

SIÇAN TİROİD BEZİNDE KADMIYUM HASARINA KARŞI C VİTAMİNİ, E VİTAMİNİ VE SELENYUMUN KOMBİNE KULLANIMININ ETKİLERİ*

Ömür KARABULUT-BULAN, Meral KOYUTÜRK, Şehnaz BOLKENT, Refiye YANARDAĞ, Ayşe TABAKOĞLU-OĞUZ

Background and Design.- Histopathological alterations to various organs of the different species in acute and chronic cadmium exposure have been studied by light and electron microscopy. Metallothionein is a protein inducible by heavy metal ions. The aim of this study was to determine the effects of vitamin C, vitamin E and selenium combination on the cadmium-induced morphological and immunohistochemical changes in the thyroid gland of adult male rats.

Results.- In the group given cadmium, the degenerative changes were observed in the thyroid gland. In addition, an increase in the number of metallothionein positive cells was detected in this group. These immunoreactive cells were identified as mast cells. While these degenerative changes and metallothionein immunoreactive cells in the thyroid gland were decreased in the group given cadmium and antioxidants according to the experimental group.

Conclusion.- These results suggest that metallothionein participate in accumulation of cadmium in rats, since thyroid gland containing a lot of metallothionein positive cells show a tendency to accumulate of cadmium. In addition, the combination of vitamin C, vitamin E and selenium shows a protective effect against cadmium induced oxidative injury of thyroid gland. Antioxidants also may participate to regulation of the metallothionein expression.

Karabulut Bulan Ö, Koyutürk M, Bolkent Ş, Yanardağ R, Tabakoğlu Oğuz A. The effects of combined therapy of vitamin C, vitamin E and selenium against cadmium-injury in thyroid gland of rats. Cerrahpaşa J Med 2004; 35: 174-180.

En önemli endüstriyel ve çevresel kirlenmelerden biri olan ve canlılar üzerindeki çeşitli toksik etkileri bilinen kadmiyum esansiyel olmayan, toksik, ağır metallerden biridir. Tüm canlılar için kadmiyumun esas çevresel kaynağı yiyecekler ve içme suyudur.¹ Kadmiyumun üretimi ve kullanımını arttıkça sadece endüstride çalışanlar değil, aynı zamanda genel popülasyon da kadmiyumun toksik etkisine maruz kalır.^{2,3} Çoğu metalde olduğu gibi kadmiyum için de esas hedef organ karaciğer olmasına rağmen, kadmiyumun böbrek, akciğer, duodenum, pankreas, kemik ve testis dokularında birikip, sitolojik ve histolojik hasara sebep olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.⁴⁻⁷ Deneysel ve çevresel olarak bu metale maruz kalınması halinde testiste atrofi, renal fonksiyon kaybı, hepatik hasar, solunum ve sindirim sistemi bo-

zuklukları ve anemi gibi ciddi rahatsızlıklar oluşmaktadır.^{8,9} Kadmiyumun çeşitli hücrelerin ince yapısı üzerindeki toksik etkileri ise nükleus membran hasarı, kromatin yoğunlaşması, mitokondri kristallerinde hasar ve sonunda hücre ölümüdür.¹⁰ Kadmiyumun bu toksik etkilerinden antioksidan sistemler yoluyla korunulabilir.¹¹

Hayvan vücudunda kadmiyum genellikle metallothionein ile birleşmiştir.⁴ Metallothionein sisteminde zengin, düşük moleküler ağırlığa sahip olan metal bağlayıcı hücre içi bir proteindir. Metallothioneinin pek çok memeliye ait organda bazal seviyede bulunduğu gösterilmiştir.¹² Metallothioneinin esansiyel metallerden özellikle çinko ve bakıra, esansiyel olmayan metallerden de kadmiyum ve civaya çok fazla afinitesi vardır.¹³ Kadmiyuma maruz kalan de-

***Anahtar Kelimeler:** Antioksidanlar, kadmiyum, metallothionein, sıçan, tiroid; **Key Words:** Antioxidants, cadmium, metallothionein, rat, thyroid; **Alındığı Tarih:** 10 Şubat 2005; **Yard. Doç. Dr. Ömür Karabulut-Bulan:** İ. Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul; **Uz. Dr. Meral Koyutürk:** Kadir Has Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul; **Prof. Dr. Şehnaz Bolkent, Prof. Dr. Ayşe Tabakoğlu-Oğuz:** İ.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, İstanbul. **Prof. Dr. Refiye Yanardağ:** İ.Ü. Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul. **Yazışma Adresi (Address):** Yrd. Doç. Dr. Ömür Karabulut-Bulan, İ.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, 34118, Vezneciler, İstanbul

ney hayvanlarının karaciğer, böbrek, akciğer, bağırsak ve testisinde metallothionein ekspresyonunda artış olduğu bilinmektedir.¹⁴ Metallothionein serbest radikal savııcı etkisinden dolayı, antioksidan savunma sisteminin önemli bir unsurudur.¹⁵ Yapılan literatür taraması sonucu tiroid bezinde kadmiyum toksisitesi ile metallothionein arasındaki ilişkinin tanımlanmadığı tespit edilmiştir. Glutasyon, N-asetilsistein, E vitamini ve selenyumun da antioksidatif mekanizmalar yoluyla çeşitli organlardaki kadmiyum toksisitesini azalttığı belirtilmiştir.^{11,16}

Bu çalışmada, kadmiyuma maruz kalan sıçanların tiroid bezinde metallothionein lokalizasyonunun ve dağılımının belirlenmesi, metallothioneinin biyolojik rolüne açıklık getirilmesi, C vitamini, E vitamini ve selenyum kombinasyonunun kadmiyumun sebep olduğu tiroid bezi toksisitesine karşı koruyucu etkisi olup olmadığının immünohistokimyasal ve histolojik olarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM VE GEREÇLER

Deney ve Hayvanlar: Çalışmada 24 adet, 200-250 gram ağırlığında, erkek ergin sıçan kullanıldı. Grup I: Dokunulmamış sıçanlardan; Grup II: 8 gün oral olarak sadece C vitamini (250 mg/kg/gün), E vitamini (250 mg/kg/gün) ve sodyum selenat (0.25 mg/kg/gün) verilen sıçanlardan; Grup III: İntraperitoneal olarak 8 gün CdCl₂ (2 mg/kg/gün) verilen sıçanlardan; Grup IV: Kadmiyum verilmesinden 1 saat önce, C vitamini, E vitamini ve selenyum (aynı zaman ve dozlarda) verilen sıçanlardan oluşturuldu.

Histolojik Çalışma: Histolojik incelemeler için 9. gün hayvanlardan eter anestezisi altında alınan dokular Bouin'de fikse edilerek, rutin takipleri yapıldıktan sonra parafine gömüldü. 4µ kalınlıkta alınan kesitler hematoxilen-eosin ile boyandıktan sonra, Olympus CX41 ışık mikroskopunda incelendi. Gruplara ait tüm örnekler aynı zamanda toluidin mavisi ile boyandı ve tiroid bezindeki mast hücreleri sayılarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal Çalışma: Histolojik çalışma için hazırlanan parafin bloklardan

alınan kesitlerde metallothionein için immün pozitiflik streptavidin-biotin-peroksidaz metodu ile tayin edildi ve kontrol bireylere ait parametreler ile karşılaştırıldı. Kesitler parafini giderildikten sonra rehidre edildi. Sitrat tampunda antijen iyileştirme uygulandıktan sonra, %3'lük H₂O₂ ile endojen peroksidaz aktivitesi, immün olmayan serum ile de spesifik olmayan bağlantılar inhibe edildi. 1:50 dilüsyonda anti-kor inkübasyonu gerçekleştirildi. PBS ile yıkama yapıldıktan sonra, biotin işaretli sekonder anti-kor uygulamasını takiben, yeniden yıkama sonrası streptavidin-peroksidaz uygulandı. Tekrar yıkama yapıp, AEC (Amino Etil Karbazol) ile boyandı. Doku morfolojisinin izlenmesi için Mayer hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. Kesitler AEC boyası ile uyumlu kapatma sıvısı ile kapatıldı. Metallothionein için immün pozitif reaksiyon gösteren hücrelerin ve mast hücrelerinin sayımı aynı araştırmacı tarafından X40 büyütmede ışık mikroskopunda yapıldı.

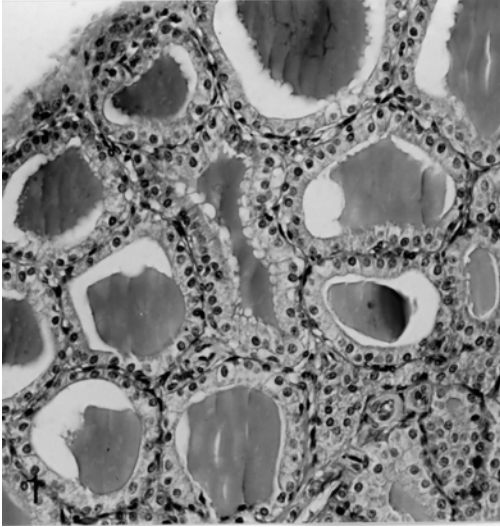
İstatistiksel Analiz: Değerlerin istatistiksel incelemesinde "SPSS 10" paket programı ve Mann Whitney-U testi kullanıldı.

BULGULAR

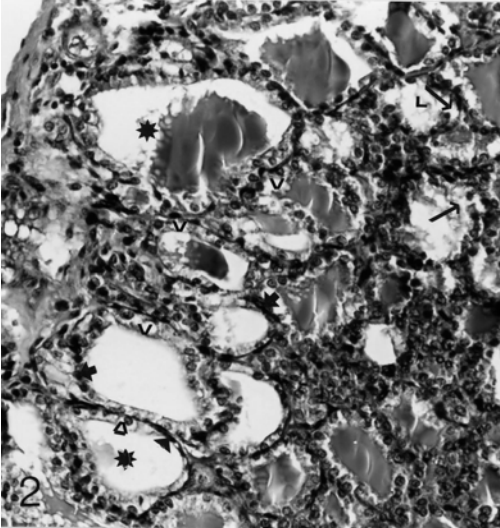
Histolojik Bulgular: Dokunulmamış ve sadece antioksidanların verildiği kontrol gruplarına ait tiroid bezinde normal histolojik görünüm mevcuttu (Resim 1). Kadmiyum verilen grupta, tiroid bezi folikül epitelinde piknotik nükleus ve vakuolizasyon, genellikle periferdeki foliküllerin bazı hücrelerinde şişme ve bazılarında yassılaşıma, folikül epitelinde parçalanma, folikül lümenlerinde atılmış hücre artıkları ve nükleuslar gibi dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Ayrıca kolloid miktarında azalma da dikkati çekti (Resim 2). Kadmiyum+antioksidanların verildiği grupta ise bu dejeneratif değişikliklerin azaldığı dikkati çekti (Resim 3).

İmmünohistokimyasal Bulgular: Tiroid bezi interstisiyel bağ dokusunda metallothionein için immün pozitif hücreler gözlemlendi. Mast hücresi olduğu tahmin edilen ve toluidin mavisi ile metakromazi gösteren bu hücrelerin mast hücreleri oldukları belirlendi. Çalışma grupla-

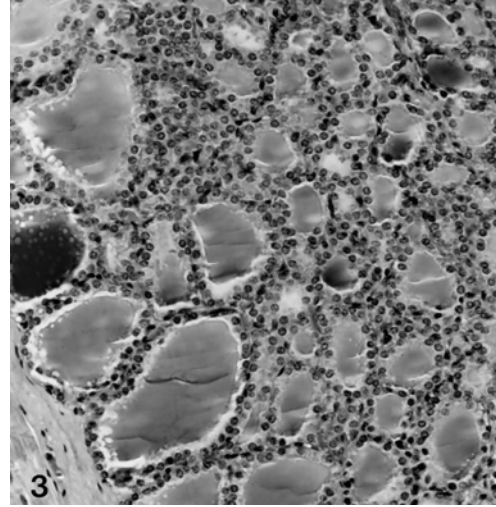
rında ki mast hücre sayıları Şekil 1’de, MT eksprese eden mast hücrelerin sayısı ise Şekil 2’de gösterilmektedir. Sadece kadmiyum verilen grupta MT eksprese eden hücre sayısının, kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği saptandı ($p<0.000$), diğer gruplarda ise anlamlı bir farklılık izlenmedi (Resim 4-6). Gruplara ait mast hücre sayıları ve kontrol grubuna ait değerler karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ($p<0.000$) (Resim 7-9).



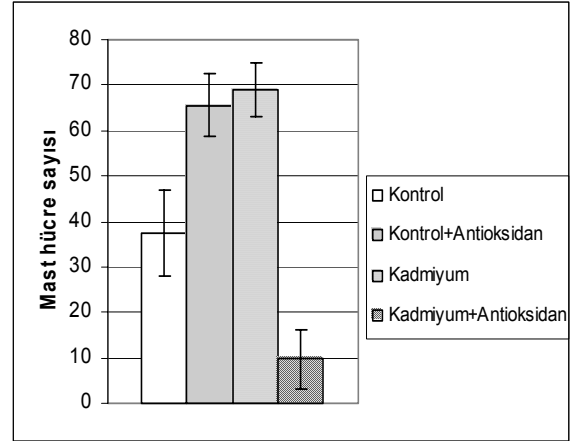
Resim 1. Kontrol grubuna ait tiroid bezinin genel histolojik görünümü. H.E. X 320.



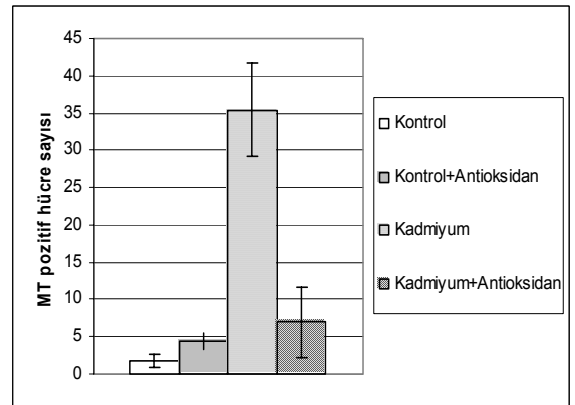
Resim 2. Kadmiyum verilen deney grubunun tiroid bezinde piknotik nükleuslar (→), vakuolizasyon (v), azalmış kolloid içeren ya da içermeyen foliküller (*), atılmış hücre artıkları ve nükleuslar içeren lümene (L) sahip foliküllerin epitelinde parçalanma (→), şişmiş (Δ) yada yassılaştırmış (▲) folikül hücreleri. H.E. X 320.



Resim 3. Kadmiyum ve antioksidan verilen grubun tiroid bezinde, kontrol gruba benzer, genel histolojik görünüm. H.E. X 320.



Şekil 1. Her dört gruba ait mast hücre sayısı.

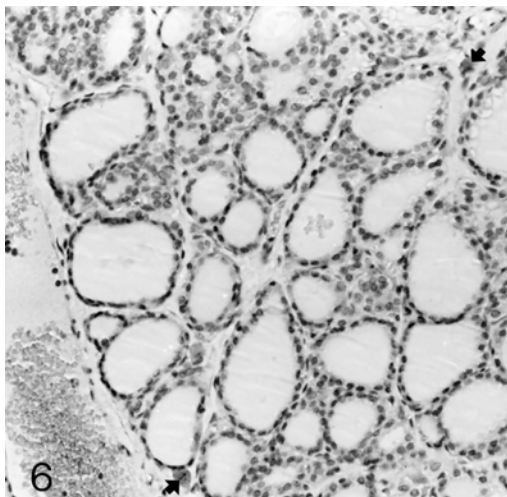


Şekil 2. Her dört gruba ait MT pozitif hücre sayısı.

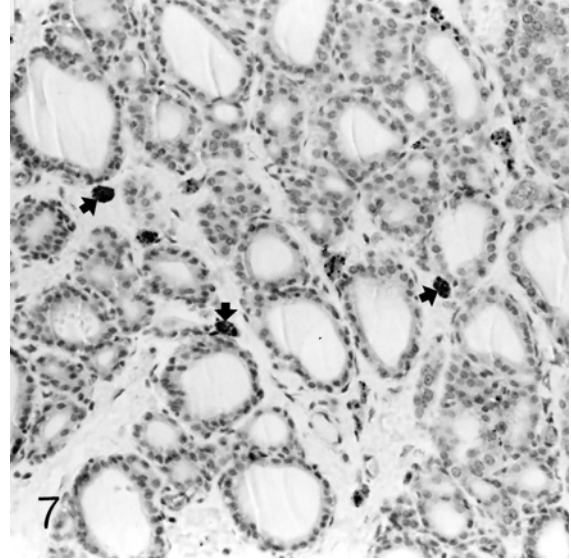
TARTIŞMA

Bilindiği gibi kadmiyum, çok toksik endüstriyel ve çevresel ağır metallere biridir.

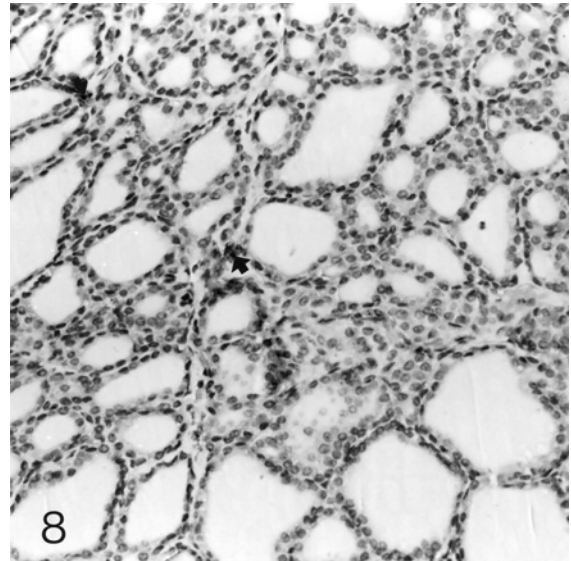
Farklı hayvanlarla yapılan deneylerle, kadmiyumun çeşitli organlardaki kronik toksisitesi, çeşitli araştırmacılar tarafından histolojik ve ince yapısal olarak gösterilmiştir.⁴⁻⁷ Akut olarak maruz kalınma ile kadmiyumun böbrek, karaciğer ve testiste nekrozu indüklediği ve hücrel hasar oluşturduğu, kronik olarak maruz kalınması ile ise böbrek ve kemikte hasara sebep olduğu bilinmektedir.⁵ Kadmiyum oksit (CdO) ve kadmiyum klorür (CdCl₂) gibi tipik inorganik kadmiyum bileşiklerinin solunması ve sindiriminden sonra, alveolar membranlara yada bağırsak duvarına geçişini takiben, kadmiyumun ana fraksiyonunun evvela karaciğerde biriktiği kabul edilir. Metallothionein ise düşük moleküler ağırlıklı, sisteince zengin bir proteindir ve çinko, kadmiyum, bakır, civa gibi metaller metallothionein sentezini indükler.¹³ Kadmiyumun alınma yolu, onun absorpsiyonunu ve tutulmasını etkiler. Farklı alınma yolları sonucu, kadmiyumun organlardaki dağılımının ve buna bağlı olarak metallothionein aktivasyon bölgelerinin değiştiği bildirilmiştir.¹³ Kadmiyuma maruz kalınması durumunda tiroid bezinde kadmiyum yüksek konsantrasyonda bulunmuş ve tiroid bezinde dejeneratif etkileri bildirilmiştir.¹⁷ Kadmiyumun tiroid fonksiyonları üzerindeki etkisi ise tam olarak açıklanmamıştır. Ancak, kadmiyum muamelesinin tiroid hormonunun serum konsantrasyonunda azalmaya ve lipid peroksidasyonunda artışa sebep olduğu bildirilmiştir.¹⁸



Resim 4. Kontrol grubuna ait tiroid bezinin interstisyel bağ dokusunda metallothionein için immüpozitif reaksiyon gösteren hücreler (→). X 320.



Resim 5. Kadmiyum verilen deney grubunun tiroid bezinde metallothionein ekspresyon eden hücre sayısında artış (→). X 320.

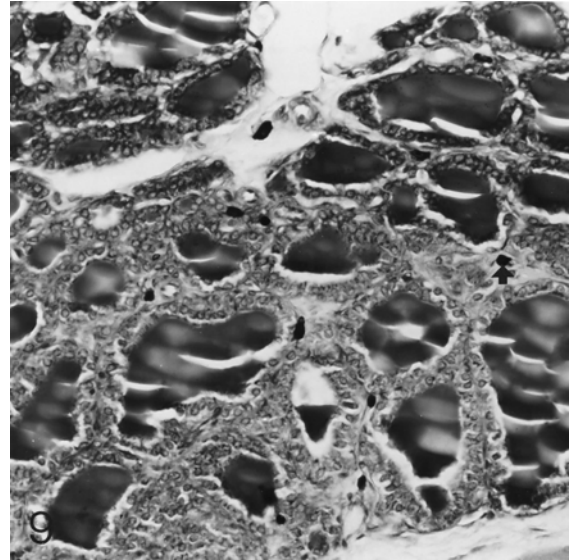


Resim 6. Kadmiyum ve antioksidan verilen grubun tiroid bezinde metallothionein için immüpozitif hücreler (→). X 320.

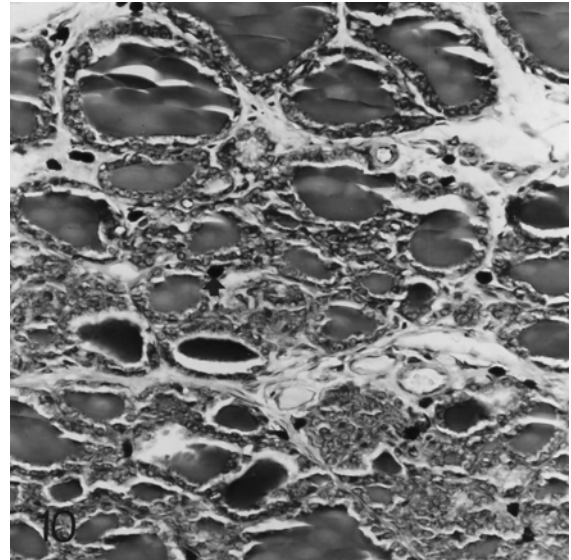
Kadmiyuma maruz kalan sıçanların karaciğer, böbrek ve beyin hücrelerinin analizleri DNA hasarını da açıkça göstermektedir. Kadmiyum dozu ve DNA hasarının derecesi arasında pozitif bir ilişki vardır.¹⁰ Sitoplazmik lokalizasyon gösteren metallothionein, hücre siklusunun G1 ve S fazındaki hücrelerde nükleusda ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir.¹⁹ Oksidatif stresin kronik kadmiyumun indüklediği toksisitede esas rol oynadığı bilinmekte-

dir.¹¹ Kadmiyum, hücrelerin antioksidan sistemlerini değiştirerek ve membran lipidlerinin peroksidasyonunu artırarak farklı dokularda oksidatif hasarı indükleyebilir.^{3,8} Kadmiyumdan etkilenen hücrelerde, metal bağlayıcı bir protein olan metallothionein sentezini takiben, metallothionein-kadmiyum kompleksi oluşur.²⁰ Metallothioneine bağlanamayan kadmiyumun ise toksikolojik değişikliklere sebep olabileceği ileri sürülmektedir.²¹ Metallothionein sentezi ağır metallerle muameleden sonra kemiricilerin böbrek, karaciğer, akciğer, bağırsak ve testislerinde artış göstermektedir.¹⁴ Tüm dokularda kadmiyum metallothioneine bağlanır ve toksik olmayan metallothionein-kadmiyum kompleksi olarak depolanır.¹¹ Metallothionein, oksidatif stresi baskılayarak kadmiyumun sebep olduğu toksisiteye karşı korunmaya yardım eder. Metallothionein serbest radikal savıcı etkisinden dolayı antioksidan savunma sisteminin önemli bir unsurudur.¹⁵ Çalışmamızda, deney grubunda artan metallothionein ekspresyonu kadmiyumun oksidatif stresle oluşturduğu hasara karşı savunmada koruyucu rol oynadığını düşündürmektedir. Serbest radikal savıcıları ve antioksidanların kadmiyum toksisitesine karşı korunmada etkili olduğu bildirilmiştir.^{3,8,11} C vitamini, E vitamini ve selenyum antioksidatif mekanizmalar yoluyla kadmiyum toksisitesini azaltabilir. E vitamini ve selenyum verilen sıçanların karaciğer ve böbreğinde kadmiyum alımı ve dağılımının sınırlandığı gösterilmiştir. Bu antioksidanlar karaciğer ve böbrekte toksik serbest radikallerin oluşumunu inhibe ederler.¹⁶ Selenyumun varlığında testiste ve böbrekte kadmiyum lipid peroksidasyonunu indükleyemez.^{3,8} Bir diğer çalışmada, selenyumun kadmiyum toksisitesine karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir.²² Askorbik asit ön muamelesinin ise yine kadmiyum toksisitesini azalttığı gösterilmiştir.²³ Ayrıca, kadmiyumla tiroid bezinde oluşan fonksiyon kaybına karşı askorbik asidin koruyucu etkisinin antioksidatif etki mekanizmasıyla oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada kadmiyumun serum tiroid hormon konsantrasyonlarında azalmaya yol açtığı ve askorbik asit verilmesinin T₃ (triiodotironin) konsantrasyonunu düzelttiği, ancak T₄ konsantrasyonunda değişikliğe yol açmadığı bildiril-

miştir.¹⁸ Bizim çalışmamızda da, kadmiyum verilen bireylerde gözlenen dejeneratif değişikliklerin C vitamini, E vitamini ve selenyum verilen grupta azalması, kadmiyum toksisitesine karşı güçlü bir antioksidatif etkinin oluştuğunu göstermektedir.



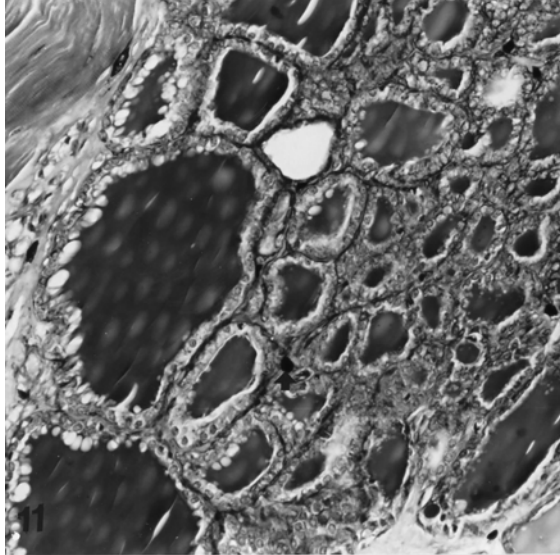
Resim 7. Kontrol grubuna ait tiroid bezinde mast hücreleri (→). Toluidin mavisi. X 320.



Resim 8. Kadmiyum verilen deney grubunda mast hücreleri (→). Toluidin mavisi. X 320.

Tiroid dokusunda sadece interstisiyel dokuda yer alan mast hücrelerinde metallothionein ekspresyonu gözlemlendi. Mast hücreleri inflamatuvar ve alerjik reaksiyonlarda rol alan bağ doku hücreleridir. Bu hücreler etkilerini histamin, si-

tokinler, kemotaktik faktörler, araşidonik asit metabolitleri gibi inflamatuvar düzenleyiciler salgılayarak gösterirler.²⁴ Mast hücrelerinin metallothionein ekspresye ettiği daha önce bildirilmemiştir. Oksidatif stresin mast hücrelerinden düzenleyicilerin salınımlarında etkili olduğu, oksidan ve antioksidan düzeylerinin de mast hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir.²⁵ Bulgularımız, mast hücrelerinin metallothionein ekspresyonu göstermeleri nedeni ile, kadmiyum biriktirme yeteneğine sahip olduğu düşündürmektedir. Kadmiyum verilen grupta, mast hücre sayısının ve MT ekspresyonunun artışı kadmiyumun oksidatif stresle oluşturduğu hasara karşı metallothioneinin koruyucu rol oynadığını düşündürmektedir. Kadmiyum + antioksidanların verildiği grupta, kadmiyum verilen gruba göre, bir antioksidan olan metallothioneinin ekspresyonu ve mast hücre sayısının azalması, vitamin C, E, selenyum uygulaması ile antioksidatif mekanizmanın kompanse edilmesi sonucunda, metallothioneinin ekspresyonunda azalma meydana geldiğini düşündürmektedir.



Resim 9. Kadmiyum ve antioksidan verilen grubun tiroid bezinde mast hücreleri (→). Toluidin mavisi. X 320.

Sonuç olarak, kadmiyuma maruz kalmanın tiroid bezinde önemli dejeneratif değişiklikler oluşturduğu, metallothionein ekspresyonunun kadmiyum toksitesine bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bulgularımız muhtemelen metallothioneinin antioksidan olarak tiro-

id bezinde kadmiyum toksitesine karşı rol aldığı düşündürmektedir. Ayrıca C vitamini, E vitamini ve selenyum kombinasyonunun verilmesi ile güçlü bir antioksidan etki olduğundan MT ekspresyonunun azaldığı ve antioksidanların metallothionein ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. C vitamini, E vitamini, selenyum ve metallothioneinin tiroid bezinde kadmiyum hasarına karşı müşterek koruyucu bir etki gösterdiğini söyleyebiliriz.

ÖZET

Çalışmanın amacı sıçan tiroid bezinde kadmiyumun sebep olduğu hasara karşı C vitamini, E vitamini ve selenyumun koruyucu bir etkisinin olup olmadığını incelemek ve metallothionein ekspresyonunu tespit etmektir. Grup I: Dokunulmamış sıçanlardan; Grup II: 8 gün oral olarak sadece C vitamini (250 mg/kg/gün), E vitamini (250 mg/kg/gün) ve sodyum selenat (0.25 mg/kg/gün) verilen sıçanlardan; Grup III: İntraperitoneal olarak CdCl₂ (2 mg/kg/gün) verilen sıçanlardan; Grup IV: Kadmiyum verilmesinden 1 saat önce, aynı zaman ve dozda C vitamini, E vitamini ve selenyum verilen sıçanlardan oluşturuldu. Sıçanların tiroid bezinden alınan doku parçaları rutin takipleri yapıldıktan sonra, histolojik ve immunohistokimyasal olarak incelendi. Sonuç olarak, kadmiyumun tiroid bezinde yapısal dejeneratif değişikliklere sebep olduğunu, bu antioksidanların tiroid bezinde kadmiyum ile oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu bir etki gösterdiğini ve metallothionein ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca, çok sayıda metallothionein pozitif hücre içeren tiroid bezinin kadmiyum birikimi ile ilgili olduğu ve metallothioneinin de bu birikimde rolü olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ohta H, Cherian MG. Gastrointestinal absorption of cadmium and metallothionein. *Toxicol Applied Pharmacol* 1991; 107: 63-72.
2. Nigam D, Shukla GS, Agarwal AK. Glutathione depletion and oxidative damage in mitochondria

- following exposure to cadmium in rat liver and kidney. *Toxicol Lett* 1999; 106: 151-157.
3. Yiin SJ, Chern CI, Sheu JY et al. Cadmium-induced renal lipid peroxidation in rats and protection by selenium. *J Toxicol Environ Health* 1999; 57: 403-413.
 4. Watari N, Hotta Y, Mabuchi Y. Ultrastructural studies on a cadmium-storing cell in rat pancreatic tissues following cadmium chloride administration. *J Electron Microsc* 1989; 38: 235-241.
 5. Griffin JL, Walker LA, Shore RF, Nicholson JK. Metabolic profiling of chronic cadmium exposure in the rat. *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 1428-1434.
 6. Demir N, Akkoyunlu G, Agar A, Yargicoglu P, Tanriover G, Demir R. Effect of cadmium on sciatic nerve in diabetic rats: An ultrastructural study. *Int J Neurosci* 2002; 112: 779-796.
 7. Asar M, Kayisli UA, Izgut-Uysal VN, Akkoyunlu G. Immunohistochemical and ultrastructural changes in the renal cortex of cadmium-treated rats. *Biol Trace Elem Res* 2004; 97: 249-263.
 8. Yiin SJ, Chern CL, Sheu JY, Lin TH. Cadmium induced lipid peroxidation in rat testes and protection by selenium. *Biometals* 1999; 12: 353-359.
 9. Nigam D, Shukla GS, Agarwal AK. Glutathione depletion and oxidative damage in mitochondria following exposure to cadmium in rat liver and kidney. *Toxicol Lett* 1999; 106: 151-157.
 10. Fasanya-Odeyemi C, Latinwo LM, Ikediobi C et al. The genotoxicity and cytotoxicity of dermally-administered cadmium: Effects of dermal cadmium administration. *Int J Mol Med* 1998; 1: 1001-1006.
 11. Shaikh ZA, Vu TT, Zaman K. Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicol Applied Pharmacol* 1999; 154: 256-263.
 12. Szczurek EI, Bjornsson CS, Taylor CG. Dietary zinc deficiency and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine and liver of rats. *J Nutr* 2001; 131: 2132-2138.
 13. Elsenhans B, Strugala GJ, Schafer SG. Small intestinal absorption of cadmium and significance of mucosal metallothionein. *Human Exp Toxicol* 1997; 16: 429-434.
 14. Danielson KG, Ohi S, Huang PC. Immunochemical detection of metallothionein in specific epithelial cells of rat organs. *Proc Natl Acad Sci* 1982; 79: 2301-2304.
 15. Singh R, Rana SVS. Influence of antioxidants on metallothionein-mediated protection in cadmium-fed rats. *Biol Trace Elem Res* 2002; 88: 71-77.
 16. Rana SV, Verma S. Protective effects of GSH, vitamin E, and selenium on lipid peroxidation in cadmium-fed rats. *Biol Trace Elem Res* 1996; 51: 161-168.
 17. Wade MG, Parent S, Finnson KW, Foster W, Younglai E, McMahon A, Cyr DG, Hughes C. Thyroid toxicity due to subchronic exposure to a complex mixture of 16 organochlorines, lead, and cadmium. *Toxicol Sci* 2002; 67: 207-218.
 18. Gupta P, Kar A. Role of ascorbic acid in cadmium-induced thyroid dysfunction and lipid peroxidation. *J Appl Toxicol* 1998; 18: 317-320.
 19. Tsujikawa K, Imai T, Kakutani M et al. Localization of metallothionein nuclei of growing primary cultured adult rat hepatocytes. *FEBS Lett* 1991; 283: 239-242.
 20. Hazen-Martin DJ, Sens DA, Blackburn JG, Annsens M. Cadmium nephrotoxicity in human proximal tubule cell cultures. *In Vitro Cellular Developmental Biol* 1989; 25: 784-790.
 21. Goyer RA, Miller CR, Zhu S, Victory W. Non-metallothionein-bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephrotoxicity in the rat. *Toxicol Applied Pharmacol* 1989; 101: 232-244.
 22. Lindh U, Danersund A, Lindvall A. Selenium protection against toxicity from cadmium and mercury studied at the cellular level. *Cell Mol Biol* 1996; 42: 39-48.
 23. Shiraishi N, Uno H, Waalkes MP. Effect of L-ascorbic acid pretreatment on cadmium toxicity in the male Fischer (F344/NCr) rat. *Toxicology* 1993; 85: 85-100.
 24. Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Physiol Rev* 1997; 77: 1033.
 25. Wolfreys K, Oliveira DB. Alterations in intracellular reactive oxygen species generation and redox potential modulate mast cell function. *Eur J Immunol* 1997; 27: 297-306.

Teşekkür: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği tarafından (proje no: 1601/30042001) desteklenmiştir.