

## DeneySEL Araştırma

# Kadmiyum ile Oluşturulan DeneySEL Karaciğer Hasarına Karşı Melatoninin Etkilerinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Düzeylerde İncelenmesi

Ömür KARACA<sup>a1</sup>, Fatma Bahar SUNAY<sup>2</sup>, Murat Abdülğani KUŞ<sup>3</sup>, Burak GÜLCEN<sup>1</sup>, Emrah ÖZCAN<sup>1</sup>, Murat ÖGETÜRK<sup>4</sup>, İltter KUŞ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

<sup>3</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Burdur, Türkiye

<sup>4</sup>Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

## ÖZET

**Amaç:** Sıçanlar üzerinde yapılan bu çalışmada, sıçanlarda, kadmiyumun karaciğerde oluşturduğu oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi araştırıldı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda 21 adet Wistar-Albino cinsi yetişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar üç eşit gruba ayrıldı: Grup 1; kontrol grubu, Grup 2; kadmiyum klorür (CdCl<sub>2</sub>) grubu, Grup 3; CdCl<sub>2</sub>+melatonin grubu. Birinci gruptaki sıçanlara 30 gün boyunca salin enjekte edildi. İkinci gruptaki sıçanlara 30 gün boyunca kadmiyum klorür (1 mg/kg) subkutan yoldan enjekte edildi. Üçüncü gruptaki sıçanlara ise subkutan CdCl<sub>2</sub> ile birlikte 30 gün boyunca melatonin (25mg/kg) intraperitoneal yoldan enjekte edildi. Deney süresi sonunda tüm sıçanlar dekapite edildi ve karaciğer doku örnekleri biyokimyasal ve ışık mikroskopik düzeyde incelendi.

**Bulgular:** CdCl<sub>2</sub> uygulanan sıçanlarda, karaciğer süperoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı, malondialdehit (MDA) düzeylerinin ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (p<0.05). CdCl<sub>2</sub> maruziyeti ile birlikte melatonin enjekte edilen sıçanlarda ise kadmiyum klorür (Grup 2) grubuna göre, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinde bir artış olurken, MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu görüldü (p<0.05). Mikroskopik olarak, kadmiyum uygulanan sıçanların karaciğerinde yağ dejenerasyonu, hidropik dejenerasyon, fibrosiz ve mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edildi. Kadmiyum ile birlikte melatonin verilen sıçanlarda ise kadmiyuma bağlı oluşan histopatolojik değişikliklerin kaybolduğu görüldü.

**Sonuç:** Sıçanlarda, kadmiyum maruziyeti sonucu karaciğerde oksidatif hasarın oluştuğu ve bu hasara karşı melatoninin koruyucu rol oynadığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Kadmiyum, Melatonin, Oksidatif hasar, Karaciğer.

## ABSTRACT

### Investigation of Biochemical and Histopathological Levels of Effects of Melatonin Against Cadmium-Induced Liver Injury

**Objective:** The aim of this study was to evaluate the protective effects of the melatonin on the cadmium induced oxidative damage in rat liver.

**Material and Method:** Twenty-one male Wistar-Albino rats were included into the study. Animals were divided into three equal groups: Group 1; control, Group 2; cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) and Group 3; CdCl<sub>2</sub>+melatonin group. Rats in Group 1 were injected by saline solution subcutaneously for 30 days. Rats in Group 2 were injected by cadmium chlorur (1mg/kg) subcutaneously for 30 days. Rats in Group 3 were injected by subcutaneous CdCl<sub>2</sub>+ intraperitoneal melatonin (25mg/kg) for 30 days. Rats in all groups were decapitated and liver samples were examined biochemically and by light microscopy.

**Results:** In CdCl<sub>2</sub> treated group, liver superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels were significantly lower and malondialdehyde (MDA) levels were significantly higher than the control group (p<0.05). CdCl<sub>2</sub> + melatonin treatment resulted in a statistically significant increase in SOD and GSH-Px enzyme activities, and a decrease in MDA levels than cadmium chloride (group 2) (p<0.05). Microscopically some histopathological changes, namely fatty degeneration, hydropic degeneration, fibrosis and mononuclear cell infiltration were observed in the livers of the cadmium treated rats. Same histopathologies were not observed in rats treated by CdCl<sub>2</sub> + melatonin.

**Conclusion:** It is concluded that cadmium creates oxidative damage in rat liver and melatonin has protective effects against this cadmium induced damage.

**Key Words:** Cadmium, Melatonin, Oxidative injury, Liver.

<sup>a</sup> Yazışma Adresi: Dr. Ömür KARACA, Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye  
Tel: 0 507 216 38 82  
Geliş Tarihi/Received: 19.11.2013

e-mail: omurkaraca@balikesir.edu.tr  
Kabul Tarihi/Accepted: 11.04.2014

**T**oksik metallere maruz kalma, tüm dünyada görülme sıklığı her geçen gün artan hastalıklara neden olmaktadır. Çevresel kirlenme nedeniyle, giderek artan bir tehdit oluşturan bu toksik metallere birisi de kadmiyumdur. Kadmiyum, oksijen, klorür veya sülfür gibi diğer elementlerle birlikte doğada bileşik halinde bulunan ve başlıca maden eritme, çinko rafineri, pil üretimi gibi alanlar olmak üzere endüstride yaygın olarak kullanılan toksik bir metaldir (1, 2). Kadmiyumun çevreye yayıldığı başlıca kaynaklar; maden ocakları, rafineriler, sanayi atıkları, fosfatlı gübreler, bazı haşere ilaçları, kabuklu deniz hayvanları ve motor yağlarıdır (3). Önemli kadmiyum kaynaklarından biri de sigaradır (4). Kadmiyumla olan zehirlenmelerde, başta karaciğer ve böbrek olmak üzere, solunum sistemi, dolaşım sistemi, mide ve bağırsaklar, kemik doku, kan yapımı, testis, pankreas gibi pek çok organ ve sistem zarar görür (5). Kadmiyumun vücuttaki dağılımı, alınış yolu, dozu ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Vücuda giren kadmiyum, kan dolaşımındaki proteinlere ve kan hücrelerine bağlanarak taşınır (6). Karaciğer ve böbrek sistemik kadmiyumun elimine edilmesinde rol oynayan birincil organlardır ve kadmiyum toksisitesinin ana hedefidirler (7, 8). Kadmiyumun oluşturduğu sitotoksik etkilerden, serbest radikaller oluşturması ve antioksidan savunma sisteminde bozukluğa neden olması sorumlu tutulmaktadır (9, 10). Kadmiyum direkt serbest oksijen radikallerini üretmez. Ancak mitokondriyal elektron transfer zincirini etkileyerek veya glutatyon tüketimini artırarak indirekt olarak serbest radikallerin üretimine katkıda bulunur (11). Serbest radikaller; hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederek yapılarının bozulmasına ve canlı organizmalarda lipid peroksidasyonuna neden olurlar (12, 13). Malondialdehit (MDA), hücre lipidlerinin okside edilerek yapılarının bozulması sonucu oluşan ana metabolittir ve lipid peroksidasyonunun bir indeksi olarak kabul edilmektedir (14).

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (15). Antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri, serbest radikalleri yok etme özelliğine sahiptir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini önleyebilmektedirler (16). Doğal antioksidan ajanlardan biri olan Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan antioksidan bir nörohormondur. Melatonin antioksidan özelliğini,

süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) gibi enzimleri aktive ederek gösterir (17). Melatoninin bir diğer etkisi bir pro-oksidatif enzim olan nitrik oksit sentezini (NOS) inhibe etmesidir (18).

Sıçanlar üzerinde gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, sıçanlarda, karaciğer dokusunda kadmiyumun neden olduğu oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun antioksidan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### *Deney Hayvanları*

Çalışmamızda, ağırlıkları 170-220 gram arasında değişen toplam 21 adet yetişkin erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, özel hazırlanmış kafeslerde, ısı ayarlanmış (22±1 °C), 12 saat güneş ışığı alan ve özel havalandırma tertibatı olan ortamda, yeterli miktarda su ve sıçan yemi ile beslendi. Çalışma için Balıkesir Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan B.30.2.BAÜ.0.00.00.00-050-04 sayılı ve 16/01/2012 tarihli etik kurul onayı alındı.

### *Deney Modeli*

Sıçanlar, rastgele bir şekilde, her birinde 7 adet hayvan bulunan 3 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubunda yer alan sıçanlara, 30 gün boyunca ve günlük olarak subkutan yoldan salın enjekte edildi. Kadmiyum grubunda yer alan sıçanlara 30 gün boyunca ve yine günlük olarak subkutan yoldan kadmiyum klorür (CdCl<sub>2</sub>) (1 mg/kg) uygulandı. Kadmiyum klorür +melatonin grubunda yer alan hayvanlara ise aynı süre ve dozda kadmiyum ile birlikte günlük dozu 25 mg/kg melatonin (0.1 ml alkol içinde çözüldü) intraperitonel yoldan enjekte edildi. İlaç etkileşimini ve ilaç emilimini etkilememek için kadmiyum enjeksiyonları sabah, melatonin enjeksiyonları ise aynı gün öğleden sonra yapıldı. Son enjeksiyondan sonra tüm sıçanlar dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi.

### *Doku hazırlanması*

Sıçanların karaciğer dokuları hızla çıkartıldı. Karaciğer doku örneklerinin bir bölümü soğuk (+4 °C) 0.15 M’lık potasyum klorür (KCl) ile yıkandı ve kurutma kâğıdı ile kurutuldu. Daha sonra dokular homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0.15 M’lık KCl çözeltisi içinde 16000 rpm’de 3 dakika homojenize edildi. Homojenizasyon bir buz kabının içerisinde gerçekleştirildi. Homojenat 5000 g’de 1 saat (+4 °C’de) santrifüjlenerek süpernatant elde edildi ve analiz gerçekleştirilene kadar, 1 hafta, -40 °C’de bekletildi. SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri süpernatanda, MDA aktiviteleri ise homojenatta spektrofotometrik olarak tayin edildi.

### SOD tayini

SOD enzim değerleri Sun ve arkadaşlarının (19) modifiye ettiği metotla belirlendi. Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantinoksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Çalışmamızda SOD aktivitesi ünite/gram (U/g) doku proteini olarak ifade edildi.

### GSH-Px tayini

GSH-Px aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının (20) metoduna göre çalışıldı. GSH-Px hidrojen peroksit varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini katalize eden enzimdir. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH'nın NADP+'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplandı ve ünite/gram (U/g) doku proteini şeklinde belirtildi.

### MDA tayini

Lipid peroksidasyon ölçüm metodu olan Esterbauer metodu uygulanarak yapıldı (21). Tiyobarbitirik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. On beş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar nmol/g doku proteini olarak ifade edildi.

### Histolojik İnceleme

Sıçanlardan alınan karaciğer doku örneklerinin bir bölümü ise Bouin solüsyonunda tespit edildikten sonra derecesi artan alkoller ile dehidrate edildi, ksilende saydamlaştırıldı ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen & Eozin ve Masson Trikrom ile boyandı ve preparatlar Olympus BX50 araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

### İstatistiksel analiz

Biyokimyasal parametre (SOD, GSH-Px ve MDA) sonuçlarının analizi için "SPSS 11.0 for Windows" istatistik programı kullanıldı. Grupların dağılımları, non-parametrik testlerden one-sample Kolmogorov-Smirnov Test ile değerlendirildi. Gruplar normal dağılım gösterdiğinden değerlerin karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA ve Post Hoc testlerden LSD kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p<0.05 olan değerler anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Biyokimyasal Bulgular

Gruplara ait karaciğer doku örneklerinde, spektrofotometrik olarak SOD, GSH-Px ve MDA değerleri ölçüldü.

CdCl<sub>2</sub> enjekte edilen sıçanlarda, oksidatif antioksidan enzimlerden olan SOD ve GSH-Px değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (p<0.05). Ayrıca oksidatif hasarı belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılan ve dokuda lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA düzeylerinin de, CdCl<sub>2</sub> uygulanan grupta yine istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (p<0.05) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Deney gruplarına ait SOD, GSH-Px ve MDA değerleri.

Gruplar	n	SOD (U/g protein)	GSH-Px (U/g protein)	MDA (nmol/g protein)
Kontrol	7	139±0.02	161±16	9.8±0.6
Kadmiyum	7	51±0.03*	76±21*	16.9±0.7*
Kadmiyum+ Melatonin	7	144±0.03**	154±12**	10.2±0.6**

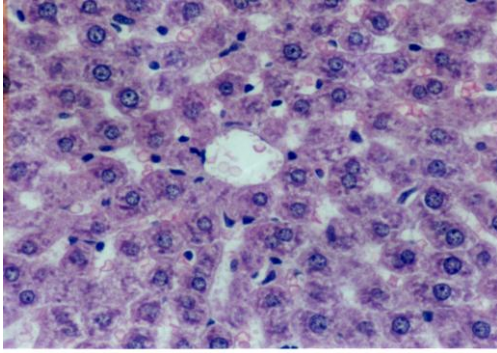
n: denek sayısı. Değerler ortalama ± SS şeklinde verildi. \*: p<0.05 (Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında); \*\*: p<0.05 (Kadmiyum grubu ile karşılaştırıldığında).

Kadmiyum maruziyeti ile birlikte melatonin uygulanan sıçanlara ait biyokimyasal parametreler, sadece kadmiyum alan hayvanlara ait değerler ile karşılaştırıldığında ise SOD ve GSH-Px enzim düzeylerinin arttığı, MDA seviyelerinin de azaldığı görüldü (p<0.05) (Tablo 1).

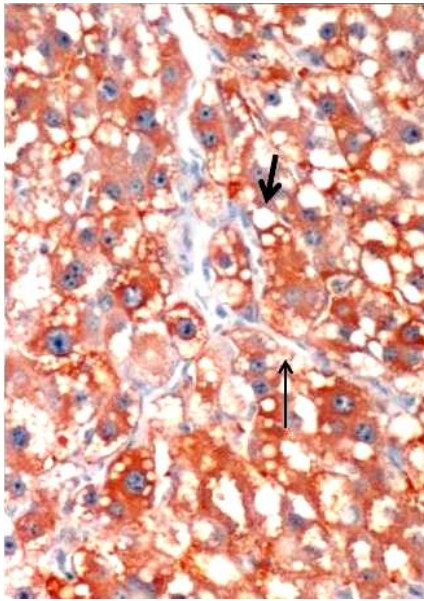
Araştırmamızın biyokimyasal bölümünde elde ettiğimiz bu sonuçlar; kadmiyum klorürün karaciğer dokusunda oksidatif hasara yol açtığını ve meydana gelen bu hasarın melatonin enjeksiyonu ile önlendiği ortaya koydu.

### Histopatolojik Bulgular

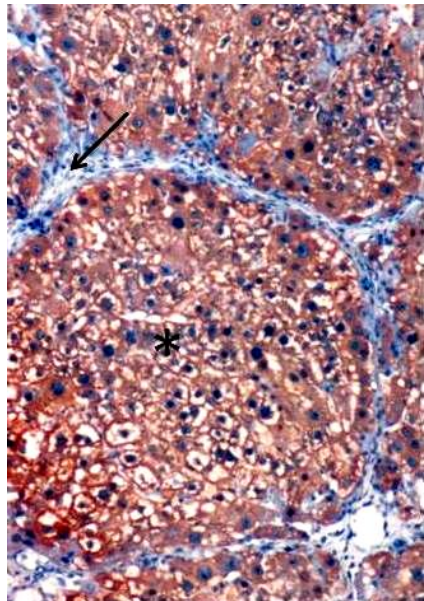
Kontrol grubunda bulunan sıçanların karaciğer histolojik yapısının normal bir görünüme sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 1). Kadmiyum enjekte edilen sıçanların karaciğerlerinde, toksisiteye bağlı olarak yağ dejenerasyonu, hidropik dejenerasyon, fibrosiz, mononükleer hücre infiltrasyonu ve rejeneratif nodüller histopatolojik bulgular olarak tespit edildi (Şekil 2-4). Kadmiyum enjeksiyonu ile birlikte melatonin uygulanan grupta ise karaciğerde minimal yağ dejenerasyonu görülmekle birlikte, kadmiyuma bağlı olarak oluşan histopatolojik değişikliklerin düzeldiği ve karaciğer doku görünümünün kontrol grubuna benzediği gözlemlendi (Şekil 5).



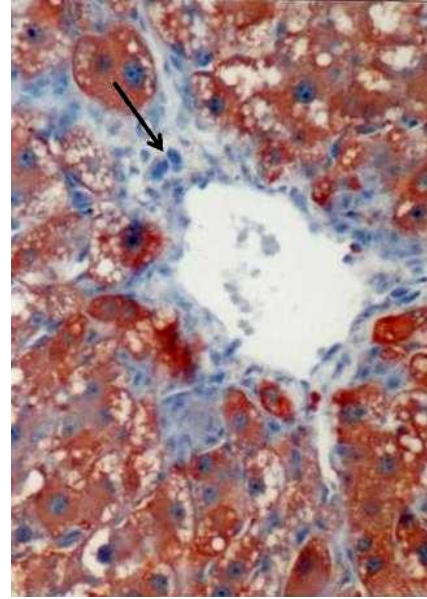
Şekil 1. Kontrol grubuna ait sıçanlarda karaciğerin normal histolojik görünümü. Hematoksilen & Eozin X40.



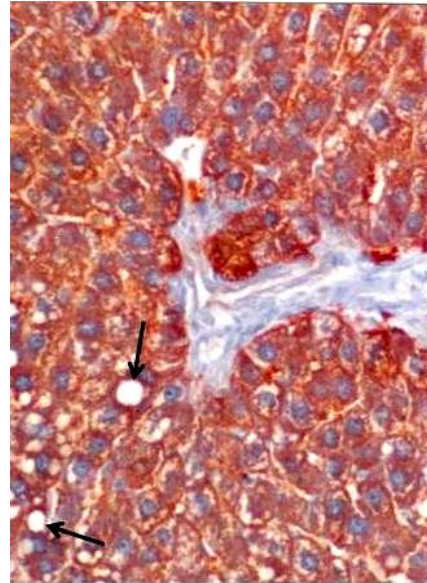
Şekil 2. Kadmiyum maruziyeti sonucu karaciğer dokusunda yağ dejenerasyonu (kalın ok) ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon (ince ok) gözlenmektedir. Masson Trikrom X20.



Şekil 3. Kadmiyum toksisitesi sonucu karaciğer dokusunda rejeneratif nodüller (\*) ve fibrozis (ok) görülmekte. Masson Trikrom X10.



Şekil 4. Kadmiyum toksisitesi sonucu karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (ok) gözlenmektedir. Masson Trikrom X20.



Şekil 5. Kadmiyum ile birlikte melatonin uygulanan sıçanların karaciğer dokusunda minimal yağ dejenerasyonu (oklar) gözlenmektedir. Masson Trikrom X20.

## TARTIŞMA

Kadmiyuma bağlı karaciğer toksisitesinin oluşmasında oksidatif stres önemli rol oynar. Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunma mekanizması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır (22). Hücre içi ve hücre dışı membranlarda lipid peroksidasyonunun artması organ, doku ve hücrelere zarar vermektedir (12, 13, 23). Serbest radikallerin üretilmesi, lipid peroksidasyonu ve antioksidan savunma sisteminin inhibisyonu

kadmiyumun toksik etkisinin nedenleri olarak gösterilmiştir (12, 24). Bunlara ilaveten dokularda İŞP70'in immunoreaktivitesinin artması, herhangi bir nedenle oluşan toksik etkinin İŞP sentezini indüklediğini ifade etmektedir. Daha önce yaptığımız bir çalışmaya göre kadmiyumun sıçan karaciğer dokularında İŞP70 immunoreaksiyonunu gösteren yoğun bir boyanma gözlenmiştir (25).

Yapılan diğer çalışmalarda ise kadmiyumun, karaciğer ve akciğer gibi organlarda, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit seviyelerinde artışa, antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz değerlerinde ise azalmaya neden olduğu ifade edilmiştir (12, 13, 23). Yapılan çalışmalara benzer şekilde bu çalışmada da karaciğerde MDA, SOD ve GSH-Px yoğunluğuna bakıldığında kadmiyumun lipid peroksidasyonu indüklediği ve antioksidan enzimleri inhibe ettiği açıkça görülmektedir.

Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı önlemek veya korumak için kullanılan doğal antioksidanlar üzerine olan ilgi son zamanlarda artış göstermiştir. Bunlardan biri olan melatonin, güçlü bir doğal antioksidan olup direkt serbest radikal süpürücü etkiye sahiptir (12, 24). Melatonin, süperoksit dismutaz ve katalaz'dan daha uzun yarı ömre sahip bir moleküldür. Bu hormonun lipofilik ve hidrofilik karakterde olması çoğu antioksidanda bulunmayan bir özelliktir ve melatoninin hücreler ile subselüler kompartmanlara çok kolay ulaşmasını sağlar. Nükleus içine girerek DNA'yı oksidatif hasardan korur, böylece kanser insidansını azaltır (26).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, süperoksit dismutaz aracılığıyla hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan  $H_2O_2$ , dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır (22). Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan çinko (Zn) önemli bir mineraldir. Yapılan çalışmalarda melatoninin, direkt olarak hidrojen peroksiti parçaladığı, kadmiyumun ise bu molekülün üretimini artırdığı belirtilmiştir (12). Kadmiyum, süperoksit anyonu, nitrik oksid ve  $H_2O_2$  üretimine yol açar ve bu maddeler değişik yollarla kadmiyuma maruz kalan hayvanların plazma, beyin, akciğer, karaciğer ve böbreklerinde oksidatif hasar ve lipid peroksidasyonunu meydana getirirler (22). Çalışmamızda, karaciğer dokusunda, melatoninin SOD enzim düzeyini artırdığı, kadmiyumun ise azalttığı tespit edilmiştir. Kadmiyumun SOD aktivitesini inhibe etmesinin bir başka nedeni ise,

SOD molekülünde, kadmiyum ve Zn arasındaki etkileşim olabilir (12).

Bizim elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde, kadmiyumun, glutatyon peroksidaz enzimini de azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (12, 23). Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutatyon, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel bir antioksidandır. Aktivitesi için selenyum (Se) mineraline ihtiyaç duyan GSHPx enzimi, glutatyonun indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir. Kadmiyum, karaciğer GSSG reduktaz aktivitesini azaltarak GSH-Px enzim konsantrasyonunu azaltmaktadır (22). Melatoninin ise GSH-Px enzim aktivitesini artırdığı ifade edilmektedir (12, 23). Melatonin,  $H_2O_2$ 'nin  $H_2O$ 'ya dönüşümünü kolaylaştırarak GSH-Px enzim aktivitesini uyarır (12).

Daha önce yapılmış olan deneysel çalışmalarda kadmiyumun karaciğer doku yapısını da bozduğu belirtilmiştir. Kadmiyum toksisitesinin karaciğerde yağ dejenerasyonu, sinüzoidlerde dilatasyon, nekroz, fibrozis, mononükleer hücre infiltrasyonu, granüler endoplazmik retikulumda dilatasyon, fragmentasyon ve vezikülasyon gibi patolojik sonuçlara neden olduğu gösterilmiştir (12, 27, 28). Jeong ve ark. (29), kadmiyumun, karaciğerdeki hücreler arası iletişimi sağlayan ve hücrelerin organizasyonunun devamını sağlayan gap junction'ı inhibe ettiği ve bunun sonucunda karaciğerde hücresel dengeyi bozarak hücrelerde apoptozis, nekroz ve proliferasyona neden olduğunu ifade etmişlerdir. Kadmiyumun karaciğerde doku yapısını bozması yönüyle çalışmamız diğer çalışmalara benzerlik göstermektedir.

Kım ve ark. (23), sıçanlarda kadmiyum indüklediği fokal nekroz ve nekrotik alanların melatonin tarafından azaltıldığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Sokkary ve arkadaşları da melatoninin karaciğerde kadmiyum konsantrasyonunu azaltarak ve antioksidanları indükleyerek karaciğerde oluşan histopatolojik bulguları azalttığını ifade etmişlerdir (12). Biz de yaptığımız çalışmada kadmiyumun indüklediği karaciğer hasarı sonucu oluşan histopatolojik bulguların, melatoninin hepatoprotektif etkisi ile azaldığını tespit ettik.

Sonuç olarak, biyokimyasal ve ışık mikroskopik düzeylerde yapmış olduğumuz bu çalışma sonucunda, kadmiyum maruziyetine bağlı olarak karaciğerde oluşan oksidatif doku hasarının ve histopatolojik bozuklukların melatonin enjeksiyonu ile önlendiği tespit edilmiştir.

**KAYNAKLAR**

1. Cuypers A, Plusquin M, Remans T, et al. Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biomaterials* 2010; 23: 927-40.
2. Karbownik M, Gitto E, Lewinski A, Reiter RJ. Induction of lipid peroxidation in hamster organs by the carcinogen cadmium: amelioration by melatonin. *Cell Biol Toxicol* 2001; 17: 33-40.
3. Baldwin DR, Marshall WJ. Heavy metal poisoning and its laboratory investigation. *Ann Clin Biochem* 1999; 36: 267-300.
4. Goyer R. Toxic effect of metals. In: Casarett and Doull's *Toxicology*. Mc-Graw and Hill, Inc 1996; 699-701.
5. Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J, et al. Cadmium-induced osteomalacic and osteopetrotic lesions in ovariectomized rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994; 126: 58-68.
6. Thevenod F. Nephrotoxicity and the proximal tubule insights from cadmium. *Nephron Physiol* 2003; 93: 87-93.
7. Hughes MR, Smits JE, Eliot JE, Bennett DC. Morphological and pathological effects of cadmium ingestion on pekin ducks exposed to saline. *J Toxicol Environ Health* 2000; 61: 591-608.
8. Zalups R, Ahmad S. Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003; 186: 163-88.
9. Casalino E, Calzavetti G, Sblano C, Landriscina C. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. *Toxicology* 2002; 179: 37-50.
10. Lopez E, Arce C, Oset-Gasque MJ, Canadas S, Gonzalez MP. Cadmium induces reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in cortical neurons in culture. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 940-51.
11. Romero A, Caride A, Pereiro N, Lafuente A. Modulatory effects of melatonin on cadmium-induced changes in biogenic amines in rat hypothalamus. *Neurotox Res* 2011; 20: 240-9.
12. El-Sokkary GH, Nafady AA, Shabash EH. Melatonin administration ameliorates cadmium-induced oxidative stress and morphological changes in the liver of rat. *Ecotoxicol Environ Saf* 2010; 73: 456-63.
13. Aydođdu N, Erbaş H, Kaymak K. Taurin, melatonin ve n-asetilsisteinin kadmiyuma bağlı akciğer hasarındaki antioksidan etkileri. *Trakya Univ Tıp Fak Derg* 2007; 24: 43-8.
14. Zahir AS, Thanhtam T, Zaman K. Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 154: 256-63.
15. Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech* 1999; 53: 46-8.
16. Diplock A. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, Belgium, 1998; 59.
17. Özmete Ö. Kronik özofajial striktür gelişen çocuklarda oral midazolam, deksmedetomidin ve melatonin premedikasyonunun karşılaştırılması. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniv Tıp Fak, Adana, 2009.
18. Uluocak N, Atılğan D, Erdemir F, et al. An animal model of ischemic priapism and the effects of melatonin on antioxidant enzymes and oxidative injury parameters in rat penis. *Int Urol Nephrol* 2010; 42: 889-5.
19. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
20. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-69.
21. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186: 407-21.
22. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Derg* 2004; 15: 91-6.
23. Kim Cy, Lee MJ, Lee SM, Lee WC, Kim JS. Effect of melatonin on cadmium-induced hepatotoxicity in male sprague-dawley rats. *Tohoku J Exp Med* 1998; 186: 205-13.
24. Eybl V, Kotyzova D, Koutensky J. Comparative study of natural antioxidants curcumin, resveratrol and melatonin in cadmium-induced oxidative damage in mice *Toxicology* 2006; 225: 150-6.
25. Gülçen B, Karaca Ö, Kuş MA, Akpolat N, Kuş İ. Deneysel kadmiyum toksisitesinde melatonin hormonunun karaciğer üzerindeki koruyucu etkisi: immunohistokimyasal bir çalışma. *Düzce Üniv Sađ Bil Enst Derg* 2011; 1: 13-7.
26. Meki AR, Hussein A. Melatonin reduces oxidative stress induced by ochratoxin A in rat liver and kidney. *Comp Biochem Physiol C* 2001; 130: 305-13.
27. Erdem T. Ratlarda tek doz uygulanan kadmiyum toksikasyonunun patolojisi ve eş zamanlı uygulanan klorpromazinin koruyucu etkisinin araştırılması. Doktora tezi, Selçuk Üniv Sağlık Bil Enst Konya, 2010.
28. Renugadevi J, Prabu SM. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. *Exp Toxicol Pathol* 2010; 62: 171-81.
29. Jeong SH, Habeebu SSM, Klaassen CD. Cadmium decreases gap junctional intercellular communication in mouse liver. *Toxicol Sci* 2000; 57: 156-66.