

ISSN 1015 • 3918



**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
DERGİSİ**

**JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY
OF
ANKARA UNIVERSITY**

**Cilt/Vol :27
Sayı/No : 2
Yıl/year: 1998**



**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
DERGİSİ**

**JOURNAL OF FACULTY OF PHARMCY
OF
ANKARA UNIVERSITY**

**Cilt/Vol : 27
Sayı/No : 2
Yıl/Year: 1998**

Ankara-1998



Fakültemiz dergisinin bu sayısı Cumhuriyetimizin 75. Yılına armağan edilmiştir.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ DERGİSİ

Sahibi: Prof.Dr. Seçkin ÖZDEN

Editör: Prof.Dr. Feyyaz ONUR

Yayın Kurulu: Prof.Dr. Feyyaz ONUR (Başkan)
Prof.Dr. Nazire ÖZKAL
Prof.Dr. Nuray ARI
Doç.Dr. Gülbin ÖZÇELİKAY
Yrd.Doç.Dr. Meral TUNÇBİLEK
Dr.Ecz. Yıldız ÖZALP

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi dergisi yılda 2 sayı yayınlanır.

Yayımlanan yazıların sorumluluğu yazara aittir.

Bu dergi **Chemical Abstracts (CA)**, **EMBASE / Excerpta Medica** ve **Medicinal Aromatic Plants Abstracts (MAPA)** da indekslenmektedir.

Yazışma adresi:

Ankara Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi,
06100 Tandoğan - Ankara

Tel: (0312) 222 04 71

Fax: (0312) 213 10 81

e-mail: ankfarmj@pharmacy.ankara.edu.tr.

**Ankara Üniversitesi Basımevi,
1999**

JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY OF
ANKARA UNIVERSITY

Published by : Prof .Dr. Seçkin ÖZDEN

Editor : Prof.Dr. Feyyaz ONUR

Editorial Board: Prof.Dr. Feyyaz ONUR (Editor-in-Chief)
Prof.Dr. Nazire ÖZKAL
Prof.Dr. Nuray ARI
Assoc.Prof Gülbin ÖZÇELİKAY
Assist.Prof.Dr. Meral TUNÇBİLEK
Res.Assist.Dr. Yıldız ÖZALP

Journal of Faculty of Pharmacy of AnkaraUniversity is published in semi-annual volumes.

All the articles appeared in this journal are published on the responsibility of the author.

This journal is indexed in **Chemical Abstracts (CA)**, **EMBASE / Excerpta Medica and Medicinal Aromatic Plants Abstracts (MAPA)**.

Address:

Ankara University,
Faculty of Pharmacy,
06100 Tandoğan - ANKARA
TURKEY

Tel:+90 312 222 04 71

Fax: +90 312 213 10 81

e-mail: ankfarmj@pharmacy.ankara.edu.tr.

**Ankara Üniversitesi Basımevi,
1999**

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Orijinal Makaleler / Orijinal Articles

Sayfa

1. Göknur AKTAY, Tülin SÖYLEMEZOĞLU- **Kanmiyum ve Etanolün Lipid Peroksidasyon, İz Element Düzeyleri ve Biyokimyasal Göstergeler Üzerine Etkisi.** Effects of Cadmium and Ethanol on Lipid Peroxidation, Trace Element Levels and Biochemical Indicators. 61
2. Ayşegül GÜVENÇ - **Türkiye'de Yetişen Asparagus L. Türlerinin Gövde Anatomisi.** Studies on Anatomical Structure of Stems of Asparagus Species (Liliaceae) Growing in Turkey. 73
3. Sinan SÜZEN, Cemal AKAY, Şenol TARTILMIŞ, Serdar ERDÖL, Atilla ÖNAL, Şemsettin CEVHEROĞLU- **Quantitation of Acetaminophen in Pharmaceutical Formulations Using High-Performance Liquid Chromatography.** Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Kullanılarak Farmasötik Formülasyonlarda Asetaminofen Miktar Tayini. 93
4. Yalçın DUYU- **GC/MS Metodu ile İdrarda Aynı Anda Morfin, Kodein ve 6-Monoasetilmorfin Tayini.** Simultaneous Determination of Morphine, Codeine and 6-Monoacetylmorphine in Urine by GC/MS Method. 101

Derlemeler / Reviews

- 1- Ayfer İSKİT, Süreyya ÖLGEN, Doğu NEBİOĞLU- **Nonsteroidal Antiinflamatuar İlaçlarda Değişik Bir Yapısal Örnek; Benorilat.** A Different Structural Example of Nonsteroidal Antiinflammatory Agents ; Benorilate. 115

KADMIYUM VE ETANOLÜN LİPİD PEROKSİDASYON, İZ ELEMENT DÜZEYLERİ VE BİYOKİMYASAL GÖSTERGELER ÜZERİNE ETKİSİ

EFFECTS OF CADMIUM AND ETHANOL ON LIPID PEROXIDATION,
TRACE ELEMENT LEVELS AND BIOCHEMICAL INDICATORS

Göknur AKTAY* Tülin SÖYLEMEZOĞLU*

*Ankara Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, Cebeci Tıp Kampüsü 06100- ANKARA

ÖZET

Kadmiyum ve etanolün ayrı ayrı ve birlikte alındıklarında toksik etki mekanizmalarını araştırmak amacıyla karaciğerde malondialdehit; karaciğer, böbrek, kalp, ve serumda çinko, bakır ve demir içeriği ile serum alkalin fosfataz (ALP) ,glutamik oksalasetik transaminaz (GOT) ve glutamik pirüvik transaminaz (GPT) enzim düzeyleri çalışıldı.

Karaciğerde malondialdehit düzeyleri tüm deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Kadmiyum (3 mg/kg, IP), maruziyeti tüm organlarda ve serumda çinko, karaciğer ve böbreklerde ise demir düzeyinde artışa neden oldu. Etanol (% 5-10 h/h) alımı karaciğer ve böbreklerde çinko düzeyini etkilemezken karaciğer, böbrek ve kalpte demir düzeyini anlamlı derecede artırdı. Diğer taraftan, deney gruplarının serum ALP, GOT ve GPT enzim düzeylerinde anlamlı artışlar gözlenirken doku ve serum bakır düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Bulgularımıza göre, kadmiyum ve etanol, sadece iz element dengesini değil, enzim düzeylerini de değiştirerek hücrel hasara yol açmaktadır. Ayrıca, malondialdehitin kadmiyum ve etanol toksisitesinde önemli biyokimyasal göstergelerden biri olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler : *Kadmiyum, etanol, lipid peroksidasyon , iz elementler, serum ALP, GOT ve GPT enzimleri.*

ABSTRACT

In order to investigate the toxic effect mechanisms of cadmium and ethanol alone as well as in combination, malondialdehyde in liver; zinc, copper and iron contents of liver, kidney, heart and serum alkaline phosphatase (ALP), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) levels in serum were tested.

Malondialdehyde level in liver in all treated groups significantly increased to the control group. Exposure of rats to cadmium (3 mg/kg, IP) caused an increase in the levels of zinc in all organs and serum, and iron levels in liver and kidneys. Ingestion of ethanol (% 5-10 h/h) did not effect the zinc levels in liver or kidney, however it caused a significant increase in the iron levels in liver, kidney and heart. Furthermore, significant increases were observed in serum ALP, GOT and GPT levels. There were no differences in copper levels in all organs and serum in the groups of all treated rats.

According to our results, cadmium and ethanol exhibit cell damage by altering not only trace element homeostasis but also enzyme levels. In addition, we can conclude that malondialdehyde is an important biochemical indicator in the cadmium and ethanol toxicity.

Key words : *Cadmium, Ethanol, Lipid peroxidation, Trace elements, serum ALP, GOT and GPT enzymes.*

GİRİŞ

Hücre içinde aktif oksijen radikallerinin artarak hücrel hedeflerle reaksiyona girmesi veya antioksidan sistemlerin etkinliğinin azalması, serbest radikal toksisitesiyle sonuçlanan hücrel hasardan sorumlu temel mekanizmalardır.

Serbest oksijen türevlerinin hücrelerde lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllerle etkileşmesi hücre ölümü, doku hasarı ve organ fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilir;

birçok dejeneratif hastalığın fizyopatolojisi ile yaşlanma ve ksenobiyotik toksisitesinde serbest radikallerin rolü vardır (1,2).

Biyolojik hasarla karakterize radikal reaksiyonlarından en iyi bilineni lipid peroksidasyonu (LPO) dur. Fosfolipidlerinde yüksek oranda doymamış yağ asidi bulunan membranlar LPO'na daha duyarlıdır (3). Karaciğer, hem ksenobiyotik metabolizmasında birincil rolü olması hem de mikrozomal membran yapısı nedeniyle serbest radikallerin kaynağı ve hedefi durumundadır (4).

Aerobik organizmalarda reaktif oksijen radikallerinin kontrolü ve zararlı etkilerinin azaltılması sitozol ve membranlarda lokalize olan veya ekstrasellüler sıvılarda bulunan enzim sistemleri ve serbest radikal tutucuları gibi savunma mekanizmalarıyla olmaktadır (5,6) Antioksidan sistem içinde yer alan metalloenzimlerin hücrel aktivitelere iz elementler önemli prostetik gruplardır. İntrasellüler radikal temizleyici bir enzim olan süperoksid dismutazın çinko, bakır ve manganeze, glutatyon peroksidazın ise selenyuma gereksinimi vardır. İz element metabolizmasındaki bozukluklar, metalloenzimlerin etkinliğinin azalmasına, radikal reaksiyonlarının artmasına neden olur (7). Diğer taraftan, LPO'nun yayılma fazında oluşan lipid hidroperoksitlerin yıkımı, demir ve bakır gibi geçiş metallerinin yardımıyla olmaktadır. İyonik demir, Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarında, güçlü bir oksidan olan hidroksil radikali oluşumunu katalize eder. Hücre içinde, normalde ferritin ve transferrine bağlı olan demir aktif değilken, süper oksid radikalleri proteine bağlı demiri mobilize ederek radikal reaksiyonlarını başlatırlar (8). Ferritin ve transferrinin iyonik demiri depolayarak dokuları peroksidatif hasardan koruduğu düşünülmektedir (9).

Endüstriyel ve çevresel kirleticiler olan ağır metallerin, toksik etkilerini çoğu kez iz elementlerle etkileşerek gösterdikleri bilinmektedir. Kadmiyumun çinko, bakır, demir ve kalsiyum gibi iz elementlerle hücrelerdeki membran ligandları, taşıyıcıları ve iyon kanalları için kompleks antagonistik bir yarışmaya girdiği gösterilmiştir (10,11).Kadmiyum toksisitesinde önemli olan maruziyet şekli ve maruz kalınan kadmiyum miktarıdır.Parenteral yolla uygulanan kadmiyum bileşikleri çok kısa sürede maksimum kan düzeylerine ulaşmaktadır ; injeksiyondan sonraki ilk 12 saatte kadmiyum kan düzeyleri düşmeye başlarken daha sonra bir düzensizlik görülmekte, kan düzeyleri tekrar artmaktadır (12,13).Bu durum, tek doz parenteral uygulamalardan günler sonra dahi kadmiyumun hücrel düzeydeki toksik etkilerinin devam edebileceğini düşündürmektedir.

Kronik alkolizmde ise etanolün metabolizması sırasında mikrozomal süperoksid radikallerinin artışı ve yağlı karaciğer oluşumu sonucunda artan LPO'na bağlı olarak hepatosellüler hasar geliştiği bildirilmiştir (14). Etanolün iz element ve ağır metallerin biyoyararlanımı üzerindeki etkilerinin, membran geçirgenliğinin bozulması ve metal bağlayan protein sentezinin azalmasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir (15,16).

Bu bilgi ve görüşlere dayanarak çalışmamızda, kadmiyum ve etanolün karaciğerde LPO, karaciğer, böbrek, kalp ve serumda çinko, bakır ve demir düzeyleri ile hepatosellüler hasarın biyokimyasal göstergeleri olan serum ALP, GOT ve GPT enzimleri üzerindeki etkileri araştırılarak hücresel düzeydeki toksik etkileri ile olası sinerjistik etkileşmeleri değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, vücut ağırlıkları 180-200 g. arasında olan Wistar Albino cinsi sekiz haftalık erkek sıçanlar (n = 32) dört gruba ayrılarak sekiz hafta süreyle sıvı diyetle (17) alındılar :

KONTROL (K): Deneklere katı yem ve su yerine yalnız sıvı diyet verildi.

KADMİYUM (Cd) : Deneklere diyetin dördüncü haftası sonunda tek doz kadmiyum (3mg/kg,IP, CdCl₂ -Merck) enjekte edildi (18).

ETANOL (EtOH) : Deneklere, sıvı diyet içinde, deneyin ilk dört haftasında % 5 h/h, ikinci dört haftasında ise % 10 h/h konsantrasyonda etanol verildi.

ETANOL + KADMİYUM (EtOH + Cd) : Deneklere EtOH grubu ile aynı konsantrasyonlarda etanol, Cd grubuna uygulanan doz ve sürede Cd uygulandı.

Sekizinci haftanın sonunda kadmiyum gruplarından sağ kalan altışar hayvanla birlikte diğer gruplardan da altışar hayvan değerlendirmeye alınarak (n=24) intrakardiyak kanları toplandı;karaciğer,böbrek ve kalpleri çıkarılarak analizleri yapılmaya kadar - 20 C° de saklandı.

Karaciğerde LPO, doku homojenatında peroksidize lipidlerin son yıkım ürünü olan malondialdehit (MDA)'in tiyobarbitürik asid ile verdiği renkli üründe miktar tayini prensibine dayanan Jamall ve Smith'in geliştirdiği yöntemle çalışıldı (19). LPO, nmol MDA/g. Yaş ağırlık cinsinden ifade edildi.

Karaciğer, böbrek, ve kalp ,çinko, bakır ve demir analizleri VARIAN 30/40 model Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde ve kuru külleştirme yöntemiyle yapıldı.Bu amaçla, dokular etüvde 105 C° de kurutulularak sabit ağırlığa getirildi.Numunelerden 0.2 g civarında tam tartımlar alınarak polipropilen tüplere aktarıldı; l'er ml konsantre nitrik asit eklendi ve 65 C °

de 2 saat etüvde bekletilerek dijestiyona tabi tutuldular.Çinko analizinde 0,5,1 ve 1,5 µg/ml ' lik çinko standart çözeltileri; bakır ve demir analizlerinde ise 2 ,4 ve 6 µg/ml'lik bakır ve demir standart çözeltileri ile çizdirilen kalibrasyon grafiğine göre değerlendirmeler yapıldı (20,21).

Sonuçlar, Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi, İstatistik analizleri SPSS 6.0 for Windows programı yardımıyla yapıldı.

BULGULAR

Karaciğer LPO ve demir düzeyleri tüm deney gruplarında, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Çinko düzeyleri Cd ve EtOH + Cd gruplarında artarken, bakır düzeylerinde, hiç bir deney grubunda anlamlı bir farklılık saptanmadı (tablo 1.)

Tablo 1.Karaciğer LPO (nmol MDA/g yaş ağı.), çinko,bakır ve demir (µg/g kuru ağı.)düzeyleri (Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma)

GRUPLAR	Çinko	Bakır	Demir	MDA
K	105,26±1,82	12,19±0,33	405,51±22,02	326,83±31,23
Cd	150,32±3,17*	12,21 ±0,36 a	498,79±19,12**	415,45±28,73***
EtOH	102,95±1,62a	11,91±0,22a	478,66±17,22**	404,55±18,21***
EtOH + Cd	138,53±1,90*	12,10±0,32a	482,17±20,02**	449,80±48,53***

a p > 0.05 (anlamsız) * p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

Böbrekte çinko düzeyleri Cd ve EtOH + Cd gruplarında, demir düzeyleri tüm deney gruplarında anlamlı bir artış gösterirken, bakır düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Tablo 2). Kalpte çinko düzeyi Cd grubunda artarken EtOH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı; demir düzeyinin ise yalnız EtOH grubunda arttığı saptandı (Tablo 3).

Tablo 2. Böbrek çinko,bakır ve demir düzeyleri (µg/g kuru ağı.) (Art.Ort. ±St. Sapma)

GRUPLAR	Çinko	Bakır	Demir
K	97,33±3,71	10,46±0,57	209,11±6,12
Cd	119,28±2,72*	10,06±0,54 a	304,85±8,38*
EtOH	96,42±3,54 a	10,10±0,46 a	359,19±4,99*
EtOH + Cd	105,24± 1,56*	10,10±0,29 a	345,05±17,90*

a p > 0.05 (anlamsız) * p < 0.01

Tablo 3. Kalp, çinko , bakır ve demir düzeyleri ($\mu\text{g/g}$ kuru ağır.) (Art.Ort. \pm St.Sapma)

GRUPLAR	Çinko	Bakır	Demir
K	86,20 \pm 3,60	11,02 \pm 0,26	310,21 \pm 4,06
Cd	98,60 \pm 1,81*	11,11 \pm 0,27 a	308,89 \pm 14,08 a
EtOH	80,78 \pm 2,28**	10,91 \pm 0,20 a	341,51 \pm 14,63 **
EtOH+Cd	85,57 \pm 2,98 a	11,14 \pm 0,22a	321,37 \pm 4,67 a

a p > 0.05 (anlamsız) *p<0.01 **p<0.05

Serum çinko, bakır, demir ile ALP, GOT ve GPT enzim değerleri tablo 4 ve 5'te gösterilmiştir.

Serum çinko düzeylerinin Cd ve EtOH + Cd gruplarında artarken, EtOH grubunda azaldığı, demir düzeylerinin ise Cd ve EtOH gruplarında düştüğü gözlemlendi. Serum bakır düzeylerinde, hiçbir deney grubunda anlamlı bir değişiklik saptanmadı.

Serum ALP düzeyinin Cd ve EtOH + Cd gruplarında, GOT düzeyinin tüm deney gruplarında ve GPT aktivitesinin yalnız EtOH+Cd grubunda arttığı gözlemlendi.

Tablo 4. Serum çinko, bakır ve demir düzeyleri ($\mu\text{g / ml}$) (Art.Ort. \pm St.Sapma)

GRUPLAR	Çinko	Bakır	Demir
K	1,30 \pm 0,07	1,42 \pm 0,04	5,85 \pm 0,29
Cd	1,44 \pm 0,05*	1,42 \pm 0,05 a	4,98 \pm 0,28 *
EtOH	1,16 \pm 0,07**	1,38 \pm 0,04a	5,39 \pm 0,39 a
EtOH+Cd	1,43 \pm 0,05*	1,41 \pm 0,04 a	5,13 \pm 0,23*

a p > 0.05 (anlamsız) *p<0.01 **p<0.05

Tablo 5. Serum ALP (U/L), GOT ve GPT düzeyleri (U/ml) (Art.Ort. \pm St.Sapma)

GRUPLAR	ALP	GOT	GPT
K	144,16 \pm 13,87	79,16 \pm 13,49	36,66 \pm 5,35
Cd	300,42 \pm 31,86*	94,42 \pm 10,81***	40,42 \pm 4,79 a
EtOH	134,50 \pm 21,00a	121,0 \pm 8,17*	32,66 \pm 6,12 a
EtOH+Cd	184,14 \pm 16,30**	128,28 \pm 23,05**	45,71 \pm 8,48***

a p > 0.05 (anlamsız) *p<0.001 ** p < 0.01 *** p <0.05

SONUÇ VE TARTIŞMA

LPO, ksenobiyotiklerin toksik etki mekanizmalarında temel kriter olarak kabul edilmekle birlikte hücrel hasarın total göstergesi olduğu tam olarak kanıtlanmamıştır. Ancak Cd ve EtOH dahil bazı kimyasalların toksikasyonlarında kritik rolü olabileceği düşünülmektedir. Kadmiyumun, hücre kültürlerinde serbest radikallerin salınmasına yol açmadığı halde (22), maruziyetten sonra dokularda LPO'nu artırdığını gösteren bulgular vardır (23,24). Değişik uygulama şekilleri ve dozlarda karaciğer, böbrek, beyin ve kalpte LPO'na bağlı hücrel hasar bildirilmiştir (25,26). Alkolün neden olduğu hepatotoksisitenin serbest radikallerle ilişkili olduğunu gösteren öncü çalışmalardan (27,28) sonra, kronik alkoliklerde ve deney hayvanlarında hepatik ve serum lipid peroksid düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (29-32). Çalışmamızda da, karaciğer MDA düzeylerinin tüm deney gruplarında yüksek olması literatür çalışmaları ile uyumludur ve Cd ile EtOH'ün hepatotoksik etki mekanizmalarında LPO'nun hücrel hasardan sorumlu bir gösterge olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Karaciğer iz element homeostazisinde kritik organdır. Akut ve kronik maruziyette Cd'un başta karaciğer olmak üzere birçok organda çinko ve bakır metabolizmasından ve ağır metal detoksifikasyonundan sorumlu sitozolik bir protein olan metallothionein (MT)'e bağlı çinko ve bakırla etkileşerek dokulardaki dağılımlarını bozduğu bildirilmiştir (33). Tek doz Cd enjeksiyonundan 0.5 ile 12 saat ve 20 gün sonra karaciğer ve böbreklerde çinko düzeyinin anlamlı derecede arttığını, bakır düzeylerinin ise karaciğerde düşerken böbreklerde değişmediğini gösteren bulgular da vardır (34). Cd'a maruz kalmış veya İtai-İtai sendromu olan kişilerin postmortem karaciğer ve böbrek analizlerinde çinko düzeyi yüksek bulunurken bakır düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (35). Aynı şekilde, tekrarlanan Cd enjeksiyonlarından sonra kan, karaciğer ve böbreklerde çinko düzeyi artarken bakır düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (36). Çalışmamızda ise tek doz Cd enjeksiyonundan 4 hafta sonra bile anlamda farklılıklar saptanmıştır. Bulgularımız doku ve serumda çinko çalışmaları ile uyumludur. Bakır düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmaması, bakırın MT'deki tiyol gruplarına affinitesinin çinko ve kadmiyumdaki fazla olması (37) ile açıklanabilir.

Yapılan çalışmalar, Cd'un demirin ferritine bağlanmasını inhibe ettiğini göstermektedir. Cd'un karaciğer ve böbreklerde demir artışına neden olurken serum demir düzeyini alınan doz ve süre ile uygulama şekline bağlı olarak değiştirdiği bildirilmiştir (38). Çalışmamızda da

karaciğer ve böbreklerde saptanan demir artışı Cd'un, çinkonun yanısıra demir ile de güçlü bir şekilde etkileştiğini düşündürmektedir. Kalp demir düzeyinin anlamlı bir farklılık göstermemesi, Cd'un büyük oranda karaciğer ve böbreklerde birikmesine (25); karaciğer ve böbrekte demir artışı ile serum demir düzeyindeki düşüş ise hepatosellüler hasara bağlı olarak serumdan dokuya veya dokudan seruma demir taşınma mekanizmasının bozulmasıyla ilgilidir (38,39).

Kronik EtOH tüketiminin iz element metabolizması üzerindeki etki mekanizması çok açık değildir; karaciğer, böbrek ve serumda çinko ve bakır düzeylerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığını gösteren bulguların yanısıra (39) alınan doza bağlı olarak dokuda çinko düzeylerinin arttığını (40) ve azaldığını (37) gösteren çalışmalar da vardır. Çalışmamızda da, verdiğimiz konsantrasyon ve sürede EtOH'ün, karaciğer ve böbrekte çinko ve bakır düzeylerini değiştirmezken, serum çinko düzeyini düşürdüğü saptandı. Kanda çinko düzeyinin azalması, EtOH'ün neden olduğu hiperzinküri ile açıklanmaktadır (41,42).

EtOH'ün hepatik demir düzeyi üzerindeki etkisinin alınan konsantrasyon ve süreye bağlı olduğu gösterilmiştir; 10 hafta süreyle EtOH verilen sıçanların hepatik demir içeriği, 4 hafta süreyle EtOH verilen sıçanlara göre daha yüksek bulunmuştur (43). Ayrıca, alkolik karaciğer hastalıkları ile hepatosellüler hasarda hepatik demir düzeyinin arttığını gösteren çalışmalar vardır (39,44). Çalışmamızda gözlenen hepatik demir düzeyindeki artış literatür bilgileri ile uyumludur. Kronik alkolizmde, demir metabolizmasındaki bozukluklar, hepatosellüler hasarla birlikte ferritin sentezinin bozulması ve EtOH'ün metabolizması sırasında artan mitokondriyal süperoksid radikallerinin ferritindeki demiri indirgeyerek mobilize etmesiyle ilgilidir (43-45).

Birçok çalışmada hepatosellüler hasarın biyokimyasal göstergeleri olarak değerlendirilen serum ALP, GOT ve GPT enzim düzeylerinin tek doz Cd enjeksiyonundan sonra arttığı (46,47), EtOH'ün ise alınan doz ve süreye bağlı olarak enzim düzeylerini artırdığı (47,48) ya da değiştirmediği (49) gösterilmiştir. Serum ALP, çinko bağımlı bir metalloenzimdir; çinko eksikliğinde ALP aktivitesinin azaldığı (50), dokulardaki çinko ve demir düzeyleri ile ALP arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (51,52). Çalışmamızda, Cd'un serum ALP ve hepatik çinko düzeylerini artırması ve EtOH grubunda hepatik çinko ile serum ALP düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmaması bu çalışmalarda elde edilen verileri desteklemektedir. Diğer taraftan, Cd ve EtOH'ün neden olduğu serum GOT ve EtOH + Cd grubunda serum GPT düzeylerindeki artışlar da literatür bilgileriyle uyumludur (40, 47, 49).

Bulgularımıza dayanarak, Cd'un çinko ve demir ile yarışarak hücrelerde, çinko ve demir bağımlı reaksiyonları etkilediği, EtOH'ün ise çinko üzerinde Cd kadar belirgin bir etkisinin olmadığı ve metabolizması sırasında açığa çıkan serbest radikallerin demiri mobilize ederek hücrel hasara yol açtığı sonucuna varılmıştır. Cd ve EtOH'un hücrel düzeydeki toksik etkilerini iz element metabolizmasını bozarak gösterdiklerini ancak etki mekanizmalarının farklı olduğunu ve uyguladığımız dozdan 4 hafta sonra bile kadmiyumun toksik etkilerinin devam edebileceğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. **Freeman, B. A. and Crapo, J. D.** "Biology of disease free radicals and tissue injury." *Lab. Invest*, 47 : 412-426, (1982).
2. **Sies, H., and Groot, H.** "Role of reactive oxygen species in cell toxicity." *Toxicol Lett.*, **64/65** : 547-551,(1991).
3. **Toppel, A. C.** " Lipid peroxidation damage to cell components." *Fed. Proc*, 32 : 1870, (1973).
4. **Brent, J. A. and Rumack, B. H.** "Role of free radicals in toxic hepatic injury. 1 : Free radical biochemistry." *Clin. Toxicol*, 31 (1): 139-171, (1993).
5. **Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.** " Free radicals and antioxidant protection : Mechanism and significance in toxicology and disease." *Hum. Toxicol* 7: 7-19, (1988).
6. **Trivedi, R.John , S.,Kale, M.,Rathore, N. and Bhatnagar,D.**" Lipid peroxidative damage on lead exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes:role of vitamin E ." *Trace Elements and Electrolytes*, 14 (3) :177-180.(1997).
7. **Halliwell, B.** "Free radicals and metal ions in health and disease." *Proc. Nutr. Soc*, **46** : 13-26, (1987).
8. **Minotti, G. and Aust, S.D.** "The role of iron in the initiation of lipid peroxidation." *Chemistry and Physics of Lipids*, **44** : 191-208. (1987).
9. **Samokyszyn, V. M., Thomas, C.E., Reif, D. W., Saito, M. and Aust S. D.** "Release of iron from ferritin and its role in oxygen radical toxicities." *Drug Metabolism Reviews*, 19 (3-4) : 283-303, (1988).
10. **Blazka, M. E. and Shaikh, Z. A.** "Cadmium and mercury accumulation in rat hepatocytes : Interactions with other metal ions." *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **113** : 118-125, (1992).
11. **Thomas, U. J. and Mushak, P.** "Effects of cadmium exposure on zinc and copper distribution in neonatal rats." *Arch. Toxicol*, 58 : 130-135, (1986).
12. **ChmielnickaJ. and Cherian, M.G.** "Environmental exposure to cadmium and factors affecting trace element metabolism and metal toxicity." *BM. Trace Elem.Res.*, 10:243-262,(1986).

13. Sugavara, N. "Influence of cadmium on zinc distribution in the mouse liver and kidney :role of metallothionem." *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 42377-386, (1977).
14. Vallett, M., Tabatabaie, T., Briscoe, R. J., Baird, T. J., Beatty, W. W., Floyd, A. R. and Gauvm, D.V. "Free radical production during ethanol intoxication, dependence and withdrawal." *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 21 (2): 275-285, (1997).
15. Hopf, G., Bocker, R., Kusch, G. and Estler, C. J. "The effects of long-term ethanol treatment on a metal binding protein fraction in liver and kidneys of mice." *Acta. Pharm. Toxicol*, 59 : 43-46, (1986).
16. Strubelt, O., Obermeier, F. and Siegers, C. P. "The influence of ethanol pretreatment on the effects of nine hepatotoxic agents." *Acta. Pharm. Toxicol*, 43 : 211-218, (1978).
17. Uzbay, İ. T., Akarsu, E. S. and Kayaalp, S.O. "Effects of bromocriptin and haloperidol on ethanol withdrawal sendrom in rats." *Pharmacol. Biochem. Bheav.*, 49 : 975-979, (1994).
18. Kobrle, V., Hurgch, J., Cıkr, M. and Jones, M.M. "Sodium Bis (Hydroxyethyl) dithiocarbamat reduces acute lung tissue damage induced by cadmium in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 16:733-741, (1991).
19. Jamall, I. S. and Smith, J. C. "Effects of cadmium on glutathione peroxidase superoxid dismutase and lipid peroxidation in the rat heart : A possible mechanism of cardiotoxicity." *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 80, : 33-42, (1985).
20. Lutterotti, S., Zanic'-gru bısıc, T. and Juretic, D. "Rapid and simple method for the determination of copper, manganese and zinc in rat liver by direct flame atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 117:141-144, (1992).
21. Friel, J.K. and Ngyuen, C.D. "Dry -and wet-ashing techniques compared in analyses for zinc, copper, manganese and iron in hair. *Clin. Chem.*, 32(5):739-742, (1986).
22. Ochi, T., Takahashi, K. and Ohsawa, M. "Indirect evidence for the induction of a prooxidant state by cadmium chloride in cultured mammalian cells and a possible mechanism for the induction." *Mutat. Res.* 180 : 257-266, (1987).
23. Muller, L. "Consequences of cadmium toxicity in rat hepatocytes : Mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation." *Toxicology*, 40 : 285-292, (1986).
24. Sarkar, S., Poonam, Y. and Bhatnagar, D. "Cadmium-İnduced lipid peroxidation and the antioxidant enzymes in rat tissues :role of vitamin E and selenium." *Trace Elements and Electrolytes*. 14(1):41-45, (1997)
25. Manca, D., Ricard, A. C., Trottier, B. and Chevalier, G. "Studies on lipid peroxidation in rat tissues following administration of low and moderate doses of cadmium chloride." *Toxicology*, 67 : 303-323, (1991).

26. **Hudecova, A. and Ginter, E.** "The influence of ascorbic acid on lipid peroxidation in guinea pigs intoxicated with cadmium." *Food Chem. Toxicol.*, 30 : 1011-1013, (1992).
27. **Diluzio, N. R. and Hartman, A. D.** "Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of ethanol-induced fatty liver." *Fed. Proc*, 26 : 1436-1442, (1967).
28. **Diluzio, N. R.** "The role of lipid peroxidation and antioxidants in ethanol-induced lipid alterations." *Exp. Mol. Pathol*, 8 : 394-402, (1968).
29. **Uysal, M. Aykaç, G., Toker, N. K., Sivas, A., Yalçın, S. and Oz, H.** "Lipid peroxidation in liver, plasma and erythrocytes of rats chronically treated with ethanol." *Biochem. Med.*, 34 : 370-372, (1985).
30. **Mufti, S.I., Nachiappan, V. and EsheIson, C.D.** "Ethanol-Mediated promotion of oesophageal carcinogenesis :association with lipid peroxidation and changes in phospholipid fatty acid profile of the target tissue." *Alcohol & Alcoholism*, 32(3):221-231, (1997).
31. **Ekstron, G. and Sundbergh, I.** "Rat liver microsomal NADPH-supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanol - inducible C. P450." *Biochem. Pharmacol.*, 38:1313-1319, (1989).
32. **Koch, O. R., Galeotti, T., Bartoli, G. M. and Boveris, A.** "Alcohol-induced oxidative stress in rat liver." *Xenobiotica*, 21 (8): 1077-1084, (1991).
33. **Suzuki, K. T., Kawahara, S., Sunaga, H., Kobayashi, E. and Shimojo, N.** "Discrimination uptake of metals by the liver and its relation to induction of metallothionein by cadmium, copper and zinc." *Comp. Biochem. Physiol*, 95 C (2): 279-284, (1990).
34. **Sugawara, N.** "Influence of cadmium on zinc distribution in the mouse liver and kidney : role of metallothionein." *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 42 : 377-386, (1977).
35. **Honda, R. and Nowaga, K.** "Cadmium, zinc and copper relationships in kidney and liver of humans exposed to environmental cadmium." *Arch. Toxicol.*, 59 : 437-442, (1987).
36. **Chmielnicka, J., Bem, E. M., Brzeznička, E. A. and Kasperek, M.** "The tissue disposition of zinc and copper following repeated administration of cadmium and selenium to rats." *Environ. Res.*, 37 : 419-424, (1985).
37. **Sharma, G., Sandhir, R., Nath, R. and Gill, K.** "Effect of ethanol on cadmium uptake and metabolism of zinc and copper in rats exposed to cadmium." *J. Nutr.*, 121 (1): 87-91, (1991).
38. **Sugawara, N., Sugawara, C. and Miyake, H.** "Effects of subcutaneous and oral cadmium on iron metabolism : role of ceruloplasmin and metallothionein." *Arch. Toxicol*, 56 : 25-28, (1984).
39. **Prieto, J., Barry, M. and Sherlock, S.** "Serum ferritin in patients with iron overload and with acute and chronic liver disease." *Gastroenterology*, 68 : 525-533, (1975).

40. **Flora, S. J. S., Kumar, D., Sachan, S.R. S. and Das Gupta, S.** "Combined exposure to lead and ethanol on tissue concentration of essential metals and some biochemical indices in rat." *Biol. Trace Elem. Res.*, **28** : 157-164, (1991).
41. **Bracken, W. M. and Klaassen, C. D.** "Induction of hepatic metallothionein by alcohols : Evidence for an indirect mechanism." *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **87** : 257-263, (1987).
42. **Dinsmore, W. W., Callender, M.E., Mc Master, D. and Love, A. H. G.** "The absorption of zinc from a standardized meal in alcoholics and in normal volunteers." *Am. J. Clin. Nutr.*, **42** : 688-693, (1989).
43. **Batey, R. G. and Johnston, R.** "Effects of alcohol, carbon tetrachloride, and choline deficiency on iron metabolism in the rat." *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **17** (5): 931-934, (1993).
44. **Duane, P., Raja, K. B., Simpson, R. J. and Peters, T. J.** "Intestinal iron absorption in chronic alcoholics." *Alcohol Alcohol.*, **27** (5): 539-544, (1992).
45. **Kukielka, E. and Cederbaum, A. I.** "The effect of chronic ethanol consumption on NADH and NADPH-dependent generation of reactive oxygen intermediates by isolated rat liver nuclei." *Alcohol Alcohol.*, **27** (3): 233-239, (1992).
46. **Tandon, S. K., Khandehval, S., Mathur, A. K. and Ashquin, M.** "Preventive effects of Nickel on Cadmium hepatotoxicity and nephrotoxicity." *Annal. Clin. Lab. Sci.*, **14** (5): 390-396, (1984).
47. **Hopf, G., Bocker, R., Bischoff, J., Werner, M. G. and Estler, C. J.** "Investigation into the combined effects of ethanol and cadmium on rat liver and kidneys." *Arch. Toxicol.*, **64** : 470-473, (1990).
48. **Yamada, S., Mak, K. M. and Lieber, C. S.** "Chronic ethanol consumption alters rat liver plasma membranes and potentiates release of alkaline phosphatase." *Gastroenterology*, **88** : 1799-1806, (1985).
49. **Shukla, G. S., Singh, S. and Chandra, S. V.** " The interaction between manganese and ethanol in rats." *Acta. Pharm. Toxicol.*, **43** : 354-362, (1978).
50. **Gandor, D. W., Fanslow, D. J. and Meyer, J.** "Effects of zinc deficiency on developmental changes in alkaline phosphatase and carbonic anhydrase activities in the submandibular gland of the rat." *Arch. OralBiol.*, **28** (7): 609-615, (1983).
51. **Stauber, J. L. and Florence, T. M.** "A comparative study of copper, lead, cadmium and zinc in human sweat and blood." *The Science of total Environment*, **74** : 235-247, (1988)
52. **Omara, F. O., Blakley, B. R. and Wanjala, L. S.** "Hepatotoxicity associated with dietary iron overload in mice." *Human and Experimental Toxicology* **12** : 463-467, (1993)