

## DIETİLSTİLBESTROL'ÜN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ, METABOLİZMASI VE TOKSİSİTESİ

Ahmet AKILLI (\*)

Güçlü bir östrojenik aktiviteye sahip olan dietilstilbestrol sentetik olarak elde edilen anabolik bir ajandır. Kapalı formülü  $C_{18}H_{20}O_2$  olan dietilstilbestrol'un molekül ağırlığı 268,4 olup Cis ve trans olmak üzere iki izomeri vardır bunlardan trans izomeri dominant olup kimyasal abstraktlarda [(E) - 4, 4-(1.2-diethyl-1.2 ethenediyl) bisphenol)] olarak kayıt edilmiştir. Kapalı formülü  $C_{18}H_{20}O_2$  ve mol ağırlığı 268,4 dür. cis isomeri ise kimyasal abstraktlarda [(z) - 4.4-(1.2 diethyl -1.2 - ethenedyl) bisphenol)] olarak kayıt edilmiştir.

Biyolojik olarak aktif form trans-des'dir ve ticari preparatlardaki Cis izomeri oranı %1-2 kadardır (21,24).

Kısaca " Des " olarak da isimlendirilen dietilstilbestrol ilk kez 1938 yılında Dodds isimli bir araştırmacı tarafından sentezlenmiş ve 1950'li yılların başında FDA tarafından çiftlik hayvanlarında gelişimi hızlandırıcı ve yem ilavesi olarak veya implant şeklinde kullanımına izin verilmiştir. Amerikan Tarım Bakanlığı tarafından vazifelendirilen uzmanlar et ürünlerindeki "Des" residülerinin izlenmesi işi için görevlendirilmiş ve birçok raporlar bu dönem içerisinde Des'in potansiyel olarak karsinojenik etkisine işaret etmiştir. ve 1979 yılından itibaren Dünya Sağlık Teşkilatı tarafından gelişimi hızlandırıcı ve yem ilavesi olarak kullanımı tüm Dünya'da yasaklanmıştır (17,21).

### DIETİLSTİLBESTROL'ÜN METABOLİZMASI

Des'in gelişimi hızlandırıcı olarak hayvancılıkta kullanımı daha önceki kısımda belirtildiği gibi 1950'li yıllarda başlamış ve 1979 yılına kadar devam etmiştir. Bu zaman periyodu içerisinde Des'in metabolizması üzerine değişik hayvan türlerinde birçok araştırmalar yapılmıştır. Des'in oral yolla emilimi oldukça hızlıdır.

---

(\*) Etlik Hayvan Hast.Araşt.Enst.Lab.Şefi

Kuzulara, Sığırlara ve ovariumları alınan ineklere günlük yem ile birlikte 10mg **Des** verilmesi sonucu üriner eksresyon verilerine göre bu miktarın en az 2 mg'ının bu hayvan gruplarında absorbe edildiği tesbit edilmiştir. Maksimum plazma konsantrasyonunun Koyunlarda oral yol ile verilmesinden sonraki 16 saat içerisinde meydana geldiği bildirilmektedir. Maksimum konsantrasyon süratle düşmekte olup 96 ncı saatin sonunda background seviyesinin altına kadar inmektedir (1). Benzer sonuçlar C<sup>14</sup> ile etiketlenmiş 10 mg.oral **Des** uygulanan sığırların 24-250 saat sonunda kesilmesiyle gözlenmiş,dozlamadan sonraki 8-24 nci saatler arasında maksimum kan konsantrasyonu tesbit edilmiş ve 120 saatden sonra tüm örneklerdeki seviye background seviyesinin altına inmiştir (2).

**Des**, implant olarak uygulandığında implantasyon bölgesinden direkt olarak emilerek kana geçmektedir.Tirityumla işaretlenmiş 24-36 mg **Des** uygulaması yapılan sığırlarda **Des**'in yarılanma ömrünün 80-90 gün arasında olduğu bildirilmekte ve günlük absorbe edilerek kana geçen miktarın 56-74 ug olduğuna işaret edilmektedir (7). Bu değerler Rumsey ve arkadaşlarının araştırma sonuçlarına benzerlik göstermektedir, bu araştırmacılar C<sup>14</sup> ile etiketlenmiş **Des** kulak implantını hayvanlara uygulamışlar ve ilk 14 gün boyunca günlük emilim 176 mikrogramı bulunmuş daha sonra bu seviye günlük 60 mikrograma kadar düşmüştür. Yine aynı çalışmada 21 gün boyunca safradaki "**Des**" Konsantrasyonu Kan Konsantrasyonuna kıyasla 30-60 misli daha yüksek bulunmuş keza tükürük bezlerinde, akciğerlerde Karaciğer ve böbreklerde kana kıyasla 2-10 misli fazla bulunmuş kas konsantrasyonu ise kandan'da daha düşük tesbit edilmiştir (22). Yine Ratlar üzerinde de **Des**'in doku dağılımı araştırılmış ve radioaktif **Des**'in intravenöz yolla verilmesini müteakip ilk 4 saat içerisinde karaciğerde ve ince barsaklarda en yüksek konsantrasyonu bulmuşlar ve uygulamadan 4 gün sonra ise sadece karaciğer ve barsak dokularında "**Des**" tesbit edilebilmiştir (3). Koyunlardada **Des** residü seviyeleri üzerinde yapılan bir çalışmada (Aschbacher,1972) üç farklı **Des** dozu (100 mg,4 mg ve 3 mg) üç farklı grup koyuna oral olarak verilerek araştırma yürütülmüştür. Birinci grup koyunlara günlük 100 mg işaretli **Des** ikinci grup koyunlardada günlük 4 mg işaretli **Des** 14 günlük bir periyod boyunca oral olarak verilmiş üçüncü grup koyunlardada günlük 3 mg **Des** oral olarak 8 gün boyunca verilmiş ve tüm gruplara 8 inci gün C<sup>14</sup>ile işaretli (100g,4 mg,3 mg) **Des** oral olarak verilmiş ve 14üncü gün hayvanlar kesime tabi tutulmuşlardır bu uygulamadan sonra sonuç olarak adrenal bezler dışındaki tüm dokularda 1 PPb'den daha düşük seviyede "**Des**" residüleri tüm gruplarda tesbit edilmiş olup,3 ve 4 mg'lık günlük **Des** verilen hayvanların adrenal bezlerinde 5-8 ng **Des** bulunduğu yüksek dozda **Des** verilen (100 mg) hayvanların adrenal bezlerinde ise 20 ng **Des** tesbit edilmiştir (1). Aschacher ve Thacker (1974) tarafından yapılan bir diğer çalışmada sığırlara 14 gün boyunca günlük 20 mg işaretli **Des** verilmesini müteakip C<sup>14</sup>ile işaretli 10 mg Oral **Des** verilmiş ve dokularda kalan **Des** residü konsantrasyonu 1 nolu tabloda görüldüğü gibi bulunmuştur ve bu çalışmada sığırlara oral "**Des**" verilmesinden sonra **Des** ve konjugeti olan **Des-Glukuronide** sadece Karaciğer

ve böbrek dokularında tesbit edilebilir seviyede bulunmuştur (2).

Besi sığırlarında "Des" in farmakokinetiği üzerinde Rumsey ve arkadaşları tarafından çalışılmış ve bu çalışmada oral olarak günlük 10 mg C<sup>14</sup> ile işaretli "Des" sığırlara verilmiş radioaktivitenin eliminasyonu iki fazda olmuş, başlangıçta Des'in karaciğerde biyolojik yarılanma ömrü 17 saat olarak hesaplanmıştır. Des ve glukuronide konjugeti yaş dokunun gramında 9.4 üncü günde 1 ppt'lik bir residü seviyesine ulaşmış keza karaciğerde identifiye edilemeyen yaklaşık %50'lik C<sup>14</sup> residüsü bulunmuş ki buda daha yavaş olarak 5.5 uncu günde yarılanmıştır (23).

Uygulamadan Sonraki (Saat)	Karaciğer (ppb)	Böbrek (ppb)
24 Saat sonra	3.4	5.5
	4.3	1.9
48 Saat sonra	3.1	4.5
	2.0	2.0
72 Saat sonra	1.1	2.5
	0.34	0.36
120 Saat sonra	0.57	0.90
	0.11	0.07
168 Saat sonra	0.13	0.25
	0.37	0.21
240 Saat sonra	0.08	0.09
	0.08	0.09

Tablo 1 - Oral Des uygulaması (10 mg) yapılan sığırların kesiminden sonraki saatlerde Karaciğer ve Böbrek Dokularındaki Des konsantrasyonları (Aschbacher ve Thacker, 1974).

Des metabolitleri üzerinde yapılan çalışmalarda 1942 yılına kadar, Mazur ve Schorr (15) ün identifiye ettikleri DesG(Des-glukuronide) tek "Des" metaboliti olarak kabul edilmişti, 1945'de Teague tarafından yapılan araştırmalarda rat idrarlarında muhtemel ethereal Sülfat konjugetlerinin olabileceği bildirildi Des'in tedavi dozlarında insanlara uygulanmasından sonra Malpresess (1948) idrar'da düşük miktarda Des'in sülfat konjugetlerini buldu ve idrar ile elemine edilen Des'in yüksek miktarda glukuronide Konjugeti halinde atıldığını tesbit etti (14). Wilder-Smith ve Willams(1948) Des'in glukuronide konjugetinin oral veya parenteral yol ile tavşanlara verilmesini müteakip bulunan daha ileri derecede teşhis edilemeyen maddelere metabolize olduğunu bildirmişlerdir (26).

Twombly, Schoenewoldt (1951) Ratlarda ve Sıçanlarda C<sup>14</sup> ile işaretli **Des**'ini metabolizma çalışmalarında karaciğer ve safradada **Des**'in konjuge şeklinde bulunduğu ve safra ile birlikte barsaklara geçtiğine işaret edilmiştir (25). Mitchell ve arkadaşları (1959) **Des**'in ruminantlardaki metabolizmasının ratlardakine benzediğini ve H<sup>3</sup> ile işaretli **Des**'in oral yol ile uygulanmasından sonra **glukuronide** konjugeti şeklinde çok çabuk olarak idrar ile atılmaya başladığını feces'de ise serbest şekilde bulunduğunu tesbit etmişlerdir (18). safra ile barsağa gelen "**Des**" konjugetinin barsakda hidrolize uğrayarak serbest şekle döndüğü ve feces ile atıldığı Hinds ve arkadaşları tarafından (1965) tesbit edilmiştir(11).

### DES'in TOKSİSİTESİ

Bilindiği gibi "**Des**" sentetik bir östrojendir. ve oral etkisi östradiol'den beş misli daha fazladır (16). tedavide "**Des**" laktasyonu baskılamak, meneposal sentomları kontrol etmek, göğüs ve prostat kanserlerinin tedavisinde ve doğum kontrolü amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır (20). Bilhassa gebeliği önleyici amaçla kullanımında plazma progesteron konsantrasyonunun düştüğü ve böylece uterusdaki fertilize edilmiş yumurtanın tutunmasının engellendiğine işaret edilmektedir. bu amaçla tavsiye edilen doz beş gün süresince günlük iki kez olmak üzere 25'er mg'dır. Keza "**Des**" kullanan annelerin kız çocuklarında vagine adenokarsinomunun meydana geldiği bildirilmektedir (13). Yine sık sık düşük şikayetleri olan kadınlarda gebeliği sürdürmek için yüksek dozlarda "**Des**" kullanımının yaygın olduğu ve ABD,'lerinde bu şekilde tedaviye tabi tutulan gebelerden doğan kız çocuklarının bazılarında 15-22 yaşları arasında vagina kanseri olayları rapor edilmiş olup "**Des**" in teratogonik etkisine işaret edilmiştir (13). **Des** ve diğer **stilben** türevleri sadece östrojenik etkileri nedeniyle değil aynı zamanda östrojenik etkisi olmayan kimyasal metabolitleri nedeniyle de karsinojenik etki yaparlar. **Stilbenler** dokularda peroksidaz enzimi tarafından elektrofilik oksidasyon ürünlerine çevrilirler, bunlar DNA'ya kovalent bağla bağlanabilirler. Östrojenlerin hedef hücrelerinin bulunduğu dokularda peroksidaz etkisi yüksek bulunmuştur. Gıdalar ile alındıkları zaman insanda yaptıkları hormonal bozukluklar genellikle yüksek dozlarda ve uzun süreli maruziyetten sonra hafif derecede ortaya çıkabilir. Diğer önemli bir kavram bir maddenin ilaç olarak kullanıldığında istenmesede makul görülen yan tesirlerinin aynı maddelerin besinler içinde alınması halinde kesinlikle makul görülmemesi ve müsaade edilmesidir. Bunun nedeni esas olarak ilaçların hastalarda kullanılması besinlerin ise sağlıklı kimseler tarafından tüketilmesidir (13).

Neonatal fareler östrojenlerin karsinojenik etkilerinin araştırılmasında en uygun modellerdir. 5 gün süreyle günlük 5 mikrogram östradiol yeni doğmuş dişi farelere uygulandığında ilaç uygulamasından sonraki 2nci ayda yapılan

muayenede vagine ve cervix'de atipik epitel bölgeleri bulunmuştur (5). (Forsbeg, 1968), Highman ve ark (1977), devamlı "Des" ve Ostradiol -17 β ile beslenmenin etkileri üzerinde çalışmışlar,6 haftalıktan 104 haftalığa kadarki fareler üzerinde bu çalışmayı yürütmüşlerdir. Bu hayvanların bir grubunun yemine 10 PPb, 100 PPb, 500 PPb miktarlarında "Des" katılmış ve devamlı "Des" ile beslenmenin etkilerini gözlenmiştir. Aynı yaş grubundaki diğer farelerin yemlerine 100 ppb 1000 ppb, 5000 ppb Ostradiol 17 β katılmış ve devamlı Ostradiol 17 β ile beslenmenin etkileri gözlenmiştir. Des ve östrodiol'ün yüksek dozları ile beslenen farelerin her iki grubundada cervix'de ve genital bezlerde hyperplasia, Ovariumlarda atrofi, adenocorsinom bulguları tesbit edilmiştir (10).

Dietilstilbestrol'ün çiftlik hayvanlarında et üretimini arttırmak amacıyla kullanımını 1950'li yıllarda başlamış "Des" uygulanan hayvanların günlük yem tüketiminin arttığı ve yemden yararlanmanın azami seviyeye çıktığı ve kısa sürede hayvanların besi performansına ulaştığı görülmüş ve anabolik bir etkinin meydana geldiği anlaşılmıştır (17). FDA tarafından "Des" in ruminantlar'da yeme katılacak miktarları ile implantasyon uygulamalarındaki miktar belirlenmiştir. Buna göre FDA tarafından tavsiye edilen günlük doz yem ile sığırlarda 10 mg koyunlarda 2 mg olarak tesbit edilmiştir. Implantasyon ile ise sığırlara 24-36 mg, Koyunlara 3mg dozda kullanılması tavsiye edilmiştir (17). 1979 yılında Dünya Sağlık Teşkilatı Des'in zararlı etkileri ve potansiyel kanser riski taşımasından dolayı çiftlik hayvanlarında verim artırıcı olarak kullanımını yasaklamıştır (28). İnsanlar için minimum zararlı günlük Des dozu 10ng/kg vücut ağırlığı olarak hesaplanmaktadır. İnsanlar için toksik olan ve kansere sebebiyet veren dozun ki bu toksik doz 1.5 mg/Gün olarak ve ortalama 70 Kg canlı ağırlığa sahip erkekler için alınan değerdir (6).

Des uygulaması yapılmış sığır etindeki Des miktarı 0.5 ppb'nin altında bulunmuştur. En yüksek muhtemel "Des" miktarı uygulama yapılan hayvan etlerinde 1 ppb ye ulaşabilir ve karaciğerde de bu oran 2 ppb olarak tesbit edilmiştir (19).

ABD' de yapılan bir araştırmada kişi başına yıllık sığır karaciğer tüketimi 0.7 kg olarak hesaplanmıştır (12). Uygulama yapılmış hayvanların karaciğerinde en yüksek Des dozu 2 PPb olarak tesbit edildiğinde sığır karaciğeri yemekle ABD'de yaşayan insanlar günlük 4 ppb "Des" almış olacaklardır (12). Yine ABD'de yıllık sığır eti tüketiminin kişi başına ortalama 52 kg. olduğu bilinmektedir (Council For Agricultural Science and Teochnology, 1977; Jukes 1974). Des uygulaması yapılmış hayvanların kas dokularında teşhis edilen miktar 1 ppb "Des" varsayımına göre ve yıllık 52 Kg.sığır eti tüketen bir Amerikalının günde 140 ng'm üzerinde Des aldığını göstermektedir ki bu değer hesaplanan minimum zararlı etkideki dozun 1/5 ine eşit olduğuna işaret edilmektedir (4,12).

FDA tarafından hayvan üretiminde kullanılan kimyasal maddelerin emniye-

tinin değerlendirilmesi için standartlar belirlenmiştir (FDA.,1977). Buna göre maksimum kabul edilebilir risk milyonda bir'dir.Şu anda "Des" için ise maksimum risk seviyesi bilinmemektedir(4). Hamile kadınlarda kullanılan en düşük günlük "Des" dozu 1,5 mg/gün ve en yüksek doz ise 225 mg.dır (8)."Des" kullanan annelerin kız çocuklarında kanser oluşma riskide yaklaşık 1/1000 olarak hesaplanmaktadır(9). Buradan hareketle milyonda bir risk için hesaplanan kalıntı seviyesi günlük 1.5 uq veya 27 ng/Kg olarak bulunabilir bu değerler ortalama vücut ağırlığı 55 kg.olan bir kadına göre esas alınmıştır (9).

### LİTERATÜR LİSTESİ

- 1- Aschbacher, P.W. (1972). "Metabolism of C14 - diethylstilbestrol in sheep. I. Anim. Sci. 35, 1031- 1035
- 2- Aschbacher, P.W. and Thacker, E.J. (1974). "Metabolic fate of oral diethylstilbestrol in steers". J. Anim. Sci. 39: 1185-1192.
- 3- Bengston, C. (1963). "Autoradiografic distrubition studies of injected P12-labelled polydiethylstilbestrol phosphate." Acta endocrinologica. 43, 581-586
- 4- Food and Drug Administration. (1977). "Food producing animals criteria and procedure for evaluating assay for carcinogenic residues." Washington D.C. Federal Register.
- 5- Forsberg,J.G. (1969). "The development of atypical epithelium in the mause uterine and vagina after neonatal oestradiol treatment." Brif. J. Exp. pathol. 50, 187-195
- 6- Gass, G. H. (1975). "A discussion of assay sensitivity methodology and carcinogenic potential." Food Drug Cosmetic Lav, 111-115.
- 7- Hale, W.H., Sherman, W.C., Whate, E.A., Kuhn, G., Schell, R.B., Reynolds, M.N. and Luther, H.G. (1959). "Absorbtion of diethylstilbestrol pelets in steers." J. Anim. Sci. 18.
- 8- Herbest, A.L., Robboy, S.J., Scully, R.E. and Pankazer, D.C. (1974). "clear-cell adenocarcinoma of the vagina and cervix in girls analysis of 170 registry cases." Amer. J. Obslet Gnycol, 119.
- 9- Herbest, A.L., Cole, P. Colton, T., Robboy, S.J. and Scully, R.E. (1977). "Age-insidence and risk of diethylstilbestrol-related clear-cell adenocarcinoma of the vagina and cervix." Amer. J. Obslet Gynecol 128, 43-50.
- 10- Highman, B., Norvell, M.J. and schellerberger, T.E. (1977). "Patholojik changes in

mice induced by diethylstilbestrol an 17- $\beta$  oestradiol." Abst. 114. sixteenth Annual meeting of society of Toxicology.

11- Hinds, F.C., Draper, H.H. Mitchell, G.E. and Neumann, A.L. (1965). "Metabolism of labelled diethylstilbestrol in ruminants. J. Agr. Food Chem. 13, 256-259.

12- Jukes, T.H. (1974). "Estrojens in beefsteak." J. Amer. Med. Assoc, 229, 1920-1921.

13- Kayaalp, O. (1989). Hayvancılıkta verim arttırıcı olarak kullanılan hormonal maddelerin insan üzerindeki tesirleri. Tubitak Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu İhtisas Komisyonu, X.

14- Malpress, F.H. (1948). "The metabolism of stilbestrol and hexestrol in man. Biochem. J.

15- Mazur, A., Shorr, E. (1942). "The isolation of stilbestrol monoglucuronide form the urine of rabbits." J.Biol. Chem. 144, 283-284.

16- McKenzie, C. H. (1941). "Diethylstilbestrol, "A review of the literature." Journal-lancet 61, 94-100

17- McMartin, K.E., Kennedy, K.A., Greenspan, P., Alam, S.N., Greiner, P., Yam, J. "Diethylstilbestrol; A review of its toxicity and use as a growth promotant in food-producing animals." The Toxicology center, Department of pharmacology, The University of Iowa, Iowa city, Iowa, 52242.

18- Mithcell, G.E., Neumann, A.L. and Draper, H.H. (1956). "Metabolism of trit-labelled diethylstilbestrol by steers." J.Anim.Sci. 15.

19- Mussman, H.C. (1975). "Drug and chemical residues in domestic animal." Fed. Proc. 34; 197-201.

20- Noler, K.L. and Fish, C.R. (1974). "Diethylstilbestrol usage its interesting past, important present and questionable future." Med. Clin. North Amer. 58, 793-810

21- Quantification of diethylstilbestrol residues in meat sample by GC-MS." J. Agricultural and Food chemistry, 1987, 35-229.

22- Rumsay, T.S., Oltyjen, Kazak, A.S., Daniels, Fol, and Aschbacher, P. W. (1975)." Fate of radiocarbon in beef steer implanted with C14-diethylstilbestrol J.Anim. Sci. 40, 550-560.

- 
- 23- Rumsey, T.S., Oltjen, R.R., Daniel, F.L. and kazak, A.S. (1975). "Depletion Patterns of radioactivity and tissue residues in beef cattle after witharawal of oral C14-diethylstilbestrol." *J.Amin. Sci.* 40, 539-549.
- 24- Schothorst, R.C., Stephang, R.W. and Hove, J.T. (1988). "Mass spectrometric determination of stilben derivativer. RIVM, Bilthoven, Netherlands.
- 25- Twombly, G.H. and Schoenewaldt, E.F. (1951). "Tissue localization and excretion routes of radioactive diethylstilbestrol.
- 26- Wilder-Smith, A.E., Williams, P.C. (1948). Urinary elemination of synthetic oestrogens and stilbestrol glucuronide in animals." *Biochem. J.* 42, 253-257.
- 27- WHO. (1987). "Residues of some veterinary drugs in animals and foods." Thirtry-secund Meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 15-23 June.
- 28- WHO (1988). "Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food.