

Kurşunun çocuklardaki antioksidan enzimler üzerine etkileri ve antioksidanların tedavi edici/koruyucu rolü

Emrah Çaylak¹, İhsan Halifeoğlu²

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹Biyokimya Uzmanı, ²Biyokimya Profesörü

SUMMARY: Çaylak E, Halifeoğlu İ. (Department of Biochemistry and Clinical Biochemistry, Fırat University Faculty of Medicine, Elazığ, Turkey). The effects of lead on antioxidant enzymes in children and the therapeutic/prophylactic role of antioxidants. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2010; 53: 159-173.

Lead is a toxic metal, and is still present in our environment – in water, soil, and imported products manufactured with lead. Lead intoxication is the foremost environmental health threat to children in the world. Children are far more susceptible to lead neurotoxicity than adults because they absorb a higher fraction of lead and have a developing system of cell differentiation and growth that is more vulnerable to inhibition and damage. However, it has also been indicated that low-level exposures of lead result in cognitive dysfunction, neurobehavioral disorders, neurological damage, hypertension, and renal impairment. A common factor in the mechanism of all lead toxicities is oxidative damage. It increases production of free radicals and decreases availability of antioxidant reserves to respond to the resultant damage. The pathogenesis of lead toxicity is multifactorial, as interrupting enzyme activation, inhibiting trace mineral absorption, binding to sulfhydryl proteins, altering calcium homeostasis, and lowering the level of available sulfhydryl antioxidant reserves in the body. Calcium disodium EDTA and DMSA have been used as chelative agents for lead abatement in both adults and children. While chelation is the conventional recommendation for acute lead toxicity, chronic exposure is still under investigation. In addition to appropriate treatment for toxic metal exposure and accumulation, it is also important to minimize the effects of the metal. In this article, the role of antioxidants in the treatment of lead-related pathologies will be addressed.

Key words: lead, children, oxidative stress, antioxidant.

ÖZET: Kurşun zehirli bir metal olup, çevremizde halen su, toprak ve önemli üretim malzemelerinde bulunmaktadır. Kurşun zehirlenmesi Dünya üzerinde çocuklar için en başta gelen çevresel sağlık sorunlarından biridir. Çocuklar yüksek oranda kurşunu absorbe ettikleri ve gelişen bir bünyede kolayca inhibisyona ve hasara uğrayabilen hücre farklılaşması ve büyümesi geçirdiklerinden dolayı yetişkinlere oranla kurşun zehirlenmesine oldukça duyarlıdır. Bununla birlikte, çok düşük miktarlardaki kurşunla karşılaşmanın kavrama bozukluğu, nörodavranışsal hastalıklar, sinirsel zedelenme, hipertansiyon ve böbrek yetmezliğine yol açtığı gösterilmiştir. Kurşunun ana etkisi oksidatif zedelenme gelişmektedir. Serbest radikallerin miktarını arttırması ve zedelenmeye cevap verebilecek antioksidanların miktarını azaltmasıdır. Kurşun zehirlenmesinin patogenezi ise çok faktörlüdür (enzim aktivasyonunun kesilmesi, iz minerallerin absorpsiyonunun engellenmesi, sülfhidrilli proteinlerin bağlanması, kalsiyum homeostazının değiştirilmesi ve vücutta bulunan sülfhidrilli antioksidanların miktarının azaltılması gibi). Kalsiyum disodyum EDTA ve DMSA yetişkinlerde ve çocuklarda kurşunun temizlenmesi için kullanılan şelatif ajanlardır. Akut kurşun zehirlenmesinde şelasyon önerilen bir yöntem olmasına karşın; kronik karşılaşma için araştırmalar halen devam etmektedir. Zehirli metalle karşılaşmanın ve vücutta birikiminin önlenmesine ek olarak metalin etkilerin en düşük düzeye getirilmesi de önemlidir. Bu makalede, kurşunla ilgili rahatsızlıkların düzeltilmesinde

antioksidanların rolü açıklanacaktır.

Anahtar kelimeler: kurşun, çocuklar, oksidatif stres, antioksidan.

Kurşun, birçok ülkede endüstride yaygın olarak kullanılmasından dolayı geniş ölçüde yayılarak; çevresel bir problem teşkil etmektedir. Pil, akümülatör, boya, pigment, plastik, seramik sanayi, dökümhane ve kaynak işlerinde çalışanlar için önemli birer mesleki tehdit oluşturmaktadır. Toplumun geneli ise gıdalar ve sular ya da endüstriyel baca dumanları veya benzin içindeki kurşunun havayı kirletmesi ile kurşunla karşılaşmaktadır¹.

Kurşunla karşılaşma özellikle solunum yolu ve gastrointestinal kanaldan olmaktadır. Nefesle çekilen kurşunun yaklaşık %30-40'ı kan dolaşımına geçmektedir². Gastrointestinal kanaldan emilim beslenme durumuna ve yaşa bağlı olarak değişmektedir. Bağırsaklarda demirin kurşun emilimini engellediği bilinmekte ve çocuklarda demir eksikliği kurşunla karşılaşmayı arttırmaktadır³. Diyetle fazla miktarda kalsiyum verilmesi hayvanlarda ve yetişkin ile çocuklarda kurşun absorpsiyonu azaltmaktadır⁴. Aynı şekilde magnezyum, fosfat, alkol ve diyetin yağ oranının yüksek olması da emilim oranını düşürmektedir⁵. Gelişme çağındaki çocuklar besinler ve su ile aldıkları kurşunu %50 oranında absorbe ederken, bu oran yetişkinlerde ise %10-15'e kadar düşmektedir [6]. Deri yolu ile ise benzene eklenen tetraetil-kurşun iyi derecede emilirken; boya, besinler, su ve vinil (pvc) kaplama ürünlerindeki inorganik kurşun kısmen emilmektedir⁷.

Kurşun emildikten sonra kan dolaşımında %99 oranında eritrositlerde, geri kalan kısmı serum ve plazmada bulunur ve yarı ömrü yaklaşık 30-35 gündür. Bu düşük yarı ömür nedeniyle altı hafta sonrasında vücuda giren kurşun kanda tespit edilememektedir. Daha sonra karaciğer, böbrek, beyin, akciğerler gibi yumuşak dokular ile diş ve kemiğe dağılır^{1,8}. Hayat boyu kemiklerde biriken kurşun ölçümü genellikle tibiadan yapılır ve gelişmekte olanlarda 3 µg/g, 30-50 yaş arasında 17 µg/g, ve 75 yaş üstünde ise 30 µg/g olarak ölçülmüştür⁹. Bu da genellikle uzun süre kurşunla karşılaşılmasa bile kemiklerden salınarak kan kurşun düzeylerini yüksek olarak tutabilmektedir. Gebelik, emzirme, menopoz sonrası kemik erimesi,

hipertirodizm gibi hallerde kemikten kurşun salınımı olabilmektedir. Yetişkinlerde kurşunun yaklaşık %85-95'i kemiklerde depolanırken, bu oran %70'lere düşmekte ve tehlikeli bir biçimde geri kalan kısmı yumuşak dokulara dağılmaktadır².

Kurşun insanlarda birçok enzimi inhibe etmekte ve fizyolojik sistemleri de etkilemektedir. Kurşunun laboratuvar hayvanları ile insanlarda merkezi ve periferik sinir sistemi, hemapoitik sistem, kalp-damar sistemi, kadın ve erkek üreme sistemi üzerine fizikokimyasal, biyokimyasal ve davranışsal fonksiyon bozukluklarına neden olduğu gösterilmiştir¹⁰⁻¹³. Klinik olarak, çocukluklarda sinirsel gelişimi etkilemekte; yetişkinlerde ise kalp-damar sisteminde hipertansiyona neden olmaktadır. Akut olarak gastrointestinal toksisite belirtileri; kronik olarak ise kan hücreleri ve sinir sisteminde zedelenmeler ortaya çıkarmaktadır. Çocuklarda akut şekilde ensefalopati ile yüksek konsantrasyonlarda nefropati, nöropati, kafa içi basınç artışı, konvülsiyon ve ölüme yol açabilmektedir. Subklinik olarak vücutta biriken kurşunun birçok gizli nörolojik zedelenmelere, zayıf akademik başarıya, davranış bozukluklarına, işitme azlığına ve zekâ kaybına neden olduğu gösterilmiştir¹³. Kurşun sinirsel etkilerini pikomolar düzeylerde bile kalsiyumla yarışmalı şekilde serebellumda fosfokinaz C için bağlanma yerlerine taklit şeklinde (mimik) etki göstermesi ile yapmaktadır. Bu durum hücrelere kalsiyum girişini, nöronal fonksiyonları ve mitokondrilerin yapısal özelliklerini değiştirerek, hücresel solunumu, kalsiyuma bağlı hücresel reaksiyonları ve nöronal sinyali engellemektedir. Sonuç olarak, spontan olarak nörotranmitterlerin salınımının artışı ve uyarımların kontrolünün engellenmesi ortaya çıkmaktadır^{14,15}.

Kurşunun organizma üzerine etkileri ve tanı

Kurşunla akut karşılaşmada geri dönüşümlü olarak karaciğer fonksiyonlarında bozukluk (AST ve ALT'de artış), kronik karşılaşmada ise böbreklerde hiperürisemi ve kreatinin klerensinde azalma görülebilir (Tablo I)^{13,16}. Kan kurşun değerlerinin (PbB) 10 µg/dl'nin altında olduğu değerlerde dahi PbB'de normale

Tablo I. Kurşun zehirlenmesindeki laboratuvar bulguları.

Bulgular	Özellikler
↓ Alyuvar ALAD	En düşük 3 µg/dl başlamak üzere PbB ile ters orantılıdır
↑ İdrar ALA	Çocuklarda 25 µg/dl, kadınlarda 35 µg/dl ve erkeklerde 45 µg/dl PbB'den sonra artış gösterir
↑ Alyuvar protoporfirin (PP) veya ZnPP	Yetişkinlerde 30 µg/dl ve çocuklarda ise 15 µg/dl PbB'nin altında duyarlılığı düşüktür
Kan hücreleri sayımı	Bazofilik cisimciklerle karakterize normokromik veya hipokromik anemi, retikülosit miktarında yükselme (tüm değerler 50 µg/dl ve üzerindeki PbB'de görülür)
Akut kurşun zehirlenmesi	Yüksek BUN (idrar üre nitrojeni), serum kreatinin, serum ürik asit ve idrarda aminoasit, glukoz ve fosfat miktarları

ALA aminolevütünik asit, ALAD ALA dehidratöz,

göre her 10 kat artışta serum kreatininin 0.14 mg/dl kadar arttığı gözlenmiştir¹⁶. Kurşuna bağlı proksimal tübüler zedelenme, glomerüler skleroz ve interstisyel fibroz gibi böbrek rahatsızlıkları özellikle meslekleri nedeniyle kurşunla karşılaşan işçilerde görülmektedir. Belirtiler arasında proteinüri, glukoz ve organik aniyonların taşınmasında bozulma ve glomerüler filtrasyon oranında düşüş bulunur^{17,18}.

Yükselmiş PbB (20-29 µg/dl) ile tüm dolaşım ve kalp-damar sistemi hastalıklarına bağlı mortalite oranlarında önemli artış görülmüştür¹⁹. Aynı şekilde klinik ve popülasyon çalışmalarında meslek nedeniyle karşılaşmış bireylerde hipertansiyon, serebrovasküler ve kalp-damar sistemine ait hastalıklarla ilgili korelasyon bildirilmiştir^{20,21}. Uzun süreli düşük dozda kurşunla karşılaşmanın da insan ve hayvanlarda hipertansiyona yol açtığı gösterilmiştir²². Kurşunla artan hipertansiyonun etki mekanizması endotelium kaynaklı nitrik oksidin inaktivasyonunun arttırılmasından ve reaktif oksijen türevleri (ROS) oluşturulmasından kaynaklanabilir. Ding ve arkadaşları ise hipertansiyonun kurşunun oluşturduğu hidroksil radikallerinin endotelial disfonksiyona sebep vermesiyle oluştuğunu bildirmiştir²³.

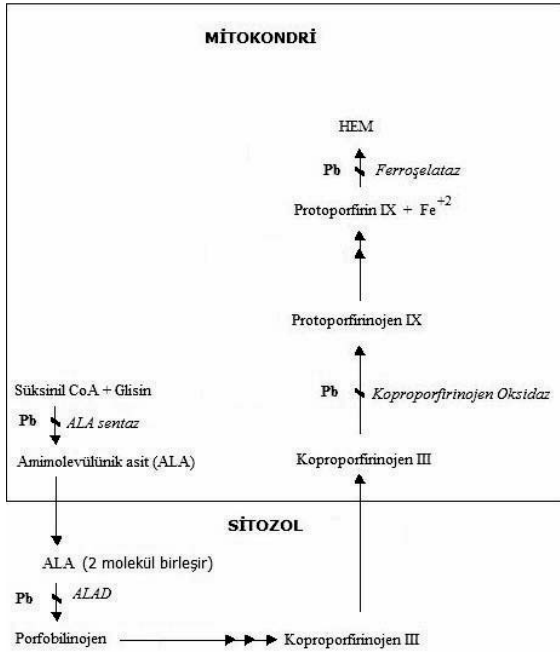
Kurşun dolaşımında yoğun olarak bulunduğu için en yoğun etkisini hemapoietik sistemde göstermektedir. Kurşun tarafından alyuvarların ömrü kısaltılmakta, "Hem" sentezinin çeşitli

adımları inhibe edilerek (Şekil 1), hemoglobin sentezi engellenmekte ve mikrositer anemi ortaya çıkmaktadır¹³. Kurşunun kadın ve erkek üreme sisteminde toksik etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar da yapılmıştır. Kurşunla ilgili işlerde çalışan kadınlarda spontan abortus, ölü doğum ve düşük ağırlıkta çocuk doğurma sıklığında artış olduğu bildirilmiştir. Erkeklerde ise sperm ve testisler üzerine toksik etki, hiperspermi (aşırı meni hacmi), teratospermi (morfoloji bozukluğu), astenospermi (az hareketlilik) ve hipogonadizm (gonadlarda küçüklük) oluşabilmektedir^{13,24}.

Kurşun, Uluslararası Kanser Araştırmaları Merkezi (IARC) tarafından insanlar için muhtemel karsinogenliğe yükseltilmiştir²⁵. İnsanlarda sigara içimi ile kurşun alınması sonucunda akciğer kanseri ve kurşunla karşılaşmaya bağlı olarak gelişen böbrek, mide ve idrar kesesi kanserleri bildirilmiştir²⁶.

Biyokimyasal parametreler

Kurşun zehirlenmesinin tanısı zordur; çünkü belirtileri özel değildir. Erişkin hastada kolik ağrısı, anoreksi, kabızlık, uykusuzluk ve huzursuzluk; bazen düşük hemoglobin düzeyleri ve serum bilirübin düzeyinde artışın ortaya çıkması ile tanı konulabilir^{1,13}. Ayrıca kurşunla karşılaşma olan bir işte çalışma öyküsü ile klinik belirti ve bulguların da önemi olmakla birlikte; kesin tanı atomik absorpsiyon yöntemi kullanılarak kan kurşun düzeylerinin



Şekil 1. Hem inhibisyon basamakları.

(PbB) belirlenmesiyle yapılır. Çocuklarda ve gebe kadınlarda 10 µg/dl, yetişkinlerde 40 µg/dl'nin üstü PbB anlamlı kabul edilmektedir. Özellikle kan çinko protoporfirin (ZnPP) düzeyinin ölçülmesinden de faydalanılmaktadır. Erişkin erkeklerde PbB 25 µg/dl'nin üzerinde olduğunda, ZnPP konsantrasyonu da anlamlı olarak artmaktadır¹³. Kadınlarda demir düzeyinin daha az olması nedeniyle daha düşük PbB'de ZnPP'de artış gözlenir. Çocuklarda PbB 15 µg/dl olduğunda ZnPP'de artış olur²⁷. Kurşunla karşılaşma için en çok başvuru ve en güçlü biyomarker PbB'nin ölçülmesidir; ancak Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency-EPA) kurşun için toksik bir eşik düzey olmadığını açıklamıştır. Bu da vücuda zarar vermeyecek miktarda kurşun seviyelerinin olmadığı anlamına gelmektedir. Ayrıca EPA su ile alınabilecek en fazla PbB'nin sıfır olması gerektiğini de vurgulamıştır²⁸.

Kurşun zehirlenmesinin en çok etkilediği hücreler eritrositlerdir. In vitro çalışmalarda kurşunun eritrositlerde de oksidatif stresi indüklediği gösterilmiştir^{29,30}. Bu durum kurşunla karşılaşan işçilerin eritrositlerinde de ölçülmüştür^{12,31}. Eritrositler oksidatif zedelenmeye karşı; oksijene yüksek konsantrasyonda karşılaşmaları, yapılarındaki hemoglobinin kolayca otooksidasyona uğraması, membranlarının lipid peroksidasyonuna duyarlı olması ve zedelenen

yapı taşlarını tamir etme yeteneklerinin sınırlı olması nedeniyle oldukça duyarlıdır. Kurşun bu sistemi; hem ve hemoglobin yapımını önleyerek, eritrosit morfolojisini ve ömrünü değiştirerek etkiler^{30,32}. Kurşun hem sentezinde yer alan ALA sentaz, ferroşelataz ve ALA dehidrataz (ALAD) enzimlerinin aktivitesini engellemektedir (Şekil 1)²⁹. Özellikle PbB 20 µg/dl'nin üzerine çıktığında ALAD aktivitesinin %50'si inhibisyona uğramaktadır. Buna rağmen ALAD ile PbB değerleri birbiri ile pozitif korelasyon göstermediği için kurşun zehirlenmesinin tanısında kullanılmamaktadır³³. ALAD'ın inhibisyonu sonucunda ortamda biriken aminolevülinik asit (ALA)'nın idrar düzeyleri sıklıkla tanıda kullanılmasına rağmen sadece yetişkinlerde 35 µg/dl'nin; çocuklarda ise 25-75 µg/dl'nin üzerindeki PbB'de etkili olmaktadır. Fakat düşük dozda karşılaşmada tam olarak ölçülebileceği bir biyomarker bulunmamaktadır³⁴.

Ferroşelataz enzimi protoporfirin (PP) içerisine demirin sokulmasını katalizlemekte ve kurşun tarafından inhibe edilmektedir. Böylece eritrosit ZnPP düzeyleri ortamda yükselmekte ve demir yerine çinko bağlanmaktadır. Oluşan ZnPP değerleri ancak PbB 35 µg/dl'nin üzerine çıktığı zaman akut kurşun zehirlenmesinin tanısında kullanılabilir. ZnPP için eşik tanı değeri yetişkinlerde 30 µg/dl; çocuklarda ise 15 µg/dl'dir³⁵. Fakat porfirialar, karaciğer sirozu, demir yetersizliği, alkolizm gibi etkenlerin de hem sentezine aynı etkiyi yapabilmesi ZnPP'nin tanıda kullanımına sınırlama getirmektedir³⁴.

Kurşun yine pirimidin 5'-nükleotidazın aktivitesini de azaltarak, alyuvarlardaki pirimidin nükleotidlerinin miktarında bir artış ve olgunlaşmalarını engelleyerek mikrositer anemiye neden olmaktadır. Mikroskopta alyuvarlarda bazofilik cisimciklerin görülmesi ve hemoliz tanıya yardımcı olur; fakat benzen ve arsenik gibi diğer zehirlenmeler ve enzim eksikliğinde de benzer belirtiler görülebilir. Bazofilik cisimcikler ile mikrositer, normositer ya da hipokromik anemi ancak yetişkinlerde 50 µg/dl; çocuklarda ise 25-40 µg/dl PbB'de görülmektedir ve yine ne bazofilik cisimcikler ne de hipokromik anemi düşük dozlarda kurşunla karşılaşmanın bir ölçüt olamamaktadır³⁶. Hemoglobin değeri ise PbB yetişkinlerde 50 µg/dL; çocuklarda ise 40 µg/dL olmadıkça düşmeye başlamamaktadır³⁵.

Kurşun besinle alınan D vitaminin aktif şekli olan 1,25-dihidroksivitamin D'ye

dönüşümünü engellemektedir. Çocuklarda yapılan çalışmalarda bu etkinin anlamlı düşük düzeylerinin PbB 33-120 µg/dl arasında görüldüğü, hatta 12 µg/dL kadar düşük PbB'de bile belirlendiği bildirilmiştir³⁷. Yine 62 µg/dl'nin üzerindeki PbB'de total ve iyonize serum kalsiyum değerleri düşerken; parathormonun ise yükseldiği bildirilmiştir³⁸.

Kurşunun hücrel antioksidan enzim sistemlerine etkileri

Kurşun zehirlenmesinin patogenezi multi-faktöriyel olup, doğrudan kurşunun enzim aktivasyonunu engellemesi, yarışmalı inhibisyonla iz minerallerin emiliminin engellenmesi, sülfhidrilli proteinlere bağlanması (yapısal proteinlerin sentezinin engellenmesi), kalsiyum homeostazının bozulması ve vücut için gerekli olan sülfhidrilli antioksidanların miktarının azaltılması şeklinde sıralanabilir²⁹. Kurşunla karşılaşmaya bırakılmış sıçanlarda ve insanlarda ALAD, G6PD, glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi bazı antioksidanların değişimleri üzerine birçok çalışma yapılmıştır^{11,29,30,39}. Kurşun zehirlenmesinin biyokimyasal basamaklarının bilinmesi kurşunun hücrelerin antioksidan komponentlerine etki ederek, prooksidan/oksidan oranında bozulma ile oksidatif zedelenme oluşturduğunu düşündürmektedir. Çünkü kurşun, civa ve kadmiyum gibi metaller; amino asitlerin az stabil yan zincirlerine, merkaptit, sülfhidril gruplarına ve sisteinin -SH grubuna yüksek afinite ile bağlanmaktadır.

Kurşun, birçok enzimin -SH grubuna bağlanarak onları inhibe etmektedir. Hem sentezinde yer alan ALAD, bunlardan en çok bilinen enzimdir^{11,29,30,39}. Kandaki kurşunun % 70'i eritrositlerde ALAD'a bağlanıp onu inhibe etmekte; ancak geri kalan kısmı hem sentezi enzimlerini ve sülfürlü antioksidan enzimleri inhibe edebilmektedir⁴⁰. ALAD, sekiz benzer alt ünitelerden oluşmakta ve sekiz adet-SH grubu taşımaktadır. ALAD'ın kurşunu yüksek oranda bağlaması vücudu kurşuna bağlı oksidatif stresten korumaktadır⁴¹. Ayrıca sıçanlar ve insanlarda yapılan incelemelerde kurşun inhibisyonuna cevap olarak ALAD enziminde kompenzasyon için bir artış olduğu da gösterilmiştir⁴². İlk olarak bu artış

dolaşımdaki eritrositlerde gerçekleşmekte; 5-7 gün sonra ise kemik iliğindeki eritroblastlarda kurşunla karşılaşmaya bağlı olarak uyarılan genlerin etkisiyle enzim indüksiyonu gerçekleşmektedir⁴³. Hücreler dışı gerçekleştirilen bir inceleme de kurşunun ALAD'ın de novo sentezini indüklediğini desteklemektedir⁴⁰. Muhtemelen benzer şekilde dolaşımdaki ve kemik iliğindeki eritrositlerde GSH-Px, CAT ve SOD da kurşuna bağlı enzim indüksiyonuna uğramaktadır.

Kurşun tarafından inhibe edilen bir diğer enzim glukoz-6-fosfatı NADPH üzerinden okside ederek 6-fosfoglukonata dönüştüren ve pentoz fosfat yolunun ilk basamak enzimi glukoz-6-fosfat dehidrojenazdır (G6PD). G6PD, hücrenin mitokondri dışı reaksiyonlarının en önemli NADPH kaynağıdır. Bu NADPH, glutatyon disülfiti (GSSG) GSH'ya indirgeyen glutatyon redüktaz (GR) tarafından kullanılır. G6PD, eritrositler için önemlidir. Çünkü bu hücrelerde mitokondri bulunmamaktadır^{11,29,30,39}. Bazı in vitro denemelerde kurşunun G6PD'yi inhibe ettiği bildirilmiştir. Kurşun-sülfhidril bileşiklerinin oluşarak bu etkinin ortaya çıkması muhtemeldir^{29,30}. Lachant ve arkadaşları⁴⁴ kurşunla inkübe etmeden önce G6PD'nin aktivitesini, GSH ve merkaptotanol gibi bazı tiyol bileşikleriyle ortadan kaldırarak, kurşunun -SH ve GSH ile etkileşimlerini incelemişlerdir. G6PD için, glukoz-6-fosfat ve NADP ile kurşunun kinetik çalışmaları sonucunda kompetitif olmayan inhibisyon ile yarıştıklarını ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, pentoz fosfat yolunun inhibisyonunun kurşunla oluşan oksidatif zedelenmeye karşı eritrositleri daha da hassaslaştırdığı sonucuna varmışlardır. Fakat in vivo çalışmalar kurşunun G6PD üzerine etkilerinin daha karmaşık olduğunu göstermiştir. Vücuttaki pentoz fosfat yolu kritik NADPH düzeyini sağlamak için yüksek depo kapasitesine sahiptir. NADP/NADPH oranının düzenlenmesinde oksidatif stres şartlarında durum okside şekli lehinedir. Bu şartlar altında normalde fosforile glukozun pentoz fosfat yoluna girmesi %11 iken, oran %92'ye kadar çıkabilmektedir^{29,30}. Kurşunla karşılaşmış sıçan, hayvan ve insanlardaki eritrositlerde G6PD'nin artmasıyla ilgili yukarıdaki uyum mekanizması son çalışmalarla gösterilmiştir³⁰. Fakat Calderon-Salinas ve arkadaşları⁴⁵, aksine G6PD düzeyinin düştüğünü; Rogers ve arkadaşları⁴⁶ ise kurşunla karşılaşmadan sonra eritrositlerdeki G6PD

aktivitesinin değişmediğini göstermiştir. Ayrıca G6PD eksikliğine bağlı olarak kurşun zehirlenmesine yatkınlık artmaktadır⁴⁷. Özetle G6PD düzeyi; kurşunla karşılaşma, alınan konsantrasyon, karşılaşma süresi ve oksidatif stresin hücrelerin içine ulaşmasına göre artmakta veya azalmaktadır.

GSH, glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelmiş bir tripeptittir ve vücuttaki dokulara bağlı olmayan sülfürün %90'ını sağlamaktadır. Bundan dolayı GSH hücreleri oksidatif strese karşı korumada hayati bir rol oynar. Bunu ya -SH grupları sayesinde ROS ile ilişkiye girerek enzimatik olmayan antioksidan etkiyle ya da ROS'un detoksifikasyonunda koenzim veya kofaktör olarak enzimatik yolla gerçekleştirir^{29,30,48}. GSH, OH· ve singlet O₂ gibi ROS'ların temizleyicisidir. Metalleri bağlayacak bir amino grubu, bir sülfhidril grubu, iki adet peptit bağı ile karboksilik asit grupları taşımaktadır. Kurşun, -SH grubuna bağlanarak, GSH'nin antioksidan aktivitesini ve düzeyini düşürmektedir^{29,30,48}. Kurşunla karşılaşmaya bağlı olarak hayvanlarda, yetişkin ve çocuklarda kan GSSH düzeylerinin önemli azaldığı bildirilmiştir⁴⁹⁻⁵¹.

GSH-Px tarafından H₂O₂ ve diğer lipid peroksitlerin redüksiyonu sırasında glutasyon, okside glutatyona (GSSG) dönüştürülür. Bu okside formun ileride kullanılmak üzere tekrar redükte GSH'ya dönüştürülmesi gereklidir. Çünkü organizmanın glutasyon deposu sınırlıdır. Flavın nükleotidlere bağımlı bir enzim olan glutasyon redüktaz (GR), pentoz fosfat yolundan elde edilen NADPH varlığında, glutasyon disülfiti tekrar redükte glutatyona (GSH) çevirir⁵². Kurşun, bu enzimin aktif bölgesinde bulunan disülfite direk olarak bağlanarak inhibisyonuna neden olmaktadır. Bu inhibisyon ise GSH/GSSG oranını düşürerek, hücreleri oksidatif zedelenmeye karşı daha duyarlı kılmaktadır^{29,30,48}. Diğer taraftan glutasyon-S-transferaz (GST)'ler ise organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynayan bir enzim ailesidir. Ayrıca GSH-Px aktivitesi de gösterirler. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitleri (ROOH), Se-bağımsız olarak etkisizleştirirler⁵³. Meslek nedeniyle kurşunla karşılaşmış işçilerde azalmış GSH düzeylerine paralel GR, GSH-Px ve GST⁵² ve diğer bir çalışmada değişmemiş GSH-Px ve GR düzeyleri⁵⁴ ölçülmüştür. GSH-Px ile kurşun

arasındaki ilişki GST ile benzerlik taşımakta ve GST ile ilgili Dock'un⁵⁵ yapmış olduğu çalışma ile ortaya koyduğu şekilde karaciğer ve böbrekte kurşun ile indüklendiği, Suzuki ve arkadaşlarının⁵⁶ kurşun asetat verilmesinin GST mRNA düzeylerini arttırdığı ve bunu kurşunun α₂-mikroglobüline bağlanarak oluşan kompleksin çekirdeğe taşınarak transkripsiyonu stimüle etmesiyle gerçekleştirdiğini bildirilmiştir.

Diğer yandan GSH-Px, CAT ve SOD ise metalloproteinler olup, antioksidan etkilerini sırasıyla peroksitler, H₂O₂ ve O₂'yi enzimatik olarak detoksifiye ederek gösterirler. Buraya kadar anlatılan enzimler aktiviteleri için eser elementlere ihtiyaç göstermekte; bu da kurşun toksisitesi için onların duyarlılıklarını arttırmaktadır^{29,30,48}.

GSH-Px, düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında GSH'nin okside glutatyona (GSSG, glutasyon disülfid) oksidasyonunu katalize eder; bu arada H₂O₂ de suya dönüştürülerek detoksifiye edilmiş olur⁵². Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda kurşunun GSH-Px düzeylerini arttırdığı⁵⁷; bir çalışmada ise azalttığı [58] belirlenmiştir. Grubumuz tarafından da sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada eritrosit GSH-Px düzeyleri kurşun tarafından yükseltilmiştir⁵⁹. Kurşunla karşılaşan işçilerde ise GSH-Px enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir^{12,60,61}. GSH-Px'deki artışın kurşunun uyardığı oksidatif strese karşı vücudun gösterdiği savunma yanıtına bağlanmıştır.

Katalaz (CAT), peroksizomlarda lokalize olmuş ve her birinin yapısında "hem" grubu ile bir molekül NADPH bulunan dört alt üniteden meydana gelmiş bir antioksidan enzimdir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. SOD aracılığıyla oluşmuş olan H₂O₂, OH· radikalinin öncüsü olması nedeniyle vücudun antioksidan savunma sistemi için önemli bir tehdittir. Bu nedenle birçok ROS'dan daha fazla oksidatif hasara neden olur. Katalaz ortamda yüksek konsantrasyonlarda H₂O₂ bulunduğunda (K_m'si milimolar değerdedir), onu iki aşamada su ve moleküler oksijene parçalar. CAT'ın peroksidaz aktivitesi H₂O₂'in yanı sıra, küçük moleküllü lipid hidroperoksitleri ve kendi yapısına demir katmak amacıyla metanol, etanol, nitrit ve formik asidi de içine alır⁵². Prostetik grup olarak hem taşıyan CAT

da antioksidan etkiye sahip diğer bir enzimdir. Kurşunun gastrointestinal sistemden demir emilimini engellediği ve hem sentezini inhibe ettiği, böylece CAT aktivitesini düşürdüğü bildirilmiştir³⁰. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda kurşunun CAT düzeylerini arttırdığı⁵⁷; kimi çalışmalarda ise azalttığı⁵⁸ belirlenmiştir. Grubumuz tarafından sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada da eritrosit CAT düzeyleri kurşun tarafından yükseltilmiştir⁶². Kurşunla karşılaşan işçilerde ise CAT enzim aktivitelerinin değişmediği⁵⁴ veya arttığı⁶³ bildirilmiştir. CAT'daki bu artışın kurşunun uyardığı oksidatif strese karşı vücudun gösterdiği savunma yanıtından kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

SOD, süperoksidi hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir. Oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikalının zararlı etkisine karşı koruyan SOD enzimi; ayrıca fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde de rol oynamaktadır. Oksijen kullanımının yüksek olduğu dokularda enzimin aktivitesi yüksek iken; hücre-dışı alanda enzim aktivitesi oldukça düşüktür⁶⁴. Kurşunla yapılan deneysel ve klinik çalışmalar sonucunda elde edilen kan SOD düzeyleri ile ilgili bulgular iki uçludur. Kurşunla karşılaşan sıçanlarda yapılan çalışmada eritrosit-SOD aktivitesinin düştüğüne⁵⁸ veya yükseldiğine^{58,59} işaret edilmiştir. Yine sıçanlar üzerinde yaptığımız çalışmada da eritrosit SOD düzeyleri kurşun tarafından yükseltilmiş olarak bulunmuştur⁶². Monteiro ve arkadaşları⁶⁰ kurşunla karşılaşan iki farklı fabrikadaki işçiler ile kontrol grubu üzerinde yaptıkları çalışmada SOD enzim aktivitesini önemli oranda yüksek ve kan kurşun düzeyinin 40 µg/dl'nin üzerinde olan bireylerde ise kurşunla paralel artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. SOD enzimidaki artışı oksihemoglobinin methemoglobine oksidasyonu sonucunda ortamda meydana gelen süperoksit iyonlarının SOD enzim biyosentezini kemik iliğindeki eritroblastlarda indüklemesine bağlamışlardır. Benzer artış diğer mesleki olarak kurşun karşılaşma çalışmalarında da tespit edilmiştir⁵⁴.

Kurşun zehirlenmesinde tedavi ve koruyucu amaçla antioksidanların kullanımı

Kurşunla karşılaşan dokularda ROS oluşumu artmakta ve hücredeki antioksidan mekanizmalarının tüketilmesi ile prooksidan/antioksidan denge bozulmaktadır. Hücredeki

kritik moleküllerin oksidatif hasara uğraması ile doku zedelenmesi oluşmaktadır. *In vitro* çalışmalarda kurşunun eritrositlerde de oksidatif stresi indüklediği gösterilmiştir^{29,30}. Bu hipotez kurşunla karşılaşan işçilerin eritrositlerinde yapılan analizlerle de desteklenmiştir^{12,31}. Kurşuna bağlı oksidatif stres ile ilgili çalışmalar, kurşunla indüklenen zararlara karşı tedavi sürecinin antioksidanlarla destekleneceğini düşündürmektedir. Kurşun zehirlenmesinde kullanılan antioksidanlar kurşunun bağlandığı bileşiklerde onun yerine bağlanarak, dokulardan kurşunu uzaklaştırırlar ya da vücutta endojen olarak kurşunun oluşturduğu oksidatif zedelenmeye karşı koyarlar. Kurşunun oluşturduğu oksidatif stresin azaltılmasında antioksidanlar tek başlarına ya da şelatör maddelerle birlikte kullanılabilirler^{12,31}.

Vitamin B₆ (Tiamin)

Vitamin B₆'nın kurşun intoksikasyonunda verilmesinin ALAD aktivitesi inhibisyonunu ve çinko-protoporfirin düzeyini azalttığını gösterilmiştir. Ayrıca kan, böbrek ve karaciğer kurşun düzeylerinin düştüğü; beyin kurşun düzeyinde ise bir azalmanın olmadığı görülmüştür⁶⁵. Bu etkilerini vitaminin pirimidin halkasındaki nitrojen atomu ile amino grubu ya da tiyazol halkasındaki sülfür atomu ve yan zincirdeki hidroksil grubunun kurşun ile şelat oluşturması yoluyla veya kurşunun emilimini azaltarak yaptığı ileri sürülmüştür^{11,65}. Vitamin B₆ ile yetersiz beslenen ve kurşunla karşılaşmaya bırakılmış sıçanlarda kontrole göre GSH düzeyleri daha düşük bulunmuştur⁶⁶. Vitamin B₆'nın bu durumu GSH metabolizmasındaki transsülfürasyon yolunda kofaktör olmasıyla açıklanmıştır^{30,66}. GSH'nın prekürsörü olan sisteinin çoğu, diyetle alınan metiyoninden sentezlenmektedir. Bundan dolayı vitamin B₆ alımındaki bir eksiklik metiyonine bağımlı sisteinden GSH sentezini önlemektedir. Bu sonuç kurşunla karşılaşan sıçanlarda maruz vitamin B₆'nın GSH sentezini arttırarak dolaylı olarak antioksidan bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır³⁰. CaNa₂EDTA ile birlikte tiamin verilmesi beyinin de arasında bulunduğu dokulardan kurşunun ayrılarak, idrarla daha fazla atılmasına ve kurşunun oluşturduğu biyokimyasal parametrelerde düzelmeye neden olmuştur. Bu esnada tiaminin dokulardan kurşunu ayırıp, atılabilir bileşikler oluşturarak etkisini gösterdiği de düşünülmektedir.

Çinko

Kurşun *in vivo* olarak aktif bölgelere bağlanmada çinko ile yarışmaktadır. Deneysel olarak kurşunla birlikte çinko verilmesi, ALAD gibi çinkoya bağımlı enzimlerin aktivitesini geri döndürmekte ve idrarla ALA atılımını da azaltmaktadır. Düşük dozda alındığında kurşun zehirlenmesine karşı koruyucudur ve etkisini gastrointestinal kanaldan kurşun emilimini önleyerek göstermektedir. Ayrıca böbrek ve karaciğerde metalotiyoninleri artırarak da kurşunun etkilerini azaltmaktadır. Çinkonun sıçanlarda kurşun zehirlenmesinin tedavisi ve önlenmesinde tek başına ya da metiyonin veya tiamin ile birlikte kullanımının yararlı olduğu gösterilmiştir. Çinko, metiyonin, çinko+metiyonin verilerek yapılan sıçan çalışmasında GSH'nın prekürsörü olan metiyoninin tek başına ya da çinko ile birlikte karaciğer GSH düzeyini koruduğu belirlenmiştir¹¹. Çinkonun antioksidan etkisini; oksidasyona karşı sülfhidril gruplarını koruyarak ve geçiş metalleri ile ROS (OH⁻ ve O₂⁻) oluşumunu önleyerek gösterdiği belirtilmiştir⁶⁷.

Vitamin E

Vitamin E, kurşuna karşı koruyucu etkisini okside edici ajanlara karşı doğrudan antioksidan özelliği ile göstermektedir¹¹. Kurşun, eritrositlerin mekanik kırılabilirliğini (fragilitelerini) artırarak kolay deforme olabilir hale getirmekte ve oksidatif strese karşı daha duyarlı kılmaktadır. Kurşunla karşılaşan eritrositlerin filtre edilebilirliği polikarbonat filtreden gözlemlenir ve süre tutularak saptanmıştır. Vitamin E bakımından eksik beslenen sıçanlarda eritrositlerin filtrasyon süresi vitamin E ile beslenenlerden daha uzundur ve eritrositlerin filtrasyon süresi ile lipit peroksidasyonu arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur. Bu sonuçlar insanlarda kurşun karşılaşma durumunda yüksek dozda vitamin E alınmasının eritrositlerin deforme ve oksidatif hasara karşı dayanıklılığını arttıracaklarını göstermiştir⁶⁸. Bir başka çalışmada ise vitamin E'nin koruyucu olarak verilmesinin kurşunla karşılaşıldıktan sonra hayvanların tedavisi esnasında verilmesine göre daha etkili olduğu gösterilmiştir⁶⁹. Bu durumun kurşunun emiliminin vitamin E tarafından önlenmesinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Vitamin C (askorbik asit)

Diğer bir antioksidan molekül olan askorbik asit sulu fazlarda çok hızlı elektron transferi gerçekleştirerek, oksijen radikallerini temizlemektedir. Kurşuna karşı yararlı etkisini ise onunla bileşik oluşturması sayesinde göstermektedir. Hayvanlarda etkili olurken, insanlarda plasebo ile birlikte yapılan çalışmalarda etkili olamamıştır¹¹. Kurşunla karşılaşmış sıçanlarda askorbik asidin tek başına veya tiaminle birlikte verilmesi kurşunun idrarla eliminasyonunu arttırmakta, karaciğer ve böbrek kurşun düzeyini azaltmakta ve kan ALAD aktivitesinin inhibisyonunu önlemektedir. Askorbik asidin kurşunla bileşik oluşturabilmesi, bu yararlı etkisini açıklamaktadır⁷⁰. ABD'de sağlıklı bireyler arasında yapılan bir tarama çalışmasında serum askorbik asit düzeyleri ile kurşun düzeyleri arasında ters bir ilişki olduğunu gösterilmiştir⁷¹. Bu nedenle kurşunla ilgili çalışma ortamına bağlı tehditte askorbik asidin fazla alınmasının kurşun zehirlenmesini önleyeceği düşünülebilir.

Selenyum

Selenyum, hücrelerin antioksidan savunma sistemlerinde anahtar bir rol alan GSH-Px'in aktivitesinde elzem bir elementtir. Kurşun enjeksiyonu öncesi selenyum verilmesi; serum asit ve alkalik fosfatazlar, transaminazlar (SGOT, SGPT), total protein, trigliserit ve kolesterol düzeylerinde kurşunun yaptığı değişikliklere karşı koruyucu etki oluşturmuştur⁷². Ayrıca oksidatif stres parametreleri ile ilişkili iki hedef organ olan karaciğer ve böbrekte erkek albino sıçanlarda 100 mol/kg dozda kurşun uygulanmasından iki saat sonra 10 mol/kg kas içi sodyum selenit enjeksiyonu sonrasında analizler yapılmıştır. Selenyumun SOD ile GR aktivitesini ve GSH miktarını artırarak hücrelerin antioksidan kapasitesini geliştirdiği bulunmuştur. Selenyum bu koruyucu etkisini; inaktif selenyum-kurşun bileşiği oluşturarak, süperoksit radikalinin temizlenmesinde görevli SOD'u stimüle ederek ve yeterli miktarda GSH bulunduğu glutatyon redüktazın antioksidan etkisini indirek olarak arttırarak gerçekleştirmektedir^{11,72}.

S-adenozil-metiyonin

S-adenozil-metiyonin (SAM) metiyoninin bir metaboliti ve önemli bir metil vericisidir. Metiyonin gibi vücudun sülfür gerektiren

birçok metabolik yolunda gereklidir. Gerekli SAM metiyoninden sentezlenir; fakat metilasyondaki bir bozukluk ya da sentezi için gereken metiyonin, kolin veya folatın eksikliği sentezini azaltabilir. SAM, membranların akıcılığını sağlayan membran fosfolipitlerinin sentezindeki transmetilasyon reaksiyonunda metil vericisi olarak ana bir role sahiptir. SAM içeren diğer bir metabolik yol ise molekülden transsülfürasyonla bir metil grubunun ayrılması ile S-adenozil-homosistein oluşmasıdır. Bu bileşik homosisteine ve sonra glutatyonun öncülü olan sisteine dönüşür^{73,74}.

GSH'nın prekürsörü olan SAM'in kurşun-etanol verilen sıçanlarda beyin, kan ve karaciğerde bazı biyokimyasal parametreleri (kan ALAD ve GSH'sı; beyin ve karaciğer lipid peroksidasyonu ölçütleri ile GSH miktarı) koruduğu görülmüştür⁷⁴. Bundan dolayı, beyin ve karaciğerin kurşun+etanolla indüklenen oksidatif zedelenmesinin şelasyon tedavisinde, şelatör ilaçların adjuvantı (çözücüsü) olarak kullanılmasının yararlı olabileceği düşünülebilir.

N-asetilsistein (NAC)

N-asetilsistein (NAC), sülfür içeren amino asitlerden sisteinin glutatyona dönüşümünde bir ara üründür (Şekil 2)^{48,73}. Endojen olarak sentezlenen NAC da, sistein gibi serbest radikalleri sülfhidril grubuyla bağlar. Oral NAC verilmesi, hücre içi sistein ve GSH düzeylerini artırır. *In vivo* NAC; L-sistein, sistin, L-metiyonin ve glutatyondan oluşturulmaktadır^{48,73}. NAC, yapısındaki tiyol bileşiği taşıyan bir antioksidan olmasından dolayı kurşunun yaptığı oksidatif strese karşı vücudu korumaktadır^{11,30}. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kurşuna bağlı artmış oksidatif zedelenme sonrası verilmesi ile GSH/GSSG oranının arttırdığı ve MDA ile CAT düzeylerinin düşürdüğü⁷⁵; diğer taraftan kan, karaciğer ve beyin kurşun düzeylerini düşürmediği⁷⁶ belirlenmiştir. Böylece oral yolla şelat yapma etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır⁷⁶. Fakat başka bir çalışmada ise karşılaşma sonrası tedavide NAC, PbB'yi %27.3 oranında düşürmüştür. NAC kuvvetli bir şekilde kurşun şelasyonu yapan süksimerin (dimetilsülfoksit-DMSA) kandan kurşunu temizleme oranını da oldukça (% 92.8) yükseltmiştir⁷⁷. Çaylak ve arkadaşlarının sıçanlarda ağızdan olarak beş hafta süresince 2000 ppm kurşun asetat

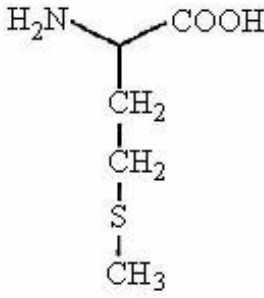
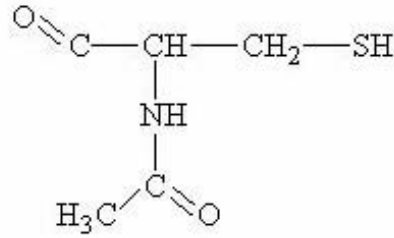
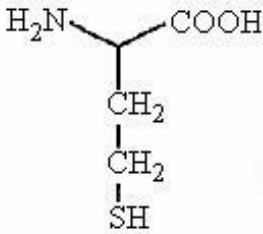
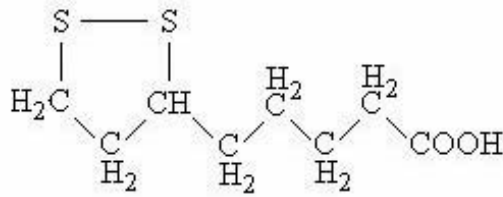
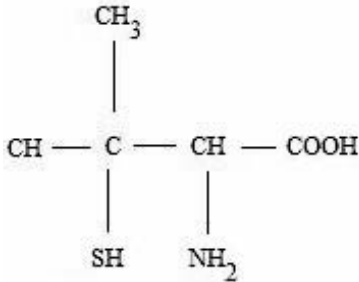
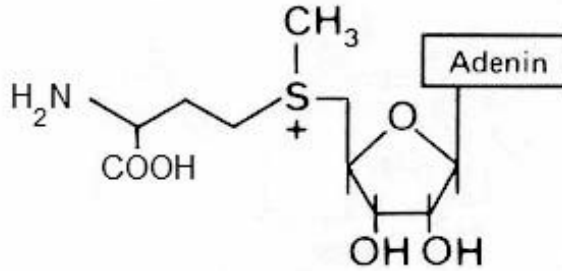
ile birlikte koruyucu etki için verdikleri NAC (oral 800 mg/kg/gün), kurşunla uyarılan oksidatif strese bağlı artmış serum MDA, eritrosit SOD ve GSH-Px⁵⁹ ile karaciğer, böbrek ve beyin dokularına ait CAT⁷⁸ seviyelerini düşürmüştür; kurşuna bağlı azalan plazma vitamin A ve E düzeyleri⁵⁹ ile böbrek ve beyin total antioksidan kapasitesini⁷⁹ yükseltmiştir. NAC'ın toksisite eşiğinin yüksek ve terapötik penceresinin geniş olması şeklinde iki yan etkisi vardır. Antioksidan etkisi doğrudan ROS miktarını azaltmasından veya GSH sentezini uyarmasından kaynaklanmaktadır. Bu bulgulara göre NAC etkisini, kurşunu hedef dokulardan ayırmadan sadece serbest tiyol grubu sayesinde göstermektedir^{30,59,75-79}. Bundan dolayı NAC'ın kurşun zehirlenmesinin tedavisinde şelat yapıcı ajanların çözücü kısmında kullanılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Metiyonin

Metiyonin vücudun ana sülfür kaynaklarından biridir. İnsanlar metiyonini inorganik sülfürden sentezleyemediği için besinlerle birlikte almaları zorunlu olan esansiyel bir amino asittir. Protein sentezinde metiyonin önemli bir metil vericisidir (Şekil 2)^{48,73}. Biyolojik sistemlerdeki dinamik dengenin devamlılığı, özellikle de metiyonin rezidüsünün oksidasyon ve redüksiyon dengesi, proteinlerin regülasyonunda önemlidir.

Metiyonin rezidüleri oksidatif stres altındaki proteinlerin oksidasyondan korunması için *son şans* antioksidan savunma sistemi olarak davranırlar^{73,80}. Her ne kadar kurşun zehirlenmesindeki koruyucu etkisi *in vivo* olarak reaktif oksijen türevlerini azaltan GSH sentezi için gerekli sisteine dönüşmesi olsa da tam olarak etki mekanizması bilinmemektedir¹¹. Metiyoninin yapısında sülfür grubu taşıması nedeniyle kurşun ile şelat oluşturabilme yeteneği de bulunmaktadır⁴⁸.

Patra ve arkadaşlarının⁸¹ sıçanlarda dört hafta boyunca kurşun asetat vermiş ve izleyen beşinci hafta boyunca oral yolla metiyonin vermişler; kan kurşun ve karaciğer, böbrek ve beyin MDA düzeylerini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Çaylak ve arkadaşlarının sıçanlara oral yolla beş hafta süresince 2000 ppm kurşun asetat ile birlikte koruyucu etki için verdikleri metiyonin (oral 100 mg/kg/gün), kurşunla uyarılan oksidatif strese bağlı artmış serum MDA, eritrosit SOD ve GSH-Px⁵⁹ ile karaciğer, böbrek

**Metiyonin****N-asetilsistein****Homosistein****Alfa-lipoik asit****D-penisilamin****S-adenozilmetiyonin**

Şekil 2. Sülfürlü antioksidanlar ve D-penisilaminin yapısı.

ve beyin dokularına ait CAT⁷⁸ düzeylerini düşürmüştü; kurşuna bağlı azalan plazma vitamin A ve E düzeyleri⁵⁹ ile böbrek ve beyin total antioksidan kapasitesini⁷⁹ ise yükseltmiştir.

α-Lipoik asit (tiyotik asit)

α-lipoik asit (LA) mitokondride enerji ile ilgili pirüvat ve α-ketoglutarat dehidrojenaz multienzim komplekslerinde kofaktör olarak rol alır^{58,82}. Terapötik olarak antioksidan etkisiyle oksidatif stresin azaltılmasında ve kan şekerinin düşürülmesinde yararlanılmaktadır^{11,48,58,82}. Antioksidan olarak 20-100 mg/gün şeklinde insanların günlük kullanımına girmiştir⁴⁸. Aköz ve hidrofobik ortamlarda yapılan çalışmalarda α-lipoik asidin koenzim Q₁₀ ve hücre içi GSH

düzyelerini de arttırdığı görülmüştür. Oral verildikten sonra α-lipoik asit tamamen absorbe edilmekte ve indirgenerek dihidrolipoik aside (DHLA) dönüşmektedir^{48,58,82}. Şekil 2'de α-lipoik asidin yapısı görülmektedir.

Antioksidan etkisi ile LA, kurşunun bazı toksik etkilerini azaltmaktadır. İndirgenmiş şekli olan dihidrolipoik asit (DHLA) iki adet serbest sülfhidril grubu içermektedir [83]. LA ve DHLA'nın ikisi de bazı ROS'ları temizleyebilir; vitamin E, vitamin C, GSH gibi bazı antioksidanları radikal ya da inaktif şekilden yeniden oluşturur ve ağır metallerle şelat yapabilir^{11,82-84}. GSH'nın yeniden oluşturulmasında milimolar konsantrasyonlarda NAC gerekirken, mikromolar düzeyde LA

yeterlidir. Ayrıca LA kurşunun hedef dokularından biri olan beyne, kan-beyin engelini aşarak geçebilmektedir^{11,84}. Kurşunla oksidatif stres oluşturulmuş Çin hamsteri ovarium hücreleri ile birlikte LA'nın inkübasyonu, koloninin canlı kalmasını sağlamış; MDA düzeyleri ile CAT aktivitesini düşürmüş ve GSH içeriğini arttırmıştır. Aynı çalışmanın *in vivo* kısmında ise 2000 ppm kurşuna içme suları ile beş hafta karşılaşmaya bırakılmış sıçanlarda zehirlenmeyi takiben yapılan bir haftalık 25 mg/kg/gün LA uygulaması; eritrosit, beyin GSH düzeylerini yükseltmiştir. Eritrosit, beyin, böbrek MDA seviyelerini azaltmış; CAT ve G6PD'yı ise normal değerlerine döndürmüştür [84]. Çaylak ve arkadaşlarının sıçanlara oral yolla beş hafta süresince 2000 ppm kurşun asetat ile birlikte koruyucu etki için verdikleri LA (periton içine 25 mg/kg/gün), kurşunla uyarılan oksidatif strese bağlı artmış serum MDA, eritrosit SOD ve GSH-Px⁵⁹ ile beyin ve böbrek dokularına ait CAT⁷⁸ düzeylerini düşürmüş; kurşuna bağlı azalan beyin ve böbrek total antioksidan kapasitesini⁷⁹ ise yükseltmiştir. Bu ve benzer çalışmalarda kan, beyin ve böbrek kurşun düzeylerinde bir değişiklik tespit edilmediği için LA'nın kurşunla herhangi bir şelat yapma etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Bundan dolayı LA'nın kurşuna karşı etkisini hedef moleküllerden kurşunu ayırarak değil; bünyesindeki tiyol grubu nedeniyle var olan antioksidan kapasitesi ile gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Kaptopril

Anjiotensin-dönüştürücü enzim (Angiotensin Converting Enzyme; ACE) inhibitörü olan kaptoprilin antihipertansif etkisinin yanısıra, antioksidan etkisi de vardır. Kaptoprilin yapısında bulunan terminal sülfhidril grubunun ROS'ları temizlemedeki etkisi gösterilmiştir^{30,85}. Bu tiyol grubu muhtemelen ağır metallerle şelat oluşturmakta ve böylece itraflarını arttırmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı kaptoprilin kurşun zehirlenmesinde kullanılabilmesi düşünülmüştür. Gürer ve arkadaşlarının⁸⁵ yapmış olduğu çalışmada kurşunla oluşturulmuş oksidatif stres sonrası sıçanlara kaptopril verilmesi ile beyin, karaciğer ve böbreklerdeki GSH/GSSG oranı yükselmiş, MDA düzeyi hafif azalmış; CAT aktivitesi etkilenmemiştir. Bu sıçanlara bir hafta boyunca 10 mg/gün kaptopril verilmesinin

kan kurşun düzeylerinin azaltması, kurşun zehirlenmesinin tedavisinde şelat yapıcı bir ajan olarak kullanılabilmesini göstermiştir. Kurşunla artan hipertansiyon ise endotelium kaynaklı nitrik oksidin inaktivasyonunu arttırmamasından ve ROS oluşturmasından kaynaklanabilir. Ding ve arkadaşlarının²³ hipertansiyonun kurşunun oluşturduğu hidroksil radikallerinin endotelial disfonksiyona neden olmasıyla oluştuğunu bildirmiştir. Sonuç olarak kaptoprilden kurşun zehirlenmesinde antihipertansif, şelat yapıcı ve muhtemel antioksidan etkileri nedeniyle yararlanılabilir.

Taurin

Taurin, yapısındaki serbest sülfhidril grubu ile ROS temizlenmesinde doğrudan etkili ve oksidatif zedelenmeler kaynaklanan membran geçirgenliğinin önlenmesinde ise dolaylı etkili bir antioksidandır^{11,86}. Taurin kurşunla indüklenen oksidatif zedelenme üzerine olan etkilerini lipid peroksidasyonunu azaltarak göstermektedir. İçme sularına beş hafta boyunca 2000 ppm kurşun verilerek oluşturulan oksidatif hasar sonrası, sıçanlara bir hafta 1.1 gr/kg/gün taurin verilmesi GSH miktarını arttırmakta; kurşunla artmış CAT, G6PD aktiviteleri ile MDA düzeylerini ise düşürmekte ve Çin hamsteri ovarium hücrelerinin yaşam süresini uzatmaktadır⁸⁶. Taurinin kan, beyin, karaciğer ile böbrek kurşun düzeylerini düşürmediği ve etkisini şelasyon ile değil de antioksidan etkisiyle gösterdiği bildirilmiştir^{11,86}. İnsanlar üzerine toksik etkisi bulunmamasından dolayı şelat yapıcı maddelerin (özellikle DMSA'nın) enjeksiyon emülsiyonlarında çözücü kısım olarak kullanılabilir.

Homosistein

Homosistein (Hcy) metiyoninin demetilasyonu ile ortaya çıkan bir tiyol şeklidir. Besinlerle alınan homosisteinin kullanılması iki yolla düzenlenir. Besin ile birlikte fazla miktarda metiyonin insana verildiğinde homosistein döngüsü bazal düzeylere iner. Metiyonin metaboliti olan SAM, homosistein moleküllerinin sentezinin oranını etkiler⁴⁸. Bilim dünyasında Hcy yüksek konsantrasyonlarda ateroskleroz ve vasküler hastalıklara karşı bağımsız bir risk faktörü olarak bilinmesine rağmen⁸⁷; bazı yazarlara göre mikromolar konsantrasyonlarda moleküler yapısında bulunan sülfür grubu ile antioksidan

özellik de göstermektedir^{87,88}.

Organizmada Hcy in vivo konsantrasyonu düşük olduğu zaman metiyonine veya sisteine dönüştürülebilir. Zappacosta ve arkadaşları⁸⁸ Hcy'nin önemli miktarda H₂O₂ üretmediğini (1 mol H₂O₂ üretimi için 4000 mol Hcy gerekir) ileri sürmüştür. Aynı çalışmada yüksek derecede okside olabilen sırasıyla luminol ve dihidrodamin'in hipoklorit ve peroksinitrit tarafından aminoftaleyt ve rodamin'e oksidasyonunu engelleyerek ya da ferrilmyoglobinin metmyoglobine dönüşümünü arttırarak Hcy'nin antioksidan bir etki sergilediğini de belirtmişlerdir. Hücresel ve kimyasal sistemlerde mikromolar konsantrasyonlarda prooksidan etki yerine antioksidan etki gösterdiğini bildirmişlerdir^{88,90}. Hcy'nin D-penisilamine olan yapısal benzerliği daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir^{91,92}. Her ne kadar birçok yazar prooksidatif etkileri nedeniyle Hcy'nin kalp-damar hastalıkları ile ilişkisinin olduğunu ileri sürseler de, muhtemelen kurşun zehirlenmesinin tedavisinde kullanılan D-penisilamin'e yapısal olarak benzerliğinden dolayı (Şekil 2) kurşunla şelat oluşturabilme yeteneği göstermektedir. Ayrıca Hcy'nin yapısında yer alan sülfür grubu kanaatimce; ağır metallerle şelat oluşturarak vücuttan atılımlarını da arttırmaktadır. Çaylak ve arkadaşlarının sıçanlara oral yolla beş hafta süresince 2000 ppm kurşun asetat ile birlikte koruyucu etki için verdikleri Hcy (50 mg/kg/gün), kurşunla uyarılan oksidatif strese bağlı artmış serum MDA, eritrosit SOD ve GSH-Px⁵⁹ ile böbrek dokusuna ait CAT⁷⁹ düzeylerini düşürmüştür; kurşuna bağlı azalan böbrek ve beyin total antioksidan kapasitesini⁸⁰ ise yükseltmiştir.

Sonuç

Kurşunla karşılaşan dokularda ROS oluşumu artmakta ve hücredeki antioksidan mekanizmalarının tüketilmesi ile prooksidan/antioksidan denge bozulmaktadır. Böylece dokuların komponentlerinin oksidatif hasara uğraması ile doku zedelenmesi oluşmaktadır. Kurşun zehirlenmesinin tedavisinde kullanılan şelatör maddeler kurşunu, bağlandığı dokularda onun yerine bağlanarak uzaklaştırırlar. Oksidatif stresin kurşun zehirlenmesi ile oluştuğu durumların uzun süreli tedavisinde hücrelerin antioksidan kapasitesinin arttırılması yoluna gidilebilir. Şelasyonla kan ve doku kurşun

seviyelerinin azaltılması yerine; kurşunun kritik moleküllerle etkileşiminin dışarıdan antioksidanlar verilerek kesilmesine başvurulabilir. Kurşunla oksidatif stresin önlenmesinde antioksidanların tek başına veya şelatör maddeler ile birlikte kullanılması üzerine pratikte uygulamalar yoktur. Antioksidan etkili bazı moleküllerin koruyucu ve tedavi edici olarak, tek başlarına ya da şelatör maddelerle birlikte kullanılması üzerine hayvanlarda deneysel çalışmalar yapılmıştır^{11,30}. Fakat bu maddelerin güvenliği ve etkilerinin incelenmesi için birçok çalışma yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kaya S, Akar F. Metaller ve diğer inorganik ve radyoaktif maddeler. İçinde: Kaya S, Pirinçi İ, Bilgili A (ed). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji (İkinci baskı). Ankara: Medisan Yayınları, 1998: 134-138.
2. Philip AT, Gerson B. Lead poisoning-Part I. Incidence, etiology, and toxicokinetics. Clin Lab Med 1994; 14: 423-444.
3. Ziegler EE, Edwards BB, Jensen RL, Mahaffey KR, Fomon SJ. Absorption and retention of lead by infants. Pediatr Res 1978; 12: 29-34.
4. Bogden JD, Gertner SB, Christakos S, et al. Dietary calcium modifies concentrations of lead and other metals and renal calbindin in rats. J Nutr 1992; 122: 1351-1360.
5. Barltrop D, Khoo HE. The influence of nutritional factors on lead absorption. Postgrad Med J 1975; 51: 795-800.
6. Markowitz M. Lead poisoning. Pediatr Rev 2000; 21: 327-335.
7. Papanikolaou NC, Hatzidaki EG, Belivanis S, Tzanakakis GN, Tsatsakis AM. Lead toxicity update. A brief review. Med Sci Monit 2005; 11: RA329-336.
8. Rabinowitz MB, Wetherill GW, Kopple JD. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. J Clin Invest 1976; 58: 260-270.
9. Wittmers LE, Jr, Aufderheide AC, Wallgren J, Rapp G Jr, Alich A. Lead in bone. IV. Distribution of lead in the human skeleton. Arch Environ Health 1988; 43: 381-391.
10. Hsu PC, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. Toxicology 2002; 180: 33-44.
11. Kalia K, Flora SJ. Strategies for safe and effective therapeutic measures for chronic arsenic and lead poisoning. J Occup Health 2005; 47: 1-21.
12. Solliway BM, Schaffer A, Pratt H, Yannai S. Effects of exposure to lead on selected biochemical and haematological variables. Pharmacol Toxicol 1996; 78: 18-22.
13. WHO. Environmental Health Criteria 165-Inorganic lead. Geneva: 1995.
14. Garza A, Vega R, Soto E. Cellular mechanisms of lead neurotoxicity. Med Sci Monit 2006; 12: RA57-65.
15. Bressler J, Kim KA, Chakraborti T, Goldstein G.

- Molecular mechanisms of lead neurotoxicity. *Neurochem Res* 1999; 24: 595-600.
16. Pollock CA, Ibels LS. Lead nephropathy-a preventable cause of renal failure. *Int J Artif Organs* 1988; 11: 75-78.
 17. de Burbure C, Buchet JP, Leroyer A, et al. Renal and neurologic effects of cadmium, lead, mercury, and arsenic in children: evidence of early effects and multiple interactions at environmental exposure levels. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 584-590.
 18. Loghman-Adham M. Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Environ Health Perspect* 1997; 105: 928-938.
 19. Fanning D. A mortality study of lead workers, 1926-1985. *Arch Environ Health* 1988; 43: 247-251.
 20. Lin JL, Lin-Tan DT, Yen TH, et al. Blood lead levels, malnutrition, inflammation, and mortality in patients with diabetes treated by long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2008; 51: 107-115.
 21. Schober SE, Mirel LB, Graubard BI, Brody DJ, Flegal KM. Blood lead levels and death from all causes, cardiovascular disease, and cancer: results from the NHANES III mortality study. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 1538-1541.
 22. Staessen JA, Bulpitt CJ, Fagard R, et al. Hypertension caused by low-level lead exposure: myth or fact? *J Cardiovasc Risk* 1994; 1: 87-97.
 23. Ding Y, Gonick HC, Vaziri ND. Lead promotes hydroxyl radical generation and lipid peroxidation in cultured aortic endothelial cells. *Am J Hypertens* 2000; 13: 552-555.
 24. Grandjean P. Health significance of metals- lead. *Maxcy-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine* 1992; 389-391.
 25. Rousseau MC, Straif K, Siemiatycki J. IARC carcinogen update. *Environ Health Perspect* 2005; 113: A580-581.
 26. Fu H, Boffetta P. Cancer and occupational exposure to inorganic lead compounds: a meta-analysis of published data. *Occup Environ Med* 1995; 52: 73-81.
 27. Petrone LR. Iron deficiency, lead poisoning, and development. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2007; 161: 523; author reply 523-524.
 28. Elevated Lead in D.C. Drinking Water—A Study of Potential Causative Events, Final Summary Report; EPA-815-R-07-021, 2008.
 29. Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem* 2001; 1: 529-539.
 30. Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 927-945.
 31. Machartova V, Racek J, Kohout J, Senft V, Trefil L. [Effect of antioxidant therapy on indicators of free radical activity in workers at risk of lead exposure]. *Vnitr Lek* 2000; 46: 444-446.
 32. Warren MJ, Cooper JB, Wood SP, Shoolingin-Jordan PM. Lead poisoning, haem synthesis and 5-aminolaevulinic acid dehydratase. *Trends Biochem Sci* 1998; 23: 217-221.
 33. Philip AT, Gerson B. Lead poisoning-Part II. Effects and assay. *Clin Lab Med* 1994; 14: 651-670.
 34. Somashekaraiah BV, Venkaiah B, Prasad AR. Biochemical diagnosis of occupational exposure to lead toxicity. *Bull Environ Contam Toxicol* 1990; 44: 268-275.
 35. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for lead (Draft for Public Comment). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; 2005: 63.
 36. Paglia DE, Valentine WN, Fink K. Lead poisoning. Further observations on erythrocyte pyrimidine-nucleotidase deficiency and intracellular accumulation of pyrimidine nucleotides. *J Clin Invest* 1977; 60: 1362-1366.
 37. Mahaffey KR, Rosen JF, Chesney RW, et al. Association between age, blood lead concentration, and serum 1,25-dihydroxycholecalciferol levels in children. *Am J Clin Nutr* 1982; 35: 1327-1331.
 38. Rosen JF, Chesney RW, Hamstra A, DeLuca HF, Mahaffey KR. Reduction in 1,25-dihydroxyvitamin D in children with increased lead absorption. *N Engl J Med* 1980; 302: 1128-1131.
 39. Costa CA, Trivelato GC, Pinto AM, Bechara EJ. Correlation between plasma 5-aminolevulinic acid concentrations and indicators of oxidative stress in lead-exposed workers. *Clin Chem* 1997; 43: 1196-1202.
 40. Fujita H, Sato K, Sano S. Increase in the amount of erythrocyte delta-aminolevulinic acid dehydratase in workers with moderate lead exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 1982; 50: 287-297.
 41. Fujita H. Measurement of ALA dehydratase activity. In: Maines M, Costa LG, Hodgson E, Reed DJ, Sipes IG (eds). *Current Protocols in Toxicology*. New York: John Wiley & Sons, 1999: 1-11.
 42. Fujita H, Orii Y, Sano S. Evidence of increased synthesis of delta-aminolevulinic acid dehydratase in experimental lead-poisoned rats. *Biochim Biophys Acta* 1981; 678: 39-50.
 43. Fujita H, Ishihara N. Evidence of the induction of de novo synthesis of delta-aminolaevulinic acid dehydratase by lead. *Br J Ind Med* 1988; 45: 710-712.
 44. Lachant NA, Tomoda A, Tanaka KR. Inhibition of the pentose phosphate shunt by lead: a potential mechanism for hemolysis in lead poisoning. *Blood* 1984; 63: 518-524.
 45. Calderon-Salinas V, Hernandez-Luna C, Maldonado M, Saenz D. Mechanisms of the toxic effect of lead. I. Free lead in erythrocyte. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 1993; 3 (Suppl): 153-164.
 46. Rogers LE, Battles ND, Reimold EW, Sartain P. Erythrocyte enzymes in experimental lead poisoning. *Arch Toxicol* 1971; 28: 202-207.
 47. McIntire MS, Angle CR. Air lead: relation to lead in blood of black school children deficient in glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Science* 1972; 177: 520-522.
 48. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev* 2002; 7: 22-44.
 49. Hsu JM. Lead toxicity as related to glutathione metabolism. *J Nutr* 1981; 111: 26-33.

50. Ahamed M, Verma S, Kumar A, Siddiqui MK. Environmental exposure to lead and its correlation with biochemical indices in children. *Sci Total Environ* 2005; 346: 48-55.
51. Hunaiti AA, Soud M. Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in human blood. *Sci Total Environ* 2000; 248: 45-50.
52. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176-186.
53. Rinaldi R, Eliasson E, Swedmark S, Morgenstern R. Reactive intermediates and the dynamics of glutathione transferases. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1053-1058.
54. Kasperczyk S, Kasperczyk J, Ostalowska A, et al. The role of the antioxidant enzymes in erythrocytes in the development of arterial hypertension among humans exposed to lead. *Biol Trace Elem Res* 2009; 130: 95-106.
55. Dock L. Induction of rat liver glutathione transferase isoenzyme 7-7 by lead nitrate. *Biol Trace Elem Res* 1989; 21: 283-288.
56. Suzuki YJ, Tsuchiya M, Packer L. Antioxidant activities of dihydrolipoic acid and its structural homologues. *Free Radic Res Commun* 1993; 18: 115-122.
57. Mousa HM, Al-Qarawi AA, Ali BH, Abdel Rahman HA, ElMougy SA. Effect of lead exposure on the erythrocytic antioxidant levels in goats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2002; 49: 531-534.
58. Sivaprasad R, Nagaraj M, Varalakshmi P. Combined efficacies of lipoic acid and 2,3-dimercaptosuccinic acid against lead-induced lipid peroxidation in rat liver. *J Nutr Biochem* 2004; 15: 18-23.
59. Caylak E, Aytekin M, Halifeoglu I. Antioxidant effects of methionine, alpha-lipoic acid, N-acetylcysteine and homocysteine on lead-induced oxidative stress to erythrocytes in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2008; 60: 289-294.
60. Monteiro HP, Abdalla DS, Arcuri AS, Bechara EJ. Oxygen toxicity related to exposure to lead. *Clin Chem* 1985; 31: 1673-1676.
61. Kasperczyk S, Kasperczyk A, Ostalowska A, Dziwisz M, Birkner E. Activity of glutathione peroxidase, glutathione reductase, and lipid peroxidation in erythrocytes in workers exposed to lead. *Biol Trace Elem Res* 2004; 102: 61-72.
62. Çaylak E, Halifeoğlu İ. Sülfür içeren antioksidanların kurşuna maruz kalmış ratlarda karaciğer, böbrek ve beyin MDA ve katalaz düzeylerine antioksidan etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; 27: 1-8.
63. Devi SS, Biswas AR, Biswas RA, et al. Heavy metal status and oxidative stress in diesel engine tuning workers of central Indian population. *J Occup Environ Med* 2007; 49: 1228-1234.
64. Mayes P. Abiologic oxidation. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (eds). *Harper's Biochemistry* (25th ed). Stamford: Appleton & Lange, 2000: 130-137.
65. Tandon SK, Flora SJ, Singh S. Influence of pyridoxine (vitamin B6) on lead intoxication in rats. *Ind Health* 1987; 25: 93-96.
66. McGowan C. Influence of vitamin B6 status on aspects of lead poisoning in rats. *Toxicol Lett* 1989; 47: 87-93.
67. Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 281-291.
68. Levander OA, Morris VC, Ferretti RJ. Filterability of erythrocytes from vitamin E-deficient lead-poisoned rats. *J Nutr* 1977; 107: 363-372.
69. Dhawan M, Flora SJ, Tandon SK. Preventive and therapeutic role of vitamin E in chronic plumbism. *Biomed Environ Sci* 1989; 2: 335-340.
70. Dhawan M, Kachru DN, Tandon SK. Influence of thiamine and ascorbic acid supplementation on the antidotal efficacy of thiol chelators in experimental lead intoxication. *Arch Toxicol* 1988; 62: 301-304.
71. Simon JA, Hudes ES. Relationship of ascorbic acid to blood lead levels. *JAMA* 1999; 281: 2289-2293.
72. Othman AI, El Missiry MA. Role of selenium against lead toxicity in male rats. *J Biochem Mol Toxicol* 1998; 12: 345-349.
73. Atmaca G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei Med J* 2004; 45: 776-788.
74. Flora GJ, Seth PK. Beneficial effects of S-adenosyl-L-methionine on aminolevulinic acid dehydratase, glutathione, and lipid peroxidation during acute lead-ethanol administration in mice. *Alcohol* 1999; 18: 103-108.
75. Ercal N, Treeratphan P, Lutz P, Hammond TC, Matthews RH. N-acetylcysteine protects Chinese hamster ovary (CHO) cells from lead-induced oxidative stress. *Toxicology* 1996; 108: 57-64.
76. Ercal N, Treeratphan P, Hammond TC, et al. In vivo indices of oxidative stress in lead-exposed C57BL/6 mice are reduced by treatment with meso-2,3-dimercaptosuccinic acid or N-acetylcysteine. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 157-161.
77. Gurer H, Ozgunes H, Neal R, Spitz DR, Ercal N. Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. *Toxicology* 1998; 128: 181-189.
78. Çaylak E, Halifeoğlu İ. Sülfür içeren antioksidanların kurşuna maruz kalmış ratlarda karaciğer, böbrek ve beyin MDA ve katalaz düzeylerine antioksidan etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; 27: 1-8.
79. Caylak E, Halifeoglu I, Aydin S, Telo S, Bulmus O, Celik H. The effects of sulfur-containing compounds on total antioxidant capacity levels of liver, kidney and brain in lead-exposed rats. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; 27: 823-828.
80. Stadtman ER, Van Remmen H, Richardson A, Wehr NB, Levine RL. Methionine oxidation and aging. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1703: 135-140.
81. Patra RC, Swarup D, Dwivedi SK. Antioxidant effects of alpha tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology* 2001; 162: 81-88.
82. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1995; 19: 227-250.

83. Moini H, Packer L, Saris NE. Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002; 182: 84-90.
84. Gurer H, Ozgunes H, Oztezcan S, Ercal N. Antioxidant role of alpha-lipoic acid in lead toxicity. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 75-81.
85. Gurer H, Neal R, Yang P, Oztezcan S, Ercal N. Captopril as an antioxidant in lead-exposed Fischer 344 rats. *Hum Exp Toxicol* 1999; 18: 27-32.
86. Gurer H, Ozgunes H, Saygin E, Ercal N. Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Arch Environ Contam Toxicol* 2001; 41: 397-402.
87. Finkelstein JD, Martin JJ. Homocysteine. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32: 385-389.
88. Zappacosta B, Mordente A, Persichilli S, Giardina B, De Sole P. Effect of homocysteine on polymorphonuclear leukocyte activity and luminol-dependent chemiluminescence. *Luminescence* 2000; 15: 257-260.
89. Zappacosta B, Mordente A, Persichilli S, et al. Is homocysteine a pro-oxidant? *Free Radic Res* 2001; 35: 499-505.
90. Kang AH, Trelstad RL. A collagen defect in homocystinuria. *J Clin Invest* 1973; 52: 2571-2578.
91. Zhou J, Moller J, Danielsen CC, et al. Dietary supplementation with methionine and homocysteine promotes early atherosclerosis but not plaque rupture in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1470-1476.