

1-1-2000

Erythrocyte Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Agriculture Workers Who Have Been Chronically Exposed to Pesticides

ÜLKÜ ÇÖMELEKOĞLU

BİRGÜL MAZMANCI

ABDULLAH ARPACI

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology>



Part of the [Biology Commons](#)

Recommended Citation

ÇÖMELEKOĞLU, ÜLKÜ; MAZMANCI, BİRGÜL; and ARPACI, ABDULLAH (2000) "Erythrocyte Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Agriculture Workers Who Have Been Chronically Exposed to Pesticides," *Turkish Journal of Biology*. Vol. 24: No. 3, Article 8. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol24/iss3/8>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Biology by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Pestisitlerin Kronik Etkisine Maruz Kalan Tarım İşçilerinde Eritrosit Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktiviteleri*

Ülkü ÇÖMELEKOĞLU, Birgül MAZMANCI

Mersin Üniversitesi, Fen Ed. Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mersin-TÜRKİYE

Abdullah ARPACI

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Adana-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.02.1999

Özet: İçel ili ve çevresi tarım alanlarında çalışan (16.52±6.92 yıl) ve pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinden (n=40) kan örnekleri alınmış ve bu örneklerden elde edilen eritrositlerde antioksidan savunma sistemi enzimlerinden süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Aynı ölçümler pestisidlere doğrudan maruz kalmayan kişilerde de yapılmıştır (n=30). Tarım işçilerinde eritrosit SOD düzeyi kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunurken (p<0.001), CAT aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (p<0.001).

Anahtar Sözcükler: Pestisit, kronik etki, tarım işçileri, eritrosit, SOD, CAT.

Erythrocyte Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Agriculture Workers Who Have Been Chronically Exposed to Pesticides

Abstract: Blood samples were taken from farmworkers (n=40) who had been long-term exposed to pesticides (16.52±6.92 years) in İçel and surrounding agricultural areas and measured erythrocyte superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were measured using spectrophotometric assignation. These antioxidant enzymes were also evaluated in people who had not been exposed to pesticides (n=30). It was observed that erythrocyte SOD levels were significantly higher (p<0.001) but erythrocyte catalase activity was significantly lower (p<0.001) in farmworkers than in control groups.

Key Words: Pesticide, chronic exposure, farmworkers, erythrocyte, SOD, CAT.

Giriş

Pestisit terimi insan yaşamı için zararlı olan canlıları öldürmek amacı ile kullanılan bileşikler ya da maddeleri ifade eden genel bir terimdir (1). Dünyada ve ülkemizde tarım alanındaki zararlıları yok etmek ve daha kaliteli ürün elde etmek amacıyla pestisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitler hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden olabildikleri gibi, hedef olmayan canlılarda da hasarlara yol açmaktadırlar (1,2). Bu maddeler hedef olmayan organizmaya çeşitli yollarla girmekte ve bu organizmada sinir sistemi, endokrin sistem, immün sistem, karaciğer, kas, kalp, kan, boşaltım ve diğer sistemleri etkileyebilmektedirler (3,4,5,6,7).

* Bu çalışma DPT tarafından desteklenen 96K170430 nolu projenin bir bölümüdür.

Pestisidlerin etkilediği sistemlerden biri de vücuttaki en önemli koruyucu sistemlerden olan antioksidan sistemdir. Antioksidan sistem vücutta oluşan reaktif oksijen bileşiklerini etkisizleştirmeyi hedef alır. Bütün aerobik hücrelerde yani oksijen metabolizmasına sahip bütün organizmalarda aktif oksijen türevleri kendiliğinden meydana gelmektedir (8). Dış kaynaklı olarak da UV radyasyon, sigara dumanı, hava kirleticileri, ozon, organik çözücüler, pestisitler aktif oksijen türevleri oluşturabilir (9). Aktif oksijen türevleri, oksijenin tekil elektronlarının uyarılması ile açığa çıkan süperoksit anyon (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH\cdot$) ve peroksi anyonu (O_2^-) gibi radikallerdir (10). Bu radikaller hücre membranında doymamış yağ asitleri ve protein üzerine zarar verici etki gösterirler (11, 12). Serbest radikallerin membrana tutunduğu durumlarda enzimleri ve diğer proteinleri inaktive etmesi, onkogenik olabilen mutasyonlara neden olması, hücrenin hormonlar ve nörotransmitterlere verdiği cevabı değiştirmesi radikallerin önemini bir kez daha ortaya koymaktadır (9). Antioksidan savunma sisteminde glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), glutatyon redüktaz GSH-RD), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) rol alır (12, 13).

Polikültür tarımın yapılması, iklim ve diğer ekolojik özelliklerin bitkisel ürünlerde hastalık ve zararlıların gelişmesine uygun olması nedeniyle ilimizde pestisidler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal ilaç uygulamaları Mayıs başından başlayarak Ekim ayına kadar sürmektedir. Kullanılan ilaçlar arasında organik fosforlu insektisitler (özellikle malathion, metil parathion) ilk sırayı almaktadır. Bunları organik klorlular (endosülfan), karbamatlar ve sentetik pretroidler (delthametrin) izlemektedir.

Gelişmiş ülkelerde pestisid uygulayan tarım işçileri gerekli koruyucu önlemleri alırken, ülkemizde bu konuya gereken önemin verilmediği gözlenmiştir (14). Tarım alanlarına pestisid uygulayan işçiler, ilacı uygularken hiçbir koruyucu önlem almadıkları için pestisidlerin akut ve kronik toksik etkisine maruz kalmaktadırlar. Pestisidlerin akut toksik etkisi ile ilgili pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen kronik toksik etkilerin belirleme konusundaki çalışmalar yok denecek kadar azdır (15,16). Bu çalışmada pestisidlerin kronik toksik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde eritrosit SOD ve CAT aktiviteleri saptanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırmanın birinci aşamasında İçel ilinde tarımın en yoğun yapıldığı bölgeler arasında ilk sıralarda yer alan Kazanlı'da tarım alanlarına pestisid uygulayan tarım işçilerine karşılıklı görüşme yoluyla anket uygulanmış ve bu anket aracılığı ile yaşları, eğitim düzeyleri, sigara ve alkol alışkanlıkları, geçirilmiş ya da geçirilmekte olan hastalıkları olup olmadığı saptanmıştır. Daha sonra anket sonuçları değerlendirilerek, sigara ve alkol alışkanlığı olmayan, herhangi bir kronik enflamatuvar hastalığı bulunmayan ve en az beş yıldır tarım alanlarına pestisid uygulayan 40 tarım işçisi deney grubu olarak seçilmiştir.

Bu ön çalışmadan sonra ilaçlamanın yapılmadığı Şubat-Nisan döneminde işçilerden venöz kan alınmış ve bunlar EDTA (etylenediaminetetra-acetic acid) içeren tüplere aktarılmıştır. Alınan kan örnekleri buz kutusu içerisinde laboratuara ulaştırılmıştır. Kanlar 2500 g de 5 dakika santrifüj

edilerek plazmaları ayrıştırılmıştır. Daha sonra eritrositler SOD ve CAT aktivitelerinin saptanması için hemolizat hazırlanmak üzere, +4 °OC de bekletilen 9 gr/lit NaCl çözeltisi ile dört kez yıkanmıştır.

SOD Tayini

SOD oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan endojen veya eksojen kaynaklı süperoksit radikallerinin (O_2^-) suya (H_2O) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktadır. Ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) ile oluşturulan süperoksit radikaller 2-(4-iyodofenil)-3- (4 - nitrofenol)-5- feniltetrazolium klorid ile kırmızı renkli bir formazon boyası oluşturur. Eğer ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırdığı için formazon oluşumu inhibe olur. SOD aktivitesinin ölçümü 505 nm'de formazon oluşumunun % inhibisyonu ile ölçülmüştür (17). Bu yüzde inhibisyon değerine karşılık gelen SOD değeri, liyofilize SOD ile elde edilen standart eğri kullanılarak bulunmuştur. SOD aktivitesi ise aşağıdaki bağıntı kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{SOD aktivitesi (Ü/gHb)} = \text{SOD aktivitesi (Ü/mL)} / \text{Hemolizat Hb (g/mL)}$$

CAT Tayini

CAT, H_2O_2 yıkımını katalizler. H_2O_2 'nin CAT tarafından yıkım hızı H_2O_2 'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (18) .

CAT aktivitesi; Unite/gHb cinsinden verilmiştir.

Elde edilen sonuçlar student-t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılığın sınırı $p < 0.001$ olarak belirlenmiştir.

Bulgular

Araştırma kapsamına alınan tarım işçilerinin yaş ortalaması 34.82 ± 7.73 , tarım alanlarında çalışma süreleri ise 16.52 ± 6.92 yıl dir. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 30.80 ± 4.86 yıldır. Tarım işçilerinden ve kontrol grubundan elde edilen eritrosit SOD ve katalaz aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Tarım işçilerinde ve kontrol grubunda eritrosit SOD ve CAT değerleri.

	Tarım işçileri (n=40)	Kontrol grubu (n=30)	p
SOD* (Ü/gHb)	1644.82±911.62	884.51±447.19	<0.001
CAT* ($\times 10^4$ Ü/gHb)	10.32±4.51	21.16±2.80	<0.001

Ortalama \pm standart sapma (X \pm SD).

n= Denek Sayısı.

Eritrosit SOD aktivitesi tarım işçilerinde 1644.82 ± 911.62 Ü/gHb, kontrol grubunda ise 884.51 ± 447.19 Ü/gHb olarak ölçülmüştür. CAT aktivitesi ise tarım işçilerinde $10.32 \times 10^4 + 4.51 \times 10^4$ Ü/gHb, kontrol grubunda $21.16 \times 10^4 \pm 2.80 \times 10^4$ Ü/gHb olarak saptanmıştır. Tarım işçilerinde SOD aktivitesi kontrol grubuna oranla anlamlı olarak artarken ($p < 0.001$), eritrosit CAT aktivitesinde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir ($p < 0.001$).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada İçel ili Kazanlı beldesinde pestisidlerin kronik etkisine maruz kaldığı anket yoluyla belirlenen 40 tarım işçisinde antioksidan sistemin kilit enzimlerinden olan eritrosit SOD ve CAT düzeyleri ölçülmüştür. İşçilerde SOD aktivitesinde kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış gözlenirken ($p < 0.001$), CAT aktivitesinde ise anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p < 0.001$).

Memeli hayvanlarda ve insanda olgun eritrosit çekirdek, mitokondri, ve ribozom taşımaz, protein ve lipid sentezi yapamaz. Dolaşım kanında ortalama olarak 120 gün kalan eritrositlerin hergün yaklaşık olarak %1 i yenilenir. Bu koşullarda eritrositler kendilerini O_2^- ve H_2O_2 radikallerine karşı CuZnSOD, CAT, GSH-Px ve pentoz fosfat yolu enzimlerini kullanarak korurlar (19,20).

Tarım işçilerinde süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin artışı, pestisidlerin süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve oksijene dismutasyonunu sağlamaktan sorumlu olan SOD'ı (17, 21) indüklediğini ve süperoksit radikalinin hidrojen perokside dönüşümünü hızlandırdığını düşündürmektedir. Ancak aynı kişilerde hidrojen peroksidin su ve oksijene bozunmasını sağlayan CAT (22, 23) aktivitesinin azalmış olması, hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda hidrojen peroksit birikimi olasılığını akla getirmektedir. Hidrojen peroksit hücreler için toksik etkiye sahip reaktif bir oksijen bileşimidir (24,25). Hidrojen peroksit ortamdaki katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından uzaklaştırılır. Katalaz hidrojen peroksidin yüksek konsantrasyonlarda bozunumunda rol oynarken, glutatyon peroksidaz düşük Hidrojen peroksit konsantrasyonlarda daha etkindir (19,26).

Tarım işçilerinde CAT aktivitesinin kontrol grubuna oranla oldukça düşük bulunması, pestisitlerin CAT aktivitesini inhibe ederek eritrositlerde H_2O_2 birikimine ve bunun sonucunda da hemolize neden olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşılık H_2O_2 'nin GSH-PX yolunu kullanarak da ortamdaki uzaklaştırılma olasılığı vardır. Ancak bu çalışmada GSH-PX aktivitesi ölçülmemiştir.

Literatürde pestisidlerle kronik olarak karşılaşan tarım işçilerinde eritrosit SOD ve CAT aktivitelerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle elde ettiğimiz sonuçları karşılaştırma olanağı olmamıştır. Farklı kaynaklar kullanılarak yapılan çalışmalardan biri olan insan eritrositlerinin in vitro olarak organik fosforlu insektisid olan fosfohamidonla inkübe edildiği bir çalışmada, SOD ve CAT aktivitesinin arttığı ileri sürülmektedir (27). Akut alüminyum fosfat zehirlenmesine maruz kalan kişilerde yapılan bir başka çalışmada ise SOD düzeyinde anlamlı bir artış, serum CAT aktivitesinde ise anlamlı bir düşüş olduğu belirtilmiştir (28). Bizim yaptığımız çalışma ile birlikte bu çalışmalar, pestisitlerin etkisine maruz kalan kişilerde antioksidan sistemin çeşitli şekillerde etkilenebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak ülkemizde denetimden yoksun, bilinçsizce ve hiçbir koruyucu önlem alınmadan kullanılan pestisidlerin, vücutta serbest radikallerin oluşumu ve uzaklaştırılması arasındaki dengeyi sağlayan antioksidan sistemi, katalaz aktivitesini azaltarak ve hücrelerde peroksidasyona yol açarak olumsuz etkilediği düşünülebilir. Bu durum meslek yaşamları daha uzun yıllar devam edecek ve buna bağlı olarak daha uzun yıllar pestisidlerin toksik etkisine maruz kalacak olan tarım işçilerinde kanser, çeşitli kalp hastalıkları, erken yaşlanma, artirit, katarakt gibi reaktif oksijen türevlerinin de rol oynadığı hastalıkların oluşma riskinin artmasına yol açacaktır.

Kaynaklar

1. McEwen F.L., Stephenson, G.L., The use and significance of pesticides in the environment, John Wiley & Sons Pub., New York 538, 1979.
2. Amdur, M.O., Doull, J., Klassen C.D., Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons, 1991, Pergamon Press, New York 1033, 565-623.
3. Guest, J.A., Copley, M.P., Homeric, K.L., Carcinogenic effects of pesticides. Pathol., Pharmacol., 71(3): 387-390, 1991.
4. Ami, B.H., Haim S. A, Direct effect of phosphamidon on isolated working rat heart electrical and mechanical function. Toxicol., Apply Pharmacol., 110 (3) : 429-434, 1992.
5. Izushi, F., Ogata, M., Hepatic and muscle injuries in mice treated with heptachlor. Toxicol. Lett. 54 (1) 47-54 1990.
6. Weizman, Z., Sofer, S., Acute pancreatitis in children with anticholinesterase insecticide intoxication. Pediatrics. 204-206 1992.
7. Blasiak, J., Walter Z., Bawronska, M., The changes of osmotic fragility of pig erythrocytes induced by organophosphorus insecticides. Acta Biochim. Pol. 38 (1) 75-80, 1991.
8. Sohal, R.S., Toy, P.L., Allen, R.G., Relationship between life expectancy endogenous antioxidants and products of oxygen free radical reactions in housefly *Musca Domestica*. Mechanism of ageing and development 36 71-76, 1986.
9. Veris, Vitamin E research and information service., Veris Lagrance, 1989.
10. Sohal, R.S., Farmer, K.J., Allen, R.G., Cohen, N.R., Effect of Age oxygen consumption superoxide dismutase, catalase, glutathione inorganic peroxides and chloroform-soluble antioxidants in adult male housefly *Musca Domestica*. Mechanism of ageing and development 24 185-195, 1983.
11. Halliwell, B., Free radicals, antioxidant, and human disease: curiosity, cause or consequence? Lancet, 344: 721-724, 1994.
12. Heinle, H., Betz, E., Effects of dietary garlic supplementation in rat model of atherosclerosis. Arznei-For, 44(1): 614-617, 1994.
13. Halliwell, B., Gutterige, J.M.C., Cross, C.E., Free radicals antioxidant, and human disease: Where are we now? J La Cli Med 119(6) 598-620, 1992.

14. Çömelekoğlu, Ü., Arpacı, A., Mazmancı, B., Pestisidlerle kronik olarak karşılaşan tarım işçilerinin pestisidlerden korunma konusundaki tutumları, 3. İşçi Sağlığı kongresi, Ankara, 1998.
15. Blain, P.G., Aspect of pesticide toxicology. *Adverse Drug React Acute Poisoning Rev.* 9(1) p37-68. 1990.
16. Moses, M., Pesticide-related health problems and farmworkers, *AAOHN J.* 37(3) 115-130, 1989.
17. McCord, JM., Fridovich, I., Superoxide Dismutase. An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem.* 244, 6049-6055, 1969.
18. Beutler, E., *Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods.* 3rd ed New York Grune-Stratton, 105, 1985.
19. Miller, DR, Baehner, RL, *Blood diseases of infancy and childhood.* Sixth ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis. 184; 295-304, 1990.
20. Barry, H., Clarendon, T., *Free radical in biology and medicine,* Oxford, London, 140-144, 1995.
21. Fridovich, I., Superoxide dismutases: mini review. *J Biol. Chem.* 264: 7761-7764, 1989.
22. Agar, NS., Sadrzadeh, SMH., Eaton, JW., Erythrocyte catalase: A somatic oxidant defence? *J Clin Invest* 77, 319-321, 1986.
23. Eaton, JW., Boraas, M., Etkin, NL., Catalase activity and red cell metabolism. Brever G ed. *Hemoglobin and Red cell structure and function.* New York Plenum Press, 121-131, 1972.
24. Noyan, A., *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji,* Ankara, 1993 Meteksan Aş. 99.
25. Pryor, WA., Free radical reactions and their importance in biochemical systems. *Federation Proc.* 32(8): 1862-1869, 1997.
26. Meister, A., Anderson, ME., Glutathione. *Ann Rev Biochem* 52: 711-760, 1980.
27. Datta, C., Gupta, J., Sarkar, A., Sengupta, D., Effects of organophosphorus insecticide phosphamidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma, *Indian J Exp. Biol.* 30:65-67, 1992.
28. Chug, SN., Arora, V., Sharma, A., Chug, K., Free radical scavengers & lipid peroxidation in acute aluminium phosphide poisoning. *Indian J Med Res & Biochem* 104: 190-193, 1996.