük tokluk kan şekeri ve insulin seviyesi sağladığı görülmüştür. Viskoz bir yapı gösteren ve çözünebilir bir posa olan beta glukani; Hemogloblin A1c, tokluk kan şekeri, insülin salınımı ve kalp hastalıkları riskinde azalmaya neden olarak, akut ve uzun dönemde metabolik iyileşmeler göstermiştir (46).

Yapılan bir araştırma, beta glukanın; ratlarda aortik iskemi-reperfüzyonunun indüklediği böbrek hasarı üzerine koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (49).

Tıkanma sarılığı olan ratlarda; beta glukanın; fagositer ve antioksidatif etki üzerinde artırdığı ayrıca hepatik hasarı ve oksidatif stresi azalttığı gözlenmiştir. (50). Bir başka çalışmada ise, metotreksat yani folik asit antimetaboliti olarak etki gösteren antineoplastik ilaç kaynaklı karaciğer hasarı üzerinde beta glukanın benzer etkiler gösterdiği belirtilmiştir (51).

İleri düzeyde saflaştırılmış beta glukanın, fibroblast, nükleer faktör-1 (NF-1) nükleer bağlanma aktivitesini, prokollajen gen ekspresyonunu ve kollajen biyosentezini uyardığı gözlenmiştir (45).

Yapılan bir araştırmada; *Streptococcaceae pneumoniae* kaynaklı, bilhassa splenektomili olgularda ortaya çıkan çoklu organ hasarı ile seyreden sepsisin sağaltımında antibakteriyel ilaçlara karşı direncin hızla gelişmesi nedeniyle sağaltım ve profilaksiste uygulanabilecek yeni yöntemler araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda hem antioksidan hem de immünomodülatör özelliklere sahip olan Beta-D-glukanın, antibakteriyel ilaçların kullanımına göre ciddi organ hasarlarına bağlı organ yetmezliklerinin hafifletilmesinde önemli katkıları olacağı bildirilmiştir (52).

Ratlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada, kolesterol ile zenginleştirilmiş rasyona beta glukun ilavesi yapılarak serum lipitleri ve performans indeksleri incelenmiştir. Çalışma sonunda canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, serum total kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinin yağlı ve beta glukun ilaveli grupta ciddi manada düşük bulunduğunu belirtmişlerdir (53).

β -1,3/1,6-glukan ilaveli rasyonla beslenen etlik piliçlerin performans ve immünolojik parametreler üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; azami büyüme performansının 50 mg/kg beta glukun eklenmiş yemi tüketen grupta olduğu rapor edilmiştir (50).

Beta glukun üzerine yapılan araştırmalar göz önüne alındığında birçok hastalığın tedavisi ve profilaksisinde kullanılabileceği görülmüştür. Bu açıdan bakıldığında insan ve hayvan sağlığını tehdit eden kurşun toksisitesinin olumsuz etkilerinin beta glukunla iyileştirilmesi halk sağlığı açısından önemli bir etki

oluşturacaktır. Bu çalışma, kurşunla toksisite oluşturulan ratlarda beta glukanın; yem tüketimi, canlı ağırlık değişimi, antioksidan parametreleri, apoptik yolak proteinleri olan Bcl-2 ve Bax seviyeleri ve ayrıca testis, epididimis, vezikula seminalis ve ventral prostat gibi üreme organ ağırlıkları ve epididimal spermadaki sperma parametreleri (sperm yoğunluğu, motilitesi ve anormal sperm oranı) üzerine etkilerini belirlemek amacıyla planlanmıştır. Kurşun intoksikasyonu üzerinde beta glukanın beklenen etkiyi ortaya çıkarması halinde, alternatif olarak beta glukanın klinik kullanımına altyapı oluşturması çalışmanın temel hedefleri arasında yer almıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun; 11.07.2018 tarih, 131 karar ve 2018/67 protokol nolu etik kurul onayı ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nden (FÜDAM) temin edilmiş 6-8 haftalık 200-300 gram ağırlığında 28 adet erkek rat kullanılmıştır. Deneysel uygulamalar boyunca laboratuvar hayvanları bakım ve kullanım şartlarına (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık ve 24 ± 3 °C) uygun olarak özel kafeslerde bakılmıştır. Beslenmelerinde standart rat pelet yemi kullanılmış ve su *ad-libitum* sağlanmıştır. Ratlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılmış ve uygulama 21 gün sürmüştür. Ratlar yem tüketimi tespiti için ayrı ayrı kafeslerde barındırılmıştır.

Denemede kullanılan standart rat pelet yemi FÜDAM'dan temin edilmiştir. Yem ve su, hayvanlara *ad-libitum* olarak verilmiştir. Kullanılan yemin besin madde bileşimi Tablo 1'de sunulmuştur.

Araştırmada kullanılan beta glukan ticari bir firmadan (PureBulk Inc Roseburg, OR, USA) temin edilmiştir. İçeriği; Beta Glukan 1c,c3/1c,c6 (*Saccharomyces cerevisiae*) (%80 oranında β 1c,c3/ β 1c,c6 glukan içerir)'dan oluşmaktadır.

Araştırmada kullanılan kurşun dozu Thangarajan et al (54)'ın araştırmasından, beta glukanın dozu ise Alp ve ark (55)'nın yaptıkları araştırmadan baz alınarak belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan kurşun asetat ticari bir firmadan (Merck Manufacturer) temin edilmiştir. Kurşun asetat içeriği; Blei(II)-Acetat-Trihidrat Reinst (DAB 6 BPC, FU (CH₃COO)₂Pb, 3H₂O)’den oluşmaktadır.

Tablo 1: Ratlara verilen rasyonun bileşimi ve besin maddesi değerleri.

Besin maddeleri	%
Mısır	31.80
Arpa	14.00
Soya fasulyesi küspesi	35.00
Tam yağlı soya	6.00
Buğday kepeği	7.00
Yonca unu	5.00
DL-Metiyonin	0.3
Dikalsiyum fosfat	0.4
Tuz	0.1
Vitamin-Mineral Premiksi*	0.4
Kimyasal Kompozisyon	
Ham protein, %	24.00
Metabolik enerji (kcal/kg)**	2650
Ham Yağ, %	3.21
Ham selüloz, %	6.15
Kül, %	6.48
Kalsiyum, %	0.89
Fosfor, %	0.98

*Vitamin-mineral karışımının kilogramı; 1.8 mg tüm-*trans* retinil asetat (A vitamini), 0.025 mg kolekalsiferol (D Vitamini), 12.5 mg tüm *rac*-alfa-tokoferol asetat (E vitamini), 1.1 mg menadion sodyum bisulfit (K3 Vitamini), 1.1 mg tiyamin (Vitamin B1), 4.4 mg ribolavin (Vitamin B2), 35 mg niasin (Vitamin B3), 10 mg kalsiyum pantotenat (B5 vitamini), 2.2 mg Vitamin B6, 0.02 Vitamin B12, 0.55 mg folik asit, 0.1 mg d-biyotin, 40 mg Mn (MnO), 12.5 mg Fe (FeSO₄), 25 mg Zn (ZnO), 3.5 mg Cu (CuSO₄), 0.3 mg I (KI), 0.15 mg Se (Na₂SeO₃), 175 mg kolin klorit (C₅H₁₄ClNO).

**Hesaplama yolu ile tespit edilmiştir.

2.1. Deneme Dizaynı

Araştırma grupları aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

1. Grup: Kontrol grubu; Kurşun ve beta glukan uygulaması yapılmamış, sadece serum fizyolojik intraperitoneal olarak 1 ml/kg CA dozunda 21 gün boyunca verilmiştir.
2. Grup: Kurşun kontrol grubu; kurşun asetat serum fizyolojikte 15 mg/kg CA dozunda çözündürülerek 21 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmıştır.
3. Grup: Beta glukan grubu; beta glukan serum fizyolojikte 50 mg/kg CA dozunda çözündürülerek 21 gün boyunca gavajla uygulanmıştır.
4. Grup: Kurşun+Beta glukan grubu; kurşun asetat serum fizyolojikte 15 mg/kg CA dozunda çözündürülerek 21 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmış + beta glukan serum fizyolojikte 50 mg/kg CA dozunda çözündürülerek 21 gün boyunca gavajla uygulanmıştır.

Denemenin 1. gününde başlangıç canlı ağırlıkları ölçülerek ve denemenin 7, 14 ve 21. günlerinde yem tüketimi ve canlı ağırlık değişimleri belirlenmiştir. 21. günün sonunda ratların karaciğer ve testis dokuları alınmıştır.

2.2. Doku Analizleri

2.2.1. Homojenatların Hazırlanması

Derin dondurucudan (-20 Uğur Derin Dondurucu) çıkarılan dokular tartılıp soğuklukları korunarak cam tüplere aktarılmıştır. Dokuların üzerine 1/10 oranında

Tris Tamponu (pH 7,4) ilave edilmiştir. Dokuların soğuklukları muhafaza edilerek homojenizatörde homojenize edilmiştir. Hazırlanan bu homojenat, +4 °C soğutmalı santrifüjde (Nüve NF 800R) 45 dakika süre ile 3500 rpm’de santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiştir. Ayrılan bu süpernatantlardan malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyleri belirlenmiştir.

2.2.2. Doku MDA Düzeylerinin Ölçümü

Dokuda lipid peroksit tayini (MDA) Placer ve ark.’nın (56) tanımladığı spektrofotometrik (Shimadzu UV-1700) yöntemle göre belirlenmiştir. Aerobik şartlar altında ve pH 3.5’te doku homojenatının kaynar su banyosunda inkübasyonu sonucu lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA’nın tiyobarbitürik asit ile oluşturduğu pembe renkli kompleks 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

2.2.3. Doku CAT Aktivitesi Ölçümü

Dokuda CAT aktivitesi Goth’un (57) tanımladığı yöntemle göre belirlenmiştir. Doku, hidrojen peroksit (H₂O₂) içeren substrat ile inkübe edilmiştir. H₂O₂ katalaz aktivitesi ile H₂O ve O₂’ye parçalanmıştır. Ortama ilave edilen amonyum molibdat H₂O₂ ile birleşerek reaksiyon sonlandırılmıştır. Bu süreç içerisinde meydana gelen renk değişimi 405 nm’de köre karşı spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

2.2.4. Doku GSH Düzeylerinin Ölçümü

GSH düzeyi Sedlak ve Lindsay'ın (58) belirttiği metoda göre tayin edilmiştir. 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), sülfidril bileşikler tarafından redükte edilmiş bir disülfid bileşiğidir. Örnek ile DTNB'nin oluşturduğu sarı renkli kompleksin renk şiddeti ortamdaki GSH konsantrasyonu ile doğru orantılıdır, 412 nm'de spektrofotometrik (Shimadzu UV-1700) olarak değerlendirilmiştir.

2.2.5. Doku GSH-Px Düzeylerinin Ölçümü

Dokuda GSH-Px aktivitesi düzeyi Lawrence ve ark.'ın (59) tanımladığı şekilde belirlenmiştir. Dokulardaki GSH-Px, GSH Cumenehidroperoksit (CHPO₄) ile oksidasyona uğratır. Renk ajanı olarak 5,5- ditiyo-bis (2- nitrobenzoik asit: DTNB) solüsyonu ile karıştırılması sonucu hem kör hem de örneklerde meydana gelen sarı renk kompleksinin spektrofotometrede 412 nm'de okunması sonucu GSH-Px aktivitesi düzeyi belirlenmiştir.

2.2.6. Doku Protein Tayini

Dokuda total protein tayini Lowry metodu kullanılarak yapılmıştır. Fosfomolibdik/fosfotungstik asit çözeltisinin (Folin-Ciocalteu reaktifi) alkali durumda proteinlerdeki fenolik amino asitlerle tepkimeye girmiştir. Alkali ortamda bakır iyonu (Cu⁺²) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturmuştur ve Cu⁺¹'e indirgenmiştir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Tyr,

Trp ve Cys aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumunu sağlamıştır. Rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantı gösterdiği için, 660 nm’de spektrofotometrik (Shimadzu UV-1700) olarak ölçülerek protein tayini yapılmıştır (60).

2.2.7. Western Blot Analizi

Dokular RIPA lizis buffer (santacruz sc24948A) ile homojenize edildikten sonra örneklerdeki total protein miktarları, BCA (Thermofisher 23227) (61) metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Her kuyucuğa eşit miktarlarda protein (60 µg) staking jel (%4), seperating jel (%12,5) olmak üzere poliakrilamid jele yüklenerek elektroforetik olarak yürütülmüştür (62) ve SDS-PAGE’in ardından spesifik proteinler western blotlama tekniği ile poliviniliden diflorit (PVDF) membrana aktarılmıştır (63). Bu işlemin ardından PVDF membranlar, nonspesifik bağlanmaları engellemek için, bloklama solüsyonu (%5’lik blotting grade yağsız süt tozu) ile 1 saat muamele edilmiştir. TBS-T ile 5’er dk 3 kez yıkanmıştır. Bloklamının ardından membranlar Bcl-2 (santacruz sc7382; 1/1000), Bax (santacruz sc7480; 1/1000) ve beta aktin (santacruz sc 47778; 1/1000) primer antikorlarıyla bir gece inkübasyona bırakılmıştır. TBS-T ile 5’er dk 3 kez tekrar membranlar yıkanmıştır. Ardından uygun sekonder antikorla (santacruz sc516102) muamele edilen membranlarda kemilüminesan konjugat (ECL; Biorad 1705060) kullanılarak elde edilen bantlar kemilüminesans görüntüleme sisteminde (Biorad ChemiDoc™ XRS+) görüntülenmiştir. Elde edilen görüntülerdeki bant yoğunlukları uygun analiz sistemi (Biorad Image Lab™ Software version

5.2.1,Biorad Laboratories, Inc, USA) ile ölçülmüştür. Protein ekspresyon düzeyleri internal kontrol olarak kullanılan beta aktine göre normalize edilmiştir. Sonuçlar kontrolün yüzdesi şeklinde ifade edilmiştir (64, 65).

2.3. Spermatolojik Analizler

2.3.1. Sperm Motilitesi

Motilite tayini, sol kauda epididimisten kesit yapılarak alınan spermatozoonların Tris buffer solüsyonu [Tris (hidroksimetil) aminometan 3.63 g, glukoz 0.50 g, sitrik asit 1.99 g ve distile su 100 ml] ile sulandırılmasından sonra tayin edilmiştir. Sıcaklığı 37 °C'ye ayarlanmış mikroskobun ısıtma tablasına temiz bir lam yerleştirilerek ısıtılıp sonra lam üzerine 0.5 ml tris sulandırıcısı ve üzerinde 3µl taze sperma konularak sulandırılmıştır. Faz-kontrast mikroskop altında 10x40'lık büyütmede en az 3 farklı sahada motilite oranlarının ortalaması alınıp %0-100 arasında değer verilerek kaydedilmiştir (66).

2.3.2. Sperm Yoğunluğu

Sağ kauda epididimis alınıp tartıldıktan sonra bir petri kutusu içerisindeki 1 ml fizyolojik tuzlu suda (%0.9'luk NaCl) bistüri ve makas yardımıyla iyice parçalanmıştır. Epididimal dokudaki bütün spermatozoonların sıvıya geçmesi için oda sıcaklığında 4 saat inkubasyona bırakılmıştır. Bekleme süresi sonunda eritrosit pipetinin 0.5 çizgisine kadar spermatozoon ihtiva eden süpernatant, 101 çizgisine kadar da içerisinde 5 g sodyum bikarbonat, 1 ml formalin, 25 mg eozin ve 100 ml

distile su içeren solüsyondan çekilmiştir. Bunun sonucunda süpernatant 1:200 oranında sulandırılmıştır. Yaklaşık 10 µl sulandırılmış süpernatant önceden lamel yapıştırılmış Thoma laminin her iki sayım (toplam 400 küçük kare, 0.1 mm³ hacim) alanına pipetin ucu değdirilerek damlatılmıştır. Thoma lamı ışık mikroskobuna bırakılıp 5 dakika beklenerek solüsyon içerisindeki spermilerin tüm alana homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Her iki sayım alanındaki tüm karelere düşen spermier ışık mikroskobunun 200'lük büyütmesinde sayılmıştır. Sonuçta kauda epididimal dokudaki sperm yoğunluğu hesaplanmıştır (67).

2.3.3. Anormal Sperm Oranı

Temiz, kuru ve önceden ısıtılmış (37 °C) bir lama birkaç damla Tris buffer solüsyonu damlatıldıkları. Sonra üzerine sol kauda epididimisten alınan küçük bir damla sperm süspansiyonu ve birkaç damla Eozin-Nigrozin (1.67 g eozin, 10 g nigrozin ve 2.9 g sodyum sitrat 100 ml distile su için) boyası damlatılarak bir lam yardımıyla karıştırılıp homojen hale getirilmiştir. Daha sonra bu Tris-sperm süspansiyonu-boya karışımından ince frotiler çekilerek havayla kuruması sağlanmıştır. Kuruyan frotiler ışık mikroskobunun 400'lük büyütmesinde incelenmiştir. Bir frotide toplam 200 sperm incelenip baş, kuyruk ve toplam anormal sperm oranı yüzde olarak ifade edilmiştir (67).

2.4. Verilerin İstatistiki Analizi

İstatistiki değerlendirmeler SPSS paket programı (SPSS 11.5 for Windows, Chicago, IL, USA) One-Way Anova testi ile; gruplar arası önemlilik ise Duncan

çoklu değerlendirme testi ile belirlenmiştir (68). Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirmesinde önemlilik, $P < 0.05$ esasına göre ele alındı. Dokularda Western Blot analizlerinde hedef proteinler beta-aktine göre normalize edilmiş, normalizasyon sonucunda elde edilen değerlerin normal dağılıp gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk normallik analizi ile belirlenmiş ve Shapiro-Wilk normallik analizi sonucunda verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.



3. BULGULAR

3.1. Katkıların Canlı Ağırlık, Canlı Ağırlık Değişimleri Ve Yem Tüketimi Üzerine Etkileri

Deneme gruplarının canlı ağırlık, canlı ağırlık değişimleri ve yem tüketimi Tablo 2’de verilmiştir.

Elde edilen veriler incelendiğinde canlı ağırlık değerleri bakımından yapılan ölçümlerin tamamında gruplar arasında 14 ($P<0.01$) ve 21. ($P<0.001$) günlerde kurşun gruplarında önemli oranda düşüşler olduğu, ilk hafta hariç geri kalan 2 hafta boyunca kurşun grubundaki ratların canlı ağırlık değişimi miktarı diğer gruplardan önemli oranda daha düşük olduğu tespit edildi ($P<0.05$).

Araştırmanın yem tüketimi (YT) değerleri incelendiğinde, denemenin her döneminde kurşun grubunun YT’nin diğer grupların YT’nden istatistiksel olarak düştüğü görüldü. 1-21. günlerde Kontrol grubunda (29.34 g) en yüksek YT’nin ve en düşük YT’nin ise kurşun grubunda (21.62 g) olduğu belirlendi ($P<0.001$).

Tablo 2: Katkıların canlı ağırlık, canlı ağırlık değişimleri ve yem tüketimi üzerine etkileri (X±SE)

		Kontrol	Kurşun	Beta Glukan	Kurşun + Beta Glukan	P
Canlı Ağırlık (g/hyv)	Başlangıç	350.29±15.56	350.71± 14.81	349.14±19.50	351.43± 14.05	ÖD
	7. gün	392.86± 13.19	352.57± 10.67	385.00± 18.47	353.50± 14.18	ÖD
	14. gün	416.29± 12.97 ^a	346.43± 8.99 ^b	396.00± 16.07 ^a	350.00± 13.56 ^b	P<0.01
	21. gün	447.79± 14.73 ^a	360.57± 9.68 ^b	428.17± 16.37 ^a	369.50± 13.03 ^b	P<0.001
Canlı Ağırlık Değişimi (g/hyv/gün)	1-7	6.08±1.03	0.26±3.33	5.12±5.06	0.35±1.95	ÖD
	8-14	3.35±0.50 ^a	-0.88±0.38 ^c	1.57±0.49 ^b	-0.46±0.40 ^c	P<0.001
	15-21	4.50±0.64 ^a	2.02±0.42 ^b	4.45±0.82 ^a	2.79±0.64 ^{ab}	P<0.05
	1-21	4.64±0.51 ^a	0.47±1.02 ^b	3.50±1.48 ^{ab}	0.87±0.63 ^b	P<0.05
Yem Tüketimi (g/hyv/gün)	1-7	31.00± 0.99 ^a	22.71±0.71 ^c	31.41±0.85 ^a	27.42±1.53 ^b	P<0.001
	8-14	29.56±1.38 ^a	21.64±0.45 ^b	29.37±0.77 ^a	23.64±0.91 ^b	P<0.001
	15-21	27.47±1.46 ^a	20.50±0.45 ^b	27.03±0.42 ^a	22.20±0.39 ^b	P<0.001
	1-21	29.34±1.16 ^a	21.62±0.40 ^c	29.27±0.64 ^a	24.07±0.82 ^b	P<0.001

Veriler ortalama ± S.E olarak ifade edilmiştir.

^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil

3.2. Karaciğer Dokusu MDA, GSH, GSH-Px, Katalaz Değerleri

Tablo 3’de karaciğer MDA düzeyleri ile GSH, GSH-Px ve CAT aktiviteleri gösterilmiştir. Kurşun verilen grupta görülen değişim incelendiğinde karaciğerin en yüksek MDA ($P<0.01$) düzeyleri ve en düşük GSH ($P<0.05$), GSH-Px ($P<0.05$) ve CAT ($P<0.01$) aktiviteleri kurşun uygulanan grupta olduğu ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bunun istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür.

Beta Glukan katkısının (Pb + β G), karaciğer MDA düzeyini kurşun grubuna kıyasla önemli oranda düşürürken ($P<0,01$), GSH-Px oranını ise önemli oranda yükselttiği ($P<0,005$) görülmüştür. Karaciğer GSH ve CAT aktiviteleri ise beta glukan katkısı ile istatistiksel olarak önemli oranda etkilenmedi.

Tablo 3: Karaciğer dokusu MDA, GSH, GSH-Px, katalaz değerleri ($X\pm SE$)

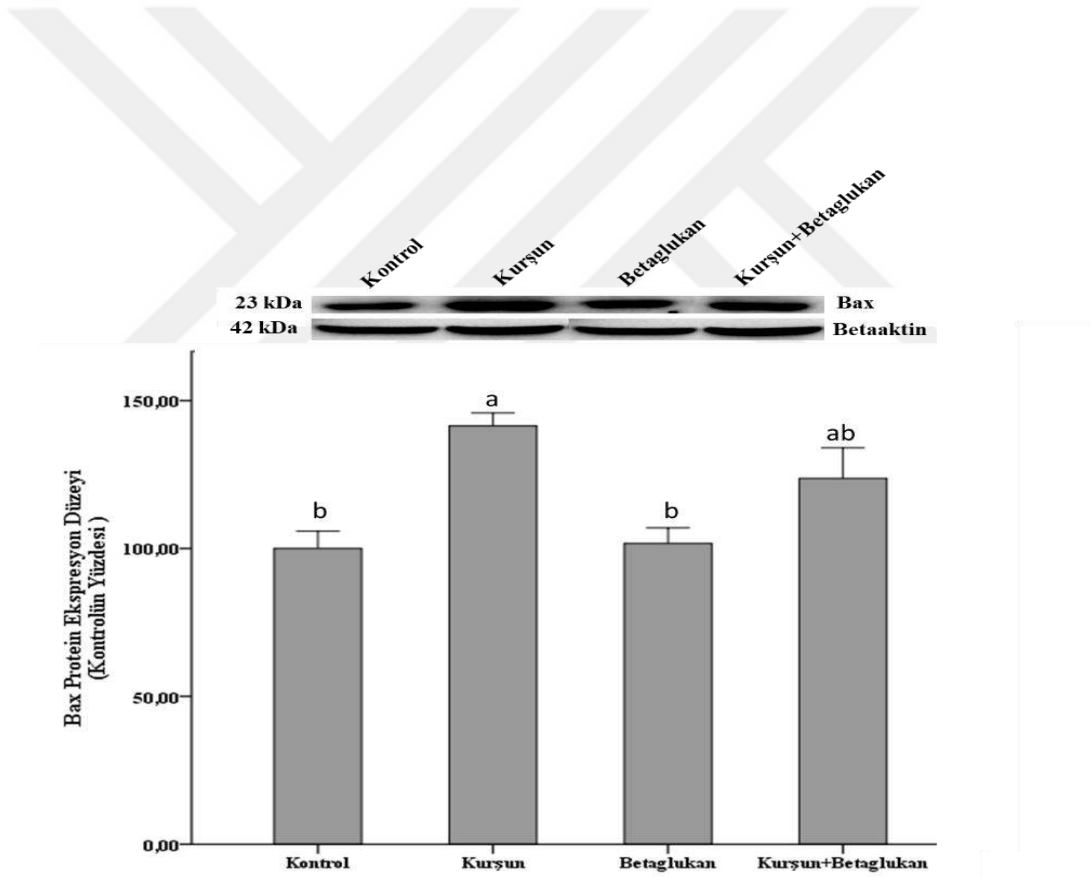
	Kontrol	Kurşun	Beta glukan	Kurşun + Beta glukan	P
MDA (nmol/g)	20.70 $\pm$ 1.91 ^c	31.26 $\pm$ 1.20 ^a	22.16 $\pm$ 0.96 ^{bc}	25.66 $\pm$ 1.36 ^b	$P<0.01$
GSH (nmol/g)	3.48 $\pm$ 0.22 ^a	2.78 $\pm$ 0.16 ^b	3.18 $\pm$ 0.10 ^{ab}	2.94 $\pm$ 0.19 ^{ab}	$P<0.05$
GSH-Px (IU/g protein)	5.46 $\pm$ 0.28 ^a	4.47 $\pm$ 0.15 ^b	5.77 $\pm$ 0.31 ^a	5.35 $\pm$ 0.29 ^a	$P<0.05$
CAT (kU/g protein)	2.65 $\pm$ 0.19 ^{ab}	1.64 $\pm$ 0.20 ^c	3.31 $\pm$ 0.36 ^a	2.19 $\pm$ 0.42 ^{bc}	$P<0.01$

Veriler ortalama $\pm$ S.E olarak ifade edilmiştir.

^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

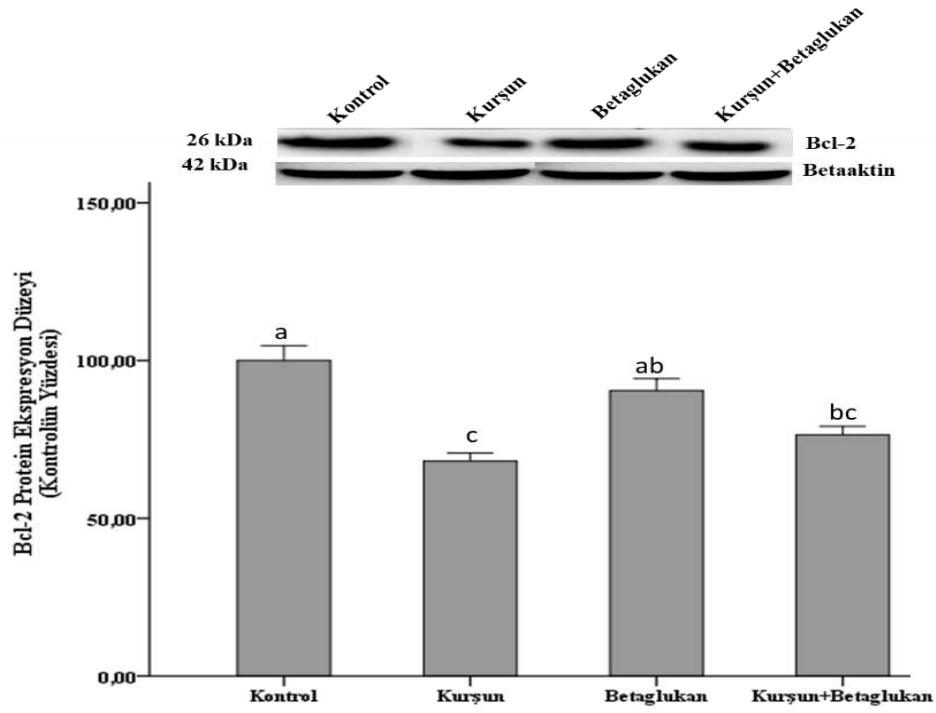
3.3. Grupların Karaciğer Dokusu Western Blot Analizi

Kurşun verilen grupta Bax-protein ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artarken, Bcl-2 protein ekspresyonu önemli oranda düşmüştür. Bax/Bcl-2 oranı ise yüksek ($P<0.01$) bulunmuştur. Kurşun toksikasyonlu ratlarda; beta glukon katkısı Bax/Bcl-2 oranını kontrol grubu kadar düşürmese de kurşun verilen gruba kıyasla önemli oranda düşürdüğü ($P<0.01$) tespit edilmiştir (Şekil 1, 2 & 3).



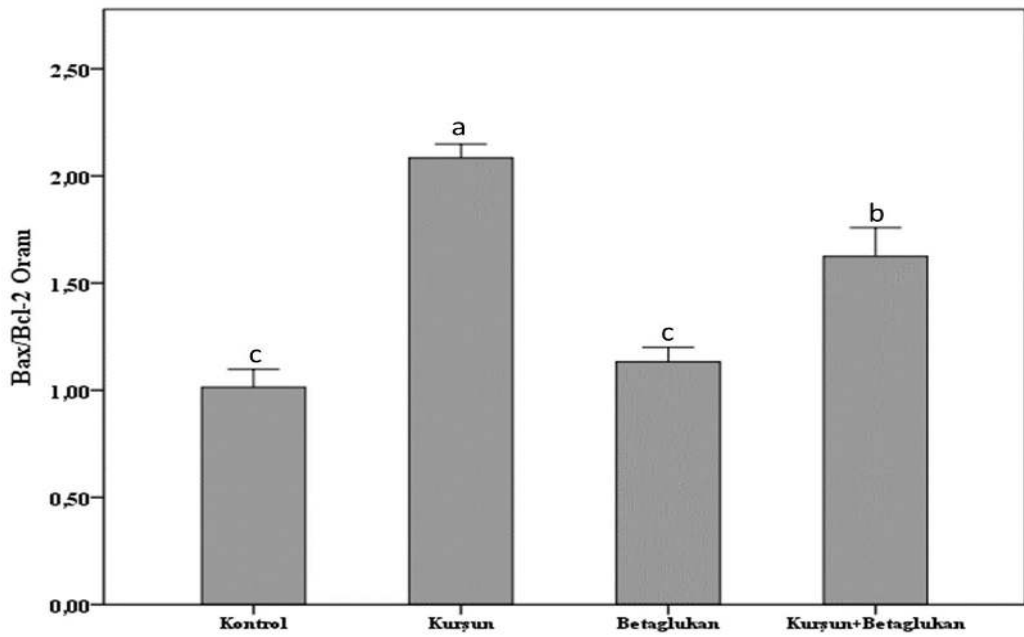
Şekil 1: Bax-protein ekspresyon düzeyi (Kontrolün yüzdesi)

^{a, b}: Sütunlarda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$).



Şekil 2: Bcl-2 protein ekspresyon düzeyi (Kontrolün Yüzdesi)

a, b, c: Sütunlarda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$).



Şekil 3: Bax/Bcl-2 oranı

a, b, c: Sütunlarda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$).

3.4. Sperma Parametreleri

Kurşun uygulamasının epididimal sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi, anormal sperm oranı ve bazı üreme organı ağırlıkları üzerindeki etkileri Tablo 4'de sunulmuştur. Kurşun uygulaması, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sperm motilitesi ($P<0.001$) ve sperm konsantrasyonunu ($P<0.05$) önemli ölçüde azaltırken, sperm kuyruklarında ve toplam sperm anormalliklerinde artışa neden olmuştur ($P<0.05$). Kurşun + beta glukan uygulanan grupta, kurşun uygulanan grup ile karşılaştırıldığında sperm motilitesi artarken, sperm kuyrukları ve toplam sperm anormallikleri azalmış, bununla birlikte sperm konsantrasyonu değişmemiştir.

Tablo 4: Sperma parametreleri

Sperma Parametreleri		Kontrol	Kurşun	Beta Glukan	Kurşun + Beta Glukan	P
Sperm Motilitesi (%)		64.28±2.02 ^a	43.33±3.33 ^b	63.33±3.33 ^a	62.0±3.74 ^a	0.001
Sperm Konsantrasyonu (Milyon/Sağ Cauda Epididimis)		272.0±20.81 ^a	190.66±11.75 ^b	294.0±34.06 ^a	227.60±21.2 ^{ab}	0.05
Anormal Sperm Oranı (%)	Baş	4.33±0.92	4.0±0.73	4.33±0.92	2.40±0.24	ÖD
	Kuyruk	5.0±0.63 ^b	2.66±0.66 ^a	5.0±0.63 ^b	3.0±0.31 ^a	0.05
	Total	9.33±1.23 ^b	6.66±0.84 ^a	9.33±1.23 ^b	5.4±0.51 ^a	0.05
Testis Ağırlığı	Sağ	1.47±0.16 ^b	1.94±0.08 ^a	1.47±0.16 ^b	1.80±0.06 ^{ab}	0.05
	Sol	1.56±0.16 ^b	1.92±0.08 ^a	1.56±0.16 ^b	1.80±0.03 ^{ab}	0.05
Epididimis Ağırlığı	Sağ	0.49±0.03 ^b	0.63±0.04 ^a	0.49±0.03 ^b	0.58±0.02 ^{ab}	0.05
	Sol	0.49±0.03 ^b	0.64±0.04 ^a	0.49±0.03 ^b	0.58±0.03 ^{ab}	0.05
Sağ Cauda Epididimis Ağırlığı (g)		0.26±0.01 ^a	0.18±0.01 ^b	0.25±0.01 ^a	0.24±0.01 ^a	0.05
Seminal Veziküller Ağırlık (g)		1.18±0.04	0.99±0.11	1.15±0.04	1.0±0.09	ÖD
Prostat Ağırlığı (g)		0.56±0.04	0.41±0.04	0.48±0.04	0.44±0.06	ÖD

Veriler ortalama ± S.E cinsinden ifade edilmiştir.

^{a, b}: Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil

4. TARTIŞMA

Kurşun toksisitesi oluşturulan ratlarda, beta glukan katkısının, yem tüketimi, canlı ağırlık değişimi, lipid peroksidasyon, antioksidan sistem, Bcl-2, Bax proteinleri ve sperma parametreleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla bu çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmada, 1-21 günlük periyotta kurşun grubunun canlı ağırlık, canlı ağırlık değişimleri ($P<0.05$) ve yem tüketimleri ($P<0.001$) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (Tablo 2) söz konusu parametrelerin önemli oranda azaldığı görülmüştür. Bu durum ratların kurşuna maruz kalmasından dolayı toksik etkinin başlamasına ve bu nedenle yem tüketimi ve canlı ağırlığı olumsuz etkilemesine bağlanmıştır. Nitekim tavşanlarda kurşun asetat toksisitesi oluşturulan bir çalışmada (69) 50 ve 70 mg/kg canlı ağırlık dozunda oral olarak kurşun asetat solüsyonu kullanılmıştır. Bizim çalışma sonuçlarıyla uyumlu olarak her iki dozda yem tüketiminin, canlı ağırlığın ve canlı ağırlık artışının kontrol grubuna kıyasla önemli oranda düştüğü bildirilmiştir (69). Bu durum kurşunun sindirim ve absorpsiyonu azaltarak sindirim sistemi üzerindeki doğrudan etkisine bağlanmıştır. Sindirim ve absorpsiyon üzerindeki etkisi özellikle iştah ve bazı minerallerin (Zn, Ca, Se, Cu ve Mg) kaybına neden olduğu ve ayrıca T3 ve T4 hormonlarındaki azalmayla ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Bazı çalışmalarda ise kurşun maruziyetinin hayvanlarda vücut ağırlığı üzerinde bir etkisinin olmadığı yönündedir. Ancak bizim çalışma sonuçlarımız yem tüketimini ve canlı ağırlığı düşürdüğünü bildiren çalışmalarla uyumludur (70, 71).

Çalışmada beta glukan katkısı (kurşun+beta glukan grubu) ise 1-21 günlük periyotta yalnız kurşun verilen grupla kıyaslandığında canlı ağırlıktaki düşüşü

önemli oranda yükseltmediği belirlenmiştir. Ancak beta glukan katkısı (kurşun+beta glukan grubu) yem tüketimini kurşun grubu ile kıyaslandığında önemli oranda artırmıştır ($P<0.001$). Beta glukanın sindirim sistemi üzerine etkileri üretim kaynağına bağlı olabilir. Maya ve mantar orijinli beta glukanların üretim performansını olumsuz etkilemeden bağışıklık sistemini güçlendirmeleri nedeniyle ideal immünomodülatörler olabileceği, ancak arpa kaynaklı beta glukanların özellikle kanatlılarda beta glukanaz enzimi yetersizliği ve böylece bağırsak içeriğinin viskozitesindeki artıştan kaynaklanan olumsuz etkisi nedeniyle hayvanın performansı ve sağlığı üzerinde pozitif bir etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir (18). Yine *Escherichia coli* lipopolisakkaritleri (10 mg/kg, haftada iki kez iv uygulama yapılarak) kullanarak enterit oluşturulan ratlarda beta glukanın (yulaf kaynaklı ekstraksiyon ve 69,700 g/mol diyet katılarak) yem tüketimi ve canlı ağırlık değişimi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada (72) beta glukanın yem tüketimi ve canlı ağırlıkta anlamlı bir iyileşmeye neden olmadığı bildirilmiştir. Beta glukanın plazma kolesterol düzeylerinde azalmaya ve ağırlık kaybına neden olduğu, diyabet ve obezite yönetiminde etkili olduğu bildirilmiştir (73). Bu çalışmada ve bazı literatür (72, 74) bildirişlerinde beta glukan katkısının canlı ağırlık değişimi üzerine anlamlı bir etkisinin olmayışı canlı ağırlık üzerine etkili olmadığı kanısını ortaya çıkarmıştır. Kurşun toksisitesinde beta glukan katkısının yem tüketimini artırmasının nedeni ise metabolizmada daha çok immun sistem modülatörü olarak görev yapmasına ve antioksidan özelliklerinden dolayı oksidatif stresi düşürerek yem tüketiminde iyileşmeye neden olmasına bağlanmıştır (73). Ancak bu çalışmada kurşun toksisitesinde beta glukanın yem tüketimi üzerine olumlu etkisi canlı ağırlığa yansımamıştır.

Bu çalışmada kurşunun karaciğer dokusu üzerindeki lipit peroksidasyona etkisini belirlemek amacıyla MDA düzeyi ölçülmüş ve kurşunun MDA düzeyini önemli ölçüde artırdığı belirlenmiştir (Tablo 3, $P<0.01$). Nitekim kurşun ile yapılan bir çalışmada bu çalışmadaki sonuçlarla benzer sonuçlar alınmıştır (75). Broylerler üzerinde yapılan bu çalışmada kurşun toksisitesini gidermek amacıyla askorbik asit kullanmışlardır. Kontrol, askorbik asit, kurşun ve kurşun + askorbik asit'ten oluşan çalışma gruplarında plazma MDA düzeyi sırasıyla 4.95, 5.79, 26.05 ve 8.81 IU/l olarak belirlenmiş, kurşunla verilen askorbik asitin plazma MDA düzeyini önemli oranda düşürdüğü bildirilmiştir ($P<0.001$) (75). Yine farklı bir çalışmada (76) ise ratlara 4 hafta boyunca 1 mg/kg periton içi kurşun asetat verdiklerinde karaciğer ve beyin MDA seviyelerinde önemli ($P<0.05$); böbrekte ise hafif bir yükselmeye ($P>0.05$) neden olduğu tespit edilmiştir. Kurşun toksisitesi oluşturulan ratlarda beta glukan katkısının (kurşun +beta glukan grubu) lipit peroksidasyon üzerine etkisi araştırılan bu çalışmada MDA düzeyinin beta glukan katkısıyla istatistiki olarak önemli oranda düştüğü belirlenmiştir (Tablo 3). Beta glukanın serbest radikal temizleyicisi olarak hareket ettiği bildirilmiş ve bu etkisi hidrojen transferi yapmasıyla ilişkilendirilmiştir. Serbest radikalleri temizleme özelliği MDA'nın düşmesine sebep olarak gösterilebilir (31, 72, 77). Nitekim *Escherichia coli* lipopolysaccharides ile enfekte edilen ratlarda yapılan bir çalışmada (72), beta glukan katkısının (yulaf kaynaklı ekstraksiyon ve 69,700 g/mol diyet katılarak) lipit peroksidasyonu düşürdüğü bildirilmiş, beta glukanın serbest radikaller için hidrojen transferi yaparak serbest radikalleri elimine ettiği, bunun yanında bağırsak mukozası üzerine beta glukanın vizkoz jel oluşturduğu böylece barsak mukozası üzerinde oluşan tahrişin beta glukan sayesinde önlendiği vurgulanmıştır. Diyabet

oluşturulan ratlar üzerinde yapılan farklı bir çalışmada ise (55); kontrol, diyabet ve diyabet + beta glukan grubunda beyin MDA düzeyleri sırasıyla 259.9, 454.7 ve 329.3 nmol/g protein olarak tespit edilmiştir. Diyabet ve diyabet + beta glukan grupları arasında istatistiki olarak önemli bir fark ortaya çıktığı belirlenmiştir ($P<0.002$).

Bu çalışmada karaciğer dokusunda GSH ($P<0.05$), GSH-Px ($P<0.05$) ve CAT ($P<0.01$) aktivitelerinde kurşun grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli oranda düşme tespit edilmiştir. Kurşunun antioksidan savunma sistemi üzerine bu olumsuz etkisi lipid peroksidasyon üzerine etkilerinden kaynaklanmaktadır (26, 27, 28). Ayrıca kurşunun antioksidan savunma sistemi üzerine etki şekillerinden biri sülfidril gruplarına karşı affinitesi ve kompleks yapılar oluşturmalarıyla alakalıdır. Nitekim antioksidan enzimlerden SOD, CAT, GSH-Px ve glukoz 6 fosfat dehidrojenaz gibi enzimlerde sülfidril grupları mevcuttur ve kurşun sülfidril gruplarıyla kompleksler oluşturup enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek etkilerini göstermektedirler (78). Bu çalışmada karaciğer GSH değerleri incelendiğinde kurşun grubunda GSH aktivitesinin kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli oranda düştüğü görülmüştür ($P<0.05$). Kurşun muamelesiyle birlikte beta glukan katkısının (kurşun+beta glukan grubu) karaciğer GSH düzeyini yükselttiği ancak bu yükselişin istatistiki olarak önemli oranda olmadığı tespit edilmiştir. Sitotoksik ve aynı zamanda kemoterapotik bir ilaç olan metotreksat toksikasyonu (tek doz 20mg/kg, ip) oluşturulan ratlarda beta glukanın (50 mg/kg, oral verilmiş, *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilmiştir) etkisi araştırılan bir çalışmada (79), karaciğer GSH aktivitesi kontrol grubuna kıyasla metotreksat etkisiyle önemli oranda yükselmiş ve beta glukan katkısı ise GSH aktivitesini önemli oranda

düşürmüştür ($P<0.01$). Yine basınç ülseri (dekübit ülser) oluşturulan ratlarda yapılan bir çalışmada (80) *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilen beta gluklan (1,3-1,6 beta -D-Glukan; 50 mg/kg oral) kullanılmıştır. Çalışmada karaciğer dokusundaki GSH düzeyleri incelenmiş ve kontrol grubu, dekübit ülser grubu, dekübit ülser + oral beta gluklan uygulanan gruplarda GSH değerleri sırasıyla 2.1, 1.5 ve 1.8 $\mu\text{mol/g}$ olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızla benzer olarak sadece kontrol grubuyla dekübit ülser grubu arasında istatistiki olarak önemli bir fark ortaya çıkmıştır ($P<0.05$). Beta gluklanın oral uygulaması karaciğer dokusunda GSH düzeyini artırmış ancak istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkarmamıştır.

Kurşun GSH-Px'in kofaktörü olan ve aktif merkezinde yer alan selenyum ile yer değiştirerek veya enzimin sülfidril grubuna geriye dönüşümsüz bağlanarak GSH-Px'in inaktivasyonuna yol açtığı bildirilmektedir (14). Enteritis oluşturulan ratlarda yapılan bir çalışmada (72), beta gluklanın (yulaf kaynaklı ekstraksiyon ve 69,700 g/mol diyet katılarak) dalak dokusunda antioksidan enzimlerden GSH-Px üzerine etkisi incelenmiş ve enteritis oluşturulan ratlarda beta gluklan katkısının dalak dokusunun GSH-Px aktivitesini önemli oranda düşürdüğü bildirilmiştir ($P<0.05$). Beta gluklanın bu olumlu etkisini bağırsak mukoza zarının iyileşmesi için elverişli bir ortam oluşturarak oksidatif stresi azaltmasına ve serbest radikallerden hidrojeni transfer edebilme yeteneğine sahip olmasına bağlamışlardır. Beta gluklanın yalnız kullanıldığı grubun GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuyla benzer olması yukarıda bahsedilen beta gluklanın oksidatif stresi azaltması ile ilgili pozitif özelliklerini teyit etmektedir (Tablo 3).

Bu çalışmada kurşun grubunun karaciğer CAT aktivitesi incelenmiş ve kontrol grubuna kıyasla önemli oranda azalma saptanmıştır ($P<0.01$). Kurşun toksisitesi ile ilgili kalp, akciğer ve kas dokusunda CAT aktivitesinin incelendiği farklı çalışmalarda ise (14, 81), bu çalışma ile benzer olarak CAT aktivitesinde önemli oranda azalmalar tespit edilmiştir. Kurşunun CAT aktivitesi üzerine etkisi hem sentezini inhibe etmesine bağlanmış ve bunun sonucu olarak CAT üretiminin azaldığı ve düşük aktiviteye sebep olduğu rapor edilmiştir (82). Ayrıca kurşunun CAT aktivitesini düşürmesi, kurşunun gastro-intestinal kanaldan demirin absorpsiyonunu azaltmasıyla da ilişkilendirilmiştir (83). Beta glukanın antioksidan savunma sisteminde etkin bir rolü olduğu bilinmektedir. Diyabetik ratlar üzerinde beta glukanın (tahıldan üretilen, 80 mg/kg, 4 hafta) etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (84), karaciğer ve böbrek dokusunda CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre önemli oranda yükseldiği görülmüştür ($P<0.05$). Bu çalışmada ise kontrol, kurşun ve kurşun + beta glukun grubunun karaciğer dokusunda CAT aktiviteleri 2.65, 1.64 ve 2.19 kU/g protein olarak belirlenmiş ve kurşun grubu ile kontrol grubu arasında önemli fark olduğu tespit edilirken kurşun + beta glukun grubunun kontrol ve kurşun grubu ile benzer olduğu belirlenmiştir. Beta glukanın antioksidan savunma sisteminde iyileştirici yönde etkisi olduğu ancak bu etkinin uygulanan doza bağlı olduğu düşünülerek kurşun toksikasyonunda CAT aktivitesinde olan düşüşü tam olarak düzeltmediği belirlenmiştir. Ancak kurşun +beta glukun grubunun kontrol grubuyla benzer bulunması iyileştirici etkisinin olduğu kanaatini ortaya koymuştur. Nitekim Mihailović ve ark.'nın (84), diyabetli ratlarda yaptığı çalışma sonuçlarında beta glukun katkısının diyabetli ratlarda karaciğer ve böbrekteki SOD düzeyini önemli ve belirgin ölçüde etkilerken CAT

aktivitesindeki etkinin daha az olduğunu ve CAT'ın daha dirençli olduğunu vurgulamışlardır. Ancak genel olarak değerlendirildiğinde diğer çalışmalarla uyumlu olarak beta glukan katkısının oksidatif stres durumunda antioksidan etkisinden dolayı savunma sistemini harekete geçirdiği ve olumlu yönde etki gösterdiği kanısı ortaya çıkmıştır (72, 84).

Bu çalışmada aynı zamanda grupların apoptozis parametreleri (Bax, Bcl-2 ve Bax/Bcl-2) üzerine etkilerine bakılmıştır. Kurşun grubunu incelediğimizde Bax protein düzeyinin kontrol grubundan yüksek olduğu, Bcl-2 düzeyinin ise önemli oranda düşük olduğu, Bax/Bcl-2 oranının ise kurşun grubunda önemli oranda kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Bax, Bcl-2 ve Bax/Bcl-2 bantlarının da bu sonuçlarla paralel olduğu Şekil 1, 2 ve 3'te gösterilmiştir. Kurşun grubundaki Bax'ın önemli oranda artması, Bcl-2'nin azalması ve Bax/Bcl-2'nin artması kurşun uygulamasının apoptozise neden olduğunun göstergesidir. Nitekim bu çalışma bulgularıyla uyumlu olarak erkek ratlarda kurşun toksikasyonu (20 mg/kg CA kurşun asetat ip olarak, 14 gün uygulama) yapılan bir çalışmada (54), kurşunun Bax/Bcl-2 oranını artırdığı ve apoptozise neden olduğu bildirilmiştir. Yine benzer olarak ratlarda 7 gün 15 mg/kg günlük dozda kurşun asetat intraperitoneal olarak kullanıldığı farklı bir çalışmada (85), rat beyinde apoptozis incelenmiş ve Bax/Bcl-2 oranı araştırılmıştır. Kurşun grubunun kontrol grubuna kıyasla Bax/Bcl-2 oranının önemli oranda yükseldiği ve kurşunun apoptozise sebep olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada Bcl-2 ekspresyonu beta glukanın yalnız kullanıldığı grupta kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Kurşun + beta glukan grubunda ise beta glukan katkısının yalnız kurşun verilen gruba kıyasla yükseldiği ancak buna rağmen

kontrol grubundan önemli oranda düşük olduğu ($P<0.01$) ve yükselmenin kurşun grubuna kıyasla istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. Beta glukan katkısının kurşun toksikasyonlu ratlarda Bcl-2 düzeyinde önemli oranda bir etki görülmediği belirlenmiştir. Bax ekspresyonunda ise beta glukan katkısı daha etkili bulunmuştur. Beta glukanın yalnız verildiği grubun Bax ekspresyonu kurşun grubundan önemli oranda düşüktü ($P<0.01$). Kurşun + beta glukan grubunun Bax ekspresyonunda ise kurşun ve beta glukanın yalnız verilen gruplarıyla kıyaslandığında istatistiki olarak benzer sonuçlar elde edildi. Beta glukan katkısı Bax ekspresyonunu kurşun toksikasyonlu ratlarda düşürdüğü ve Bcl-2'nin yükselmesine göre daha etkili olduğu görüldü. Bu etki önemli parametrelerden biri olan Bax/Bcl-2 oranına yansdı. Beta glukan katkısı kurşun toksikasyonlu ratlarda önemli oranda Bax/Bcl-2 oranını kontrol grubu kadar düşürmese de yalnız kurşun verilen grupla kıyaslandığında önemli oranda düşürdüğü tespit edildi ($P<0.01$). Bu durum beta glukanın apoptozis ile ilişkili Bax ve Bcl-2 ekspresyonları üzerine apoptozisi önlemede tam olarak kontrol düzeylerine getirmese de pozitif yönde katkılar sağladığını göstermiştir. Kurşun toksikasyonu (20 mg/kg CA kurşun asetat ip olarak, 14 gün uygulama) yapılan ratlarda beta glukan ile benzer özelliklere sahip (antioksidan ve antiinflamatuvar etkili) olan biyoflavanoid yapısında olan ve *Moraceae* ailesi bitkilerinden ekstrakte edilen morinin kullanıldığı bir çalışmada (76) beyin dokusunda Bcl-2, Bax ve Bax/Bcl-2 oranı incelenmiş elde edilen bant görüntülerinde kontrol grubunda Bcl-2 nin bariz şekilde yüksek olduğu ancak kurşun ve kurşun+morin grubunun bantlarının benzer boyutta olduğu, kurşun+morin grubunda hafif bir yükselme olduğu görülmüştür. Bax oranında ise kurşun+morin grubunun kurşun grubuna kıyasla belirgin bir düşme olduğu

bantların boyutlarından görülebilmektedir. Bu çalışmada beta glukan katkısının Thangarajan ve ark (54)'nın çalışmasıyla benzer sonuçlar verdiği görülmektedir. Kurşun toksikasyonunda morin katkısının (kurşun +morin grubu), beyin dokusundaki Bax/Bcl-2 oranı kurşun grubuyla kıyaslandığında istatistiki olarak kurşun ve kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Bu durum morin katkısının kurşun toksikasyonunda tam olarak iyileştirmese de pozitif yönde etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada Bcl-2 ve Bax ekspresyonlarında apoptozisi önleyici yönde etkiler pozitif yönde görülmüş, morin katkılı çalışmadan farklı olarak bu çalışmada Bax/Bcl-2 oranının beta glukan katkısıyla kurşun toksikasyonu oluşturulan ratlarda önemli oranda pozitif yönde etkili olduğu belirlenmiştir. Bu durum beta glukanın apoptozis üzerine onarıcı etkilerinin daha güçlü olmasına bağlanmıştır. Ancak beta glukanın tümör hücrelerinde apoptozisi artırdığı rapor edilmiştir (86). Nitekim Mo et al (86)'ın asites tümörü oluşturdukları çalışmada *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilen beta glukanın (1,3- beta -D-Glukan; 50, 100, 200 mg/kg, gavaj, 16 gün süreyle) tümör hücrelerinin volümünü ve ağırlığını düşürdüğü ve bu durumun sadece beta glukanın immuno sitümülasyon etkisinden değil aynı zamanda tümör hücreleri üzerine apoptotik etkisinden kaynaklandığı vurgulanmıştır. Aynı çalışmada tümör hücrelerinde Bcl-2'nin düştüğü, Bax'ın arttığı ve Bax/ Bcl-2 oranının her 3 dozda da önemli oranda yüksek olduğu ve doza bağlı olarak bu orandaki artışın linear bir artış gösterdiği tespit edilmiştir (P<0.01). Beta glukanın tümör hücreleri üzerindeki bu etkisi polisakkarit yapılarına ve polisakkaritlerin antiproliferatif etkilerine bağlanmıştır (85). Beta glukanın toksikasyonlarda apoptozisi azaltması ve tümör olgularında apoptozisi artırması immuno modölatör etkisiyle ilişkilendirilmiştir.

Kurşun toksisitesine maruz kalan hayvanlarda sperm sayısı, motilitesi ve morfolojik anormalliklerin arttığı bilinmektedir (87, 88). Bu çalışma ve diğer benzer çalışmalarda kurşun toksisitesinin lipid peroksidasyonunu artırdığı ve antioksidan savunma sistemini negatif yönde etkilediği (Tablo 3) belirlenmiştir (14, 81). Lipid peroksidasyonun artması sonucunda oluşan relatif oksijen türlerinin sperm motilitesini düşürdüğü bildirilmektedir. Nitekim Hsu ve arkadaşları (89), kurşunun ratlarda (intra gastrik uygulanan kurşunun dozu 10 mg/kg CA olacak şekilde haftada bir, 6-9 haftalık deneme sürecinde) spermatozoa üzerine şiddetli toksik etkiler oluşturduğu görülmüştür. Bu etkinin lipid peroksidasyona neden olan kurşunun reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak göstermesine bağlamışlardır. Yine aynı çalışmada sperm motilitesi üzerine bu negatif etkilerin antioksidan özellikteki Vitamin C ve Vitamin E katkılarıyla önlenemediği bildirilmiştir (89).

Bu çalışmada kurşun toksisitesi oluşturulan grubun sperm parametreleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kurşun verilen grubun incelenen parametreler yönünden (Tablo 4) istatistiksel olarak önemli oranda düştüğü tespit edilmiştir. Bu durum literatür bildirişleriyle uyumlu olarak kurşunun sperm parametreleri üzerine toksik etkiler oluşturduğunu teyit etmektedir (87, 88). Kurşun toksisitesinde beta glukon katkısı ise sperm parametrelerini olumlu etkilemiştir. Sperm motilitesi ($P<0.001$), total (baş ve kuyruk) anormal sperm oranı ($P<0.05$) ve sağ kauda epididimis ağırlığı ($P<0.05$) yalnız kurşun verilen gruba göre önemli oranda yüksek tespit edilmiş ve kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Diğer incelenen sperm parametrelerinde ise beta glukon katkısının yalnız kurşun verilen grup ile karşılaştırıldığında önemli bir fark olduğu görülmektedir. Beta glukon grubunun kontrol grubuyla benzer olması beta glukonun pozitif yönde etki ettiği kanaatini

doğurmuştur. Metotreksat verilerek testis üzerine toksik etki oluşturulan ratlarda beta glukan katkısının araştırıldığı bir çalışmada (90), beta glukan katkısının testis ağırlığını etkilemediği bildirilmiştir. İnfertil insanlarda beta glukanın sperm motilitesi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada (91) beta glukanın serbest radikal temizleyici özelliğinden dolayı sperm yapısını koruyucu özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Kısıtlı yemleme yapılan ratlarda (%40 daha az kalori) beta glukan katkısının sperm parametreleri üzerine etkisinin belirlendiği bir çalışmada ise (92), kontrol, kısıtlı yemleme, kısıtlı yemleme + beta glukan (20 mg/kg gavaj; 14 gün), beta glukandan (20 mg/kg gavaj; 14 gün) oluşan 4 grubun spermatolojik özellikleri incelenmiştir. Gruplarda sırasıyla sperm motilitesi %49.87, 64.38, 67.50 ve 74 olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Beta glukanın sperm motilitesini önemli oranda artırmasını antioksidan özelliği ile ilişkilendirmişlerdir. Diyetle çoklu doymamış yağ asitlerinin yüksekliği plazma zarını etkileyerek zarın yapısını bozduğu ve spermatozoa'yı ROS'a karşı savunmasız hale getirdiğini bildirilmiştir. Yine bu çalışmada testis ağırlıkları kısıtlı diyet grubunda düşmüştür. Yaptığımız çalışmada kurşun grubunda testis, epididimis ve sağ kauda epididimis ağırlıklarının kontrol grubuna kıyasla önemli oranda düştüğü görülmektedir ($P<0.05$). Ak Sonat ve ark (92)'nin yaptığı çalışmada kısıtlı diyet verilen grupta testis ve vesikula seminalis ağırlıklarının düşmesini testesteron ve luteinize hormon düzeylerinin düşmesine bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda da kurşun toksisitesinde testis, epididimis ve sağ kauda epididimis ağırlıklarının düşmesinin sebebi de bu hormon düzeylerinin azalması olabilir. Nitekim oksidatif stres durumlarında lipid peroksidasyon artışına ve antioksidan aktivitenin düşmesine bağlı olarak Leydig hücrelerinde testesteron sentezi bozulmaktadır (93). Bu çalışmada beta glukan

katkısının oksidatif stresi azaltıcı etkisiyle kurşun toksisitesinin oluşturduğu reproduktif organ ağırlık düşüşlerini önlediği ve kurşunun olumsuz etkilerini iyileştirdiği sonucuna ulaşılmıştır.



5. SONUÇ

Bu çalışma ile ratlarda kurşun toksikasyonunun canlı ağırlığı düşürdüğü ve dokulardaki oksidatif stresi arttırdığı gözlenmiştir. Kurşunun oluşturduğu karaciğer toksitilerinde oluşan oksidatif stresin rolü oldukça büyüktür. Çalışmada beta glukan katkısının kurşun toksitesine karşı kısmen koruyucu potansiyeli olduğu görülmüştür. Beta glukan uygulaması, karaciğer dokusundaki lipid peroksidasyonu engelleyerek etkisini göstermiş ve söz konusu dokuda GSH, GSH-Px ve CAT aktivitelerinin kısmen muhafaza edilmesini sağlamıştır. Kurşun toksisitesinde beta glukan katkısının yem tüketimini iyileştirdiği, canlı ağırlığı etkilemediği, serbest radikalleri temizleyerek antioksidan etkinliği artırdığı, toksisite kaynaklı apoptozisi azalttığı ve sperm parametrelerini kısmen düzelttiği görüldü. Beta glukan, kurşun toksisitesinde 50 mg/kg dozda pozitif yönde etkiler göstermiştir. Ayrıca bu çalışma sonuçları doğrultusunda kurşun toksisitesinde beta glukanın farklı dozlarda kullanılarak daha etkin doz sınırlarının belirlenmesi tavsiye edilmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Kara HB. Toplum Sağlığı Yönünden Kurşun Zehirlenmesi. Türk Aile Hekimliği Dergisi. 2002; 6(2): 78-83
2. Lewis R. Occupational Exposures Metals. In: LaDou J, ed. Current Occupational and Environmental Medicine, 3rd edition, McGraw-Hill Medical, USA California: San Francisco 2003: 429-459
3. Keser O, Tanay B. Beta-Glukanın Hayvan Beslemede Bağışıklık Sistemi ve Performans Üzerine Etkisi. Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg. 2008; 5(2): 107-119
4. Yapıcı G, Can G, Şahin Ü. Çocuklarda Asemptomatik Kurşun Zehirlenmesi. Cerrahpaşa Tıp Dergisi. 2002; Cilt (Sayı) 33 (3): 197-204
5. Sönmez O, Aydemir S, Saygan E. Kurşun ve Kurşun Biyo-Alınabilirliğinin Belirlenmesi. Hr. Ü. Z. F. Dergisi. 2007; 11(3/4): 1-8.
6. Dünder Y, Aslan R. Yaşamı Kuşatan Ağır Metal Kurşunun Etkileri. Kocatepe Tıp Dergisi. The Medical Journal Of Kocatepe. Mayıs 2005; 6: 1-5.
7. Yarsan E, Özdemir M, Turhan E. Sığırlarda Kurşunla Akut Zehirlenme Olgusu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 1996; 43: 277-279.
8. Aydın ŞN. Mineraloji - Petrografi - Jeokimya ve İnsan Sağlığı Arasındaki Bağıntılar. Jeoloji Mühendisliği S. 1989; 34-35: 18-27.
9. Okcu M, Tozlu E, Kumlay A, Pehlivan M. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri. Alinteri Journal of Agriculture Science. 2009; 17: 14-26

10. Mazıcıoğlu MM, Kaynar L, Çetin A, ve ark. Endüstriyel Kurşuna Maruz Kalmanın Pıhtılaşma Sistemi Üzerine Etkileri. Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal) 2008; 30(3): 150-156.
11. Özbolat G, Tuli A. Ağır Metal Toksisitesinin İnsan Sağlığına Etkileri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2016; 25(4): 502-521.
12. Grandjean P. Health significance of metals-lead. Maxcy-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine Ed: Last JM, Wallace RB. 1992; 13. Baskı: 389- 391.
13. Altıntaş A, Bilgil A, Çelik S, Eraslan G. İçme Suyu İle Farklı Dozda ve Değişik Sürede Kurşun Alımının Albino Farelerde Böbrek ve Sinir Sistemi Üzerine Etkisi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 2001; 48: 27-34.
14. Erişir M, Benzer F, Özkaya A, Dağ Ü. Kurşun Uygulanan Ratların Bazı Dokularında (Kalp, Akciğer, Beyin, Dalak, Kas) Oksidatif Stres Üzerine Naringenin Etkisi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 2018; 13(1): 34-41.
15. Yılmaz O, Dinç H. Ağır Metallerin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri. Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi. 2013; 24(2): 91-94.
16. Göker Ş. İstanbul Çocuklarında Kan Kurşun Taraması. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D., 1996.
17. Neathery MW, Miller WJ. Metabolism and Toxicity of Cadmium, Mercury and Lead in Animals. Journal of Dairy Science. 1975; 58: 1769-1781.

18. Yılmaz S, Bahçecioğlu İH. Karbontetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri. The Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 2000; 24: 25-28.
19. Seven İ, Aksu T, Tatlı Seven P. Propolis ve hayvan beslemede kullanımı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2007; 18: 79-84.
20. Yarsan E. Lipid Peroksidasyon Olayı ve Önlenmesine Yönelik Uygulamalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 1998; 9(1-2): 89-95
21. Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, et al. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. Toxicology Journal. 2002; 202: 227-235.
22. Çelik L, Serbester U, Kutlu HR. Kanatalı Hayvanlarda Oksidatif Stres Oluşumu ve Önlemi. Kümes Hayvanları Kongresi. Erciyes Üni Seyrani Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü 07-08 Ekim Kayseri 2010.
23. Leeuwenburgh C, Heinecke JW. Oxidative stress and antioxidants in exercise. Current Medicinal Chemistry 2001. 8: 829-838.
24. Fellenberg MA, Speisky H. Antioxidants their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. Word's Poultry Sci. J. 2006; 62(3): 53-70.
25. Tekcan M. Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. Infertilite, Androloji Bülteni 2009; 37: 131-136.
26. Ribarov SR, Benov LC. Relationship between The Hemolytic Action of Heavy Metals and Lipid Peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1981; 640: 721-726.

27. Çaylak E, Halifeoğlu İ. Sülfür İçeren Antioksidanların Kurşuna Maruz Kalmış Ratlarda Karaciger, Böbrek ve Beyin Malondialdehit ve Katalaz Düzeylerine Antioksidan Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2007; 27: 1-8.
28. Lawton LJ, Donaldson WE. Lead-Induced Tissue Fatty Acid Alterations and Lipid Peroxidation. *Biological Trace Element Research.* 1991; 28: 83-97.
29. Buhler DR, Miranda C. Antioxidant activities of flavonoids. The Linus Pauling institute 2000.
30. Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003; Part A, 136: 113-126.
31. Suchecka D, Błaszczak K, Harasym J, et al. Impact of purified oat 1-3,1-4-b-d-glucan of different molecular weight on alleviation of inflammation parameters during gastritis. *Journal of Functional Foods* 2017; 28: 11–18
32. Freeman BA, Crapo JD. Biology of Disease, Free Radicals and Tissue Injury. *Laboratory Investigation.* 1982; 47: 412-426.
33. Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin*, 1993; 49: 481-493.
34. Lee KG, Shibamoto T. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 4947-4952.
35. Wang W, Ballatori N. Endogenous Glutathione Conjugates: Occurrence and Biological Functions. *Pharmacological Reviews.* 1993; 50: 335-355.

36. Ozcelik D, Uzun H. Copper Intoxication; antioxidant defences and oxidative damage in rat brain. *Biological Trace Element Research*. 2009; 127: 45-52.
37. Hwang JM, Wang CJ, Chou FP, et al. Inhibitory effect of berberine on tert-butyl hydroperoxideinduced oxidative damage in rat liver. *Archives of Toxicology*. 2002; 76: 664-670.
38. Hung YC, Sava VM, Blagodarsky VA, Hong WY. Protection of tea melanin on hydrazineinduced liver injury. *Life Sciences*. 2003; 72: 1061-1071.
39. Toklu HZ, Sehirli AO, Velioglu Oğünç A, Cetinel S, Sener G. Acetaminophen-induced toxicity is prevented by β -D-glucan treatment in mice. *European Journal of Pharmacology*. 2006; 543: 133-140.
40. Tabet F, Touyz R. Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress, and Vascular Biology in Hypertension. *Comprehensive Hypertension*. 2007; Chapter 30: 337-347.
41. Eröz R , Karataş A , Alkoç O. ve ark.. Apoptozis Hakkında Bilinenler (Literatür Taraması). *Duzce Medical Journal*. 2012; 14(2): 87-101.
42. Turgut B., Demir T., Celiker Ü. Oftalmolojide Apopitoz. *Firat Med. J*. 2006, Cilt 11, Sayı 1: 006-011.
43. Kale Ç, Bingöl T. Role of Beta Glucan in Animal Nutrition. *Van Veterinary Journal*. 2015; 26(1): 43-47.
44. Avrupa Birliği Bakanlığı. “100 Konuda Avrupa Birliği’nin Günlük Hayatımıza Etkileri”.
https://www.ab.gov.tr/files/pub/aaa100soru_email2.PDF.

45. Ulusoy Aİ, Yenidoğan E, Dinç S, ve ark. Sıçanlarda İskemik Deri Fleplerinde Oral Beta glukanın Etkisi. Ulusal Cerrahi Dergisi 2012; 28(3): 139-142.
46. Karaçıl MŞ, Akbulut G. Tip 2 Diabetes Mellitus ve Beta Glukan. Beslenme ve Diyet Dergisi 2013; 41(3): 242-246.
47. Şener M, Canda E, Gürel D. Enteral Beta Glukanın Ratlarda Oluşturulan Deneysel Kısa Barsak Modelinde İntestinal Adaptasyon Üzerindeki Etkisi. Genel Tıp Dergisi 2011; 21(3): 95-99.
48. Boral ÖB, Büyükbaba Ö, Tamer GS, ve ark. Spiramisin ve Beta-Glukan Kombinasyonu Etkinliğinin Akut Toksoplazmozlu Fare Modelinde Araştırılması ve Il-10, Il-12 ve Tnf-A Düzeylerinin Belirlenmesi. Mikrobiyoloji Bülteni. 2012; 46(3): 446-455.
49. Gülmen Ş, Doğuç DK, Ceylan BG, ve ark. Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyonda Beta-Glukanın Böbrek Hasarı Üzerine Etkisi. Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2011; 19(2): 234-241.
50. Zhang B, Guo Y, Wang Z. The Modulating Effect Of B-1,3/1,6-Glucan Supplementation in The Diet on Performance and İmmunological Responses of Broiler Chicken. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 2008; 21: 237-244.
51. Erkol H, Kahramansoy N, Kordon Ö, ve ark. Tıkanma Sarılığında Beta Glukanın Karaciğer Hasarına Etkisi. Ulus Travma Acil Cerrahi Dergisi 2011; 17(4): 303-307.

52. Keleş DV, Uslu H, Keleş ON, Ünal B, Alp HH. Splenektomili Sprague-Dawley Türü Sıçanlarda Kapsüllü İnvaziv Streptococcus pneumoniae Sepsisinde Beta-D-Glukan'ın Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni. 2015; 49(3): 314-326.
53. Tanay B, Gürsel FE, Ateş A, Keser O. Effects Of Dietary B-Glucan on Serum Lipids and Performance İndices in Rats Fed a Diet Enriched With Cholesterol. Pakistan Veterinary Journal. 2012; 32: 97-100.
54. Thangarajan S, Vedagiri A, Somasundaram S, Sakthimanogaran R, Murugesan M. Neuroprotective effect of morin on lead acetate- induced apoptosis by preventing cytochrome c translocation via regulation of Bax/Bcl-2 ratio. Neurotoxicology and Teratology. 2018; 66: 35-45.
55. Alp H, Varol S, Celik M, et al. Protective effects of b glucan and gliclazide on brain tissue and sciatic nerve of diabetic rats induced by streptozosin. Experimental Diabetes Research. Volume 2012; 1687–5214.
56. Placer AZ, Linda LC, Johnson B. Estamination of product of lipid peroxidation (Malonly Dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem 1966; 16: 359-364.
57. Goth L. A Simple Method For Determination of Serum Catalase Activity and Revision of Reference Range. Clinica Chimica Acta. 1991; 196: 143-151.
58. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Analytical Biochemistry. 1968; 25: 192–205.

59. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione Peroxidase Activity in Selenium-Deficient Rat Liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1976; 71: 952–958
60. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein Measurement With Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951; 193: 265-275
61. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, et al. Measurement Of Protein Using Bicinchoninic Acid. *Analytical Biochemistry*. 1985; 150: 76-85
62. Laemmli UK. Cleavage Of Structural Proteins During The Assembly Of The Head Of Bacteriophage T4, *Nature*. 1970; 227: 680-685.
63. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic Transfer Of Proteins From Polyacrylamide Gels To Nitrocellulose Sheets: Procedure And Some Applications. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* 1979; 76: 4350-4354.
64. Kielkopf CL, Bauer W, Urbatsch IL. Expressing Cloned Genes For Protein Production, Purification and Analysis. In: Green Mr, Sambrook J. (Editors) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (4th Edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York 2012: 1599-1625.
65. Bass JJ, Wilkinson DJ, Rankin D, et al. An Overview Of Technical Considerations For Western Blotting Applications to Physiological Research. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2017; 27: 4-25.
66. Bearden HJ, Fuquay JW. *Applied Animal Reproduction*. 3rd Ed. Englewood Cliffs, New Jersey. 1992.

67. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, et al. Lycopene Protects Against Cyclosporine A-Induced Testicular Toxicity in Rats. *Theriogenology* 2007; 67: 778-785.
68. Spss, Inc. Spss For Windows Release 11.5 (6 Sep. 2002), Standard Version, Copyright Spss Inc. Chicago. 1989-2002.
69. Taha HSA, Abdelnour SA, Alagawany M. Growth performance, biochemical, cytological and molecular aspects of rabbits exposed to lead toxicity. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2019; 103: 747-755.
70. Minnema P, Hammond B. Effect of lead exposure on patterns of food intake in weanling rats. *Neurotoxicology and Teratology*. 1994; 16: 623– 629.
71. Khalil SR, Elhady WM, Elewab YHA, Abd El-Hameed NE, Alib SA. Possible role of *Arthrospira platensis* in reversing oxidative stress-mediated liver damage in rats exposed to lead. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018; 97: 1259–2126.
72. Błaszczyk K, Wilczak J, Harasym J, et al. Impact of low and high molecular weight oat beta-glucan on oxidative stress and antioxidant defense in spleen of rats with LPS induced enteritis. *Food Hydrocolloids*. 2015; 51: 272-280.
73. Bozbulut R, Sanlier N. Promising Effects of β -Glucans on Glycemic Control in Diabetes. *Trends in Food Science & Technology*. 2019; 83: 159–166
74. Jacob JP, Pescatore AJ. Barley β -glucan in poultry diets. *Annals of Translational Medicine*. 2014; 2(2): 20

75. Erdoğan Z, Erdoğan S, Aksu T, Baytok E. The Effects of Dietary Lead Exposure and Ascorbic Acid on Performance, Lipid Peroxidation Status and Biochemical Parameters of Broilers. *The Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*. 2004; 29: 1053-1059
76. Patra RC, Swarup D, Dwivedi SK. Antioxidant Effects of α -Tocopherol, Ascorbic Acid and L-Methionine on Lead-Induced Oxidative Stress of The Liver, Kidney and Brain in Rats. *Toxicology Journal*. 2001; **162**: 81–88.
77. Bai J, Ren Y, Li Y, et al. Physiological functionalities and mechanisms of β -glucans. *Trends in Food Science & Technology* 2019; 88: 57–66
78. Hsu PC, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology Journal*. 2002; 180: 33-44.
79. Sener G, Ekşioğlu-Demiralp E, Cetiner M, Ercan F, Yeğen BC. β -glucan ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. *European Journal of Pharmacology*. 2006; 542: 170–178.
80. Sener G, Sert G, Sehirli AO, Arpak S. Pressure ulcer-induced oxidative organ injury is ameliorated by β -glucan treatment in rats. *International Immunopharmacology*. 2006; 6: 724–732
81. Upasani CD, Balaraman R. Protective effect of Spirulina on lead-induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytotherapy Research*. 2003; 17: 330-334.

82. Omobowale OT, Oyagbemi AA, Akinrinde AS, et al. Failure of recovery from lead induced hepatotoxicity and disruption of erythrocyte antioxidant defence system in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2014; 37: 1202-1211.
83. Sannadi S, Ryala PK, Gottipolu RR. Reversal effect of monoisoamyl dimercaptosuccinic acid (MiADMSA) for arsenic and lead induced perturbations in apoptosis and antioxidant enzymes in developing rat brain. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2013; 31: 586-97.
84. Mihailović M, Arambašić J, Uskoković A. β -Glucan administration to diabetic rats reestablishes redox balance and stimulates cellular pro-survival mechanisms. *Journal of Functional Foods*. 2013; 5: 267-278.
85. Sharifi AM, Baniasadi S, Jorjani M, Rahimi F, Bakhshayesh M. Investigation of acute lead poisoning on apoptosis in rat hippocampus in vivo. *Neuroscience Letters*. 2002; 329(1): 45-48.
86. Mo L, Chen Y, Li W, et al. Anti-tumor effects of (1 $\rightarrow$ 3)- β -d-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* in S180 tumor-bearing mice. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017; 95: 385-392.
87. Sokol RZ, Berman N. The effect of age of exposure on lead-induced testicular toxicity. *Toxicology Journal*. 1991; 69: 269-278.
88. Sokol RZ, Okuda H, Nagler HM, Berman N. Lead exposure in vivo alters the fertility potential of sperm in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1994; 124: 310-316.

89. Hsu PC, Liu MY, Hsu CC, Chen LY, Guo YL. Effects of vitamin E and/or C on reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm. *Toxicology Journal*. 1998; 128(3): 169-179.
90. Koc F, Erisgin Z, Tekelioglu Y, Takir S. The effect of beta glucan on MTX induced testicular damage in rats. *Biotechnic & Histochemistry*. 2018; 93(1); 70-75.
91. Piomboni P, Gambera L, Serafini F, et al. Sperm quality improvement after natural anti-oxidant treatment of asthenoteratospermic men with leukocytospermia. *Asian Journal of Andrology*. 2008; 10(2): 201-206.
92. Ak Sonat F, Alcay S, Toker MB, Peker S, Ustuner B. The effects of dietary restriction and administration of β -glucan from *Euglena gracilis* on the sperm characteristics and reproductive organs of rats. *Andrologia*. 2018; 50(9): e13088.
93. Soleimanzadeh A, Kian M, Moradi S, Mahmoudi S. Carob (*Ceratonia siliqua* L.) fruit hydro-alcoholic extract alleviates reproductive toxicity of lead in male mice: Evidence on sperm parameters, sex hormones, oxidative stress biomarkers and expression of Nrf2 and iNOS. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2020; 10(1): 35–49.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	Osman Ersin KANMAZ
Doğum Yeri	ELAZIĞ / MERKEZ
Doğum Tarihi	23.01.1990
E-Mail	kanmaz_2323@hotmail.com
Telefon	0 (506) 353 84 23

LİSANS EĞİTİM BİLGİLERİ

Üniversite	Fırat Üniversitesi
Fakülte	Veteriner Fakültesi
Bölüm	Veteriner

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurum	Elazığ İli Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği
Görevi/Pozisyonu	Proje Teknik Elemanı / Veteriner Hekim
Tecrübe Süresi	5 yıl

KATILDIĞI BİLİMSEL ETKİNLİKLER

Sertifika Programları	Tarım Danışmanlığı Sertifika Programı – (02.07.2019) / ANKARA
	Besi Sığırcı Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Sertifika Programı – (15.10.2019 - 17.10.2019) / ELAZIĞ
	Arı Yetiştiriciliği Sertifika Programı – (13.11.2019 - 14.11.2019) / ELAZIĞ
	Koyun-Keçi Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Sertifika Programı – (27.11.2019 - 29.11.2019) / ELAZIĞ
Eğitim Programı	Damızlık Seçiminde Çevre Faktörlerinin Etkisi ve Standartlaştırma, Damızlık Seçimi ve Ayıklamada Dikkat Edilecek Kriterler Eğitimi (05.11.2019 – 06.11.2019) / KONYA