

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Çevre kirliliğine neden olan kimyasal kirleticiler, hücresel gelişim üzerine uzun süreli bir etkiye sahiptir (1). Kadmiyum bunlardan biridir. Kadmiyumla içme suyu ve beslenme yoluyla uzun süreli temas insan sağlığına önemli etkiler yapar. Kadmiyum endüstride geniş çaplı kullanılmaktadır. Bunun toksik dozları çeşitli mekanizmalarla hücrede doğal oksidasyon/redüksiyon dengesini bozar ve hücredeki antioksidant sistemleri etkiler (2).

Kadmiyumun apoptozis ve karsinojenik etkileride mevcuttur (3–5).

Santral sinir sistemine ait yapılarda ve özellikle de serebellum ve hipokampusta hücre ölümünün mekanizmasını belirlemek için çeşitli fizyolojik ve kimyasal metodlar kullanılarak çok sayıda çalışma yapılmıştır ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir (6-12).

Nöronal hiperaktivitede kullanılan kimyasal uyaranlar, örneğin penisilinin astrosit stoplazmasında şişmelere (8), kainik asitin ise hipokampusta nöron kaybına yol açtığı gösterilmiştir (9).

Nöronal hiperaktivite oluşturmak için kullanılan metallerden alüminyum nöron kaybı ve dendritlerde değişmelere yolaçmıştır. Uzun süreli nöronal hiperaktivite meydana getirmek için kullanılan demir, çinko, kobalt ve nikelin epileptiform aktiviteye sebep olduğu tesbit edilmiştir (13).

Deneysel epileptiformun demir modelinde, enjeksiyon bölgesi ve çevresinde ödem, uzun süreli gliosis ve hücre kaybı gözlenmiştir (14, 15).

Diğer taraftan Stercova (16), kedilerde alüminyum kremininin beyin içine verilmesinden sonra beyinde kronik iltihaplı reaksiyonlar oluşturmuş, bu hayvanlarda enjeksiyon bölgelerinde önemli ölçüde nöron kaybı olduğu belirlenmiştir.

Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar sonucu kobalt, demir, alüminyum, nikel gibi pek çok metalin purkinje hücreleri sayısında önemli ölçüde azalma olduğunu göstermiştir (17–21).

Nörotoksik maddeler arasında metallerin yeri ayrı bir önem taşımaktadır. Çünkü, beyin korteksine verildiklerinde parçalanmadıklarından, lokal olarak enjeksiyon alanında kalmakta ve etki süreleri daha da uzun olmaktadır (8).

Son yıllarda yeni yeni üzerinde çalışılmaya başlanan bir metal de kadmiyumdur. Sigara dumanında ve kirli havada bulunur hale gelmesi bu metali ilgi odağı haline getirmiştir. Sanayii ve endüstri alanında da yaygın olarak kullanılmaya başlanan kadmiyum, özellikle pil yapımında, diş tedavisinde kullanılan dolgu maddelerinde, jetlerin ve uzay mekiklerinin dış yüzeylerinin kaplanması gibi pek çok sahada tercih edilmektedir. Bu sebeplerden dolayı kadmiyumun sinir sistemi üzerindeki etkileri, araştırmacılar için ilginç bir konu haline gelmiştir.

Yetişkin farelerle *in vivo* olarak yapılan çalışmalarda beyin zarı içine 0,4 mg/kg/gün CdSO<sub>4</sub> verildiğinde hipokampus haricinde beynin diğer bölgelerinde aktivitede azalma olduğu saptanmıştır (22).

Genç albino sıçanlara 30 gün boyunca sistemik olarak (i.p) 0,4 mg/kg/gün CdSO<sub>4</sub> uygulandığında olfaktor bulbusta daha fazla olmak üzere beynin bütün alanlarında glutatyon düzeylerinde azalma ve hücre içi kalsiyum düzeylerinde önemli artışlar gözlenmiştir (23).

Şıçanlarla yapılan bir başka çalışmada 6 mg/kg/gün dozunda kadmiyum sülfat tatbik edilen hayvanlarda kadmiyumun beyinde ve diğer organlarda önemli miktarda biriktiği ve nörotoksisitenin biyolojik bir işareti olarak hücre tahribatına sebep olduğu bildirilmiştir (24). Farelerle kadmiyum-etanol kombinasyonu ile yapılan bir çalışmada, beyinde nörotoksisitesinin daha çabuk oluştuğu ortaya konmuştur (25).

Gebeliğin ilk gününden itibaren içme sularına 10 mg/L kadmiyum asetat eklenen sıçanlardan doğan yavruların beyinlerindeki toplam protein, lipid ve nükleik asit içerikleri ölçülerek bu elementin sözü edilen maddelerin miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır (26, 27).

Joshi ve Bose (28), kadmiyuma maruz bırakılan balıkların kan serumunda toplam protein miktarının önemli derecede değiştiğini tesbit etmişlerdir.

Yapılan literatür çalışmalarında, kadmiyumla yapılan çalışmaların daha ziyade elektrofizyolojik ağırlıklı olduğu gözlenmiştir. Kadmiyumun beyin ve beyincik üzerindeki dokularda ne gibi değişikliklere yol açtığı, kadmiyumun neden olduğu hücre kayıplarının biyokimyasal sonuçları ve bu değişikliklerin

mekanizmasının nasıl olduğu hakkında yeterli çalışma yoktur. Bu çalışmanın amacı, beyin ve beyincikteki hücre kayıplarını arttıran ağır metallerden kadmiyumun hücrelerdeki toplam lipid ve proteinin miktarları üzerine olan etkilerini araştırmak ve hücre kayıpları ile toplam lipid-protein miktarları arasında bir ilişki olup olmadığı konusuna açıklık getirmektir.

## 2. MATERYAL - METOD

### 2.1. Deney Hayvanları

Deneyle, ağırlıkları 150–250 gram arasında değişen 2 aylık *Wistar albino* erkek sıçanlarla yapıldı. Yaşa ve cinsiyete bağlı hücre farklılığı olmaması için hayvanların tümünün aynı yaş grubundan erkek sıçanlar olmasına, aynı laboratuvar, beslenme ve çevresel ortama sahip olmalarına dikkat edildi.

Operasyon öncesi hayvanlar ayrı ayrı tartılıp ağırlıkları kaydedildi ve her hayvana ayrı bir numara ile numaralandı. Deneyle başlamadan önce laboratuvarında kullanılacak olan tüm malzemeler sterilize edildi. Deneyle yarısteril şartlar altında gerçekleştirildi. Deney hayvanları her biri 6 bireylik 4 gruba ayrıldı (saf grup, kontrol grubu, ketamin grubu, kadmiyum grubu). Hayvanlar, operasyondan 12 saat önce aç bırakıldı ve operasyon öncesi saf grup hariç Ketamin hidroklorür (100 mg/kg, i.p.) (29) ile anesteziye alındı. Bu çalışmada kullanılan CdSO<sub>4</sub> ve Ketamin hidroklorür Sigma Chem Co (St Louis)'dan sağlanmıştı.

#### 2.1.1. Operasyon

Operasyon masasına yüzüstü yatırılan hayvan, üst çenesinden operasyon masasına (David Kopf) tesbit edildi. Baş bölgesi tıraş edildikten sonra, baticon ile silindi ve kafa derisi orta hat boyunca önden arkaya doğru bisturi ile 3–3,5 cm. kesildi. Kafa kemiği üzerindeki yumuşak doku hassas bir şekilde sıyrılarak kaldırıldı. Böylece kraniotomi yapılacak bölgenin ve Bregma hattının rahatça görülmesi sağlandı. Daha sonra hayvan anestezi altındayken sol serebral korteks üzerindeki kemik, bregmanın 1,5 mm sol lateralinde diş hekimliğinde kullanılan tur motoruyla (BM 9 Tipi) inceltilerek 1,5–2 mm çapında delik açıldı. Hayvanlarda herhangi bir kanama olmamasına dikkat edildi. Kafatası kemiğini delme işlemine dura belirgin hale gelinceye kadar devam edildi. Duranın zarar görmemesine azami derecede dikkat edildi.

Kemiği kaldırma işlemi sırasında bölgedeki sıcaklık artışını önlemek için sahaya sık sık 36–37°C sıcaklıkta serum fizyolojik damlatıldı. Daha sonra ince bir pensle dura kaldırıldı. Korteks görünür hale getirildi. Deney grublarından kadmiyum grubuna açılan bu delikten 1,2 mm derinliğe Hamilton mikroenjektr ile 0,0021 mg/kg (1µlt hacim içinde) (29) kadmiyum sülfat (CdSO<sub>4</sub>) , kontrol grubuna ise aynı hacimde serum fizyolojik verildi. Saf grup adını verdiğimiz gruba ise işlem yapılmadı ve hiçbir madde verilmedi.

Belirtilen işlemler sırasında Harward Homeothermic Blanket Sistemi yardımıyla hayvanın vücut sıcaklığı 36,5–37,5°C arasında sabit tutuldu. Daha sonra kesilmiş olan kafa derisi usulüne uygun olarak silikonize cerrahi ipek 4/0 iplik ile dikilerek kapatıldı. İntrakraniyal bir enfeksiyonortaya çıkmaması için oldukça steril şartlarda çalışıldı ve operasyon sonrası dikiş yeri ve yara bölgesi anti-septik solüsyon ile temizlendi. Her enjeksiyon işlemi için ayrı ve steril bir enjektör kullanıldı.

Ratlar 15 gün sonra az miktarda eter ile sedasyona alındı ve servikal dislokasyon ile dekapite edilerek öldürüldü, hayvanın kafası bistüri ile gövdesinden ayrıldı. Kafatasının deri ve kas kısmı uzaklaştırıldı. Beyin ve beyincik kafatası kemikleri büyük bir dikkatle kemik makasıyla (Guj) kırılarak çıkartıldı. Beyin ve beyincik sağ-sol olmak üzere ayrıldı, toplam yaş ağırlıkları hassas elektronik terazi ile tartılarak kaydedildi ve 100 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde 5 mM, pH 7,5 potasyum fosfat tamponu içeren etiketli ve kapaklı tüpler içerisine konularak analiz edilinceye dek -50°C derin dondurucuda saklandı.

## 2.1.2. Biyokimyasal Analizler

### Homojenizasyon

Dondurucudan çıkartılan beyin ve beyincik kısımları, Ultra-Turrax T-25 marka bir homojenizatör kullanılarak 0°C'de 4000 devir/dakikada 3 dakika homojenize edildi.

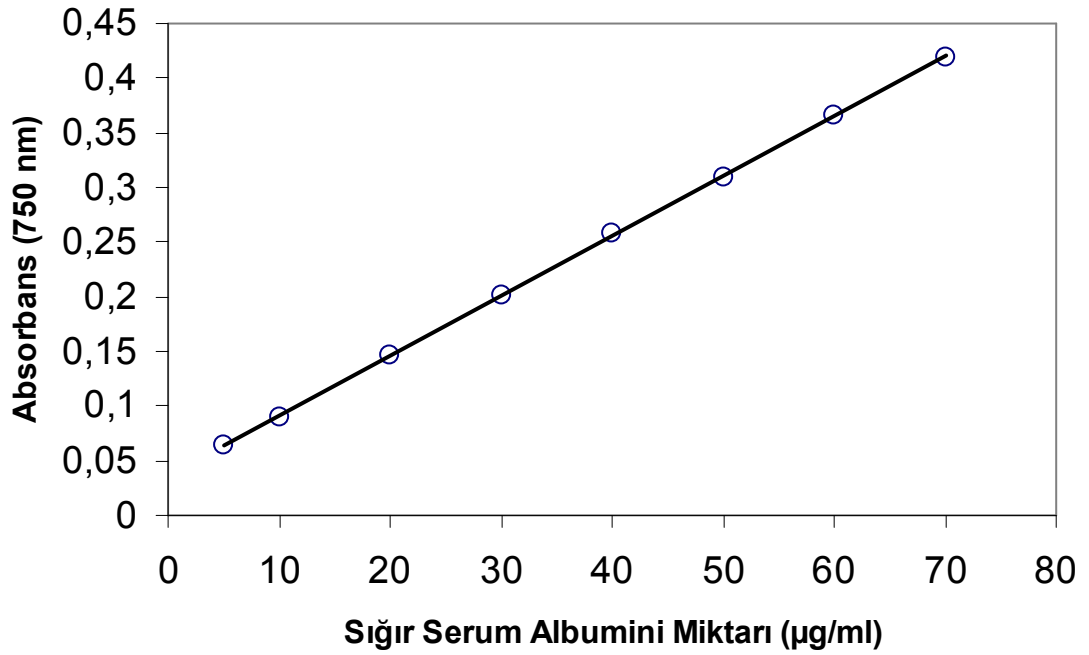
### 2.1.2.a. Lipid Analizi

Lipid ekstraksiyonu için Bligh-Dyer Metodu (30) kullanıldı. Bunun için 13x100 mm tüpler etiketlendi ve homojenattan 1 ml (100 mg) bu tüplere konuldu. Üzerine kloroform-metanol karışımından 3,75 ml (1:2) eklendi ve 10 dakika boyunca vorteksle karıştırıldı. Vortekslemeye devam edilerek sırası ile 1 dakika süre içerisinde 1,25 ml kloroform, takibinde yine 1 dakika süre içerisinde 1,25 ml saf su eklendi. Bu işlem çalışılan tüm tüplere uygulandı ve tüpler 5000 rpm hızda 10 dakika santrifüj (Nüve NF1215) edildi. Santrifüj sonrasında tüp içerisinde en üst kısımda metanol-su fazı, ortada protein disk ve en alt kısımda da lipid içeren kloroform fazı oluşumu gözlemlendi. 5 ml hacimli cam bir pipet yardımı ile protein disk içerisinde geçirilerek tüpün en altında bulunan kloroform fazı toplandı, toplanan kloroform fazı etiketlenerek ağırlığı daha önceden kaydedilen başka bir 13x100 mm cam tüpe transfer edildi. Protein disk yüzeyinde kalması muhtemel lipidlerinde ekstraksiyonu için tüp içerisine 1,88 ml kloroform eklendi, sırası ile vorteks ve santrifüj işlemlerinden sonra yine cam pipet yardımı ile en alttaki kloroform fazı toplanarak diğler lipid ekstraktı içeren etiketli tüpe aktarıldı.

Lipid ekstraktı içeren etiketli tüpler, azot akımı altında kloroform kısmının tamamen uçurulması ile lipid ekstraktının kuruması sağlandı ve etiketli tüpler hassas terazi ile yeniden tartılarak dolu ağırlıkları tesbit edilip kaydedildi. Dolu ağırlıklarından boş ağırlıkları çıkartılarak her bir örneğin 100 mg'ının içerdiği toplam lipid miktarı tesbit edildi.

### 2.1.2.b. Protein Miktarının Belirlenmesi

Protein miktarının belirlenmesinde kullanılacak standart grafik çizildi. Protein standart grafiğinin hazırlanmasında % 0,1'lik sığır serum albumini (Merck, 112018) çözeltisi kullanıldı. Bu çözeltiden seri sulanma ile protein konsantrasyonu 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 ve 70  $\mu\text{g/ml}$  olan çözeltiler elde edildi. Bu çözeltilere Peterson'un modifiye Lowry metodu (31) uygulanarak standart protein grafiği elde edildi (Şekil 1).



**Şekil 1.** Sığır serum albumini ile hazırlanan protein standardı

Homojenattan alınan 20  $\mu\text{l}$  örnek saf su ile 1 ml'ye tamamlandı ve bu seyreltik solüsyondan alınan 100  $\mu\text{l}$  numune daha önce etiketlenen tüpler içerisine konularak toplam hacim saf su ile 1 ml'ye tamamlandı. Her bir tüpe 100  $\mu\text{l}$  hacimde %72'lik trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi eklendi ve tüpler  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 1 saat bekletildi. Daha sonra soğutmalı bir santrifüj ile (Sanyo CELLSEP 6/720R)  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 4000 g hızında 15 dakika santrifüj edildi. Tüpün dibine çökelmiş durumdaki proteinin dağılmaması için azami önem göstererek süpernatant

atıldı. Pelletin tamamen kuruması için tüpler 37°C sıcaklığa sahip etüvde bekletildi. Pellet 1 ml saf su eklenerek resüspanse edildi ve miktarının belirlenmesi için Peterson'un modifiye Lowry metodu uygulandı. Örnek ve standartların absorbans değerleri Jenyway 6105 marka UV/VIS Spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda okundu. Okunan absorbans değerleri protein standart grafiğinden yararlanarak değerlendirildi.

### **2.1.3. Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi**

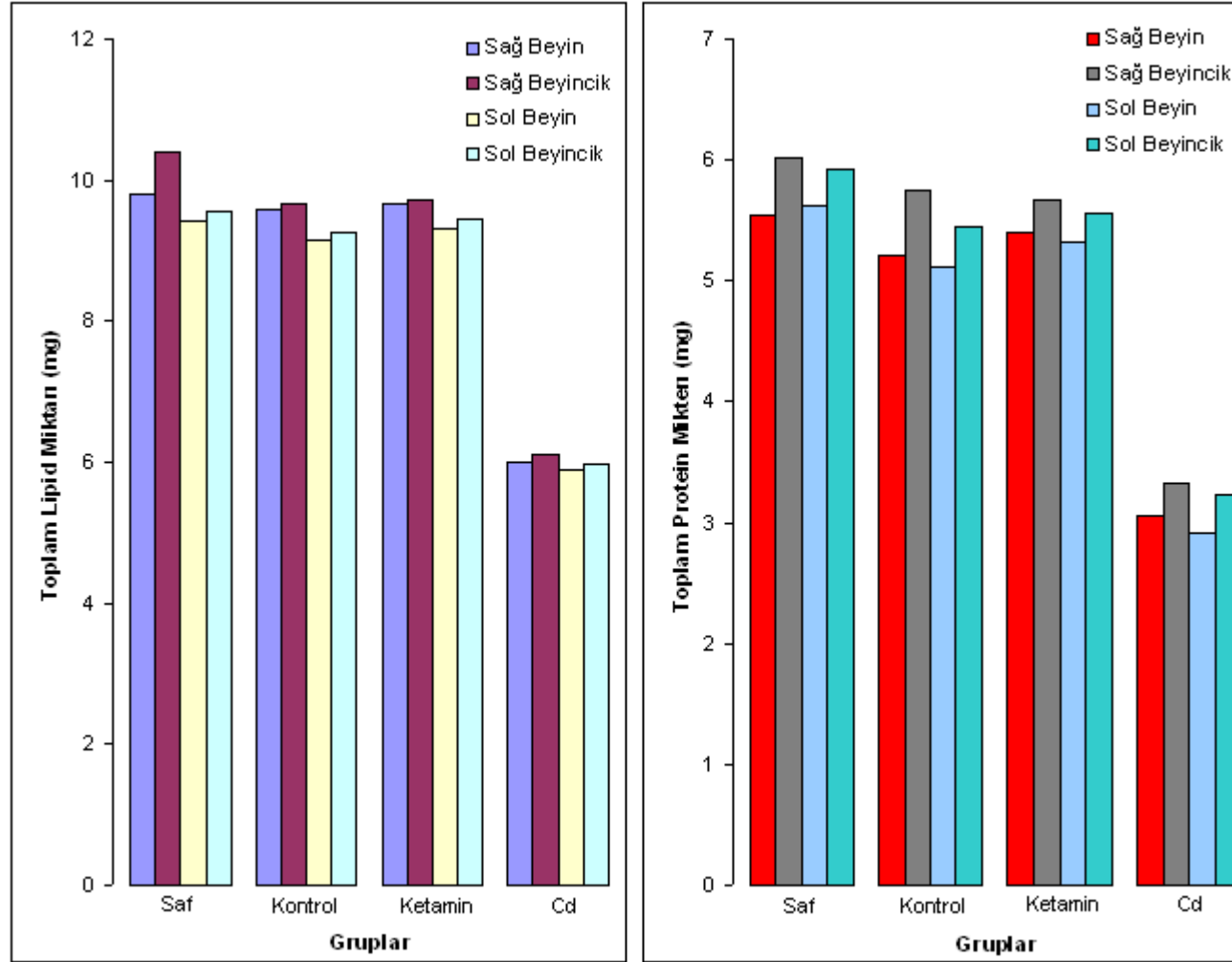
Verilerin istatistiksel analizleri SPSS for Windows (ver. 11.5) Software paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmalarında Varyans Analizi (One way ANOVA) kullanıldı (32). Bu testten elde edilen sonuçların önemli olması durumunda ortalamalar "Dunnet" testi kullanılarak değerlendirildi.

### 3. BULGULAR

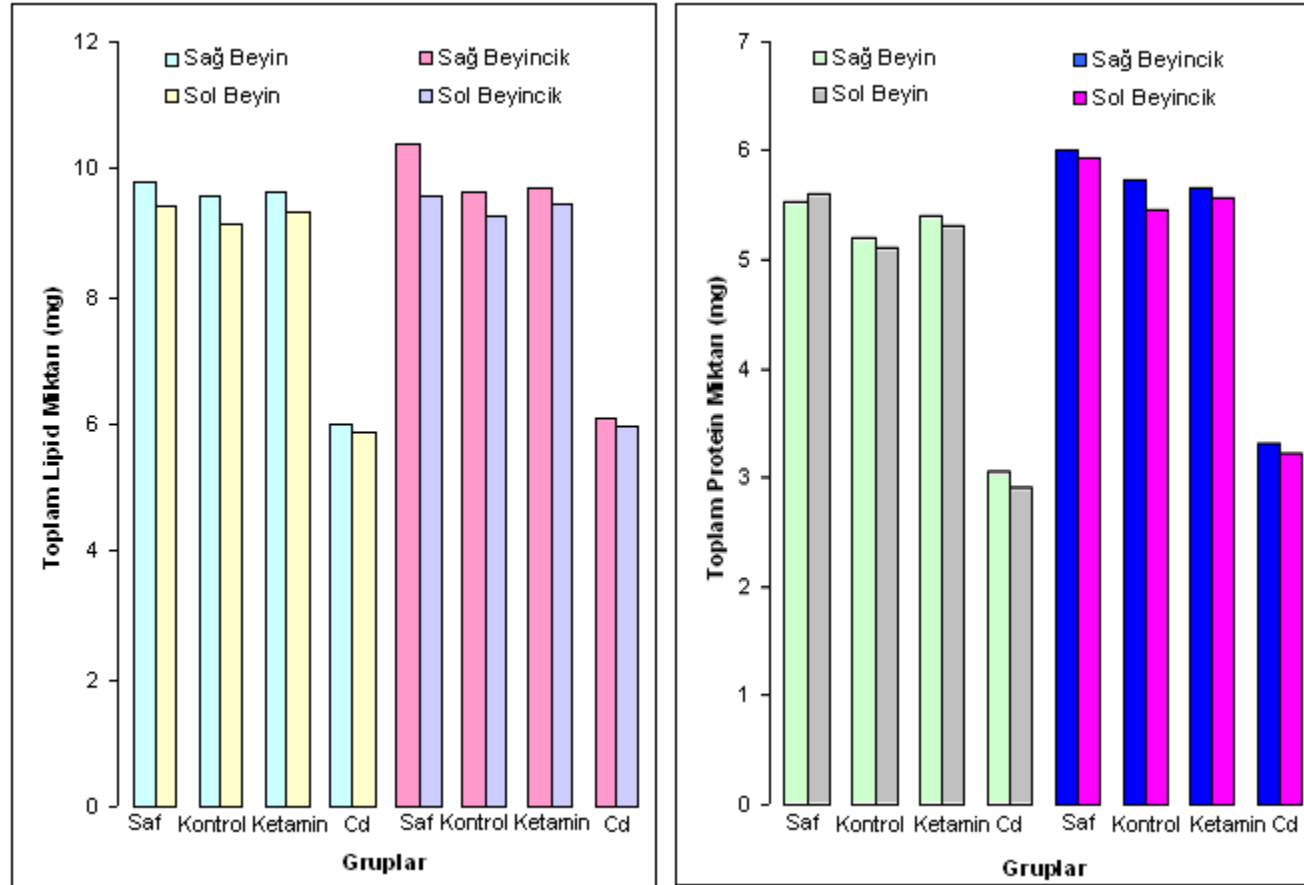
Saf, kontrol, ketamin ve kadmiyum grupları ile yapılan analiz sonuçları Tablo 1’de verilmiştir.

**Tablo 1.** Tüm gruplara ait beyin ve beyincikteki toplam lipid ve protein miktarları (n, hayvan sayısı)

Deney Grupları (n=6)		Toplam Lipid Miktarı (mg / 100 mg)	Toplam Protein Miktarı (mg / 100 mg)
Saf Grup	Sağ Beyin	9.80±0.31	5.54±0.11
	Sağ Beyincik	10.40±0.39	6.01±0.08
	Sol Beyin	9.43±0.21	5.62±0.15
	Sol Beyincik	9.56±0.18	5.93±0.20
Kontrol Grubu	Sağ Beyin	9.58±0.35	5.21±0.05
	Sağ Beyincik	9.66±0.38	5.75±0.08
	Sol Beyin	9.16±0.23	5.12±0.11
	Sol Beyincik	9.25±0.32	5.45±0.13
Ketamin Grubu	Sağ Beyin	9.65±0.25	5.40±0.20
	Sağ Beyincik	9.70±0.24	5.66±0.16
	Sol Beyin	9.33±0.20	5.32±0.17
	Sol Beyincik	9.45±0.22	5.57±0.13
Kadmiyum Grubu	Sağ Beyin	6.01±0.14	3.06±0.05
	Sağ Beyincik	6.10±0.08	3.32±0.13
	Sol Beyin	5.88±0.21	2.92±0.11
	Sol Beyincik	5.98±0.13	3.23±0.10



**Şekil 2.** Deney gruplarında kullanılan sıçanların gruplara göre beyin ve beyinciklerindeki toplam lipid ve protein miktarları



**Şekil 3.** Deney gruplarında kullanılan sıçanların gruplara göre sağ-sol beyin ve beyinciklerindeki toplam lipid ve protein miktarları

**Tablo 2.** Tüm gruplara ait beyin ve beyincikteki toplam lipid miktarlarının birbirleriyle karşılaştırılması

Deney Grupları (n=6)		Toplam Lipid Miktarı (mg/100mg) [N± (SEM)]		P
I	II	I	II	
Saf Grup Sağ Beyin	Saf Grup Sol Beyin	9.80±0.31	9.43±0.21	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyin		9.58±0.35	>0,05
	Ketamin Grubu Sağ Beyin		9.65±0.32	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		6.01±0.14	<0,01
Saf Grup Sol Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	9.43±0.21	9.16±0.23	>0,05
	Ketamin Grubu Sol Beyin		9.33±0.20	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyin		5.88±0.21	<0,01
Saf Grup Sağ Beyincik	Saf Grup Sol Beyincik	10.40±0.39	9.56±0.18	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyincik		9.66±0.38	>0,05
	Ketamin Grubu Sağ Beyincik		9.70±0.24	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		6.10±0.08	<0,01
Saf Grup Sol Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	9.56±0.18	9.25±0.32	>0,05
	Ketamin Grubu Sol Beyincik		9.45±0.22	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik		5.98±0.13	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	9.58±0.35	9.16±0.23	>0,05

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

Tablo 2'nin devamı

Deney Grupları (n=6)		Toplam Lipid Miktarı (mg/100mg) [N± (SEM)]		P
I	II	I	II	
Kontrol Grubu Sağ Beyin	Ketamin Grubu Sağ Beyin	9.58±0.35	9.65±0.25	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		6.01±0.14	<0,01
Kontrol Grubu Sol Beyin	Ketamin Grubu Sol Beyin	9.16±0.23	9.33±0.20	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyin		5.88±0.21	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	9.66±0.38	9.25±0.32	>0,05
	Ketamin Grubu Sağ Beyincik		9.70±0.24	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		6.10±0.08	<0,01
Kontrol Grubu Sol Beyincik	Ketamin Grubu Sol Beyincik	9.25±0.32	9.45±0.22	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik		5.98±0.13	<0,01
Ketamin Grubu Sağ Beyin	Ketamin Grubu Sol Beyin	9.65±0.25	9.33±0.20	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		6.01±0.14	<0,01
Ketamin Grubu Sol Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	9.33±0.20	5.88±0.21	<0,01
Ketamin Grubu Sağ Beyincik	Ketamin Grubu Sol Beyincik	9.70±0.24	9.45±0.22	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		6.10±0.08	<0,01
Ketamin Grubu Sol Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	9.45±0.22	5.98±0.13	<0,01

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

Tablo 2'nin devamı

Deney Grupları (n=6)		Toplam Lipid Miktarı (mg/100mg) [N± (SEM)]		P
I	II	I	II	
Kadmiyum Grubu Sağ Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	6.01±0.14	5.88±0.21	>0,05
Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	6.10±0.08	5.98±0.13	>0,05

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

**Tablo 3.** Tüm gruplara ait beyin ve beyincikteki toplam protein miktarlarının birbirleri ile karşılaştırılması

Deney Grupları (n=6)		Toplam Protein Miktarı (mg/100mg)		P
I	II	I	II	
Saf Grup Sağ Beyin	Saf Grup Sol Beyin	5.54±0.11	5.62±0.15	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyin		5.21±0.05	>0,05
	Ketamin Grubu Sağ Beyin		5.40±0.20	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		3.06±0.05	<0,01
Saf Grup Sol Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	5.62±0.15	5.12±0.11	>0,05
	Ketamin Grubu Sol Beyin		5.32±0.17	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyin		2.92±0.11	<0,01
Saf Grup Sağ Beyincik	Saf Grup Sol Beyincik	6.01±0.08	5.93±0.20	>0,05
	Kontrol Grubu Sağ Beyincik		5.75±0.08	>0,05
	Ketamin Grubu Sağ Beyincik		5.66±0.16	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		3.32±0.13	<0,01
Saf Grup Sol Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	5.93±0.20	5.45±0.13	>0,05
	Ketamin Grubu Sol Beyincik		5.57±0.13	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik		3.23±0.10	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyin	Kontrol Grubu Sol Beyin	5.21±0.05	5.12±0.11	>0,05

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (&gt;0,05 anlamsız; &lt;0,05 anlamlı; &lt;0,01 ileri derecede anlamlı)

Tablo 3'ün devamı

Deney Grupları (n=6)		Toplam Protein Miktarı (mg/100mg)		P
I	II	I	II	
Kontrol Grubu Sağ Beyin	Ketamin Grubu Sağ Beyin	5.21±0.05	5.40±0.20	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		3.06±0.05	<0,01
Kontrol Grubu Sol Beyin	Ketamin Grubu Sol Beyin	5.12±0.11	5.32±0.17	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyin		2.92±0.11	<0,01
Kontrol Grubu Sağ Beyincik	Kontrol Grubu Sol Beyincik	5.75±0.08	5.45±0.13	>0,05
	Ketamin Grubu Sağ Beyincik		5.66±0.16	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		3.32±0.13	<0,01
Kontrol Grubu Sol Beyincik	Ketamin Grubu Sol Beyincik	5.45±0.13	5.57±0.13	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik		3.23±0.10	<0,01
Ketamin Grubu Sağ Beyin	Ketamin Grubu Sol Beyin	5.40±0.20	5.32±0.17	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyin		3.06±0.05	<0,01
Ketamin Grubu Sol Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	5.32±0.17	2.92±0.11	<0,01
Ketamin Grubu Sağ Beyincik	Ketamin Grubu Sol Beyincik	5.66±0.16	5.57±0.13	>0,05
	Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik		3.32±0.13	<0,01
Ketamin Grubu Sol Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	5.57±0.13	3.23±0.10	<0,01

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

**Tablo 3'ün devamı**

<b>Deney Grupları (n=6)</b>		<b>Toplam Protein Miktarı (mg/100mg) [N± (SEM)]</b>		<b>P</b>
<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	
Kadmiyum Grubu Sağ Beyin	Kadmiyum Grubu Sol Beyin	3.06±0.05	2.92±0.11	>0,05
Kadmiyum Grubu Sağ Beyincik	Kadmiyum Grubu Sol Beyincik	3.32±0.13	3.23±0.10	>0,05

SEM, ortalamanın standart hata değeri; n, hayvan sayısı; P, anlamlılık derecesi (>0,05 anlamsız; <0,05 anlamlı; <0,01 ileri derecede anlamlı)

Saf grup ile kontrol grubu arasında ve ketamin grubu ile kontrol grubu arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ), (tablo 2, 3).

Kadmiyum grubunda saf, kontrol ve ketamin gruplarına göre beyin ve beyincikteki toplam lipid miktarının yaklaşık % 38, protein miktarının % 46 oranında azalmış olduğu ve aradaki bu farkın istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı olduğu bulundu (tablo 2, 3), ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubu sağ beyine ait lipid miktarının  $9.58\pm 0.35$ , saf grup sağ beyine ait lipid miktarının  $9.80\pm 0.31$  olduğu (tablo 2), kontrol grubu sağ beyine ait protein miktarının  $5.21\pm 0.05$ , saf grup sağ beyine ait protein miktarının  $5.54\pm 0.11$  olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sağ beyin ile saf grup sağ beyin arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $9.66\pm 0.38$ , saf grup sağ beyinciğe ait lipid miktarının  $10.40\pm 0.39$  olduğu (tablo 2), kontrol grubu sağ beyinciğe ait protein miktarının  $5.75\pm 0.08$ , saf grup sağ beyinciğe ait protein miktarının  $6.01\pm 0.08$  olduğu tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sağ beyincik ile saf grup sağ beyincik arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu sol beyine ait lipid miktarının  $9.16\pm 0.23$ , saf grup sol beyine ait lipid miktarının  $9.43\pm 0.21$  olarak (tablo 2), kontrol grubu sol beyine ait protein miktarının  $5.12\pm 0.11$ , saf grup sol beyine ait protein miktarının  $6.62\pm 0.15$  olduğu tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sol beyin ile saf grup sol beyin arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü. ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu sol beyinciğe ait lipid miktarı  $9.25\pm 0.32$ , saf grup sol beyinciğe ait lipid miktarında  $9.56\pm 0.18$  olarak (tablo 2), kontrol grubu sol beyinciğe ait protein miktarı  $5.45\pm 0.13$ , saf grup sol beyinciğe ait protein miktarının da  $5.93\pm 0.20$  olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sol beyincik ile saf grup sol beyincik arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında istatistik açıdan anlamlı bir fark tesbit edilemedi ( $p>0.05$ ).

Kontrol grup sağ beyine ait lipid miktarı 9.58±0.35, ketamin grubu sağ beyine ait lipid miktarı 9.65±0.25 olarak (tablo 2), kontrol grubu sağ beyine ait protein miktarı 5.21±0.05, ketamin grubu sağ beyine ait protein miktarı 5.40±0.20 olarak tesbit edildi (tablo 3). Saf grup sağ beyin ile kontrol grubu sağ beyin arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarı 9.66±0.38, ketamin grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarı 9.70±0.24 olarak (tablo 2), kontrol grubu sağ beyinciğe ait protein miktarı 5.75±0.08, ketamin grubu sağ beyinciğe ait protein miktarı 5.66±0.16 olarak tesbit edildi (tablo 3). Saf grup sağ beyin ile kontrol grubu sağ beyin arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu sol beyine ait lipid miktarı 9.16±0.23, ketamin grubu sol beyine ait lipid miktarı 9.23±0.20 olarak (tablo 2), kontrol grubu sol beyine ait protein miktarı 5.12±0.11, ketamin grubu sol beyine ait protein miktarı 5.32±0.17 olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sol beyin ile ketamin grubu sol beyin arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu sol beyinciğe ait lipid miktarı 9.25±0.32, ketamin grubu sol beyinciğe ait lipid miktarı 9.45±0.22 olarak (tablo 2), kontrol grubu sol beyinciğe ait protein miktarı 5.45±0.13, ketamin grubu sol beyinciğe ait protein miktarı 5.57±0.13 olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sol beyinciğe ile ketamin grubu sol beyincik arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubu sağ beyine ait lipid miktarı 9.58±0.35, kadmiyum grubu sağ beyine ait lipid miktarı 6.04±0.14 olarak (tablo 2), kontrol grubu sağ beyine ait protein miktarı 5.21±0.05, kadmiyum grubu sağ beyine ait protein miktarı 3.06±0.05 olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sağ beyin ile kadmiyum grubu sağ beyin arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olduğu görüldü ( $p<0.001$ ).

Kontrol grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarı 9.66±0.38, kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait lipid miktarı 6.10±0.08 olarak (tablo 2), kontrol grubu

sağ beyinciğe ait protein miktarı  $5.75 \pm 0.08$ , kadmiyum grubu sağ beyinciğe ait protein miktarı  $3.32 \pm 0.13$  olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sağ beyincik ile kadmiyum grubu sağ beyincik arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olduğu görüldü ( $p < 0.001$ ).

Kontrol grubu sol beyine ait lipid miktarı  $9.16 \pm 0.23$ , kadmiyum grubu sol beyine ait lipid miktarı  $5.88 \pm 0.21$  olarak (tablo 2), kontrol grubu sol beyine ait protein miktarı  $5.12 \pm 0.11$ , kadmiyum grubu sol beyine ait protein miktarı  $2.92 \pm 0.11$  olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sol beyin ile kadmiyum grubu sol beyin arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olduğu görüldü ( $p < 0.001$ ).

Kontrol grubu sol beyinciğe ait lipid miktarı  $9.25 \pm 0.32$ , kadmiyum grubu sol beyinciğe ait lipid miktarı  $5.98 \pm 0.13$  olarak (tablo 2), kontrol grubu sol beyinciğe ait protein miktarı  $5.45 \pm 0.13$ , kadmiyum grubu sol beyinciğe ait protein miktarı  $3.23 \pm 0.10$  olarak tesbit edildi (tablo 3). Kontrol grubu sol beyincik ile kadmiyum grubu sol beyincik arasında hem lipid, hem de protein miktarları arasında önemli bir farkın olduğu görüldü ( $p < 0.001$ ).

Gruplar içinde, sağ beyin-sol beyin ve sağ beyincik-sol beyincik arasında yapılan karşılaştırmalarda toplam lipid ve protein miktarları arasındaki farkın önemsiz olduğu görüldü (tablo 2, 3), ( $p > 0,05$ ).

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan çalışmada, somatomotor kortekse intrakortikal yolla verilen kadmiyum sülfat'ın ( $\text{CdSO}_4$ ) sıçan merkezi sistemi elemanlarından beyin ve beyincikteki toplam lipid ve protein miktarları üzerine olan etkisi araştırıldı. Deney hayvanları davranışları yönünden incelendiğinde, operasyonu takip eden 0–10 gün arasında hareketlerinde yavaşlama, besin ve suyu tanıyamama, yön bulmada zorluk, nadirde olsa şiddetli saldırganlık içinde oldukları gözlemlendi. 10. günden sonra aşırı bilinçsiz hareketler yaptıkları ve epileptik nöbetlere benzer (ön ekstremitelerde çekilme, yuvarlanma gibi) davranışlar sergiledikleri izlendi. Gözlenen bu davranışlar çinko ile yapılan çalışmalarda tarif edilen davranışlara benzemektedir (33).

Elde edilen analiz sonuçları, anestezi madde olarak kullanılan ketaminin toplam lipid ve protein miktarları üzerine istatistiksel açıdan önemli bir fark oluşturmadığını göstermiştir (tablo 2, 3). Ancak, saf grup, ketamin grubu ve kontrol grubu verileriyle kadmiyum grubu verileri arasında önemli fark tesbit edilmiştir (tablo 2, 3). Kadmiyum beyin ve beyinciklerindeki toplam lipid ve protein miktarlarında azalmaya yol açmıştır (tablo 1).

Yapılan çalışmalarda kadmiyum sülfatın, beyincikte önemli ölçüde hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (29, 34, 35). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar da, muhtemelen kadmiyumun neden olduğu tahribatla ilgili olabilir.

Kadmiyumun hangi mekanizma ile hücre ölümüne neden olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak çinkoda olduğu gibi aşırı nöron aktivitesine sebep olarak, muhtemelen güçlü bir eksitator transmitter olan glutamatın reseptörlerinden NMDA'yı aktiveleme yoluyla böyle bir etki gösterebileceği tahmin edilmektedir (36). Yapılan pek çok çalışma, bu tip hücre ölüm mekanizmalarının çok değişik şekillerde olabileceği ihtimali üzerinde durmaktadır (7, 37–41). Eksternal yolla dokulara uygulanan bazı metallerin proteinlerin tiyol ve imidazol kısımlarıyla reaksiyona girmek suretiyle proteinin yapı ve fonksiyonunu değiştirdiği, neticede hücre ölümünü başlattığı ileri sürülmüştür (42). Çinko ile yapılan bir çalışmada (43), bunun mitokondrilerde elektron transportunu

yavaşlattığı, dolayısıyla hücrede enerji üretimini ve aktif membran pompalarının faaliyetini önleyerek hücre şişip parçalanmasına yol açtığı ileri sürülmüştür.

Serbest radikaller normal enerji metabolizmasının ürünü olup hücrelerde yükseltgenme-indirgenme reaksiyonları sırasında sürekli olarak üretilirler. Bazı serbest radikallerin fazla oldukları zaman zardaki kolesterolün ve yağ asitlerinin doymamış bağlarına tutunarak zar lipid peroksidasyonuna (MLP) neden oldukları, böylelikle plazma membranının bütünlüğünü bozdukları ileri sürülmüştür (44). Plazma membranının bütünlüğü bozulduğunda, membrandan geçebilen iyonların gradientleri uzun süre devam edemez, sonuçta ekstrasellüler ortamda bulunan iyonlar hücre içine girer (45). Nöronlarda, hücre içi  $Ca^{2+}$  iyon miktarının artışı ise oksidatif hücre ölümünün aracısı olarak düşünülmektedir (46–49).

Eksitoksisite ve oksidatif stresin merkezi sinir sisteminde patolojik nöron ölümünün iki temel mekanizması olduğu ileri sürülmüştür (50, 51). Eksitotoksisite oluşumunda,  $Ca^{2+}$  un hücre içine girişindeki artış,  $Ca^{2+}$  ile aktive olan fosfolipaz ve/veya NO sentaz aracılığıyla serbest radikal üretimini arttırmaktadır. Serbest radikal miktarının artışı da glutamat salınımını arttırmakta ve bu şekilde eksitotoksik hasar daha da büyümektedir (52, 53).

Kesin olarak ifade edilmemesine rağmen pek çok araştırmacı aşırı kalsiyum birikimi ile nöronal ölümler arasında ilişki kurmuşlardır (54–57). Ekstrasellüler ortamdan kalsiyumun uzaklaştırılmasıyla da hücre ölümünün azaldığı bildirilmiştir (58, 59).

Kadmiyumun uyardığı apoptozis, apoptozisin işleyiş mekanizmasını gösteren aktive edilmiş protein kinazlar sayesinde oluşur (60). Kadmiyumun alınış yolları hava partekülleri, sigara dumanı, içme suyu ve besin yoluyla olduğu tarif edilmiştir (61). Hücrelere kadmiyum alımı, basit difüzyonla olur ve kadmiyum aynı zamanda kalsiyum, çinko ve bakır transport yollarından da faydalanır (62). Kadmiyum alımı, aynı zamanda membran proteinlerindeki sülfidril grupları ile etkileşimi de gerektirir (62, 63).

Kadmiyum diğer ağır metaller gibi protein yan zincirlerindeki bazı ligandlara ilgi gösterir, şeker ve aminoasit transportunun inhibisyonuna neden olan taşıyıcı protein moleküllerine bağlanabilir (64).

Proteinler, canlı organizmanın fizyolojisinde hayati bir rol oynar. Tüm biyolojik aktiviteler aynı zamanda protein olan enzimler ve hormonlarla düzenlenir. Protein içeriğini tayin etme, hücrelerin fizyolojik fazlarını tesbit etmek için tanısal bir araç olarak düşünülebilir (65). Kadmiyumun elektronik konfigürasyonu çinkonunkine benzerdir ve çinko ile proteinlerine bağlanmak için yarışır. Bobilya ve ark. kadmiyumun çinko transport sistemi yoluyla endotelial hücrelere alındığını rapor etmişlerdir (66). Çinko gibi kadmiyumda voltaj bağımlı kalsiyum kanalları, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri ve kalsiyum geçiren  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazoleoropiyonik asit (AMPA)/kainat reseptörü yoluyla benzer mekanizma ile nöronlara alınabilir (67). Amigdala, glutamaterjik çinko içeren nöronlarca zengin bir bölgedir. Bu yüzden kadmiyum, glutamaterjik çinko içeren nöronlarca zengin amigdalar nöronlar içerisine alınır ve sonunda kalsiyum ve impuls bağımlı yolda sinaptik yarık içerisine serbestlenirler (68).

Bazı sinapslarda kadmiyum, uzun dönemli bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Kadmiyum voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe ettiğinden dolayı, nöron terminallerinden nörotransmitter salınımını etkileyebilir. Amigdalar nöronlara alınan kadmiyum, nöron terminallerinden salınabilir ve sinaptik nörotransmisyonadaki basamakları ve dengeyi uzun bir süre etkileyebilir (69).

Kadmiyum, Zn ile birlikte aynı sülfidril gruplarına bağlanmak için yarışır ve bağlanarak daha sağlam bir bağ oluşturur. Proteinler, oldukça duyarlı moleküllerdir ve ağır metal zehirlenmelerinde erken indikatörlerdir (28).

Fasitsas ve ark. (70) yaptıkları bir çalışmada, kadmiyuma maruz bırakılan sıçan beyinlerindeki sinaptozomal plazma membranlarında (SPM) protein-lipid etkileşimini incelemişler, kadmiyuma maruz kaldıktan 12 saat sonra SPM'nin maksimum azaldığını, lipid peroksidasyonunda önemli bir artış olduğunu, 18 ve 24 saat sonra kontrol grubu ile karşılaştırıldığında membran akışkanlığında önemli bir düşüş olduğunu tesbit etmişlerdir.

Kurde (71) ve Kapilla (65), bir tekstil fabrikasının atık suları nedeniyle bu bölgede bulunan sıçanların serum proteini içeriğinde artış tesbit ettiler. B. Rojanna ve ark. (72) kadmiyumun kan serumu toplam protein seviyesinde artışa neden olduğunu tesbit ettiler. Protein içeriğindeki bu artış pek çok araştırmacı

tarafından mikrozomal protein sentezindeki artış sayesinde gösterilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, beyin ve beyincikte toplam protein seviyesinde istatistiksel açıdan önemli bir farkın olduğunu ortaya çıkarmıştır (tablo 3). Benito ve ark. yaptığı çalışmada, dişi sıçanlar gebeliğin ilk gününden itibaren içme sularına kadmiyum asetat karıştırılarak kadmiyuma maruz bırakılmışlar, doğan yavruların beyinlerinde toplam lipid, protein ve nükleik asit miktarları araştırılmış, kontrol ve kadmiyum grupları arasında herhangi bir farklılık bulunamamış, ancak kadmiyum grubu yavruların beyin ağırlıkları önemli derecede artmıştı (27). Diğer yandan, Molinero ve ark. (73) yaptıkları bir çalışmada, gebe ratların içme sularına kadmiyumla birlikte kurşun eklenmiş, sonuçta doğum sonrası yavru sıçan beyinlerinde toplam protein miktarında % 16, toplam lipid miktarında % 24 oranında bir azalma tesbit etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Antonio ve ark. (74) aynı şekilde kadmiyum ve kurşuna maruz bırakılan gebe ratların yavrularının beyinlerindeki toplam protein miktarında yenidoğan yavrularda % 17, beş günlük yavrularda % 31, toplam lipid miktarında yenidoğanlarda % 11 ve beş günlük yavrularda % 23 oranında azalma tesbit etmişlerdir.

Genç ve ark., beyin korteksine 0.0021 mg/kg dozunda kadmiyum sülfat enjekte edilen sıçan beyinciğinde ışık mikroskobu altında, alan kaydırma yöntemiyle yaptıkları hücre sayımlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında purkinje hücrelerinde önemli bir kaybın olduğunu rapor etmişlerdir (34). Benzer bir çalışmada Bağırıcı ve ark., kadmiyumun beyincikte hücre kayıplarına neden olduğunu göstermişlerdir (35). Diğer taraftan, stereolojik yöntem kullanılarak kadmiyumun serebellumda meydana getirdiği hücre kayıpları üzerine Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibitörleriyle yapılan bir çalışmada, kadmiyumla birlikte verilen Nitrik Oksitin (NO) beyincikte anlamlı hücre kayıplarına neden olduğu tesbit edilmiştir (29).

Çalışmamızdaki veriler, daha önce kadmiyumla yapılan çalışmalardaki toplam hücre sayısındaki kayıpların mekanizması hakkında bir fikir sahibi olmamızı sağlamıştır. Toplam hücre sayısındaki azalmalar bizim çalışmamızdaki toplam lipid ve protein miktarındaki azalmalara benzerlik göstermektedir. Gerek alan kaydırma, gerekse stereolojik yöntemlerle yapılan

hücre sayımlarında kadmiyumun, kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı hücre kayıplarına neden olduğu açıktır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, önceki çalışmaların sonuçları ile örtüşmektedir. Kadmiyum hücre membran lipidlerinde lipid peroksidasyonuna bağlı olarak toplam lipid miktarında azalmaya, dolayısıyla membran akışkanlığında azalmaya, sonuçta hücre ile çevresindeki ilişkinin bozulmasına sebep olmuş olabilir, kadmiyum ortama serbestlenen NO'nin serbestlenme sürecini hızlandırmış, ortamda bulunan kadmiyumla birlikte NO'de toksik etki göstererek hücre kayıplarına neden olmuş olabilir. Ayrıca NO'nin bir amino asit olan L-arjininden sentez edildiği unutulmamalıdır.

Sonuç olarak, bu çalışmada beyin ve beyincikte kadmiyum nörotoksitesinin oldukça etkili olduğu, hem beyin, hem de beyincikte toplam lipid ve protein miktarları üzerine etkili olduğu tesbit edilmiştir.

Bu verilerin daha iyi anlaşılabilmesi için mikro çevre ile nöronlarda meydana gelen değişimlerin elektron mikroskopuyla; kadmiyum odağında ve daha uzak bölgelerde meydana gelebilecek biyokimyasal ve moleküler düzeydeki değişimlerin immünohistokimyasal ve organel bazında biyokimyasal metodlarla araştırılması gerekmektedir. Böylece çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin hücresel ve biyokimyasal mekanizmaları daha iyi anlaşılabilir.

## 5. KAYNAKLAR

1. Beeby A. N. Molluscs and metal pollution. Invited lecture to the Royal Society of Chemistry. Derby 1984.
2. Buzard, G. S. and Kasprazak, K. S. (2000) Possible roles of nitric oxide and redox cell signaling in metal induced toxicity and carcinogenesis: a review. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 19, 179–199.
3. Li, M., Kondo, T., Zhao, Q. L., Li, F. J., Tanabe, K., Arai, Y., Zhou, Z. C. and Kazuya, M. (2000). Apoptosis induced by cadmium in human lymphoma U937 cells through  $\text{Ca}^{2+}$ -calpain and caspase-mitochondria-dependent pathways. *J. Biol. Chem.*, 275, 39702–39709.
4. Waalkes, M. P. (2000). Cadmium carcinogenesis in review. *J. Inorg. Biochem.*, 79, 241–244.
5. Ye, J., Wang, S., Barger, M., Castranova, V. and Shi, X. (2000). Activation of androgen response element by cadmium: a potential mechanism for a carcinogenic effect of cadmium in the prostate. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 19, 275–280.
6. Donaldson J, St. Pierre J, Minnich J, Barbeau A. Seizures in rats associated with divalent cation inhibition of Na-K-ATPase. *Can J Biochem* 1971; 49: 1217–1224
7. Harris AB. Structural and chemical changes in experimental epileptic foci. In: Lockard J.S., Jr. Ward A.A. (eds.) *Epilepsy A window to brain mechanisms*. New York, Raven Press, 1980; 149–164.
8. Kopeloff L.M., Barrera S.E., Kopeloff N. Recurrent convulsive seizures in animals produced by immunologic and chemical means. *Am J Psychiat* 1942; 98: 81–902.
9. Kopeloff L.M. Experimental epilepsy in the mouse. *Proc Soc Exp Biol Med* 1960; 104: 500–504.
10. Löscher W, Meldrum B.S. Evaluation of anticonvulsant drugs in genetic animal models of epilepsy. *Fed Proc* 1984; 43: 276–284.
11. Matsumoto H. Intracellular events during the activation of cortical epileptiform discharges. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1964; 17: 294–

- 307.
12. Purpura D.P., Gonzales-Monteaguto MD. Acute effects of methoxypyridoxine on hippocampal end-blade neurons; an experimental study "Special pathocllisis" in the cerebral cortex. *J Neuropath Exp Neurol* 1960; 19: 421–432.
  13. Reid, S.A. and Sybert, G.W., Acute FeCl<sub>3</sub> induced epileptogenic foci in cats: Electrophysiological analses, *Brain Res.* 188, 531–542, 1980
  14. Wilmore, L.J., Tringgs, W.J. and Gray, J.D. The role of iron-induced hippocampal peroxidation in acute epileptogenesis, *Brain Res.*, 382, 422-426, 1986
  15. Pei, Y., Zhao, D., Haung, J., Cao, L., Zinc-induced seizures, A new experimental model of epilepsy, *Epilepsia*, 24, 169–176, 1983.
  16. Stercova A. Dynamics of neurohistopathological changes in an epileptogenic focus produced by Alumina cream in the rat. In: Servit Z (ed.) *Comparative and cellular pathophysiology of epilepsy*. Prague, Publishing house of Czechoslovak Academy of Sciences, 1966.
  17. Mayman, C.I., Manlapez, I.S., Ballantine, H.T., Richardson, E.P., A neuropathological study of experimental epileptogenic lesions in the cat. *J. Neuropath Exp. Neurol.* 24: 502–511, 1965.
  18. Parlak, Ö., Arı, Z., Marangoz, C., Epilepside serum çinko ve bakır değerleri , *Doğa Bilim Dergisi, Seri C.*, 10, 2033–206, 1986.
  19. Chung, S. H., and Johnson, M.S., Studies on sound-induced epilepsy in mice, *Proc. Roy. Soc., Lond.*, 221, 145–168, 1984.
  20. Hartman, E.R., Colosanti, B.K., Craig, C.R., Epileptogenic properties of cobalt and related metals applied directly to cerebral cortex of rat. *Epilepsia*, 15, 121–129, 1974.
  21. Okada K, Ayala GF, Sung JH. Ultrastructure of penicillin induced epileptogenic lesion of the cerebral cortex in cats. *J Neuropath Exp Neurol* 1971; 30: 337–353.
  22. Shukla G.S., Hussain T., Chandra S.V. Possible role of regional superoxicity. *Life Sciences* 41. 2215–2221, 1987.

23. Kumar R., Agarwal A.K, Seth P.K. Oxidative stress-mediated neurotoxicity of cadmium. *Toxicology Letters* 89: 65–69, 1996.
24. Vig P.J., Ravi K., Nart R. Interraction of metals with brain calmodulin prufide from normal and Cadmium exposed rats. *Drug and chemical Toxicology* 14: 207–218, 1991.
25. Flora, S.R., Tandon, S.K., Effect of compined exposure to cadmium and ethanol on regional brain biogenic amine levels in the rat. *Biochemistry International*, 15(4): 863–71, 1987
26. Benito M. J., Leret M.L., Corpas I., Antonio M.T., Neurotoxic Effect of Gestaional Administration of Low Dose of Cadmium Acetate. *Toxicology Letters*, Volume 78, Supplement 1, August 1995, Page 20.
27. Benito M. J., Corpas I., Leret M.L., Antonio M.T., Cd alters indoleamines content in neonatal rat brain, *Toxicology Letters*, Volume 88, October 1996, Pages 25-26
28. Joshi, P.K., Bose, M., Toxicity of Cadmium: A comparative study in the air breathing fish, *clarias batrachus* and in non-air breathing one, *ctenopharyngodon idellus*. *Aquatic Toxicology: Mechanisms and Consequences*, International Congress on The Biology of Fish, Vancouver, Canada 2002.
29. Tan. F., Sıçan (*Wistar albino*) serebellumunda kadmiyumun neden olduğu hücre ölümüne nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin etkisi, Doktora Tezi, Mayıs 2003
30. Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 922.
31. Peterson, G. L. (1983) Determination of total protein. *Methods Enzymol.* 91, 95-121
32. Sokal, R.R. and Rohlf, F.J., 1981. *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological research*, W. H. Freeman and Co., New York
33. Pei Y., Koyama I. Features of seizures and behavioral changes induced by intrhippocampal injections of zinc sulfate in the rabbits. A new experimental model of epilepsy. *Epilepsia*, 27: 183–188, 1986.

34. Genç H., Bağırcı F., Çakır A., Demir Ş., Tan F., (2001) Effect of Flunarizine On Cadmium-Induced Purkinje Cell Loss in Rats, Neuroscience Research Communications, Vol.28, No.2
35. Bağırcı F., Genç H., Tan F., Demir Ş.,(2001) Neuroprotective Effect of Nicardipine on Cadmium-Induced Purkinje Cell Death in Rat Cerebellum, Neuroscience Research Communications, Vol. 29, No. 2
36. Demir Ş., Genç O, Bağırcı F, Ayyıldız M, Korkmaz A, Marangoz C. Beyinde çinkonun sebep olduğu hücre ölümüne verapamilin etkisi. O.M.Ü. Tıp Dergisi 1996; 13 (1): 19–25.
37. Iadecola C. Zhang F, Casey R, Nagayama M, Ross ME. Delayed reduction of ischemic brain injury and neurological deficits in mice lacking the inducible nitric oxide synthase gene. The Journal of Neuroscience 1997; 17: 9157–9164.
38. Iadecola C, Zhang F, Xu X. Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression in brain following focal cerebral ischemia. Am J Physiol 1995a; 268: 286–292.
39. Ignarro L.J., Byrns R.E., Buga G.M., Wood K.S. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacological and chemical properties that are identical to those for nitric oxide radical. Circ Res 1987, 61: 866–879.
40. Hambidge KM. Zinc. In: Mertz W (ed.) Trace elements in human and animal nutrition (5<sup>th</sup> ed.) Vol. 1. San Diego. FL Academic Press., 1987; 1–137.
41. Heneka MT, Loschmann PAA, Gleichmann M, Weller M, Schulz JB, Wullner U, Klockgether T. Induction of nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated apoptosis in neuronal PC12 cells after stimulation with tumor necrosis factor-alpha/lipopolysaccharide. J Neurochem 1998; 71: 88–94.
42. Chvapil M, Elias SL, Ryan JN, Zukoski CF. Pathophysiology of zinc. In: Pfeiffer CC (ed.) Neurobiology of Trace Metals Zinc and Copper (2<sup>nd</sup> ed.) Vol 1. New York, Academic Press., 1972; 105–124.

43. Nicholls P, Malviya AN. Inhibition of nonphosphorylating electron transfer by zinc: The problem of delineating interaction sites. *Biochemistry*. 1968; 305–310.
44. Boje KMK. Inhibition of nitric oxide synthase attenuates blood-brain barrier disruption during experimental meningitis. *Brain Research* 1996; 720: 75–83.
45. Robb SJ, Robb-Gaspers, L.D., Scaduto, R.C., Thomas, Jr. A.p., Connor, J:R. Influence of calcium and iron on cell death and mitochondrial function in oxidatively stressed astrocytes. *J. Neurosci Res.*, 1999; 55(6), 674–686.
46. Landfield PW, Thibault O, Mazzanti ML, Porter NM, Kerr DS. Mechanism of neuronal death in brain aging and Alzheimer's disease: role of endocrine-mediated calcium dyshomeostasis. *J. Neurobiol* 1992; 23, 1247–1260.
47. Beal MF. Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative disease. *Ann. Neurol* 1995; 38, 357–366.
48. Dawson R, Beal MF, Bondy SC, Di Monte DA, Ision GE. Excitotoxins aging and environmental neurotoxins: Implications for understanding human neurodegenerative diseases. *Toxicol. Applied Pharmacol*, 1995; 134, 2553–2562.
49. Orrenius S, Ankarcrona M, Nicotera P. Mechanism of calcium related cell death. *Adv. Nol*, 1996; 71, 137–151.
50. Choi DV. Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system. *Neuron*, 1988; 1, 623.
51. Alberts GW, Goldberg MP, Choi DW. Do NMDA antagonists prevent neuronal injury? Yes. *Arch. Neurol.*, 1992; 49, 418–420.
52. Pellegrini-Giampietro and Cherici G., at all. Excitatory amino acid release from rat hippocampal slices as a consequence of free radical formation. *J Neurochem*, 1988; 51, 1960.
53. İzumi Y, Benz AM, Clifford DB, Zorumski CF. Nitric oxide inhibitors attenuate N-methyl-D-aspartate excitotoxicity in rat hippocampal slices. *Neurosci Let*; 1992; 135, 227.

54. Sakamoto N, Kogarek, Kato H and Ohtoma H. Disturbed Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the gerbil hippocampus following brief transient ischemia. *Brain Research*, 1986; 364, 372–376.
55. Desphande JK, Sresjo BK and Wieloch T. Calcium accumulation and neuronal damage in the rat hippocampus following cerebral ischemia. *J Cereb. Blood Flow. Metab*, 1987; 7, 89–95.
56. Dux E, Mies G, Hossmann KA, and Siklos L. Calcium in the mitochondria following brief ischemia of the gerbil brain. *Neurosci. Press*. 1987; 78, 295–300.
57. Martins E, Inamura K, Themner K, Malongvist KG, and Siresjö BK. Accumulation of calcium and loss of potassium in the hippocampus following transient cerebral ischemia: a proton microprobe study. *J. Cereb. Blood Flow Metab*, 1988; 8, 531–538.
58. Schanne FAX, Kane AB, Young EE, Farber JL, Calcium dependence of toxic cell death: a final common Pathway, *Science*, 1979; 206, 700–702.
59. Hansen AK and Zeuthen T, . Extracellular ion concentrations during spreading depression and ischemia in the rat brain cortex. *Acta Physiol. Scand. Biochemistry*, 1981; 36, 5276–5284.
60. Chuang, S. M., Wang, I. C. and Yang, J. L. (2000) Roles of JNK, p38 and ERK mitogen-activated protein kinases in the growth inhibition and apoptosis induced by cadmium. *Carcinogenesis*, 21, 1423–1432.
61. Fels, L. M. (1999) Risk assessment of nephrotoxicity of cadmium. *Ren. Fail.*, 21, 275–281.
62. Limaye, D. A. and Shaikh, Z. A. (1999) Cytotoxicity of cadmium and characteristics of its transport in cardiomyocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 154, 59–66.
63. Rosati, A. M. and Traversa, U. (1999) Mechanisms of inhibitory effects of zinc and cadmium ions on agonist binding to adenosine A1 receptors in rat brain. *Biochem. Pharmacol.*, 58, 623–632.
64. Alvarado, F. 1966. Transport of sugars and amino acids in the intestine. evidences for a common carrier. *Science*. 151: 1011–1012.

65. Kapila M. and Raghothaman G.. 1999. Mercury, copper and cadmium induced changes in the total protein level muscle tissue of an edible estuarine fish *Boleophthalmus dessoimieri*. Cuv. J.Envi. Biol.20 (3), 231–234.
66. Bobilya D. J., Briske-Anderson M., and Reeves P. G.: J. Cell. Physiol. 151, 1 (1992).
67. Usai C., Barberis A., Moccagatta L., and Marchetti C.: J. Neurochem. 72, 2154 (1999).
68. Yang J., Ellinor P. T., Sather W. A., Zhang J. F., and Tsien R. W.: Nature 366, 109 (1993).
69. Minami, A., Takeda, A., Nishibaba, D., Takefuda, S., Oku, N., Cadmium action in synapses in the brain, RIKEN review No. 35 (May. 2001).
70. Fasitsas, C.D., Theocharis, S.E., Zoulas, D., Chrissimou, S., Deliconstantinos, G., Time-dependent Cadmium-neurotoxicity in rat brain synaptosomal plasma membranes. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology and Toxicology, Volume 100. Issues 1–2, 1991, Pages 271–275
71. Kurde S. 1990. Effect of textile mill effluents and dyes on the hematological parameters in albino rats. Ph. D.Thesis.
72. Rajanna, B., Chapatwala K.D., Vaishnav D.D. and Desai D.1981. Changes in ATPase activity in tissues of rat fed on cadmium. J. Envi. Biol. 2(1) 1–9.
73. Molinero, M., Leret, M.L., Corpas, I., Antonio, M.T., Changes Induced by Cadmium and Lead During gestational Administration in Neonates Brain Rat. Toxicology letters, Volume 78, Supplement 1, August 1995, Page 57
74. Antonio, M.T., Corpas I., Leret, M.L., Neurochemical changes in newborn rat's brain after gestational cadmium and lead exposure. Toxicology letters, Volume 104 (1999) Pages 1–9