

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALBİNO SIÇANLARDA KADMIYUMUN
MEYDANA GETİRDİĞİ YAĞ ASİTİ
BİLEŞİMİNDEKİ DEĞİŞİME MELATONİN VE
VİTAMİN E - SELENYUM KARIŞIMININ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mahmut YILMAZ

Tez Yöneticisi

Doç. Dr. Vahit KONAR

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ, 2005

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALBİNO SIÇANLARDA KADMIYUMUN
MEYDANA GETİRDİĞİ YAĞ ASİTİ
BİLEŞİMİNDEKİ DEĞİŞİME MELATONİN VE
VİTAMİN E - SELENYUM KARIŞIMININ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mahmut YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Bu tez, 29.12.2005 tarihinde aşağıda belirtilen juri tarafından oy birliği ile başarılı olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Vahit KONAR

Üye: Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ

Üye: Doç. Dr. Fikret KARATAŞ

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..26/..01/..2006... Tarih ve 2006.13-1..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgmeden beni yönlendiren danışman hocam Doç. Dr. Vahit KONAR' a ;

Tezin deneysel aşamalarında yardımını gördüğüm Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ, Doç. Dr. Haki KARA ve Arş. Grv. Dr. Alparslan Dayangaç'a ;

Bu tezi, 2004/998 nolu proje ile destekleyen Fırat Üniversitesi BAP Kurulu Koordinatörlüğüne ve Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne;

Ayrıca Yüksek lisans çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen eşim Hülya'ya

Teşekkür Ederim



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	III
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
GİRİŞ.....	1
1.1. Melatonin Hormonu ve Etkileri.....	2
1.2. Vitamin E-Selenyum ve Etkileri.....	2
2. AĞIR METAL BİYOKİMYASI	5
2.1. Biyolojik Sistemlerde Ağır Metallerin Bağlandığı Biyomoleküller.....	5
2.1.1. Proteinlerdeki Amino Asitlerin Yan Zincirleri.....	5
2.1.2. Nükleik Asitlerin Bazları.....	5
2.1.3. Küçük Hücresel Sitoplazmik Elemanlar.....	5
2.1.4. Organik Kofaktörler.....	5
2.2. Metalotiyoneinler (Metal Bağlayan Proteinler).....	6
2.2.1. Metalotiyoneinlerin Moleküler Biyolojisi.. ..	6
2.3. Metalik Zehirler.....	7
2.4. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistem.....	8
2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri	9
2.4.2. Süperoksit Radikali.....	9
2.4.3. Hidrojen Peroksit.....	9
2.4.4. Hidroksil Radikali.....	10
2.4.5. Singlet Oksijen.....	10
2.5. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	11
2.5.1. Oksijen.....	11
2.5.2. Aktive Nötrofiller.....	11
2.5.3. Nitrik Oksit.....	11
2.5.4. Mitokondrial elektron Transport Sistemi.....	11
2.5.5. Endoplazmik Retikulum.....	11
2.5.6. Peroksizomlar.....	11
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	12
2.6.1. Hücre İçi Antioksidanlar.....	12
2.6.1.1. Süperoksit Dismutaz.....	12

2.6.1.2. Katalaz.....	12
2.6.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).....	12
2.6.1.4. Sitokrom oksidaz.....	12
2.6.2. Membranda Bulunan Antioksidanlar.....	13
2.6.3. Hücre Dışı Antioksidanlar.....	13
2.6.3.1. Transferin.....	13
2.6.3.2. Laktoferrin.....	13
2.6.3.3. Seruloplazmin.....	13
2.6.3.4. Glukoz.....	13
2.7. Antioksidan Etki Tipleri.....	13
2.8. Malondialdehit (MDA).....	14
3. LİPİTLERİN KİMYASI.....	16
3.1. Lipitlerin Sınıflandırılması.....	16
3.1.1. Kompleks Lipitler.....	16
3.1.2. Basit Lipitler.....	16
3.2. Yağ Asitleri.....	16
3.2.1. Temel Yağ Asitleri.....	18
3.2.2. Yağ Asitlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	18
3.3. Yağ Asitlerinin Gaz Sıvı Kromatografisi.....	18
4. MATERYAL VE METOT.....	21
4.1. Materyal.....	21
4.1.1. Kimyasal Malzemeler.....	21
4.1.2. Sıçanların Temini ve Bakımı.....	21
4.2. Yöntemler.....	21
4.2.1. Lipitlerin Ekstraksiyonu.....	22
4.2.2. Yağ Asiti Metil Esterlerinin Hazırlanması.....	22
4.2.3. Yağ Asiti Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi.....	23
4.3. İstatistik Analizler.....	23
5. BULGULAR.....	24
5.1. Karaciğer, Böbrek, Testis ve Kalp Dokularındaki Yağ Asiti Değerleri.....	24
5.2. Karaciğer, Böbrek, Testis ve Kalp Dokularındaki Korelasyon Analiz Değerleri.....	26
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	30
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	38

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1.Canlı organizmalarda bazı metallerin hücre içindeki biyolojik fonksiyonları.....	8
Şekil 5.1. Karaciğer dokusundaki bazı yağ asiti değerleri.....	24
Şekil 5.2. Böbrek dokusundaki bazı yağ asiti değerleri.....	24
Şekil 5.3. Testis dokusundaki bazı yağ asiti değerleri.....	25
Şekil 5.4. Kalp dokusundaki bazı yağ asiti değerleri.....	26
Şekil 5.5. Karaciğer dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon.....	26
Şekil 5.6. Böbrek dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon.....	27
Şekil 5.7. Testis dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon.....	27
Şekil 5.8. Kalp dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon.....	28



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1.Serbest Radikallerin Hücredeki Zararlı Etkileri	12
Çizelge 3.1.Lipitlerin sınıflandırılması.....	17
Çizelge 3.2.Doymuş yağ asitlerinden palmitik asitin ve doymamış yağ asitlerinden oleik asidin yapısı.....	17



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BHA: Butillenmiş hidroksianizol

BHT: Butillenmiş hidroksitoluen

CAT: Katalaz

Cd : Kadmiyum

DNA :Deoksiribonükleik asit

DTPA : Dietilentriamin pentaasetik asit

EDTA : Etilendiamintetraasetik asit

GSH : Glutatyon

GSH-Px : Glutatyon Peroksidaz

GSSG-R : Glutatyon Redüktaz

G6PDH : Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

LDH : Laktat Dehidrojenaz

LOO[•] : Lipit peroksil radikali

LPO : Lipit Peroksidasyonu

MDA : Malondialdehit

Mlt : Melatonin Hormonu

MT : Metalotiyonein

NADPH : Nikotin Amid Adenin Dinükleotid Fosfat

OH[•] : Hidroksil Radikali

¹O₂ : Singlet oksijen

O₂^{•-} : Süperoksit Radikali

RNA : Ribonükleik asit

ROO[•] : Peroksil Radikalleri

RS : Thiyl Radikalleri

SCN : Suprakiazmatik Nükleus

Se : Selenyum

SH : Sistein tiyolatı

SOD : Süperoksit Dismutaz

TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances

Vit-E : E vitamini

XO : Ksantin Oksidaz



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ALBİNO SIÇANLARDA KADMIYUMUN MEYDANA GETİRDİĞİ YAĞ ASİTİ BİLEŞİMİNDEKİ DEĞİŞİME MELATONİN VE VİTAMİN E - SELENYUM KARIŞIMININ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mahmut YILMAZ

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

2005, Sayfa :38

Bu çalışmada kronik kadmiyumun (Cd) etkisiyle sıçanların karaciğer, böbrek, kalp ve testis dokularında oluşan yağ asiti bileşimindeki değişime antioksidan olan melatonin ve vitamin-E + selenyum karışımının etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bir ay boyunca Cd, melatonin ve vitamin-E + selenyuma maruz kalan sıçanlar çalışma süresince her birinde 10 sıçan bulunan 5 gruba; kontrol, Cd, Cd+mlt, Cd+vit-E+Se ve Cd+mlt+vit-E+Se gruplarına ayrıldılar. Cd sıçanlara 1 mg/kg.lık CdCl₂ şeklinde, melatonin 10mg/kg, vit-E+ Se ise 30 mg/kg + 2 µg'lık gün aşırı dozlarla bir ay süreyle verildi. Beş grupta bulunan hayvanlar son uygulama sonrası kesildi ve karaciğer, böbrek, testis ve kalp dokularının yağ asiti bileşimi değişimleri gaz kromatografisi ile analiz edildi.

Sıçanların (karaciğer, böbrek, testis, kalp) dokularındaki palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1), linoleik asit (C18:2n6), araşidonik asit (C20:4) ve dokosaheksaenoik (C22:6) yağ asitleri belirlendi. Karaciğer dokusunda C18:1n7 yağ asiti Cd uygulanan grupta kontrol grubuna göre düşük (P<0.05), testis dokusunda ise yüksek (P<0.05) olduğu belirlendi. Testis ve böbrek dokularında C18:1n9 ve C20:4n6 yağ asitleri Cd uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre yüksek (P<0.01) olduğu belirlendi. Böbrek dokusunda C18:2n6 yağ asiti ile C20:4n6 yağ asitleri arasında negatif korelasyon (r = -0.869) belirlendi. Testis dokusunda C18:1n9 yağ asiti ile C20:4n6 yağ asitleri arasında negatif korelasyon (r = -0.904) belirlendi.

Sonuç olarak bulgularımızdan Cd gibi ağır metallere maruz kalınması sonucu canlı dokuların lipit biyosentezi üzerinde inhibitör etkilerin ortaya çıktığı söylenebilir. Ayrıca doymamış yağ asitleri üzerinde de azaltıcı etkiye sahip olması Δ-9 desaturaz ve Δ-6 desaturasyon basamağında görevli enzimler üzerinde de inhibisyona neden olduğu sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler : Yağ asitleri, kadmiyum, melatonin, vitamin-E+selenyum, karaciğer, böbrek, testis, kalp

ABSTRACT

Master Thesis

RESEARCH OF MELATONIN AND VITAMIN E-SELENIUM MIXTURE EFFECTS TO CREATED CHANGE OF CADMIUM ON FATTY ACID COMPOSITION IN ALBINO RATS

Mahmut YILMAZ

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

2005, Page: 38

The objective of the work which was carried out in this study was to investigate the influences of antioxidant melatonin and antioxidant Vitamin E- selenium to the variation of fatty acid compounds on the rats liver, kidney, heart, testis tissues with chronic cadmium effects. The rats (specimens) which were treated with cadmium (Cd), melatonin and vitamin E+selenium for a period of one month. They were divided into five groups consisted of 10 rats; 1) a control group 2) cadmium group 3) cadmium+ melatonin group 4) cadmium + vitamin E+selenium group and 5) cadmium+melatonin+vitamin-E+selenium group. Throughout one month the Rats in cadmium group were given 1 mg/kg CdCl₂, 10 mg/kg melatonin, 30 mg/kg+2 µg Vitamin-E+selenium as overdose. At the end of the experimental period the specimens (rats) in five groups were sacrificed after that the variation of fatty acid compounds on their liver, kidney, testis and heart tissues were analyzed with gas chromatography.

The fatty acids such as palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2n6), arachidonic acid (C20:4) and dokosaheksaenoic acid (C22:6) were determined on the rats tissues (liver, kidney, heart, testis). For the groups treated Cd, the level of fatty acid (C18:1n7) on the liver tissue was lower ($P<0.05$) than control group, but it was significantly higher than testis groups. The fatty acids of C18:1n9 and C20:4n6 were higher ($P<0.01$) than control groups treated Cd on the testis and kidney tissues. It was determined that there was a negative correlation ($r = -0.869$) between C18:2n6 and C20:4n6 on the kidney tissue. A negative correlation ($r = -0.904$) was determined between C18:1n9 and C20:4n6 on the testis tissues.

In conclusion, our findings showed that the exposure of heavy metals such as Cd have inhibitor effects on enzymes charged for Δ -9 desaturase and Δ -6 desaturation steps as a result of their reduced effects on unsaturated fatty acid synthesis.

Key Words: Fatty acids, cadmium, melatonin, vitamin-E+selenium, liver, kidney, testis, heart

1. GİRİŞ

20. yüzyılda insanoğlu hayatını daha da kolaylaştırmak uğruna her şeyi yapmaya göze almış bir tutum içerisinde yeni oluşumlar meydana getirmeye başladı. Sanayi Devrimiyle birlikte toplumlar sanayi ve teknoloji güçlerine bağlı olarak değerlendirildiler. Bu gelişime ayak uyduramayanlar yada bu gelişime katılmakta geç kalanlar sanayileşmiş ülkelerin gerisinde kaldılar. Tüm bu süreç sonunda sanayileşme insanoğluna yavaş yavaş arka bahçesini göstermeye başladı. Bacalardan ve egzozlardan çıkan zararlı gazlar, başta pil olmak üzere çevreye atılan kimyasal atıklar, gerek solunum gerekse de alınan besinler yoluyla insan sağlığını tehdit etmeye başladı. Bu çevre kirleticileri arasında en önemlilerinden birisi de kadmiyumdur. Kadmiyum nispeten nadir bir elementtir ve doğada saf olarak bulunmaz (1). Önemli bir kirleticisi olmasının nedeni çok düşük dozlarda bile toksik olması ve biyolojik yarı ömrünün uzun olmasıdır (7-30 yıl) (2). Cd, sigaralarda bulunur (3,4). Sigara içen ebeveynlerin çocuklarının kanında kadmiyum düzeyi artar. Bir paket sigara içildiğinde 2-4 µg kadmiyumun solunum yoluyla alındığı tespit edilmiştir. Besinlerle, sigara ve hava yolu ile günde yaklaşık 18-200 µg kadmiyum alındığı hesaplanmıştır (5). İlk kez 1817 yılında bir çinko oksit örneğinde Hannover'li eczacı Stromeier tarafından bulunmuş ve Hermann tarafından incelenmiştir (6). Kadmiyum, metallerin kaplanması, karışım şeklinde alkali pil ve plastik madde üretiminde, elektronik sanayinde, cam endüstrisinde, fotoğrafçılıkta x ışınlarının yansıtılmasında ve bunlarla birlikte antiparaziter ve diş hekimliğinde amalgam olarak kullanım alanı bulunmaktadır (7). Kadmiyum; kadmiyum oksit, kadmiyum klorür, kadmiyum sülfat ve sülfid şekillerinde bulunabilen ve özel bir tadı ve kokusu olmayan bir maddedir. Zehirli atık depo alanlarından gerçekleşen sızıntı ve taşmalar sonucunda suya ve toprağa karışabilir. Toprak partiküllerine güçlü bir şekilde bağlanır, bazı kadmiyum bileşikleri suda çözünebilir, ancak doğada parçalanamaz. Vücutta özellikle karaciğer ve böbreklerde çok uzun süre kalabilir ve düşük düzeyde maruz kalırsa bile yıllar içinde birikebilir (8). Yüksek düzeyde kadmiyumun solunması akciğer hasarına bağlı olarak ölüme neden olabildiği gibi kadmiyumun yiyeceklerle alınması kusma ve ishale de neden olur. Hava, su yada besinler yoluyla düşük düzeyde kadmiyuma uzun süre maruz kalınması sonucunda kadmiyum böbreklerde birikir ve böbrek hastalıklarına neden olabilir. Akciğerde hasar ve kemiklerin kırılabilirliğinin artması diğer etkilerdir. Japonya'da 1944 yılında maden ocaklarının atık suları ile kirlenen bölgede kadmiyum ile kontamine olmuş pirinçleri yiyen insanlarda itai-itai hastalığı görülmüştür. Bu bölgede ağız yoluyla alınan günlük kadmiyum miktarının 300 µg'a ulaştığı saptanmıştır (5). Pil imalatanelerinin civarında bulunan havadaki kadmiyum yoğunluğu çok yüksektir. Bu durum bölgedeki halkın sağlığını tehdit etmektedir. 1965'te İngiltere'de pil yapımında çalışan işçilerde prostat kansinimleri belirlenmiştir.

Kadmiyum, hücrelerde apoptozisi indüklemekte ve aynı zamanda nekroza yol açmaktadır. Nefropati, kronik kadmiyum toksikasyonun insanda meydana getirdiği rahatsızlıklardan en bilinenidir (3,9).

Kadmiyum doğada çinko ile birlikte bulunur. Canlılarda herhangi bir biyolojik işleve sahip olmadığı belirtilmektedir (10). Biyolojik bir sistemle karşılaştığı zaman esansiyel elementler olan Zn ve Cu gibi davranır. Metalotiyonein'in Cu ve Zn ile bağlanacağı -SH gruplarına bağlanarak karaciğer ve böbreklerde depo edilebilir (11,12).

1.1. Melatonin Hormonu ve Etkileri

Kadmiyumun tersine melatonin hormonu ve vitamin E-selenyum karışımı gibi moleküller, organizmada toksik etkiye sahip moleküllerin etkilerini yok edici özelliktedirler. Melatonin hormonu (N-asetil-5-metoksitriptamin), Cd'un toksik etkilerinden organizmayı korur (13). Bu hormon omurgalıların epifiz (pineal) bezinden salgılanan temel hormondur (4,14). Melatonin, serotonininden sentezlenir. Serotonin ise triptofan amino asitinden sentezlenmektedir. Melatonin sentez ve salınımında temel düzenleyici, ortamın ışık durumudur. Sentez ve salınım karanlıkta artar, aydınlıkta azalır. Bu nedenle serum melatonin konsantrasyonu geceleri yüksek, gündüzleri ise düşüktür. Bu durum memelilerde, hipotalamusun suprakiazmatik nükleusunda (SCN) bulunan bir sirkadyen biyolojik saat tarafından ayarlanır. Memelilerde melatonin sentezinin primer bölgeleri pineal bez ve retinadır. Melatonin sentezinin yalnızca pineal bezde olmadığı söylenebilir. Pineal bezin çıkarılması ile dolaşımdaki melatonin düzeyi azalmakta ancak tamamen yok olmamaktadır (14). İntravenöz uygulamayı takiben birkaç dakika içinde beyine gelebilen melatonin organizmanın antioksidan savunmasında rol almaktadır. Melatonin, serbest radikal giderici etkisini göstermek için hiçbir bağlanma bölgesine, reseptöre, membrana ihtiyaç duymaz (15). Melatonin HO[•] radikalini temizleyen çok güçlü bir antioksidandır. HO[•] ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür. Bu da ortamdaki O₂ radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterir. Diğer antioksidanlara göre çok güçlü bir antioksidan olmasının nedenleri:

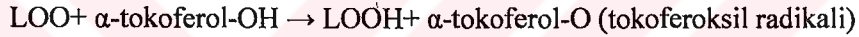
- Lipofilik olması nedeniyle hücrenin hemen tüm organellerine, bir çok dokuya rahatça girerek geniş bir alanda aktivite gösterir.
- Hücre çekirdeğine girebilmesi nedeniyle DNA'yı oksidatif hasara karşı korur.
- Çok yüksek dozlarda ve uzun süreli kullanımında bile toksik bir etkisi yoktur.
- Prooksidan bir aktiviteye sahip değildir.

1.2. Vitamin E-Selenyum ve Etkileri

Kadmiyuma maruz kalan canlılarda vitamin değerlerinde değişimler meydana geldiği ifade edilmektedir. Vitamin E ve selenyum organizmada meydana gelen oksidatif hasara karşı

antioksidan özelliğe sahip moleküllerdir. Vitamin E, kanda ve hücre membranlarında yağda çözünebilir büyük bir antioksidandır. Vitamin E diğer antioksidanlara benzer etki göstererek hücreleri oksidatif hasardan korur. Vitamin E'nin sıçanlarda uygulanması ile birlikte organizmada meydana gelecek olan taş formasyonu oluşma riskini azalttığı belirtilmiştir (16).

E vitamini tokoferol yapısında olup α , β , γ , δ olarak dört tipin karışımıdır. α -tokoferol doğal dağılımı en geniş, biyolojik aktivitesi ve antioksidan etkisi en fazla olanıdır. Yapısında bulunan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği de bu gruptan kaynaklanır. En yüksek vitamin E konsantrasyonu mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyucu savunma elemanıdır. Bir molekül vitamin E 100 molekül yağ asitinin peroksidasyonunu önleyebilir. Vitamin E; O_2^- , $HO^\bullet$, singlet O_2 , lipit peroksil (LOO $^\bullet$) radikallerini ve diğer radikalleri temizler. Lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Lipit peroksil radikallerini yıkarak lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinir.



Sonuçta oluşan tokoferoksil radikali (α -tokoferol-O) stabildir ve kendi kendine lipit peroksidasyonu başlatmak için yeterince reaktif değildir. Glukronik asitle oksidasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. E vitamini ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) serbest radikal etkisine karşı birbirlerine tamamlayıcı etki gösterirler. GSH-Px oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır. Ayrıca GSH-Px 'in yapısına katılan Se^{+2} un organizmadan kaybını önler ve enzimi aktif şekilde tutar. E vitamini okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve GSH (glutatyon) tarafından yeniden indirgenebilir. Selenyum ise Cd'un meydana getirdiği lipit peroksidasyonunu engelleyici bir etkiye sahiptir (17). Normal metabolizmada, selenoprotein anlamına gelen glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'a dahil edilir. E vitamini ile birlikte çalışan ve onun etkisini artıran bir mineraldir. Kan hücreleri, kalp, karaciğer ve akciğerlerimizi serbest radikallere karşı korur ve bağışıklık sistemimizin enfeksiyonlara karşı gösterdiği cevabı artırmaktadır. Selenyum çeşitli hayvan modellerinde tümör oluşumunu önleyici etkiye sahip olduğu belirtilmektedir. Benzer şekilde selenyum hücre lipofilik membranı ve serbest radikallerin hücre içinde bulunan çözünmüş parçacıklarla reaksiyona girmesini koruduğu tespit edilmiştir (18).

Maden Devrinden bu yana metalleri işleyen insanoğlu bu metallere direkt olarak etkilenebilir ve çevresini büyük ölçüde kirletmiştir. Kadmiyum gibi metaller teknolojinin ilerlemesinde çok faydalı iken çevre ve insan sağlığı açısından olumsuz pek çok yönü vardır. Toksik olan kadmiyumun vücuda nasıl alındığı da ayrı bir merak uyandıran konudur.

Kadmiyum gibi esansiyel olmayan ağır metaller ne parçalanarak toksisiteleri azaltılabilmekte ne de vücuttan atılabilmektedirler. Bu nedenle, bu metaller metabolik fonksiyon görmediklerinden hücreler için toksiktirler. Bu metallerin hücre içerisine alınmaması için selektif bir mekanizma söz konusu değildir. Esansiyel metallerin diffüzyon veya kolaylaştırılmış diffüzyon mekanizmasıyla hücre içerisine geçtikleri şeklinde görüşler büyük destek görmektedir. Bu geçişte kalsiyum kanallarının rolü söz konusudur. Bir çok canlı sistemden elde edilen kanıtlar, kadmiyum gibi ağır metallerin kalsiyum kanalları yolu ile akümüle olduğunu göstermektedir. Çeşitli kalsiyum kanal tıkayıcıları (Blocker) kullanarak ağır metallerin büyük bir kısmının hücre içerisine girişinin, kalsiyum kanalları yolu ile olduğu bulunmuştur (19).



2. AĞIR METAL BİYOKİMYASI

2.1. Biyolojik Sistemlerde Ağır Metallerin Bağlandığı Biyomoleküller

2.1.1. Proteinlerdeki Amino Asitlerin Yan Zincirleri

Proteinlerdeki amino asitlere metallerin bağlanacağı en uygun yan zincirleri, sistein tiyolatı (SH), histidin imidazolü, glutamik ve aspartik asitlerin karboksilatları (COOH) ve tirozinin fenolat grubu oluşturmaktadır. Tirozin ve metiyonin hariç her amino asit iki tane ağır metali bağlayabilme kapasitesine sahiptir (5).

2.1.2. Nükleik Asitlerin Bazları

Bilindiği gibi nükleik asitler RNA ve DNA'da ribonükleotit ve deoksiribonükleotitlerin polimerleridir. Nükleik asit yapısında nükleosit bazlarının metal bağlama bölgeleri genellikle endosiklik (halkasal) azot atomlarıdır. Deneysel ve teorik çalışmalar, pürinin N7 atomlarının en iyi nükleofil olduklarını ve muhtemelen bunların metal bağlama bölgelerini oluşturduklarını gösteriyor. Bu tür bölgeler Cu (II), Cr (III) ve Pt (II) gibi geçiş elementleri nükleosit bazları ile kompleksler oluştururken, fosfodiester gruplarının negatif yüklü oksijen atomları da aynı zamanda Na, K ve Mg gibi alkali metalleri bağlamaktadır (5).

2.1.3. Küçük Hücresel Sitoplazmik Elemanlar

Ribozom, mitokondri ve endoplazmik retikulumun yanı sıra hücre membranları ve virüsler gibi biyomoleküllerin de metal bağladıkları gösterilmiştir (5).

2.1.4. Organik Kofaktörler

Hücrelerde yer alan organik kofaktörlerin de metalleri bağlama özelliğine sahip oldukları çok iyi bilinmektedir. Bir çok prostetik grup metal iyonu bağlayabilme özelliğine sahiptir. Metalkoenzim olan kobalamin veya vitamin B12'de metal bağlayabilme özelliğine sahiptir (5).

Plazmadaki kadmiyum amino asitler, tripeptit olan glutatyon ve serum proteinleri aracılığıyla hedef dokulara taşınmaktadır. Bu metal kas, beyin ve kemik gibi dokulara oranla daha çok karaciğer ve böbrek dokularında birikmektedir (10,20,21). Karaciğer ve böbrek dokuları kadmiyumu bağlayarak toksik etkisinin önlenmesinde işlev yapan, düşük molekül ağırlıklı proteinlerin (metallothionein) başlıca sentezlenme yerleridirler. Kadmiyum böbrek tübüllerini yıkarak dolaylı şekilde veya kemik dokuda birikerek doğrudan demineralizasyona neden olmaktadır. Genellikle kas dokusu ağır metalleri bağlamada etkisizdir. Kadmiyumun kemik dokudaki etkisi, ortam değişimine bağlı olarak doğrudan veya dolaylı yolla olmaktadır. İçme suyu ile birlikte yüksek dozda kadmiyum verilen farelerde, metal böbrek tübüllerinde herhangi bir yıkım yapmadan doğrudan kemik dokuda biriktiği belirtilmiştir. Düşük kadmiyum derişimlerinin böbrek tübüllerinde yıkım yapması sonucu kalsiyum, fosfat ve bikarbonat iyonlarının atılımı oranı artmakta ve böylece yeterli bir düzeyde iyon alamayan kemik dokuda

yumuşama ve porlanma meydana geldiği belirtilmiştir. Karaciğer, böbrek ve dalak gibi dokulara göre metabolik aktivitesi daha düşük olan kas ve kemik dokularında kadmiyum birikim hızının daha kısa sürede yavaşladığı tespit edilmiştir. Bu durum kas ve kemik gibi dokuların normal koşullarda metalotiyonein (MT) ve benzeri düşük molekül ağırlıklı metal bağlayıcı proteinleri sentez kapasitelerinin daha sınırlı olması ile açıklanabilir (10).

2.2. Metalotiyoneinler (Metal Bağlayan Proteinler)

Kadmiyum, civa, çinko, gümüş ve bakır gibi pek çok ağır metaller biyolojik sistemlerde toksik etkiye neden olabilir. Bu ağır metallerin toksik etkisini önleme, onları taşıma ve depolama görevlerini metalotiyoneinler (MT) yapar. Metalotiyoneinler çok sayıda -SH grupları içerirler ve kadmiyuma bağlanarak kadmiyum-metalotiyonein (Cd-MT) kompleksini oluştururlar (22).

2.2.1. Metalotiyoneinlerin Moleküler Biyolojisi

Metalotiyoneinlerin en önemli özelliklerinden biri metaller, hormonlar ve diğer ajanlar ile işlem sonrasında sentezlerinin büyük oranda artmasıdır. Sentezlerinin indüklenmesi metalotiyonein genlerinin promotor kısımlarında bulunan çeşitli DNA dizileri tarafından transkripsiyonel seviyede düzenlenmekle olur. Metal düzenleyici elementler olarak adlandırılan bu DNA dizileri promotor kısımlarının içinde yer alır. Metalotiyonein gen ekspresyonu DNA'nın metilasyonu ile ilişkilidir. Metilasyonu engelleyen ajan varlığında metalotiyoneinlere ait mRNA ve protein sentezinin ve dolayısıyla kadmiyuma toleransın arttığı buna karşın metalotiyonein genlerinin metilasyonunu artıran ajanların ise o organizmanın kadmiyuma hassasiyetini artırdığı bulunmuştur. Bilindiği gibi genler metillenerek transkripsiyon durur; demetilasyon anında ise o genin transkripsiyonu artar. Metalotiyonein geninin ekspresyonu metallerle kolay bir şekilde sağlandığı için metalotiyonein füzyon genlerinin kullanımı genetik mühendisliğinde uygulama alanı bulmuştur. Bu gibi gen yapılarında metalotiyonein promotor kısmı istenen yapısal bir gene bağlanır. Bu sistemin ağır metallerle işleme tabi tutulması, gen ürününün düzenlenmesi ile sonuçlanır. Özellikle bir metalotiyonein büyüme hormonu füzyon geni eksprese eden ve çinkoca zengin diyetle beslendiğinde belirgin bir büyüme gösteren (iki kat fazla) transjenik farelerin gelişimi biyomedikal ve tarımsal alanlarda potansiyel bir kullanıma sahiptir. Bir çok türde metalotiyoneinlerin Cd'un biyolojik detoksikasyonunda önemli bir rol aldığı düşünülmektedir. Tolerans metallerin bu proteinlere yüksek bir affinite ile bağlanmasıyla oluşur. Zn ve Cu metalleri ile bu proteinler indüklendiğinde bu ağır metallerle bir ön işlemin Cd toksisitesini azalttığı bulunmuştur. Bu proteinin Cd detoksifikasyonun da rol alması büyük bir ihtimalle bu ağır metalin Zn'ye benzerliğinden kaynaklandığı belirtilmektedir. Metalotiyonein eksikliği Cd'un toksik etkilerine çok hassas olan bazı memeli dokularında

görülmüştür. Özellikle sıçan, fare ve maymun testisleri, hamster ovaryumu Cd'un kanserojenik etkisine hassas olup metalotiyonein içermedikleri tespit edilmiştir. Cd'un kanserojen anlamdaki toksisitesinde moleküler hedefin DNA olduğu tahmin edilmektedir. Zn, Cd'un testislerdeki DNA ile etkileşimleri azalttığı ve Cd'un yol açtığı kanserojen etkiyi azalttığı bulunmuştur (5).

2.3. Metalik Zehirler

Bir çok metaller insan ve hayvanlar için esensiyeldir. Bunlardan 8 element (kalsiyum, potasyum, sodyum, magnezyum metalleri ile kükürt, klorür, silisyum ve fosfor ametalleri) olmaksızın insan yaşayamaz. İnsan vücudunda ayrıca miktarları % 0.02'den az fakat bazıları çeşitli reaksiyonlar için gerekli 54 kadar eser element bulunmaktadır. Bunlar arasında vanadyum, krom, manganez, demir, kobalt, bakır, molibden ve çinko esensiyel eser metalleridir. Selenyum esensiyel eser yarı metal, iyot ve fluor ise esensiyel eser ametalleridir. Vücutta bulunan diğer eser elementlerin (kadmiyum, arsenik, civa, kurşun, berilyum gibi) bir çoğunun biyolojik fonksiyonları bilinmektedir (23).

İnsan vücudu için esensiyel olan ve olmayan metaller başta besinler olmak üzere diğer bazı yollarla (su, hava gibi) alınmaktadır. Böylece vücuttaki konsantrasyonları artmaktadır (23).

Şekil 2.1 Canlı organizmalarda bazı metallerin hücre içindeki biyolojik fonksiyonları (19)

METAL	FONKSİYON
Sodyum	Yük taşıyıcı; osmotik denge
Potasyum	Yük taşıyıcı; osmotik denge
Magnezyum izomeraz	Yapısal görev; hidrolaz ve izomeraz enzimlerinde kofaktör
Kalsiyum	Yapısal görev; uyarıcı-sinyal verici, yük taşıyıcı
Vanadyum	Azot fiksasyonu; oksidaz enzim kofaktörü
Krom	Bilinmiyor, muhtemelen glikoz toleransında görev alır
Molibden	Azot fiksasyonu; oksidaz kofaktörü
Tungsten	Dehidrojenaz kofaktörü
Mangan	Fotosentez; oksidaz kofaktörü, yapısal görev
Demir	Oksidaz kofaktörü; O ₂ ve taşınması ve depolanması, elektron transferi, azot fiksasyonu
Kobalt	Oksidaz; alkil grup transferi
Nikel	Hidrojenaz; hidrolaz kofaktörleri
Bakır	Oksidaz; O ₂ taşınması, elektron transferi
Çinko	Yapısal görev; Hidrolaz kofaktörü

En başta da söylediğimiz gibi organizmaya giren kadmiyum gibi serbest radikaller dokulara zarar vermekte ve lipitleri peroksidasyona uğratmaktadır. Serbest radikallerin organizmaya nasıl zarar verdiğini ve buna karşın vücutta oluşturulan antioksidan savunma sisteminden bahsetmek faydalı olacaktır.

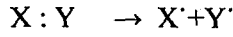
2.4. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistem

Serbest radikaller; hücre metabolizmasında biyokimyasal redoks tepkimeleri ile ortaya çıkan, dış yörüngelerinde çok az bir süre için bile olsa bir çiftlenmemiş elektron bulunduran

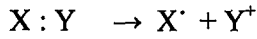
atom yada moleküllerdir. Bu tek elektron, çiftlenmek eğiliminde olduğundan, serbest radikaller aşırı derecede reaktiftirler ve bu nedenle diğer moleküller ile hızla reaksiyona girebilirler (24). Bu radikaller hücre içinde, aerobik metabolizma sırasında sürekli oluşurlar ve belli patolojik durumlarda üretimleri artar (25). Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlardan genel olarak üst kısma yazılan bir nokta ile gösterilir.

Serbest radikaller 3 yolla gösterilirler:

1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede Kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalırlar. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabildikleri gibi organik veya inorganik moleküller şeklinde de olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (26).

2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen kaynaklı olanlardır. Serbest radikaller metabolizma sırasında sürekli yapılanma içerisinde (27).

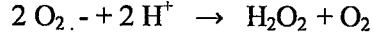
2.4.2. Süperoksit Radikali

Kuvvetli bir indirgeyici ajandır özellikle hem grupları, Fe-S grupları ile ve prostetik grup olarak geçiş metallerini (Fe, Cu gibi) içeren gruplarla etkileşim gösterir (27).

2.4.3. Hidrojen Peroksit

Moleküler oksijenin çevresinde moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) meydana getirir. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit

ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu ya katalizör varlığında yada katalizörsüz cereyan edebilir. Fakat katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci şekil ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe_3^+) süper oksit tarafından ferro demire (Fe_2^+) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak 'fenton reaksiyonu' ile hidrojen peroksitten OH ve OH⁻ üretilir. Süperoksit hem hidrojen peroksit kaynağı hemde geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisidir. İndirgenmiş geçiş metalleri (bakır ve demir gibi) okside şekillerine göre hidrojen peroksitle daha reaktiflerdir. EDTA gibi bazı şelatlayıcı ajanlar hidroksil radikal oluşumunu, Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla stimule ederken, dietilentriamin pentaasetik asit (DTPA) gibi bazıları inhibe eder. EDTA, demir iyonlarının lipit peroksitleri ile reaksiyon hızını düşürür (26).

2.4.4. Hidroksil Radikali

Bütün oksijen radikalleri içerisinde en reaktif olanıdır; proteinler, karbonhidrat, lipit ve nükleik asitleri okside etme yetenekleri fazladır (27).

2.4.5. Singlet Oksijen

Singlet oksijen (1O_2), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spinin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşur. Delta ve sigma olmak üzere 2 şekli vardır. Singlet oksijen, uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyelerine inmesiyle ışık yayar.

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($R\cdot$), peroksil (peroksi) radikalleri ($ROO\cdot$), alkoksil (alkoksi) radikalleri ($RO\cdot$) gibi önemli serbest radikaller

de meydana gelirler. Bunlardan özellikle poliansature yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir (26).

2.5. Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen kaynaklı olanlarıdır. Serbest radikaller metabolizma sırasında sürekli yapılanma içerisinde. Aşağıda serbest radikaller kaynakları ve oluşan radikaller özetlenmiştir (27).

2.5.1. Oksijen

Oksijenin suya indirgenmesi sırasındaki tek elektron aktarmaları sonucunda oluşan reaktif moleküller radikallerin önemli bir grubunu oluşturur (28).

2.5.2. Aktive Nötrofiller

Hipoklorit asiti (HOCl), aktive nötrofillerden üretilen güçlü bir oksidandır. Fagositler membran NADPH oksidaz sistemi ile süperoksit radikalini oluştururlar (26).

2.5.3. Nitrik Oksit

Nitrik oksit ve nitrojenioksit tek sayılı elektron taşıyıcı ve bundan dolayı serbest radikaldir (26).

2.5.4. Mitokondrial Elektron Transport Sistemi

Mitokondride oksijenin suya indirgenmesi sırasında iç membranda lokalize elektron transport zincirinde süperoksit radikali oluşur (28).

2.5.5. Endoplazmik Retikulum

Bu sistem sitokrom P450 ve sitokrom b5 içermektedir. Bu sistemler doymamış yağ asitlerinin ve ksenobiyotiklerin oksidasyonunda rol oynar (26).

2.5.6. Peroksizomlar

Yüksek düzeyde oksidaz içerdiklerinden dolayı güçlü bir hidrojen peroksit kaynağıdır (26).

Çizelge 2.1. Serbest Radikallerin Hücredeki Zararlı Etkileri (25).

- Proteinlere zarar verirler.
- Enzimleri inaktive ederler,
- Membran ve serum lipidlerinde peroksidasyon yaparlar,
- DNA'da hasar yaparlar,
- Mitokondride aerobik solunumu bozarlar,
- Litik enzimleri aktive ederler,
- Hücre yüzeyindeki reseptörlerde değişiklikler yaparlar,
- Hücrenin K⁺ Kaybını artırırılar,
- Na-K-ATPaz gibi hücre iyon taşıma proteinlerini tahrip ederler,
- Bağ dokusunda harabiyet oluştururlar,
- Trombosit birikimini artırırılar,
- Dokularda fagosit artışına neden olurlar,
- Karbonhidratlara etki ederler,
- Hücre dışı kollajen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar,
- Kılcal damarların geçirgenliğini bozarlar,
- Hücre dışı yapıları etkilerler.

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallere karşı vücutta 'Antioksidanlar' olarak isimlendirilen savunma sistemleri bulunmaktadır (28).

2.6.1. Hücre içi Antioksidanlar

2.6.1.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak detoksifiye eder. Organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim SOD'dır (28).

2.6.1.2. Katalaz

Yüksek konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu sağlar (28).

2.6.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Düşük konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu sağlar (28).

2.6.1.4. Sitokrom Oksidaz

Oksijenin suya indirgenmesi sırasında radikal oluşumunu önler (28).

2.6.2. Membranda Bulunan Antioksidanlar

A ve E vitaminleri bu grup antioksidanlardır (28).

2.6.3. Hücre Dışı Antioksidanlar

2.6.3.1. Transferin

Metal katalizli lipit peroksidasyonuna yol açan demir iyonlarını bağlayarak serbest demir oluşumunu önler (28).

2.6.3.2. Laktoferrin

Demiri bağlamak suretiyle etkili olan bir süt proteinidir (28).

2.6.3.3. Seruloplazmin

Bakır iyonlarını bağlamak suretiyle metal katalizli iyonları sınırlar (28).

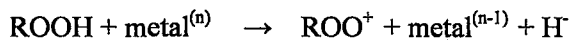
2.6.3.4. Glukoz

Fizyolojik konsantrasyonlarda antioksidan etkilidir. Yüksek konsantrasyonlarda radikal üretici olarak davranır (28).

2.7. Antioksidan Etki Tipleri

Oksijenle karşılaşan lipitlerin peroksidasyona uğraması (otooksidasyonu) sadece besinlerin bozulmasında (acıma) sorumlu olmayıp aynı zamanda kanser, yangısal hastalıklar, ateroskleroz, yaşlanma vb. gibi olaylara neden olabilen doku harabiyetinden de sorumludur. Bu bozucu etkiler metilenle kesintiye uğramış çift bağlar içeren yağ asitlerinden, yani doğada görülen çoğul doymamış yağ asitlerinden peroksit oluşması sırasında üretilen serbest radikaller ($ROO^{\cdot}$, $RO^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$) tarafından başlatılır. Lipit peroksidasyonu bir zincir tepkimesi olup daha ileri peroksidasyonu başlatacak serbest radikaller için kesintisiz bir kaynak sağlar. Olayın tamamı aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

1. Başlatılma:



2. İlerleme :



3. Sonlanma :



Olayı başlatan moleküler öncüller genel olarak hidroperoksit ürün ROOH olduğundan lipit peroksidasyonu potansiyel yıkıcı etkileri olan bir zincir tepkimesidir. Gerek insanlar ve gerek doğada lipit peroksidasyonunu denetlemek ve azaltmak için antioksidanlar kullanılır. Propil gallat, bütillenmiş hidroksianizol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen [$C_6H_4(CH_3)OH$] (BHT) antioksidan olarak kullanılan gıda katkılarıdır. Doğada görülen antioksidanlar yağda çözünen E vitamini (tokoferol) ve suda çözünen ürat ve C vitaminini kapsar (26).

Koruyucu antioksidanlar zincir başlatılmasının hızını azaltır. Bunlar arasında Katalaz ve ROOH ile tepki veren diğer peroksidazlar ile DTPA (dietilentriaminpentaasetat) ve EDTA (etilendiamintetraasetik asit) bulunur. Zincir kıran antioksidanlar zincir ilerlemesini engellerler bunlar sıklıkla fenoller veya aromatik aminlerdir. İn vivo olarak zincir kıran başlıca antioksidanlar süperoksit serbest radikalleri (O_2^-) yakalamak üzere sulu fazda etki yapan süperoksit dismutaz; olasılıkla ürat ve ROO^+ radikallerini yakalamak için lipit fazda etki yapan E vitaminidir (29).

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1. Toplayıcı etki (scavenging)
2. Bastırıcı etki (quencher etki)
3. Onarıcı etki (repair etki)
4. Zincir kırıcı etki (chain breaking etki)

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tip bir etki gösterirler.

Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir. Vitaminler, flavanoidler, trimertazidin ve antosiyanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemogloblin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (26).

2.8. Malondialdehit (MDA)

Cd, canlı organizmalarda lipit peroksidasyonuna neden olur (13,20,30). MDA, hücre lipitlerin okside edilerek yapılarının bozulması sonucu oluşan ana metabolittir ve lipit peroksidasyonu ürünlerinin %40'ını ifade etmekle beraber lipit peroksidasyonunun bir indeksi olarak kabul edilir. Lipit peroksidasyonu sonucunda özellikle doymamış yağ asitlerinin çift bağlarının oksidasyonu, membran akışkanlığında azalma, membran salınım fonksiyonlarında düzensizliğe, membran geçirgenliğinde bozulmaya neden olur. Birden fazla çift bağ içeren

doymamış yağ asitlerinin zarlardaki bolluğu nedeniyle, lipid peroksidasyonu zarlar değişimlerin en önemli sebebidir (25).



3. LİPİTLERİN KİMYASI

Suda çözünmeyen fakat eter, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünen biyokimyasal maddelere 'Lipit' denir. Lipitlerin hücre ve hücre organellerinin zar (membran) yapısını oluşturmak, metabolik yakıt olma, deride koruyucu üst katman oluşturmak, A, D ve E vitaminlerinin molekül yapılarını oluşturmak, bazı enzimleri aktive etmek, bazı biyokimyasal sentezlerin çıkış maddesi olmak, mitokondrilerde elektron taşıma işlevine yardımcı olmak, hücrelerde bilgi iletişimi, doku bağışıklığı ve tanıma gibi önemli biyokimyasal fonksiyonları vardır (31).

Ortak ve belirleyici özellikleri suda çözünmemek olan biyolojik lipitler farklı bir kimyasal bileşik grubudur. Lipitlerin biyolojik işlevleri kendi kimyaları kadar çeşitlidir. Yağlar bir çok organizmada başlıca depo enerji şeklidir (32).

3.1. Lipitlerin Sınıflandırılması

Lipitleri bir çok şekilde sınıflandırmak mümkündür. Bunların içinde en çok revaç bulanı ise ana iskelet yapısı esas alınarak yapılan sınıflandırmadır. Bu tip sınıflama Çizelge 3.1 de özetlenmiştir. Bu çizelgede görüldüğü gibi lipitler iki ana sınıfa ayrılmıştır.

3.1.1. Kompleks Lipitler

Açılgliseroller, fosfogliseritler, sfingolipitler ve mumlar bu gruptandır. Sabun yapılabılır lipitlerde denir (33).

3.1.2. Basit Lipitler

Yağ asiti ihtiva etmeyen ve sabunda yapılamayan lipitler bu gruptandır (33).

3.2. Yağ Asitleri

Yağ asitlerinin pek çoğu organizmada hücre sel yapı elemanı olarak kompleks lipitler halinde bulunmakta, ancak çok az bir kısmı ise hücre ve dokularda serbest yağ asiti halinde bulunmaktadır. Hayvan, bitki ve mikroorganizmalardan yaklaşık yüzden fazla çeşitte yağ asiti izole edilmiştir. Bütün yağ asitleri bir ucunda bir metil grubu, uzun hidrokarbon zinciri ve diğer ucta ise bir karboksil grubu ihtiva etmektedir. Hidrokarbon zinciri ya palmitik asit de olduğu gibi doymuştur veya oleik asitte olduğu gibi bir veya birden fazla çift bağ ihtiva etmektedir. Yağ asitleri ya ihtiva ettikleri karbon zinciri uzunluğu veya ihtiva ettikleri çift bağ sayısı ile birbirinden ayrılmaktadır. Çizelge 3.2 de doymamış yağ asitine örnek olarak tek bir çift bağ ihtiva eden oleik asit, doymuş yağ asitine örnek olarak da palmitik asit verilmiştir (34).

Çizelge 3.1. Lipitlerin Sınıflandırılması (34).

KOMPLEKS LİPİTLER

TRİAÇİL GLİSEROLLER

MUMLAR

FOSFOGLİSERİTLER

FOSFATİDİLETANOLAMİN

FOSFATİDİL SERİN

FOSFATİDİL KOLİN

FOSFATİDİL İNOSİTOL

KARDİOLİPİN

SFİNGOLİPİTLER

SFİNGOMİYELİN

SEREBROSİTLER

GANGLİOSİTLER

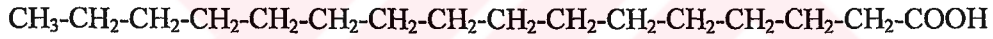
BASİT LİPİTLER

TERPENLER

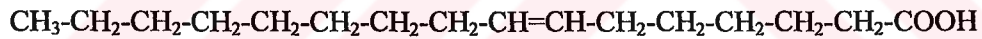
STEROİTLER

PROSTAGLANDİNLER

Önce kompleks lipitlerin karakteristik komponenti olan yağ asitlerinin yapı ve özelliklerini inceleyelim.



PALMITİK ASİT



OLEİK ASİT

Çizelge 3.2. .Doymuş yağ asitlerinden palmitik asitin ve doymamış yağ asitlerinden oleik asitin yapısı (34).

Yağ asitleri genellikle kısa sembollerle ifade edilmektedir. Bu sembollerde yağ asitlerinin ihtiva ettiği karbon sayısı belirtilir ve ihtiva ettiği çift bağın sayısı ve konfigürasyonu ifade edilir. Örneğin onaltı karbona sahip palmitik asit, 16:0 şeklinde gösterilir. Onsekiz karbon atomuna sahip oleik asit ise 18:1 Δ^9 şeklinde ifade edilir. Semboldeki birinci rakam yağ asitinde bulunan karbon sayısını ikinci rakam ise bir çift bağ olduğunu ve bu bağın 9 ile 10'uncu karbon atomu arasında bulunduğunu ve cis konfigürasyonunda olduğunu ifade etmektedir. Eğer çift bağ trans konfigürasyonunda ise bu ayrıca gösterilmektedir. Elaidik asit 18 karbonlu ve trans pozisyonunda bir çift bağ ihtiva eden bir yağ asitidir ve elaidik asit 18:1 Δ^9 trans şeklinde ifade edilmektedir. Yüksek organizasyonlu bitki ve hayvanlarda bulunan yağ asitlerine ait bazı

genellemeler yapmak mümkündür. En sık rastlanan yağ asitleri çift karbonlu olup 14 ile 22 karbon atomuna sahip olanlardır. Bunların içinde çoğunluğu ise 16 ve 18 karbonlu yağ asitleri almaktadır. Doymuş yağ asitleri içinde en genel olanları ise 16 karbonlu (C₁₆) palmitik asit ve 18 karbonlu (C₁₈) stearik asit ve de yine 18 karbonlu olan ve doymamış yağ asitlerinin bir üyesi olan oleik asittir. Özellikle yüksek organizasyonlu bitkilerde ve düşük sıcaklıklarda yaşayan hayvanlarda, doymamış yağ asitlerinin miktarı doymuş yağ asitlerine oranla daha fazladır. Yüksek organizasyonlu canlılarda rastlanan monoansature (monoenoik) yağ asitlerinin çift bağı genellikle 9 ve 10 nolu karbonlar arasında yer almaktadır. Poliansature (polienoik) yağ asitlerindeki çift bağlardan birisi yine 9 ve 10 nolu karbonlar arasında yer almakta diğerleri ise 9 ve 10 nolu karbonlar ile metil ucu arasında yer almaktadır. Doymamış yağ asitlerinin pek çoğunda çift bağlar en azından bir metilen grubu ile birbirinden ayrılmıştır. Bu durumu bir örnekle açıklamak gerekirse aşağıdaki gibi yazmak mümkündür (34).

$(-CH=CH-CH_2-CH=CH-)$.

3.2.1. Temel Yağ Asitleri

Linoleik asit (C_{18:2}), γ -linolenik asit (C_{18:3}) temel yağ asitleridirler ve araşidonik asit (C_{20:4}) linoleik asitler halindeki öncül moleküllerden memeliler tarafından sentezlenmektedir. Temel yağ asitlerinin memelilerde yağ asiti türevi ve hormon benzeri bir madde olan Prostaglandinlerin bir sentezi için gerekli olduğu anlaşılmıştır (35).

3.2.2. Yağ Asitlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Dört, altı, sekiz ve on karbon atomu ihtiva eden doymuş yağ asitleri oda sıcaklığında sıvı oldukları halde daha fazla sayıda karbon atomu ihtiva eden doymuş yağ asitleri sıvı halde bulunurlar. Doymuş yağ asitlerinin erime noktası karbon zincirinin uzaması ile yükselir. Örneğin butirik asitin (C₄) erime noktası -8 °C iken stearik asitinki (C₁₈) 70°C dir. Erime noktası doymamışlık derecesinin artması ile düşer. Yağ asitleri karboksil grupları nedeniyle metal iyonları ile tuzlar teşkil ederler (36).

3.3. Yağ Asitlerinin Gaz Sıvı Kromatografisi

Gaz-sıvı kromatografisi, bir karışımın uçucu bileşenlerini kromatografinin içinde bulunan soy maddenin içinde, çözünme, kolonda buharlaşma ve helyum gibi bir soygazın akımı ile hareket etme eğilimlerine göre ayırır (32).

Kalay ve arkadaşlarının Tilapia nilotica (L.)'da kadmiyumun kas, beyin ve kemik (omurga kemiği) dokularındaki birikimi üzerine yaptıkları çalışmada en çok birikiminin sırasıyla beyin ve kemik dokularında olduğunu bildirmişlerdir (10). Zahir ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Cd verilen sıçanlarda Cd'un karaciğer ve böbrek dokularında lipit

peroksidasyonunu teşvik ettiği bildirilmiştir (13). Patra ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Cd'un sıçanların karaciğer, testis ve böbrek dokularında SOD ve LPO miktarını artırdığı bildirilmiştir (20). Asagba ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada ise sıçanlara oral yolla Cd verildikten sonra vücut ağırlığında önemli bir azalma, böbreklerde şişlik, gözde ise ağırlıkça bir artışın yanında körlüğe kadar neden olabilecek A vitamini eksikliği görüldüğü bildirilmiştir (37). Shohda ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada Cd'un karaciğer ve böbreklerde lipit peroksidasyonunu meydana getirdiği ve bununla büyük tahribatlara yol açtığı bildirilmiştir (3). Company ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada Bathymodiolus azoricus'un solungaçlarında Cd'un lipit peroksidasyonuna neden olduğunu bildirilmişlerdir (38).

Manca ve arkadaşları sıçan dokularında Cd'un özellikle karaciğer ve akciğerde lipit peroksidasyonuna neden olduğunu gözlemlemişler 25 ve 500 µg Cd/kg muamelesi ile karaciğerde 2 saatten sonra TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) aktivitesinin yükseldiğini bildirmişlerdir (39). Sıçan eritrositlerinde Cd etkisini konu alan bir çalışmada 3 gün boyunca Cd muamele edilen dokularda lipit peroksidasyonu yükselirken antioksidan olan SOD ve CAT miktarının azaldığı bildirilmiştir (6). Kim ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptıkları çalışmada oral yolla alınan Cd'un oluşturduğu immunotoksik etkiyi Melatonin hormonunun önlediği bildirilmiştir (4). Bagchi ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptıkları çalışmada Cd'un sıçan karaciğerlerinde DNA zincirlerine zarar verdiği ayrıca Cd muamelesinden 48 saat sonra lipit metabolitlerinin en yüksek seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir (21). Bir başka çalışmada human K-562 hücrelerinde Cd'un toksik etkisine karşı selenyumun koruyucu bir rol oynadığı bildirilmiştir (17). Kara ve arkadaşlarının sıçan böbrek dokularında yaptıkları çalışmada Cd'un oldukça toksik olduğu ve önemli yapısal hasara yol açtığını bildirmişlerdir. Metal bağlayan bir protein olan Metallothionein' in oluşan bu yapısal hasarları önlemede yetersiz kaldığı ve benzer yapısal bozuklukların metallothionein uygulanan gruplarda da olduğunu tespit etmişlerdir (9). Yeşilada ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Drosophila melanogaster'in ömür uzunluğu üzerine kadmiyum nitrat $[Cd(NO_3)_2]$ 'ın etkisi araştırılmış ve kadmiyum nitrat konsantrasyonunun artışına bağlı olarak erkek ve dişilerde ortalama ömür uzunluklarının kısaldığını bildirmişlerdir (2). Ulu ve arkadaşları Cd'un sıçan karaciğeri glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerine etkisini ve bu etkinin diyetdeki selenyumla ilişkisini incelemişlerdir. Cd^{+2} nin glutatyon redüktaz aktivitesi üzerine inhibitör etkisi olduğunu bildirmişlerdir (40). Kudo ve arkadaşları çinko ihtiva etmeyen besinlerle beslenen ve subkutan olarak kadmiyum verilen sıçanlarda kadmiyumun karaciğer mikrozomal stearyl-CoA desaturaz aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (41). Yine Kudo ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir

Çalışmada Cd'un sıçan karaciğer hucelerinde Δ -9 aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (42).

Daha önceden de belirttiğimiz gibi kadmiyumun doku hasarına sebep olduğu, melatonin ve vitamin E –selenyum karışımının yada ayrı ayrı uygulanmasının doku hasarını ortadan kaldıracı özelliklere sahip oldukları gösterilmektedir. Ancak yapılan çalışmaların taranması ve incelenmesi sonucu kadmiyumun meydana getirdiği hasara melatonin ve vitamin E-selenyum karışımının etkileri konusunda çalışmaya rastlanmamıştır. Bu da tezin tamamen orijinal biyokimyasal ve fizyolojik açıdan çok önemli sonuçlar tařıdđını göstermektedir.



4. MATERYAL VE METOT

4.1. Materyal

4.1.1. Kimyasal Malzemeler

Araştırmada analitik saflıkta olan MERCK (Darmstadt, Germany) marka; melatonin (Mlt), vitamin E (α -tokoferol), hekzan, izopropanol (2- propanol), potasyum klorür (KCl), sodyum sülfat (Na_2SO_4), sülfürik asit (H_2SO_4), fosfovanilin reaktifi, sodyum selenit (Na_2SeO_3), sodyum klorür (NaCl), potasyum hidrojen karbonat (KHCO_3), hidroksi toluen, miristik asit, pentadekanoik asit (15:0), palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1), linoleik asit (18:2), eikosenoik asit, araşidonik asit (20:4), dokosenoik asit, dokosapentaenoik asit, dokosaheksaenoik asit kimyasal maddeleri kullanıldı. 250 kg sıçan yemi Elazığ yem fabrikasından temin edildi.

4.1.2. Sıçanların Temini ve Bakımı

Araştırmada kullanılan, ağırlıkları 180-220 gram arasında değişen 2-3 aylık, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Araştırma Merkezi'nden temin edilen 50 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar ağırlıkları esas alınarak eşit sayıda deney hayvanı bulunduran 5 gruba ayrılmıştır.

1.grup: Kontrol (serum fizyolojik verildi)

2.grup: Kadmiyum klorür (1 mg/kg)

3.grup: Kadmiyum klorür + melatonin, (1 mg/kg + 10 mg/kg)

4.grup: Kadmiyum klorür + vitamin E-selenyum (1 mg/kg + 30 mg/kg + 2 μ g)

5.grup: Kadmiyum klorür + melatonin + vitamin E-selenyum (1 mg/kg + 10 mg/kg + 30 mg/kg + 2 μ g)

Grupları oluşturulan hayvanlara uygulamalar belirtilen dozlarda 12 saat karanlık 12 saat ışık siklusunun temin edildiği (08:00-20:00 saatleri arası ışık) ortamında +22 °C de ortam sıcaklığında sessiz ve nemin % 60-65 arasında kontrol altında tutulduğu bir odada 30 gün süreyle bakıma alındılar. 30. günün sonunda hayvanlar alınarak karaciğer, böbrek, kalp ve testis dokularındaki total yağ asitleri değişimi araştırılmıştır.

4.2. Yöntemler

Araştırmada sıçanlara gün aşırı olarak intraperitoneal yolla enjeksiyon yapılmıştır. Total lipidlerin hayvansal dokulardan elde edilmesi (ekstraksiyonu) lipid olmayan safsızlıkların uzaklaştırılması yağ asitlerinin elde edilip gaz kromatografik analizler için uygun türevlerinin hazırlanması Hara ve Radin (1983) metoduyla yapılmıştır (43).

4.2.1. Lipitlerin Ekstraksiyonu

Doku ve serum örneklerinden lipitlerin ekstraksiyonu 3:2 (v/v) hekzan izopropanol karışımının kullanıldığı Hara ve Radin (1983) metoduyla yapıldı. Bunun için:

Dokular Micra-D.8 homojenizatöründe 1100 rpm'de 1 dk. süre ile 3:2 (v/v) oranında 50 ml hekzan-izopropanol ile parçalandı. Homojen karışım Buchner hunisi ile Nuçe erlenine vakumlanarak süzüldü ve doku pelletinden tamamıyla ayrıldı. Süzülme sırasında 10 ml (3:2 v/v) hekzan-izopropanol karışımı ile homojenizasyon yapıldığı homojenizatör kabı ve doku artığı pelleti tekrar karıştırılarak süzölmeleri sağlandı. Bütün filtre edilmiş homojen karışım toplanarak çözücüsü uçurma aşamasına getirildi.

Homojenize olmuş toplam filtratın çözücüsü kısmen 35 °C de uçurularak 35 ml'lik KLIMAX marka deney tüplerine alındı, lipit olmayan safsızlıklar içermemesine rağmen, hekzan fazından izopropanol fazını ayırmak ve kısmen de lipit olmayan safsızlıkları uzaklaştırmak için hacminin ¼'ü kadar % 0.88 lik KCl çözeltisi ilave edilip vorteks'le iyice karıştırılması sağlandı. Fazların ayrılması için 10-12 saat dinlenmeye bırakıldı. Daha sonra üst faz pipet ile alınarak başka bir tüp içine aktarıldı.

Yukarıdaki işlemde sonra bütün lipit ekstraktları susuz sodyum sülfat ile muamele edilerek içeriğinde mevcut olan su atığından ayrıldı ve hacimleri belirlenerek temiz tüplere alındı. Bu örneklerden total lipit, total kolesterol, total gliserit miktarlarının belirlendiği gaz kromatografi analizi yapılana kadar -20 °C deki derin dondurucu ortamında muhafaza edildi.

4.2.2. Yağ Asiti Metil Esterlerinin Hazırlanması

Lipitler içinde bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizlerinin yapılabilmesi için polar olmayan uçucu ve kararlı yapıya sahip olan metil esterleri türevlerine dönüştürülmesi gerekir. Lipitler içindeki yağ asitlerini, metil esterleri gibi türevlerine dönüştürülmesinde değişik metotlar kullanılmasına rağmen, Christie'de, 1990 ve 92'de ifade edildiği gibi uygulaması pratik ve verimi yüksek olan asit katalizli esterleştirme yöntemi kullanıldı (44). Bu yöntemde göre:

Metil esteri hazırlamak için total lipit ekstraktından 5-10 ml kadar alındı çözücüsü 40 °C de döner buharlaştırıcıda azot akımı altında uçuruldu, 3 ml hekzanda çözüldü 30 ml'lik sızdırma yapmayan deney tüplerine alındı. Üzerine % 2'lik metanolik sülfrik asitten 5 ml ilave edildi, vorteks ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 50 °C lik su banyosunda 12 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. 12 saatlik süre sonunda, tüpler su banyosundan çıkarıldı oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 ml % 5 lik sodyum klorür ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asiti metil esterleri 2×5 ml hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstten pipetle absorbe edilerek alındı.

Metil esterlerini içeren hekzan fazı, 30 ml'lik bir ayırma hunisine alınarak 5 ml % 2 lik KHCO_3 ile yıkandı. Faz ayrılmasından sonra hekzan fazı, 20 ml lik deney tüpü içine alınarak susuz sodyum sülfatla kurutuldu ve süzgeç kağıdından (Whatman No:1) süzülerek sodyum sülfattan ayrıldı. Son olarak metil esterlerini içeren karışım döner buharlaştırıcıda 45 °C de ve azot akımı altında gerekli yoğunlaştırma işlemi yapılarak, ağzı kapaklı deney tüplerine gaz kromatografi analizine kadar -20 °C de derin dondurucuda muhafaza edildi.

4.2.3. Yağ Asiti Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Lipit ekstrakt içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC 17 Ver. 3 gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 25 m uzunluğunda, 0,25 µm iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip MACHERY-NAGEL (Germany) kapiller kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 130 -220 °C'de enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak tutuldu. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asiti metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asiti metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek (0.5-1 µl) her bir yağ asitinin alı konma süreleri belirlendi. Bu işlemten sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait yağ asiti metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı.

4.3. İstatistik Analizler

Bütün gruplar arasında **Kruskal Wallis** varyans analizi yapılmış ve farklılıklar olduğunda da **Mann-Whitney U** testi ile alt gruplar karşılaştırılmıştır. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. $P < 0.05$ olan değerler istatistiki açıdan önemli olarak kabul edilmiş, dokularda yağ asitleri miktarları analizindeki ilişkiyi belirlemek için de korelasyon analizi yapılmıştır. Tüm bu istatistik analizlerin ve belirleyici istatistiklerin yapılmasında spss for Windows 11.5 paket programından yararlanılmıştır (45).

5. BULGULAR

5.1. Karaciğer, Böbrek, Testis ve Kalp Dokularındaki Yağ Asiti Değerleri

Şekil 5.1. Karaciğer dokusundaki bazı yağ asiti değerleri (%):

Yağ Asiti	Kontrol	Cd	Cd+melatonin	Cd+vitE-se	Cd+mlt+vit E-se	P
C16:0	24,58± 1,36	22,13±0,97	25,25± 1,55	22,75± 0,58	25,56± 3,04	-
C18:0	26,37± 1,73	21,72±1,46	27,47± 2,09	22,95± 0,91	25,54± 2,80	-
C18:1n7	4,46 ^a ± 0,10	3,74 ^b ±0,22	3,93 ^b ± 0,17	3,44 ^b ± 0,20	3,72 ^{ab} ± 0,37	*
C18:1n9	5,62± 0,31	7,27±1,01	8,04± 0,52	7,62± 0,98	11,43± 2,74	-
C18:2n6	15,18± 0,26	15,68±0,47	15,67± 0,55	16,11± 0,73	16,17± 1,43	-
C20:4n6	18,96± 2,09	20,48±0,99	18,20± 2,61	20,34± 1,44	14,87± 5,07	-
C22:6n3	5,49± 0,88	6,63± 0,44	6,04± 1,86	6,79± 0,90	4,81± 0,14	-

- : P>0.05 * : P<0.05

a,b: Aynı satırda farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası farklar önemlidir (P<0.05).

• Yapılan Uygulamalar Sonucunda Karaciğer Dokusundaki Yağ Asiti Miktarlarının Değişimi

C18:1n7 yağ asitinde en yüksek ortalama değer kontrol grubunda tespit edilmiştir. Bu grupla Cd+mlt+vit E-se grubu arasındaki fark önemsiz (P>0.05), diğer gruplar arasındaki fark ise önemli (P<0.05) bulunmuştur. Diğer üç grubun kendi arasındaki fark ise önemsiz (P>0.05) tespit edilmiştir.

Diğer yağ asitleri için karaciğer dokusunda kontrol ve deneme grupları arasındaki farklılıklar önemsiz (P>0.05) bulunmuştur.

Şekil 5.2. Böbrek dokusundaki bazı yağ asiti değerleri (%):

Yağ Asiti	Kontrol	Cd	Cd+melatonin	Cd+vit E-se	Cd+mlt+vit E-se	P
C16:0	20,66±0,46	20,87±0,45	22,37± 0,49	21,32± 0,56	22,39± 0,34	-
C18:0	12,16± 3,98	18,11±3,50	16,49± 1,53	15,85± 0,72	13,93± 1,13	-
C18:1n7	3,21± 0,11	3,61± 0,20	3,69± 0,16	3,61± 0,09	3,41± 0,15	-
C18:1n9	9,06 ^c ± 0,39	10,52 ^b ±0,32	15,39 ^a ± 1,40	15,43 ^a ±0,78	15,41 ^a ± 0,83	**
C18:2n6	13,61 ^c ±0,50	14,45 ^{bc} ±0,52	20,20 ^a ± 1,21	19,85 ^a ±0,91	20,04 ^a ± 0,69	**
C20:4n6	29,34 ^a ±1,16	26,87 ^a ±1,27	20,59 ^c ± 1,87	21,76 ^{bc} ±1,12	27,12 ^a ± 0,86	**
C22:6n3	3,47± 0,26	2,65± 0,26	2,92± 0,52	2,89± 0,04	2,94± 0,69	-

- : P>0.05 * : P<0.05

a,b: Aynı satırda farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası farklar önemlidir (P<0.05).

• Yapılan Uygulamalar Sonucunda Böbrek Dokusundaki Yağ Asiti Miktarlarının Değişimi

C18:1n9 yağ asitinde en yüksek ortalama değerler Cd+vit E-se, Cd+mlt+vit E-se, Cd+melatonin grupları arasında tespit edilmiştir. Bu üç grup arasındaki fark önemsiz (P>0.05)

bu gruplarla kontrol ve Cd grupları arasındaki farklılık ise yüksek düzeyde önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

C18:2n6 yağ asitinde en yüksek ortalama değerler Cd+melatonin, Cd+vit E-se, Cd+mlt+vit E-se, grupları arasında tespit edilmiştir. Bu üç grup arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$) bu grupla kontrol ve Cd grupları arasındaki farklılık ise yüksek düzeyde önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

C20:4n6 yağ asitinde en yüksek ortalama değerler kontrol, Cd ve Cd+mlt+vit E-se, grupları arasında tespit edilmiştir. Bu üç grup arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$) bu grupla Cd ve Cd+melatonin grupları arasındaki farklılık ise yüksek düzeyde önemli ($P<0.01$) bulunmuştur.

Diğer yağ asitleri için böbrek dokusunda kontrol ve deneme grupları arasındaki farklılıklar önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur.

Şekil 5.3. Testis dokusundaki bazı yağ asiti değerleri (%):

Yağ Asiti	Kontrol	Cd	Cd+melatonin	Cd+vit E-se	Cd+mlt+vit E-se	P
C16:0	28,05±1,58	22,13±1,30	22,53± 1,48	24,88± 1,69	25,47± 1,84	-
C18:0	11,11± 2,93	7,45± 1,75	8,94± 2,56	7,85± 1,58	9,99± 2,82	-
C18:1n7	2,76 ^b ± 0,11	4,73 ^a ± 0,22	4,91 ^a ± 0,22	4,22 ^a ± 0,50	4,03 ^{ab} ± 0,60	*
C18:1n9	10,61 ^c ± 1,19	21,32 ^b ± 1,03	24,64 ^a ± 1,09	19,23 ^{ba} ± 2,74	20,53 ^{ba} ± ,62	**
C18:2n6	9,33± 2,04	16,70± 3,04	24,91± 3,82	19,66± 3,91	18,95± 4,31	-
C20:4n6	17,96 ^a ± 0,81	10,98 ^b ± 1,40	6,13 ^c ± 1,08	11,33 ^{bc} ± 2,97	7,37 ^{bc} ± 2,05	*
C22:6n3	3,64± 0,79	4,74± 1,71	3,61± 1,66	1,35± 0,56	8,24± 1,53	-

- : $P>0.05$

* : $P<0.05$

a,b: Aynı satırda farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası farklar önemlidir ($P<0.05$).

• Yapılan Uygulamalar Sonucunda Testis Dokusundaki Yağ Asiti Miktarlarının Değişimi

C18:1n7 yağ asitinde en yüksek ortalama değerler Cd, Cd+melatonin, Cd+vit E-se ve Cd+mlt+vit E-se grupları arasında tespit edilmiştir. Bu dört grup arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$) bu gruplarla kontrol grubu arasındaki fark ise önemli ($P<0.05$) bulunmuştur.

C18:1n9 yağ asitinde en yüksek ortalama değerler Cd+melatonin, Cd+vit E-se ve Cd+mlt+vit E-se grupları arasında tespit edilmiştir. Bu üç grup arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$) bu gruplarla kontrol ve Cd grupları arasındaki farklılık ise yüksek düzeyde önemli bulunmuştur.

C20:4n6 yağ asitinde en yüksek ortalama değer kontrol grubunda tespit edilmiştir. Bu grupla diğer gruplar arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Cd+vit E-se ile Cd+mlt+vit E-se grupları arasındaki fark ise önemsiz ($P>0.05$) tespit edilmiştir.

Diğer yağ asitleri için testis dokusunda kontrol ve deneme grupları arasındaki farklılıklar önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur.

Şekil 5.4. Kalp dokusundaki bazı yağ asiti değerleri (%):

Yağ Asiti	Kontrol	Cd	Cd+melatonin	Cd+vit E-se	Cd+mlt+vit E-se	P
C16:0	15,61± 0,40	18,08±1,47	16,52± 0,90	15,77± 0,64	19,06± 3,11	-
C18:0	19,89± 1,23	24,51±2,19	21,98± 1,65	19,17± 0,75	20,60± 3,07	-
C18:1n7	4,52± 0,04	5,04± 0,38	4,40± 0,14	4,32± 0,12	3,95± 0,19	-
C18:1n9	6,61± 1,23	5,62± 0,95	6,90± 1,80	7,16± 0,60	10,86± 5,31	-
C18:2n6	18,31± 0,93	16,66±0,58	18,11± 0,96	21,07± 1,26	16,97± 1,10	-
C20:4n6	20,62± 1,15	18,15±2,11	19,54± 1,72	20,10± 1,01	15,49± 3,83	-
C22:6n3	11,77± 0,97	13,07±0,67	12,00± 1,69	12,40± 0,40	11,97± 3,30	-

- : P>0.05 * : P<0.05

a,b: Aynı satırda farklı harfleri içeren grup ortalamaları arası farklar önemlidir (P<0.05).

• **Yapılan Uygulamalar Sonucunda Kalp Dokusundaki Yağ Asiti Miktarlarının Değişimi**

Tüm yağ asitleri için kalp dokusunda kontrol ve deneme grupları arasındaki farklılıklar önemsiz (P>0.05) bulunmuştur.

5.2. Karaciğer, Böbrek, Testis ve Kalp Dokularındaki Korelasyon Analiz Değerleri

Şekil 5.5. Karaciğer dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon (%):

	C16:0	C18:1n9	C18:1n7	C18:2n6	C18:0	C22:6n3
C18:1n9	0,544**					
C18:1n7	0,453*	0,183 ⁻				
C18:2n6	-0,276 ⁻	0,204 ⁻	-0,369 ⁻			
C18:0	0,617**	0,083 ⁻	0,353 ⁻	-0,371 ⁻		
C22:6n3	-0,792**	-0,308 ⁻	-0,562*	0,192 ⁻	-0,588**	
C20:4n6	-0,745**	-0,503*	-0,369 ⁻	0,270 ⁻	-0,775**	0,846**

- : P>0.05 * : P<0.05

• **Yapılan Uygulamalar Sonucunda Karaciğer Dokusunda Bulunan Yağ Asiti Miktarları Arasındaki Korelasyon**

C18:1n9 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon (r = +0.544) belirlenmiştir.

C18:1n7 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon (r = +0.453) belirlenmiştir.

C18:0 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon (r = +0.617) belirlenmiştir.

C22:6n3 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon (r = -0.792) belirlenmiştir.

C20:4n6 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon (r = -0.745) belirlenmiştir.

C20:4n6 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında negatif korelasyon (r = -0.503) belirlenmiştir.

C22:6n3 yağ asiti ile C18:1n7 yağ asiti arasında negatif korelasyon (r = -0.562) belirlenmiştir.

C22:6n3 yağ asiti ile C18:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon (r = -0.588) belirlenmiştir.

C20:4n6 yağ asiti ile C18:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon (r = -0.775) belirlenmiştir.

C20:4n6 yağ asiti ile C22:6n3 yağ asiti arasında pozitif korelasyon (r = +0.846) belirlenmiştir.

Şekil 5.6. Böbrek dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon.

	C16:0	C18:1n9	C18:1n7	C18:2n6	C18:0	C22:6n3
C18:1n9	0,536 [*]					
C18:1n7	0,587 ^{**}	0,607 ^{**}				
C18:2n6	0,499 [*]	0,943 ^{**}	0,501 [*]			
C18:0	0,266 ⁻	-0,083 ⁻	0,128 ⁻	-0,056 ⁻		
C22:6n3	-0,416 ⁻	-0,505 [*]	-0,575 [*]	-0,485 [*]	-0,028 ⁻	
C20:4n6	-0,629 ^{**}	-0,919 ^{**}	-0,768 ^{**}	-0,869 ^{**}	0,018 ⁻	0,508 [*]

- : P>0.05

* : P<0.05

• Yapılan Uygulamalar Sonucunda Böbrek Dokusunda Bulunan Yağ Asiti Miktarları Arasındaki Korelasyon

C18:1n9 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.536$) belirlenmiştir.
C18:1n7 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.587$) belirlenmiştir.
C18:2n6 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.499$) belirlenmiştir.
C20:4n6 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.629$) belirlenmiştir.
C18:1n7 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.607$) belirlenmiştir.
C18:2 n6 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.943$) belirlenmiştir.
22:6n3 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.505$) belirlenmiştir.
20:4n6 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.919$) belirlenmiştir.
C18:2 n6 yağ asiti ile C18:1n7 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.501$) belirlenmiştir.
C22:6n3 yağ asiti ile C18:1n7 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.575$) belirlenmiştir.
C20:4n6 yağ asiti ile C18:1n7 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.768$) belirlenmiştir.
C22:6n3 yağ asiti ile C18:2n6 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.485$) belirlenmiştir.
C20:4n6 yağ asiti ile C18:2n6 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.869$) belirlenmiştir.
C20:4n6 yağ asiti ile C22:6n3 yağ asiti arasında pozitif korelasyon($r = +0.508$) belirlenmiştir.

Şekil 5.7. Testis dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon.

	C16:0	C18:1n9	C18:1n7	C18:2n6	C18:0	C22:6n3
C18:1n9	-0,534 ^{**}					
C18:1n7	-0,629 ^{**}	0,846 ^{**}				
C18:2n6	-0,381 ⁻	0,696 ^{**}	0,758 ^{**}			
C18:0	0,247 ⁻	-0,486 [*]	-0,331 ⁻	-0,291 ⁻		
C22:6n3	-0,347 ⁻	-0,447 ⁻	-0,408 ⁻	-0,793 ^{**}	0,498 ⁻	
C20:4n6	0,512 ^{**}	-0,904 ^{**}	-0,678 ^{**}	-0,677 ^{**}	0,424 [*]	0,458 ⁻

- : P>0.05

* : P<0.05

- **Yapılan Uygulamalar Sonucunda Testis Dokusunda Bulunan Yağ Asiti Miktarları Arasındaki Korelasyon**

C18:1n9 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.534$) belirlenmiştir.
 C18:1n7 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.629$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.512$) belirlenmiştir.
 C18:1n7 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.846$) belirlenmiştir.
 C18:2 n6 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.696$) belirlenmiştir.
 C18:0 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.486$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.904$) belirlenmiştir.
 C18:2 n6 yağ asiti ile C18:1n7 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.758$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C18:1n7 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.678$) belirlenmiştir.
 C22:6n3 yağ asiti ile C18:2n6 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.793$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C18:2n6 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.677$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C18:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.424$) belirlenmiştir.

Şekil 5.8. Kalp dokusunda yağ asitleri arasındaki korelasyon.

	C16:0	C18:1n9	C18:1n7	C18:2n6	C18:0	C22:6n3
C18:1n9	0,831 ^{**}					
C18:1n7	0,316 ⁻	-0,087 ⁻				
C18:2n6	-0,114 ⁻	0,164 ⁻	-0,077 ⁻			
C18:0	0,017 ⁻	-0,486 [*]	0,641 ^{**}	-0,461 [*]		
C22:6n3	-0,696 ^{**}	-0,823 ^{**}	-0,049 ⁻	-0,284 ⁻	0,369 ⁻	
C20:4n6	-0,924 ^{**}	-0,858 ^{**}	-0,296 ⁻	-0,087 ⁻	0,071 ⁻	0,682 ^{**}

- :P>0.05

* :P<0.05

- **Yapılan Uygulamalar Sonucunda Kalp Dokusunda Bulunan Yağ Asiti Miktarları Arasındaki Korelasyon**

C18:1n9 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.831$) belirlenmiştir.
 C22:6n3 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.696$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C16:0 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.924$) belirlenmiştir.
 C18:0 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.486$) belirlenmiştir.
 C22:6n3 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.823$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C18:1n9 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.858$) belirlenmiştir.
 C18:0 yağ asiti ile C18:1n7 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.641$) belirlenmiştir.
 C18:0 yağ asiti ile C18:2n6 yağ asiti arasında negatif korelasyon ($r = -0.461$) belirlenmiştir.
 C20:4n6 yağ asiti ile C18:2n6 yağ asiti arasında pozitif korelasyon ($r = +0.682$) belirlenmiştir.

Yukarıdaki karaciğer, böbrek, testis ve kalp dokularında yağ asitleri miktarları arasında r nin değerine göre korelasyonun derecesi hakkında aşağıdaki yorumlar yapılabilir.

Kuvvetli (-)	Orta (-)	Zayıf (-)	Zayıf (+)	Orta (+)	Kuvvetli(+)
$-1 \leq r < -0.9$	$-0.9 \leq r < 0.5$	$-0.5 \leq r < 0$	$0 < r \leq 0.5$	$0.5 < r \leq 0.9$	$0.9 < r \leq 1$

Eğer $r = -1$ ise, x ve y arasında tam negatif korelasyon vardır denir. Bu durumda x değişkeni artarken (azalırken) y değişkeni onunla doğrusal olarak azalır (artar) . Eğer $r = +1$ ise, x ve y arasında tam pozitif korelasyon vardır denir. Bu durumda x artarken (azalırken) y de onunla doğrusal olarak artar (azalır). Eğer $r = 0$ ise, x ve y arasında herhangi bir korelasyon yoktur denir. Bu durumda x veya y nin artış ve azalışı, diğerinin artış ve azalışına doğrusal olarak bağlı değildir.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda sanayi ve endüstrinin hızlı gelişimi ile çevre kirliliği ciddi bir problem haline gelmiştir. Çevre kirliliğine sebep olan maddeler gerek solunum yolu ile gerekse de alınan besinler ile yaşayan organizmalara direkt olarak etki göstermektedir. Başlıca çevre kirleticilerinden biriside kadmiyumdur. Kadmiyumun, yeryüzünde oldukça yaygın olarak dağılım göstermekte olması ve canlı metabolizmasına büyük zarar vermesi araştırmamızın önemini bir kat daha artırmaktadır. Bu çalışmada kronik kadmiyumun (Cd) etkisiyle sıçanların karaciğer, böbrek, kalp ve testis dokularında oluşan yağ asiti bileşimindeki değişime antioksidan olan melatonin ve vitamin-E + selenyum karışımının etkileri araştırılmıştır. Bir ay boyunca Cd, melatonin ve vitamin-E + selenyuma maruz kalan sıçanlar çalışma süresince her birinde 10 sıçan bulunan 5 gruba; kontrol, Cd, Cd+mlt, Cd+vit-E+se ve Cd+mlt+vit-E+se gruplarına ayrılarak uygulama yapıldı.

Organizmaya giren kadmiyumun büyük bir kısmı ilk 6 saat içerisinde karaciğere gelerek burada metallothionein adlı sisteinden zengin proteine bağlandığı daha sonra başta böbrekler olmak üzere beyin, testis, akciğerler ve kalp gibi organlara dağıldığı ve yarılanma ömrünün oldukça uzun olduğu bildirilmektedir (46). Sitotoksik etkili kadmiyum alınma süresi ve miktarına bağlı olarak böbrek, karaciğer ve testisler olmak üzere birçok organda patolojik bozukluklar oluşturduğu da açıklanmıştır. Kadmiyum zehir etkisi aynı zamanda, hücrelerin savunma zırhı olan antioksidan maddelerin miktarının değişimine de sebep olmaktadır.

Kadmiyumun tersine melatonin hormonu ve vitamin E-selenyum karışımı gibi moleküllerde organizmada toksik etkiye sahip moleküllerin etkilerini yok edici özelliğe sahiptirler.

Yukarıda da belirtildiği gibi kadmiyumun doku hasarına sebep olduğu ve melatonin, vitamin E selenyum karışımının yada ayrı ayrı uygulanmasının doku hasarını ortadan kaldıracı özelliklere sahip oldukları gösterilmektedir (5). Ancak konu ile ilgili literatürlerin taranması ve incelenmesi sonucu, kadmiyumun meydana getirdiği hasara melatonin ve vitamin E-selenyum karışımının etkileri konusunda çalışmaya rastlanmamıştır. Bilim dünyası, teknolojinin hızlı gelişiminden ve bu gelişimin paralelinde çevre ve sağlık problemlerinin ciddi derecelere ulaştığından endişelenmektedir. Bundan dolayıdır ki, canlı sağlığını tehdit eden ve toksik etkiye sahip olan bazı maddelerin canlıya ne gibi etki yaptığını araştırma konusunda yoğunluk bulunmaktadır. Araştırmacılar, aynı zamanda canlı sağlığını negatif olarak etkileyen maddelere karşı bu etkileri ortadan kaldıracı moleküller üzerinde de durmaktadır (6).

Bilindiği gibi kadmiyum çevre kirleticisi olan ve hayvansal bazı dokularda toksik etkiye sahip bir ağır metaldir ve doğada bol miktarda bulunur. Kadmiyumun zararlı etkileri farklı dokulardaki lipidlerin peroksidasyonunu artırması ile meydana gelen doku hasarı ile olmaktadır

(6,20). Kadmiyumun uyardığı hücresel hasarı açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmektedir. Bu mekanizmalar; metalloenzimler, enerji metabolizmasının değişimi ve membran yapı ve fonksiyonlarının değişimini kapsamaktadır (39). Yapılan bazı çalışmaların sonuçlarına göre, kadmiyumun belli dozlarda uygulanması sonucu glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSG-R) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH) gibi antioksidan özelliğe sahip bazı enzimlerin değerlerinin azaldığı ifade edilmektedir. Benzer şekilde, kadmiyum uygulaması sonrası lipid peroksidasyonu (LPO)'nun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA)' in dokularda arttığı gözlenmiştir (37).

Uzun zincirli doymamış yağ asitleri moleküler oksijen veya peroksitlerin bozucu etkisine duyarlıdırlar. Doymamış yağ asitlerinden olan linoleik, linolenik ve araşidonik asit elzem yağ asitleri olarak adlandırılırlar ve organizmanın metabolizmasında önemlidirler. Dokularda lipid peroksidasyonundaki artışın, çeşitli metal iyonlarının aracılık ettiği linoleik asitin katalitik peroksidasyonunun artmasından kaynaklandığı belirtilmektedir (47).

Melatonin hormonu bütün hücre ve hücre içi komponentlere kolaylıkla difüze olabilir, bu da serbest radikallere ulaşp zararsız hale getirebilmesi için önemli bir özelliktir. Yüksek toksik güce sahip hidroksil radikallerinin tüketiciliğinin yanı sıra melatonin, güçlü antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz aktivitesini de stimule eder. Glutatyon peroksidazın metabolik görevi ise hidroksil radikalının öncülü (prekürsörü) olan hidrojen peroksiti suya metabolize etmektir. Bu nedenle melatonin hücreleri oksidatif hasardan en az iki yolla korumaktadır (48). Bazı araştırmacılar sıçan testisindeki mikrozom ve mitokondriumundaki bazı ağır metallerin (Ascorbate-Fe⁺²) meydana getirdiği lipid peroksidasyonunu incelemişlerdir. Bu şartlarda meydana gelen peroksidasyon sonucu testislerin mikrozom ve mitokondriumlarındaki bazı uzun zincirli doymamış yağ asit değerlerinin azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, ağır metal ile birlikte melatonin uygulanması sonucu ise, uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin korunduğu belirtilmiştir. Testislerdeki uzun zincirli yağ asitlerinin hasarı, spermatogenez işlemi esnasında rahatsızlığa yol açması bakımından önemlidir (49).

Bazı araştırmaların sonuçlarına göre litogenik sıçanlara vitamin E ve selenyumun birlikte uygulanması ile lipid peroksidasyonu ve ksantin oksidaz (XO), laktat dehidrojenaz (LDH), glikolitik asit oksidaz gibi oksalat sentez enzimlerinin azaldığı ifade edilirken, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimatik antioksidanların aktiviteleri arttığı belirtilmiştir. Benzer şekilde vitamin-E ve selenyumun birlikte uygulanması sonucu ise enzim olmayan askorbik asit ve α - tokoferol gibi antioksidanların miktarının arttığı gözlemlenmiştir (50). Bunların yanı sıra kadmiyumun oluşturduğu hasara melatonin ve vitamin E selenyum karışımının etkisi konusunda bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada sıçanların (karaciğer, böbrek, testis, kalp) dokularındaki palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1), linoleik asit (C18:2n6), araşidonik asit (C20:4) ve dokosahekzaenoik (C22:6) yağ asitleri belirlendi.

Cd uygulanan karaciğer ve testis dokularında stearik asit (C18:0) miktarı kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Yine karaciğer ve testis dokularında oleik asit miktarı (C18:1) ise kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu durum Cd'un karaciğer ve testis dokularında Δ -9 desaturaz aktivitesini inhibe edici bir etkiye neden olmadığını göstermektedir. Bunun yanında kalp dokusunda ise stearik asit (C18:0) miktarı kontrol grubuna göre yüksek, oleik asit (C18:1) miktarı ise düşük bulunurken kalp dokusunda Kudo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya paralel olarak Cd'un Δ -9 desaturaz aktivitesini inhibe ettiği sonucu bulunmuştur (42).

Oleik asit (C18:1) Δ -9 desaturaz aktivitesi ile sentezlenen bir monoenoik yağ asitidir ve bu enzimin aktivitesi karbonhidratlı besinlere bağlıdır. Karbonhidrat bakımından yüksek besinlerle beslenildiğinde aktivite artar ve açlıkta ise düşer. Aktivitesi aynı zamanda ortamda bulunan ve substratı olan stearik asit (C18:0) miktarı tarafından etkilenir.

Linoleik asit sıçanlarında içerisinde bulunduğu yüksek organizmalar için esansiyel özellik taşımaktadır. Yani bunlar hücreler tarafından sentezlenemezler. Bu yağ asitleri besin yoluyla alınarak hücrelerdeki Δ -6 desaturasyon yolunun enzimleri tarafından substrat olarak kullanılırlar. Bu yağ asitlerinin miktarı dokularda az ve bunların ürünleri olan araşidonik (C20:4) asit ve dokosahekzaenoik (C22:6) asitlerinin miktarları yüksek ise Δ -6 desaturasyon yolundaki enzimatik aktivitenin yüksek olduğunu gösterir.

Grawe ve arkadaşlarının yavru sıçanlar üzerine yaptıkları çalışmada içme suyu ile birlikte sıçanlara 0 ppm (kontrol), 5 ppm ve 25 ppm'lik dozlarda Cd verilmiştir (30). Uygulama sonrası doğumun 19. gününde beyin dokusunda, 24. gününde ise karaciğer dokusundaki yağ asiti bileşimi değişimleri analiz edilmiştir. Bu çalışmada Cd uygulanan sıçanların ağırlıklarında bir artış gözlemlenmemiştir. Bizim çalışmamızda ise buna paralel olarak Cd uygulanan sıçanların ağırlıklarında önemli bir artış gözlemlenmezken karaciğer ve testis gibi dokularda şişkinlik görülmüştür. Linoleik asit (18:2 n-6) miktarı beyin ve karaciğer dokularında kontrol grubuna göre 5 ppm ve 25 ppm'lik Cd uygulanan diğer gruplarda yükselmiştir. Bizim çalışmamızda ise karaciğer, testis ve böbrek dokularında bu durum görülmektedir. Kalp dokusunda linoleik asit miktarında ise azalma görülmüştür. Bu azalmanın sebebi Cd'un Δ -6 desaturasyon sisteminde görevli enzimler üzerine inhibe edici bir etkiye neden olmadığından kaynaklanmış olabilir.

Grawe ve arkadaşlarının yine aynı çalışmasında araşidonik asit (C20:4 n-6) miktarında beyin ve karaciğer dokularında 5 ppm ve 25 ppm'lik Cd uygulanan gruplarda, kontrol grubuna

göre düşüş gösterirken bizim çalışmamızda ise buna paralel olarak kalp, testis ve böbrek dokularında arasıdonik asit miktarı düşmüştür (30).

Dokosaheksaenoik asit (C22:6 n-3) miktarında 5 ppm ve 25 ppm'lik Cd uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre artış meydana gelirken bizim çalışmamızda ise yine Grawe ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmaya paralel olarak kalp, karaciğer ve testis dokularında dokosaheksaenoik asit miktarında artış meydana gelmiştir. Konu ile ilgili yeterince araştırma bulunmamasına rağmen mevcut çalışmalar sonuçlarımızı destekler niteliktedir (30).

Bütün bu verilerin ışığı altında sonuç olarak; kadmiyum hızla gelişen teknolojinin bir ürünü olarak insan sağlığını sigara, pil, egzoz ve bacalardan çıkan zararlı gazlarla tehdit eden bir ağır metaldir. Önlem alınmadıktan sonra uzun süre kadmiyuma maruz kalınması sonucu doku hasarlanmaları, kemiklerde kırılabilirliğin artması hatta prostat kansinimleri meydana gelebilmektedir. Kadmiyumun zararlı etkilerinin önlenmesi ve vücut homeostazinin sürdürülmesi amacıyla günlük yeterli miktarda melatonin, vitamin E-Selenyum gibi antioksidan maddelerin alınması gerektiği kanaatine varılmıştır.



KAYNAKLAR

1. Fant, M. L., Nyman, M., Hele, E. and Rudback, E., 2001, Mercury, cadmium, lead and selenium in ringed seals (*phoca hispida*) from the Baltic Sea and from avalbord, Environmental Pollution 111, 493-501.
2. Yeşilada, E. ve Gelegen, L., 2000, *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine kadmiyum nitratın etkisi, Turkish Journal of Biology, 24, 593-599.
3. Shohda, A. E., Mohamed, Z. G., Atef, T. F. and Mohamed, A. H., 2001, Effect of cadmium and aluminum intake on the antioxidant status and lipid peroxidation in rat tissues, Journal of Biochemistry Molecular Toxicology, 15, 4, 207-214.
4. Kim, Y. O., Ahn, Y. K. and Kim, J. H., 1999, influence of melatonin on immunotoxicity of cadmium, International Journal of Immunopharmacology, 22, 275-284.
5. Güven, K., 1999, Biyokimyasal ve moleküler toksikoloji, Dicle Üniversitesi Basımevi, Diyarbakır, 182.s.
6. Sarkar, S., Yadav, P. and Bhatnagar, D., 1998, Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alteration in antioxidant system in rat erythrocytes, Bio Metals, 11, 153-157.
7. Roberts, K. and Worsfold, P., 1991, Cadmium, toxicology and analysis, A Review. Analyst, 116, 549-568.
8. Born, E. W., Outridge, P., Riget, F. F., Hobson, K. A., Dietz, R., Qien, N. and Haug, T., 2003, Population substructure of North Atlantic minke whales inferred from regional variation of elemental and stable isotopic signatures in tissues, Journal of Marine Systems 43, 1-17.
9. Kara, H., Çolakoğlu, N., Kükner, A. ve Ozan, E., 2004, Kadmiyum klorürün sıçan böbrek dokusunda oluşturduğu yapısal değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine metallothioneinin etkileri, ışık mikroskopik çalışma, Journal of Medical Sciences 24, 592-597.
10. Kalay, M. ve Karataş, S., 1999, Kadmiyumun *Tilapia nilotica* (L.)'da kas, beyin ve kemik (omurga kemiği) dokularındaki birikimi, Journal of Zoology, 23, 985-991.
11. Goyer, R. A., 1986, Toxic effects of metals, in Casarett and Doull's toxicology, The Basic Science of Poisons, Pergamon Pres, 623-680.
12. Dunnick, J. K., Fowler, A. B., 1988, Cadmium in handbook on toxicity of inorganic compounds, Marcel Dekker, inc., 156-174.
13. Zahir, A. S., Thanhtram T., and Zaman, K., 1999, Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants, Toxicology and Applied Pharmacology, 154, 256-263.
14. Baltacı, A. K., 2001, Melatonin immün sistem ve çinko, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17, 267-272.

15. Baykal, Y. ve Kocabalkan, F., 2000, Serbest radikaller ve hücre hasarı yapma mekanizmaları, Sendrom, 31-38. s.
16. Adhirai, M. and Selvam R., 1998, Effect of cyclosporin on liver antioxidants and the protective role of vitamin E hyperoxaluria in rats, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 50, 501-505.
17. Frisk, P., Yaqob, A. and Lindh, U., 2002, Indications of selenium protection against cadmium toxicity in cultured K-562 cells. The Science of the Total Environment 296, 189-197.
18. Combs, G. F. and Gray, W. P., 1998, Chemopreventive agents: selenium, Journal of Pharmacology Therapeutics, 79, 179-192.
19. Aydoğmuş, Ç., 2003, Ergin olmayan Gökkuşuğu Alabalığı (onchorhynchus mykiss, Walbaum 1792)'nın kas dokusu ve derideki yağ asiti bileşenleri üzerine öldürücü olmayan dozdaki krom ve kadmiyum tuzlarının etkileri, yüksek lisans tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-33.s.
20. Patra, R.C., Swarup, D. and Senapati, S. K., 1999, Effects of cadmium on lipid peroxides and superoxide dismutase in hepatic renal and testicular tissue of rats, Veterinary Human Toxicology 41, 2, 65-66.
21. Bagchi, D., Bagchi, M., Hassoun, E. A. and Stohs, S. J., 1995, Cadmium-induced excretion of urinary lipid metabolites DNA damage glutathione depletion and hepatic lipid peroxidation in Sprague-Dawley rats, Omaha, Biological Trace Element Research, 52, 143-152.
22. Hodgson, E., 2004, A textbook of modern toxicology, John Wiley & Sons inc, New Jersey 3, 51.
23. Vural, N., 1984, Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 310-311.s.
24. Southorn, A. P. and Powis, G., 1988, Free radicals in medicine. I. chemical nature and biologic reactions, Mayo Clinic Proceedings, 381-389.
25. Çiğremiş, Y., 2003, Kronik alkol ve sigara kullanımına maruz bırakılan erkek ratların böbrek dokularının histopatolojik ve malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), ksantin oksidaz (XO), ksantin dehidrogenaz (XDH), miyeloperoksidaz (MPO), glutatyon (GSH) yönünden incelenmesi, doktora tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 7-30.s.
26. Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Konya, 3, 15, 42-43.s.
27. Konukoğlu, D., 2004, Biyokimya, TUS ve stajlar için, Tumer Danışmanlık ve Yayıncılık, 2. baskı, 267-273.s.
28. Konukoğlu, D., 2000, TUS'a hazırlık, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 428-429.s.
29. Harper, 1996, Harper'in Biyokimyası, Barış Kitabevi, İstanbul, 24. baskı. 162, 163. s.

30. Grawe, K. P., Pickova, J., Dutta, P. C. and Oskarsson, A., 2004, Fatty acid alterations in liver and milk of cadmium exposed rats and in brain of their suckling offspring, *Toxicology letters* 148, 73-82.
31. Tüzün, C., 1991, *Biyokimya*, Palme Yayınları, Ankara, 44.s.
32. Kılıç. N., 2005, *Lehninger biyokimyanın ilkeleri*, üçüncü baskıdan çeviri, Palme Yayıncılık, 363, 385.s.
33. Kuksis, A., 1978, *Fatty acids and glycerides*, Plenum Press, 8, 381-437.
34. Gözükara, E. M., 2001, *Biyokimya*, Nobel Tıp Kitabevleri, cilt-1, 242-248. s.
35. Burtis, C. A., 1999, *Tietz textbook of clinical chemistry*, third edition, , W.B. Saunders Company, Pennsylvania, 38, 1365.
36. Tekman, Ş. ve Öner, N., 1998, *Genel biyokimya dersleri*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 145-146.s.
37. Asagba, S. O., Isamah, G. K., Ossai, E. K. and Ekakitie, A. O., 2002, Effect of oral exposure to cadmium on the levels of vitamin A and lipid peroxidation in the eye. *Bulletin Enviromental Contamination and Toxicology*: 68, 18-21.
38. Company, R., Serafim, A., Bebianno, M. J., Cosson, R., Shillito, B. and Medioni, A. F., 2004, Effect of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*, *Marine Environmental Research*, Article in Pres.
39. Manca, D., Ricard, C. A., Trottier, B., and Chevalier, G., 1991, Studies on lipid peroxidation in rat tissues following administration of low and moderate doses of cadmium chloride, *Toxicology*, 67, 303-323.
40. Ulusu, N. N., Açıkan, L. N., Turan, B. ve Tezcan, F. E., 2002, Kadmiyum iyonunun sıçan karaciğeri glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkisi ve bu etkinin diyetteki selenyum ile ilişkisi, *Türk Biyokimya Dergisi*, cilt 27, sayı:2
41. Kudo, N., Nakagawa, Y., Waku, K., Kawashima, Y. and Kozuka, H., 1991, Prevention by zinc of cadmium inhibition of stearoyl-CoA desaturase in rat liver, *Toxicology*, 68, 133-142.
42. Kudo, N. and Waku, K., 1996, *Toxicology*, volume 114, issue 2, 114, 2, 101-111.
43. Hara, R. A. and Radin, N. S., 1978, Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Anal Biochem*, 90, 420-426.
44. Christie, W. W., 1992, *Reprinted.gas chromatography and lipids, a practical guide*.The Oily Pres. Ayr, Scotland. 370.
45. Özdamar, K., 2003, *SPSS ile biyoistatistik*, 5. baskı, Kaan Kitabevi, Eskişehir.
46. Foulkes, E. C., Transport of heavy metals by the kidney, *Toxicology Letters*, 53, 29-31

47. Knight, J. A. and Voorhees, R. P., 1990, Peroxidation of linolenic acid-catalysis by transition metal ions, İstanbul, Annual Clinical Laboratory Science, 20, 347-352.
48. Reiter, R. J., 1993, Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals ; a brief review. Brazil Journal of Medical Biology Research, 26, 11, 1141-1155.
49. Gavazza, M. and Catella, A., 2003, Melatonin preserves arachidonic and docosapentaenoic acids during ascorbate-Fe⁺² peroxidation of rat testis microsomes and mitochondria. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology: 35(3), 359-366. s.
50. Kumar, M. S. and Selvam, R., 2003, Supplementation of vitamin E and selenium prevents hyperoxaluria in experimental urolithic rats. The Journal of Nutritional Biochemistry: 14, 6, 306-313. s.



ÖZGEÇMİŞ

26.06.1979 yılında Yozgat'ta doğdum. İlköğrenimimi Yerköy'de orta öğrenimimi Kırşehir'de yüksek öğrenimimi de Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamladım. 2002 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladım. 2002-2005 tarihleri arasında Tunceli ili Pertek ilçesinde sınıf öğretmenliği yaptım. Halen Kırşehir ili Çiçekdağı ilçesi Boğazevci kasabasında sınıf öğretmenliği yapmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.

