

ORJİNAL YAZI

Sıçanların Bazı Dokularında Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz ve Malat Dehidrogenaz Aktiviteleri Üzerine Dinitro-o-krezol'ün Etkisi

Egemen DERE, Ferda ÖZDİKİCİOĞLU, Hakan TOSUNOĞLU

Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bursa.

ÖZET

Çalışmanın amacı sıçanların bazı dokularında malat dehidrogenaz (MDH) ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktiviteleri üzerine 4,6 dinitro-o-krezol'ün (DNOC) etkisini araştırmaktır. G6PD pentoz fosfat metabolik yolunun kontrol enzimi, MDH birçok metabolik yolun önemli enzimidir. Çalışmamızda, yaygın bir şekilde böcek kontrolünde ve ürün korunmasında kullanılan ve toksik bir ajan olan DNOC'un 2.8 mg kg⁻¹'lık dozu, sıçanlara (*Rattus norvegicus*) intraperitoneal yolla enjekte edildi. Enjeksiyondan 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 72 saat sonra G6PD aktivitesi için sıçanların karaciğer, böbrek, beyin ve incebağırsak dokuları, MDH aktivitesi için ise sadece karaciğer ve böbrek dokuları deneye alındı. Enzim aktiviteleri spektrofotometrik yolla ölçüldü. DNOC, hem karaciğer hem de böbrek dokusunda G6PD aktivitesinde önemli bir değişiklik meydana getirmemiştir (p>0.05). Beyin ve incebağırsak dokusunda ise anlamlı değişikliklere neden olmuştur. İlave olarak, MDH aktivitesinde hem karaciğerde hem de böbrek dokusunda bazı saatlerde azalmalara sebep olmuştur (p<0.05).

Anahtar Kelimeler: Dinitro-o-krezol. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz. Malat dehidrogenaz.

The Effect of Dinitro-o-Cresol on Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase and Malate Dehydrogenase Activities in some Tissues of Rats

ABSTRACT

The aim of study was to determine the effect of 4,6 dinitro-o-cresol (DNOC) on glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and malate dehydrogenase (MDH) activities in some tissues of rats. While glucose G6PD is a control enzyme in pentose phosphate pathway, MDH is an important enzyme in many pathways. In our study, rats (*Rattus norvegicus*) were intraperitoneally injected with 2.8 mg kg⁻¹ dose of DNOC, a toxic agent widely used for insect control and crop protection. At 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 and 72 hours following injection, the liver, kidney, brain and small intestine tissues of rats were used to determine G6PD activity; on the other hand only liver and kidney tissues were used to determine MDH activity. Enzyme activities were measured spectrophotometrically. DNOC did not cause important changes in the G6PD activity in both liver and kidney tissues (p>0.05). It caused significant changes in brain and small intestine. In addition, it led to a decrease in MDH activity in both liver and kidney in various hours (p<0.05).

Key Words: Dinitro-o-cresol. Glucose 6-phosphate dehydrogenase. Malate dehydrogenase.

Bilinçsiz bir şekilde kullanılan ve çevre kirliliğine neden olan etkenlerden birisi de pestisitlerdir. Bu kimyasallar ekonomik bir şekilde üretilmeleri ve kullanım kolaylığı nedeniyle tercih edilmektedir. Bu yüzden tarımsal savaşta çok önemli bir yer tutmaktadır. Fakat yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımı so-

nunda, gıdalarda, toprak, su ve havada, bu maddelerin kendisi ya da dönüşüm ürünleri birikebilmektedir. Dolayısıyla hedef olmayan organizmalar ve insanlar üzerinde olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır¹.

1930'lu yıllarda zayıflama hapı olarak kullanılan DNOC¹⁻², ilk sentetik, organik pestisitlerden birisidir. Önceleri güve tırtıllarının kontrolü için kullanılmasına rağmen sonraları fungusit, insektisit ve herbisit olarak da kullanılmıştır³. DNOC'un sağlık üzerine etkileri hakkında en çok bilgi zayıflama hapı olarak kullanıldığı dönemde elde edilmiştir. Yüksek düzeyde alındığında, kısa dönemde, şuur kaybı ve ölüme neden olur. Dozu azaltıldığında, metabolik faaliyetler artar, terleme fazlalaşır, kilo kaybı, soluk alıp verme artar ve vücut sıcaklığında belirgin artışlar gözlenir. Bununla beraber, göz ve deride sararmalara yol açar, mide,

Geliş Tarihi: 01.02.2008
Kabul Tarihi: 29.02.2008

Dr. Egemen DERE
Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
16059 Nilüfer / Bursa
Tel: 0224 2941792
Fax: 0224 2941899
e-mail. edere@uludag.edu.tr

böbrek ve karaciğerde hasarlara neden olur. Uzun dönem DNOC ile temas eden kişilerde gözde katarakt ve deride isilikler meydana gelir¹.

DNOC ile yapılan bir çalışmada, erkek kobaylara LD₅₀ dozu intraperitoneal yolla verildiğinde, karaciğer ve serumlarında amino şeker ve sialik asit seviyelerinde önemli yükselmeler olduğu, albümin ve α₂-globülin fraksiyonlarında glikoprotein içeriğinde azalma, bununla beraber serum α₁ ve γ-globülin fraksiyonlarında glikoprotein içeriğinde bir artmanın olduğu gözlenmiştir. DNOC'un glikoliz hızını arttırdığı, lizozomal membranların stabilitesini bozduğu ve glikoproteinlerin biyosentez hızını arttırdığı da gösterilmiştir⁴. İn-vitro yapılan bir başka çalışmada DNOC'un, plazma proteini olan transthyretin'in, tiroksin (T4) bağlanma bölgesi ile yarış (kompetatif) içinde olduğu gösterilmiştir. Transthyretin, A vitamini ve T4 gibi bazı hormonları taşımaktadır. DNOC'un plazmada tiroid hormonu seviyesini ve tiroid fonksiyonlarını da etkilediği ileri sürülmüştür⁵.

G6PD (D-glukoz-6-fosfat; NADP⁺ oksidoredüktaz, E.C. 1.1.1.49) pentoz fosfat metabolik yolunun ilk ve kontrol enzimidir⁶. Bu metabolik yolun en önemli görevlerinden birisi de NADPH üretmektir. NADPH hücrede yağ asidi, kolesterol, L-askorbik asit, nitrik oksit biyosentezi, glutatyonun indirgenmesi, ilaç ve ksenobiyotik detoksifikasyonu ve peroksitlerin indirgenmesinde görev alır⁷⁻⁸. Enzim genellikle aktif olarak dimerik yapı gösterir. Enzimin dimerik ya da tetramerik formunu, sıcaklık, NADP⁺, NADPH derişimi gibi çeşitli faktörler etkilemektedir⁹.

MDH (E.C.1.1.1.37) enzimi ise malat'ın oksaloasetata çevrilmesinden sorumlu olan bir enzimdir. Hem sitoplazmada hem de mitokondrilerde bulunmaktadır. Enerji metabolik yolunun önemli enzimlerinden biri olan MDH, vücuda giren toksik moleküllerden etkilenmektedir. Organik klorlu bir insektisit olan endosülfan ile balıklarda yapılan bir çalışmada, sitoplazmik ve mitokondrial protein içeriğinin değişmediği ancak, MDH enziminin aktivitesinin anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. Bu durumun da balıklarda aerobik enerji metabolizmasının azalmasına neden olduğu ileri sürülmüştür¹⁰.

Önemli bir insektisit olan DNOC'un metabolik yollarındaki enzimlerin aktivitelere etkisi konusunda çok az çalışma vardır. Çalışmamızda pentoz fosfat yolunun önemli enzimi olan G6PD ile malatın oksaloasetata dönüştüğü tepkimeyi katalizleyen MDH enzimi üzerine etkisi, sıçanların bazı dokularında araştırılmıştır. Enerji ile ilgili farklı metabolik yollarda çalışan bu önemli enzimlerin aktivitelelerinde meydana gelebilecek değişiklikler, canlının enerji oluşturmasını etkileyebileceği gibi diğer metabolik yolların çalışmalarını da etkileyecektir. Bu araştırmayla, DNOC'un etkilerini ortaya koyan çalışmalara katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Çalışmamızda Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi (DHYAM)'nde inbreed (kardeşler arasında çiftleşmelerle soyların elde edilmesi) yöntemiyle yetiştirilmiş 250–300 gr ağırlığında *Rattus norvegicus* sıçanlar kullanıldı. Her çalışma saatinde deney grubu için 8, kontrol grubu için ise 4 sıçan kullanıldı. Toplam 96 sıçan ele alındı. 24 saat aç bırakılan hayvanlara, DNOC'un sudaki maksimum çözünürlüğü (6.94gr lt⁻¹) göz önüne alınarak, 2.8 mg kg⁻¹ dozu, intraperitoneal (i.p) yolla uygulandı. Kontrol grubuna ise serum fizyolojik verildi. Meydana gelebilecek değişiklikleri takip edebilmek için enjeksiyondan logaritmik olarak değişen 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 72. saatlerde, sıçanlar servikal dislokasyon yolu ile öldürüldü ve dokular süratle çıkarıldı. Dokular soğuk 0.15 M KCl içinde yıkandı. Yaş ağırlıklar hassas terazide tartıldı. Dokular 1/3 (w/v) olacak şekilde 0.15 M KCl içinde T-line laboratory stirrer (model No:136-2) homojenizatöründe 2000 devir/dak hız durumunda, homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri buz içersinde yapıldı. Ele geçen homojenat 48000g'de 30 dak Dupont Instruments Sorval (RC-5 superspeed refrigerated centrifuge) santrifüjünde çevrildi. Santrifüj işlemleri 0-4 °C de yapıldı. Süpernatantlar deney ortamında enzim kaynağı olarak kullanıldı. Homojenatların total protein değerleri Bradford yöntemine göre yapılırken¹¹, aktivite tayinleri Cecil marka spektrofotometrede yapıldı¹².

G6PD aktivitesinin belirlenmesi sırasında Triethanolamin Tamponu (pH=7.6, 0.1 M), MgCl (0.1 M), Glukoz 6-fosfat (0.1 M), NADP⁺ (11 mM) karışımı kullanılmıştır. MDH aktivitesinin belirlenmesinde ise Fosfat Tamponu (pH= 7.5, 0.1 M), Oksaloasetat (15 mM), NADH (12 mM) karışımı kullanılmıştır. Triethanolamin Tamponu, MgCl, KH₂PO₄, K₂HPO₄.3H₂O, Merck firmasından sağlanırken, NADP⁺, NADH, Glukoz 6-fosfat ve Oksaloasetat Sigma, DNOC Acros Organics firmasından sağlanmıştır. Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi, çalışmamıza etik kurul raporu vermiştir. Bir ünite enzim, 340 nm'de 1 µmol NADP⁺'yi (NAD⁺) 1 dakikada NADPH'a (NADH'a) (molar soğurma katsayısı 6.22 mM⁻¹cm⁻¹) değiştiren enzim miktarı olarak tanımlanırken, spesifik aktivite mg protein başına düşen uluslararası ünite olarak tanımlanmıştır.

İstatistik Analiz

Elde edilen veriler SPSS 13.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Kontrol ve deney gruplarında hesaplanan ortalama değerlerin karşılaştırılması

Dinitro-o-Krezol'ün Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz ve Malat Dehidrogenaz'a Etkisi

non-parametrik bir test olan Mann-Whitney U ile hesaplanırken, veriler $p < 0.05$ değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Değerler, ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Çalışmamızda saatler arasında, ne kontrol ne de deney grubuna istatistik uygulanmamıştır. Çalışmanın amacı, belirli saatlerde kontrol ve deney grupları arasındaki farklılığın belirlenmesi olduğu için, aynı saatlerdeki deney ve kontrol grubu hayvanları, aynı günde kesilerek yapılmıştır. Benzer saatlerdeki tekrarlar için çalışma süresi hesaplanarak deney saatlerine sadık kalınmıştır.

Bulgular ve Sonuçlar

a) DNOC'un G6PD üzerine etkisi

Karaciğer dokusunda, çalışılan deney saatlerinde kontrol ve deney grupları arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu meydana gelen değişiklikler 0.05 olasılık düzeyinde anlamlı bulunmamıştır. Benzer durum böbrek dokusunda da karşımıza çıkmaktadır. Beyin dokusunda G6PD aktivitesinin 16, 32 ve 64. saatlerde inhibisyona uğradığı saptanmıştır ($p < 0.05$). Bu inhibisyon deney saatinin sonunda ortadan kalkmakta kontrol grubu ile hemen hemen aynı değeri almaktadır. DNOC, ince bağırsak dokusunda enzimimizi 2. saatten 32. saate kadar inhibe etmiştir ($p < 0.05$). 64. saatte ise meydana gelen aktivite artışı anlamlı olmuştur ($p < 0.05$) (Tablo I).

b) DNOC'un MDH üzerine etkisi

DNOC'un hem karaciğer hem de böbrek dokusunda MDH enziminin aktivitesini azalttığı görülmüştür. Karaciğer dokusunda meydana gelen inhibisyonlar sadece 16, 32, 64 ve 72. saatlerde anlamlı olarak görü-

lürken, böbrek dokusunda 8. ve 16. saatlerde anlamlı olarak saptanmıştır ($p < 0.05$). Bu saatler hariç tutulacak olursa böbrek dokusunda, kontrol grubu ile benzer iniş çıkışlar gözlenmektedir (Tablo I).

Tartışma

DNOC hem karaciğer hem de böbrek dokusunda G6PD enziminin aktivitesinde, bazı deney saatlerinde artış ve azalışlar meydana getirmiş olmasına rağmen bu değişikliklerin hiç birisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo I). Bununla beraber, beyin dokusunda 16. saatten itibaren aktivitede görülen azalmalar anlamlı olmuştur ($p < 0.05$), 72. saatte ise bu inhibisyon ortadan kalkmıştır (Tablo I). DNOC'un enzim aktivitesini azaltması ya da protein sentezi düzeyinde bir inhibisyonla ya da enzimin üç boyutlu yapısının bozulması ile ilgili olabilir. Organellerde meydana gelen hasarlar doğrudan doğruya ya da dolaylı olarak enzim aktivitesini etkileyecektir. Yapılan bir çalışmada DNOC'un, lizozomal membranların stabilitesini bozduğu, glikoproteinlerin biyosentez hızını ve glikolizis hızını artırdığı gösterilmiştir⁴. Özellikle düz endoplazmik retikulum membranında meydana gelebilecek hasarlar detoksifikasyon sistemindeki enzimlerin sitoplazmaya sızmasına neden olabilir. Bu durum da bazı enzimlerin inhibisyonuna, inhibe olan enzimler de bazı enzimlerin aktivasyonuna neden olabilir. Moczon¹³ araştırmasında önemli bazı pestisitlerin, lizozom bozukluklarına neden olduğunu ve hücrenin enerji metabolizmasını bozarak etkilerini gösterdiklerini ileri sürmüştür. Dahamna ve ark¹⁴ bazı pestisitlerin kuşlar üzerindeki etkilerini araştırırken MDH enziminin de içinde bulunduğu bir grup enzimin

Tablo I. DNOC'un Sıçanların bazı dokularında G6PD ve MDH enzim aktiviteleri üzerine etkisi

Zaman (Saat)		0	2	4	8	16	32	64	72	
		Ort \pm SH	Ort \pm SH	Ort \pm SH	Ort \pm SH	Ort \pm SH	Ort \pm SH	Ort \pm SH	Ort \pm SH	
G6PD	Karaciğer	Kontrol	26.00 \pm 2.50	21.50 \pm 2.30	27.25 \pm 4.90	24.25 \pm 6.50	24.50 \pm 6.40	19.00 \pm 1.90	20.18 \pm 6.00	25.10 \pm 6.70
		DNOC	25.25 \pm 7.70	14.98 \pm 5.80	19.08 \pm 3.50	29.58 \pm 7.10	32.84 \pm 8.70	23.50 \pm 5.90	36.90 \pm 2.90	36.64 \pm 5.80
	Böbrek	Kontrol	4.50 \pm 1.00	4.70 \pm 1.10	3.50 \pm 0.90	3.50 \pm 0.80	3.00 \pm 0.80	4.80 \pm 0.50	2.90 \pm 0.90	3.40 \pm 0.90
		DNOC	4.00 \pm 1.00	4.20 \pm 1.40	6.50 \pm 2.50	5.90 \pm 2.30	1.70 \pm 0.50	2.70 \pm 0.90	1.70 \pm 0.50	3.30 \pm 1.20
	Beyin	Kontrol	11.25 \pm 2.40	12.30 \pm 4.50	9.25 \pm 0.20	12.13 \pm 2.90	8.25 \pm 1.70	11.50 \pm 2.20	5.75 \pm 0.90	6.67 \pm 0.20
		DNOC	10.08 \pm 3.80	6.00 \pm 0.50	6.68 \pm 1.80	6.86 \pm 0.50	2.20 \pm 0.40*	3.34 \pm 1.02*	2.36 \pm 0.60*	8.44 \pm 2.30
	İnce Bağırsak	Kontrol	4.43 \pm 0.10	22.53 \pm 7.50	21.50 \pm 0.80	25.12 \pm 2.10	20.63 \pm 3.00	14.33 \pm 1.60	13.33 \pm 1.50	21.14 \pm 4.10
		DNOC	2.62 \pm 0.50	4.23 \pm 0.90*	4.00 \pm 0.70*	6.11 \pm 0.80*	6.50 \pm 1.40*	23.73 \pm 2.10	27.16 \pm 5.10*	37.58 \pm 8.90
MDH	Karaciğer	Kontrol	31.28 \pm 6.81	26.95 \pm 1.25	33.47 \pm 8.56	34.79 \pm 3.60	32.22 \pm 1.65	26.53 \pm 1.47	29.99 \pm 2.58	27.49 \pm 2.51
		DNOC	32.30 \pm 5.50	24.72 \pm 3.09	21.62 \pm 5.83	28.00 \pm 5.05	14.00 \pm 1.14*	15.28 \pm 5.88*	14.92 \pm 6.33*	15.23 \pm 4.42*
	Böbrek	Kontrol	14.90 \pm 3.42	16.13 \pm 2.80	19.47 \pm 2.08	22.33 \pm 3.21	30.72 \pm 6.47	24.90 \pm 0.72	35.85 \pm 5.26	26.04 \pm 2.05
		DNOC	12.07 \pm 0.56	17.37 \pm 2.78	13.39 \pm 1.55	13.31 \pm 2.80*	11.68 \pm 1.31*	20.23 \pm 2.65	34.26 \pm 4.02	18.50 \pm 3.91

Tablodaki G6PD değerleri U/mg protein $\times 10^{-2}$, MDH değerleri ise U/mg protein olarak spesifik aktiviteyi göstermektedir.

*Aynı doku aynı saat için kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlıdır $p < 0.05$

Ort: Ortalama SH: Standart hata

aktivitesinin artmasını, hepatositlerin yapısal ve fonksiyonel olarak bozulmalarına bağlamıştır. Bu sonuçlar bizim görüşümüzü bir noktada desteklemektedir.

DNA düzeyinde meydana gelen çeşitli nokta mutasyonlarının, çoğunlukla G6PD enziminin substrat bağlanma bölgesinde yer alan aminoasitleri etkilediği ve enzimin aktivite göstermesi için gereken protein katlanmalarına ve dimerizasyonuna engel olduğu Gomez-Gallego¹⁵ tarafından ileri sürülmüştür. Çalışmamızda meydana gelen inhibisyonların bir nedeni de DNOC'un DNA üzerinde yaptığı etkiden kaynaklanıyor olabilir.

DNOC, karaciğer ve böbrek dokusunda MDH enzim aktivitesini azaltmıştır. Aktivitedeki bu düşüş zaman zaman istatistiksel olarak anlamlı olmuştur (Tablo I). Benzer şekilde farelere endosülfan uygulanarak yapılan bir çalışmada karaciğer MDH aktivitesinin azaldığı, böbrek MDH aktivitesinin ise arttığı gösterilmiştir¹⁶. G6PD ve MDH enzimleri NADPH ile NADH üretmektedirler. DNOC'un kendisi veya metabolitleri değişik mekanizmalarla dokularda dönüşümlü veya dönüşümsüz hasarlar oluşturmuş olabilir. Bu durumda hücrelerin redoks durumunun korunabilmesi ve hasarın minimumda tutularak, özellikle membranlarda oluşan hasarın tamir edilmesi için bu koenzimlere (NADPH, NADH) ihtiyaç vardır. G6PD ve MDH enzim aktiviterinde görülen bu değişimler, meydana gelen hasarların tamiri için gerekli olan yeni bir duruma adaptasyon süreci olabilir. Malathion verilmiş farelerde yapılan bir çalışmada karaciğer MDH enzim aktivitesinin azaldığı, G6PD aktivitesinin ise 8. saatte artış gösterip, daha sonra kontrol grubuna yaklaştığı gösterilmiştir¹⁷. Aynı araştırmacıların böbrek ve ince bağırsakta yaptıkları çalışmalarında malathion'un G6PD enzim aktivitesinde 16. saate kadar bir artış deney saatlerinin sonuna doğru ise kontrol grubu değerlerine yaklaştığını gösterilirken, MDH aktivitesinin ise azaldığı gösterilmiştir¹⁸. Bir başka çalışmada ise Den Tonkelear ve ark.¹⁹, 5 mg/kg/gün dozu ve daha yüksek dozlarda DNOC uygulanmasının, sıçan karaciğer G6PD aktivitesinde azalma meydana getirdiğini ileri sürmüşlerdir. Yılmaz ve Yüksel²⁰ 2,4-Diklorofenoksiasetik asit verilmiş farelerde yaptıkları çalışmada, karaciğer, böbrek ve ince bağırsaklarda morfolojik değişimler gözlemlemelerine rağmen, MDH enzim aktivitesinin arttığını göstermişlerdir.

Pentoz fosfat yolu oksidatif ve nonoksidatif olmak üzere iki kısma ayrılır. Hücrede RNA, DNA ve nükleotid sentezi için gerekli riboz-5-fosfat ve indirgenme tepkimelerinde indirgeyici güç olan NADPH'ları sentezlemek gibi başlıca iki fonksiyonu vardır²¹. DNOC'un detoksifikasyonu temel olarak indirgenme yoluyla sağlanmaktadır²². Bu indirgenme işlemleri sırasında kullanılacak olan GSH yükseltgenerek GSSG'ye dönüşecektir. Oluşan GSSG'nin tekrar GSH'a indirgenmesi sırasında da NADPH, NADP⁺ dönüşümünden sağlanacak H⁺ iyonları kullanılacak-

tır²³. Bu durumda artan NADPH ihtiyacının karşılanması için pentoz fosfat yolunun hızlanması ve buna paralel olarak G6PD aktivitesinin artışı beklenebilir bir sonuç olacaktır. Vücutta detoksifikasyon işlemlerinin karaciğerde gerçekleştiği düşünüldüğünde karaciğerde artan G6PD aktivitesi DNOC'un indirgenmesinin bir sonucu olarak düşünülebilir. Bunun yanında karaciğer, yağ dokusu, pankreatik β hücreleri ve makrofajlarda NADPH üretimine NADP⁺ bağımlı malat dehidrogenaz enzimi de önemli bir rol oynayabilir²⁴. Hücreler ihtiyaç duyduğu enerjiyi glikolitik yol ve TCA siklusundan sağlayamadığı zaman transhidrogenaz enzimi aracılığı ile NADPH+H daki proton ve elektronları NAD⁺a aktararak NADH+H meydana getirirler²⁵⁻²⁶. MDH'in aktivitesinin azalması, Krebs siklusunda ATP sentezinin yavaşladığını düşündürülebilir, Çalışmamızda MDH enziminde aktivitede görülen azalmalar, bu görüşümüzü destekler niteliktedir (Tablo I).

Çalışılan enzimlerde görülen inhibisyonların nedenlerinden birisi de DNOC'un hormonları etkilemesinden kaynaklanabilir. 5 ve 10 mg.kg⁻¹ DNOC verilen farelerde yapılan bir çalışmada T₄ seviyesinin çarpıcı bir şekilde azaldığı, bunun yanında T₃ seviyesinin ise düştüğü belirtilmiştir²⁷.

İnce bağırsak dokusunda G6PD enziminin kontrol grubunda başlangıç periyodunda aktivitenin düşük olmasının bir nedeni, hayvanların 24 saat aç ve susuz bırakılması olabilir. Hayvanlar beslenmeye başladıktan sonra bu dokuda aktivite artmıştır. DNOC etkisi ile meydana gelen aktivite azlığı ise bize bu toksik maddenin enzimler üzerinde belirgin bir etkisinin olduğunu ifade etmektedir. 64. saatte ise DNOC'un, enzimimizi kontrol grubuna göre aktive ettiği görülmektedir. Bu aktivasyonlara ise DNOC'un metabolitleri neden olmuş olabilir.

DNOC'un yarılanma ömrü hayvanlar arasında değişmekle beraber dokular arasında da farklılıklar göstermektedir. Yarılanma hızı Fare > tavşan > kobay > sıçan = maymun > insan şeklindedir²⁸. Dokuz gün boyunca tek oral doz DNOC verildiğinde yarılanma ömrü dişi sıçanlarda 26.8–28.5 saat olarak saptanmıştır. İnsanlarda tekrarlı doz uygulamalarından sonra kandaki DNOC seviyesindeki artış laboratuvar hayvanlarından daha fazladır. Çünkü insanlarda diğer hayvanlara göre vücuttan daha yavaş atılır. İnsanlarda yarılanma ömrü 96 saatten 148 saate ya da 153.6 saat olarak saptanmıştır²⁹. Enzim aktiviterinde görülen değişiklikleri, literatürler ışığı altında açıklamaya çalışsak da bu değişikliklerin bir nedeni de hayvanların biyolojik farklılığından kaynaklanıyor olmasıdır.

Sonuç olarak DNOC, çalışılan dokularda MDH ve G6PD aktivitesini etkilemiş ve bu etki zaman zaman da istatistiksel olarak anlamlı olmuştur. DNOC'un toksik etkisini ortaya koyabilmek için daha detaylı, saflaştırılmış enzimlerle ve IC₅₀ değeriyle yapılacak olan çalışmalara, organlar arası meydana gelen farkları

Dinitro-o-Krezol'ün Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz ve Malat Dehidrogenaz'a Etkisi

açıklayabilmek için ise izoenzimler ile ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır. Zira mücadelede kullanılan DNOC, bir yandan doğayı kirletirken diğer yandan yapılan kaynak taraması sonucunda hedef dışı canlılarda olumsuz etkilere neden olduğu görülmektedir. Bu nedenle böylesi kimyasalların kullanımında çok daha seçici olmak, tüketici ve üreticileri bu konuda bilinçlendirmek toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Gasiewicz TA. Nitro compounds and related phenolic pesticides. In: Hayes WJ Jr. & Laws ER Jr ed. Hand book of pesticide toxicology. Academic Press, San Diego, CA. 1991; 3: 1191-269.
2. Sultatos LG. Mammalian toxicology of organophosphorus pesticides. J Toxicol Environ Health 1994; 43: 271-89.
3. WHO. Environmental Health Criteria Series 220: Dinitro-o-cresol. World Health Organization, Switzerland: Geneva, 2000.
4. Kreczko S, Zwierz K, Jaroszewicz K. Glycoprotein biosynthesis by the guinea pig liver in chronic 4,6-dinitro-ortho-cresol poisoning. Acta Biol Acad Sci Hung 1974; 25: 167-71.
5. Van den Berg KJ, van Raaij JGAM, Bragt PC, Notten WRF. Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels in vivo. Arch Toxicol 1991; 65: 15-9.
6. Mehta A, Mason PJ, Vuilliamy TJ. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Bailliers Best Pract Res Clin Haematol 2000; 13: 21-38.
7. Wood T. Distribution of the pentose phosphate pathway in living organisms. Cell Biochem Funct 1986; 4: 235-40.
8. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of biochemistry Worth Publishers, USA 2000; 743-4.
9. Levy HR. Glucose-6-phosphate dehydrogenases, in: Meister A (ed). John Wiley and Sons Inc, New York, 1979; 97-191.
10. Mishra R, Shukla SP. Endosulfan effects on muscle malate dehydrogenase of the freshwater catfish *Clarias batrachus*. Ecotoxicol Environ Saf 2003; 56: 425-33.
11. Bradford MM. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-54.
12. Boehringer Mannheim, GmbH. Biochemica information I, 1973; MDH: 124, G6PD: 99.
13. Moczon T. Inhibitory effect of pesticides on phosphate and acetylcholinesterase activity in miracidia of *Fasciola hepatica*. Histochemical Data. Bull Acad Pol Sci Biol 1976; 24: 289-92.
14. Dahamna S, Sekfali N, Walker CH. Biochemical indicators of hepatic effects of pesticides. Commun Agric Appl Biol Sci 2004; 69: 821-8.
15. Gomez-Gallego F, Garrido-Pertierra A, Mason PJ, Bautista JM. Unproductive folding of the human G6PD-deficient variant A-. FASEB J 1996; 10: 153-8.
16. Dere E, Yanıkoğlu A. Endosulfan ve 2,4-D'nin Swiss-Albino (*Mus musculus*) farelerinin karaciğer ve böbreğinde bazı enzimlerin aktivitesine etkisi. Doğa Turk J Biol 1993, 17. 163-73.
17. Dere E, Bakır S, Atalay A. Malthion'un fare (*Mus musculus*) karaciğer heksokinaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz ve laktat dehidrogenaz aktivitesine etkisi. Turk. J Biol 1995a; 19: 19-27.
18. Dere E, Bakır S, Atalay A. Fare (*Mus musculus*) böbrek ve ince bağırsak heksokinaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz ve laktat dehidrogenaz aktivitesine etkisi. CÜ Tıp Fak Derg 1995b; 17: 167-74.
19. Den Tonkelear EM, Van Leeuwen FXR, Kuiper C. Semichronic toxicity testing of DNOC in the rat. Meded Landbouwwet Rijksuniv Gent 1983; 48: 1015-22.
20. Yılmaz HR, Yüksel E. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the activities of some metabolic enzymes for generating pyridine nucleotide pool of cells from mouse liver. Toxicol Ind Health 2005; 21: 231-7.
21. Krebs HA, Eggleston LV. The regulation of the pentose phosphate cycle in rat liver, 12, 421-433 in: Weber G (ed). Adv enzyme regul. Oxford: Pergamon Press Ltd. 1978.
22. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). U.S. Department of Health And Human Services, Public Health Service. Dinitro-cresols, 1996.
23. Sivapiriya V, Jayanthi Sakthisekaran, Venkatraman S. Effects of dimethoate (O,O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. Pestic Biochem Phys 2006; 85: 115-21.
24. Zhang Z, Apse K, Pang J, Stanton RC. High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase via cAMP in aortic endothelial cells. J Biol Chem 2000; 275: 40042-47.
25. Bizouarn T, Fjellström O, Meuller J, Axelsson M, Bergkvist A, Johansson C, Karlsson G, Rydström J. Mechanism of action deduced from its structural and catalytic properties. Biochim Biophys Acta 2000; 1457: 211-28.
26. Jackson JB, White SA, Quirk PG, Venning JD. The alternating site, binding change mechanism for proton translocation by transhydrogenase. Biochemistry 2002; 41: 4173-85.
27. Dodds EC, Robertson JD. The clinical applications of dinitro-o-cresol. Lancet 1933; 21: 1137-9.
28. Lawford DJ, King E, Harvey DG. On the Metabolism of Some Metabolic Fate of DNOC. II. Biotransformation in Mammals. Med Fac Laundbouww Rijksuniv Gent 1954; 47: 401-8.
29. Jastroch W, Knoll W, Lange B, Riemer F, Thiele E. Results of a Study on the Exposure of Agriculture Workers to DNOC. Z Ges Hyg 1978; 24: 340-3.

Teşekkür

Laboratuarlarında çalışma imkânı sağlayan Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalına teşekkür ederiz. Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Araştırma fonu tarafından desteklenmiştir