

KARBON TETRAKLORÜR (CCl₄) VE ETİL ALKOL'ÜN FARE ERİTROSİT ANTİOKSİDAN VE PLAZMA LİPİD PEROKSİDASYONUNA ETKİSİ

Aysel GÜVEN*

Nalan MARAŞLI**

Necati KAYA**

Geliş Tarihi : 07.10.2002

Özet: Bu çalışmada karbon tetraklorür ve etil alkol ile karaciğer dejenerasyonu oluşturulan farelerde lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehid (MDA) ve antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler incelenerek dejenerasyon ile ilişkileri araştırıldı.

Çalışmada 30 adet Swiss albino erkek fare (25-30 gr) deneme öncesi bir hafta boyunca adaptasyon sağlamaya yönelik olarak standart fare yem ve su ile ad libitum olarak beslendi. Daha sonra tesadüfi olarak 3 eşit gruba ayrılan hayvanlardan I. Gruba (kontrol grubu) standart fare yemi ve su, II. Gruba standart fare yemi ve 2 ml/kg CCl₄, III. Gruba ise standart fare yemi + %50'lik etil alkolden 3 ml/kg canlı ağırlık dozunda oral olarak 10 hafta boyunca her gün verildi.

Kontrol grubu ile deneme grupları arasında yaptığımız kıyaslamada MDA düzeylerinde önemli oranda (p<0.01) artış gözlenirken, GSH ve GSH-Px aktivitelerinde de önemli oranda bir azalma gözlemlendi. Alkol uygulanan grupta CAT istatistikî olarak anlamlı bulundu (p<0.005).

Anahtar sözcükler: Lipid peroksidasyonu, antioksidan enzimler, karbon tetraklorür etil alkol.

Effect of Carbon Tetrachloride and Ethil Alcohol in Plasma Lipid Peroxidation and Erythrocyte Antioxidant of The Mice

Summary: Changes in the levels of malondialdehyde (MDA, a degradative product of lipid peroxidation) and in the antioxidant defens system in rats with carbontetrachloride and ethanol-induced liver degeneration were studied, in order to determine whether there is any reation between these parameters and disease.

Three week old clinically healthy female Swiss Albino mice (n= 30) weighing 25-30 g were used in this study. The animals were allowed to acclimatize for 15 days and randomly assorted into following groups: Group I (n= 10): Animals were put on a normal diet and sham-treated with 2 ml/kg distilled water through oral gavage, three times a week for 10 weeks this group of animals served as control. Group II (n= 10): Animals were put on a normal diet and treated with 2 ml/kg B.W CCl₄ dissolved in 2 ml distilled water through oral gavage, three times a week for 10 weeks. Group III (n=10): Animals were put on a normal diet and treated with 3 ml/kg b.w ethanol through oral evryday for 10 weeks.

In the present study, plasma MDA levels of the CCl₄ and ethanol group were markedly higher than controls (P<0.01). On the other hand, erythrocyte GSH and GSH-Px levels were significantly low when compared with controls. The difference was statistically significant for catalase activity (P<0.005).

Key words: Antioxidant enzymes, lipid peroxidation, carbon tetrachloride, ethil alcohol.

GİRİŞ

Serbest radikal biyokimyası dikkatleri üzerinde toplanan bir konu olup, oksijeni metabolize eden bütün canlılarda oluşur ve etkisiyle üreme fonksiyonlarının bozulduğu, istenmeyen hücre ölümleri, alzheimer, kanser ve diyabet gibi hastalıklar meydana gelir¹⁻⁵.

Bazal koşullarda tüm aerobik hücreler, solunum fagositoz, araşidonik asit metabolizması ve diğer normal fonksiyonları sırasında ve bazı kimyasal maddelerinin alınmasına bağlı olarak oksijeni metabolize ederken reaktif oksijen radikalleri oluştururlar⁶. Normal şartlarda iç ve dış kaynaklı bir çok stres faktörü hücrel dengeyi sürekli değiştirmektedir. Bu stresörlere karşı korunmada, hücrenin kendi geliştirdiği serbest radikal zincir reaksiyonlarını inhibe eden ve antioksidanlar olarak tanımlanan bazı bileşikler rol oynamaktadır⁷⁻⁹.

Çalışmamızda kullandığımız karbon tetraklorür

(CCl₄) ve etil alkol, deneysel karaciğer harabiyatı oluşturmak amacıyla yaygın olarak kullanılan ve peroksidant aktivitesi bilinen maddelerdir¹⁰⁻¹². CCl₄'ün metabolizması sonucu ortaya çıkan serbest radikaller organizmalar üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikuluma (ER) yerleşmiş olan monooksijenazlar tarafından CCl₄'den bir klor atomu ayrılarak dayanıksız bir radikal oluşur. Bu serbest radikal, doymamış yağ asitlerinde çok sayıda bulunan metil gruplarından bir hidrojen atomu koparır ve onunla birleşir. Bu reaksiyon sonucu bir taraftan kloroform oluşurken, diğer taraftan da yağ asidi esterlerinin bir serbest radikali ortaya çıkar¹²⁻¹⁴. Serbest radikallerin oluşumu hücredeki antioksidan savunma sistemlerini aşarsa membrandaki yağ asitleri serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar^{15,16}. Lipid peroksidasyonu (LPO), organizmada bir serbest radikal etkisi sonucunda membran yapısında bulunan doymuş yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar ve ma-

* Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Biyokimya Bilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

londialdehit (MDA) düzeyinin artmasına neden olur^{12,17}.

Membranda meydana gelen LPO, membran organizasyonunu bozar¹⁸. Peroksidasyon esnasında oluşan lipid peroksidleri membranın hidrofobik iç kısmından yüzeye doğru göç etme eğilimindedir. Bunun sonucunda membran ve fonksiyonları etkilenir^{19,20}. Hücrede hücrel karışıklıkları azaltıp, stresörlerin etkilerini yok ederek hücrenin en uygun koşullarında kalması için uğraşan sistemler mevcuttur²¹. Bunlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz (CAT) enzimleri ile Vitamin C, E ve ürik asittir^{22,23}.

GSH; protein ve dezoksiribonükleik asit (DNA) sentezi, hidroperoksidlerin transportu, proteinlerin sülfidril gruplarının devamının temini, hücrenin ve eritrositlerin radyasyon ve serbest radikallerin yıkıcı etkilerine karşı korunması, enzim aktivitesinin modülasyonu ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu gibi çok önemli biyolojik olaylarda rol oynar²⁴⁻²⁶. Glutatyon konjugasyon reaksiyonları; organizmada toksik ve elektrofilik metabolitler için önemli bir koruyucu mekanizma olarak görev yapmaktadır. Eğer toksik potansiyeli olan ksenobiyotikler GSH ile konjugasyona uğramasalar DNA, ribonükleik asit (RNA) veya hücre proteini ile kovalent olarak birleşmekte serbest olacak ve sonuçta ciddi hücre hasarına yol açabileceklerdir²⁷. Peroksitlerin veya oksitlenmiş sülfidril gruplarının indirgenmesi ile oksijen ihtiyacının artması ve oluşan oksidatif stres sonucu GSH konsantrasyonunun karaciğer ve diğer organlarda azaldığı ortaya konmuştur²⁸. GSH-Px yağ asidi peroksidlerinin alkollere dönüşümünü katalize ettiği, bu etkisiyle hücrel ve subsellüler membranların oksidatif etkiden korunmasını sağladığı belirtilmiştir²⁹. CAT ise serbest radikallerin birikmesini ve LPO'nun başlamasını önleyen önemli bir enzimdir. Bu enzim mevcut serbest radikalleri daha az zararlı moleküllere dönüştürmekte yada serbest radikallerin diğer moleküllerden teşekkülünü önleyerek etkisini göstermektedir².

Çalışmada CCl₄ ve etil alkol verilmiş farelerde MDA, GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktivitelerini ölçmek suretiyle CCl₄ ve etil alkolün bu dozlarının farelerde oluşturabileceği oksidatif hasarın boyutlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan gruplarının oluşturulması: Çalışmada kullanılan 30 adet Swiss albino erkek fare deneme öncesi bir hafta boyunca adaptasyon sağlamaya yönelik ola-

rak standart fare yemi (Tablo. 1) ve su ile ad libitum olarak beslendi. Daha sonra tesadüfi olarak 3 eşit gruba ayrılan hayvanlara 12 saat ışık ve 12 saat karanlık, yaklaşık 22±2 °C sıcaklık ve nem oranı ortalama %50±5 olan özel bir ortam sağlandı. Her gün saat 09.00'da I. Gruba (Kontrol grubu) standart fare yemi + su, II. Gruba standart fare yemi ve 2 ml/kg CCl₄, III. Gruba ise standart fare yemi ve %50'lik etil alkolden 3 ml/kg canlı ağırlık olacak şekilde oral olarak 10 hafta boyunca her gün verildi.

Kan örneklerinin alınması: Uygulamanın 10. haftasında heparinli enjektörler ile kanlar alındı ve 15 dakika 2500 g. de +4 °C de santrifüjasyonla plazmaları çıkarıldı. Plazmaları analiz gününe kadar -20 °C de derin dondurucuda saklandı. Eritrosit paketi için hemolizat 3 kez % 0.9'luk sodyum klorür ile yıkandı ve 1/10 oranında safsu ile karıştırılarak -20 °C 18 saat saklandı.

Lipid peroksidasyonu ve enzim analizleri: Plazma MDA düzeyleri Akkuş'un kitabında belirtilen yöntemle göre⁶ tayin edildi. Bu metod LPO'unun aldehid ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'nın reaksiyonu temeline dayanır. Standart olarak 1, 1, 3, 3 tetra-ethoxypropane çözeltisi kullanıldı. Redükte glutatyon; Elman yöntemine³⁰ göre yapılırken, eritrosit glutatyon peroksidaz; Lawrence and Burk'ın³¹ belirttikleri metoda göre tespit edildi. Eritrosit katalaz aktivitesi Aebi³² yöntemle göre yapıldı.

İstatistiksel analizler: Elde edilen bulguların gruplar arasındaki istatistiksel farkın belirlenmesinde Anova paket programı (SAS) kullanıldı. Sonuçlar ortalama (±) standart hata olarak verildi ve P<0.01, P<0.05, P<0.005 istatistiksel farklılığı gösterdi³³.

Tablo 1. Kullanılan fare yeminin içeriği.
Table 1. Diet composition.

Karışım	%
Buğday	10
Mısır	23
Arpa	15
Kepek	8
Soya	26
Balık unu	8
Et-kemik unu	4
Melas	5
Tuz	0.8
Vitamin+mineral*	0.2

* Vitamin A, D3, E, K3, B1 ve B12, Nikotinamid, Folik asit, Biotin, Mn, Fe, Cu, I, Co, Se, Antioksidan (butilhidroksitoluol) ve Ca.

BULGULAR

Gruplarda gözlenen lipid peroksidasyon ve antioksidan aktiviteleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. CCl₄ ve etil alkol uygulanan farelerde lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri.
Table 2. Activity antioxidant enzymes and GSH with peroxidation products (MDA) in plasma of CCl₄ and ethanol treated mice.

	MDA nmol/ml	GSH nmol/ml(RBC)	GSH-Px U/gHb	CAT U/gHb
I. Grup (n=10)	5.58±0.19	1.52±0.02	33.14±2.04	29.3±2.75
II. Grup (n=10)	20.01±1.50 ^a	0.96±0.52 ^b	29.80±1.04 ^b	27.2±2.14 ^a
III. Grup (n=10)	14.94±1.52 ^a	1.04±0.12 ^b	31.54±1.02 ^b	28.9±2.12 ^c

p<0.01^a, P<0.05^b, P<0.005^c

Karaciğer yağlanması ve dejenerasyonu tanısı konulan farelerin kanında GSH ve GSH-Px aktivitesinde artış gözlemlendi (Tablo 2). Eritrosit GSH-Px aktivitesi kontrol grubunda 33.14±2.04 U/gHb, etil alkol grubunda ise 31.54±1.02 U/gHb olarak tespit edildi. CCl₄ ile etil alkol verilen gruplarda MDA düzeyleri sırasıyla 20.01±1.50, 14.94±1.52 nmol/ml olarak tespit edildi. CAT aktivitesinde alkol grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.005).

TARTIŞMA ve SONUÇ

CCl₄ hepatik granülsüz Er, (NADPH)-sitokrom P₄₅₀, elektron transport zincirini kullanan karışık fonksiyonlu sitokrom oksidaz kompleksi tarafından haloalkan serbest radikaline⁶ (CCl₃ ve CCl₃O₂.) metabolize edilir^{13,34}. OOC₃ reaktif metabolite etkin olarak domamış yağ asitleri ile kovalent bağlarla etkileşir ve lipid peroksidasyonu, CCl₄ tarafından meydana getirilen karaciğer dejenerasyonunun esasını oluşturur³⁴. CCl₄ gibi halojen hidrokarbonlarla zehirlenme hepatik hemorajik nekroze ve nötral lipidlerin birikimi (karaciğer yağlanması) ile karakterizedir¹⁷.

Bu çalışmada CCl₄ verilen grupta MDA düzeyi 5.58±0.19'dan 20.01±1.50 nmol/ml olarak yükselirken alkol grubunda 14.94±1.52 nmol/ml yüksek bir oranda tespit edilmesi Racknagel'in¹⁴ bildirdiği sonuçlarla paralellik oluşturmaktadır. LPO'nun göstergesi olan MDA düzeyindeki bu artışın tersine GSH-Px enzim aktivitesinde önemli düzeyde azalış (P<0.01) olurken CAT aktivitesindeki azalma istatistiksel olarak (P<0.005) anlamlı bulundu. GSH düzeyinde de azalma P<0.05 olarak saptanmıştır. Bulgularımız daha önce kronik veya akut toksik zehirlenme

çalışmalarında^{3,17,34} verilen sonuçlarla uyumluluk içindedir. Nitekim Bildik ve ark.¹⁴ tavşanlara akut ve kronik CCl₄ uygulaması yapmış ve deneme gruplarındaki MDA düzeylerinin kontrol gruplarına oranla önemli bir artış (P<0.05) olduğunu tespit etmişlerdir. CCl₄ maruz kalan rat hepatositlerinde MDA oluşumu artar ve karaciğerde yağlı dejenerasyonla birlikte nekroz gözlenirken kan LPO ve antioksidan enzimlerinde farklılıklara neden olur³⁵.

Aşırı alkol tüketimi pek çok toplumda temel bir sorundur. Burada araştırılan 2 ml/kg dozdaki alkolün biyolojik metabolizmaya etkilerini görmektir. Örneğin günde 80 gm. mutlak alkol karaciğer sirozu ile sonuçlanmaktadır²⁷. İlerleyici ve kronik bir karaciğer hastalığı olan siroz, karaciğer hücrelerinin fibrozis ve nodülleşmesi ile tanımlanmaktadır^{36,37}. Etanol, koma, laktik asidoz, hipoglisemi ve sinirsel bozukluklar gibi bir çok olumsuz etkilere neden olmaktadır. Etanolün alkol dehidrogenaz ve asetaldehid dehidrogenazı kullanılarak aset aldehit üzerinden asetata sonra asetil KoA'ya dönüşümü ya da etanol bir mikrozomal sitokrom P-450'yi (mikrozomal etanol okside edici sistem MEOS) aset aldehit oluşur. Asetaldehit yüksek derecede reaktif bir molekül olup protein, nükleik asit ve diğer moleküller ile reaksiyona girme kabiliyeti, etanolün toksik etkilerinin açığa çıkışı ile bağlantılıdır. Sarma ve ark yaptıkları çalışmada³⁸ ratlara kadmiyum ve alkolü tek tek ve birlikte uygulamaları sonucunda özellikle alkolün tek başına uygulandığı hayvan grubunda antioksidan enzim aktivitelerinde (GSH-Px, GR ve SOD) inhibisyona neden olduğu bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda GSH-Px aktivitesi 33.14±1.2 U/gHb iken alkol grubunda bu değer 31.54±1.02 U/gHb olarak azalma göstermesi enzim inhibisyonun bir göstergesi olabilir.

Çalışmamızda kullanılan CCl₄ ve alkolün aşırı dozda alınması durumunda çalışmalarda da belirtildiği gibi^{27,38,39} karaciğer dokusunda dejenerasyon ve bir çok metabolik değişime neden olduğu söylenebilir. CCl₄ ve etil alkol uygulanan grupların kan parametrelerinde meydana gelen anlamlı değişiklikler bu toksik maddelerin kan biyokimyası üzerine önemli etkilerinin açık bir ifadesidir.

KAYNAKLAR

1. Sözmén EY, Onat T, Tanyalçın T, Erilaçın S: Eritrosit antioksidan enzimlerinde yaşa bağlı değişiklikler. *Biyokimya Derg.* 18 (3): 83-89, 1993.
2. Freeman BA, Crapo JD: Biology of disease, free radicals and tissues injury Lab. *Invest.* 47(5), 412-425, 1982.
3. Salyi G, Mezes M, Banhidi G: Changes in the lipid peroxide status of broiler chickens in acute monensin poisoning. *Acta Vet Hung.* 38(4):263-270, 1990.
4. Gupta MP, Khanduya KL, Sharma RR: Effects of

- cigarette smoke inhalation on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in the rat. *Toxicology Letters*, 41,107-114, 1998.
- 5 **İnal EM, Kanbak C, Alataş Ö:** Antioxidant enzyme activities in diabetes mellitus. *Tr J Med Sci*, 21, 155-157, 1994.
 - 6 **Akkuş İ:** Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri, 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
 - 7 **Kökçam I, Nazıroğlu M:** Psoriasisli hastalarda antioksidan ve lipid peroksidan ve lipid peroksidasyon düzeyleri. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği II. Ulusal Kongresi, 1999.
 - 8 **Manisha K, Nisha R:** The protective effect of vitamin E in pyretroid induced. Oxidative stress in rat tissues, *J Nutr Envir Med*, 9 (4): 281-287, 1999.
 - 9 **Beytut E:** Erythrocyte antioxidants and plasma lipid peroxidation of rabbits exposed to cadmium. *Indian Vet J*, 79:334-338, 2002.
 - 10 **Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Toker NK, Sivas A, Öz H:** The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, (36):71-76, 1985.
 - 11 **Şengül A, Gürbilek M, Yalçın AS, Toker NK, Sivas A, Öz H:** The effects of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36: 71-76, 1985.
 - 12 **Aleynik IS, Leo AM, Ma Y, Aleynik KM, Lieber SC:** Polyenylphosphatidylcholine prevents carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation while it Attenuates liver fibrosis. *J Hepatol*, 27: 554-561, 1997.
 - 13 **Rikans LF, Hornbrook KR, Cai Y:** Carbon tetrachloride hepatotoxicity as a function of age in female fischer 344 rats. *Mech Ageing Dev*, 20:89-99, 1994.
 - 14 **Vajdovich P, A Szilagyi, T Gaal:** Evaluation of blood lipid peroxidation parameters in carbon tetrachloride (CCl4) toxicity in sheep. *Acta Vet Hung*, 43: 423-429, 1995.
 - 15 **Aydemir T, Ötürk R, Bozkaya LA, Tarhan L:** Effect of antioxidant vitamins A, C, E and trace elements Cu, Se on CuZnSOD, GSH-Px, CAT and LPO levels in chicken erythrocytes. *Cell Biochemistry and Function*, Cell Biochem Funct, 18, 109-115, 2000.
 - 16 **Okada M, Ho Y, Inano K, Miida T, Matsuto T:** Structural changes in oxidative modification of low-density lipoprotein: Investigation using lipid peroxidation products, surface charge, and spectrophotometric patterns. *Ann Clin Biochem*, (34): 173-178, 1997.
 - 17 **Yılmaz S, Bahçelioğlu Hİ:** Karbontetraklorür ile siroz oluşturan ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim ile pirüvat kinaz aktiviteleri. *Tr J Vet Anim Sci*, 24,25-28, 2000.
 - 18 **Sevania A, Hochstein P:** Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Ann Rev Nutr*, 5: 365-390, 1985.
 - 19 **Gutteridge JMC:** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 41(12), 1819-1828, 1995.
 - 20 **Yerer MB, Aydoğan S:** Oksidatif stress ve antioksidantlar. *Erciyes Üniv Sağ Bil Derg*, 9 (1): 49-53, 2000.
 - 21 **Bast A, Haenen G, Doelman J:** Oxidants and antioxidants. State of the art. *The Am J Of Med*, Vol 91(Suppl. 3C), 2-13, 1991.
 - 22 **Clarkson PM, Thompson HS:** Antioxidants: what role do they in physical activity and health? *Am J Clin Nutr*, 72; 637-646, 2000.
 - 23 **Ürek RÖ, Bozkaya LA, Tarhan SL:** The effects of some antioxidant vitamin- and trace element-supplemented diets on activities of sod, cat, gsh-px and lpo levels in chicken tissues. *Cell Biochemistry and Function Cell Biochem Funct*, 19: 125-132, 2001.
 - 24 **Bulla J, Kotalaj A, Granat J, Zelnik J, Grom A, Dobalova M:** Blood enzyme activities in different breeds of geese. *Br Poultry Sci*, 20(3): 255-257, 1979.
 - 25 **Anderson D:** Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutat Res*, 350(1): 103-108, 1996.
 - 26 **Mezes M, Salyı G:** Effect of acute selenium toxicosis on the lipid peroxide status and the glutathione system of broiler chickens. *Acta Veterinaria Hungarica*, 42(4), 459-463, 1994.
 - 27 **Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW:** (Harper's Biochemistry 1988: 21 th Edition. Appleton & Lange, Norwalk. Connecticut/san Mateo. Canlifornia, IX-700.
 - 28 **Meister A, Anderson ME:** Glutathione. *Ann Rev Biochem*, 52: 711-760, 1983.
 - 29 **Oldfield JE:** The Two Faces of Selenium. *J Nutr*, 117, (12), 2002-2008, 1987.
 - 30 **Sedlak J and Lindsay RH:** Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's Reagent. *Analytical Biochemistry*, 25:192-205, 1968.
 - 31 **Lawrence RA, Parkhill LK, Burk RF:** Hepatic cytosolic non-selenium-depent glutathione peroxidase activity. Its nature and the effect of selenium deficiency. *J Nutr*, 108, 981-987, 1987.
 - 32 **Aebi H:** Catalase in Vitro. *Enzymol*, 105: 121-126, 1984.
 - 33 **Statistical Analysis System,** SAS Institute, Raleigh, NC, 1987.
 - 34 **Ganeshsunder DN, Nympha BD:** Hepatic Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in carbon Tetrachloride-Induced Liver Cirrhosis Rats. *Biochem Med and Metabol*, 40: 42-45, 1988.
 - 35 **Bildik A, Ertekin A, Vur F, Dede S:** Karbon Tetraklorür Toksikasyonu Lipid Peroksidasyonu, Glutasyon ve vit C Üzerine Etkileri. Serbest Radikaller ve Antioksidantlar Araştırma Derneği II. Ulusal Kongresi, 1999.
 - 36 **Yalçın A:** Fare karaciğerlerinde çeşitli etkenler ile oluşturulan doku hasarlarında GSH, GST ve Selenyum Tayinleri. *Ege Üniv Sağlık Bil Ens Doktora Tezi*, 38-40, 1993.
 - 37 **Lee JW, Iwatssuru M, Nihigori H:** Alternation of activities of hepatic antioxidant defence enzymes in developing chick embryos, after glucocorticoid administration - a factor produce some adverse effects. *J Oharm Pharmacol*, 50(6), 655-666, 1998.
 - 38 **Mochizuki S, Kato K, Watanabe Y, Yoshida A:** Effects of a single large dose of ethanol on tissue ascorbic acids, drug metabolizing enzymes in the liver and serum and liver lipids in rats Fed with A Pcb-Containing Diet. *Biosci Biotech Biochem*, 57(1):12-16, 1993.
 - 39 **Sharma G, Nath R, Gill ID:** Effect of ethanol of cadmium-induced lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat liver. *Biochem Pharmacol*, 11, 42:9-16, 1991.

BULGULAR

Gruplarda gözlenen lipid peroksidasyon ve antioksidan aktiviteleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. CCl₄ ve etil alkol uygulanan farelerde lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri.
Table 2. Activity antioxidant enzymes and GSH with peroxidation products (MDA) in plasma of CCl₄ and ethanol treated mice.

	MDA nmol/ml	GSH nmol/ml(RBC)	GSH-Px U/gHb	CAT U/gHb
I. Grup (n=10)	5.58±0.19	1.52±0.02	33.14±2.04	29.3±2.75
II. Grup (n=10)	20.01±1.50 ^a	0.96±0.52 ^b	29.80±1.04 ^b	27.2±2.14 ^a
III. Grup (n=10)	14.94±1.52 ^a	1.04±0.12 ^b	31.54±1.02 ^b	28.9±2.12 ^c

p<0.01^a, P<0.05^b, P<0.005^c

Karaciğer yağlanması ve dejenerasyonu tanısı konulan farelerin kanında GSH ve GSH-Px aktivitesinde artış gözlemlendi (Tablo 2). Eritrosit GSH-Px aktivitesi kontrol grubunda 33.14±2.04 U/gHb, etil alkol grubunda ise 31.54±1.02 U/gHb olarak tespit edildi. CCl₄ ile etil alkol verilen gruplarda MDA düzeyleri sırasıyla 20.01±1.50, 14.94±1.52 nmol/ml olarak tespit edildi. CAT aktivitesinde alkol grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.005).

TARTIŞMA ve SONUÇ

CCl₄ hepatik granülsüz Er, (NADPH)-sitokrom P₄₅₀, elektron transport zincirini kullanan karışık fonksiyonlu sitokrom oksidaz kompleksi tarafından haloalkan serbest radikaline⁶ (CCl₃ ve CCl₃O₂) metabolize edilir^{13,34}. OOC₃ reaktif metabolite etkin olarak domamış yağ asitleri ile kovalent bağlarla etkileşir ve lipid peroksidasyonu, CCl₄ tarafından meydana getirilen karaciğer dejenerasyonunun esasını oluşturur³⁴. CCl₄ gibi halojen hidrokarbonlarla zehirlenme hepatik hemorajik nekroze ve nötral lipidlerin birikimi (karaciğer yağlanması) ile karakterizedir¹⁷.

Bu çalışmada CCl₄ verilen grupta MDA düzeyi 5.58±0.19'dan 20.01±1.50 nmol/ml olarak yükselirken alkol grubunda 14.94±1.52 nmol/ml yüksek bir oranda tespit edilmesi Racknagel'in¹⁴ bildirdiği sonuçlarla paralellik oluşturmaktadır. LPO'nun göstergesi olan MDA düzeyindeki bu artışın tersine GSH-Px enzim aktivitesinde önemli düzeyde azalış (P<0.01) olurken CAT aktivitesindeki azalma istatistiksel olarak (P<0.005) anlamlı bulundu. GSH düzeyinde de azalma P<0.05 olarak saptanmıştır. Bulgularımız daha önce kronik veya akut toksik zehirlenme

çalışmalarında^{3,17,34} verilen sonuçlarla uyumluluk içindedir. Nitekim Bildik ve ark.¹⁴ tavşanlara akut ve kronik CCl₄ uygulaması yapmış ve deneme gruplarındaki MDA düzeylerinin kontrol gruplarına oranla önemli bir artış (P<0.05) olduğunu tespit etmişlerdir. CCl₄ maruz kalan rat hepatositlerinde MDA oluşumu artar ve karaciğerde yağlı dejenerasyonla birlikte nekroz gözlenirken kan LPO ve antioksidan enzimlerinde farklılıklara neden olur³⁵.

Aşırı alkol tüketimi pek çok toplumda temel bir sorundur. Burada araştırılan 2 ml/kg dozdaki alkolün biyolojik metabolizmaya etkilerini görmektir. Örneğin günde 80 gm. mutlak alkol karaciğer sirozu ile sonuçlanmaktadır²⁷. İlerleyici ve kronik bir karaciğer hastalığı olan siroz, karaciğer hücrelerinin fibrozis ve nodülleşmesi ile tanımlanmaktadır^{36,37}. Etanol, koma, laktik asidoz, hipoglisemi ve sinirsel bozukluklar gibi bir çok olumsuz etkilere neden olmaktadır. Etanolün alkol dehidrogenaz ve asetaldehid dehidrogenazı kullanılarak aset aldehit üzerinden asetata sonra asetil KoA'ya dönüşümü ya da etanol bir mikrozomal sitokrom P-450'yi (mikrozomal etanol okside edici sistem MEOS) aset aldehit oluşur. Asetaldehit yüksek derecede reaktif bir molekül olup protein, nükleik asit ve diğer moleküller ile reaksiyona girme kabiliyeti, etanolün toksik etkilerinin açığa çıkışı ile bağlantılıdır. Sarma ve ark yaptıkları çalışmada³⁸ ratlara kadmiyum ve alkolü tek tek ve birlikte uygulamaları sonucunda özellikle alkolün tek başına uygulandığı hayvan grubunda antioksidan enzim aktivitelerinde (GSH-Px, GR ve SOD) inhibisyona neden olduğu bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda GSH-Px aktivitesi 33.14±1.2 U/gHb iken alkol grubunda bu değer 31.54±1.02 U/gHb olarak azalma göstermesi enzim inhibisyonun bir göstergesi olabilir.

Çalışmamızda kullanılan CCl₄ ve alkolün aşırı dozda alınması durumunda çalışmalarda da belirtildiği gibi^{27,38,39} karaciğer dokusunda dejenerasyon ve bir çok metabolik değişime neden olduğu söylenebilir. CCl₄ ve etil alkol uygulanan grupların kan parametrelerinde meydana gelen anlamlı değişiklikler bu toksik maddelerin kan biyokimyası üzerine önemli etkilerinin açık bir ifadesidir.

KAYNAKLAR

- 1 **Sözmen EY, Onat T, Tanyalçın T, Erlaçın S:** Eritrosit antioksidan enzimlerinde yaşa bağlı değişiklikler. *Biyokimya Derg.* 18 (3): 83-89, 1993.
- 2 **Freeman BA, Crapo JD:** Biology of disease, free radicals and tissues injury Lab. *Invest.* 47(5), 412-425, 1982.
- 3 **Salyi G, Mezes M, Banhidi G:** Changes in the lipid peroxide status of broiler chickens in acute monensin poisoning. *Acta Vet Hung.* 38(4):263-270, 1990.
- 4 **Gupta MP, Khanduaya KL, Sharma RR:** Effects of