

## FİZİKSEL TIP

### KISA SÜRELİ DÜŞÜK DOZ KADMIYUM MARUZİYETİNİN RATLARIN KEMİK MİNERAL YOĞUNLUĞU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

#### THE EFFECTS OF SHORT TERM EXPOSURE OF CADMIUM ON BONE MİNERAL DENSITY OF RATS

Feray SOYUPEK MD\*, Mustafa YILDIZ MD\*\*, Süreyya ÇERÇİ MD\*\*, Mahmut YENER MD\*

\* Süleyman Demirel Üniversitesi, FTR AD, Isparta

\*\* Süleyman Demirel Üniversitesi, Nükleer Tıp AD, Isparta

#### ÖZET

Kadmiyum kemik üzerinde toksik etkisi olan ağır bir metaldir. Bu çalışmamızda kısa süreli düşük doz kadmiyum maruziyetinin kemik mineral yoğunluğu üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık. Çalışmada 20 adet rat, kadmiyum grubu ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kadmiyum grubunun içme suyuna 6 hafta boyunca 15 ppm kadmiyum ilave edildi. Tüm ratların kemik mineral yoğunlukları kadmiyum maruziyeti öncesi ve sonrası olmak üzere ürethan anestezisi altındayken 2 defa çekildi. Kan örnekleri alınarak plazma kadmiyum düzeyleri ölçüldü. Kadmiyum grubunun plazma kadmiyum düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Kemik mineral yoğunluk(BMD) değeri kadmiyum grubunda kontrol grubuna göre ve kadmiyum maruziyeti öncesi değere göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak düşük doz kadmiyum maruziyetinin kemik mineral yoğunluğunu 6 haftalık kısa sürede etkilediğini çalışmamızda saptadık.

**Anabtar Kelimeler:** Kadmiyum, kemik, osteoporoz

#### SUMMARY

Cadmium is a heavy toxic metal and has toxic effects on bone. The purpose of this study was to determine the short term effect of low dose cadmium on bone mineral density. Twenty rats were included in this study and divided into two groups as control and cadmium. In cadmium group, 15 ppm cadmium was put into the water throughout 6 weeks. The bone mineral density of all rats were calculated before and after cadmium exposure under urethan anesthesia. The cadmium level of plasma was calculated after the exposure period. The mean level of plasma cadmium was higher in the cadmium group than control group. The mean bone mineral density value of cadmium group was lower than control group and pre-exposure value of cadmium group. As a conclusion, cadmium has effects on the bone mineral density at the short time of the exposure.

**Key Words:** Cadmium, bone, osteoporosis

#### GİRİŞ

Kadmiyum, çevresel ve mesleki maruziyet sonucu insan ve hayvan hayatını tehlikeye atan en toksik ağır metallere biridir (1). Kadmiyum doğal çevrede ve yiyecek maddelerinde de bulunmaktadır. Doğada kayada ve toprakta bulunmaktadır. Toprakta verimi arttırmak için yapılan ilaçlama, lağım atıkları, pil sanayi gibi kadmiyum içeren ürünlerin yapımı ve atıkların sulara ya da toprağa boşaltılması nedeniyle yiyecekler ve içecekler ile kadmiyuma maruz kalınmaktadır (2). Kadmiyum fosil yakıtlar içindeki eser elementlerden biridir ve çimento üretimi, demir işleme gibi fosil yakıt kullanım işlemleri esnasında havaya ve dolayısıyla çevreye yayılır. Topraktaki kadmiyum düzeyinin artması bunun bitkiler tarafından alınmasına, besin zinciri ile insanlara taşınmasına neden olur. Kadmiyumun insan vücuduna girişi başlıca solunum ve gastrointestinal sistem ile olmaktadır (3). Dolayısıyla insan vücudu doğuştan ölüme kadar bu metale maruz kalmaktadır. Kadmiyumun osteoporoz, osteopeni ve osteomalazi için çevresel risk fak-

törü olduğu çalışmalarda bildirilmektedir (4,5). Kemik üzerinde direkt ve indirekt etki mekanizması olduğu bilinmektedir (2). Direkt etkisini osteoklast ve osteoblastlar ile, indirekt etkisini ise vitamin-D ve mineral metabolizmasını etkileyerek yaptığı bildirilmiştir. Gastrointestinal ve böbrek fonksiyonlarını bozarak vitamin-D ve diğer minerallerin metabolizmasını etkilemektedir. Fakat henüz kemik metabolizmasını etkilediği kritik doz bilinmemektedir. Bu çalışmamızdaki amacımız 6 haftalık düşük doz kadmiyum maruziyetinin kemik yoğunluğu üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

#### GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 20 adet 5 aylık Wistar Albino rat (200-230 gram) kullanıldı. Deney grupları; 10'ar rattan oluşan kontrol grubu ve kadmiyum grubu olarak belirlendi. Deney hayvanları  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  ortamda muhafaza edildi. 12 saatlik aydınlık ve karanlık periyodlarında tutuldu. Hayvanlara etik standartlara uygun şekilde davranıldı ve muhafaza edildi.

Kadmiyum grubunun içme suyuna 15 ppm kadmiyum klorür 6 hafta süre ile ilave edildi (14). Kontrol grubunun içme suyuna kadmiyum klorür ilave edilmedi. 6 hafta sonunda üreten anestezisi altında hayvanların intrakardiyak kan örnekleri antikoagulanlı kan tüplerine alındı. Kan örnekleri santrifüje edilerek serumları ayrıldı ve hemen kadmiyum düzeyleri ölçüldü. Kadmiyum analizleri Perkin Elmer AA800 marka gravit fırınlı atomik absorpsiyon cihazı ile autosampler (PE AS-800) kullanılarak yapıldı. Tüm ratların kemik mineral yoğunlukları (KMY) üreten anestezisi altında iken kadmiyum maruziyetinden önce ve sonra olmak üzere iki defa ölçüldü. DEXA cihazında (Norland XR-46) ratların tüm vücut imajları elde edildikten sonra femur diafizinden ilgi alanı (ROI) seçilerek kemik mineral dansitesi ( $\text{gram/cm}^2$ ) belirlendi. Tüm çekimler ve analizler aynı teknisyen tarafından gerçekleştirildi. Kan örnekleri santrifüje edilerek serum kadmiyum düzeyini ölçmek için ayrıldı.

İstatistiksel analiz için SPSS 11.0 programı kullanıldı. Grupların maruziyet öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanılırken gruplar arası değerlerin karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 20 deney hayvanının ikisi öldü. Deney grubunda deney hayvan sayısı 8, kadmiyum grubunda ise 10 idi.

Kontrol ve kadmiyum gruplarının plazma kadmiyum düzey ortalamaları sırasıyla  $0.373 \pm 0.340$  ve  $0.878 \pm 0.59$  mg/L idi. Kadmiyum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p < 0.05$ ).

Deney gruplarının kadmiyum maruziyeti öncesi ve sonrası KMY değerleri Tablo 1'de belirtilmektedir. Kontrol grubunun kadmiyum maruziyeti öncesi ve sonrası KMY değer ortalaması 0.15 olarak tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ). Kadmiyum grubunda ise maruziyet öncesi ve sonrası KMY değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. KMY değerleri kadmiyum maruziyeti sonrası azalmakta idi ( $p < 0.05$ ). Kadmiyum maruziyeti sonrası KMY değerleri karşılaştırıldığında kadmiyum grubunun KMY değerleri kontrol grubuna göre düşük tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 1.** Çalışma gruplarının kemik mineral yoğunluklarının (KMY) ortalamaları (Ortalama  $\pm$  Standart Sapma).

	KMY Kadmiyum öncesi	KMY Kadmiyum sonrası
Kontrol (n=8)	$0.15 \pm 0.002$	$0.15 \pm 0.013$
Kadmiyum(n=10)	$0.15 \pm 0.001$	$0.13 \pm 0.008^*$

\* Kontrol grubu ile Kadmiyum grupları karşılaştırıldığında  $P=0,029$  ( $p < 0.05$ )

## TARTIŞMA

Çalışmamızda kısa süreli uygulanan düşük doz kadmiyumun ratların kemik yoğunluğunu azalttığını tespit ettik. Bu dozda ve sürede daha önce yayınlanmış çalışma bulunmamaktadır. Kadmiyumun kemik metabolizmasını etkilediği doz ve süre kesin olarak bilinmemektedir. Kadmiyum maruziyet süresi ve dozu kemik üzerindeki toksik etkide önemli rol oynamaktadır ve bu konuda birçok yayınlar mevcuttur. Kadmiyumun kemik üzerinde oluşturduğu değişimler ilk defa Jarup ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır (6). Bu çalışmada uzun süre yüksek doz çevresel kadmiyum maruziyetinin insanlarda kemik yoğunluğunu azalttığı saptanmıştır (6). Düşük doz kronik ve subkronik kadmiyum maruziyetinin de kemik mineralizasyonundaki azalmaya yol açtığına dair yayınlar mevcuttur (7,8,9). Biz ise düşük doz kadmiyum maruziyetinin 6 haftalık sürede kemik mineral yoğunluğunu azalttığını bulduk.

Kadmiyum kemik üzerinde direkt ve indirekt etki yapmaktadır. Kadmiyumun doza ve süreye bağlı olarak etki mekanizması ile ilgili birçok yayın rapor edilmiştir. Bu çalışmada kadmiyumun bu dozda ve sürede kemik mineral yoğunluğunu hangi mekanizma ile etkilediği araştırılmadı. Kadmiyuma bağlı kemik demineralizasyonu, kadmiyum maruziyeti başladıktan sonraki erken dönemde böbrek harabiyetinden önce başlamaktadır (10,11,12). Hayvan deneylerinde kadmiyum maruziyetinden 72 saat sonra feçeste kemik kaynaklı kalsiyum miktarının arttığı rapor edilmiştir (13). Yapılan çalışmalarda uzun süre düşük doz kadmiyumun böbrek üzerine etki ederek (İtai- İtai hastalığı) kemikte toksik etki oluşturduğu bildirilmiştir (6). Kadmiyumun dozu ile tubuler proteinürü şiddeti arasında ilişki vardır (14). Subkronik kadmiyum maruziyeti, ratlarda kemik üzerindeki etkisini doza bağlı olarak karaciğerin depolama fonksiyonlarını etkileyerek yapmaktadır. On üç hafta haftalık subkronik dönemde kadmiyum maruziyetinin böbrek üzerinde toksik etki yapmadığı ve düşük doz kadmiyum maruziyetinin karaciğerin mineral depolanmasını etkilediği bildirilmiştir (15). Karaciğer kalsiyum, bakır, çinko ve demir gibi eser elementlerin depolanmasında rol alan kritik bir organdır. Esansiyel minerallerden kalsiyum, çinko, bakır, demir ve selenyumun kadmiyum ile etkileşim gösterdiği de hayvan deneyinde rapor edilmiştir (15). Kadmiyumun kalsiyum absorpsiyonunu etkilediği de bildirilmiştir (15). Çevresel ve mesleki nedenle maruz kalan düşük doz kadmiyumun direkt olarak kemik mineralizasyonunu etkilediği ilk kez Alfven ve Straessen tarafından gösterilmiştir (8,9). Ohta ve arkadaşları da ratlarda düşük doz uzun süre kadmiyumun böbrek fonksiyonlarını etkilemeden direkt olarak kemik mineralizasyonunu etkilediğini rapor etmişlerdir (16). Kadmiyumun kemik yapımını azaltıp, yıkımını arttırdığı hayvan ve hücre kültürüyle yapılan deneylerde gösterilmiştir (17,18,19). İn vitro ve hayvan çalışmalarında kadmiyumun osteoblast ve osteoklast fonksiyonlarını direkt olarak etkilediği rapor edilmiştir. Klonal osteojenik hücre kültürü ile yapılan bir in vitro çalışmada, kadmiyum iyonunun eklenmesini takiben hücrelerin mineralizasyonunda, kollajen içeriğinde ve alkalen fosfataz aktivitesinde anlamlı azalma rapor edilmiştir (19).

Kan kadmiyum konsantrasyonu düzeyi ratlarda doza bağlı olarak haftalar içinde artarken, insanlarda bu süre aylar içinde olmaktadır (2). Biz de çalışmamızda plazma kadmiyum düzeyinin ratlarda haftalar içinde arttığını gösterdik.

Sonuç olarak hayvan deneyimizde kadmiyumun altı hafta gibi kısa bir sürede ve düşük dozda bile kemik mineral yoğunluğunu etkilediğini tespit ettik. Çevresel ve mesleki etkenlerle kadmiyuma maruz kalan bireyler erken dönemden itibaren kemik mineral yoğunlukları açısından takip altına alınmalıdır. Kadmiyuma maruz kalanların kemik mineral yoğunluklarının erken dönemden itibaren takip altına alınması gerektiği kamsındayız.

## KAYNAKLAR

1. Jarup L. Cadmium overloap and toxicity. Nephrol Dial Transplant 2002; 17 (suppl 2): 35-39).
2. Kazanthis G. Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism. Biometals 2004; 17: 493- 498.
3. Environmental health criteria no: 134 Cadmium. World Health Organization, Geneva 1992.
4. Alfven T, Elinder CG, Carlsson MD, Grubb A, Helström L, Persson B, Petersson C, Spang G, Schütz A, Jarup L. Low level cadmium exposure and osteoporosis. J Bone Miner Res 2000; 15: 1579- 1586.
5. Goyer RA, Epstein S, Bharttacharyya M, Korach KS, Pounds J. Environmental risk factors for osteoporosis. Environ Health Perspect 1994; 102: 390- 394.

6. Jarup L, Berlung M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure- a review of the literature and risk estimate. *Scand J Work Environment Health* 1998; 24:1-52.
7. Staessen JA, Emelianov D, Kuznetsova T, Thijs L, Vangronsveld J. Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: prospective population study. *Public Health and Environmental Exposure to Cadmium (PheeCad) Study Group*. *Lancet* 1999; 353 (9159): 1140-4.
8. Alfven T, Jarup L, Elinder CG. Cadmium and lead in blood in relation to low bone mineral density and tubular proteinuria. *Environ Health Perspect*. 2002; 110(7):699-702.
9. Noel L, Leblanc JC, Guerin T. Determination of several elements in duplicate meals from catering establishments using closed vessel microwave digestion with inductively coupled plasma mass spectrometry detection: estimation of daily dietary intake. *Food Addit Contam*. 2003; 20(1):44-56.
10. Bhattacharyya MH, Blum C, Wilson AK. The role of metallothionein in cadmium induced bone resorption. In: Klassen C (ed) *Metallothionein IV*, Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland 1988: pp 473- 476.
11. Ogoshi K, Moriyama T, Nanzai Y. Decrease in the mechanical strength of bones of rats administered cadmium. *Arch Toxicol*. 1989; 63(4): 320-4.
12. Wilson AK, Bhattacharyya MH. Effects of cadmium on bone: an in vivo model for the early response. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1997;145(1):68-73.
13. Ando M, Sayato Y, Osawa T. Studies on the disposition of calcium in bones of rats after continuous oral administration of cadmium. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978; 46(3):625-32.
14. Alfven T, Elinder CG, Carlsson MD, Grubb A, Hellstrom L, Persson B, Pettersson C, Spang G, Schutz A, Jarup L. Low-level cadmium exposure and osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2000;15(8):1579-86.
15. Noel L, Guerin T, Kolf- Clauw M. Subchronic dietary exposure of rats to cadmium alters the metabolism of metals essential to bone health. *Food Chem Toxicol*. 2004;42(8):1203-10.
16. Ohta H, Yamauchi Y, Nakakita M, Tanaka H, Asami J, Seki Y, Yoshikawa H. Relationship between renal dysfunction and bone metabolism disorder in male rats after long-term oral quantitative cadmium administration. *Ind Health*. 2000 Oct; 38(4): 339-55.
17. Bhattacharyya MH, Whelton BD, Stern PH, Peterson DP. Cadmium accelerates bone loss in ovariectomized mice and fetal rat limb bones in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Nov;85(22): 8761-5.
18. Miyahara T, Takata M, Miyata M. Cadmium stimulates osteoclast-like multinucleated cell formation in mouse bone marrow cell cultures. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1991;47(2): 283-7.
19. Miyahara T, Yamada H, Takeuchi M. Inhibitory effects of cadmium on in vitro calcification of a clonal osteogenic cell, MC3T3-E1. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988 ;96(1): 52-9.

**YAZIŞMA ADRESİ**

Feray SOYUPEK  
Süleyman Demirel Üniversitesi,  
FTR AD, 32300, Isparta  
Telefon; 0 246 2112516  
e- mail; feraysoyuppek@yahoo.com