

A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü
Prof. Dr. M. Şahin Akman

FENOBARBITALIN KOBAYLARDA KARACİĞER VE SERUM GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE (GGT) AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ*

Süleyman Şener**

The action of phenobarbital on the liver and serum gamma-glutamyl transferase activity in the guinea-pigs

Summary: *Gamma-glutamyl transferase (E. C. 2. 3. 2. 2) is an enzyme localized particularly in the kidneys of men and of the animals. It also exists high levels in the liver of the animals except certain rodents such as rat.*

Because of its localization sikes GGT has of the pharmacological and toxicological importance and makes possible to diagnos some disturbances of liver and kidneys.

In this research, phenobarbital 20 mg/kg/day was given intraperitoneally for four weeks to the guinea-pigs and its action on the liver and serum GGT activity was determined.

The colorimetric determination of GGT in 30°C and 405 nm by a kinetic test based on SZASZ reaction indicated that phenobarbital causes an increase in the GGT activity of liver ($p > 0.05$) and of serum ($p > 0.01$).

Özet: *GGT (E. C. 2.3.2.2) insan ve hayvanlarda özellikle böbrekte lokalize olan bir enzimdir. Rat gibi bazı kemirici hayvanlar dışında karaciğerde de yüksek düzeyde bulunur. GGT, bu tür lokalizasyonu nedeniyle farmakolojik ve toksikolojik açıdan önem taşımakta; karaciğer, safra yolları ve böbrek bozukluklarının tanısına olanak sağlamaktadır.*

* TÜBİTAK VII. Bilim Kongresinde Tebliğ Edilmiştir.

** Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü.

Bu çalışmada, 4 hafta süreyle 20 mg/kg/gün (IP) dozda fenobarbitalin kobaylarda, karaciğer ve serum GGT aktivitesi üzerine olan etkisi araştırılmış ve SZASZ yöntemine dayanan sinetik bir testle, 30°C ve 405 nm'de yapılan kolorimetrik ölçümler sonunda fenobarbitalin, karaciğer ($p > 0.05$) ve serum ($p > 0.01$) GGT aktivitesinde artışa neden olduğu saptanmıştır.

Giriş

Enzim kod numarası E.C. 2.3.2.2 olan gamma-glutamyl transferase ya da gamma -glutamyl transpeptidase *klebsiella*, *Corynebacterium glutamicum*, *Pseudomonas*, *Enterobacteriace*'ler, *Proteus vulgaris*, *stafilokoklar* gibi bazı bakteriler, bitkiler (*fitoplanktonlar*, *soğan*, *mercimek*, *bezelye*, *havuç*) ve *Hydrola lirttoralis*, *musca domestica* larvaları gibi ilkel hayvanlardan vertebralılara kadar hemen her türde bulunan bir enzimdir.

HANES ve Ark. larına göre (11) GGT, proteinlerin biyosentezinde rol almaktadır; gamma-glutamik siklusuna girerek amino asitlerin membran geçişine yardımcı olur. Bununla birlikte organizmada glutathion oranının düzenlenmesine etkiyen faktörlerden biridir. Glutathionaz aktivitesiyle de amonyum iyonlarının eliminasyonunda etkin rol oynadığı bildirilmektedir (13). Ne var ki, GGT'nin fizyolojik işlevi hakkında ileri sürülen bu savlar halen tartışma konusudur (6).

GGT, insan ve hayvanların böbreğinde lokalize olan bir enzimdir. Bazı rodentler dışında diğer hayvan türlerinin karaciğerinde de yüksek düzeyde bulunur. Bu iki organdan başka, daha düşük düzeyde olmak üzere, pankreas, dalak, ince barsaklar, solunum yolları epiteli ve mukozası, erkek ve dişi genital organları, meme bezi, kan hücreleri, göz, timus ve tükrük bezlerine de dağılmıştır (5, 6).

Serum ya da plazmada GGT aktivitesi oldukça düşüktür; insanda renal aktivitenin yaklaşık 1/7 000'i kadardır. Kan serumunda bulunan GGT, insanda olduğu gibi hayvanlarda da özellikle karaciğer ve pankreastan kaynaklanmaktadır (9, 14, 16, 20) Gerçekten de karaciğer ve pankreas bozukluklarının serum GGT aktivitesinde önemli değişikliklere neden olmasına karşın, serum GGT düzeyi böbrek bozukluklarından etkilenmemektedir (21, 24).

Yaşla bağılı olarak çeşitli organların GGT aktivitesinde farklılık görülmesi yanında (2, 7, 21, 22), bu enzim aktivitesinin ırk, yaş, seks, mevsim, beslenme, patolojik durumlar ve ilaçla sağıtım gibi bazı faktörlere bağılı olarak değişebilmesi ilginçtir (4, 6).

GGT organizmadaki lokalizasyonu, bazı koşullara bağılı olarak aktivite değişikliği gösterebilmesi nedeniyle önem taşımakta ve böylece bazı organ hastalıklarının klinik tanısı, deneysel kanseroloji ile farmakoloji ve toksikoloji alanlarında yararlı olmaktadır.

Farmakolojik ve toksikolojik yönden GGT aktivitesinde görülen değişiklikler iki ayrı prosessüse dayanmaktadır:

- Hücre zehirlerinin oluşturduğu lezyonlardan kaynaklanan ya da enzimatik indüksiyon sonucu şekillenen GGT artışı.

Klasik lezyon oluşturan zehirler arasında karbon tetraklorür, amanitin, cıva klorür, oxazolodin ve kadmiyum anılır. Mikrozomal enzim indüksiyonunun en iyi bilinen örneği de fenobarbital gibi bazı ilaçların etkisi altında seruma yansımaksızın karaciğer GGT aktivitesinin yükselmesidir (8, 23).

- GGT inhibasyonu ise çok seyrek şekillenir; acetazolamide örneğinde olduğu gibi (17).

Materyal ve Metod

Yirmi kobay (676 58.0 g) cinsiyet farkı gözetilmeksizin iki gruba ayrıldı. Beş günlük adaptasyon döneminden sonra, gruplardan birine (Pb) 4 hafta süreyle hergün 20 mg/kg/gün dozda fenobarbital, diğerine de (T) aynı hacimde izotonik sodyum klorür çözeltisi periton içi yolla verildi.

Dört haftalık ilaç uygulama döneminden sonra, bir gün önceden aç bırakılan deney hayvanları hafif eter anestezisi altında karın boşluğu açılarak aseptik koşullarda aortun abdominal segmentine yapılan ponksiyonla, kanları alınarak sakrifiye edildi. Karaciğer ağırlıkları tartılarak her birinden 1 g örnek alındı ve 9 ml buzlu izotonik sodyum klorür çözeltisi içinde, Potter-Elvehem tipi broyör yardımıyla homojenize edildi. Beş dakika süreyle 3000 devirde santrifüje edildikten sonra homojenatın üstte kalan kısmında ve arteriyel kan örneğinin serumunda SZASZ (25) yöntemine dayanan sinetik bir testle GGT aktivitesi ölçüldü.

Arteriyel kan serumunun kalan kısmında da AUTOCHEMIST' te biyokimyasal parametre analizleri yapıldı ve tüm sonuçlar istatistikî yönden değerlendirildi.

Sonuçlar

Dört hafta süreli deneme periyodu sonunda kontrol grubunun canlı ağırlık ortalamasının diğer gruba oranla yüksek olmasına karşın, fenobarbital verilen grupta karaciğer ağırlık artışı olduğu saptandı (Çizelge 1).

		canlı ağırlık	karaciğer ağırlığı g
T	M	758.8	18.98
	σ	92.6	2.00
Pb	M	685.8	24.13
	σ	66.1	3.00

Çizelge 1. Fenobarbitalin canlı ağırlık ve karaciğer ağırlığı üzerine etkisi (T. kontrol grubu, Pb. fenobarbital verilen grup, M. aritmetik ortalama, σ . ekartip).

Karaciğer GGT aktivitesi, kontrol grubunda 2.381 ± 0.718 U/g, fenobarbital uygulanan grupta ise 3.863 ± 0.913 u/g olarak saptandı ve GGT aktivitesinde görülen bu artış önemli bulundu ($p < 0.05$).

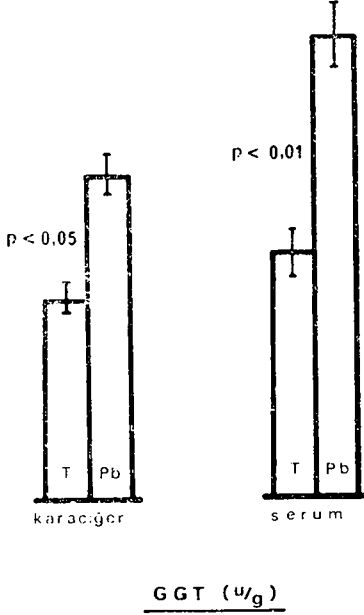
		g/l	mg/l	U/l					g/l
		Üre	Creatinin	Fosfataz alkalen	Fosfataz asit	TGO	TGP	LDH	Trigliserid-
T	M	0.72	9.39	36.62	5.37	46.50	30.88	178.4	1.10
	σ	0.09	0.92	9.20	2.24	35.80	9.17	54.4	0.22
Pb	M	0.59	6.48	89.00	2.68	89.00	56.50	197.8	0.88
	σ	0.10	0.77	29.80	5.35	57.20	16.92	72.2	0.36

Çizelge 2. Bazı serum parametreleri

Öte yandan, karaciğer ağırlığında saptanan artış da göz önüne alınırsa; fenobarbital verilen grubun total karaciğer GGT aktivitesi 93.21 u, kontrol grubunki ise 45.19 u'dir.

Serum GGT aktivitesinde ise, fenobarbital etkisiyle 11.750 ± 188 u' den 22.0 ± 3.162 u' ye varan bir artış ($p < 0.01$) olduğu görüldü (Şekil 1).

Autochemist'te yapılan kan serumu parametre analiz sonuçları da Çizelge 2'de görülmektedir.



Şekil 1. Karaciğer ve serumda GGT düzeyleri (T. kontrol grubu, Pb, fenobarbital verilen grup).

Tartışma

Son yıllarda, özellikle enzim analiz yöntemlerinin gelişmesi ve pratik uygulamaya girmesiyle birlikte idrar, çeşitli dokular ve serumda enzim aktivite ölçümleri yapılarak, bir ilacın toksik etkilerinin değerlendirilmesi yönteminden yaygın bir biçimde yararlanılmaktadır (3,10, 12, 15, 18, 24).

Serum enzimleri, biyolojik çıkakları ve işlevlerine göre 3 gruba ayrılır;

- Spesifik plazma enzimleri,
- Salgı bezlerinden salgılanan enzimler ve

– Hücre içinde sentezlenen, normal koşullarda etki alanları hücreler arası ortam olan hücresel enzimler (19, 26).

Normalde, plazmada fizyolojik işlevden yoksun olan salgı ve hücre enzimlerinin bu ortamda bulunmamaları gerekir. Serumda bu grup enzimlerin aktivite artışı ise, herhangi bir organ ya da dokuda oluşan hücresel bir lezyondan kaynaklanmaktadır.

Braun (5), 12 gün süreyle 10, 20, 30 mg/kg/gün dozda fenobarbital verilen kobaylarda karaciğer GGT aktivitesinin, seruma yansımaksızın, artış gösterdiğini, ancak bu artışla ilaç dozu arasında bir ilişki olmadığını bildirmektedir. Öte yandan, serum GGT aktivitesinde görülen değişikliğin insanda da kullanılan ilaç dozuna bağlı olmadığı saptanmıştır (1).

Whitfield ve Ark. larına göre (27). serum GGT aktivitesi, 7 günlük bir ilaç uygulama periyodundan sonra artış göstermektedir. Oysa, Coltorti ve Ark. ları ise (8), serum GGT düzeyinin artış gösterebilmesi için, minimum 3 aylık bir ilaç uygulama periyodunun gerekli olduğunu savunmaktadırlar.

Bulgularımıza göre, bu konuda insan modeline en yakın tür olan kobaylarda, 20 mg/kg/gün dozda fenobarbital, 28 gün sonra, karaciğer GGT aktivitesiyle birlikte serum GGT aktivitesinde de önemli ölçüde artışa neden olmaktadır.

Literatür

- 1- **Acheapong-Mensah, D.** (1976): *Activity of gamma-glutamyl transpeptidase in serum of patients receiving anticonvulsivant or anticoagulant therapy.* Clin. Biochem., 9, 67-70.
- 2- **Albert, Z., Rzocidlo, Z. ve Starzyk, H.** (1970): *Biochemical and histochemical investigations on the gamma-glutamyl transpeptidase in embryonal and adult organs of man.* Acta Histochem. (Jenal), 37, 74-78.
- 3- **Bartels, H. N.** (1974): *Leberspezifisches Enzym durch antirheumatica beeinflusst: Erhöhte GGT Serumaktivität als Folge-therapiebedingter mikrosomaler Enzyme.* Med. Trib., 9, 9.
- 4- **Blackmore, D. J. ve Kent, J. E.** (1977): *Serum enzyme and protein concentration in English shire horses.* Vet. Rec., 100, 91-92.

- 5- **Braun, J. P.** (1978): *Contribution a l'étude de la gammaglutamyl-transferase chez les animaux domestiques*. Doc de troisieme cycle, Ensat-Toulouse, 1-104.
- 6- **Braun, J. P., Rico, A. G., Benard, P. ve Burgat-Sacaze, V.** (1977): *La gamma -glutamyltransferase. De la pathologie humaine à la biologie animale*. Ann. Biol. Clin., 35, 433-457.
- 7- **Cohen, M. I, Gatner, L. M., Blumenfeld, O. O. ve Aris, I. M.** (1969): *Gamma-glutamyltranspeptidase: measurement and development in quinea pig small intestine*. Pediat. Res., 3, 5-10.
- 8- **Coltorti, M., Di Simone, A., Di Cesare, D. ve Rinaldi, M.** (1973): *Effect of pentobarbital administration on liver and plasma gamma-glutamyl-transpeptidase: Clinical and experimental investigation*. Acta Vitaminol. Enzymol. (Milano), 27, 217-222.
- 9- **Gibinsky, K. ve Aleksandrowicz, J.** (1965): *Studies on the source of gamma-glutamyltranspeptidase in different blood samples from human cadavres*. Arch. Immunol. Ther. exp., 13, 557-563.
- 10- **Gregorczyk, J., Stanosek, J. ve Le Wandowska-Tokarz, A.** (1965): *Biochemical change in quinea-pigs treated with large doses of cortisol. II. Effects on the activity of alanine and aspartic aminotransferases of the serum and liver and on serum activity of gamma-glutamyl-transpeptidase*. Pol. Endocrinol., 16, 76-80.
- 11- **Hanes, C. S., Hird, F. Jr. ve Isher Wood, F. A.** (1952): *Enzymic transpeptidation reactions involving gamma-glutamylpeptides and alfa-amino-aryl-peptides*. Biochem. J., 51, 25-35.
- 12- **Ivanov, E., Krustev, L., Adjarov, D., Chernev, K., Apostolow, I., Dimitrov, P., Drenska, E., Stefanova, M. ve Pramatárova, V.** (1976): *Studies on the mechanism of the changes in serum and liver gamma-glutamyltranspeptidase activity: II. Experimental hexachlorobenzene porphria in rabbit*. Enzyme, 21, 8-20.
- 13- **Kenny, A. J. ve Booth, A. G.** (1976): *Organization of kidney proximal tubule plasma membrane*. Bio-chem. Soc. Trans., 4, 1011-1017.
- 14- **Kuska, j. ve Kokot, F.** (1970): *The electrophoretic spectrum of gamma-glutamyltranspeptidase (GGTP) in the bile and urine*. Arch. Immunol. Ther. expt., 18, 185-189.
- 15- **Lewinski, M.** (1968): *The influence of halothane and diethyleter on gamma-glutamyltranspeptidase activity in the liver in rats*. Arch. Immunol. Ther. expt., 16, 942-948.

- 16- **Naftalin, L., Child, V. J., Morley, D. A. ve Smith, D. A.** (1969): *Observations on the site of origin of serum gamma-glutamyl-transpeptidase.* Clin. chim. Acta, 26, 297-300.
- 17- **Phenix, P. ve Welbourne, T. C.** (1975): *Renal glutaminases: Diamox inhibition of glutamyltransferase.* Am. J. Physiol., 228, 1269-1275.
- 18- **Rico, A. G., Braun, J. P., Benard, P. ve Burgat-Sacaze, V.** (1976): *Enzymologie en pharmacologie et toxicologie canines.* Revue Med. Vet., 127 (8-9), 1171-1190.
- 19- **Rico, A. G., Braun, J. P. ve Benard, P.** (1976): *Activités enzymatique sériques en sémiologie biochimique.* L'animal de Compagnie, 1, 31-40.
- 20- **Rosalki, S. B., Tarlow, D. ve Rau, D.** (1971): *Plasma gamma-glutamyltranspeptidase elevation in patients receiving enzyme inducing drugs.* Lancet, 2, 376-377.
- 21- **Shaw, F. D.** (1976): *The effect of mercuric chloride intoxication on urinary gamma-glutamyltranspeptidase excretion in the sheep.* Ras. Vet. Sci., 20, 226-228.
- 22- **Sobiech, K. A. ve Szewczuk, A.** (1974): *Gamma-glutamyltranspeptidase activity (GGTP) in ontogenic development of the quinea pig.* Arch. Immunol. Ther. exp., 22, 636-644.
- 23- **Sweetin, J. C. ve Thomson, W. H. S.** (1973): *Revised normal ranges for six serum enzyme: Further statistical analysis and the effect of different treatment of blood specimens.* Clin. Chim. Acta, 48, 49-63.
- 24- **Şener, S., Braun, J. P., Rico, A. G., Benard, P. ve Burgat-Sacaze, V.** (1978): *Note sur l'élimination urinaire de la gamma-glutamyltransférase lors d'injections répétées de chlorure mercurique chez le rat.* Toxicol. Europ. Research., 4 (4), 263-265.
- 25- **Szasz, G.** (1969): *A kinetic photometric method for gammaglutamyl-transpeptidase.* Clin. Chem., 15, 124-136.
- 26- **Töre, İ. R.** (1978): *Enzim testleri ve veteriner kliniğinde uygulamaları.* İ. Ü. Vet. Fak. Derg., 4 (2), 39-62.
- 27- **Whitfield, J. B., Moss, D. W., Neale, G., Orme, H. ve Breckenridge, A.** (1973): *Changes in plasma gamma-glutamyltranspeptidase activity associated with alternations in drug metabolism in man.* Br. Med. J., 1, 316-318.

Yazı 17.10.1980 günü alınmıştır.