

## Sıçanlarda Yüksek Bakır ve Çinkonun Bazı Hematolojik Parametreler Üzerine Etkileri\*

Sebahat AYDEMİR

Veteriner Hekim, Denizli - TÜRKİYE

Mukaddes ÖZCAN

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 14.11.2001

**Özet:** Sıçanlarda diyet yüksek düzeyde çinko (Zn) ve bakır (Cu) katılmasının karaciğer, pankreas ve serumda Zn-Cu düzeyleri, eritrosit, lökosit sayıları, hematokrit değer, hemoglobin miktarı, eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, canlı ağırlık ile karaciğer, pankreas ağırlıkları üzerine etkileri araştırıldı.

Yetmiş yedi Wistar albino soyu sıçan materyal olarak kullanıldı. Sıçanlar 13 hayvandan oluşan beş deney grubu ve 12 sıçandan oluşan kontrol grubuna ayrıldı. I. deneme grubuna (D1) 70 mg/kg/gün Zn, II. deneme grubuna (D2) 80 mg/kg/gün Zn, III. deneme grubuna (D3) 10 mg/kg/gün Cu, IV. deneme grubuna (D4) 20 mg/kg/gün Cu, V. deneme grubuna (D5) ise 70 mg/kg/gün Zn + 10 mg/kg/gün Cu dört hafta süreyle içme sularına katılarak verildi. Kontrol grubuna (K) ise normal içme suyu verildi.

Araştırmamızda yüksek miktarda alınan Zn'nin eritrosit, lökosit sayısı, hemoglobin miktarı, hematokrit değeri, serum Zn ve Cu düzeyi, karaciğer Zn ve Cu düzeyleri üzerine etkisi olmazken, eritrosit SOD etkinliğini azalttığı ve karaciğer ağırlığını artırdığı saptanmıştır. Yüksek miktarda alınan Cu'nun eritrosit, lökosit sayısı, serum ve karaciğer Zn düzeyi üzerine bir etkisi olmazken, pankreas Zn ve Cu düzeyini, eritrosit SOD aktivitesini düşürdüğü, karaciğer ağırlığını ve serum Cu düzeyini artırdığı saptanmıştır. Yüksek Zn ve Cu birlikte alındığında ise serum Cu düzeyi ile pankreas ağırlığının arttığı, pankreas Cu düzeyinin ise azaldığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Zn, Cu, hematolojik parametreler, sıçan

### The Effects of High Copper and Zinc on Some Hematological Parameters in Rats

**Abstract:** The effect of high levels of Zn and Cu supplemented into the diet on Zn and Cu levels in the liver, pancreas and serum, the number of red and white blood cells, hematocrit value, hemoglobin levels, superoxide dismutase (SOD) activity in red blood cells, live weight, and liver and pancreas weights were investigated.

A total of 77 Wistar albino rats were used as the research material. Twelve of the rats were separated as the control group and the remaining 65 were divided into five experimental groups (D1, D2, D3, D4 and D5) with 13 rats in each. Then, 70 mg/kg/day Zn, 80 mg/kg/day Zn, 10 mg/kg/day Cu and 20 mg/kg/day Cu were added to the water of the experimental D1, D2, D3 and D4 groups respectively for four weeks; 70 mg/kg/day Zn and 10 mg/kg/day Cu were added to the water of the D5 group. Control group rats (K) were given only drinking water.

In the present study, it has been determined that while the high levels of Zn had no effect on the number of red and white blood cells, hemoglobin levels, hematocrit value or Zn and Cu levels in the serum and liver, they decreased erythrocyte SOD activity and increased liver weight. High levels of Cu had no effect on the number of red and white blood cells and Zn levels in the serum and liver. However, they decreased the levels of Zn and Cu in the pancreas and erythrocyte SOD activity while increasing liver weight and serum Cu levels. It has been determined that high levels of Zn and Cu caused an increase in serum Cu level pancreas weight whereas they decreased the Cu levels in the pancreas.

**Key Words:** Zn, Cu, hematological parameters, rat

### Giriş

Bakır ve Çinko enzim sistemleri, enerji ve antioksidan enzim üretimi, lenfosit ve antikorların üretimine yönelik bağışıklık sisteminde görevli eser elementlerdendir (1).

Ancak birbiri ile etkileşim içinde olan ve canlı organizması için gerekli olan bu iki element (2), endüstriyel atıkların sulara karışması, maden ocakları ve yataklarının çevresinde toprak, su ve bitkilerin ağır metallerle

\* Birinci yazarın doktora tezinden özetlenmiştir.

kontamine olması, tedavide yüksek dozda Cu ve Zn tuzlarının kullanımı, bu metallere yapılmış kaplardan beslenme veya kafeslerde barınma ile yüksek dozlarının organizmaya alınması sonucu zehirlenmeler ve bazı metabolik bozukluklara neden olabilmektedir (3,4).

Karaciğer dokusunda başlıca metallothionein benzeri kuproproteinler biçiminde depolanan Cu hemoglobin konsantrasyonunda düşme, toksisite ve sarılığa neden olduğu gibi büyümede azalmaya da neden olmaktadır (5). Cu ile beslemenin (125-250 ppm) domuzlarda canlı ağırlığı artırdığı (6), yavru doğum ağırlığının anne diyetindeki Cu konsantrasyonundaki artış ile doğrusal olarak yükseldiği ve yavru domuzların ağırlık kazançları ile hayatta kalma oranlarının en iyi 60 ppm Cu ile beslenen grupta olduğu belirtilmesine (7) karşın gebeliğin son haftalarında ve süt verme esnasında Cu ile beslemenin domuzlarda doğum ağırlığında herhangi bir artışa neden olmadığı bildirilmektedir (8). Sığırlarda ise yeme 20 mg/kg Cu ilavesinin performansı azalttığı ileri sürülmektedir (9).

Diyette Cu seviyesiyle eritrosit SOD aktivitesi arasında aynı doğrultuda anlamlı bir ilişki olduğu görülmesine rağmen, eritrosit SOD'nin çok fazla Cu ilavesine direnç gösterdiği de bildirimler arasındadır (10). Yüksek Cu ile beslemenin karaciğer Zn-Cu SOD aktivitelerini artırdığı belirtilmesine (11) karşın, sıçanlara sekiz hafta boyunca, haftada 5 gün oral yolla 500 mg/kg Cu verilmesi durumunda karaciğer Zn-Cu ile eritrosit SOD ve glutatyon peroksidaz aktivitesinde ise çarpıcı bir azalma olduğu ileri sürülmektedir (12).

Yemlerine 250 ppm/kg Cu katılarak beslenen dişi domuzların karaciğer ve böbrek Cu konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir (7). Sığırlarda yeme 5 mg/kg Cu ilavesinin karaciğer Cu konsantrasyonunu artırdığı, serum total kolesterol düzeyini düşürdüğü ve ruminal fermentasyonu değiştirmediği ifade edilmiştir (13). Onaltı hafta süreyle yüksek Cu içerikli diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer ve böbreklerde Cu'nun sitotoksitesinin nükleer hasara sebep olduğu saptanmıştır (14).

Sütten kesilmiş domuzlara verilen yüksek miktarlardaki Zn'nin büyüme performansını artırmasına rağmen, hematokrit ve hemoglobin konsantrasyonuna etki etmediği gözlenmiştir (15). Yemlerine 240 mg/kg diyet Zn katılan sıçanlarda kalpte ve karaciğerde SOD, kanda seruloplazmin aktivitesinin azaldığı bildirilmesine (16) karşın diyete çok yüksek Zn ilavesinin, karaciğerde SOD aktivitesini azaltmadığı yönünde bulgular (17) da vardır. Hatta

sıçanlarda, diyetle normal Cu bulunması durumunda yüksek Zn ile beslemenin eritrosit ve karaciğer SOD aktivitesini hafifçe artırdığı bildirilmektedir (18).

Yemlerine 15 gün süreyle 200 ppm Zn katılan sıçan (19), 20 000 ppm Zn katılan tavuk (20) ve 4500 mg/kg Zn eklenen farelerin (21) karaciğer, böbrek, pankreas, femurlarında Zn miktarlarının yükseldiği, yemlerine 150 mg/kg Zn eklenen sıçanlarda kilo kazanımı ve yiyecek tüketiminin arttığı (22), tavuklarda ise vücut ağırlığında bir değişimin olmadığı (20) belirtilmiştir. Yemde Zn'nin yüksek veya yeterli olduğu durumlarda, yüksek Cu ile beslemenin hayvanlarda canlı ağırlık kazancını ve yem alımını artırdığı bildirilmesine (23) karşın sadece yüksek Zn veya Cu verilen domuzlarda büyümenin daha fazla olduğu ancak ikisinin birden verilmesi durumunda büyümede ilave artış meydana getirmediği ileri sürülmüştür (24).

Hayvanlarda Zn-Cu metabolizmasıyla ilişkili temel görüş Zn'nin Cu emilimini azalttığı şeklindedir. Çinko intestinal mukozadan Cu transportunu azaltarak, hayvanlarda Cu seviyesinin düşmesine sebep olmaktadır (25). Atlarda 1200 mg/kg Zn'nin Cu plazma konsantrasyonunda azalmaya sebep olmasına (26) karşın, iğdiş edilmiş midillilerde 580 mg/kg Zn ile 12 mg/kg Cu içeren diyetle beslenen bu hayvanların Cu metabolizmaları üzerine anlamlı etkisinin olmadığı bulunmuştur (27).

Bakır ve Zn eksikliği ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen, yüksek doz alımlarının fizyolojik parametreler ve organlar üzerine etkilerine yönelik araştırma sayısı sınırlıdır. Bu çalışmada yüksek miktarda Cu ve Zn ile beslenen sıçanlarda, bu iki elementin yüksek dozda alınmasının eritrosit ve lökosit sayısı, hemotokrit değeri, hemoglobin miktarı, SOD aktivitesi, canlı ağırlık ve organ ağırlıklarıyla serum ve organlardaki Zn, Cu düzeyleri üzerine etkilerinin neler olabileceği konusuna açıklık kazandırmak amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Araştırmada materyal olarak 125-175 g canlı ağırlığa sahip 8-10 haftalık Wistar albino soyu genç dişi sıçanlar kullanılmıştır. Deneme süresince 22 °C ısıtılmış odalarda pelet sıçan yemi ile *ad libitum* beslenen hayvanlar 13 sıçandan oluşan beş deney grubu ve 12 sıçandan oluşan kontrol grubuna ayrılmışlardır.

Araştırmanın başında bütün guruplardaki sıçanlar tartılarak canlı ağırlıkları tespit edilmiş ve dört hafta süreyle I. deneme grubunda bulunan hayvanlara 70 mg/kg/gün Zn (D1), II. deneme grubuna 80 mg/kg/gün Zn (D2), III. deneme grubuna 10 mg/kg/gün Cu (D3), IV. deneme grubuna 20 mg/kg/gün Cu (D4), V. deneme grubuna 70 mg/kg/gün Zn+10 mg/kg/gün Cu (D5) içeren su, kontrol grubunda bulunan sıçanlara (K) ise çeşme suyu verilmiştir. İlk hafta her gün gavaj yöntemiyle verilen Zn ve Cu'lu sular (2 ml) hayvanların boğazlarında oluşan tahrişler nedeniyle üç hafta süresince belirtilen oranlarda içme sularına katılmıştır.

Dört hafta sonunda tüm sıçanların canlı ağırlıkları belirlenmiş ve aynı gün içerisinde eter anestezisi altında kalp punksiyonu yapılarak kan örnekleri alınmıştır. Antikoagülanlı tüplere alınan örneklerde eritrosit, lökosit sayıları hemositometrik, hematokrit değer mikrohematokrit, hemoglobin miktarı oksihemoglobin yöntemi (28), eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun ve ark.'nın (29) metodu kullanılarak belirlenmiştir.

Kanlar alındıktan hemen sonra sıçanların karaciğer ve pankreaslarından alınan parçalar tartılmış ve Cu ile Zn ölçümü için ön işleminden geçirilmiştir (30,31). Doku örneklerinde ve antikoagülanlı tüplere alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda Cu ve Zn element düzeyleri Shimadzu Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AA-680) kullanılarak ölçülmüştür (30). Ağırlık yüzde değişimi (AYD) ise deney öncesi ve sonrası alınan canlı ağırlık değerleri kullanılarak hesaplanmıştır (32).

Tüm verilere ilişkin ortalamalar, ortalamaların standart sapmaları ve gruplar arası farkların önem kontrolleri SPSS 9.01 istatistiksel paket programında Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testiyle yapılmıştır.

## Bulgular

Kontrol ile D1, D2, D5 grupları arasında eritrosit, lökosit sayısı, hematokrit değer, hemoglobin miktarı, serum ve karaciğer Zn, Cu düzeyleri yönünden istatistiksel yönden bir farklılık gözlenmezken, deneme gruplarında kontrole göre eritrosit SOD aktivitesi ile pankreas Zn ve Cu düzeylerinin düştüğü, AYD ve karaciğer ağırlığının ise arttığı bulunmuştur (Tablo 1).

Kontrol, D3, D4, D5 grupları arasında eritrosit, lökosit sayıları, serum Zn düzeyi, karaciğer Cu ve Zn

düzeyleri yönünden istatistiksel anlamda bir farklılık gözlenmezken, hematokrit değer ve hemoglobin miktarının deneme gruplarında kontrole göre düştüğü bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Eritrosit SOD aktivitesinde de gözlenen azalmaların D3 ve D4 deneme grubunda önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

Tüm deneme gruplarında kontrole göre serum Cu düzeylerinin yükseldiği, pankreas Cu düzeyinin ise istatistiksel önemde azaldığı belirlenmiştir. Karaciğer ve pankreas ağırlıklarının da arttığı gözlenmesine rağmen, pankreas Zn düzeyi yönünden D3, D4 deneme gruplarında AYD'de ise sadece D3 grubundaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 2).

## Tartışma

Sıçanlarda diyetle bulunması gereken Cu miktarının 5 mg/kg düzeyinde olduğu, maksimal büyüme için diyetle 10-20 mg/kg Zn alınması gerektiği ifade edilmesine (33) karşın gerek tedavi amaçlı gerekse çevresel etkiler nedeniyle yüksek miktarlarda Zn ve Cu alımı gerçekleşmektedir. Deneysel olarak Zn ve Cu yüklemesinin bazı fizyolojik parametreler üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmada, kontrol grubu eritrosit ve lökosit sayılarının ortalama değerleri sıçanlar için bildirilen (34) normal sınırlar içerisindeydi. Kontrol grubuna göre Zn ve Cu verilen tüm deneme gruplarında eritrosit ve lökosit sayıları ortalamaları yönünden istatistiksel farklılık bulunmamıştır (Tablo 1 ve 2). Domuzlarda yüksek düzeyde Zn'nin eritrosit sayısını artırdığı, lökosit sayılarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı (3), vizonlarda ise eritrosit ve lökosit sayısını etkilemediği bildirilmiştir (35).

Yüksek Zn'nin domuzlarda (15) ve vizonlarda (35), yüksek miktarda Cu'nun ise insanlarda (36) hematokrit değeri etkilemediği bildirimleri bulgularımızla uyumaktadır. Hematokrit değerinde Cu'nun sadece 20 mg/kg/gün diyet verildiği grupta (D4) kontrol grubuna göre anlamlı bulunan azalma ise Cu miktarının farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Sıçanlarda 60 mg/kg diyet Zn'nin eritrosit SOD aktivitesini etkilemediği bildirilmiştir (10,17). Sıçanlarda daha yüksek Zn dozlarıyla yapılan çalışmalarda ise eritrosit SOD etkinliğinin düştüğü (2,16,22) bulgularımızla paraleldir. Buna rağmen sıçanlarda yapılan diğer bir çalışmada ise eritrosit SOD etkinliğinin arttığı bildirilmiştir (18). Çalışmalar arasındaki bu farklılığın

Tablo 1. Sıçanlarda yüksek miktarda çinko ve çinko+bakır verilmesinin bazı parametrelere etkisi.

Özellikler	K (n=12) x ± SD	D1 (n=13) x ± SD	D2 (n=13) x ± SD	D5 (n=13) x ± SD
Eritrosit sayısı (106/μl)	8,47 <sup>a</sup> ± 1,42	7,73 <sup>a</sup> ± 1,30	7,45 <sup>a</sup> ± 1,63	7,80 <sup>a</sup> ± 1,38
Lökosit sayısı (103/μl)	10,99 <sup>a</sup> ± 6,06	12,56 <sup>a</sup> ± 4,88	12,10 <sup>a</sup> ± 5,49	13,63 <sup>a</sup> ± 6,64
Hematokrit değeri (%)	42,25 <sup>a</sup> ± 3,07	41,61 <sup>a</sup> ± 3,01	39,76 <sup>a</sup> ± 5,80	39,53 <sup>a</sup> ± 6,31
Eritrosit SOD etkinliği (ünite/mg hemoglobin)	1,84 <sup>a</sup> ± 0,51	1,45 <sup>bc</sup> ± 0,27	1,20 <sup>c</sup> ± 0,37	1,55 <sup>ab</sup> ± 0,34
Hemoglobin miktarı (g/dl)	12,68 <sup>a</sup> ± 0,83	12,35 <sup>a</sup> ± 1,29	12,17 <sup>a</sup> ± 1,14	12,28 <sup>a</sup> ± 1,04
Serum bakır düzeyi (μg/dl)	61,49 <sup>a</sup> ± 18,20	60,21 <sup>a</sup> ± 24,38	59,93 <sup>a</sup> ± 16,34	77,32 <sup>a</sup> ± 21,58
Serum çinko düzeyi (μg/dl)	81,05 <sup>a</sup> ± 26,20	91,91 <sup>a</sup> ± 23,98	91,94 <sup>a</sup> ± 31,48	86,10 <sup>a</sup> ± 23,83
Karaciğer ağırlığı (g)	4,11 <sup>b</sup> ± 0,56	5,06 <sup>a</sup> ± 0,49	5,20 <sup>a</sup> ± 0,88	4,71 <sup>ab</sup> ± 0,84
Pankreas ağırlığı (g)	0,43 <sup>b</sup> ± 0,07	0,45 <sup>ab</sup> ± 0,10	0,33 <sup>c</sup> ± 0,08	0,55 <sup>a</sup> ± 0,12
Karaciğer bakır düzeyi (μg/g doku)	4,06 <sup>a</sup> ± 0,55	4,09 <sup>a</sup> ± 0,38	3,81 <sup>a</sup> ± 0,47	4,01 <sup>a</sup> ± 0,56
Pankreas bakır düzeyi (μg/g doku)	2,52 <sup>a</sup> ± 0,57	1,81 <sup>b</sup> ± 0,21	2,34 <sup>a</sup> ± 0,46	2,12 <sup>b</sup> ± 0,88
Karaciğer çinko düzeyi (μg/g doku)	19,48 <sup>a</sup> ± 1,62	19,34 <sup>a</sup> ± 1,31	20,62 <sup>a</sup> ± 1,21	19,58 <sup>a</sup> ± 2,32
Pankreas çinko düzeyi (μg/g doku)	20,35 <sup>a</sup> ± 2,98	19,01 <sup>a</sup> ± 1,92	15,73 <sup>b</sup> ± 3,34	20,37 <sup>a</sup> ± 2,06
AYD (%)	6,42 <sup>b</sup> ± 5,52	12,42 <sup>a</sup> ± 4,27	7,32 <sup>b</sup> ± 1,93	5,00 <sup>b</sup> ± 5,04

a, b, c: Her bir satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05)

Tablo 2. Sıçanlarda yüksek miktarda bakır ve çinko+bakır verilmesinin bazı parametrelere etkisi.

Özellikler	K (n=12) x ± SD	D1 (n=13) x ± SD	D2 (n=13) x ± SD	D5 (n=13) x ± SD
Eritrosit sayısı (106/μl)	8,47 <sup>a</sup> ± 1,42	7,54 <sup>a</sup> ± 1,42	7,81 <sup>a</sup> ± 1,81	7,80 <sup>a</sup> ± 1,38
Lökosit sayısı (103/μl)	10,99 <sup>a</sup> ± 6,06	13,48 <sup>a</sup> ± 6,10	10,83 <sup>a</sup> ± 4,74	13,63 <sup>a</sup> ± 6,64
Hematokrit değeri (%)	42,25 <sup>a</sup> ± 3,07	40,00 <sup>ab</sup> ± 5,29	38,38 <sup>b</sup> ± 3,96	39,53 <sup>ab</sup> ± 6,31
Eritrosit SOD etkinliği (ünite/mg hemoglobin)	1,84 <sup>a</sup> ± 0,51	1,46 <sup>b</sup> ± 0,34	1,36 <sup>b</sup> ± 0,28	1,55 <sup>ab</sup> ± 0,34
Hemoglobin miktarı (g/dl)	12,68 <sup>a</sup> ± 0,83	12,32 <sup>a</sup> ± 1,36	10,72 <sup>b</sup> ± 1,68	12,28 <sup>a</sup> ± 1,04
Serum bakır düzeyi (μg/dl)	61,49 <sup>b</sup> ± 18,20	86,40 <sup>a</sup> ± 25,75	94,62 <sup>a</sup> ± 26,08	77,32 <sup>a</sup> ± 21,58
Serum çinko düzeyi (μg/dl)	81,05 <sup>a</sup> ± 26,20	90,84 <sup>a</sup> ± 24,24	91,07 <sup>a</sup> ± 22,15	86,10 <sup>a</sup> ± 23,83
Karaciğer ağırlığı (gr)	4,11 <sup>c</sup> ± 0,56	4,95 <sup>b</sup> ± 0,56	6,34 <sup>a</sup> ± 0,88	4,71 <sup>bc</sup> ± 0,84
Pankreas ağırlığı (gr)	0,43 <sup>bc</sup> ± 0,07	0,42 <sup>c</sup> ± 0,10	0,50 <sup>ab</sup> ± 0,13	0,55 <sup>a</sup> ± 0,12
Karaciğer bakır düzeyi (μg/g doku)	4,06 <sup>a</sup> ± 0,55	3,96 <sup>a</sup> ± 0,49	4,18 <sup>a</sup> ± 0,79	4,01 <sup>a</sup> ± 0,56
Pankreas bakır düzeyi (μg/g doku)	2,52 <sup>a</sup> ± 0,57	1,61 <sup>c</sup> ± 0,43	1,68 <sup>bc</sup> ± 0,44	2,12 <sup>b</sup> ± 0,88
Karaciğer çinko düzeyi (μg/gr doku)	19,48 <sup>a</sup> ± 1,62	19,46 <sup>a</sup> ± 1,04	19,36 <sup>a</sup> ± 1,84	19,58 <sup>a</sup> ± 2,32
Pankreas çinko düzeyi (μg/g doku)	20,35 <sup>a</sup> ± 2,98	17,67 <sup>b</sup> ± 2,26	12,66 <sup>c</sup> ± 2,43	20,37 <sup>a</sup> ± 2,06
AYD (%)	6,42 <sup>a</sup> ± 5,52	-3,72 <sup>b</sup> ± 4,51	3,08 <sup>a</sup> ± 3,06	5,00 <sup>a</sup> ± 5,04

Zn'nin değişik dozlarının uygulanmasından kaynaklandığını düşünüyoruz. Çünkü SOD enzimi için gerekli olan Cu emilimini önemli ölçüde azaltacak yüksek miktarda Zn verilmesi eritrosit SOD etkinliğini etkilemektedir (2,10). Zn+Cu verilen grupta (D5) eritrosit SOD aktivitesinin etkilenmemesinin nedeni Zn etkisi ile oluşacak Cu eksikliğinin Cu ilavesi ile giderilmiş olmasından (2,37) kaynaklanabilir. Çünkü Zn fazlalığının metallothionein miktarının yükselmesine bağlı olarak serbest Cu miktarını azalttığı pek çok türde kanıtlanmıştır (2,38). Eritrosit SOD aktivitesinin D3, D4 gruplarında kontrol grubuna oranla istatistiksel önemde azalması (Tablo 2) insanlarda (36) ve sıçanlarda (38) yüksek Cu'nun eritrosit SOD aktivitesini düşürdüğü yönündeki bildirimlerle uyumludur.

Bu çalışmada yüksek Zn'nin hemoglobin miktarı üzerine bir etkisi olmadığı görülmüştür (Tablo 1). Kontrol ve D1, D2, D3 gruplarına ait hemoglobin miktarlarının ortalama değerleri sıçanlar için bildirilen (34) normal sınırlar içerisindeyken 20 mg/kg/gün Cu verilen D4 grubunda hemoglobin miktarında meydana gelen düşüş normal sınırların altında olmuştur. Yüksek düzeydeki Zn'nin sıçanlarda hemoglobin miktarı üzerine etkisine yönelik bir çalışmaya rastlayamadık. Ancak domuzlara verilen yüksek miktardaki Zn'nin hemoglobin miktarını artırıcı etkisi olduğuna dair sonuçlar bildirilmiştir (3,15). Farelere 1,5 g/kg diyet Zn verilerek yapılan çalışmada ise hemoglobin miktarının düştüğü bildirilmiştir (39). Prince ve ark.'nın (5) domuzlarda yaptığı çalışmada Cu'nun çok yüksek dozunun hemoglobin miktarını düşürdüğüne dair bulgular, sığırlarda yapılan başka bir çalışmada ise normalden daha fazla Cu ilavesinin hemoglobin miktarını düşürdüğüne dair bildirim (40) sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. İnsanlarda (36) iki, dört ve altı hafta süreyle yapılan başka bir çalışmada ise bakır fazlalığının iki ve dördüncü haftalarda hemoglobin miktarında bir değişikliğe neden olmazken altı hafta sonunda Cu ilavesinin hemoglobin düzeyini artırdığına dair bulgular bizim ve diğer araştırmacıların (5,40) bulgularıyla uyumsuzdur. Ancak deney süresinin Cu birikimiyle birlikte hemoglobin miktarını farklı şekilde etkileyebileceği görülmektedir.

Sıçanlara iki, dört ve altı hafta süreyle yüksek Zn verilmesinin sonucunda tüm gruplarda serum Cu seviyesinin düştüğü görülmüştür (16). Bizim çalışmamızda ise kontrol grubu ile yüksek Zn verilen gruplar arasında serum Cu düzeyleri açısından bir fark

bulunmamıştır (Tablo1). Sonuçlar arasındaki farklılığın nedeni 2, 4, 6 hafta süreyle uygulanan Zn dozunun (240 mg/kg) çalışmamızda verilen Zn'den daha yüksek düzeyde olmasıyla açıklanabilir. Çünkü Zn'nin aşırı miktarda alınımı mukozal (17) ve epitel hücrelerin (37) içine Cu girişini bloke ederek Cu emilimini azaltmaktadır (2,23,41,42).

Bakır (D3, D4) ve Zn+Cu (D5) verilen deneme grupları arasında serum Cu düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmazken bu gruplarda kontrole göre istatistiksel önemde bulunan artışlar ( $p<0,05$ , Tablo 2), sıçanlarda (16,38) ve insanlarda (36) diyete Cu ilavesinin serum Cu miktarını artırdığı yönündeki bildirimleri desteklemektedir. Sıçanlarda yeme katılan 240 mg/kg Zn'nin iki hafta sonunda serum Zn düzeyini artırdığı görülmüş, fakat dört hafta süreyle beslenen grupta serum Zn düzeyinin kontrol grubundan farklılık göstermediği saptanmıştır (16). Bu da bizim dört haftalık çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular ile paralellik göstermektedir. Aynı çalışmada altı hafta süreyle verilen Zn'nin ise hayvanlarda serum Zn düzeylerini kontrol grubuna göre artırdığı saptanmıştır (16). Bu sonuçlara göre yüksek Zn uygulama süresinin serum Zn düzeyine etkili olduğu söylenebilir.

Deneme süresi sonunda (D1) 70, (D2) 80 mg/kg/gün diyet Zn ve (D3) 10, (D4) 20 mg/kg/gün diyet Cu verilen gruplarda kontrole oranla karaciğer ağırlık ortalamalarının artmış olduğu ( $p<0,05$ ) gözlenmiştir. Yüksek Cu verilen gruplarda karaciğer ağırlığındaki kontrol grubuna göre artışın nedeni fazla Cu'nun karaciğerde birikmesi (6,7,40) ve karaciğerde meydana gelen hasar (43) olabilir. 10 mg/kg diyet Cu verilen grupta karaciğer ağırlığının 20 mg/kg/gün diyet Cu verilen gruba göre daha az olmasının (Tablo 2) nedeni Cu miktarının yarı yarıya az olmasından kaynaklanmış olabilir. Bu farka 10 mg/kg/gün diyet Cu verilen grupta meydana gelen zayıflama da katkıda bulunmuş olabilir.

Yüksek Zn ve Cu'nun, sıçanlarda ve diğer canlılarda pankreas ağırlığı üzerine etkileri ile ilgili çalışmaya literatür taramasında rastlayamadık. Bu nedenle bulgularımızı literatürle karşılaştırma olanağına sahip değiliz.

Yüksek miktarda Zn verilmesinin domuzlarda (44) ve sıçanlarda (22) karaciğer Cu düzeyini düşürmesine yönelik bildirimler deneme ve kontrol grupları arasında karaciğer Cu düzeyi ortalamaları yönünden istatistiksel olarak bir farkın bulunmadığı (Tablo 1) şeklindeki bulgularla uyumsuzdur. Domuz ve sıçanlarda

karaciğer Cu düzeyindeki azalmanın (22,44) muhtemel nedeni Zn'nin diyetteki Cu'dan yararlanmayı olumsuz etkilemesi sonucudur (17,25,41,42). Çalışmamızda Zn'nin bu etkisini göremememizin nedeni deney süremizin daha kısa ve uyguladığımız Zn miktarının daha az olmasından kaynaklanabilir.

Yüksek Cu alımının sıçan (12,38), sığır (13), domuz (5,7,45) ve impalalarda (46) karaciğerde birikime neden olduğu bildirilmektedir. Ancak sıçanlarda Cu yüklenmesi sonucunda karaciğer Cu oranında dört hafta sonunda bir artma görülmemesine rağmen, beşinci haftada karaciğer Cu düzeyinde artış görülmüş, beşinci haftadan sonraki dönemlerde ise karaciğer Cu düzeyinde anlamlı bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir (47). Sıçanlarda yapılan diğer bir çalışmada (32) da yüksek Cu ilavesi veya yüksek Cu'nun yanında Zn'nin verilmesinin karaciğer Cu düzeyi üzerinde bir değişikliğe neden olmaması bulgularımızla uyumludur.

Kontrole göre yüksek Zn verilen D1 deneme grubunda pankreas Cu düzeyinin düşük olması (Tablo 1) Zn'nin diyetteki Cu emilimini engellemiş olmasına bağlanabilir (17,41,42). Yüksek Cu verilen D3 ve D4 deneme gruplarında pankreas Cu düzeylerinin kontrole göre anlamlı olarak daha düşük ( $p<0,05$ ) olmasına ise bir açıklama getiremiyoruz.

Yüksek Zn (22) ve yüksek Cu (32) verilen sıçanlarda yapılan çalışmalarda karaciğer Zn düzeyinin etkilenmediği şeklindeki bildirimler ve ötücü kuşlarda çevresel etkiler ile alınan yüksek Zn'nin karaciğer Zn düzeyini etkilemediğine yönelik rapor (43) sonuçlarımızı (Tablo 1 ve Tablo 2) desteklemektedir. Fakat çevresel etkiler ile alınan yüksek Zn'nin atlarda (48), tavuklarda (20) ve sığırlarda (49) karaciğer Zn düzeylerini artırdığı görülmüştür. Uzun süreli yüksek Zn ile beslenen farelerde (21,50,51) aynı zamanda yemlerine yüksek miktarda Zn katılan vizonlarda (35) da karaciğer Zn düzeyinin artmış olduğu saptanmıştır. Bu bulgular ise bizim ve diğer araştırmacıların bulgularıyla uyumsuzdur. Çalışmaların daha uzun süreli ve dozun farklı olmasının sonuçlar üzerinde etkili olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda, yüksek Zn verilen deneme gruplarında Zn fazlalığının pankreasta birikim yapmadığı, ancak yüksek Cu'nun pankreas Zn düzeyini normale göre düşürdüğü görülmüştür (Tablo 1). Yüksek Zn alımının farelerde (21), tavuklarda (20) ve vizonlarda (35) pankreas Zn düzeyini artırdığı bildirilmesine rağmen yüksek miktardaki Cu'nun pankreas Zn miktarı üzerine etkilerine ilişkin çalışmaya rastlanamamıştır.

Gruplar arası canlı ağırlık yüzdeleri karşılaştırıldığında, canlı ağırlık artışının D1 deneme grubunda diğer deneme grupları ve kontrol grubuna göre daha fazla olduğu (Tablo 1), D3 deneme grubunda ise deneme ve kontrol gruplarına göre düştüğü (Tablo 2) bulunmuştur. Domuzlara 4 hafta süreyle yüksek miktarda Zn verilmesinin büyüme performansını artırdığı (52) ve sığırlarda Zn fazlalığının karkas kalitesi ile ağırlık kazancını iyileştirdiği (53) yönündeki bildirimler AYD'ye ilişkin sonuçlarımızla (Tablo1) paraleldir. Tavuklarda (20) ve vizonlarda (35) yapılan çalışmalarda yüksek Zn'nin canlı ağırlık artışı üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Tavuklarda yapılan bir çalışmada ise 1000 mg/kg yem Zn'nin canlı ağırlık artışını etkilemezken 2000 ve 4000 mg/kg yem Zn'nin canlı ağırlıkta düşmeye neden olduğu görülmüştür (54). Sıçanlarda yüksek Zn alımının canlı ağırlık artışını artırdığına (22) ve etkilemediğine (32) dair çelişkili bulgular da vardır.

Yüksek Cu'nun canlı ağırlık üzerine etkilerine ilişkin domuzlarda yapılan bir çalışmada Cu'nun farklı dozlarından sadece 60 ppm verilen grupta kilo kazanımının arttığı bildirilirken (7), Cromwell (6) ve Prince ve ark.'nın (5) domuzlarda yüksek miktardaki Cu'nun besin alımını olumsuz etkilediği, büyümede azalmaya neden olduğu bildiri ve sığırlarda 20 mg/kg Cu ilavesinin büyümeyi azalttığı (9) bulgusu çalışmamızda 10 mg/kg Cu verilen grupta zayıflama oluşunu desteklemektedir. Zn'nin yüksek veya yeterli olduğu durumda Cu ilavesinin domuzlarda (15) canlı ağırlık artışına sebep olduğuna dair araştırma sonuçlarımızla (Tablo 1) uyumsuzdur. Fakat yüksek Zn + Cu'nun domuzlarda canlı ağırlıkta ilave bir artış oluşturmadığına ilişkin bildirim (24) sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak yüksek dozda Zn alımının eritrosit, lökosit sayısı, hematokrit değer, hemoglobin miktarı, serum ve karaciğer Zn ve Cu düzeylerine etkili olmadığını, eritrosit SOD aktivitesi ile pankreas Zn ve Cu düzeyini düşürürken, AYD ve karaciğer ağırlığını artırdığını, yüksek dozda Cu yüklemesinin ise eritrosit, lökosit sayısı, serum Zn düzeyi, karaciğer Cu ve Zn miktarı ile pankreas ağırlığını etkilemediğini, Cu yüklemesinin artışına bağlı olarak hematokrit değer, hemoglobin miktarı, SOD aktivitesi, pankreas Zn düzeyinin azaldığını, serum Cu düzeyi ve karaciğer ağırlığının arttığını, pankreas Cu düzeyi ve AYD'nin ise özellikle 10 mg/kg/gün Cu verilen grupta azaldığını söyleyebiliriz.

**Kaynaklar**

1. Özgünen, T., Üstündal, M.: Hekimlikte Biyokimya. Barış Kitabevi, İstanbul, 1997; 103-108.
2. Sandstead, H.H.: Requirements and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and copper. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995; 61: 621-624.
3. Rupi'c, V., Ivandija, L., Luterotti, S., Dominis, K.M., Bozac, R.: Plasma proteins and haematological parameters in fattening pigs fed different sources of dietary zinc. *Acta Vet. Hung.* 1998; 46(1): 111-126.
4. Shallari, S., Schwartz, C., Hasko, A., Morel, J.L.: Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *Sci. Total. Environ.* 1998; 209(2): 133-142.
5. Prince, T.J., Hays, V. W., Cromwell, G.L.: Effects of copper sulfate and ferrous sulfide on performance and liver copper and iron stores of pigs. *J. Anim. Sci.* 1979; 49: 507.
6. Cromwell, G.L.: Antimicrobial agents. In: Miller E.R, Miller D.E., Lewis A.J. (Ed.) *Swine Nutrition*, Butterworth-Heinemann Publishing, Boston, MA. 1991; 297-314.
7. Cromwell, G.L., Monegue, H.J., Stahly, T.S.: Long-term effects of feeding a high copper diet to sows during gestation and lactation. *J. Anim. Sci.* 1993; 71: 2996-3002.
8. Thacker, P.A.: Effect of high levels of copper or dichlorvos during late gestation and lactation on sow productivity. *Can. J. Anim. Sci.* 1991; 71:227.
9. Engle, T.E., Spears, J.W.: Effects of dietary copper concentration and source on performance and copper status of growing and finishing steers. *J. Anim. Sci.* 2000; 78(9): 2446-2451.
10. Panemangolare, M., Bebe, N.F.: Effect of high dietary zinc on plasma ceruloplasmin and erythrocyte superoxide dismutase activities in copper-depleted and repleted rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 1996; 55: 111-126.
11. Sansinanea, A.S., Cerone, S.I., Streitenberger, S.A., Garcia, C., Auza, N.: Oxidative effect of hepatic copper overload. *Acta Physiol. Pharmacol. Ther. Latinoam.* 1998; 48(1): 25-31.
12. Zhang, S.S., Noordin, M.M., Rahman, S.O., Haron, J.: Effects of copper overload on hepatic lipid peroxidation and antioxidant defense in rats. *Vet. Hum. Toxicol.* 2000; 42(5): 261-264.
13. Engle, T.E., Spears, J.W.: Dietary copper effects on lipid metabolism, performance, and ruminal fermentation in finishing steers. *J. Anim. Sci.* 2000; 78(9): 2452-2458.
14. Fuentealba, I.C., Haywood, S., Foster, J.: Cellular mechanisms of toxicity and tolerance in the copper-loaded rat. III. Ultrastructural changes and copper localization in the kidney. *Br. J. Exp. Pathol.* 1989; 70(5): 543-556.
15. Smith, J.W., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Nelssen, J.L., Richert, B.T.: Effects of the interrelationship between zinc oxide and copper sulfate on growth performance of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 1997; 75: 1861-1866.
16. Labbe, M.R., Fischer, P.W.: The effects of high dietary zinc and copper deficiency on the activity of copper-requiring metalloenzymes in the growing rat. *J. Nutr.* 1984; 114: 813-822.
17. Reeves, P.G., Rossow, K.L., Bobilya, D.J.: Development and testing of the AIN-93 purified diets for rodents: results on growth, kidney calcification and bone mineralization in rats and mice. *J. Nutr.* 1993; 123(11): 1923-1931.
18. Fischer, P.W.F., Campbell, J. S., Giroux . A.: Effect of dietary iodine on autoimmune thyroiditis in the BB Wistar rats. *J. Nutr.* 1989; 119(3): 502-507.
19. Cerklewski, F.L.: Postabsorptive effect of increased dietary zinc on toxicity and removal of tissue lead in rats. *J. Nutr.* 1984; 114(3): 550-554
20. McCormick, C.C., Cunningham DL.: Performance and physiological profiles of high dietary zinc and fasting as methods of inducing a forced rest: a direct comparison. *Poult. Sci.* 1987; 66(6): 1007-1013.
21. Sato, I., Matsusaka, N., Tsuda, S., Suzuki, T., Kobayashi, H.: Effect of dietary zinc content on <sup>65</sup>Zn metabolism in mice. *J. Vet. Med. Sci.* 1997; 59(11): 1017-1021.
22. Fischer, P.W.F., Campbell, J.S., Giroux A.: Effects of low copper and high zinc intakes and related changes in Cu, Zn-superoxide dismutase activity on DMBA-induced mammary tumorigenesis. *Biol. Trace. Elem. Res.* 1991; 30: 65-79.
23. Du, Z. Hemken, R.W., Jackson, J.A., Trammell, D.S.: Utilization of copper in copper proteinate, copper lysine, and cupric sulfate using the rat as an experimental model. *J. Anim. Sci.* 1996; 74(7): 1657-1663.
24. Hill, G.M., Cromwell, G.L., Crenshaw, T.D., Dove, C.R., Ewan, R.C., Knabe, D.A., Lewis, A.J., Libal, G.W., Mahan, D.C., Shurson, G.C., Southern, L.L., Veum, TL.: Growth promotion effects and plasma changes from feeding high dietary concentrations of zinc and copper to weanling pigs (regional study). *J. Anim. Sci.* 2000; 78(4): 1010-1016.
25. Reeves, P.G., Briske, A.M., Newman SM: . High-zinc concentrations in culture media affect copper uptake and transport in differentiated human colon adenocarcinoma cells. *J. Nutr.* 1996; 126: 1701-1712.
26. Coger, L.S, Hintz, H.F, Schryver, H.F.: The effect of high zinc intake on copper metabolism and bone development in growing horses. *Equine Nutr. Phys. Symp.* 1987; 10: 173-178.
27. Young, J.K., Potter, G.D., Greene, L.W.: Copper balance in miniature horses fed varying amounts of zinc. *Equine Nutr. Phys. Symp.* 1987; 10: 153-157.
28. Terzioğlu, M., Çakar, L., Yiğit, G.: *Fizyoloji Pratik Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul 1982; 76-95.
29. Sun, Y., Peterson, T.E., McCormick, M.L., Oberley, L.W., Osborne, J.W.: Improved superoxide assay for clinical use. *Clin. Chem.* 1989; 35(6): 1265-1266.

30. Brown, A., Halls, J.D., Taylor, A.: Atomic spectrometry update-clinical materials, foods and beverages. J. Anal. Atomic Spectromet. 1986; 1: 21-35.
31. Esenkaya, S.: Termde Erken Membran Ruptürü Etiyolojisinde, Maternal Çinko ve Bakır Eksikliğinin Rolü. S.B. Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Uzmanlık Tezi. İstanbul 1994.
32. Yu, S., Beynen, A.C.: The combined effect of high iron and zinc intake on copper status in rats. Biol. Trace Elem. Res. 1994; 42: 71-79.
33. Rogers, A.E.: Nutrition. In: Baker, H.J., Lindsey, J.R., Weisbroth, S.H. (Eds) The Laboratory Rat Vol 1, Academic Press 1979; 123-146.
34. Tunçoku, Ö., Demirgören, S.: III. Deneysel hayvanları kurs notları. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu Deneysel Cerrahi ve Araştırma Bilim Dalı, İzmir, 2000.
35. Aulerich, R.J., Bursian, S.J., Poppenga, R.H., Braselton, W.E., Mullaney, T.P.: Tolerant of high concentrations of dietary zinc by mink. J. Vet. Diagn. Invest. 1991; 3(3): 232-237.
36. Medeiros, D.M., Milton, A., Brunett, E., Stacy, L.: Copper supplementation effects on indicators of copper status and serum cholesterol in adult males. Biol. Trace Elem. Res. 1990; 30: 19-35.
37. Ostreicher, P., Cousins, R.J.: Copper and zinc absorption in the rat: Mechanism of mutual antagonism. J. Nutr. 1985; 115: 159-166.
38. Steve, S., Zhang, Z., Noordin, M.M., Omar, S.A., Rahman, A.: Effects of copper overload on hepatic lipid peroxidation and antioxidant defense in rats. Vet. Human. Toxicol. 2000; 42(5): 261-264.
39. Ding, H., Peng, R., Kong, R., Li, Y.: Effects of high dietary zinc on mice-influence on growth, blood composition and immune function. Wei. Sheng. Yen. Chiu. 1997; 26(5): 325-326.
40. Xin, Z., Waterman, D.F., Hemken, R.W., Harmon, R.J.: Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase, and copper distribution in steers. Department of Animal Sci. University of Kentucky. J. Dairy. Sci. 1991; 74: 3078-3085.
41. Reeves, P.G.: Copper status of adult male rats is not affected by feeding an AIN-93G-based diet containing high concentrations of zinc. J. Nutr. Biochem. 1996; 7: 166-172.
42. Wapnir, R.A., Lee, S.Y.: Dietary regulation of copper absorption and storage in rats: Effects of sodium, zinc and histidine-zinc. J. Am. Coll. Nutr. 1993; 12(6): 714-719.
43. Hogstad, O.: Accumulation of cadmium, copper and zinc in the liver of some passerine species wintering in central Norway. Sci. Total Environ. 1996; 183(3): 187-194.
44. Hill, G.M., Ku, P.K., Miller, E.R., Ullrey, D.E., Losty, T.A., O'Dell, B.L.: A copper deficiency in neonatal pigs induced by a high zinc maternal diet. J. Nutr. 1983; 113(4): 867-872.
45. Cromwell, G.L., Stahly, T.S., Monegue, H.J.: Effects of source and level of copper on performance and liver copper stores in weanling pigs. J. Anim. Sci. 1989; 67: 2996.
46. Ackerman, D.J., Reinecke, A.J., Els, H.J., Grobler, D.G., Reinecke, S.A.: Sperm abnormalities associated with high copper levels in impala (*Aepyceros melampus*) in the Kruger National Park, South Africa. Ecotoxicol. Environ. Saf. 1999; 43 (3): 261-266.
47. Evering, W.E., Haywood, S., Elmes, M.E., Jasani, B., Trafford, J.: Histochemical and immunocytochemical evaluation of copper and metallothionein in the liver and kidney of copper-loaded rats. J. Pathol. 1990; 160: 305-312.
48. Gunson, D.E., Kowalczyk, D.F., Shoop, C.R., Ramberg, C.F.: Environmental zinc and cadmium pollution associated with generalized osteochondrosis, osteoporosis, and nephrocalcinosis in horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1982; 180(3): 295-299.
49. Lopez, A.M., Benedito, J.L., Miranda, M., Castillo, C., Hernandez, J., Shore, R.F.: The effect of pig farming on copper and zinc accumulation in cattle in Galicia (north-western Spain). Vet. J. 2000; 160(3): 259-266.
50. Ding, H., Peng, R., Chen, J.: Effects of high dietary zinc on liver function, hepatic drug metabolism enzymes and membrane fluidity in mice. Wei. Sheng. Yen. Chiu. 1998; 27(3): 180-182.
51. Jaw, S., Jeffery, E.H.: The effect of dietary zinc status on biliary metal excretion of rats. J. Nutr. 1988; 118(11): 1385-1390
52. Cousins, R.J.: Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: Special reference to metallothionein and ceruloplasmin. Physiol. Rev. 1985; 65(2): 238-309.
53. Spears, J.W., Kegley, E.B., Ward, J.D.: Bioavailability of trace minerals-inorganic vs organic. In: 52<sup>nd</sup> Minnesota Nutrition Conf., Univ. of Minnesota, Bloomington 1991; 28.
54. Dewar, W.A., Wight, P.A., Pearson, R.A., Gentle, M.J.: Toxic effects of high concentrations of zinc oxide in the diet of the chick and laying hen. Br. Poult. Sci. 1983; 24(3): 397-404.