

DENEYSEL OLARAK DERİ YOLUYLA PENTAKLOROFENOL (PCP) UYGULANAN RATLARIN, DOKU VE İDRARLARINDA, KALINTI DÜZEYLERİNİN GAZ KROMATOĞRAFİ YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI*

Dr. Seyfullah O. ARSLAN*
Dr. Kemal OZAN**
Dr. Nuray UZUNÖREN**

Pentaklorofenol (PCP) endüstriyel bir çok alanda yaygın kullanımı olan genel biyosit ajandır. Bakterisid, fungusid, insektisid, herbisid ve molluskisid etkilere sahiptir. PCP ve tuzları günümüzde, başlıca ağaç koruyucu ve daha az oranlarda deri ve tekstil koruyucu olarak uygulanmaktadır. PCP farklı amaçlarla çok çeşitli uygulama alanlarına sahip olması nedeniyle, ekosistemde geniş bir dağılım göstermektedir. Akut ve kronik zehirlenmelere yol açmaktadır. Toksik etkileri; oksidatif fosforilasyonu engelleyerek ve DNA hasarına sebep olarak oluşturduğu ileri sürülmektedir. PCP'nin bütün yollardan vücuda kolayca alınabileceği belirtilmektedir.

Bu çalışmada; PCP'nin, vücuda deri yoluyla alınması ve idrarla atılımı araştırılmıştır. Bu amaçla Wistar Albino ırkı ratlara 1, 3, 5, 50, 100 ve 200 ppm (NaPCP/axonge) derişimlerinde hazırlanmış pomatlar dermal olarak bir hafta süre ile uygulandı. PCP'nin idrarla atımları 50 ppm ve üzerinde doz uygulamalarında elde edildi. Atılımın, 24-36 saatler arasında toplanan idrarlarda en yüksek düzeylerde olduğu saptandı. Uygulamanın 7. gününde deney hayvanları otopsiye alınarak, doku ve organlarında kalıntı düzeyleri araştırıldı. Kas dokuda; 5 ppm ≤ PCP, karaciğerde, 50 ppm ≤ PCP ve böbreklerde 200 ppm doz uygulamalarında kalıntı saptandı. Beyinde kalıntıya rastlanmadı. Çalışmada ayrıca, 12 ppm PCP içeren 3×6 cm boyutlarında işlenmiş giysilik deri örneği ratların tıraşlanarak tüylerinden arındırılmış arka sırt deri bölgesine bir hafta süre ile direkt olarak temas ettirildi. Bu hayvanların 36-48 saatler arasında toplanan idrarlarında 96±18 ng/ml PCP kalıntısı bulundu. Uygulamanın 7. gününde doku ve organlardaki kalıntı araştırmasında sadece, kas dokuda 50±15 ng/g PCP saptandı.

Çevresel bir kirlenici olan PCP'nin, düşük düzeylerde kirlilik içeren işlenmiş giysilik derilerden cilde temas yoluyla vücuda alınabileceği görülmektedir. Toplum sağlığı üzerine istenmeyen etkilerinden dolayı PCP kullanımı, özellikle deri sanyinde yasal denetime alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Pentaklorofenol, dermal emilim, kalıntı, idrar, doku ve organ, rat, deri.

* Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji AbD, Şanlıurfa.

** İstanbul Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji
AbD, Avclar, İstanbul.

Yazışma adresi:

Seyfullah O. Arslan
Harran Üniversitesi Tıp
Fakültesi Farmakoloji
AbD, Şanlıurfa

*Bu araştırma YY Ü
Araştırma Fonu tarafından
desteklenmiş olup, aynı
başlıklı doktora tezinin bir
kısmından özetlenmiştir.

Investigation of Residue Levels in Urine and Tissues of Rats That Treated Pentachlorophenol (PCP) as Experimental by Dermal with Gas Chromatography

Pentachlorophenol (PCP) is a general biocide used worldwide in a variety of industrial areas. It has bactericidal, fungicidal, insecticidal, herbicidal and molluscicidal properties. Nowadays PCP and its salt are mainly applied in wood, followed by textile and leather preservation. Because of its numerous and different applications PCP has become widely distributed in ecosystem. Its acute and chronic toxicity is due to interference with oxidative phosphorylation and DNA damage.

In this study, the absorption risk of PCP by dermal administration was investigated. The pomades which prepared at the levels 1, 3, 5, 50, 100 and 200 ppm NaPCP/axonge was treated to the Wistar Albino rats as a single dose by dermal administration during one week. The urinary excretion of PCP was detected at the 50 ppm and upper doses. At 24-36 hr, the excretion is increased the highest levels. At the 7 th of treatment, the experimental animals were autopsied and than liver, kidneys, muscle and brain tissues were analyzed. PCP residues, there were in the muscle, liver and kidneys for 5, 50 and 200 ppm or upper application doses respectively. In this study also, wearing leather samples containing 12 ppm PCP was kept in contact to the back of the rat skin which was prepared by removal of fur for a period of one week. In the urinary of rats, it is detected 96±18 ng/ml PCP at the 36-48 hr. Tissues were analyzed at the 7 th day. The residue, there was only the muscle tissue as 50±15 ng/g.

PCP has led to a substantial environment contamination is established that can be absorbed in the body by dermal from leather. Because of the potential toxic effects on the public health, its applications should be prohibited.

Key Words: Pentachlorophenol, rats, dermal absorption, residue, urine, tissues, leather.

Pentaklorofenol (PCP), 1936 yılından beri, insektisid, fungusid, bakterisid, herbisid, molluskisid, vb etkilerinden yararlanmak amacıyla, ağaç ve ağaç ürünleri, kağıt, deri, tekstil, boya ve tutkal, plastik, fotoğrafçılık, iplik ve naylon gibi sanayi alanlarıyla, geniş tarım alanlarının ilaçlanmasında büyük miktarlarda kullanılmaktadır. Bununla beraber en yaygın kullanım alanı ağaç ve ağaç ürünleri, deri ve tekstil sanayileridir^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}. PCP'nin dünya çapındaki yıllık üretiminin 50-90 bin ton olduğu bildirilmektedir⁹. Bu derece yaygın kullanımı, toprak, su, hava ve her türlü gıda maddesinde kalıntısının bulunmasına yol açmaktadır^{1, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 13}. Bu nedenle insan ve hayvanlar, PCP'nin farklı düzeylerine direkt olarak her an maruz kalma durumuyla yüz yüzedirler.

Teknik ya da ticari PCP (tPCP) genellikle fenolün klorlanmasıyla % 84-88 saflıkta üretilir. PCP'nin sentezlenmesi aşamasında, tetraklorofenol, triklorofenol, yükseltgenmiş klorofenoller ile dioksin ve furan'lar olarak adlandırılan yan ürünler açığa çıkar. PCP, polar organik çözücülerde çözünür. Tuzlu bileşikler suda çözünür. Molekül ağırlığı 266, özgül ağırlığı 1.978, erime noktası 191 C, kaynama noktası 310 C'dir^{1,8}.

PCP, ağız, solunum, deri ve diğer tüm yollardan vücuda kolaylıkla alınabilmektedir⁶. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır^{14, 15}. Bu aşamada tiroid hormonlarının plazma proteinlerine bağlanmasını yarışmalı olarak engeller¹⁶. Kısmen karaciğer ve böbreklerde^{16, 17, 18, 19, 20}, düşük düzeylerde yağ dokuda birikme eğilimi gösterir^{18, 21}. Atılımı yüksek oranda böbreklerden, çok düşük oranda barsaklardan gerçekleşir^{1,2,8}. Ağızdan alındığında enterohepatik döngüye uğrar. Metabolizasyonu; karaciğerde oksidasyon, redüksiyon ve kopma gibi birinci faz reaksiyonları yanında, bu reaksiyonlar sonrasında açığa çıkmış metabolitlerin konjugasyon bileşiklerinin oluştuğu ikinci faz reaksiyonlarla gerçekleşmekte olup, türlere göre değişiklik gösterebilmektedir^{8, 14, 22}. Metabolitlerinin genellikle daha az etkin olduğu belirtilmekle beraber, oksidasyon sonucu oluşan tetraklorohidroquinon metabolitinin canlı organizma hücreleri üzerine toksik etkisinin daha kuvvetli olduğu bildirilmektedir^{23, 24}. PCP metabolizasyonu, barbitüratlar tarafından karaciğer mikrozomal enzimlerin indüklenmesiyle

artırılır². Yarılanma ömrü türlere göre değişiklik gösterip, ratlarda 0.5-1.5^{14, 8}, sığırlarda 1.5²⁵, maymunlarda 2-4⁹, kanatlılarda 12²⁰ ve insanlarda 20²⁶ gündür.

PCP ve metabolitleri, heksaklorobenzen (HCB), pentaklorobenzen (PCB) ve pentakloronitrobenzen (PCNB) gibi fungusidlerin de biyotransformasyon ürünleridir^{22, 24}.

PCP, adenozin trifosfat enzimini etkileyerek elektron transfer zincirini koparmaksızın ATP üretimini azaltır ya da durdurur. Böylece, oksidatif fosforilasyonun engellenmesi sonucunda etkisinin şekillendiği bildirilmektedir^{2, 8}.

Akut ve kronik PCP zehirlenmesinin klinik bulguları, sistematik olarak, deri, metabolizma (ateş), hematopoetik dokular, solunum sistemi, sentral ve periferik sinir sistemi, böbrekler ve sindirim sistemi üzerine etkiler şeklinde özetlenebilir²⁸. Zehirlenmenin başlaması ve devam etmesi, klinik belirtiler görülmesizin çok hızlı bir şekilde gelişebilir. Akut olaylarda, huzursuzluk, derin solunum veya nefes darlığı, uyuşukluk, terleme, susuzluk hissi, halsizlik, yüksek ateş, siyanoz, taşikardi, inkoordinasyon, kollaps, konvülsiyon ve erken ölüm görülür. Zehirlenme oral yolla olmuşsa gastrointestinal sistemin tahriş edilmesine bağlı belirtiler açığa çıkabilir. Otopsi bulgusunda karaciğer ve böbreklerde yağ dejenerasyonları gözlenir. Ölüm sertliği çok çabuk gelişir. Kronik olaylarda, abortlar, fetal bozukluklar, ağırlık kaybı, süt salgısında azalma ve anemi gibi belirtiler görülür. İnsanlarda görülen kronik zehirlenmelerde, dermatit, polineurit, bronşit, sinuzit, konjunktivit, baş ağrısı, baş dönmesi, depresyon, genel halsizlik, uyuşukluk, saldırgan davranışlar, iştahsızlık, bulantı, kusma, ishal, korku ve endişe, yüksek ateş ve ciltte sivilce, urtiker veya akne boyutlarında lezyonlar gözlemlendiği açıklanmaktadır. Bunların yanı sıra eritrosit, hemoglobinin ve albuminde azalma gibi kan biyokimyasında değişiklikler de gözlenebilmektedir^{2, 3, 4, 8, 16, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39}. Ayrıca, kötü huylu tümörler ve aplastik anemi görülen bazı hastalardaki serum PCP düzeyleri, bu hastalıklarla ilişkilendirilmesine neden olmuştur^{40, 41}. Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalarda kanserojenik etkinliğinden söz edilmektedir^{9, 42, 43}. PCP'nin immun sistemi

baskıladığı yönünde görüşler de vardır⁴⁴.

PCP'nin letal dozu, alınma yolu, tür ve ırklara göre değişmekle beraber, LD₅₀ için 30-500 mg/kg arasındadır^{2, 8, 9}. Balıklardaki letal dozun ise sudaki 1 ppm'den daha düşük yoğunluklar olduğu belirtilmektedir².

PCP normalde insan ve hayvan doku ve sıvılarında bulunmaz. Saptanan belirli PCP yoğunlukları, klinik bulgular ile anemnezin uyumluluk gösterdiği durumlarda anlamlı olabilir. Solunum bozukluğu ve hızla artan vücut ısısının görülmesi ve bunlara ilave olarak koyu renkli kan, ölüm sertliğinin çok çabuk gelişmesi tahmini bir tanının konmasına yardımcı olur. Akut olaylarda etkin bir sağıltım yöntemi ve spesifik bir antidotu yoktur. Sağıltım tamamen semptomatiktir. Dokuların oksijen ihtiyacı hemen karşılanır. Vücut ısısı, soğuk su, buz ya da metanol ile düşürülür. Genel zehirlenme tedavisi uygulanır^{2, 6, 31, 38}.

PCP analizleri optik ve kromatografik yöntemlerle yapılabilmektedir. En güvenilir analizleri elektron tutucu dedektörlü gaz kromatografisi (ECD/GC) ile yapılabilmektedir^{1, 45}.

Hayvanlarda en önemli bulaşma nedeni, PCP'li ağaç talaşlarının altlık olarak kullanılmasıdır^{11, 17, 20}. Talaşların özellikle kanatlılarda altlık olarak kullanımı çok yaygındır. İnsanlar PCP'ye, mesleki uğraş^{4, 40}, kalıntı içeren gıdalarla^{10, 11, 12, 46}, ilaçlanmış ağaç ve mobilyalarla donanımlı ahşap yapılarda yaşamalarıyla maruz kalabilirler. Ülkemizde PCP başlıca deri sanayiinde kullanılmaktadır. Bu araştırmada; deneysel çalışmalar eşliğinde, insanların, PCP kirliliği içeren giysilik derilerden cilde temas yoluyla maruz kalma riski tartışılmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Alet ve Malzemeler:

1. Gaz Kromatografi (GC, Packard 427)
2. Elektron Tutucu Dedektör (ECD)
3. Gaz Kromatografi Kolonu (Cam, 0.2 cm×200cm)
4. Kolon Dolgu Maddesi: % 1 SP 1240 DA (Supelco, SA)
5. Saf azot gazı doldurulmuş gaz tüpü (Habaş)
6. Yazıcı (Du Pont 204316)

7. Mikroenjektör (Hamilton)
8. Homojenizatör (Braun Melsungen AG. 853202)
9. Santrifüj (Heraus 0902)
10. Su Banyosu (Köttermann)
11. Tüp Çalkalayıcı (Elektromag m 16)
12. Kurutma Dolabı (Heraus)
13. Hassas Terazi (Mettler 1210 ve Sauther 2723)
14. Vibratör (Moa 101 cd)
15. Metabolizma Kafesleri
16. Cam malzemeler

Kimyasal Maddeler:

1. Na-Pentaklorofenol (Merck 972052)
2. 2-Propanol (" 995)
3. n-Hekzan (" 4368)
4. Sülfürik asit (" 713)
5. Dietyl eter (" 930)
6. Sülfürik asit çözeltisi (12 M: 66 ml yoğun sülfirik asit 330 ml distile suya yavaş yavaş ilave edilerek hazırlandı.)
7. Fosforik asit (Yerli)

PCP Standart Çözeltileri:

1. Stok standart çözeltisi: 1000 ppm PCP çözeltisi (25 mg/25 ml NaPCP/2-Propanol)
2. Stok standart çözeltisi: 20 ppm PCP çözeltisi (1'den 0.5 ml alınıp n-hekzan ile 25 ml'ye tamamlandı)
3. Çalışma standart çözeltileri: 1-0.005 ppm PCP çalışma standart çözeltileri (2'den değişik miktarlar alınıp, n-hekzan ile dilüe edilerek hazırlandı)

Deney Hayvanları ve Uygulamaların Yapılışı:

Deney hayvanı olarak DETAM (İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Merkezi)'dan sağlanan, ağırlıkları ortalama 200 gram olan 3-4 aylık Wistar Albino ratları kullanıldı. Deneye başlamadan önce, bir ay boyunca bakım ve beslemeleri yapılarak ortama uyumları sağlandı. Bakımlarında altlık olarak kullandığımız talaşların, olası PCP

kontaminasyonunu önlemek için analizi yapıldı. Kirlilik içermeyen talaşlar kullanıldı. Çalışmada, 3'er adetten oluşan 7 uygulama grubu, 6 adetten oluşan 1 kontrol grubu olmak üzere toplam 27 adet hayvan kullanıldı.

İlk 6 gruba 1, 3, 5, 50, 100 ve 200 ppm NaPCP/Axonge derişimlerinde hazırlanan pomatlardan 0.25 gram (1.25, 3.75, 6.25, 62.5, 125 ve 250 µg NaPCP/kg/ca) cilt üzerine uygulandı. Diğer bir gruba, giysilik olarak işlenmiş ve işlenti sırasında antifungal ajan olarak PCP kullanıldığı saptanan (12 ppm) 3x6 cm boyutlarındaki deri örneği giydirilerek cilde direkt temas şeklinde uygulama yapıldı. Uygulama sırasında deney hayvanları dietil eter ile anesteziye alındı. Sırt bölgeleri tıraş edildi. Pomatlar cilt üzerine yedirilerek uygulandı. Emilim sırasında, sürtünmeden ve hayvanın ağız yoluyla yapacağı müdahale sonrası ortaya çıkacak ilaç kaybını önlemek için, uygulama bölgesi mika koruyucular ile kapatıldı ve flaster ile karın bölgesini de kuşatacak şekilde sarıldı. Anesteziden uyanan ratların her biri ayrı ayrı metabolizma kafeslerine bırakıldı.

Örneklerin Alınması:

Deney hayvanlarının 5 gün boyunca 12'er saatlik zaman dilimlerinde idrarları toplandı. Uygulamanın 7. gününde anestezi altında, serum, karaciğer, böbrek, kas, beyin ve PCP uygulanan ve uygulanmayan bölgelerden deri örnekleri alındı. Alınan örneklerin aynı gün analizleri yapıldı.

Örneklerin Ekstraksiyonu:

İdrar ve serum örnekleri 1 ml, organ ve doku örnekleri 1 gram alındı. Organ ve doku örnekleri homojenize edildi. Alınan örnekler kapaklı cam tüplere konuldu. Üzerine 12 M H₂SO₄ çözeltisinden 2.5 ml ilave edildi. Tüpler 100 C ısıda su banyosuna konarak 1 saat boyunca 10 dakika aralıklarla karıştırmak suretiyle hidroliz işlemi gerçekleştirildi. Su banyosundan alınan tüpler oda ısısında soğumaya bırakıldı. Soğuyan tüplere 5 ml n-hekzan ilave edildi. Her biri 15 dakika tüp çalkalayıcıda karıştırıldı. Organik çözücü tabakanın ayrılması için bir süre beklendi. Organik çözücü tabakası ayrılmayanlar santrifüj tüplerine aktarılarak santrifüje edildi. Üstteki n-hekzan tabakasının 2.0 ml'si bir başka ağız

ağız kapaklı tüpe aktarıldı. Üzerine 0.5 ml yoğun H₂SO₄ ilave edildi. Her bir tüp 2 dakika tüp çalkalayıcıda karıştırıldı. Fazların oluşması için 30 dakika beklendi. Üst fazdan 1 ml alınarak 24 saat içerisinde analizi yapılmak üzere saklandı.

Gaz kromatografinin Çalışma Koşulları:

| | |
|------------------|--------------------------------|
| Taşıyıcı gaz | % 99.999 saflıkta azot gazı |
| Akış hızı | 40 ml/dk |
| Sabit faz | % 1 SP 1240 DA |
| Dedektör | Elektron tutucu dedektör (ECD) |
| Enjeksiyon ısısı | 180 C |
| Fırın ısısı | 155 C |
| Dedektör ısısı | 280 C |
| ECD Current | 5 |
| Attenuation | 64 |
| Kağıt hızı | 0.25 cm/dk |

Cihaz her analizde önce 2 saat süre ile çalıştırılarak stabilizasyonu sağlandı. Standart çözeltilerden 1'er l gaz kromatografisine enjekte edilerek yöntemin duyarlılığı ve PCP'nin Rf değeri saptandı. Daha sonra örnek ekstraktlarından 1 µl alınarak gaz kromatografisine enjekte edildi. Elde edilen kromatogramlar standart pikleri ile orantılanarak miktarsal olarak değerlendirildi. Yöntemin duyarlılık limiti 25 ppb olarak bulundu.

Sonuçların İstatistiksel Değerlendirilmesi:

Elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde, ortalama değer, ortalama değer in standart sapması ve ortalama değer in standart hatası bulunmuştur.

BULGULAR

Yönteme göre yapılan geri kazanma çalışmalarında; serum % 98, idrar % 92 , karaciğer % 84 ve deri % 81 olarak saptandı. Geri kazanma çalışmalarında saptanan ortalama % değerlerinin standart hatası yaklaşık 2 olarak hesaplandı.

PCP'nin cilde temas yoluyla en düşük hangi derişimlerinde absorbe edilebileceğini saptamak amacıyla 6 deney hayvanı grubuna 1, 3, 5, 50, 100 ve 200 ppm NaPCP/Axonge (1.25, 3.75, 6.25, 62.5, 125 ve 250 g NaPCP/kg/ca) pomatları uygulandı. Uygulamayı takip eden 5 gün boyunca 12 saatlik zaman dilimleriyle deney hayvanlarının idrarları toplandı. Uygulamanın 7.

deneysel olarak deri yoluyla pentaklorofenol (pcp) uygulanan ratlar

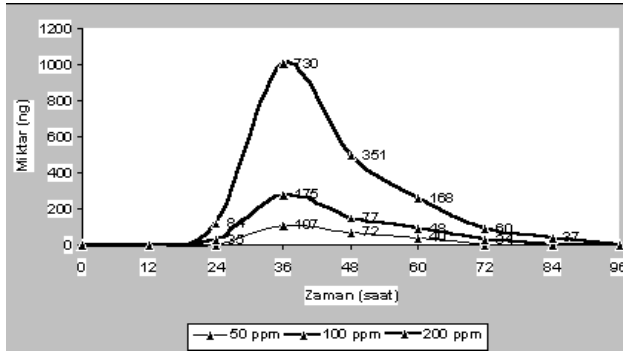
gününde, genel anestezi altında, serum, karaciğer, böbrekler, beyin, kas, uygulama yapılan ve yapılmayan bölgelerden cilt derisi örnekleri alınarak PCP kalıntıları araştırıldı.

İdrar analizlerinin bulguları Tablo 1'de sunulmuştur. Ayrıca elde edilen bulgular doğrultusunda Microsoft Exel programında fonksiyonel değerlendirme yapılarak grafik 1 çiktirilmiştir.

Tablo 1: PCP'nin farklı derişimlerde ratların tıraşlanmış arka sırt bölgesine pomat olarak uygulanması sonrasında, 12 saatlik zaman dilimleri ile idrarda atılım düzeyleri (ng/0.5 gün).

| Uygulanan Pomat Derişimleri (PCP/Axonge) | | | | | | | |
|--|---------|-------|-------|-------|----------|----------|----------|
| Zaman (saat) | Kontrol | 1 ppm | 3 ppm | 5 ppm | 50 ppm | 100 ppm | 200 ppm |
| 12 | - | - | - | - | - | - | - |
| 24 | - | - | - | - | - | 35 ± 4 | 84 ± 10 |
| 36 | - | - | - | - | 107 ± 21 | 175 ± 14 | 730 ± 21 |
| 48 | - | - | - | - | 72 ± 8 | 77 ± 18 | 351 ± 16 |
| 60 | - | - | - | - | 40 ± 3 | 48 ± 2 | 168 ± 7 |
| 72 | - | - | - | - | - | 34 ± 1 | 60 ± 8 |
| 84 | - | - | - | - | - | - | 37 ± 6 |
| 96 | - | - | - | - | - | - | - |

Grafik 1: PCP'nin, pomat olarak deney hayvanlarının cildine uygulanması sonrasında idrardaki atılımı. Pomatlar axonge taşıt maddesi ile değişik derişimlerde hazırlanmıştır.



Tablo 1'de görüldüğü gibi, 1, 3 ve 5 ppm PCP yoğunlukları içeren pomatların deney hayvanlarının cildine yedirilerek uygulanması sonrasında, idrarda kalıntı saptanamamıştır. İdrardaki kalıntılar 50 ppm sonrası uygulamalarda elde edilmiştir. PCP kalıntıları, 12-24 saatlerde toplanan idrarda görülmeye başlandı, 24-36 saatlerde toplanan idrarda maksimum düzeye ulaştı ve uygulama dozuna bağlı olarak 60. saatten sonra saptama limitinin

Tablo 1'de görüldüğü gibi, 1, 3 ve 5 ppm PCP yoğunlukları içeren pomatların deney hayvanlarının cildine yedirilerek uygulanması sonrasında, idrarda kalıntı saptanamamıştır. İdrardaki kalıntılar 50 ppm sonrası uygulamalarda elde edilmiştir. PCP kalıntıları, 12-24 saatlerde toplanan idrarda görülmeye başlandı, 24-36 saatlerde toplanan idrarda maksimum düzeye ulaştı ve uygulama dozuna bağlı olarak 60. saatten sonra saptama limitinin altına düştü. 50 ppm uygulamasında 12 saatlik zaman dilimleri için, ilk 24. saatte kalıntı bulunamadı, 36. saatte 107 ng, 48. saatte 72 ng ve son olarak 60. saatte 40 ng kalıntı bulundu. 100 ppm uygulamasında, 24. saatte 35 ng, 36. saatte 175 ng, 48. saatte 77 ng, 60. saatte 48 ng ve 72. saatte 34 ng kalıntı bulundu. 200 ppm uygulamasında, 24. saatte 84 ng, 36. saatte 730 ng, 48. saatte 351 ng, 60. saatte 168 ng, 72. saatte 60 ng ve 84. saatte 37 ng kalıntı bulundu.

Doku ve organ analizlerinin bulguları Tablo 2 ve grafik 2'de sunulmuştur. Görüldüğü üzere, uygulamanın 7. Gününde serumda kalıntı bulunmamıştır. Ayrıca bütün uygulamalarda, beyin dokusunda kalıntı yoktur. Böbreklerde sadece, en yüksek uygulama dozu olan 200 ppm dozunda kalıntı (51 ng/g) bulundu. PCP kalıntılarının en geniş rastlandığı dokular kas ve karaciğer dokularıydı. Kas dokusunda; 5, 50, 100 ve 200 ppm doz uygulamalarında sırasıyla 36, 39, 32 ve 67 ng/g, karaciğerde ise; 50, 100 ve 200 ppm doz uygulamalarında sırasıyla 28, 61 ve 41 ng/g düzeylerinde kalıntı bulundu.

Deney hayvanlarının 7. grubunda, giysilik derilerden cilde temas yoluyla PCP kontaminasyonu araştırıldı. Bu hayvanlara, yöntemde açıklandığı şekilde 12 ppm PCP içeren işlenmiş giysilik deri giydirildi. Daha sonra yukarıda belirtildiği şekilde diğer hayvanlarda uygulanan prosedür takip edildi. Yapılan idrar analizinde en yüksek değer 96 ± 18 ng/0.5 gün (36-48 saatler için) olarak bulundu. Doku ve organların analizinde sadece deri ve kas dokusunda PCP kalıntısı saptanmıştır. Deri dokusunda 147 ± 31 ng/g, kas dokusunda ise 50 ± 15 ng/g kalıntı saptanmıştır.

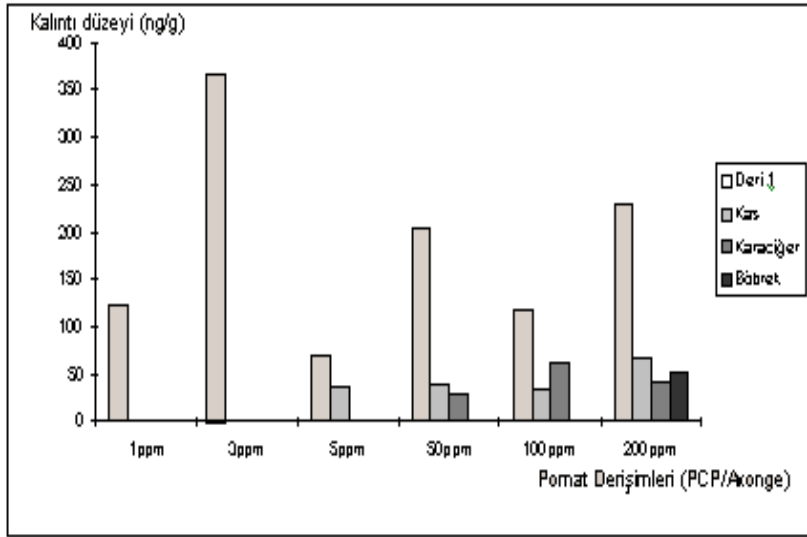
TARTIŞMA VE SONUÇ

Pestisidler, uygulama kurallarına uyulmaması ve sürekli kullanılmaları sonucu çevre ve besin

Tablo 2: PCP'nin farklı derişimlerde Ratların cildine pomat olarak uygulanması sonrasında, doku ve organlardaki kalıntı düzeyleri (ng/g). Deri 1: PCP uygulanan bölge, Deri 2: PCP uygulanmayan bölge.

| Doku ve Organ | Uygulanan Pomat Derişimleri (PCP/Axonge) | | | | | | |
|---------------|--|----------|---------|--------|----------|----------|----------|
| | Kontrol | 1 ppm | 3 ppm | 5 ppm | 50 ppm | 100 ppm | 200 ppm |
| Deri 2 | - | - | - | - | - | - | - |
| Deri 1 | - | 123 ± 11 | 369 ± 9 | 70 ± 7 | 203 ± 13 | 117 ± 29 | 230 ± 21 |
| Kas | - | - | - | 36 ± 4 | 39 ± 5 | 32 ± 1 | 67 ± 7 |
| Karaciğer | - | - | - | - | 28 ± 2 | 61 ± 19 | 41 ± 8 |
| Böbrek | - | - | - | - | - | - | 51 ± 1 |
| Beyin | - | - | - | - | - | - | - |
| Serum | - | - | - | - | - | - | - |

Grafik 2: PCP'nin, farklı derişimlerde ratların cildine uygulanması sonrasında, 7. günde vücut dokularındaki kalıntı düzeyleri (Deri 1: PCP uygulanan bölge).



kirliliğine, çevrede biyolojik dengenin bozulmasına, insan ve hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmeye, mutajenik, kanserojenik ve teratojenik etki riskinin doğmasına yol açmaktadır. Pentaklorofenol, sayılan bu sakıncaların birçoğunu üzerinde taşıyan bir pestisiddir. Kromazomlarda ve DNA yapısında mutasyona yol açacak sitotoksik etkiye sahip olduğu bildirilmektedir^{8, 9, 23}. Kanserojen olduğu yöndeki görüşler ağırlık kazanmıştır^{9, 15, 40, 42, 43}. Teratojen olmamakla beraber, embriyo-fetotoksik etkilidir^{47, 48}. İnsan ve hayvanlar üzerinde akut ve kronik zehirlenmeler ile çok yönlü klinik belirtilerin ve patolojik bozuklukların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir.

Bu çalışmada; ratların tıraş edilen derilerine, 1-200 ppm NaPCP/axonge derişimlerinde hazırlanan pomatlardan 0.25 gram (1.25, 3.75, 6.25, 62.5, 125 µg/kg/ca/) miktarında yedirilerek uygulandı. 12 saatlik zaman dilimlerinde

miktarında yedirilerek uygulandı. 12 saatlik zaman dilimlerinde toplanan idrarlarda yapılan analizlerde, 50 ppm ve yukarısı uygulama dozlarında PCP bulundu. İdrardaki PCP varlığı, ilk 12 saatte saptama limitinin (25 ng/g) üzerinde bulunamayıp, 12-24 saatlerde görülmeye başlandı, 24-36 saatlerde maksimum düzeylere ulaştı ve daha sonra hızla düşmeye başladı. İdrardaki maksimum atılım düzeyleri, 50, 100 ve 200 ppm uygulama dozları için sırasıyla 107, 175 ve 730 ng/0.5 gün olarak gerçekleşti. Öte yandan bir araştırmada, 4000 ppm'lik PCP solusyonuna 10 dakika ellerini daldıran bir insanın idrarında, 2 gün sonra, 236 ng/ml PCP saptandığı açıklanmaktadır. Aynı insanın idrarındaki PCP düzeyi, 51. gününde 17 ng/ml'ye düştüğü ve böylece insanda yarılanma ömrünün 15-20 gün olduğu

bildirilmektedir²⁶. Bu araştırmanın bulguları, ratlarda deri yoluyla emilim sonrası yarılanma ömrünün 1-1.5 gün olduğunu göstermektedir. Başka araştırmalarda PCP'nin ratlardaki yarılanma ömrünün, bazı faktörlere bağlı olarak 12-30 saat arasında değişiklikler göstererek şekillendiği bildirilmektedir^{8,19}. Deney hayvanlarında hızla uzaklaştırılan PCP, insan doku ve sıvılarında oldukça uzun bir süre kalabildiği görülmektedir.

Yapılan çok sayıda araştırmada, değişik düzeyde kirlilik içeren çevresel unsurlardan maruz kalınma ile PCP toksisitesi olduğu ortaya konulmuştur. Değişik yerleşim yerlerinde, farklı düzeylerde kirlilik içeren çevresel unsurlardan maruz kalınma ile insan doku ve sıvılarında kalıntılara rastlanmaktadır. Sıradan insanlarda yapılan kalıntı taramalarında; Atuma ve arkadaşları⁴⁹; serumda 0-21 ng/ml, idrarda 0-230 ng/ml, Cline ve arkadaşları (3); serumda 15-

deneyisel olarak deri yoluyla pentaklorofenol (pcp) uygulanan ratlar

15-75 ng/ml, idrarda 1-17 ng/ml, Catalan ve arkadaşları⁵⁰ ; serumda 2.5- 116.5 ng/ml, idrarda 4-136 ng/ml PCP bulduklarını açıklamaktadırlar. Sıradan insanların dokularında da düşük düzeylerde olmak üzere PCP kalıntılarında rastlandığı değişik çalışmalarda açıklanmaktadır^{4, 7, 8, 18, 51}. Bu dokular, başta karaciğer ve böbrekler olmak üzere, kas, testis, kalp, akciğer, yağ doku ve beyin olarak bildirilmektedir. Stedman ve arkadaşları²⁰, kanatlılarda yaptıkları deneysel çalışmada PCP akümülyasyonunun sırasıyla böbrekler, karaciğer, kalp, kas ve yağ dokuda şekillendiğini açıklamaktadır. Bu deneysel çalışmada, kas, karaciğer ve böbreklerde PCP kalıntısı saptandı. Bu dokularda saptanan kalıntılar, kas dokusunda 5 ppm uygulama dozunda, karaciğerde 50 ppm uygulama dozunda ve böbreklerde 200 ppm uygulama dozlarında elde edilmeye başlanmıştır. PCP'nin metabolizasyonu türlere göre değişiklik göstermektedir.

Yapılan çalışmada ayrıca 12 ppm PCP içeren işlenmiş deri örneği deney hayvanlarına giydirildi. Uygulamanın 2. gününde idrarda 96 ± 18 ng/0.5 gün PCP saptandı. Aynı hayvanların 7. günde kas dokusunda 50 ± 15 ng/g ve cilt dokusunda 147 ± 31 ng/g kalıntı saptandı. Bir araştırmada, 0.03-12 ppm arasında PCP içeren talaşların altlık olarak kullanılması sonucu, domuzların karaciğerinde 342 ng/g düzeylerinde PCP birikiminin saptandığı açıklanmaktadır¹⁷. Yine PCP kirliliği içeren talaşların kanatlı sektöründe kullanılması sonucuyla, yumurtalarda ortalama 35 ± 44 ng/g düzeylerinde kalıntı saptandığı açıklanmaktadır⁵². Bu araştırmalardaki öncelikli bulaşma şeklinin, cilde temas yoluyla olduğu düşünülmektedir.

Toksitenin derecesi alınma süresi ve doza bağlı olarak şekillenir. İnsanlarda serumdaki 150 ppb ve idrardaki 60 ppb'lik PCP kalıntıları kabul edilebilir düzeyler olarak yorumlanmaktadır⁵¹. Bununla beraber, PCP'nin diğer ksenobiotiklerle sinerjistik etkileşimde bulunarak, uzun süren alımlarda istenmeyen etkilerin açığa çıkmasına, düşük kalıntı düzeylerinin de yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Pentaklorofenol düşük derişimlerde de olsa, kirlilik içeren işlenmiş derilerden cilde temas yoluyla kolay bir şekilde alınabilmektedir. Çok yönlü sağlık sakıncaları dikkate alınarak, PCP'nin

deri sanayiindeki kullanımı terkedilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Beynon KI, Crosby DG, Korte F, Still GG, Vonk JW, Greve PA (1981): Environmental chemistry of pentachlorophenol. Pure Applied Chemistry, 53: 1051-1080.
2. Booth NH, McDonald LE: Veterinary pharmacology and therapeutics. 6 th ed, Iowa State University Press/Ames, (1988).
3. Cline RE, Hill RH, Phillips DL, Needham LL (1989): Pentachlorophenol measurements in body fluids of people in log homes and workplaces. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 18: 475-481.
4. Gilbert FI, Minn CE, Duncan RC, Wilkinson J: Effects of pentachlorophenol and other chemical preservatives on the health of wood-treating workers in Hawaii. Arch Environ Contam Toxicol, 19: 603-609, (1990).
5. Lewis RG, Fortmann RC: Evaluation of methods for monitoring the potential exposure of small children to pesticides in the residential environment. Environ Contam Toxicol, 26: 37-46, (1994).
6. Reynolds EF: Martindale the extra pharmacopoeia, thirtieth ed, The pharmaceutical press, London, pp:1400, (1993).
7. Wild SR, Jones KC (1992): Pentachlorophenol in the UK environment. II. Human exposure and an assesment of pathways. Chemosphere, 24 (7): 847-855.
8. Williams PL (1982): Pentachlorophenol, an assesment of the occupational hazard. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 43: 799-810.
9. Seiler JP (1991): Pentachlorophenol. Mutation Research, 257: 27-47.
10. Borsetti AP: Determination of pentachlorophenol in milk and blood of Dairy Cattle. J Agric Food Chem, 28: 710-714, (1980).
11. Frank R, Braun HE, Sirons GH, Ward GG: Organochlorine and organophosphorus insecticides and industrial pollutants in the milk supplies of Ontario-1983. J Food Protect, 48(6): 499-504, (1985).
12. Muino MAF, Lozano JS: Mass spectrometric determination of pentachlorophenol in honey. Analytica Chimica Acta, 247:121-123, (1991).
13. Wegman RC, Hofstel AWM: Chlorophenols in surface waters of the Netherlands (1976-1977). Water Research, 13: 651-657, (1979).
14. Braun WH, Young JD, Blau GE, Gehring PJ: The pharmacokinetics and metabolism of pentachlorophenol in rats. Toxicol Appl Pharm, 41:395-406, (1977).
15. Reigner BG, Rigod JF, Tozer TN: Disposition, bioavailability and serum protein binding of pentachlorophenol in the B6C3F1 mouse. Pharm Res, 9(8): 1053-1057, (1992).
16. Hughes BJ, Forsel JH, Sleight SD, Kuo C, Shul LR (1985): Assesment of pentachlorophenol toxicity in newborn calves. Clinico-pathology and tissue residues. J. Animal Science, 61 (6): 1587-1603.
17. Butler KM, Frank R: Pentachlorophenol residues in porcine tissue following preslaughter exposure to treated wood shavings. J Food Protect, 54(6): 448-450 (1991).
18. Rauhamaa HM, Pyysalo H, Antervo K: The presence of chlorophenols and their conjugates in Finnish human adipose and liver tissues. The Sciences of the Total Environment, 83: 161-172, (1989).
19. Villene F, Montoya G, Klaasen R, Fleckenstein R, Suwalsky M (1992): Morphological changes on nerves and histopathological effects on liver and kidney of rats by pentachlorophenol (PCP). Comp. Biochem. Physiol., 101C (2): 353-363.
20. Stedman TM, Booth NH, Bush PB, Page RK, Goetsch DD (1980): Toxicity and bioaccumulation of pentachlorophenol in broiler chickens. Poultry Science, 59: 1018-1026.
21. Ohe T: Pentachlorophenol residues in human adipose tissue. Bull Environ Contam Toxicol, 22: 287- 292, (1979).
22. Renner G, Mücke W: Transformation of pentachlorophenol. Toxicol Environ Chem, 11: 9-29, (1986).
23. Witte I, Juhl U, Butte W: DNA-damaging properties and cytotoxicity in human fibroblasts of tetrachlorohydroquinone, a pentachlorophenol metabolite. Mutation Res, 145:71-75, (1985).
24. Carstens CP, Blum JK, Witte I: The role of hydroxyl radicals in tetrachlorohydroquinone induced DNA strand break formation in PM2 DNA and human fibroblasts. Chem Biol Interactions, 74: 305-314, (1990).
25. Frestone D, Clower M, Borsetti AP, Teske RH, Long PE: Polichlorodibenzo-p-dioxin and pentachlorophenol residues in milk and blood of cow fed technical pentachlorophenol. J Agric Food Chem, 27(6): 1171-1177, (1979).
26. Uhl S, Schmid P, Schlatter C: Pharmacokinetics of pentachlorophenol in man. Arch Toxicol, 58: 182-186, (1986).
27. Besten C, Bennis MMH, Iersel M, Peters MAW, Teunis C, Bladeren PJ: Comparison of the urinary metabolite profiles of hexachlorobenzene and pentachlorobenzene in the rat. Chemo-Biological Interactions, 90: 121-137, (1994).
28. Jorens PG, Scheepens PJ (1994): Human pentachlorophenol poisoning. Hum. Exp. Toxicol., 12 (6): 479-496.
29. Armstrong RW, Eichner ER, Klein DE, Barthel WF, Bennett JV, Jonsson J, Bruce H, Lovelless LE (1969): Pentachlorophenol poisoning in a nurse for newborn infants. II. Epidemiologic and toxicologic studies. The Journal of Pediatrics, 75 (2): 317-325.
30. Kutz FW, Cook BT, Carter-Pokras OD, Brody D, Murphy RS (1992):

30. Kutz FW, Cook BT, Carter-Pokras OD, Brody D, Murphy RS (1992): Selected pesticide residues and metabolites in urine from a survey of the US general population. *Toxicol. Environ. Health*, 37 (2): 277-291.
31. Chapman JB, Robson P: Pentachlorophenol poisoning from bathwater. *Lancet*, 1266-1267, (1965).
32. Gray RE, Gilliland RD, Smith EE, Lockard VG, Hume AS: Pentachlorophenol intoxication: Report of a fatal case, with comments on the clinical course and pathologic anatomy. *Arch Environ Health*, 40(3): 161-164, (1985).
33. Igisu H: Haemolysis of human erythrocytes by pentachlorophenol and its suppression albumin. *British Journal of Industrial Medicine*, 50: 378-379, (1993).
34. Kinzell, JH, Ames NK, Sleight SD, Krehbiel JD, Kuo C, Zabik MJ, Shull LR: Subchronic administration of technical pentachlorophenol to lactating dairy cattle. *J Dairy Science*, 64: 42-51, (1981).
35. Lamberd J, Schepens P, Janssens F, Dockx P (1986): Skin lesions as a sign of subacute pentachlorophenol intoxication. *Acta. Derm. Venereol.*, 66: 170-172.
36. McConnell EE, Moore JA, Gupta BN, Rakes AH, Luster MI, Goldstein JA, Haseman JK, Parker LC: The chronic toxicity of technical and analytical pentachlorophenol in cattle. *Toxicol Appl Pharm*, 52: 468-490, (1980).
37. Parker CE, Jones WA, Matthews HB, McConnell EE, Hass JR (1980): The chronic toxicity of technical and analytical pentachlorophenol in cattle. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 55:359-369.
38. Robson AM, Kissane JM, Elvick NH, Pundavela L: Pentachlorophenol poisoning in a nurse for newborn infants. I. Clinical features and treatment. *The Journal of Pediatrics*, 75(2): 309-316, (1969).
39. Waidyanatha S, McDonald TA, Lin PH, Rappaport SM: Measurement of hemoglobin and albumin adducts of tetrachlorobenzoquinone. *Chem Res Toxicol*, 7: 463-468, (1994).
40. Gallagher RP, Threlfall WJ: Cancer and occupational exposure to chlorophenols. *Lancet*, 86: 81-82, (1984).
41. Rugman FP, Cosstick R: Aplastic anemia associated with organochlorine pesticide: Case reports and review of evidence. *J Clin Pathol*, 43(2): 98-101, (1990).
42. Mirvish SS, Nickols J, Weisenburger DD, Jhonson D, Joshi SS, Kaplan P, Gross M, Tong HY: Effects of 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acid, pentachlorophenol, methylprednisolone, and Freund's adjuvant on 2-hydroxyethylnitrosourea carcinogenesis in MRC-WISTAR rats. *J Toxicol Environ Health*, 32: 59-74, (1991).
43. Reigner BG, Bois FY, Tozer TN: Pentachlorophenol carcinogenicity: Extrapolation of risk from mice to humans. *Hum Exp Toxicol*, 12: 215-225, (1993).
44. Kerkvliet N, Brauner JA, Matlock JP: Humoral immunotoxicity of polychlorinated diphenyl ethers, phenoxyphenols, dioxins and furans present as contaminants of technical grade pentachlorophenol. *Toxicology*, 36: 307-324, (1985).
45. Gillard D, Epstein RL, Ashworth RB, Curry K, Nathan Q: Validation study of gas chromatographic determination of pentachlorophenol in animal liver. *J Assoc Off Anal Chem*, 71(5): 926-929, (1988).
46. Norcross MA, Brown JL: Food safety and inspection service initiatives for tissue residue reduction in meat and poultry. *JAVMA*, 198(5): 819-824, (1991).
47. Hinkle DK (1973): Fetotoxic effect of pentachlorophenol in the Golden Syrian Hamster. *Toxicol Appl. Pharm.*, 25: 455.
48. Schwetz BA, Keeler, PA, Gehring, PJ: The effect of purified and commercial grade pentachlorophenol on rat embryonal and fetal development. *Toxicol Appl Pharm*, 28: 151-161, (1974).
49. Atuma SS, Okor DI: Gas chromatographic determination of pentachlorophenol in human blood and urine. *Bull Environ Contam Toxicol*, 35: 406-410, (1985).
50. Gomez-Catalan J, To-Figueras J, Planas J, Rodamilans M, Corbella J: Pentachlorophenol and urine of the population of Barcelona. *Human Toxicol*, 6: 397-400.
51. Triebig G, Csuzda I, Krekeler HJ, Schaller KH (1987): Pentachlorophenol and the peripheral nervous system: a longitudinal study in exposed workers. *British Journal of Industrial Medicine*, 44: 638-641.