

## Kadmiyumun Sıçan Serebellumu Purkinje Hücre Yoğunluğuna Etkisi\*

Arş. Gör. Faruk TAN<sup>1</sup>, Dr. Faruk BAĞIRICI<sup>2</sup>, Arş. Gör. Şerif DEMİR<sup>2</sup>,  
Dr. M. Fatih GÖKÇE<sup>2</sup>, Dr. Hayri GENÇ<sup>1</sup>, Dr. Cafer MARANGOZ<sup>2</sup>,

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eğitim Fakültesi Beden Eğitimi Bölümü<sup>1</sup> ve Tıp Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup> SAMSUN

✓ Nöronal hiperaktiviteye ve hücre ölümüne sebep olan birçok madde bilinmektedir. Sigara dumanında ve kirlili havada bulunması nedeniyle, kadmiyumun beyin ve serebellumdaki nöronlara etkisi hep merak edilmiştir. Bu çalışmada serebellumun Lobulus Simplex bölgesindeki purkinje hücre sayısına kadmiyum sülfat (CdSO<sub>4</sub>)'ün etkisinin araştırılması amaçlandı.

CdSO<sub>4</sub> (0.0021 mg/kg) intrakortikal olarak Bregmanın 1.5 mm sol lateral bölgesine, 1.2 mm derinlikte uygulandı. Kontrol grubu sıçanlara aynı miktarda serum fizyolojik verildi. Haftalık hayvan grupları bir hafta, aylık hayvan grupları bir ay süreyle yaşatıldı. Daha sonra hayvanlar intrakardiyal yoldan nötral formalinle perfüze edildi. Serebellum beyinin diğer yapılarından uzaklaştırıldı. 75-100 mikron aralıklarla 6 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Thioninle boyandı. Purkinje hücreleri ışık mikroskopunda X 400 büyütme altında sayıldı. Purkinje hücre yoğunluğu kontrol grubunda sağ serebellumda 18.79±0.16 nöron/mm, sol serebellumda 19.22±0.15 nöron/mm olarak sayıldı. Haftalık kadmiyum grubunda sağ serebellum için 12.08±2.64 nöron/mm ve sol serebellum için 13.57±2.73 nöron/mm olarak bulundu. Aylık kadmiyum grubunda da sağ serebellum için 11.57±2.02 ve sol serebellum için 11.98±2.41 olarak bulundu. Gruplar arasındaki fark istatistiki açıdan anlamlı idi (p<0.05).

Sunulan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar kadmiyumun nörotoksik etkili olduğunu ve hücre sayısında azalmaya yol açtığını göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kadmiyum, hücre ölümü, serebellum, sıçan

### ✓ Effects of Cadmium on purkinje Cell Density of Rat Cerebellum

A lot of substance have been known to cause neuronal hyperactivity and cell death. Effects of cadmium on cerebral and cerebellar neurons are subject to interest for a long time which is present in cigarette smoke and filthy air. In present study, it was aimed to investigate the effects of cadmium sulphate (CdSO<sub>4</sub>) on purkinje cells in Lobulus Simplex area in cerebellum of rats.

CdSO<sub>4</sub> (0.0021mg/kg) is administered intracortically in 1.5 mm laterally of left Bregma with 1-2 mm depth. The same ratio of saline is administered to rats in control group. Seven-day group was treated for 7 days and animals in 30-day group received a 30 days treatment. Then, rats were perfused by neutral formaline intracardially. Cerebellum was separated from other structures of the brain and cut into sections with a distance 75-100 μm and with a thickness 6 μm. Sections were stained with thionin staining. Purkinje cells were counted under a light microscope with a magnification of 400x. Density of purkinje cells was found to be 18.79±0.16 neuron/mm in right

\*: Bu çalışma, 29 Eylül - 4 Ekim 1997 tarihleri arasında Adana'da düzenlenen Türk Fizyolojik Bilimler Derneği'nin 23. Ulusal Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

cerebellum and  $19.22 \pm 0.15$  neuron/mm in left cerebellum of control group. In 7-day group, neuronal density was found to be  $13.08 \pm 2.64$  neuron/mm and  $13.57 \pm 2.73$  neuron/mm for right and left hemispheres, respectively. In 30-day treatment group, neuronal density was found to be  $11.57 \pm 2.02$  and  $11.98 \pm 2.41$  neuron/mm for right and left cerebellum, respectively. The difference between groups was statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Results obtained from present study suggest that cadmium has neurotoxic effect and causes a decrease in cell number.

**Key words:** Cadmium, cell death, cerebellum, rat

## GİRİŞ

Son zamanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre kobalt, demir, alüminyum, nikel gibi pek çok metal ile epilepsi ve nörotoksosite arasında yakın bir ilişki olduğu bilinmektedir<sup>(1)</sup>. Çeşitli epilepsi modellerinde ve epileptik insanlarda serebellumun duraklatıcı çıkışını hazırlayan Purkinje hücre tabakasının oldukça etkilendiği ve Purkinje hücre sayısında önemli ölçüde azalma olduğu bilinmektedir. Nörotoksositeye bağlı olarak gelişen epileptik olayları geniş ölçüde aydınlatmak ve bu hastalığa karşı daha etkili ilaçlar geliştirmek için bir çok deneysel modeller geliştirilmiştir<sup>(2)</sup>.

Yetişkin farelerde in vivo olarak yapılan çalışmalarda beyne  $0.4 \text{ mg/kg/gün}$   $\text{CdSO}_4$  verildiğinde hipokampus haricinde beynin diğer bölgelerinde aktivitede azalma olduğu saptanmıştır<sup>(3)</sup>. Başka bir çalışmada,  $6 \text{ mg/kg/gün}$  dozunda kadmiyum tatbik edilen sıçanlarda beyinde önemli miktarda kadmiyum biriktiği ve nörotoksitenin biyolojik bir işareti olarak hücre ölümüne sebep olduğu gözlenmiştir<sup>(4)</sup>.

Kadmiyumla ilgili önceki çalışmaların beynin farklı bölgeleri üzerinde yoğunlaştığı bilinmektedir. Kadmiyumun serebellumda ne gibi değişikliklere yol açtığı ve bu değişikliklerin mekanizmasının nasıl olduğu hakkında yeterli çalışmaya rastlanamamış olup, sunulan çalışmanın amacı, kadmiyumun serebellumun Lobulus Simplex bölgesindeki Purkinje

hücre yoğunluğu üzerine yaptığı muhtemel değişiklikleri araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada ağırlıkları 150-250 gram arasında değişen 29 adet albino Wistar sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar kontrol ve deney grubu olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Deney grubu hayvanlar da kendi aralarında 7 gün ve 30 gün yaşatılmak üzere iki gruba bölündü. Deney hayvanları ketamin HCl ( $100 \text{ mg/kg}$ , i.p) ile anesteziye alındı. Daha sonra kafa derisi önden arkaya kesildi. Bregmanın  $1.5 \text{ mm}$  sol lateraline,  $1.5 \times 2 \text{ mm}$  boyutlarında bir delik açıldı. Açılan bu alandan Hamilton mikroyenjektörüyle deney grubu hayvanlara kadmiyum sülfat ( $0.0021 \text{ mg/kg}$ , i.c), kontrol grubu hayvanlara da aynı hacimde serum fizyolojik verildi. Açılan bölge uygun biçimde sütüre edildi.

Daha sonra hayvanlar iyileşmeye bırakıldı ve gözlem altına alınarak davranış değişiklikleri 7 günlük ve 30 günlük iki grup halinde izlendi. Tüm gruplar takip sürelerinin sonunda ketamin HCl ile ( $100 \text{ mg/kg}$ ) derin anesteziye alındı. Daha sonra serum fizyolojik ve %10'luk formaldehit ( $\text{pH} = 7.2$ ) ile intrakardiyal yoldan perfüzyona tabi tutuldular.

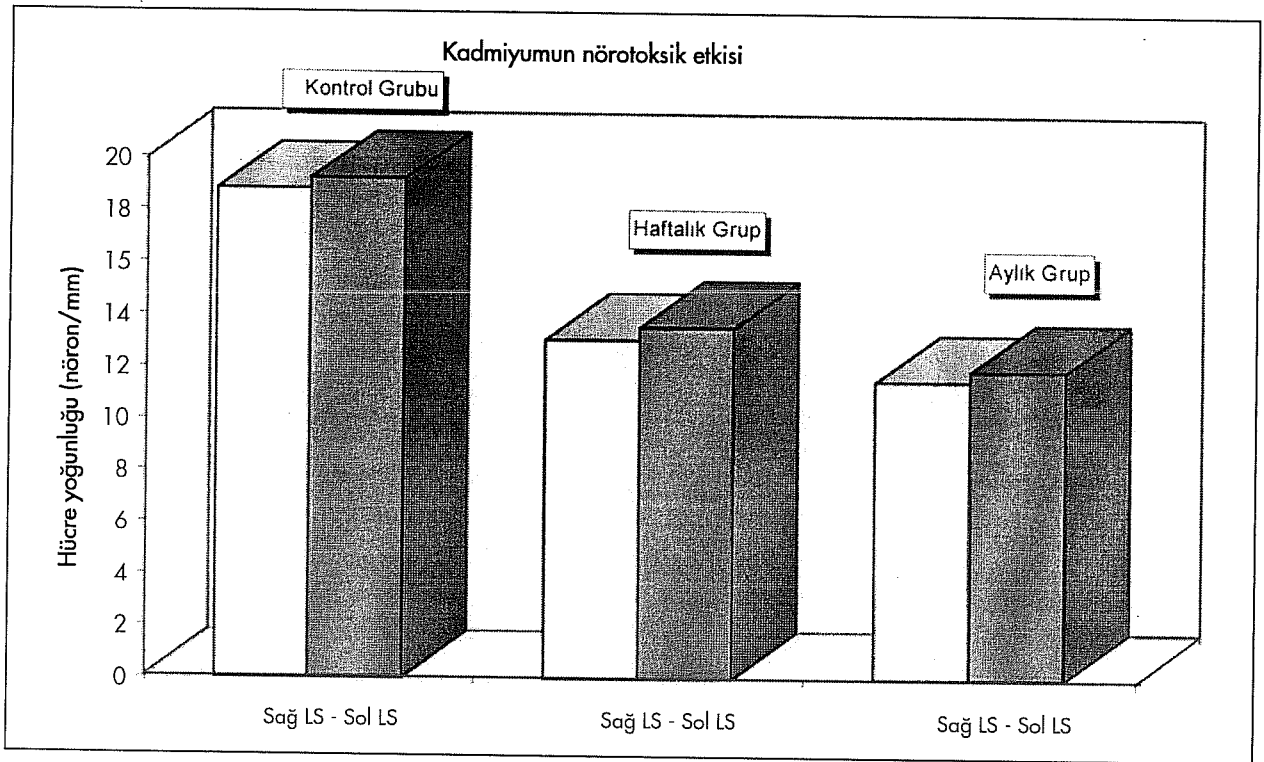
Sağ ve sol serebelluma ait Lobulus Simplex bölgelerinden farklı düzeylerde alınan kesitler Thionin ile boyandı. Bu bölgelere ait Purkinje hücreleri "Nicon" ışık mik-

roskobunda x400 büyütmeyle sayıldı. Elde edilen sonuçlar Mann Whitney U testi ile değerlendirildi.

### BULGULAR

Serum fizyolojik verildikten ve bir hafta yaşatıldıktan sonra perfüzyona alınan kontrol grubunda purkinje hücre yoğunluğu sağ serebellum için  $18.79 \pm 0.16$  nöron/mm, sol se-

rebellum için  $19.22 \pm 0.15$  nöron/mm olarak bulundu (n= 10). Haftalık deney grubu sıçanlarda değerler sağ serebellum için  $13.08 \pm 2.64$  nöron/mm, sol serebellum için  $13.57 \pm 2.73$  nöron/mm idi (n= 10). Aylık deney grubu sıçanlarda ise, sağ serebellum için  $11.57 \pm 2.02$  nöron/mm, sol serebellum için  $11.98 \pm 2.41$  nöron/mm olarak tespit edildi (n= 9) (Tablo, Şekil).



Şekil. Çalışma gruplarında sağ ve sol serebellum lobulus simplex (LS) Purkinje hücre yoğunlukları.

Tablo. Çalışma Gruplarında Sağ ve Sol Serebellum Lobulus Simplex Purkinje Hücre Yoğunluğunun Karşılaştırılması.

Çalışma grupları	Sayım yapılan bölge	
	Sağ lobulus simplex*	Sol lobulus simplex*
Kontrol Grubu (n = 10)	18.79 ± 0.16	19.22 ± 0.15
Haftalık Kadmiyum Grubu (n = 10)	13.08 ± 2.64	13.57 ± 2.73
Aylık Kadmiyum Grubu (n = 9)	11.57 ± 2.02	11.98 ± 2.41

\*Ortalama Hücre yoğunluğu/mm ± Standart Hata, (n = Hayvan sayısı)

Kontrol grubuyla, haftalık ve aylık kadmiyum grupları karşılaştırıldığında; hem sağ, hem de sol serebellum lobulus simplex bölgelerindeki Purkinje hücre sayıları kadmiyum verilen gruplarda önemli derecede azalmış olarak bulundu ( $p<0.05$ ).

Aylık ve haftalık gruplar karşılaştırıldığında hem sağ hem de sol serebellar hemisfere ait L. Simplex alanlarında sayılan purkinje hücre sayısı anlamlı olarak farklı bulundu. Aylık gruptaki hücre kaybı daha fazlaydı ( $p<0.05$ ).

Hayvanların davranışları incelendiğinde ilk 7 gün içinde hareketlerde yavaşlama, besin bulma ve yemede zorluk, çok seyrek olmakla beraber şiddetli saldırganlık gözlemlendi. 10. ve 30. günler arasında aşırı bilinçsiz hareketler ve epileptik konvülsiyonlar gözlemlendi.

#### TARTIŞMA

Sunulan çalışmada elde edilen sonuçlara göre, sıçanda beyin korteksine verilen 0.0021 mg/kg kadmiyum sülfat ( $CdSO_4$ ) serebellumdaki purkinje hücrelerinde hipereksitabilite ve nörotoksititeye sebep olmaktadır. Yine albino sıçanlarda 30 gün boyunca sistemik olarak (i.p) 0.4 mg/kg/gün kadmiyum sülfat uygulandığında olfaktor bulbusta daha fazla olmak üzere beynin bütün alanlarında glutatyon düzeylerinde azalma, hücre içi kalsiyum düzeylerinde önemli artışlar gözlenmiştir<sup>(5)</sup>. Hücre içi kalsiyum miktarındaki artışın hipereksitabiliteye neden olduğu ve muhtemelen epileptik aktivitenin başlamasında tetik rol oynadığı ileri sürülmektedir<sup>(6)</sup>. Kadmiyumun nörotoksik etkisini konu edinen çok az çalışma vardır.

Yapılan çalışmada, serebellumdaki Purkinje hücrelerini sayma işlemi, sayılan görüntü alanlarının milimetre olarak hesaplanmasında doku çekmesi dikkate alınmamıştır. Kontrol grubundaki Purkinje hücre sayısı, aynı yöntemle sayım yapan Dam ve ar-

kadaşlarının bulduğu sayı ile uyumlu idi<sup>(7)</sup>.

Deney grubu hayvanlarda gözlenen saldırganlık, besin ve suyu tanyamama, yön bulmada zorlanma ve konvulsif hareketler, tavşanlarda yine kadmiyum gibi metal grubu bir element olan çinko ile yapılan çalışmada tarif edilen davranışlara benzemektedir<sup>(8,9)</sup>. Bu nöbetlerin kadmiyuma bağlı epileptiform aktiviteden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kontrol grubu hayvanlarda ise bu davranışların hiçbirine rastlanmadı.

Kadmiyumun hangi yolla hücre ölümüne sebep olduğunu bu çalışma ile söyleyebilmek güçtür. Ancak, çinkoda olduğu gibi aşırı nöron aktivitesine sebep olarak<sup>(10)</sup>, muhtemelen güçlü bir eksitator transmitter olan glutamat reseptörlerinden NMDA'yı aktiveleme ve sonuçta hücre içi kalsiyum düzeyini aşırı ölçüde artırma yoluyla böyle bir etki gösterebileceği tahmin edilmektedir. Mekanizmanın tam olarak aydınlanabilmesi için tek hücre veya reseptör düzeyinde çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etki yolu ne olursa olsun; kadmiyumun kirli havada, sigara dumanında ve sanayide, pil fabrikaları ile protez dişlerin yapımında kullanıldığı düşünüldüğünde ve özellikle alkol kullanan endüstri işçilerinin kadmiyum toksisitesinden daha fazla etkileneceği hesaba katıldığında<sup>(11)</sup> daha dikkatli olunması gerçeği ortaya çıkmaktadır.

Geliş tarihi : 07.08.1998

Yayına kabul tarihi : 25.01.1999

Yazışma adresi:

Dr. Faruk BAĞIRICI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Fizyoloji Anabilim Dalı

55139 Kurupelit, SAMSUN

#### KAYNAKLAR

1. Löscher W, Meldrum BS. Evaluation of anticonvulsant drugs in genetic animal models of

- epilepsy. Fed.Proc. 43,276-284, 1984
2. Marangoz C, Karatay M. Penisilin modeli epilepsi odağında inhibitör sistemler üzerinde deneysel çalışma. Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi 1982; 1: 112-122
  3. Shukla GS, Hussain T, Chandra SV. Possible role of regional superoxicity. Life Sciences 1987; 41: 2215-2221
  4. Vig PJ, Ravi K, Nart R. Interaction of metals with brain calmodulin purified from normal and cadmium exposed rats. Drug and chemical Toxicology 1991; 14: 207-218.
  5. Kumar R, Agarwal AK, Seth PK. Oxidative stress-mediated neurotoxicity of cadmium. Toxicology Letters. 1996; 89(1): 65-69
  6. Uemastu D, Araki N, Greenberg JH, et al. Alterations in cytosolic free calcium in the cat cortex during bicuculline-induced epilepsy. Brain Res Bull 1990; 24: 285
  7. Dam M, Bolving T, Hertz M, et al. Does seizure activity produce Purkinje cell loss ? Epilepsia, 1984, 25: 747-751
  8. Pei Y, Koyama I. Features of seizures and behavioural changes induced by intrahippocampal injections of zinc sulphate in the rabbits. A new experimental model of epilepsy. Epilepsia, 1986; 27: 183-188
  9. Marangoz C, Genç H. Tavşanda intracortical çinko sülfattan sonra purkinje hücreleri sayısında azalma. T. KL.Tıp Bil. Araş. Dergisi, 1990; 8: 67-74.
  10. Demir Ş, Genç O, Bağırıcı F ve ark. Beyinde çinkonun sebep olduğu hücre ölümüne verapamilin etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi, 1996; 13(1): 19-25
  11. Flora SJ, Tandon SK. Effect of combined exposure to cadmium and ethanol on regional brain biogenic amine levels in the rat. Biochem. Int., 1987,15 (4); 863-71