



Kadmiyum Uygulanan Farelerde Oluşturulan Oksidatif Strese Karşı Resveratrolün Koruyucu Etkisinin Araştırılması*

Canan IŞIK BİRCAN¹, Oğuz MERHAN²

¹ Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

² Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

Sorumlu yazar: Oğuz MERHAN; E-posta: oguzmerhan@hotmail.com; ORCID: 0000-0002-3399-0667

Atıf Yapmak İçin: Isık Bircan C, Merhan O. Kadmiyum uygulanan farelerde oluşturulan oksidatif strese karşı resveratrolün koruyucu etkisinin araştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2020; 17(3): 215-220.

Özet: Kadmiyum ve diğer ağır metaller hem çevresel hem de mesleki maruziyetlerle insan sağlığını tehdit etmekte ve sanayide yaygın olarak kullanılmaktadır. Resveratrol anti-inflamatuvar, antioksidan, antitümör ve immunomodulator özellikleri olan doğal bir polifenolik bileşiktir. Bu nedenle yapılan çalışmada farelerin plazma, karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda kadmiyum toksisitesine karşı resveratrolün koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 35 fare eşit olarak 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu, alkol grubu, kadmiyum grubu (CdCl₂, 1 mg/kg/gün), resveratrol grubu (10 mg/kg/gün), kadmiyum+resveratrol grubu (1 mg/kg/gün+10 mg/kg/gün) olarak belirlenmiştir. Tüm uygulamalar 21 gün süreyle oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Uygulama süresi sonunda karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda oksidatif stresin göstergesi olarak malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) miktarları, antioksidan savunmanın biyobelirteci olarak redükte glutatyon (GSH) miktarı, akut faz yanıtın bir göstergesi olan total siyalik asit (TSA) ve plazmada aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gamma glutamil transpeptidaz (GGT) aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Kontrole göre, kadmiyum verilen grupta doku (karaciğer, böbrek ve kalp) MDA, NO, TSA düzeyleri ile plazma AST, ALT, GGT aktiviteleri önemli derecede artarken, doku GSH düzeyi ise önemli derecede azalmıştır. Kadmiyum+resveratrol verilen grupta ise doku MDA, NO, TSA düzeyleri ile plazma AST, ALT, GGT aktivitelerinin kadmiyum verilen gruba göre istatistiksel olarak önemli derecede azalırken, doku GSH düzeyi ise önemli derecede artmıştır. Sonuç olarak kadmiyumun toksik etkisine karşı resveratrolün karaciğer, böbrek ve kalpte koruyucu etkisinin olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kadmiyum, oksidatif stres, resveratrol, siyalik asit

The Investigation of the Protective Effect of Resveratrol on Oxidative Stress Levels in Mice Given Cadmium

Summary: Cadmium and other heavy metals which are commonly used in industry could threaten human health with both environmental and occupational exposures. Resveratrol, a natural polyphenol, is thought to have some properties such as anti-inflammatory, antioxidant, antitumor and immunomodulatory. Therefore, the present study was designed to examine the protective effect of resveratrol on cadmium toxicity in plasma, liver, kidney and heart tissue of mice. In our study, thirty five mice were equally divided into five groups. Control group, alcohol group, cadmium group (CdCl₂, 1 mg/kg/day), resveratrol group (10 mg/kg/day), cadmium+resveratrol group (1 mg/kg/day+10 mg/kg/day). All treatments were administered orally via gavage for 21 days. The amount of malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) as an indicator of oxidative stress in liver, kidney, and heart tissue at the end of the application period, the amount of reduced glutathione (GSH) as a biomarker of antioxidant defense, total sialic acid (TSA) as an indicator of acute phase response and aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transpeptidase (GGT) activities in plasma were determined by spectrophotometric methods. In cadmium group, it was determined that tissue MDA, NO, TSA level and plasma AST, ALT, GGT activities increased significantly compared to control in the tissue (liver, kidney, and heart), while tissue GSH level decreased significantly compared to control. In cadmium+resveratrol group, it was determined that tissue MDA, NO, TSA level and plasma AST, ALT, GGT activities decreased, while tissue GSH level increased statistically significantly compared to cadmium groups. As a result, it was concluded that resveratrol may have a protective effect on the liver, kidney and heart against the toxic effect of cadmium.

Key words: Cadmium, oxidative stress, resveratrol, sialic acid

Giriş

Yer kabuğunun doğal bir elementi olan kadmiyum madencilik ve endüstriyel faaliyetler esnasında çevre-

ye yüksek emisyon düzeyinde yayıldığından insan sağlığını tehdit eden önemli bir çevresel kirlenici olarak değerlendirilmektedir. Kadmiyumun insanlarda çeşitli organ kayıpları ve kanseri tetiklediği bilinmektedir. Kadmiyumun büyük bir kısmı karaciğer ve böbreklerde birikmektedir (Kim ve ark., 2013). Birikime bağlı olarak oluşan doku hasarları ve hücre ölümlerinin sistemik enflamasyon ve reaktif oksijen türlerinin

Geliş Tarihi/Submission Date : 17.03.2020

Kabul Tarihi/Accepted Date : 20.07.2020

*Bu çalışma ilk isimli araştırıcının Yüksek Lisans tezinden özetlenmiş olup Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2016-TS-33 kodlu proje ile desteklenmiştir.

üretimi ile indüklenen oksidatif stresle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda kadmium kaynaklı reaktif oksijen türleri üretiminin hem zaman hem de konsantrasyona bağlı olduğu aynı zamanda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi enzimlerin yanı sıra antioksidan savunmada önemli rolü olan glutatyon miktarının azalmasını da etkilediği belirtilmiştir (El-Ebiary ve ark., 2016).

Resveratrol kırmızı meyvelerde bulunan doğal polifenolik bir bileşiktir. Resveratrolün antioksidan, antiproliferatif ve anti-inflamator özelliklerinin yanı sıra kardiovasküler hastalıklar, yaşlanma, metabolik hastalıklar ve kansere karşı koruyucu etkileri bilinmektedir. Resveratrolün en iyi bilinen özelliği reaktif oksijen türleri gibi serbest radikalleri reaktif olmayan bileşiklere dönüştüren antioksidan özelliğidir (Yousef ve ark., 2017).

Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentazlar (NOS)'ın L-arjinini okside ederek L-sitrullin oluşurmasıyla sentezlenmektedir. Memelilerin, damar endoteli, beyin, makrofaj, üriner sistem gibi farklı dokularından nöronal (nNOS), uyarılabilir (iNOS) ve endotelial (eNOS) olmak üzere üç farklı tip NOS izoformu izole edilmiştir. Nitrik oksit, oksidatif stres altında apoptozisi, sitotoksitesiyi, mutajenezisi ve DNA hasarını artırır, ayrıca lipid oksidasyonuna da neden olur (Atakışi ve Merhan, 2017).

Glikoproteinler, glikolipidler, polisakkaritler ve mukoproteinlerin yapısına katılan siyalik asit, mannozamin ve piruvatın kondenzasyonu ile oluşan nöraminik asitin asetillenmiş türevleridir. Total siyalik asit ise serbest, proteine ve lipide bağlı siyalik asidin toplamını ifade etmektedir (Merhan ve Özcan, 2004).

Çalışmada resveratrolün, toksik bir madde olan kadmiumun meydana getirdiği zararlı etkilerine karşı karaciğer, böbrek ve kalpte olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) Başkanlığının 2016/030 kodlu etik kurul onayı ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan Swiss albino fareler (n=35) Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü Deney Hayvanları Biriminden temin edilmiştir. Fareler, bir aylık adaptasyon süresi boyunca *ad libitum* standart fare yemi ve su ile beslenmiştir. Fareler ağırlıklarına göre her bir grupta 7 adet olmak üzere toplam 5 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu; *ad libitum* beslenen (n=7), alkol grubu; % 1'lik etil alkol (resveratrol etil alkolde çözüldüğü için) (n=7), kadmium grubu; 1 mg/kg/gün kadmium (CdCl₂) (n=7), resveratrol grubu; 10 mg/kg/gün resveratrol (n=7), kadmium+resveratrol grubu; 1 mg/kg/gün kadmium (CdCl₂) ve 10 mg/kg/gün resveratrol verilen gruplar olarak belirlenmiştir. Tüm uygulamalar

21 gün süreyle oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Çalışmada kullanılmak için gerekli olan kan ve doku (karaciğer, böbrek ve kalp) numuneleri alınmıştır. Son uygulamalardan 24 saat sonra, kan örnekleri antikuagülanlı (EDTA) tüplere intrakardiyak olarak alınmış ve farelere servikal dislokasyon yöntemi uygulanmıştır. Kan örnekleri, 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek plazmaları elde edilmiş ve örnekler analiz edilinceye kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır. Plazmada AST, ALT, GGT enzim aktiviteleri analizleri ticari test kitleri (Biolabo, Fransa) ile yapılmıştır. Karaciğer, böbrek, kalp dokuları hızlı ve hasarsız bir şekilde çıkarılmıştır. Biyokimyasal analiz için alınan 1 g karaciğer, böbrek ve kalp doku örnekleri fosfat tampon çözeltisi ile 5 kat sulandırılarak buz üzerinde, 12000 rpm'de 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Homojenatlar, 14000 rpm'de 4 °C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar biyokimyasal analizler yapılana kadar -45 °C'de saklanmıştır. Elde edilen süpernatantlardan MDA Yoshioka ve ark. (1979), NO Miranda ve ark. (2001), GSH Beutler ve ark. (1963), TSA analizi ise Sydow'un (1985) bildirdikleri metoda göre yapılmıştır.

İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS® paket programı (SPSS 16.0, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Gruplardaki denek sayısının azlığı tek yönlü varyans analiz varsayımını yerine getirmediyinden dolayı grupların istatistiksel karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizi kullanıldı. Post-hoc çoklu karşılaştırma yöntemi olarak Mann-Whitney U testi uygulandı. Elde edilen sonuçlar ortalama ± standart hatası olarak verildi. İstatistiksel değerlendirilmede P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Karaciğer dokusu için; kadmium verilen grupta kontrole göre, MDA (P=0.001), NO ve TSA (P<0.001) düzeylerinin arttığı, GSH (P=0.001) düzeyinin ise istatistiksel olarak azaldığı tespit edilmiştir. Kadmium+resveratrol verilen grupta ise kadmiumun MDA ve GSH konsantrasyonlarına yapmış olduğu olumsuz etkiyi resveratrolün önlediği görülmüştür. Ayrıca kadmium+resveratrol grubunda MDA ve GSH konsantrasyonları için kontrole göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark belirlenmediği (P>0.05), fakat NO ve TSA konsantrasyonlarında resveratrol sayısal değer olarak kadmiumun etkisini önlemekle beraber kontrole karşı istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir (P>0.05) (Tablo 1).

Böbrek dokusu için; kadmium verilen grupta kontrole göre, MDA, NO ve TSA düzeylerinin istatistiksel olarak arttığı (P<0.001), GSH (P=0.003) düzeylerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Kadmium+resveratrol verilen grupta ise kadmiumun MDA ve GSH konsantras-

Tablo 1. Karaciğer MDA, GSH, NO ve TSA düzeyleri

KARACİĞER	MDA ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	NO ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	TSA (mg/g yaş doku)
Kontrol	0.51±0.02 ^a	3.84±0.11 ^a	0.73±0.04 ^{ab}	0.65±0.06 ^a
Alkol	0.49±0.01 ^a	3.81±0.06 ^a	0.67±0.04 ^a	0.61±0.04 ^a
Kadmiyum	0.78±0.03 ^b	2.74±0.07 ^b	1.32±0.04 ^c	1.47±0.05 ^b
Resveratrol	0.49±0.01 ^a	3.77±0.08 ^a	0.84±0.03 ^{bd}	0.68±0.03 ^a
Kadmiyum+Resveratrol	0.56±0.02 ^a	3.68±0.05 ^a	0.91±0.05 ^d	0.84±0.03 ^c
P Değeri	0.001	0.001	<0.001	<0.001

^{a,b,c,d}: Her sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farkı göstermektedir.

yonlarına yapmış olduğu olumsuz etkiyi resveratrolün önlediği belirlenmiştir. Ayrıca kadmiyum+resveratrol grubunda MDA ve GSH konsantrasyonları için kontrole göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark çıkmadığı ($P>0.05$), fakat NO ve TSA konsantrasyonlarında resveratrol sayısal değer olarak kadmiyumun etkisini önlemiş gibi görüldüğü kontrolle karşı istatistiksel olarak fark görüldüğü saptanmıştır (sırasıyla $P=0.025$ ve $P=0.002$) (Tablo 2).

rak arttığı ($P<0.001$), GSH düzeylerinin ise azaldığı ($P=0.003$) tespit edilmiştir. Kadmiyum+resveratrol verilen grupta ise kadmiyumun MDA konsantrasyonuna yapmış olduğu olumsuz etkiyi resveratrolün önlediği saptanmıştır. Ayrıca kadmiyum+resveratrol grubunda MDA konsantrasyonu için kontrole göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark olmadığı ($P>0.05$), fakat GSH, NO ve TSA konsantrasyonlarında resveratrol sayısal değer olarak kadmiyumun etki-

Tablo 2. Böbrek MDA, GSH, NO ve TSA düzeyleri

BÖBREK	MDA ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	NO ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	TSA (mg/g yaş doku)
Kontrol	1.67±0.03 ^a	4.58±0.08 ^a	2.08±0.07 ^a	5.33±0.12 ^a
Alkol	1.59±0.03 ^a	4.61±0.05 ^a	2.06±0.08 ^a	5.28±0.05 ^a
Kadmiyum	2.18±0.08 ^b	4.12±0.06 ^b	3.14±0.09 ^b	8.24±0.11 ^b
Resveratrol	1.62±0.05 ^a	4.53±0.07 ^a	2.27±0.09 ^{ac}	5.62±0.07 ^c
Kadmiyum+Resveratrol	1.73±0.04 ^a	4.47±0.07 ^a	2.39±0.07 ^c	5.97±0.09 ^d
P Değeri	<0.001	0.003	<0.001	<0.001

^{a,b,c,d}: Her sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farkı göstermektedir.

Tablo 3. Kalp MDA, GSH, NO ve TSA düzeyleri

KALP	MDA ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	NO ($\mu\text{mol/g}$ yaş doku)	TSA (mg/g yaş doku)
Kontrol	1.09±0.03 ^a	0.82±0.06 ^a	1.94±0.08 ^a	1.35±0.06 ^a
Alkol	1.12±0.04 ^a	0.84±0.04 ^a	1.97±0.06 ^a	1.33±0.05 ^a
Kadmiyum	1.96±0.05 ^b	0.56±0.04 ^b	2.86±0.05 ^b	2.94±0.08 ^b
Resveratrol	1.15±0.04 ^a	0.79±0.04 ^{ac}	2.11±0.05 ^{ac}	2.07±0.07 ^c
Kadmiyum+Resveratrol	1.27±0.06 ^a	0.65±0.04 ^{bc}	2.24±0.05 ^c	2.26±0.05 ^c
P Değeri	<0.001	0.003	<0.001	<0.001

^{a,b,c}: Her sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farkı göstermektedir.

Tablo 4. Plazma AST, ALT ve GGT aktiviteleri

PLAZMA	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	GGT (IU/L)
Kontrol	142.38±2.86 ^{ab}	53.18±3.85 ^{ab}	2.78±0.04 ^a
Alkol	144.24±6.56 ^{ab}	57.62±2.95 ^{ab}	2.82±0.07 ^a
Kadmiyum	212.78±5.13 ^c	105.31±3.33 ^c	8.63±0.38 ^b
Resveratrol	134.74±3.78 ^a	50.67±2.44 ^a	3.15±0.14 ^a
Kadmiyum+Resveratrol	158.83±6.88 ^b	55.23±1.67 ^b	4.52±0.07 ^c
P Değeri	<0.001	0.001	<0.001

^{a,b,c}: Her sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farkı göstermektedir.

Kalp dokusu için; kadmiyum verilen grupta kontrole göre, MDA, NO ve TSA düzeylerinin istatistiksel ola-

sini önlemiş gibi görüldüğü kontrolle karşı istatistiksel olarak fark belirlenmiştir (sırasıyla $P=0.035$, $P=0.025$, $P=0.002$) (Tablo 3).

Plazmada; kadmiyum verilen grupta kontrole göre, AST, ALT ve GGT aktivitelerinin istatistiksel olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir (sırasıyla $P<0.001$, $P=0.001$, $P<0.001$). Kadmiyum+resveratrol verilen grupta ise kadmiyumun AST ve ALT aktivitelerine yapmış olduğu olumsuz etkiyi resveratrolün önlediği görülmüştür. Ayrıca kadmiyum+resveratrol grubunda AST ve ALT aktiviteleri için kontrole göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark çıkmadığı ($P>0.05$), GGT aktivitesinde ise resveratrolün kadmiyumun olumsuz etkisini tolere edemediği belirlenmiştir ($P=0.002$) (Tablo 4).

Tartışma ve Sonuç

Kadmiyum ve diğer ağır metaller insan sağlığını tehdit etmektedir. Yarı ömrünün uzun olması, sanayide yaygın olarak kullanımı ve hemen hemen tüm sistemlere toksik etki gösterebilmesi sebebiyle ayrı bir öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Wang ve Du, 2013). Pulmoner ve gastrointestinal absorpsiyonun ardından büyük bir kısmının karaciğer ve böbrekte biriktiği ve idrarla atıldığı bildirilmiştir. Karaciğerde küçük peptidler ve sülfidril grupları aracılığı ile glutatyon veya afinitesi daha yüksek olan metal bağlayıcı protein olan metallothionein gibi proteinlerle kompleksler oluşturarak antioksidan sistemlerin etkinliğinin azalmasına neden olduğu saptanmıştır (Kim ve ark., 2013).

Resveratrol üzüm, kırmızı şarap gibi birçok bitki türünde bulunan ve antiinflamatuvar, antioksidan, anti-tümör ve immunomodulator özellikleri olan doğal bir polifenolik bileşik olduğu bildirilmiştir. Oksidatif strese bağlı olarak oluşan hücre hasarları ve apoptozu önleyerek süperoksit anyonlarını ve hidrojen peroksiti hücreden uzaklaştırmada oldukça güçlü bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Das ve Maulik, 2006).

Deney hayvanlarında yapılan birçok çalışmanın sonuçlarına göre akut kadmiyuma maruz kalma durumunda oksidatif stresin artarak öncelikle karaciğer hasarı ve kadmiyum toksisitesine neden olduğu bildirilmektedir (Sarkar ve ark., 1995; Bagchi ve ark., 1996). El-Demerdash ve ark. (2004) ratlarda 15 gün boyunca oral gavaj yoluyla 5 mg/kg CdCl₂ uyguladıkları bir çalışmada kadmiyumun karaciğer dokusunda hücre hasarı oluşturduğunu göstermişlerdir. Yapılan farklı bir çalışmada, kadmiyum uygulaması sonucunda karaciğerde hasar olduğu ve karaciğer homojenatlarında MDA düzeyinin arttığı, SOD ve CAT aktivitelerinde ise düşüş saptandığı bildirilmiştir (Koyu ve ark., 2006). Nitrik oksit in ise hipertansiyon, astım, septik şoka kadar değişken bir dizi hastalıkların patogenezinde rol oynadığı, DNA hasarını artırdığı, demirsülfür içeren enzimlerin fonksiyonunu değiştirdiği ve mitokondriyal solunumu bozduğu bildirilmektedir (Gross ve Wolin, 1995). *In vitro* bir çalışmada, ortamdaki kadmiyumun endotel hücreleri tarafından üretilen NO'yi inhibe ettiği (Kishimoto ve ark., 1994), başka bir çalışmada ise kronik kadmiyum maruziyeti sonra-

sında ratların plazma NO düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir (Skoczynska ve Martynowicz, 2005). Çalışmamızda ise karaciğer dokusunda kadmiyum verilen grupta kontrole göre MDA, NO ve TSA düzeyleri artarken, kadmiyum+resveratrol verilen grupta MDA seviyelerinin resveratrol aracılı olarak önlediği fakat NO ve TSA konsantrasyonlarında istatistiksel olarak bir farkın oluşmadığı görülmüştür.

Metallothionein proteinlerinin sentezinin karaciğerde olmasından dolayı karaciğer kadmiyum toksikasyonu için önemli bir organdır (Coyle ve ark., 2000). Shirahhi ve ark. (1994) tek başına kadmiyum uygulaması sonucu karaciğer metallothionein miktarının arttığını göstermiştir. Metallothioneinlerin yanında hücresel antioksidan savunma sistemlerinin işlevselliği de bir diğer önemli husustur. Ratlarda yapılan bir çalışmada, kadmiyum uygulaması sonucunda karaciğer SOD ile CAT aktivitelerinde düşüş saptandığı bildirilmiştir (Koyu ve ark., 2006). Yaptığımız çalışmada da literatürdeki bilgilere paralel olarak kadmiyum verilen grubun karaciğer dokularında kontrole kıyasla GSH düzeylerinin azaldığı tespit edilmiş ve aynı zamanda kadmiyum+resveratrol verilen grupta GSH konsantrasyonlarının kontrol düzeyine yaklaştığı görülmüştür. Bu koruyucu etkinin, resveratrolün hücresel antioksidan savunmayı güçlendirmesi yoluyla şekillendiği kanaati oluşmuştur.

Hepatositlerde sentezlenen plazma ALT, AST ve safra kanalında sentezlenen GGT enzimleri karaciğer hasarının belirlenmesinde kullanılan önemli belirteçlerdendir (Pratt ve Kaplan, 2000). Farelerde oluşturulan deneysel toksikasyon sonucunda ise AST ve ALT aktivitesindeki yükselmeyi resveratrol uygulanmasının düşürdüğü bildirilmiştir (Sener ve ark., 2006). Elde ettiğimiz bulgularda da literatürde sunulan bilgiler ile paralel olarak plazma AST, ALT ve GGT aktivitelerinin kadmiyum verilen grupta kontrol grubuna nazaran, istatistiksel olarak arttığını göstermekle birlikte kadmiyum+resveratrol uygulamasının AST ve ALT aktivitelerini fizyolojik sınırlara çektiği görülmüştür. Ayrıca kadmiyum+resveratrol grubunda AST ve ALT aktiviteleri için kontrole karşı yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Fakat GGT aktivitesinde resveratrol sayısal değer olarak kadmiyumun etkisini önlemiş gibi görülse de kontrole kıyasla istatistiksel bir farkın varlığı tespit edilmiştir.

Böbrekler ise kadmiyum toksikasyonunda sekonder hedef organ olarak değerlendirilmektedir. Çünkü kadmiyum boşaltım sistemi yoluyla vücuttan uzaklaştırılmaktadır. Kadmiyum proksimal tübüllerini etkileyerek böbreklerde fonksiyon bozukluğuna neden olmakta bunun sonucunda da kanda yüksek asit seviyesiyle seyreden birçok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır (Tsuruoka ve ark., 2000). Renugadevi ve Prabu (2009) yaptıkları çalışmada 4 hafta boyunca 5 mg/kg CdCl₂'ün böbrek dokusunda hasar oluşturdu-

ğunu bildirmişlerdir. Yapılan farklı bir çalışmada da, tek başına kadmiyum uygulamasının böbrek metallothionein miktarlarında önemli bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu bilgilere ek olarak resveratrolün iskemik böbrek modelinde lipit peroksidasyon seviyesini düşürdüğü bilinmektedir (Sener ve ark., 2006). Elde ettiğimiz verilere göre böbrek dokularında, kadmiyum verilen grupta kontrole grubuna kıyasla, MDA, NO ve TSA düzeylerinin istatistiksel olarak arttığını, GSH düzeylerinin ise azaldığını göstermekte olup kadmiyum+resveratrol verilen grupta kadmiyumun MDA ve GSH konsantrasyonlarına yapmış olduğu olumsuz etkiyi resveratrolün önlediği görülmüştür. Çünkü aynı grubun MDA ve GSH konsantrasyonları için kontrole göre yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark çıkmamıştır. Fakat NO ve TSA konsantrasyonlarında resveratrol sayısal değer olarak kadmiyumun etkisini önlemiş gibi görünse de kontrole göre istatistiksel farkın şekillendiği görülmektedir.

Kadmiyumun, kalpte metabolik ve yapısal bozuklukların yanı sıra hipertansiyon oluşumunda da etkili olduğu belirtilmektedir (Tomera ve ark., 1991). Kardiyomyositlerde mitokondri hasarı oluşturarak hücre solunum ve enerji metabolizmasında bozulmaya neden olduğu bilinmektedir (Skowerski ve ark., 2000). Ayrıca kadmiyumun kalpte birikme oranının, karaciğer ve böbrekle kıyaslandığında oldukça düşük olduğu kaydedilmiştir (Tomera ve ark., 1991). Kadmiyum okside maruz kalan işçilerde, kardiyovasküler sistem hastalıkların görülme sıklığının 4 kat arttığı rapor edilmiştir (Vorobieva ve Ereneeve, 1980). Yapılan çalışmalar resveratrolün kalp dokusu için koruyucu etkilere sahip olduğunu işaret etmektedir (Giovannini ve ark., 2001). Ek olarak rat aorta düz kas hücre kültürlerinde yapılan farklı bir çalışmada, resveratrol uygulamasının hücresel GSH düzeyini kontrol gruba göre anlamlı derecede yükselttiği bildirilmiştir (Li ve ark., 2006). Verilerimiz literatürdeki bilgilere paralel olarak kadmiyumun kontrol grubuna nazaran kalp dokularında MDA, NO ve TSA düzeylerini istatistiksel olarak arttırdığını fakat GSH düzeylerini ise azalttığını göstermektedir. Kadmiyum+resveratrol verilen grupta ise kadmiyumun MDA konsantrasyonuna yapmış olduğu olumsuz etkiyi resveratrolün önlediği görülmüştür. Çünkü aynı grubun MDA konsantrasyonu için kontrole karşı yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark çıkmamıştır. Fakat GSH, NO ve TSA konsantrasyonlarında resveratrol sayısal değer olarak kadmiyumun etkisini önlemiş gibi görünse de kontrole karşı istatistiksel olarak fark görülmektedir. Lindberg ve ark. (1991) yaptıkları bir çalışmada, serum TSA konsantrasyonları ile kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle ölümler arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Bu yönüyle çalışmamızda, resveratrol aracılı olarak düşen TSA seviyelerinin, pozitif kardiyovasküler etkilerinin de olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada, kadmiyum uygulanan farelerin karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda oksida-

tif stresin indüklendiğini ve antioksidan sistemin kadmiyumun toksik etkisini elimine etmede yetersiz kaldığını göstermektedir. Resveratrol ve kadmiyum+resveratrol uygulanan farelerde ise karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda ise oksidatif stresin azaldığı ve antioksidan sistemin kadmiyumun toksik etkisini azaltarak doku hasarını önlediği kanısına varılmıştır.

Teşekkür

2016-TS-33 kodlu proje ile bu tez çalışmasının yapılmasındaki maddi katkılarından dolayı Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Atakisi E, Merhan O. Nitric oxide synthase and nitric oxide involvement in different toxicities. Saravi SSS. ed. In: Nitric Oxide Synthase-Simple Enzyme-Complex Roles. Croatia: In Tech 2017; pp. 197-214.
- Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ. Cadmium-induced excretion of urinary lipid metabolites, DNA damage, glutathione depletion, and hepatic lipid peroxidation in Sprague-Dawley rats. *Biol Trace Elem Res* 1996; 52(2): 143-54.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-8.
- Coyle P, Niezing G, Shelton TL, Philcox JC, Rofe AM. Tolerance to cadmium hepatotoxicity by metallothionein and zinc: In vivo and in vitro studies with MT-null mice. *Toxicol* 2000; 150(1-3): 53-67.
- Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv* 2006; 6(1): 36-47.
- El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghadi HH. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: Protective role of vitamin E and beta-carotene. *Food Chem Toxicol* 2004; 42(10): 1563-71.
- El-Ebiary AA, El-Ghaiesh S, Hantash E, Alomar S. Mitigation of cadmium-induced lung injury by *Nigella sativa* oil. *Environ Sci Poll Res* 2016; 23(24): 25356-63.
- Giovannini L, Migliori M, Longoni BM, Das DK, Bertelli AA, Panichi V, Filippi C, Bertelli A. Resveratrol, a polyphenol found in wine, reduces ischemia reperfusion injury in rat kidneys. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 37(3): 262-70.
- Gross SS, Wolin MS. Nitric oxide: Pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 737-69.

- Kim BM, Lee SY, Jeong IH. Influence of squid liver powder on accumulation of cadmium in serum, kidney and liver of mice. *Prev Nutr Food Sci* 2013; 18(1): 1-10.
- Kishimoto T, Oguri T, Ohno M, Matsubara K, Yamamoto K, Tada M. Effect of cadmium (CdCl₂) on cell proliferation and production EDRF (endothelium-derived relaxing factor) by cultured human umbilical arterial endothelial cells. *Arch Toxicol* 1994; 68(9): 555-9.
- Koyu A, Gökçimen A, Özgüner F, Bayram DS, Kocak A. Evaluation of the effects of cadmium on rat liver. *Mol Cell Biochem* 2006; 284(1-2): 81-5.
- Li Y, Cao Z, Zhu H. Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. *Pharmacol Res* 2006; 53(1): 6-15.
- Lindberg G, Eklund GA, Gullberg B, Rastam L. Serum sialic acid concentration and cardiovascular mortality. *BMJ* 1991; 302(6769): 143-6.
- Merhan O, Özcan A. Kazlarda serum seruloplazmin ve total sialik asit düzeylerinin araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2004; 10(2): 139-42.
- Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2001; 5(1): 62-71.
- Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med* 2000; 342(17): 1266-71.
- Renugadevi J, Prabu SM. Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology* 2009; 256(1-2): 128-34.
- Sarkar S, Yadav P, Trivedi R, Bansal AK, Bhatnagar D. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues. *J Trace Elem Med Biol* 1995; 9(3): 144-9.
- Sener G, Toklu HZ, Sehirli AÖ, Velioglu-Ögünç A, Çetinel S, Gedik N. Protective effects of resveratrol against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Hepatol Res* 2006; 35(1): 62-8.
- Shiraishi N, Rehm S, Waalkes MP. Effect of chlorpromazine pretreatment on cadmium toxicity in the male wistar (WF/NCr) rat. *J Toxicol Environ Health* 1994; 42(2): 193-208.
- Skoczynska A, Martynowicz H. The impact of subchronic cadmium poisoning on the vascular effect of nitric oxide in rats. *Hum Exp Toxicol* 2005; 24(7): 353-61.
- Skowerski M, Jasik K, Konecki J. Effects of interaction between cadmium and selenium on heart metabolism in mice: the study of mRNA, protein, ANP synthesis activities and ultrastructure in mouse heart. *Med Sci Monit* 2000; 6(2): 258-65.
- Sydow G. A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed Biochim Acta* 1985; 44(11-12): 1721-3.
- Tomera JF, Kukulka SP, Lilford K, Harakal C. Cadmium accumulation in experimental hypertension. *Corn Art Dis* 1991; 2: 769-74.
- Tsuruoka S, Sugimoto KI, Muto S, Nomiya K, Fujimura A, Imai M. Acute effect of cadmium-metallothionein on glucose and amino acid transport across the apical membrane of the rabbit proximal tubule perfused *in vitro*. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292(2): 769-77.
- Vorobieva RS, Eremeeva EP. Cardiovascular function in workers exposed to cadmium. *Gig Sanit* 1980; 10: 22-5.
- Wang B, Du Y. Cadmium and its neurotoxic effects. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 1-12.
- Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135(3): 372-6.
- Yousef M, Vlachogiannis IA, Tsiani E. Effects of resveratrol against lung cancer: In vitro and in vivo studies. *Nutrients* 2017; 9(11): 1-14.