

KOBAYLARDA DERİYE YÜZEYEL OLARAK UYGULANAN KROM OKSİTİN KARACİĞER FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ*

Hakan CANGÜL, Melahat DİRİCAN, H. Asuman TOKULLUGİL

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada kobaylara (n:23) 21 gün süreyle cilt yoluyla krom (6) oksit çözeltisi uygulandı. Deney grubunda serum üre, albumin, albumin/globulin, glukoz ve kreatinin düzeylerinin azaldığı saptandı. Serum ALP, AST ve LDH aktivitelerinin de deney grubunda daha düşük olduğu görüldü. Deney grubunda amilaz-AST (r=-0.57) ve amilaz-ALT (r= -0.65) arasında anlamlı negatif, amilaz-CK (r=0.64) ve AST-ALT (r=0.93) arasında ise anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Sonuç olarak, krom bileşikleriyle dermal yoldan temasın karaciğer fonksiyonlarını ciddi bir şekilde etkilemediği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Krom (6) oksit, ALT, AST, ALP, amilaz, karaciğer.

SUMMARY

In this work, a chromium (6) oxide solution was applied onto the skin of guinea pigs (n=23) for 21 days. In the test group, serum urea, albumin, albumin/globulin ratio, glucose and creatinine levels were found to be lower. Serum ALP, AST and LDH activities were also observed to be lower. In the chromium oxide application group, there were statistically significant negative correlations between amylase-AST (r= -0.57) and amylase-ALT (r= -0.65) and positive correlations between amylase-CK (r=0.64) and AST-ALT (r=0.93). It is concluded that; dermal exposure to chromium compounds did not have serious effects on liver functions.

Key words: Chromium (6) oxide, ALT, AST, ALP, amylase, liver.

Üç değerlikli halde esansiyel bir besin maddesi olan krom (Cr)'un, sıfır, iki ve altı değerlikli şekilleri de biyolojik öneme sahiptir. Çeşitli gıdalarla alınan Cr miktarı yaklaşık 50-200 µg/gün civarındadır ve bunun çoğunluğu 3 değerlikli şekildedir. Ancak, alınan bu miktarın sadece %0.5-3 kadarı emilmektedir. 6 değerlikli kromun emilimi, 3 değerlikli olandan 3-5 kat daha fazladır. Cr oral yol dışında solunum ve deri yoluyla da alınabilmektedir. Cr (3), organizma- da çeşitli işlevleri bulunan esansiyel bir besin maddesi olduğu halde, Cr (6) organizma için toksiktir (1-3)

Cr (6) oral ve dermal yoldan alındığında aynı

sistemik etkileri gösterir(4). Bütünlüğü bozulmuş deri yoluyla ve yüksek dozda alınan Cr (6) oksitin birikime bağlı toksik etkileri başlıca akciğer, karaciğer, böbrek, gastrointestinal sistem (GİS) ve dolaşım sisteminde görülür.

Biz bu çalışmada kobaylara zedelenmiş deri yoluyla uygulanan 6 değerlikli krom oksitin karaciğer fonksiyonları üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma ağırlıkları 450-500 g arasında değişen erkek kobaylarda gerçekleştirildi. Tüm kobayların sırt derisi 3x3.5 cm boyutlarında traş

* V. Karadeniz Tıp Günleri'nde (27-30 Mayıs 1996, Trabzon) sunulmuştur.

edildikten sonra jilette lasere edildi. Deney grubunu oluşturan kobayların (n=23) lasere deri bölgesine 21 gün süreyle 12 saatte bir %5 g CrO₃ çözeltisi sürüldü. Kontrol grubundaki kobayların (n=23) lasere sırt derisi ise kendi halinde iyileşmeye bırakıldı. 21 gün sonunda kobayların başları gilyotinle kesilerek kanları alındı ve serumları ayrılarak aynı gün çalışıldı.

Serumda glukoz, üre, kreatinin, total protein (TP), albumin, total ve direkt bilirubin, alkalen fosfataz (ALP), amilaz, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin kinaz (CK) Biotrol firmasının (Fransa) kitleri kullanılarak RA-1000 Technicon otoanalizöründe ölçüldü.

Kontrol ve deney grupları arasındaki farklılığın araştırılmasında Student t testi, korelasyon

incelemesinde ise Pearson'ın korelasyon katsayısı kullanıldı.

BULGULAR

CrO₃ uygulanan kobay grubunun serum üre, albumin, albumin/globulin, glukoz ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı; TP, globulin ve bilirubin düzeylerinin ise istatistik olarak anlamlı farklılık göstermediği saptandı (Tablo I).

Enzim değişiklikleri açısından değerlendirildiğinde; CrO₃'li grupta, kontrol grubuna göre ALP, AST ve LDH aktivitelerinin önemli derecede azaldığı, buna karşın amilaz ve CK aktivitelerinin arttığı, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu (Tablo II).

Tablo I. Krom oksit uygulanan kobay ve kontrol grupları arasında bazı parametrelerin ortalama değerlerinin kıyaslanması

ÖLÇÜLEN DEĞERLER (mg/dL)	GRUPLAR		ANLAM DÜZEYİ P
	KONTROL (n=23) X ± SH	CrO ₃ (n=23) X ± SH	
Glukoz	190.65±15.06	140.6±5.8	<0.01
Üre	52.9±4.60	40.13±3.8	<0.05
Kreatinin	0.73±0.06	0.45±0.05	<0.001
Tot.Prot.*	5.27±0.23	4.98±0.21	A.D.
Albumin*	2.86±0.12	1.87±0.08	<0.001
Globulin*	2.4±0.23	2.84±0.25	A.D.
Alb/Glob	1.69±0.27	0.61±0.02	<0.001
Tot.Bil.	0.06±0.005	0.05±0.005	A.D.
Dir.Bil.	0.03±0.004	0.02±0.003	A.D.

* g/dl.
A.D: Anlamlı değil

Tablo II. CrO₃ uygulanan kobay ve kontrol grupları arasında serum ortalama enzim aktivitelerinin kıyaslanması

ÖLÇÜLEN DEĞERLER (U/L)	GRUPLAR		ANLAM DÜZEYİ P
	KONTROL (n=23) X ± SH	CrO ₃ (n=23) X ± SH	
ALP	215.3±17.4	136.39±10.03	<0.001
Amilaz	1702.3±156.5	1932.8±120.8	A.D.
AST	236.6±25.13	124.5±22.3	<0.01
ALT	122.9±16.05	108.6±18.03	A.D.
LDH	1140.7±152.4	611.4±45.9	<0.01
CK	934.4±196.9	1342.4±276.5	A.D.

A.D.: Anlamli değil.

İncelenen enzimlerin birbirleriyle ilişkisi araştırıldığında, kontrol grubunda ALP-LDH ve AST-LDH arasında saptanan anlamlı pozitif korelasyonların CrO₃ uygulanan grupta kaybolduğu görüldü. Bununla birlikte, CrO₃ uygulanan

grupta, amilaz-AST ve amilaz-ALT arasında anlamlı negatif, amilaz-CPK ve AST-ALT arasında anlamlı pozitif korelasyonlar olduğu saptandı (Tablo III).

Tablo III. Krom oksit uygulanan grupta ve kontrol grubunda enzim aktiviteleri arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve anlamlılık dereceleri (p).

	GRUPLAR									
	KONTROL (n:23)					KROM OKSİT (n:23)				
	Amilaz	AST	ALT	LDH	CK	Amilaz	AST	ALT	LDH	CK
ALP	0.25* A.D.**	0.40 A.D.	-0.28 A.D.	0.53 <0.01	0.26 A.D.	0.25 A.D.	-0.15 A.D.	-0.20 A.D.	0.24 A.D.	0.21 A.D.
Amilaz	-	-0.07 A.D.	-0.21 A.D.	0.17 A.D.	-0.27 A.D.	-	-0.57 <0.01	-0.65 <0.001	0.03 A.D.	0.64 <0.01
AST	-	-	0.15 A.D.	0.51 <0.05	0.23 A.D.	-	-	0.93 <0.001	0.07 A.D.	-0.21 A.D.
ALT	-	-	-	-0.12 A.D.	-0.31 A.D.	-	-	-	-0.12 A.D.	-0.27 A.D.
LDH	-	-	-	-	0.07 A.D.	-	-	-	-	0.21 A.D.

* r (korelasyon katsayısı) değerleri

** : p, korelasyon katsayısının anlamlılık derecesi

A.D.: Anlamli değil

Enzimlerin diğer biyokimyasal parametrelerle olan ilişkileri incelendiğinde ise, kontrol grubunda ALP-glukoz, LDH-glukoz ve ALT-albumin/globulin oranı arasında anlamlı pozitif korelasyonlar saptanırken, CrO₃ uygulanan grupta bu korelasyonların olmadığı gözlemlendi. Ayrıca kontrol grubunda, amilaz-albumin, amilaz-albumin/globulin oranı, ALP-total bilirubin ve ALP-direkt bilirubin arasında gözlenen istatistiksel açıdan anlamlı negatif korelasyonların da CrO₃'li grupta kayboldukları saptandı. CrO₃ uygulanan grupta, ALP-TP ve ALT-total bilirubin arasında saptanan pozitif, LDH-albumin/globulin oranı, LDH-total bilirubin ve LDH-direkt bilirubin arasındaki negatif korelasyonların da kontrol grubunda

bulunmadıkları gözlemlendi (Tablo IV).

Üre-kreatinin, üre-TP ve total bilirubin-direkt bilirubin arasında hem kontrol hem de CrO₃ grubunda anlamlı pozitif korelasyon olduğu bulundu. Kontrol grubunda glukoz-direkt bilirubin, üre-albumin/globulin oranı, kreatinin-albumin/globulin ve TP-albumin/globulin oranı arasında anlamlı negatif korelasyon gözlenirken. CrO₃ grubunda bu korelasyonların aynı yönde devam ettiği ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları görüldü. Kontrol grubunda, kreatinin-TP, üre-total bilirubin ve üre-direkt bilirubin arasında saptanan anlamlı pozitif korelasyonların CrO₃ uygulanan grupta da devam ettiği gözlemlendi (Tablo V ve VI).

Tablo IV. Gruplarda, çeşitli biyokimyasal parametrelerle enzimler arasındaki korelasyon katsayıları ve anlamlılık dereceleri

	GRUPLAR											
	KONTROL (n:23)						KROM OKSİT (n:23)					
	ALP	Amilaz	AST	ALT	LDH	CK	ALP	Amilaz	AST	ALT	LDH	CK
Glukoz	0.55 **	0.40	0.23	-0.02	0.59 **	-0.10	-0.07	0.23	-0.04	0.04	-0.19	0.24
Üre	-0.51 *	-0.12	-0.30	-0.08	-0.21	-0.26	-0.34	0.03	0.16	0.15	0.15	-0.07
Kreatinin	-0.07	-0.09	0.25	-0.18	0.22	-0.08	-0.32	0.10	0.19	0.10	0.30	0.09
Total protein	-0.06	0.21	-0.09	-0.29	-0.02	-0.08	0.44 *	0.25	0.31	0.21	0.38	0.26
Albumin	0.01	-0.54 **	0.05	0.24	-0.03	0.17	0.39	0.20	0.41	0.36	0.17	0.22
Albumin/globulin	0.02	-0.49 *	0.18	0.49 *	-0.09	0.10	-0.09	-0.02	0.21	0.33	-0.44 *	-0.06
Total bilirubin	-0.53 **	-0.32	-0.21	0.08	-0.16	-0.38	-0.16	-0.26	0.41	0.51	-0.68 ***	-0.36
Direkt bilirubin	-0.61 *	-0.30	-0.31	0.07	-0.26	-0.20	0.06	-0.20	0.20	0.25	-0.57 **	-0.22

* p<0.05 ** p<0.01 ***p<0.001

Tablo V. Kontrol grubunda biyokimyasal parametreler arasında saptanan ilişkiler ve anlamlılık dereceleri

Korele edilen parametreler	Üre	Kreatinin	Total protein	Albumin	Albumin/globulin	Total bilirubin	Direkt bilirubin
Glukoz	-0.04	0.22	0.24	0.02	-0.15	-0.37	-0.48 *
Üre	-	0.68 ***	0.66 ***	0.06	-0.51 *	0.52 *	0.54 **
Kreatinin	-	-	0.73 ***	0.16	-0.52 *	0.14	0.16
Total protein	-	-	-	0.29	-0.69 ***	0.02	0.17
Albumin	-	-	-	-	0.35	-0.06	0.07
Albumin / globulin	-	-	-	-	-	-0.18	-0.18
Total bilirubin	-	-	-	-	-	-	0.81 ***

* p<0.05 ** p<0.01 ***p<0.001

Tablo VI. Krom oksit uygulanan grupta biyokimyasal parametreler arasında saptanan ilişkiler ve anlamlılık dereceleri

Korele edilen parametreler	Üre	Kreatinin	Total protein	Albumin	Albumin/globulin	Total bilirubin	Direkt bilirubin
Glukoz	-0.18	-0.02	-0.23	-0.12	0.29	0.24	-0.06
Üre	-	0.80 ***	0.48 *	0.36	-0.20	-0.04	-0.09
Kreatinin	-	-	0.38	0.29	-0.17	-0.16	-0.32
Total protein	-	-	-	0.91 ***	-0.11	0.02	0.04
Albumin	-	-	-	-	0.30	0.27	0.13
Albumin/globulin	-	-	-	-	-	0.59 **	0.19
Total bilirubin	-	-	-	-	-	-	0.61 **

* p<0.05 ** p<0.01 ***p<0.001

TARTIŞMA

Üç değerlikli krom esansiyel bir besin maddesi iken, 6 değerlikli krom vücut için toksiktir. Cr'un toksik etkilerini gösterdiği başlıca dokular GİS, böbrek, karaciğer ve hemopoetik sistemdir. Cr böbreklerde proksimal tubulusları etkileyerek harabiyet meydana getirir (5,6). Akut olarak ve yüksek dozda oral Cr alımı sonucu akut tubuler nekroz ve akut toksik hepatit geliştiği

saptanmıştır (7,8). Patoloji gelişimi alınan Cr miktarı ve alım süresiyle ilişkilidir. Gıdalarla veya suyla düşük konsantrasyonlarda alınan 6 değerlikli Cr tolere edilebildiği halde, yüksek dozların toksik etkiler yarattığı saptanmıştır(9). Oral yoldan alınan Cr (6) mide sıvısının kuvvetli asit ortamında 3 değerlikli şekle indirgenmekte ve böylece tolere edilebilir hale dönüşmektedir (10,11). Dermal yoldan uygulanan Cr (6) ise

böyle bir dönüşüme uğramamakta ve toksik etkileri daha şiddetli bir şekilde ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca, lasere deriden emilimin daha fazla olduğu ve toksisiteyi daha da arttırdığı bilinmektedir.

Cr'un insülinin periferik etkinliğini arttırdığı bilinmektedir. Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla deney grubunda saptanan göreceli glukoz düşüklüğü Cr'un insülin üzerinden olan etkisiyle açıklanabilir (12,13).

Franchini ve arkadaşları tek doz subkutan potasyum dikromat uygulanan sıçanlarda idrar yoluyla protein kaybı olduğunu bildirmişlerdir (14). Diğer bir çalışmada ise, inhalasyon yoluyla verilen Cr'un tavşanlarda ve sıçanlarda ağırlık azalması, anemi ve lökositozla birlikte serum gama-globulin düzeyinde artışa yol açtığı bulunmuştur(15). Çalışmamızda, CrO₃ uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte TP düzeyinin daha düşük bulunması, albuminin ise anlamlı olarak düşük bulunması idrar yoluyla protein kaybı olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle deney grubunda gözlenen albumin/globulin oranındaki düşüklük de albumin düzeylerinin azalmasından kaynaklanmaktadır.

Deney grubunda enzimlerde saptanan azalmaların olası nedenleri olarak hiperhidrasyon ve karaciğer fonksiyon bozukluğu düşünüldü. Her ne kadar akut karaciğer yetmezliği sonucu bu enzimlerin düşmesi olası ise de, karaciğere ait kesin biopsi verileri olmadığı için bu bir olasılık olarak düşünülebilir. Çalışmamızda bilirubin değerlerinde herhangi bir anlamlı değişiklik

bulunmaması, karaciğerin yetmezlik derecesinde etkilenmediğini göstermektedir. Serum üre ve albumin düşündürmektedir. Daha önce yaptığımız bir çalışmada krom oksit uygulanan kobayların böbrek fonksiyonlarının etkilendiği saptanmıştı (16). Dolayısıyla elde edilen bulgulara böbrek fonksiyon bozukluğunun da etkisi olabilir. Diğer yandan tatlı su balıklarıyla yapılan bir çalışmada 30 gün süreyle ortama krom eklenmesi sonucu LDH ve malat dehidrogenaz gibi enzimlerin aktivitelerinin azaldığı ve bu azalmanın 3 değerlikli kroma göre 6 değerlikli krom bileşikleriyle daha fazla olduğu bildirilmiştir (17). Başka bir çalışmada da potasyum dikromat uygulanmasının sonucunda ALP aktivitesinin ciddi şekilde azaldığı saptanmıştır (18). Bulgularımız bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Diğer parametrelerin korelasyonlarına bakıldığında; her iki grupta da üre-kreatinin, üre-TP ilişkilerinin pozitif yönde olduğu görülmektedir. Üre-TP arasındaki ilişkinin CrO₃'li grupta bir miktar düşük bulunması Cr'un insülin üzerinden protein sentezini dolaylı olarak etkilemesi sonucu oluşmuş olabilir. Yine, CrO₃'li grupta TP-albumin arasında saptanan ve istatistiksel olarak çok önemli olan pozitif korelasyon, bu parametrelerin CrO₃'lilerde saptanan azalmasıyla uyumludur. Kontrollerde total bilirubin-direkt bilirubin arasında saptanan pozitif korelasyonun CrO₃ uygulanan kobaylarda bir miktar azalmakla beraber devam etmesi, bize karaciğer fonksiyonlarında hafif bir baskılanma olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak dermal yoldan krom uygulanması

sonucunda albumin, üre, glukoz ve kreatinin düzeyleri ile ALP, AST ve LDH aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma

olduğu; ancak karaciğer fonksiyonlarında ciddi etkilenme olmadığı düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Sugiyama M. Role of physiological antioxidants in chromium (VI)-induced cellular injury. *Free Radic Biol Med* 1992; 12(5):397-407.
2. Baruthio F. Toxic effects of chromium and its compounds. *Biol Trace Elem Res* 1992; 32:145-153.
3. Jones RE. Hexavalent chrome: threshold concept for carcinogenicity. *Biomed Environ Sci* 1990; 3(1):20-34.
4. Merkurieva RV, Koganova ZI, Gabdullina MH, Tsapkova NN, Dukhaterov ON, Dolinskaya SI : A comparative study of metabolic reactions at various routes of chromium (6) administration in the organism of laboratory animals. *Environmental Health Criteria 61:Chromium*, WHO-Genova, Finland:Vammala 1988; pp:80-88.
5. Langard S, Hentsen-Pettersen A: Chromium toxicology, in Williams DF (ed.):*Systemic Aspects of Biocompatibility*. Boca Raton/Florida: CRC Press, 1981 Vol.1, pp:144-161.
6. Gad SC. Acute and chronic systemic chromium toxicity. *Sci Total Environ* 1989;86(1-2):149-157.
7. Wedeen RP, Qian LF. Chromium-induced kidney disease. *Environ Health Perspect* 1991; 92:71-74.
8. Luzhnikov EA, Shimanko II, Kostomarova LG, Malygina SI, Trakhtengarts MI: Acute poisoning with chromium compounds. *Ter Arkh* 1976; 48(7):121-125.
9. Kucher IM: Proceedings of the 5th Scientific Session of the Aktiubinsk Medical Institute. Alma-Ata, Kazakhstan 1966; pp:24-26.
10. Donaldson RM, Barreras RF: Intestinal absorption of trace quantities of chromium. *J Lab Clin Med* 1966; 68:484-493.
11. Deffora S, Boido V: Effect of human gastric juice on the mutagenicity of chemicals. *Mutat Res* 1980; 77:307-315.
12. Reinhold JG: Trace elements: a selective survey. *Clin Chem* 1975; 21(4):476-500.
13. Güler AH, Genç Z, Ediz B, Uludağ S, Özkan K: Krom (6) oksit'in serum trigliserit, total kolesterol ve çok düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol üzerine etkileri. *Erciyes Üniv Tıp Fak Dér. X. Gevher Nesibe Tıp Günleri 11-14 Mart 1992. Kongre Özel Sayısı*.
14. Franchini I, Mutti A, Cavatorta A, Corradi A, Cosi A, Olivetti A et al: Nephrotoxicity of chromium. *Control Nephrol* 1978; 10:98-110.
15. Roschina TA: The toxicity of chromium hexacarbonyl. *Gig Tr Prof Zabol* 1976; 2:38-42.
16. Güler AH, Genç Z, Dirican M, Ediz B, Uludağ S, Özkan K: Kobaylarda deriye uygulanan krom oksit'in böbrekler üzerine etkisi. *Uludağ Üniv Tıp Fak Dér* 1992; 19(3):299-308.
17. Venugopal NB, Reddy SL: Nephrotoxic and hepatotoxic effects of trivalent and hexavalent chromium in a teleost fish *Anabas scandens*: enzymological and biochemical changes. *Exotoxicol Environ Safety* 1992; 24(3):287-293.
18. Boge G, N'Diaye P, Roche H, Peres G: Effects of hexavalent chromium at non-lethal concentrations on the enzymology of the intestine of *Salmo gairdneri* and *Dicentrarchus labrax*. *J Physiol* 1988; 83(2):57-63.