

Köpeklerde Çinko ve Bakır ile İlgili Deneysel Bîr Çalışma

Gıyaseddin BAYDAŞ
Abdülbaki TÜRKOĞLU
Sait BULUT
Mesut AKSAKAL
Ziya KARAKILÇIK
Servet KILIÇ

AN EXPERIMENTAL STUDY ON THE
INTERACTION BETWEEN ZINC AND
COPPER IN THE DOGS

Fırat Üniv. Tıp Fak. Fizyoloji ABD, Fırat Üniv. Veteriner Fak. Fizyoloji ve
Cerrahi ABD FLA7.İĞ

Geliş Tarihi: 9 Ocak 1990
Kabul Tarihi: 22 Temmuz 1990

ÖZET

Bakır ve çinko arasındaki etkileşimi eritrosit ve plazma seviyesinde araştırmak için 12 sağlıklı köpek çalışmaya alındı. Dört köpeğe iki günde bir 2.5 mg/kg izotonik çinko klorür ($ZnCl_2$) intraperitonat (i.p) olarak enjekte edildi. Dördüne ise aynı şekilde 0.5 mg/kg bakır klorür ($CuCl_2$) enjekte edildi. Diğerleri kontrol grubu olarak alındı.

Enjeksiyonlardan önce ve sonra belirli aralıklarla plazma ve eritrosit çinko (Zn) ve bakır (Cu) değerleri saptandı. İ.p. $ZnCl_2$ verilen hayvanlarda plazma ve eritrosit Cu değerleri giderek azaldı, diğer taraftan i.p. $CuCl_2$ verilenlerde ise Zn miktarının azaldığı görüldü. İ.p. $ZnCl_2$ verilen hayvanlarda plazma bakır eritrosit bakım/ulan daha çok azaldı.

Sonuç olarak Zn ve Cu etkileşiminden özellikle plazma bakımını etkilediği, buna karşılık eritrosit bakımını daha stabil olduğu görüldü. Benzer sonuçlar plazma ve eritrosit Zn değerlerinde de saptandı.

Anahtar Kelimeler Çinko ve Bakır

T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi. C.8. S.6,1990,576-580

GİRİŞ

Eser elementlerin canlı organizmada çok önemli fonksiyonlara sahip oldukları uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu elementlerin eksiklik veya fazlalığında organizmada bazı fonksiyon bozuklukları görülmektedir. Özellikle çinkonun 120'den fazla enzimin yapısına katıldığı düşünülürse bu elementin organizmada

SUMMARY

77» study was made to investigate the interaction between Zinc and Copper in the erythrocyte and plasma. In the study twelve healthy dogs were used. Izotonic Zinc chloride was injected i.p. to four dogs in a dose of 2.5 mg/kg onve every two days. The other four dogs were injected with $CuCl_2$ 0.5 mg/kg similarly. The rest dogs were remained as controls.

Plasma and erythrocyte -Zn and Cu levels were measured at given intervals after and before injection. Plasma and red blood cell Cu level decreased gradually in the animals given $ZnCl_2$. On the other hand, Zn level was observed to decrease in those administered $CuCl_2$ In the dogs i.p injected with $ZnCl_2$ plasma Cu level was found to be lower than erythrocyte Cu level.

In conclusion, it appears that erythrocyte Cu level is less affected than plasma Cu level during the interaction between Cu and Zn. Similar results, were observed in the plasma and erythrocyte Zn levels.

KeyWords; Zinc and Copper

TJ Research Med Sci, V.8. N.6,1990,576-580

ne derece önemli bir işleve sahip olduğu anlaşılır.

Bu tür eser elementlerin birbirlerine karşı antagonist bir etkide buldukları bir çok araştırıcı tarafından bildirilmiştir (1,2,3,5-8). Yüksek miktarda alınan bir eser element, başka bir eser elementin organizmadaki yetersizliğine neden olabilir (1). Çinko ve bakır bu tür antagonist etkiye sahip olan

iki elementtir. Bu iki elementten birinin besinlerle veya başka yollarla fazla alınması, diğerinin organizmadan atılmasına ve yetersizliğine neden olmaktadır. Aksine bu metallere birinin normal değerlerin altında alınması, diğerinin dokularda birikmesine neden olur (1,2,6,7). Her iki durumda da organizmada bazı fonksiyon bozuklukları oluşmaktadır.

Çinko ve bakırın barsaklardan emilimi aktif transport yoluyla olmaktadır. Barsak lümen hücrelerinde bu iki elementin taşınmasında rol oynayan transferrin yapısına benzer bir proteinin olduğu radyoaktif Cu ile yapılan çalışmalarda saptanmıştır (1-3).

Barsak lümenindeki absorpsiyon esnasında, çinko ve bakır kompetisyona girerek biri diğerinin emilimini engeller. Bunun nedeni muhtemelen bu tür elementlerin barsak lümen hücrelerinden transportlarını sağlayan protein yapısındaki maddelerin bir çok trace elementi de bağlayabilmeleridir. Demir transportunu sağlayan maddenin aynı zamanda çinkoyu da bağladığı bilinmektedir. Bazı araştırmalarda bu iki elementin diğer dokulardaki dağılımında da bir kompetisyonun olduğu belirtilmiştir (2).

Normalde safra Cu ve Zn ekskresyonunun en büyük yoludur. Her iki element de çok az miktarda idrar yoluyla atılmaktadır. Bu elementler aynı zamanda birbirlerinin atılımını da arttırmaktadırlar. Çinko besinlerle fazla alındığında bakırın barsaktan emilimini azaltmakla beraber bu elementin idrarla ve diğer yollarla atılımını artırır (2). Pankreas sıvısında bulunan karboksipeptidaz A'daki çinko bir çok metalle olduğu gibi bakır ile de *in vitro* olarak yer değiştirebilir. Böylece çinko miktarı az olduğu zaman bakır konsantrasyonu artarsa bu maddelerin yapısına giren çinkonun yerine bakırın geçmesi, çinko konsantrasyonunu daha da azaltır (1,3).

Bu çalışmada amaç, deney hayvanlarına intraperitoneal olarak verilen çinko ve bakırın serum ve eritrositlerde hangi oranda değişmeye uğradıklarını ve birbirinin metabolizmalarını hangi yönde etkilediklerini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Araştırmaya 12 sağlıklı melez köpek alındı. Bunlardan dördüne i.p olarak steril izotonik CuCb

enjekte edildi. Dört tanesine ise aynı şekilde steril izotonik ZnCb enjekte edildi. Diğer dört hayvan ise kontrol grubu olarak alındı.

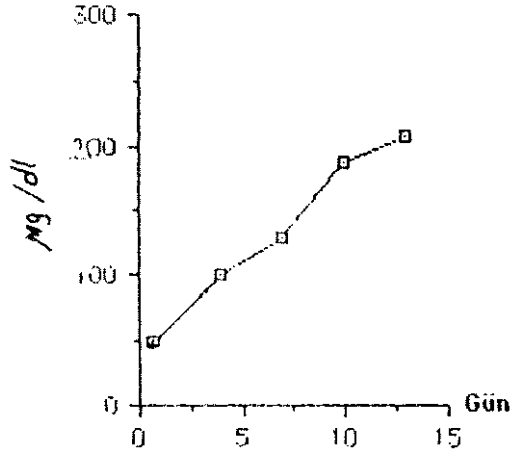
Enjeksiyonlara başlamadan önce tüm hayvanların plazma ve eritrosit Zn, Cu düzeyleri saptandı. Zn verilen hayvanlara iki günde bir, kg başına 2.5 mg Zn i.p olarak verildi. Diğer deney grubuna ise 0.2 mg/kg Cu i.p enjekte edildi. Enjeksiyonlara 13 gün devam edildi.

Deney ve kontrol hayvanlarından alınan antikoagülanlı kan 3000 devirde 5 dk. santrifüj edildikten sonra plazması ayrıldı. Eritrositler üç defa serum fizyolojikle yıkanıp, her defasında üstte kalan süpernatant ve lökositlerin uzaklaştırılmasına çalışıldı. Elde edilen eritrosit sedimenli üzerine uygun miktarda bidistile su ilave edilerek hemoliz oluşturuldu. Hemolizat ve plazmadaki Zn ve Cu tainleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Perkin elmer model 370) ile yapıldı (6).

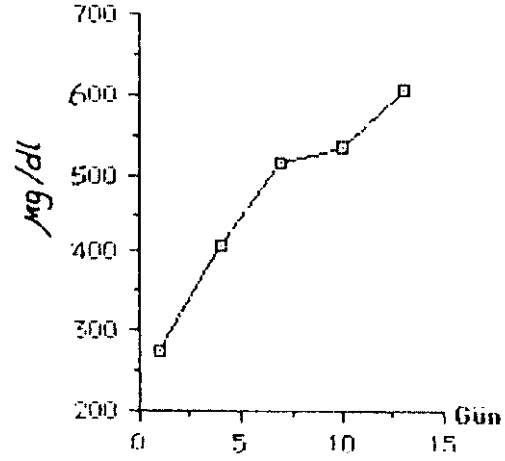
BULGULAR

Çalışmada kontrol grubu olarak kullanılan hayvanlarda plazma ve eritrosit çinko ve bakır düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadı. İ.P. ZnCb verilen deney hayvanlarında enjeksiyona başlamadan önce yapılan çinko ve bakır ölçümlerinde mg/dl olarak şu değerler saptandı: Plazma Zn'si 50.5 ± 8.2 , eritrosit Zn'si 272.5 ± 22.5 , plazma Cu'ı 132.5 ± 17.5 , eritrosit Cu'ı 137.0 ± 31.82 idi. Bu grupta deney boyunca yapılan ölçümlerin sonuçları grafik halinde Şekil 1-3'te gösterilmiştir. Şekillerden anlaşılacağı gibi deney süresince yapılan ZnCb enjeksiyonlarından dolayı plazma ve eritrosit çinko değerleri sürekli olarak artmış, ancak buna ters bir orantıda olmak üzere plazma ve eritrosit bakır değerleri azalmıştır. Deney sonunda yapılan çinko ve bakır ölçümlerinde ise mg/dl olarak plazma Zn'si 209.0 ± 21.06 , eritrosit Zn'si 606.5 ± 3.5 plazma Cu'ı 57.5 ± 7.52 , eritrosit Cu'ı 70.0 ± 16.04 olarak saptandı. İstatistiksel analizde plazma Zn ve Cu değerleri arasında negatif ve mükemmel bir korelasyon bulundu ($r=0.959$). Aynı şekilde eritrosit Zn ve Cu değerleri arasında da iyi bir korelasyon saptandı ($r=0.964$).

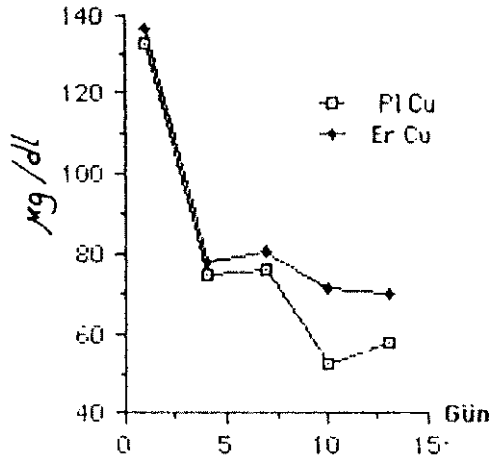
Bu gruptaki hayvanlarda deneyin başlangıcında ve sonunda saptanan plazma ve



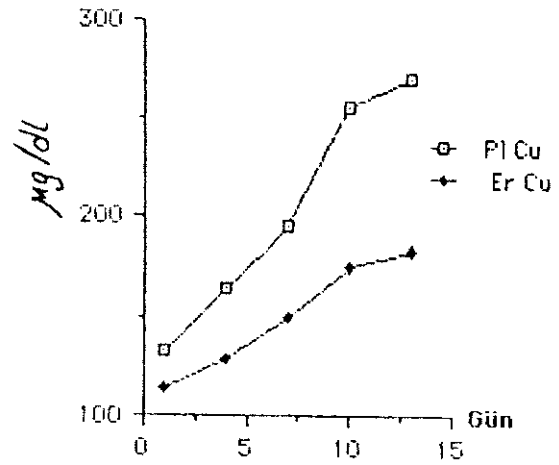
Şekil 1. İ.P. Zn verilen köpeklerde plazma çinkosu



Şekil 2. İ.P. Zn verilen hayvanlarda eritrosit çinkosu.



Şekil 3. İ.P. Zn verilen köpeklerde plazma ve eritrosit bakır.

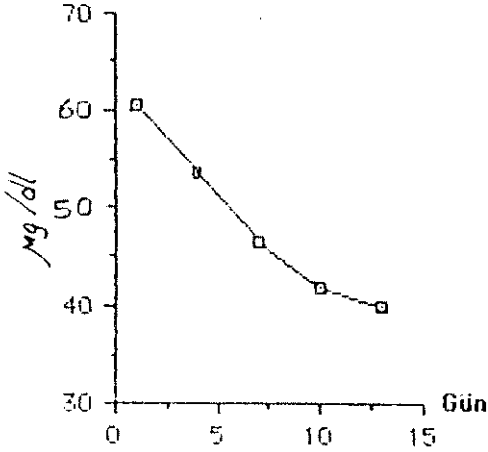


Şekil 4. İ.P. Zn verilen köpeklerde plazma ve eritrosit bakır.

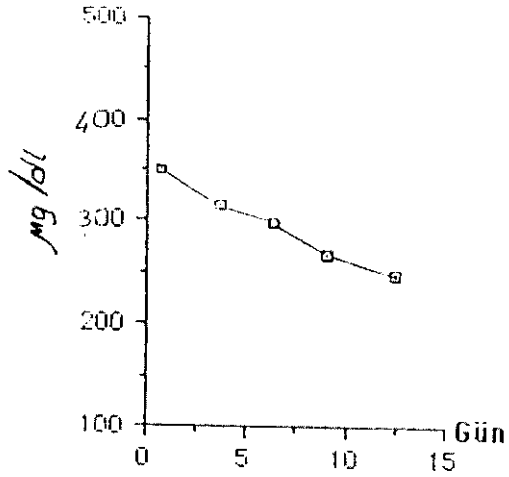
eritrosit Zn değerleri arasında şu oranlar saptandı. Başlangıç eritrosit Zn değerlerinin plazma Zn değerlerine oran 5.44'tü. Deney sonunda ise bu oran 2.90 düzeyine indi. Aynı şekilde başlangıç eritrosit Cu değerlerinin plazma Cu değerlerine oranı 1.03 iken deney sonunda bu oran 1.21 düzeyine yükseldi. Burada dikkati çeken nokta ZnCl₂ verilen hayvanlarda Zn'nin plazmada eritrositlerdekinden daha fazla artmasıdır. Fakat Cu'nun plazmadaki azalışı eritrositlerdekinden daha azdır.

İkinci gruba İ.P. olarak CuCl₂ enjekte etmeden önce bakır miktarları, plazmada 133.5±0.5 mg/dl, eritrositlerde 115±15 mg/dl olarak saptandı. Zn değerleri ise plazmada 60.5±12 mg/dl ve eritrositlerde 403±2.0 mg/dl düzeyinde saptandı. Deney boyunca yapılan ölçümlerde Cu miktarının arttığı ancak Zn değerlerinin buna oranla düştüğü gözlemlendi (Şekil 4-6).

Deney sonunda yapılan ölçümlerde plazma bakır 270.0±43.0 mg/dl, eritrosit bakır ise 183.0±26 mg/dl olmak üzere yükselmiş bulundu.



Şekil 5. İ.P. Cu verilen köpeklerde plazma çinkosu.



Şekil 6. İ.P. Cu verilen köpeklerde eritrosit çinkosu.

Buna karşılık plazma Zn değeri 40.0 ± 15 ve eritrosit Zn değeri ise 274 ± 2.1 mg/dl düzeyine düşmüştü. Bu grupta da Cu ve Zn arasındaki ilişki araştırıldı ve şu sonuçlar bulundu; plazma Cu ve Zn değerleri arasında $r = -0.930$ ve eritrositlerde ise $r = 0.972$ olmak üzere negatif ve iyi bir korelasyon bulundu.

İ.P. CuCl₂ verilen hayvanlarda, deney başlangıcında plazma Cu miktarının eritrosit Cu miktarına oranı 1.16 iken, deney sonunda bu oran 1.47 ye yükselmiştir. Aynı grupta başlangıç plazma Zn'sinin eritrosit Zn'sine oranı 6.66 olarak bulundu. Bu oran deney sonunda 3.60 düzeyine inmiştir. Sonuç olarak bu grupta plazma çinkosu eritrosit çinkosuna oranla daha fazla azalmıştı.

TARTIŞMA

Zn ve Cu etkileşimi ile ilgili çalışmalarda (1-4,10), özellikle Zn'nin yüksek dozu Cu emilimini ve vücuttaki dağılımını belirgin bir şekilde etkilediği bildirilmiştir. Bakır ise Zn metabolizmasını daha az oranda etkiler (1). Labbe ve arkadaşları (4) çinkonun fazla miktarda alınması organizmadaki bakır kısa sürede etkilememekle beraber uzun sürede bakır miktarını önemli ölçüde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Aynı çalışmada bazı enzimlerin yapısında bulunan Cu ve Zn'un yer değiştirdiği, bunun da bağlayıcı proteinin afinitesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Besinlerle yada paranteral olarak fazla miktarda Zn verilmesi

dokulardaki ve plazmadaki Cu miktarını önemli ölçüde düşürdüğü bilinmekle beraber bu durumlarda Cu içeren enzimlerin aktiviteleri ile ilgili yapılan çalışmalarda (4,5,7,10) enzim aktivitelerinin alman Zn ile azaldığı gösterilmiştir. Serum bakırının %80'ini bağlayan seruloplazmin aktivitesinin verilen Zn miktarıyla doğrusal orantıda olmamakla beraber yine de azaldığı bildirilmiştir (5). Bunun nedeni, seruloplazmin aktivitesini normal sınırlarda tutmak için organizma Cu depolarının mobilize edilmesine bağlanmıştır. Çalışmamızda i.p. Zn verilen hayvanlarda deney sonunda plazma ve eritrosit Cu miktarlarının bazal değerlerine göre anlamlı bir şekilde düşmüş bulduk. Çinkonun Cu metabolizması üzerindeki depressif etkisinden dolayı eritrosit bakırına oranla plazma bakır daha çok azalmıştı. Bu gruptaki hayvanlarda plazma Cu miktarı %56.8 oranında düşmüş, buna karşılık eritrosit Cu düzeyi %48.9 düşmüştü. Fischer ve arkadaşları (3) diyetle fazla miktarda Zn vererek organizmanın Cu durumu ile ilgili yaptıkları çalışmada, Cu içeren karaciğer süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin diyetteki Zn miktarına ters, fakat doğrusal orantıda azaldığını göstermişlerdir. Eritrosit SOD aktivitesinin ise zamana bağımlı azaldığını, bunun da eritrosit yapım ve yıkımıyla ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılara göre (3) mevcut eritrositlerde bulunan ve Cu içeren enzimler alınan çinkodan fazla etkilenmez, dolayısıyla bu eritrositlerdeki Cu

fazla azalmaz. Buna karşılık yeni yapılan eritrositlerin oluşumu esnasında çinkonun antagonist etkisinden dolayı Cu fazla azalmaz. Buna karşılık yeni yapılan eritrositlerin oluşumu esnasında çinkonun antagonist etkisinden dolayı Cu miktarı azalır. Gerçekten insan eritrositlerinde bulunan ve eritrosit bakırının %60'nı bağlayan eritrocuprein kemik iliğinde normoblastlarda sentezlenir ve bu proteine bağlı Cu oldukça stabildir. Bu nedenle eritrocuprein organizmadaki Cu miktarında meydana gelen değişikliklerden daha az etkilendir.

İ.p. olarak ZnCb verdiğimiz, hayvanlarda eritrosit Cu miktarının daha az, fakat plazma Cu'nun ise daha çok azalması, yukarıda bahsedilen görüşlere uygunluk sağlamaktadır. Böylece Zn fazlalığı, eritrositlerdekenden ziyade plazmadaki Cu miktarının azalmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı, plazma bakırını organizmadaki Cu miktarının en iyi göstergesidir.

Bu gruptaki köpeklerin plazma Zn miktarındaki artış oranı eritrositlerdekenden daha fazlaydı. Serumdaki Zn'nun bir kısmı serum albuminine gevşekçe bağlanır, Zn'nun proteinlerle kompleks oluşturması, onun bu şekilde proteinlerle taşındığını gösterir (13). İ.p. Zn verilmesinden sonra plazma Zn seviyesinin daha çok artmasının nedeni, onun taşınmak için ilk önce plazma proteinleriyle hızlı ve gevşek balanmasıdır.

Fakat daha sonraki dönemlerde dokularda da depo edilip birikir (13).

İ.P. Cu verilen ikinci deney grubundaki hayvanlarda plazma bakırında meydana gelen artma, eritrositlerdeki Cu artışından daha fazlaydı. Buna karşılık aynı grupta plazma Zn miktarı %33.3 oranında azalırken, eritrosit Zn miktarında ise %31.05 oranında bir azalma görüldü. Cu'nun plazmadaki bu artışı taşıyıcı proteinlere hemen bağlanmasında ileri gelmektedir. Fakat eritrositlerdeki bakır içeren yapılan bu ani değişikliklere daha az bağımlı olduklarından (3) eritrosit bakırını fazla artmamıştır. Cu ve Zn emilim esnasında olduğu gibi diğer dokularda da kompetisyona girmektedir (1). İ.p. Cu verilen hayvanlarda bakırın plazma ve eritrosit Zn miktarını düşürdüğünü saptadık, serum Zn miktarının daha fazla azalmasının nedeni şudur: Zn plazmada, özellikle taşınmak için proteinlerle gevşek bağlanır. Plazma Cu miktarı artıncı Zn ile kompetisyona girerek plazma Zn miktarını düşürür.

Sonuç olarak, İ.p. Cu yada Zn verilmesi bu iki elementin organizmadaki metabolizmalarını önemli derecede etkiler. Zn ve Cu arasındaki antagonizmadan özellikle daha labil olan plazma fraksiyonlarının etkilendiği görüldü. Buna karşılık, daha stabil olan eritrosit Zn ve Cu miktarları bu iki elementin etkileşiminden ileri gelen durumlardan daha az etkilenmekteydi.

KAYNAKLAR

1. Alfaro B, Hcalon FW: Relationships between copper, zinc and iron in the plasma, soft tissues and skeleton of the rat during Cu deficiency. *Br. J. Nutr* 29, 73-85, 1973.
2. Fesia MD, Anderson III., Dowdy RP, Llersick MR: Effect of zinc intake on copper excretion and retention in men. *Am Jour, of Clin Nutrition*. 41, pp 285-292, February 1985.
3. Fischer PWF, Giroux A, and E'Abbe MR: Effect of zinc supplementation on copper status in adult man. *Am Jour of Clin Nutrition* 40, pp 743-746, October 1984.
4. I.'Abbe, MR, Fischer PWF: The effects of high dietary zinc and copper deficiency on the activity of copper requiring metalloenzymes in the growing rat, *J.Nutr*. 114, pp 813-822, 1984.
5. E'Abbe MR, Fischer PWF: The effects of dietary zinc on the activity of copper requiring metalloenzymes in the rat. *J.Nutr*. 114, pp 823-828, 1984.
6. Meret S, Ilcnkin RI: Simultaneous direct estimation by atomic absorption spectrophotometry of copper and zinc in serum, urine and cerebrospinal fluid. *Clinical Chemistry* 17(5): 369-373, 1971.
7. Mills CF, Davics NT, Quartermen J and Aged PJ: Metal interaction in the aetiology of trace element deficiency and toxicity. *Nutrition Research, suppl. 1*, pp 471-477, 1985.
8. Pritchard GC, Levis G, Wells GAI, Slopforlh A: Zinc toxicity, copper deficiency and anemia in swill-fed pigs, *The Veterinary Record*, 117,545-548. 1985.
9. Reinstein NH, Lonnerdal BO, Keen CI and Hurley LS: Zinc-copper interactions in the pregnant rat: Fetal outcome and maternal and fetal zinc, copper and iron, *J.Nutr*. 114, 1266-79. 1984.
10. Shulman RI: Zinc and copper balance studies in infants receiving total parenteral nutrition, *Am. Jour.Clin. Nutrition*, 49:879-83, 1989.
11. Storey ML, Gregor JL: Iron, zinc and copper interaction: Chronic versus acute responses of rats. *J.Nutr*. 117. 1434-42, 1987.
12. Wohl MG, Goodhart RS: *Modern nutrition in health and disease*. Fourth edition, 381-392, 1971, Philadelphia.
13. Yadrick MK, Kenny MA and Vinterfeld EA: Iron copper and zinc status: Response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females. *Am. Jour. Clin. Nutrition*, 49:145-150, 1989.