

Testis Dokusunda Kurşun Toksisitesi ve Eser Element İlişkisi Üzerine Selenyum ve Kateşinin Rolü

Semra ÖZDEMİR¹, Şefik DURSUN¹

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Kurşun, organizma için toksik ve kanserojen bir ağır metaldir. Bu metale çevresel kirlilik ve endüstriyel alandaki kullanım nedeniyle maruz kalınmaktadır. Ağır metal olarak kurşun etkisini, kan ve çeşitli dokularda birikerek göstermektedir. Çalışma, kurşun toksisitesinin sıçan testis dokusundaki bakır ve çinko elementleri üzerine olan etkisini ve selenyum ve (+)- kateşin verilmesinin bu toksisiteyi ne yönde etkilediğini gözlemleyebilmek amacıyla planlandı. Kontrol grubu, kurşun verilen grup, kurşun + selenyum grubu ve kurşun+kateşin grubu olmak üzere dört farklı deney grubunda yapılan çalışmada 40 adet 3-4 aylık genç erişkin Wistar albino soyu sıçan kullanıldı. 30 günlük deney süresi boyunca kurşun grubuna 20 mg/l kurşun olacak şekilde kurşun asetat, selenyum grubuna 3 mg/l sodyum selenit ve kateşin grubuna 200 mg/l (+)- kateşin içme suyunda verildi. Deney hayvanlarının testis dokularında bakır, çinko ve kurşun element ölçümleri ile lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan plazma malondialdehit (MDA) tayini yapıldı. Kurşun verilen bütün deney gruplarında testis ağırlığının azalmış olduğu gözlemlendi. Selenyum verilen grupta eser element değerlerinin kontrol grubu değerlerine yaklaştığı gözlemlenirken, kateşin verilen grupta bu yönde bir gelişme gözlemlenmedi. Çalışma sonuçlarından yola çıkarak; toksik elementlerle selenyum ve (+)- kateşin etkileşiminde, alınan toksik elementin dozu ve alınma süresi koruyuculuk açısından önemli olduğu ve selenyumun, kadmiyum, kurşun gibi ağır metallerin toksik etkilerini tolere edebilecek kapasiteye sahip olduğu ifade edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kurşun, selenyum, kateşin, testis, eser element

Cerrahpaşa Tıp Derg 2007; 38: 95 - 98

The role of selenium and catechin on relation between lead toxicity and trace elements in testis tissue **Abstract**

Lead is one of the toxic and carcinogenic heavy metal for organism. Being exposed to the metal especially is realized via environmental pollution and their wide range usage in industrial field. The present study was planned to determine the possible effects of lead on of trace elements concentrations in testis tissue and. protective roles of selenium and +(-) catechin against the toxic effects of lead. The study has been performed in Wistar Albino type rats which divided into four groups as control, lead, lead+selenium and lead+catechin received groups. The experimental groups have received lead acetate, sodium selenite and +(-) catechin via their drinking water for thirty days. Besides lead as heavy metal and trace element concentrations and were performed in testis tissue of rats. In the plasma lipid peroxidation measurements were also performed. The accumulation of the lead was observed in testis tissue during experimental period. In the testis tissue of lead and lead+catechin applied groups, an increased lipid peroxidation was observed. In all other group testis tissue weights found to be lightened compare to control group. Selenium applied group trace element concentrations were found to be about showed no change when compared to controls but in catechin applied group no such a result has been detected. As a result of present study it may be concluded that; in determination of lead toxicity, malondialdehyde measurements have to be evaluated besides measurements of tissue element concentration. And administration of selenium may be helpful against the toxic effect of lead in tissue.

KeyWords: Lead, selenium, catechin, testis, trace element

Cerrahpaşa J Med 2007; 38: 95 - 98

Önemli çevre kirleticileri ve toksik ajan olmaları nedeniyle, ağır metal ve metal bileşiklerinin insan sağlığı üzerindeki etkileri giderek daha çok önem kazanmaktadır. Organizma, en çok çevresel ve endüstriyel yolla kurşun

ve kadmiyum ağır metallerine maruz kalmaktadır. Kurşun içeren aerosollerin solunması, kontamine besin maddelerinin sindirimi ve mesleki maruz kalma en sık rastlanılan yollardandır. Kurşuna solunum yoluyla maruz kalmada en etkili yol sigara içimidir. Kurşun vücuda alındıktan sonra kanda belli düzeye ulaşan ve çeşitli organ ve dokularda birikmeye başlayan bir toksindir. Genellikle kolay çözünen kurşun bileşiklerinin toksisitesi daha yüksektir. Buna göre kurşun nitrat, kurşun klorür, kurşun asetat ve

Alındığı Tarih: 6 Eylül 2007
Yazışma Adresi (Address): Dr. Semra ÖZDEMİR
Kartaltepe Mah. İncirli Cad. N. Sadak Sok. Burak Apt. No: 22/5
Bakırköy - İstanbul
E-posta: sozdemir712003@yahoo.com

kurşun fosfat bileşiklerinin toksik etkileri çoktan aza doğru sıralanabilir. Bir defa verilince akut kurşun zehirlenmesine neden olan dozlar, küçük dozlara bölünerek verildiğinde de aynı hayvan türünde kronik zehirlenmeye neden olabilmektedir [1, 2]. Serbest radikaller paylaşılmamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Bu moleküller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir [3, 4]. Kurşun etkisiyle oluşan radikaller hücre zar yapısını bozarak hücre hasarı oluşmasında birincil mekanizma olarak rol oynayan kuvvetli bir lipid peroksidasyon başlatıcısı olarak nitelendirilmektedir. Serbest radikallerin zararlı etkileri bazı maddeler tarafından tamamen ortadan kaldırılabilir veya azaltılabilir [4]. Bu maddelerden biri olduğu belirtilen kateşinler yeşil çayda bulunan doğal polifenollerin bir grubudurlar ve bitkilerde yaygın olarak bulunan polifenolik bileşiklerdir. Çalışma da kullandığımız (+)- kateşin şarap, elma kabuğu, farklı çay türlerinde, özellikle yeşil çayda bulunan bir polifenoldür. Yeşil çay ve polifenollerin antimutajenik, antibakteriyal, antioksidan, antitümoral ve antikanserijen gibi birçok biyolojik aktivitesi bildirilmiştir [5, 6]. Selenyum memelilerde, selenyuma bağlı glutatyon peroksidaz yoluyla fonksiyon gören, karsinogen maddeleri detoksifiye eden bazı enzimlerin sentezinde rol oynayan hayati bir elementtir.

Selenyumun diyetle alınmasının antikarsinogenik, antioksidan ve antitümöral etkisi olduğu bilinmektedir [4, 7]. Organizmada çinko miktarının en yüksek olduğu organlar testisler ve prostat dokusudur. Bu nedenle çinko, bakır ve selenyum eser elementlerinin erkek üreme sistemi üzerinde önemli fonksiyonlara sahip olduğu bilinmektedir [8]. Bu bilgiler ışığında, kurşun toksisitesi oluşturulan sıçanların kan ve testis dokularında çinko ve bakır elementleri değişikliklerine karşı selenyum ve kateşin alınımının etkisini belirleyebilmek amacıyla bu çalışma planlandı.

YÖNTEM VE GEREÇLER

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan alınan ortalama ağırlıkları 202 ± 15 gr olan toplam 40 adet 3-4 aylık genç erişkin erkek Wistar albino soyu sıçan kullanıldı. Sıçanlar, pellet fare yemi ile ad libidum beslendi ve her gün taze çeşme suyu verildi. Her grupta on hayvan olacak şekilde kontrol, kurşun, kurşun + selenyum ve kurşun + kateşin olmak üzere dört farklı

deney grubu oluşturuldu. İçme suyunda çözülerek, kurşun grubuna 20mg/l kurşun, kurşun asetat olarak verilirken, selenyum ise içinde 3 mg/l selenyum olacak şekilde sodyum selenit formunda verildi. Verilen kurşun dozu toksisite oluşturabilen en düşük doz olarak bildirilmiştir [9]. 200 mg kateşin 1 litre (200mg/l) çeşme suyunda çözülerek, her gün taze olarak hazırlanarak verildi [10]. 30 günlük deney süresi sonunda eter anestezi altında sakrifiye edilen deney hayvanlarının testis doku örneklerinde bakır, çinko ve kurşun elementleri ile plazma lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) ölçümü yapıldı. Materyaller ölçüm yapıncaya kadar -700 C° de saklandı. Doku ve serum elementleri alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Shimadzu AA-680) ile ölçüldü [11]. Malondialdehit ölçümü 520 nm'de spektroskopik yöntemle yapıldı [12]. Bulgular SPSS-10.0 versiyon istatistik programı kullanılarak Mann-Whitney U Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Sonuçlar ortalama ve standart sapma ($\text{Ort} \pm \text{SD}$) ile ifade edildi ve anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol grubu değerlerine göre, kurşun ($p < 0.05$), kurşun + selenyum ($p < 0.01$) ve kurşun+kateşin ($p < 0.001$) gruplarındaki sıçanların testis ağırlıkları istatistiksel açıdan anlamlı olarak düşük bulundu (Tablo 1). Kontrol grubunda 3.19 ± 0.41 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunan testis kurşun değeri, kurşun grubu (4.50 ± 1.08 $\mu\text{g/g}$) ve kurşun+kateşin grubunda (4.81 ± 1.04 $\mu\text{g/g}$) artmış olarak bulundu. Ancak kurşun + selenyum grubunda bulunan değerler (2.93 ± 1.05 $\mu\text{g/g}$) ile kontrol grubu değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilemedi. Kurşun ve kurşun+kateşin gruplarında ölçülen çinko değerleri (11.39 ± 3.35 $\mu\text{g/g}$, 10.78 ± 3.38 $\mu\text{g/g}$), kontrol grubunda ölçülen değerlere (15.61 ± 3.59 $\mu\text{g/g}$) göre azalmış ve istatistiksel olarak da anlamlıdır. Selenyum verilen grupta ise çinko değeri (17.71 ± 3.39 $\mu\text{g/g}$) kontrol grubuna göre artmış olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı (Tablo 2). Hem kurşun (0.20 ± 0.05 $\mu\text{g/g}$), hem de kurşun + kateşin (0.19 ± 0.02 $\mu\text{g/g}$) verilen grupta doku bakır değerinin kontrollere göre (0.16 ± 0.03 $\mu\text{g/g}$), artmış olduğu gözlemlendi. Kurşun+selenyum grubunun bakır değeri (0.15 ± 0.05 $\mu\text{g/g}$) ile kontrol grubu değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Kurşun (2.79 ± 0.13 nmol/ml)

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarına ait testis ağırlıkları (g).

Parametre	Gruplar			
	Kontrol	Kurşun	Kurşun + selenyum	Kurşun + kateşin
Testis ağırlığı	0.79 ± 0.15	$0.59 \pm 0.16^*$	$0.57 \pm 0.11^*$	$0.51 \pm 0.09^{**}$

* $p < 0.05$,** $p < 0.01$,*** $p < 0.001$ deney gruplarının kontrol grubuna göre anlamlı değişikliklerini gösterir.

ve kurşun+kateşin grubunda (2.71 ± 0.13 nmol/ml) istatistiksel olarak anlamlı olarak artmış olan ($p < 0.05$) plazma malondialdehit değeri, kurşun+selenyum (2.49 ± 0.10 nmol/ml) grubunda kontrol değerine (2.51 ± 0.11 nmol/ml) oldukça yaklaşmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo 3).

TARTIŞMA

Doğada yaygın olarak bulunan ve endüstride fazlaca tüketilen kurşun, insan ve hayvanlarda zehirlenme kaynağı oluşturan metallerin başında yer alır. Hematopoetik sistem, beyin, böbrek ve üreme sistemleri, kurşunun toksik etkilerinin ana hedefleridir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar bu sistemler üzerindeki kurşun etkisinin altında, tek bir mekanizmanın değil birden fazla mekanizmanın olduğu yönündedir. Bu mekanizmalardan birisi de kurşun ve oksidatif stres arasındaki ilişkiye yöneliktir. Kurşun en çok kan, böbrek, kemik, prostat ve testis dokularında birikim gösteren bir elementtir. Kurşun, verilen doza ve verilme süresine bağlı olarak testis ve epididimiste birikir ve toksite moleküler düzeyde meydana gelir. Diğer ağır metaller gibi kurşunun da toksite oluşturma mekanizması, proteinlerin -SH gruplarına bağlanarak veya diğer metal iyonları ile yer değiştirerek enzimlerin aktivitesini azaltmak şeklinde olur. Kurşunun membran lipid bileşimini değiştirdiği ve bunun sonucu olarak membran geçirgenliği, bütünlüğü ve akışkanlığı üzerine etki ederek membran fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir [2, 4, 9, 13, 14]. Çalışmamızda, kurşun grubunda lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Organizmada ağır metal toksitesinin birincil göstergesi olarak, kan ve doku element düzeyleri sıklıkla kullanılır. Kurşun konsantrasyonu verilen kurşun miktarı

ve verilme süresine bağlı olarak değişiklik gösterir. Çalışma sonuçlarımızda testis dokusunda kurşun birikimi açıkça görülmektedir. Selenyum her ne kadar esansiyel eser element olarak nitelendirilirse de, vitamin C, vitamin E, beta karotenler gibi "diyetle alınan antioksidanlar" arasında da önemli bir yer tutar. Dokuları ağır metallere korumada selenyumun etkisinin; selenyum-kurşun kompleksinin oluşmasına bağlı olduğu ifade edilebilir. Selenyum alımının kurşunun toksik etkilerini azalttığı bildirilmiştir [4, 15, 16].

Çalışma sonuçlarımızda, kurşun ve selenyumun birlikte verilmesinin, testislerdeki kurşun miktarını azalttığını açıkça görmekteyiz (Tablo 2). Bizim sonuçlarımızda, selenyum alımının, kurşun etkisiyle artan malondialdehit seviyesini azaltarak, testis çinko ve bakır düzeyleri üzerinde düzenleyici bir rol oynadığını göstermektedir. Sıçanlarda yapılan bir çalışma da, çinkodan fakir diyetle beslenme sonrası kemik kurşun düzeyinin arttığı ve çinkonun diyetle alımı ile kemik kurşun düzeyinin ve kurşun toksite belirtilerinin azaldığı gösterilmiştir [17]. Testislerde kurşun miktarının artmasına bağlı olarak çinko düzeyinin azaldığı, bakır düzeyinin arttığı ve bu değişimlerin selenyum alımıyla tekrar kontrol değerlerine ulaştığını çalışma sonuçlarımızda görmekteyiz. Çinko, hücrelerde membran stabilizatörü olarak fonksiyon görmektedir. Biyolojik moleküllere bağlanarak demir ve bakırın bağlanmasını ve dolayısıyla bunların yapacakları oksidatif hasarı önlemektedir. Bu nedenle çinko anti-peroksidatif etkiye sahip bir element olarak tanımlanır. Cu ve Zn oksidan/antioksidan sistemlerde reaksiyonların etkileşiminde değişime uğrayan önemli elementlerdir. Bakır organizmada hücre membranları üzerine prooksidan bir ajan olarak rol oynamaktadır [17, 18].

Aynı dokuda, çinko seviyesindeki azalma ve bakır seviyesindeki artmanın, bu elementlerin doku üzerindeki

Tablo 2. Kontrol ve deney gruplarına ait testis kurşun, çinko ve bakır değerleri.

Gruplar	Parametre		
Kontrol	Kurşun ($\mu\text{g/g}$)	Çinko($\mu\text{g/g}$)	Bakır($\mu\text{g/g}$)
Kurşun	3.19 ± 0.41	15.61 ± 3.59	0.16 ± 0.03
Kurşun+selenyum	$4.50 \pm 1.08^{**}$	$11.39 \pm 2.35^*$	$0.20 \pm 0.05^*$
Kurşun+kateşin	2.93 ± 1.05^a	17.71 ± 3.39^b	0.15 ± 0.05^b
	$4.81 \pm 1.04^{**}$	$10.78 \pm 3.38^{**}$	$0.19 \pm 0.02^*$

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ deney gruplarının kontrol grubuna göre, ap < 0.05 , bp < 0.01 , cp < 0.001 deney gruplarının kurşun grubuna göre anlamlı değişikliklerini gösterir.

Tablo 3. Kontrol ve deney gruplarına ait plazma MDA değerleri (nmol/ml).

Parametre	Gruplar			
	Kontrol	Kurşun	Kurşun + selenyum	Kurşun + kateşin
Plazma MDA	2.51 ± 0.11	$2.79 \pm 0.13^*$	2.49 ± 0.10^a	$2.71 \pm 0.13^*$

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ deney gruplarının kontrol grubuna göre, ap < 0.05 , bp < 0.01 , cp < 0.001 deney gruplarının kurşun grubuna göre anlamlı değişikliklerini gösterir.

aynı bağlanma bölgelerine ya da benzer protein taşıyıcı sistemlere yarışmalı bir mekanizmayla bağlanma isteklerinden kaynaklanabileceği ifade edilmektedir [19]. Kurşun toksisitesinin tedavisinde şelatlaştırıcı ajanlarla birlikte antioksidan maddelerin vitamin B, vitamin C kompleksleri, çinko ve selenyum kullanılmasının daha güvenilir ve daha etkili olabileceği görülmektedir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda antioksidanların eklenmesi ile tedavinin etkinliğinin artabileceği üzerinde durulmaktadır [4, 5, 16, 19]. Kateşinlerin biyolojik etkilerine olan ilgi, yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarla gittikçe artmakta ve antioksidan özellikleri incelenmektedir. Ancak, kateşinlerin dokulardaki dağılımı ve birikimi konusu henüz tam olarak açıklanamamıştır. Kateşinlerin ağır metallere etkileşim mekanizması konusunda yeterli literatür bilgisi mevcut olmakla birlikte, değişik oksidatif hasar oluşturan ajanlara karşı, çay kateşinlerinin malondialdehit düzeyini düşürdüğüne dair bulgular mevcuttur [20-22]. Biz çalışma sonuçlarımıza göre, testis dokusundaki kurşun toksisitesine karşı kateşin uygulanmasının, bu toksisiteyi azaltma yönünde bir etki göstermediğini söyleyebiliriz. Kateşinin daha üst düzeyde iyileştirici etkisini ortaya koyabilmek için; kateşinin farklı doz ve uygulama süresi ile ilgili ileride yapılacak yeni çalışmaların, bu etken maddenin daha da iyi anlaşılmasına olanak sağlayacağı kanısındayız.

TEŞEKKÜR

Değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ'a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Brzoska MM, Jakoniuk JM, Jurczuk M, et al. The effect of zinc supply on cadmium-induced changes in the tibia of rats. *Food and Chemical Toxicology* 2001; 39: 729-737.
2. Skerfving S, Gerhardsson L, Schütz A, Strömberg U. Lead- biological monitoring of exposure and effects. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 1998; 11: 289-301.
3. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.
4. Gürer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radical Biology & Medicine* 2000; 29: 927-945.
5. Kurt H, Başaran A, Musmul A. Sıçanlarda karbon tetraklorit (CCl₄)'in oluşturduğu oksidatif stresin kateşin ile önlenmesi. *Medical Journal of Kocatepe* 2004; 5: 29-34.
6. Altug T, Apaydin BB, Çerçel A, ve ark. (+)-Catechin'in sıçanlarda oluşturulan meme kansinomu üzerine koruyucu etkisi. *Meme Hastalıkları Dergisi* 2001; 8: 5-10.
7. Jamba L, Nehru B, Bansal MP. Effect of selenium supplementation on the influence of cadmium on glutathione and glutathione peroxidase system in mouse liver. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 2000; 13: 299-304.
8. Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, et al. Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. *Journal of Reproduction and Development* 2007; 4: 1-23.
9. Özçelik D, Toplan S, Darıyerli N. Diyetle alınan kurşunun eritrosit osmotik direnç ve kan viskozitesine etkilerinin araştırılması. *Cerrahpaşa Tıp Derg* 2000; 31: 125-186.
10. Jane V, Higdon, Balz Frei. Tea catechins and polyphenols: Health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2003; 43: 89-143.
11. Brown A and Taylor A. Applications of aslotted quartz tube and flame atomic absorption spectrophotometry to the analysis of biological samples. *Analyst* 1985; 110: 579-582.
12. Buege JA, Aust ST. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1985; 5: 302-310.
13. Adonaylo VN, Oteiza PI. Lead intoxication: antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain. *Toxicology* 1999; 135: 77-85.
14. Adler AJ, Barth RH, Berlyne GM. Effect of lead on oxygen free radical metabolism. *Trace Elements in Medicine* 1993; 10: 93-96.
15. Azza I.Othman and Mohammed A.El Missiry. Role of selenium against lead toxicity in male rats. *J Biochem Molecular Toxicology* 1998; 12: 345-349.
16. Tandon SK, Singh S. Role of vitamins in treatment of lead intoxication. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 2000; 13: 305-315.
17. Batra N, Nehru B, Bansal MP. The effect of zinc supplementation on the effects of lead on the rat testis. *Reproductive Toxicology* 1998; 12: 535-540.
18. Seymen HO, Mengi M, Özçelik D. Effect of iron overloading on the plasma copper and the zinc levels. *Cerrahpaşa Tıp Derg* 1999; 30: 155-158.
19. Evans GW, Hahn CJ. Copper-and zinc- binding components in rat intestine. *Adv Exp Med Biol* 1974; 48: 285-297.
20. Komatsu M, Hiramatsu M. The efficacy of an antioxidant cocktail on lipid peroxide level and superoxide dismutase activity in aged rat brain and DNA damage in iron-induced epileptogenic foci. *Toxicol* 2000; 48: 143-148.
21. Karaman B, Belce A, Altuğ T. Kanserde kateşinlerin rolü. *Türk Onkoloji Dergisi*, 2000; 15: 123-136.
22. Choi JH, Chang HW, Rhee SJ. Effect of green tea catechin on arachidonic acid cascade in chronic cadmium-poisoned rats. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2002; 1: 292-297.