

Pentaklorofenolün Tavşanlarda Bazı Antioksidan Enzimler İle Laktat Dehidrogenaz ve Kreatin Kinaz Düzeylerine Etkisi

Seyfullah O. ARSLAN¹ Ramazan ŞEKEROĞLU² İsmail MERAL³
Recep ASLAN⁴ Fahri BAYIROĞLU³

¹ Harran Üniversitesi, Tıp fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

⁴ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyon, TÜRKİYE

Geliş tarihi: 8 Mayıs 1997

Effect of Pentachlorophenol on Some Antioxidant Enzymes and Lactat Dehydrogenase and Creatine Kinase Levels in Rabbits

Summary: This experiment was carried out to investigate the effect of pentachlorophenol on antioxidant enzymes of rabbits. New Zealand Rabbits, weighing 1200-1600 g and 5-6 months of age, were used. It was found that, although glutathion peroxidase did not change with the pentachlorophenol treatment, superoxide dismutase activity decreased ($P<0.05$) about 40 % dose dependently. In addition, pentachlorophenol treatment increased both plasma creatine and lactat dehydrogenase activities significantly ($P<0.05$). It was concluded that the cancerogenic effect of pentachlorophenol may be due to the inhibition of superoxide dismutase activity or/and increase in the hydroxyl radical activity. More studies are needed to prove our hypothesis.

Key words: Pentachlorophenol, rabbit, antioxidant enzymes.

Özet: Bu çalışma Pentaklorofenol (PCP)'ün tavşan kanındaki antioksidan enzimler üzerine etkilerini araştırmak amacıyla düzenlenmiştir. Bu amaçla, 1200-1660 g ve yaklaşık 5-6 aylık Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Glutasyon peroksidaz aktivitesinde önemli bir değişiklik olmazken, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde doza bağlı olarak % 40'a yakın inhibisyon gözlemlendi ($P<0.05$). Ayrıca plazma kreatin kinaz ve laktat dehidrojenaz da çalışıldı. Her iki enzim aktivitesinde de yine doza bağlı olarak oldukça yüksek düzeyde artış gözlemlendi ($P<0.05$). Bu bulgular ışığı altında PCP'nin kanserojenik etkisinin, SOD aktivitesinin inhibisyonuyla, hidroksil radikalının etkinliğine olanak sağlaması sayesinde gerçekleşebileceği sonucuna varıldı. Ancak bu konunun tam olarak aydınlığa kavuşması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Pentaklorofenol, tavşan, antioksidan enzim.

Giriş

Pentaklorofenol (PCP); fungisid, insektisid, bakterisid v.b. özellikleri nedeniyle başlıca ağaç, deri ve tekstil sanayiinde kullanılmaktadır (1). ABD'nde insan idrarında en sık rastlanan pestisid olarak gösterilmektedir (2). İnsan ve hayvan sağlığı üzerine istenmeyen etkilerinin boyutları ortaya konması sonrasında, kullanımına yasaklar ya da kısıtlamalar getirilmiştir (3). Daha önce, PCP toksisitesinin genel tıp pratiğindeki önemi, konuyla ilgili epidemiyolojik bilgilerle birlikte genel bir değerlendirme halinde sunulmuştur (4). Son yıllarda PCP'nin kanserojenik etkinliğinden söz eden araştırmalar yayınlanmaktadır (5,6,7,8,9).

Pestisid patojenitesinin fizyolojik mekanizmalarından biri olarak, reaktif oksijen türlerinin etkinliği gösterilmektedir. Pestisidlerin, metabolizmaları sırasında reaktif oksijen türlerinin açığa çıkmasını desteklediği bilinmektedir. Böylece, lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan oksidatif doku hasarı şekillenebilmektedir. Vücutta, normalde, bu serbest radikalleri durduran ya da yok eden süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) gibi intrasölüler

antioksidan enzimler üretilmektedir (10,11). Son zamanlarda pestisidlerin, serbest radikalleri etkisiz kılan antioksidan enzimlerle ilişkilerinin tartışıldığı araştırmaların yoğunluk kazandığı görülmektedir (12,13,14,15,16).

Az sayıda çalışma serbest radikallerin, PCP'nin oksidasyon metabolizmasındaki hidrokinon bileşiklerinin oluşması aşamasında üretildiğini belirtmektedir. Böylece patolojik etkiyle sonuçlanabilecek DNA hasarının, serbest radikaller aracılığıyla olabileceği öne sürülmektedir (17,18). Öte yandan, PCP'nin antioksidan enzimlerle ilişkilerinin yeterince tartışıldığı yayına rastlanmamıştır.

Bu çalışma, Pentaklorofenol'ün, patolojik etkinliğinin temellerinden biri olarak gösterilen oksidatif doku hasarının önlenmesinde etkisi bulunan antioksidan enzimlerle etkileşimi ve doku hasarı göstergelerine etkisi hakkında bilgi edinmek amacıyla hazırlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada yirmi adet, 1200-1660 g ve yaklaşık 5-6 aylık Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı.

Tavşanlar deney boyunca sıcaklığı 24 °C, nem oranı %70 ve 12 saat ışık/karanlık olan bir ortamda tutuldular. Yem ve suları herhangi bir kısıtlama olmaksızın temin edildi. Hayvanlar her grupta 5 hayvan bulunacak şekilde ve her gruptaki hayvanların ağırlık ortaması bir birine yakın olacak şekilde 4 gruba ayrıldılar. Birinci gruptaki hayvanlara distile su (kontrol), ikinci, üçüncü ve dördüncü gruplara sırasıyla pentaklorofenol'ün (MERCK) distile su içerisinde çözülmüş 3, 10 ve 30 mg/kg dozları, özel hazırlanmış sonda ile direk olarak mideye verildi ve 24 saat sonra grupların kan örneklerinde, antioksidanlar ve doku hasarı göstergelerine bakıldı.

Biyokimyasal Analizler: GSH-Px ve SOD aktiviteleri ticari kitleri (Ransod Lot No 8136 C ve Ransel Lot No 7843 C) kullanılarak tayin edildi. Laktat dehidrogenaz ve kreatin kinaz ise kolorimetrik yöntem ve rutin metodla kitleri ile

ölçüldü. Ölçümler Technicon RA-XT 9219104 marka otoanalizörde yapıldı.

İstatistiksel Analiz: Varyans analizi (ANOVA) yapılarak gruplar arasındaki farklılığın önemi araştırıldı. Herbir grubun kontrol grubuna göre farklı olup olmadığını saptamak için Student's t-test'i kullanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak belirtildi ve P<0.05 istatistiksel farklılığı gösterdi.

Bulgular

Sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Glutasyon peroksidaz aktivitesi önemli bir değişme göstermezken, süperoksid dismutaz aktivitesi doza bağımlı olarak % 40'a yakın azaldı (P<0.05). Ayrıca plazma kreatin kinaz ve laktat dehidrogenaz enzim aktivitelerinde de yine doza bağlı olarak oldukça yüksek düzeyde artış gözlemlendi (P<0.05).

Tablo 1. Pentaklorofenol'ün eritrosit antioksidan enzimleri, serum laktat dehidrogenaz ve kreatin kinaz aktivitelerine etkisi (ortalama ± standart sapma gösterilmektedir).

Parametreler	Kontrol	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
SOD	3.30 ± 0.17	3.24 ± 0.23	2.82 ± 0.10*	2.03 ± 0.24*
GSH-Px	820 ± 71	808 ± 65	782 ± 59	694 ± 54
LDH	67 ± 9.8	174 ± 17*	196 ± 22*	372 ± 39*
CK	11 ± 0.9	365 ± 52*	398 ± 57*	594 ± 65*

* P< 0.05

Tartışma ve Sonuç

Pentaklorofenol (PCP) hayvan ve insan için bir patojen karsinojendir (6,7). Metaboliti, tetraklorohidrokinon (TCHQ), DNA zincirinin parçalanmasına neden olur (8,9). Bu bileşiğin oksidasyonu oksijen radikalleri üretir ki, bunlar da DNA zincirinin parçalanmasına neden olur (17,18). PCP'nin patolojik etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte, TCHQ ve oksijen radikalleri, en önemli faktörler olarak düşünülmektedir.

Bu çalışmada PCP'nin, kan hücrelerindeki SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzimler ve doku hasarı üzerine etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgular, karaciğer dokusundaki görünüme de ışık tutabilmektedir (10). GSH-Px üzerinde çok küçük düzeyde inhibisyon gözlenirken, SOD inhibisyonu yaklaşık % 40 düzeyinde gözlemlendi (Tablo 1). Oksidatif doku hasarı oluşturan değişik pestisidlerin antioksidan enzimler üzerindeki etkileri farklı bulunmuştur. Barros ve arkadaşları (12); heksaklorosikloheksan (HCH)'in SOD ve CAT aktivitesinde artış, GSH-Px aktivitesinde ise değişiklik yapmadığını gözlemişlerdir. Okuwaki (16) bir organik fosfor bileşiği olan fention'un, SOD aktivitesi üzerinde başlangıç dozunda artışa, sonraki uygulamalarda düşüşe yol açtığını gözlemiştir. Bir

başka çalışmada pestisidlerin genel olarak SOD enzimini inhibisyona uğrattığı belirtilmiştir (14). Endrin, glutasyonu deplesyona uğratarak glutasyon peroxidaz aktivitesini azaltmaktadır(15). Pestisidler, antioksidan enzim aktivitelerinde ister inhibisyon ve isterse indüksiyon yapsın, her iki halde de oksidatif doku hasarı artışına yol açmaktadır (15-17).

Serbest radikallerin varlığında oksidatif doku hasarına bağlı olarak plazma kreatin kinaz (CK) ve Laktat dehidrogenaz (LDH) aktivitelerinin arttığı ileri sürülmüştür (19). Bu çalışmada, PCP'nin bütün doz uygulamalarında plazma CK ve LDH aktivite düzeylerinde yüksek bir artış kaydedilmiştir (Tablo 2). Bu sonuç yukarıdaki bulguları desteklemektedir.

PCP'nin, GSH-Px üzerinde önemli bir etkisinin olmayıp, SOD aktivitesinde büyük bir inhibisyona yol açması; reaktif oksijen radikallerinden hidroksil radikalinin (OH) varlığıyla ilişkili olabileceğini akla getirmektedir. Nitekim bir çalışmada, hidroksil radikalini etkisiz kılan bir radikal giderici ajanın TCHQ'un DNA hasarına yol açan etkisini azaltıldığı ileri sürülmüştür (17). Bu durum aynı zamanda, PCP'nin kanserojenik etki mekanizmasına da açıklık getirecek bir yorumun yapılmasına olanak sağlar. PCP'nin patolojik ve kanserojenik etkinliğinin DNA hasarı sonucu olduğu açıktır. DNA hasarının en önemli sorumlusu, bir oksidasyon ürünü olan TCHQ

metabolitidir (8,9). Oksidasyon metabolizmasındaki hidrokinon bileşiklerinin oluşması aşamasında hidroksil radikalının açığa çıkmasının desteklenmesi (17,18) ve aynı zamanda hidroksil radikali oluşumunu durduran SOD enziminin kuvvetli inhibisyonu; patolojik ve kanserojenik etkinin oluşmasında hidroksil radikalının, zincirin en son etkin bileşiği olacağını düşündürmektedir. Zira pestisid kanserojenitesinin etki mekanizmalarından biri olarak reaktif oksijen türlerinin etkinliği gösterilmektedir (10). Günümüzde hayvan ve insan popülasyonları her an gerek solunumla ve gerekse gıdalardan ağız yoluyla yüzlerce ksenobiyotiğe maruz kalmaktadır. O halde bu görüşün pekiştirilmesi için, antioksidan özellik gösteren vitaminlerle, kronik PCP toksisitesinin azaltılabileceği yönünde sonuçlar vermesi beklenen yeni çalışmalar planlanmalıdır. Bu sonuçlar, belki de oksidatif doku hasarından sorumlu tüm ksenobiyotikler için geçerli olabilecektir.

Kaynaklar

1. Renner G, Mücke W: Transformations of pentachlorophenol: Metabolism in animals and man. *Toxicol Environ Chem*, 11:9-29,1986.
2. Kutz FW, Cook BT, Carter OD, Brody D, Murpy RS: Selected pesticide residues and metabolites in urine from a survey of the US general population. *Toxicol Environ Health*, 37 (2):277-291, 1992.
3. Afşar A: Pentaklorofenol yasağı üzerine. *Türkiye Deri Sanayicileri Derneği Dergisi, Deri*, 73: 18-19, 1990.
4. Arslan SO, Akman N: Pentaklorofenol zehirlenmesinin genel tıp pratiğindeki önemi. *Van Tıp Dergisi*, 4:88-93, 1994.
5. Jorens PG, Sicchens PJ: Human pentachlorophenol poisoning. *Human Experimental Toxicology*, 12 (6): 479-495, 1994.
6. McConnell EE, Huff JE, Hejtmancik M, Peters AC, Persing R: Toxicology and carcinogenesis studies of two grades of pentachlorophenol in B6C3F1 mice. *Fundamental Applied Toxicology* 17: 519-532, 1991.
7. Mirvish SS, Nickols J, Weisenburger DD, Jhonson D, Joshi SS, Kaplan P, Gross M, Tong HY: Effects of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, pentachlorophenol, methylprednisolone, and Freund's adjuvant on 2-hydroxyethylnitrosourea carcinogenesis in mrc-wistar rats. *J Toxicol Environ Health* 32:59-74, 1991.
8. Seiler JP: Pentachlorophenol. *Mutation Research*, 257:27-47, 1991.
9. Witte I, Juhl U, ButteW: DNA-damaging properties and cytotoxicity in human fibroblasts of tetrachlorohydroquinon, a pentachlorophenol metabolite. *Mutation Research*, 145:71-75, 1985.
10. Schwarz LR, Greim H: Environmental chemicals in hepatocarcinogenesis: The mechanism of tumor promoters. *Progress in Liver Diseases*, 8: 581-595, 1986.
11. Machlin LJ, Bendich A: Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J*, 1:441-445, 1987.
12. Barros SB, Simizu K, Junqueira VR: Liver lipid peroxidation- related parameters after short-term administration of hexachlorocyclohexane isomers to rats. *Toxicol Lett*, 56(1-2): 137-144, 1991.
13. Goel MR, Shara MA, Stohs SJ: Induction of lipid peroxidation by hexochlorocyclohexane, dieldrin, TCDD, carbon tetrachloride and hexochlorobenzene in rats. *Bull Environ Contam Toxicol*, 40: 255-262,1988.
14. Karnaukhova TB, Korobova LN, Reikh EM: Superoxide dismutase activity as an index of the toxic action of pesticides. *Biologicheskie Nauki*, 5:146-149,1990.
15. Numan IT, Hassan MQ, Stohs SJ: Endrin-induced depletion of glutathione and inhibition of glutathione peroxidase activity in rats. *Gen Pharm* 21(5): 625-628, 1990.
16. Okuwaki K: Chronic organophosphorus intoxication and aging in rats. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 94 (8): 723-730, 1990.
17. Carstens CP, Blum JK, Witte I: The role of hydroxyl radicals in tetrachlorohydroquinone induced DNA strand break formation in PM2 DNA and human fibroblasts. *Chemico-Biological Interactions* 74(3): 305-314, 1990.
18. DeMarini DM, Brooks HG, Parkers DG: Induction of prophage lambda by chlorophenols. *Environmental Molecular Mutagenesis*, 15 (1): 1-9, 1990.
19. Duthie GG, Arthur JR, Nicol F, Walker M: Increased indices of lipid peroxidation in stress-susceptible pigs and effects of vitamin E. *Research Veterinary Science*, 46:226-230, 1989.