

# Ratlarda çinko eksikliğinin bazı hormonlar üzerine etkisi

C. Şeref BEDİZ\*, A. Kasım BALTACI\*, A. Muhtar TİFTİK\*\*, Hüsamettin VATANSEV\*\*\*, Mürsel GÖKÇEN\*\*\*

\* S.Ü.T.F. Fizyoloji Anabilim Dalı, \*\* Biyokimya Anabilim Dalı, \*\*\* Merkez Laboratuvarı, KONYA

## ÖZET

*Bu çalışmada, çinko eksikliğinin ratlarda bazı hormonal parametreleri nasıl etkilediği araştırıldı. Araştırma 3 hafta süreyle çinko eksik diyetle beslenen deney grubu (n=10) ve normal diyetle beslenen kontrol grubu (n=9) olmak üzere toplam 19 adet Sprague Dawley cinsi 6 haftalık erkek ratlar üzerinde gerçekleştirildi. Üç haftanın sonunda deney hayvanlarından alınan kan örneklerinde serum çinko, büyüme hormonu, serbest ve total T3 ile T4, TSH, serbest ve total testosteron tayinleri yapıldı. Araştırmanın sonunda genel olarak elde edilen bulgular 3 haftalık çinko eksikliğinin ratlarda, büyüme hormonu ve total T4 seviyeleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmazken, serbest ve total T3, serbest T4, TSH, serbest ve total testosteron düzeylerini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymaktadır.*

**Anahtar Kelimeler:** Çinko, hormon, büyüme hormonu, tiroid hormonları, testosteron.

## SUMMARY

### *Effect of zinc deficiency on some hormones in rats*

*In this study, we aimed to determine the effects of zinc deficiency on some hormonal parameters in rats. The investigation was carried out on subjects which were 6-week-old Sprague Dawley rats. The first group of rats (n=9) were fed with a diet lack of zinc for 3 weeks (n=10). The second group got a normal diet as controls (n=10). At the end of three weeks, zinc, growth hormone, free and total T3 and T4, TSH, free and total testosterone levels were determined in sera. On the whole, the data evaluated in the study indicated that zinc deficiency for 3 weeks did not cause to any significant alteration in growth hormone and total T4 levels.. However, there was significant decline in free and total T3, free T4, TSH, free and total testosterone .*

**Key Words:** Zinc, hormones, thyroid hormones, growth hormone, testosterone.

Vücudun hemen her hücresinde bulunan çinko bugün için 300'den fazla enzimin aktivitesinde ve/veya yapısında rol oynamaktadır. Bu etkilerinden dolayı nükleik asit sentezi, protein, karbonhidrat ve lipid metabolizmasıyla ilgili pek çok reaksiyon için esansiyel olarak bulunması gerekmektedir (1). İmmün fonksiyonlarda temel bir rolü olduğu bilinen çinko (1,2), büyüme ve cinsel fonksiyonlar üzerinde de önemli bir etkiye sahip bulunmakta, kronik olarak eksikliğinde ise büyüme geriliği ile hipogonadizme neden olmaktadır (3). Ancak çinkonun büyüme ve gonadal fonksiyonlarla ilişkisi oldukça karmaşık bir görünüm arz etmekte (3,4) ve konuyla ilgili yeni araştırmaların yapılmasını gerekli kılmaktadır.

Bu noktadan yola çıkarak gerçekleştirilen çalışmada, erkek ratlarda çinko eksikliğinin bazı hormonal parametreleri (Büyüme hormonu, T3, T4, TSH, Testosteron) nasıl etkilediğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma, çinko eksik diyetle beslenen deney grubu (n=10) ve normal diyetle beslenen kontrol grubu (n=9) olmak üzere toplam 19 adet Sprague Dawley cinsi 6 haftalık erkek ratlar üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezinde yapıldı.

Deney grubunu oluşturan hayvanlar, özel olarak hazırlanmış 0.650 ppm/g çinko içeren diyet ve bi-distile su, kontrol grubunu oluşturan ratlar ise 96.9 mg/kg çinko içeren normal yem ve çeşme suyu ile üç hafta süreyle beslendi.

Çalışmanın bitiminde, deney hayvanlarından alınan kan örnekleri 2500 devirde 10 dk süreyle santrifüj edildi. Elde edilen serum örneklerinde, total ve serbest triiodotronin (T3), total ve serbest tiroksin (T4), TSH (Tiroid Stimulan Hormon) ile total testosteron tayinleri ACS-180 ile, serbest testosteron ve GH (Büyüme hormonu) tayinleri DSL-RIA ile gerçekleştirildi. Serum çinko düzeyleri Randoks kitleri kullanılarak, spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda okundu.

Bulgular ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Ortalamalar arasındaki farklar "student t" testi ile karşılaştırıldı.

## BULGULAR

Deney ve kontrol grubundaki ratların hormonal değerleri tabloda sunulmuştur. Çalışmanın başlangıcında, deney grubunu oluşturan hayvanların ağırlık ortalamaları 182.0±20.3, kontrol grubununki ise 188.3±19.7 g olarak tespit edilirken aradaki

farklılık anlamlı değildi (t=-0.69). Çalışmanın bitiminde deney grubundaki ratların ağırlık ortalamaları 209.0±9.7 g, kontrol grubununki ise 276.1±13.4 g, olarak belirlenirken aradaki farklılık kontrol grubu lehine anlamlı bulundu (P<0.001, t=-12.39), (Tablo 1).

Çinko eksik diyetle beslenen ratların serum çinko düzeyleri 68.8±21.9 µg/dl iken, kontrol grubunda 123.8±11.5 µg/dl düzeyinde tespit edildi. Deney grubunun çinko düzeyleri kontrol grubuna göre önemli ölçüde (P<0.001, t=-6.89) daha düşüktü (Tablo 1).

Büyüme Hormonu (GH) seviyeleri deney grubunda 0.4±0.1 mIU/ml, kontrol grubunda 0.4±0.04 mIU/ml olarak tespit edilirken aradaki farklılık anlamlı değildi (t=-0.23).

Deney grubunun serbest T4 değerleri 1.9±0.1 ng/dl, kontrol grubunun aynı değerleri 2.34±0.3 ng/dl idi. Aradaki farklılığın P<0.01 (t=3.37) seviyesinde deney grubunda daha düşük olduğu gözlemlendi (Tablo 1). Total T4 değerleri deney ve kontrol grubunda sırasıyla 3.4±0.4 µg/dl, 3.9±0.7 µg/dl olarak belirlenirken gruplar arasındaki farklılığın önemli olmadığı tespit edildi (t=-1.66).

Serbest T3 deney ve kontrol gruplarında sırasıyla 3.6±0.4 pg/ml, 4.7±1.1 pg/ml olarak belirlendi. Deney

Tablo 1: Deney ve kontrol grubundaki ratlarda çinko ve hormon düzeyleri.

	Deney Grubu (n:10)	Kontrol Grubu (n:9)
Başlangıçdaki Ağırlık (g)	182.0±20.3	188.3±19.7
Bitişteki Ağırlık (g)	209.0±9.7***	276.1±13.4
Serum Çinko (µg/dl)	68.8±21.9***	123.3±11.5
Büyüme Hormonu (mIU/ml)	04±0.1	04±0.04
Serbest T <sub>4</sub> (ng/dl)	1.9±0.1**	2.3±0.3
Total T <sub>4</sub> (µg/dl)	3.4±0.4	3.9±0.7
Serbest T <sub>3</sub> (pg/ml)	3.6±0.4*	4.7±1.1
Total T <sub>3</sub> (pg/ml)	0.5±0.1**	0.8±0.1
TSH (IU/ml)	6.0±2.7**	9.3±1.6
Serbest Testosteron (pg/ml)	3.0±0.6***	15.5±4.
Total Testosteron (ng/dl)	182.0±35.9***	445±91.1

\* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001

grubunun bu değerleri kontrol grubundan  $P < 0.05$  ( $t = -2.99$ ) seviyesinde düşük bulundu. Total T3 düzeyleri deney grubunda  $0.5 \pm 0.1$  ng/ml, kontrol grubunda ise  $0.8 \pm 0.1$  ng/ml olarak tespit edilirken, benzer şekilde deney grubunun bu değerleri kontrol grubundan önemli oranda daha düşüktü ( $P < 0.01$ ,  $t = -4.96$ ).

Deney grubunun TSH düzeyleri  $6.0 \pm 2.7$   $\mu$ IU/ml, kontrol grubunun aynı parametresi  $9.3 \pm 1.6$   $\mu$ IU/ml olarak bulunurken, deney grubunun bu değerleri kontrol grubundan  $P < 0.01$  ( $t = -3.26$ ) seviyesinde daha düşüktü.

Serbest testosteron değerleri deney grubunda  $3.0 \pm 0.6$  pg/ml, kontrol grubunda  $15.5 \pm 4.1$  pg/ml olarak belirlenirken, bahsedilen parametre kontrol grubuna oranla deney grubunda  $P < 0.001$  ( $t = -9.08$ ) düzeyinde düşük bulundu. Total testosteron seviyeleri deney ve kontrol gruplarında sırasıyla  $182.0 \pm 35.9$  ng/dl,  $445.8 \pm 91.1$  ng/dl idi. Bu değerler deney grubunda önemli ölçüde düşüktü ( $P < 0.001$ ,  $t = -8.07$ ).

## TARTIŞMA

Çalışmanın başlangıcında, deney ve kontrol gruplarını oluşturan hayvanların ağırlık ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken, 3 haftalık araştırmanın bitiminde deney grubunu oluşturan ratların ağırlık ortalamaları kontrol grubuna oranla önemli ölçüde düşük bulundu. Gerçekleştirilen önceki çalışmalarda çinko eksik diyetle beslenen ratlarda, kontrollerine göre ağırlık artışında azalma olduğunun bildirilmesi elde ettiğimiz bulguları desteklemektedir (5,6). Yine, çinko eksik diyetle beslenen ratların serum çinko düzeyleri, beklenildiği gibi kontrol grubuna göre daha düşüktü. Bu sonuçlar, diğer parametrelere ait tartışmanın daha güvenilir bir şekilde yapılmasını sağlayabilecektir.

Çinko eksikliğinin büyüme hormonu ve IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü) düzeylerini azalttığı yapılan araştırmalarla gösterilmiştir (5-8). Büyüme dönemindeki ratlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, çinko eksikliğinin büyüme hormonunun uzun kemik üzerindeki büyüme etkisini baskıladığı ortaya konulmuştur (9). Diyetle çinko eksikliğinin rat karaciğer hücre kültürlerinde büyümeyi yavaşlattığı, dolaşımda IGF-1 düzeyini azalttığı, ayrıca ka-

raciğerde hem büyüme hormonunu hem de büyüme hormon reseptörlerini azalttığı bildirilmiştir (10). Büyüme hormonu eksikliği olan çocuklar üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada, çinko ile IGF-1 düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunduğunun tespit edilmesi çinko ile büyüme arasındaki ilişkiye çarpıcı bir misal teşkil etmektedir (11). Bu çalışmada ağırlık artışında fark olmasına rağmen büyüme hormonu seviyeleri yönünden gruplar arasında anlamlı bir farklılık ortaya konulamadı. Üç haftalık deney süresinin büyüme hormonundaki değişiklikler için yeterli bir zaman dilimi oluşturmamış olabileceği veya deney hayvanlarının büyüme dönemi başlangıcında olmaması nedeniyle hormonal değişikliklerin saptanamadığı düşünülmektedir.

Araştırmamızda, çinko eksik diyetle beslenen deney grubunun serum serbest ve total T3 ile serbest T4 seviyeleri kontrol grubuna oranla daha düşük bulunurken, serum total T4 değerleri gruplar arasında farklılık göstermedi. Gerçekleştirilen çalışmalar, tiroid hormonları ile serum çinko düzeyleri arasındaki pozitif bir ilişkinin varlığını ortaya koymaktadır (12,13). Çinko eksikliği olan kişilerde düşük değerlerde bulunan serbest ve total T3 seviyelerinin gerçekleştirilen çinko takviyesinden sonra normale döndüğü, çinko takviyesi öncesi yüksek bulunan serum rT3 düzeylerinin de azaldığının ileri sürülmesi (14), çinkonun tiroid hormon metabolizmasında rol oynadığını göstermektedir. Çinko eksikliğinde karaciğerdeki tip 1 5'-deiyodinaz enzim aktivitesinin %67 oranında azalmış olduğunun tespit edilmesi (15), çinko eksikliğinin tiroid hormon metabolizması üzerindeki etkisinin T4'ün T3'e dönüşümünün azalmasıyla gerçekleştiğinin bir delili olarak kabul edilebilir. Otuz gün süreyle çinko eksik diyetle beslenen hayvanlarda tiroid bezinde gözlenen mikroskobik ve makroskobik değişikliklerin yanı sıra, serum T4 ve T3 düzeylerinde de bir azalmanın meydana geldiğinin bildirilmesi (16) ve daha önce bahsedilen araştırmaların sonuçları çalışmamızdaki bulgularla uyumludur.

Araştırmamızda deney grubunun TSH düzeylerinin kontrol grubundan önemli oranda düşük bulunması dikkat çekicidir. Zira, çinko eksikliğinde özellikle T4'ün T3'e dönüşümünde bir azalmanın meydana geldiğinin bildirilmesine karşın (15), elde

ettiğimiz düşük TSH düzeyleri çinko eksikliğinin aynı zamanda TSH üzerinde de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu sebeple, çinko eksikliğinde tiroid hormonlarında gözlenen azalmanın tek bir mekanizmayla değil, bir çok faktörün etkisi altında gerçekleştiği söylenebilir. Bundan sonra yapılabilecek araştırmalarda çinko eksikliğinin TSH üzerindeki etkilerinin yanı sıra TRH (TSH uyarıcı hormon) ile ilişkisinin araştırılması bir öneri olarak ileri sürülebilir.

Çinkonun testislerde ve aksesuar seks glandlarında yüksek konsantrasyonda bulunması, üreme fizyolojisinde önemli roller oynadığını göstermektedir (17). Çinkonun sperm membran bütünlüğünü sağladığı, sperm motilitesini artırdığı, sperm kuyruğunun helezonik hareketini düzenlediği ve ATP sentezini artırdığı bildirilmektedir (18,19). Erişkin erkek testisinde çinko konsantrasyonu yüksek oranda bulunmakta ve çinkonun ejakulattaki spermatozoanın yaşam süresini uzattığı düşünülmektedir (20,21). Gerçekleştirilen bir araştırmada sağlıklı genç erkeklerde çinko eksikliğinin serum testosteron seviyesinde önemli bir oranda azalmaya sebep olduğu gözlenirken, sınırda çinko eksikliği olan yaşlı erkeklere 6 aylık çinko takviyesinin serum testosteron seviyesini artırdığı ileri sürülmektedir (22). Büyüme dönemindeki ratlarda 6 haftalık çinko eksik diyet uygulamasının testis fonksiyonlarını olumsuz olarak etkilediği ortaya konulmuştur (23). Genç erkek ko-

yunlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, 96 günlük çinko eksik diyetin testiste testosteron üretme kapasitesini azalttığı gösterilmiştir (24). Bir çok araştırmacı benzer şekilde çinko eksikliğinin serum testosteron seviyelerinde önemli bir azalmaya yol açtığını yaptıkları çalışmalarla ortaya koymuşlardır (25-27). Gerçekleştirdiğimiz araştırmada çinko eksik diyetle beslenen deney grubunda elde ettiğimiz düşük serum testosteron değerleri literatür bilgilerle uyumludur. Çalışmamızda diğer araştırmacıların aksine daha kısa süreli (3 haftalık) çinko eksik diyet uygulamasına rağmen serum testosteron seviyelerindeki önemli azalma, çinkonun üreme fizyolojisi üzerindeki etkisini göstermek açısından çarpıcı bir örnek olarak kabul edilebilir. Sonuçlarımız çinkonun serum testosteron seviyelerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Araştırmanın sonunda genel olarak elde ettiğimiz bulgular, 3 haftalık çinko eksikliğinin ratlarda beklenenin aksine büyüme hormonu ve total T4 seviyeleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmazken, serbest ve total T3, serbest T4, TSH, serbest ve total testosteron düzeylerini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymaktadır. Hormonlar ve özellikle büyümeye etkili hormonlar ile ilgili ileri çalışmalarda sütün yeni kesilmiş ratların kullanılması büyümeyle ilgili değişikliklerin daha belirgin ortaya konmasına yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Prasad AS. Zinc and immunity. *Mol Cell Biochem* 1998;188:63-9.
2. Bodey B, Bodey B Jr, Siegel SE, Kaiser HE. The role of zinc in pre-and postnatal mammalian thymic immunohistogenesis. *In Vivo* 1998;12:695-722.
3. Nishi Y. Zinc and growth. *J Am Coll Nutr* 1996;15:340-4.
4. Ripa S, Ripa R. Zinc and the growth hormone system. *Minerva Med* 1996;87(1-2):25-31.
5. Taçoy A. Deneysel çinko eksikliğinde timustaki histopatolojik ve elektronmikroskopik değişiklikler. *GATA Bülteni* 1982;24:201-17.
6. Dursun N, Aydoğan S, Saraymen R. çinko eksikliğinin kan parametrelerine ve elektrolitler üzerine etkisi. *Fizyoloji Bülteni* 1991;3:1-7.
7. Estivariz CF, Ziegler TR. Nutrition and the insulin-like growth factor system. *Endocrine* 1997;7:65-71.
8. Chattopadhyay S, Freake HC. Zinc chelation enhances thyroid hormone induction of growth hormone mRNA in GH3 cells. *Mol Cell Endocrinol* 1998;136:151-7.
9. Cha MC, Rojhani A. Zinc deficiency inhibits the direct growth effect of growth hormone on the tibia of hypophysectomized rats. *Biol Trace Elem Res* 1997;59(1-3):99-111.
10. Lefebvre D, Beckers F, Ketelslegers JM, Thissen JP. Zinc regulation of insulin-like growth factor-I (IGF-I), growth hormone receptor (GHR) and binding protein (GHP) gene expression in rat cultured hepatocytes. *Mol Cell Endocrinol* 1998;138(1-2):127-36.
11. Mocchegiani E, Sartario A, Santarelli L, Ferrero S, Fabris N. Thymulin, zinc and insulin-like growth factor I (IGF-I) activity before and during recombinant growth hormone (rec GH) therapy in children and adults with GH deficiency. *J Endocrinol Invest* 1996;19:630-7.

12. Leblondel G, Bouil AL, Allain P. Influence of thyro-parathyroidectomy and thyroxine replacement on CU and ZN cellular distribution and on the metallothionein level and induction in rats. *Biol Trace Element Res* 1992;32:281-8.
13. Tsou CT, Chen MD, Lin WH, Ho LT. Alterations of zinc levels in patients with thyroid disorders (abstract). *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih* 1993;51:57-60.
14. Napolitano G, Palka G, Lio S, Bucci I, DeRemigis P, Stuppia L, Monaco F. Is zinc deficiency a cause of subclinical hypothyroidism in Down syndrome. *Ann Genet* 1990;33:9-15.
15. Kralik A, Eder K, Kirchgessner M. Influence of zinc and selenium deficiency on parameters relating to thyroid hormone metabolism. *Horm Metab Res* 1996;28:223-6.
16. Gupta RP, Verma PC, Garg SL. Effect of experimental zinc deficiency on thyroid gland in guinea pigs. *Ann Nutr Metab* 1997;41:376-81.
17. Liu Y, Franklin RB, Costello LC. Prolactin and testosterone regulation of mitochondrial zinc in prostate epithelial cells. *Prostate* 1997;30:26-32.
18. Perk H, Şahin A, Bedük Y, Durak ı. infertil hastalarda çinko sülfat tedavisi ve sonuçlarının değerlendirilmesi. *T KI Tıp Bil Araş Derg* 1990;8:549-551.
19. Ergenekon E, Kayık S, Müslümanoğlu A, Tamer C, Saporta L. Semendeki çinko ve mağnezyumun sperm sayısı, motilitesi ve infertilite ile ilişkisinin değerlendirilmesi. *Türk Üroloji Dergisi* 1991;17:270-2.
20. Bedwal RS, Bahuguna A. Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experienta* 1994;50:626-40.
21. Suzuki T, Suzuki K, Nakajima K, Otaki N, Yamanaka H. Metallothionein in human seminal plasma. *Int J Urol* 1994;1:345-8.
22. Prasad AS, Mantzoros CS, Beck FW, Hess JW, Brewer GJ. Zinc status and serum testosterone levels of healthy adults. *Nutrition* 1996;12:344-8.
23. Hamdi SA, Nassif OI, Ardawi MS. Effect of marginal or severe dietary zinc deficiency on testicular development and functions of the rat. *Arch Androl* 1997;38:243-53.
24. Martin GB, White CL, Markey CM, Blackberry MA. Effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep: testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. *J Reprod Fertil* 1994;101:87-96.
25. Ahlgren G, Rannevik G, Lilja H. Impaired secretory function of the prostate in men with oligo-asthenozoospermia. *J Androl* 1995;16:491-8.
26. Om AS, Chung KW. Dietary zinc deficiency alters 5 alpha-reduction and aromatization of testosterone and androgen and estrogen receptors in rat liver. *J Nutr* 1996;126:842-8.
27. Tohyama C, Suzuki JS, Homma S, Karasawa M, Kuroki T, Nishimura H, Nishimura N. Testosterone-dependent induction of metallothionein in genital organs of male rats (abstract). *Biochem J* 1996;317:97102.