

**23240**

T. C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇUKUROVA'DA SİVRİSİNEK MÜCADELESİNDE  
KULLANILAN BENDİOCARB'IN  
MEMELİLERE (SIÇANLARA) ETKİSİ**

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Mülkiye KASAP

Uzman Ayfer PAZARBAŞI

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ADANA - 1992

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne

Bu alışma, J¼rimiz tarafından, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Master tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

¼ye

¼ye

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen ¼ęretim ¼yelerine ait olduğunu onaylarım.

..../.../ 1992  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
M¼d¼r¼

## TEŐEKKUR

Tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasında katkı ve desteği ile her türlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın Prof.Dr.Mülkiye Kaşap'a, değerli Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr.Halil Kasap'a ve Prof.Dr.Ali Matur'a, biyokimyasal konulardaki yardımları için Doç.Dr.Levent Kayrın'a sonsuz saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Deneylerin yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Vet. Hekim Fatma Dikmen ve tüm .. Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Araştırma Merkezi personeline, tezin yazılıp bitirilmesinde emekleri geçen Anabilim dalımız sekreteri Aysel Aslan, Anabilim dalımızda tıbbi sekreterlik stajı yapan Berrin Eryürek ve Teknik ressam Zeliha Teyhani ile birlikte tüm Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı personeline teŐekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
TABLO LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV-VI
ÖZET.....	VII
1-GİRİŞ.....	1
2-GENEL BİLGİLER.....	8
PESTİSİTLER VE İNSANDAKİ METABOLİZMASI.....	8
TOKSİKOKİNETİK.....	9
TOKSİK MADDELERİN ABSORBSİYONU.....	9
SİNDİRİM SİSTEMİNDEN ABSORBSİYON.....	10
İNHALASYON YOLUYLA ABSORBSİYON.....	11
İNSEKTİSİTLERİN DERİ YOLUYLA ABSORBSİYONU.....	11
TOKSİK ETKİNİN AZALMASI YA DA ORTADAN KALKMASI.....	12
İNSEKTİSİTLER VE SINIFLANDIRILMALARI.....	15
ORGANOKLORLU İNSEKTİSİTLER.....	15
ORGANOFOSFORLU İNSEKTİSİTLER.....	16
KARBAMATLI İNSEKTİSİTLER.....	17
BENDİOCARB'IN TEKNİK ÖZELLİKLERİ.....	18
PYRETHROİTLER.....	19
KOLİNESTERAZLAR.....	19
3- ARAŞTIRMANIN AMACI.....	26
4- ARAÇ GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	28
ARAÇ VE GEREÇLER.....	28
KİMYASAL MADDELER.....	28
BİYOLOJİK MATERYAL.....	28
CİHAZLAR VE DİĞER GEREÇLER.....	28
YÖNTEMLER.....	28
KOLORİMETRİK KOLİNESTERAZ ÖLÇÜM YÖNTEMİNDE	
KULLANILAN BELİRTEÇLERİN HAZIRLANMASI.....	28
BİYOLOJİK MATERYALIN HAZIRLANMASI.....	29

SERUM KOLiNESTERAZININ PROPiONYLTHiOCHOLiNE-	
DiTHiOBiS NiTROBENZOiC ACiD iLE OLCUM YONTEMi...	30
ChE AKTiViTESiNi OLCUM YONTEMi.....	31
BENDiOCARB`iN HAZIRLANMASI.....	33
DERMAL iN ViVO ÇALIŞMA YONTEMi.....	35
DERMAL iN ViTRO ÇALIŞMA YONTEMi.....	36
ORAL iN ViVO ÇALIŞMA YONTEMi.....	36
ORAL iN ViTRO ÇALIŞMA YONTEMi.....	37
5- BULGULAR.....	39
KONTROL GRUPLARINDA SERUM KOLiNESTERAZ ENZİMİNİN	
SPESiFiK AKTiViTESi.....	39
BENDiOCARB`iN SiÇAN SERUM KOLiNESTERAZINA	
DERMAL ETKiSi.....	39
DERMAL iN ViVO ÇALIŞMA SONUÇLARI.....	39
DERMAL iN ViTRO ÇALIŞMA SONUÇLARI.....	42
BENDiOCARB`iN SiÇAN SERUM KOLiNESTERAZINA	
ORAL ETKiSi.....	46
ORAL iN ViVO ÇALIŞMA SONUÇLARI.....	46
ORAL iN ViTRO ÇALIŞMA SONUÇLARI.....	52
6- TARTIŞMA VE SONUÇ.....	57
7- KAYNAKLAR.....	61
8- ÖZGEÇMiŞ.....	

## TABLO LİSTESİ

Sayfa No:

- Tablo 1. Sıçan serumunda normal kolinesteraz seviyesinin saptanması amacıyla serumlarında enzim aktivitesi çalışılan 20 sıçanın enzim aktivitesi değerleri.....40
- Tablo 2. Değişik bendiocarb (%80 W.P.) konsantrasyonlarının dermal uygulamalarında ChE aktivitesine etkisi.....41
- Tablo 3. Teknik bendiocarb'ın 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarına göre toplam 7 deneyin ve kontrol gruplarının enzim aktiviteleri ve ortalamaları.....43
- Tablo 4. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozlarına göre toplam 5 deneyin ve kontrol gruplarının serum ChE aktiviteleri ve ortalamaları...47
- Tablo 5. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozlarına göre toplam 5 deneyin ve kontrol gruplarının enzim aktiviteleri ve ortalamaları.....48
- Tablo 6. Teknik bendiocarb'ın 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozlarına göre toplam 10 deneyin ve kontrol gruplarının enzim aktiviteleri.....53

## ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No:

- Şekil 1. Santral ve periferel sinir sisteminde asetilkolin.....21
- Şekil 2. Nöyrotansmitter asetilkolin'in etki mekanizması.....21
- Şekil 3. Asetilkolinesterazın normal substratı ve organofosforlu veya karbamat inhibitörlerle reaksiyonunun şematik gösterimi.....24
- Şekil 4. Asetilkolin ile asetilkolinesteraz arasındaki olası bir bağlanmanın şematik gösterimi.....24
- Şekil 5. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 100 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....44
- Şekil 6. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 350 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....44
- Şekil 7. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 600 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....45
- Şekil 8. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 850 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....45

- Şekil 9. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg oral dozunun tam kan kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....49
- Şekil 10. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 5 mg/kg oral dozunun tam kan kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....49
- Şekil 11. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg oral dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....50
- Şekil 12. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 5 mg/kg oral dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi.....50
- Şekil 13. Teknik bendiocarb'ın 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarının serum kolinesteraz aktivitesine *in vitro* etkileri.....51
- Şekil 14. Teknik bendiocarb'ın 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozlarının serum kolinesteraz aktivitesine *in vitro* etkileri.....51
- Şekil 15. Serum kolinesteraz aktivitesinin bendiocarb'ın (%80 W.P.) 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozları ile *in vivo* inhibisyonunu gösteren regresyon doğrusu.....54
- Şekil 16. Serum kolinesteraz aktivitesinin teknik bendiocarb'ın 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozları ile *in vitro* inhibisyonunu gösteren regresyon doğrusu.....54



Şekil 17. Serum kolinesteraz aktivitesinin bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozları ile *in vivo* inhibisyonunu gösteren regresyon doğrusu.....55

Şekil 18. Tam kan kolinesteraz aktivitesinin bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozları *in vivo* inhibisyonunu gösteren regresyon doğrusu.....55

Şekil 19. Serum kolinesteraz aktivitesinin teknik bendiocarb'ın 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozları ile *in vitro* inhibisyonunu gösteren regresyon doğrusu.....56

## OZET

Bu çalışmada, karbamatlı bir insektisit olan Bendiocarb'ın laboratuvar koşullarında dermal ve oral olarak bir memeli türü olan sıçanların serum ve tam kan ChE aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkisi incelendi.

Bunun için püskürtme dozu ve dermal LD<sub>50</sub> dozu gözönüne alınarak hazırlanan artan bendiocarb (%80 W.P.) konsantrasyonlarının serum ChE aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkisi incelenmiştir. Ayrıca 2,5 mg/kg ve 5 mg/kg dozlarının oral yolla verilmesi sonucu tam kan ve serum ChE'nin inhibisyonu ve teknik bendiocarb'ın aynı dermal ve oral dozlarının *in vitro* koşullarda serum ChE aktivitesi üzerindeki inhibisyonu araştırılmıştır.

Dermal, oral *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarımızda artan bendiocarb konsantrasyonları ile enzim aktivitesi değerleri arasında negatif bir ilişki olduğu ve bendiocarb'ın (%80 W.P.) püskürtme dozunun dermal olarak bir kez alınmasının memelilerde önemli bir etki göstermemekle birlikte kümülatif bir etki görüldüğü saptandı. Halbuki teknik bendiocarb'ın aynı dermal dozları kullanılarak yaptığımız *in vitro* çalışmalar sonucu ChE inhibisyonunun oldukça yüksek bir biçimde olduğu görüldü.

Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozlarının sıçanların tam kan ve serum ChE aktivitesini en fazla 1. ve 3. günlerde her bir dozdan 10 dk. sonra ve doza bağlı şiddette inhibe ettiği ve bendiocarb'ın inhibitör etkisine karşı tam kan ChE'nin plazma ChE'ine göre daha hassas olduğu bulundu. Teknik Bendiocarb'ın 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozları kullanılarak yaptığımız *in vitro* çalışmalar sonucu ChE inhibisyonunun oldukça yüksek bir biçimde olduğu saptandı.

Bendiocarb'ın (%80 W.P.) çalışmamızda uygulanan dermal ve oral dozlarının sıçanların beslenme durumu ve vücut ağırlığına bir etkisi olmadığı bulundu.

## 1- GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla arttığı çağımızda açlık sorununun çözülebilmesi için tarımsal üretimi arttırmak için tarım ilaçlarının rastgele kullanılması, çevreye saçılan endüstriyel atıklar ve diğer toksik maddeler, toplum sağlığını giderek tehlikeli boyutlarda tehdit etmektedir. Her yıl yeryüzünde binlerce kişi tarım ilaçlarıyla akut zehirlenip hayatını kaybetmektedir.

ikinci Dünya savaşından bu yana tarım ilaçlarının yapımında ve kullanımında önemli artışlar olmuştur.

Genel olarak bir tarım ülkesi olan yurdumuzda, bilimsel tarımın giderek yoğunlaşmasıyla yılda 50-60 bin ton kadar pestisit kullanılmaktadır. ABD'de kullanılan pestisit miktarının yılda 800-900 bin ton kadar olduğu bilinmektedir (Dökmeci, 1988). Ancak, Dünyanın birçok ülkesinde özellikle geri kalmış ülkelerde tarım ilaçlarından zehirlenmeler bazen bir felaket niteliğinde olabilmektedir.

Nitekim 1984'de Bhopal (Hindistan)'de Union Carbide pestisit fabrikasında meydana gelen kaza sonucu 200.000 kişi zehirlenmiş, bunun en az 2500'ü ölmüştür (Dökmeci, 1988).

1970'den sonra Asya'da "yeşil devrim" diye adlandırılan pirinç yetiştirilmesinde yenilikler sonucu fazla miktarda insektisit kullanılmasıyla erkeklerde ölüm oranının % 27 arttığı belirtilmiştir (Dökmeci, 1988).

Ülkemizde tarım ilaçlarının tehlikesi konusunda halk tam olarak bilgi sahibi olmadığından bit, pire, sinek, hamam böceği gibi ev haşerelerine karşı ellerine geçen tarım ilaçlarını yatak, yorgan ve giysilerine hatta evin çeşitli yerlerine serpmektedirler. Yanlışlıkla un, şeker ve tuz sanılarak yenmeleri ya da çamaşırların insektisitli su ile yıkanması sonucu meydana gelen ölümlere sıklıkla rastlanılmaktadır. Özellikle kırsal yörelerde bu tip akut zehirlenmeler daha sık olmaktadır. SSYB

istatistiklerine göre 1968 yılında tarım ilaçlarından yılda sadece 4 kişi ölmesine karşın 1974'de 156 ölüm olayı olmuştur (Dökmeci, 1988).

Adli tıp kayıtlarına göre yapılan araştırmalarda Türkiye'de 1977-1981 yılları arasında insektisitlerden kaza ve intihar sonucu toplam 1484 kişinin öldüğü saptanmıştır (Dökmeci, 1988).

Kimyasal maddeler (ilaçlar dahil) içinde en fazla ölümlerle sonuçlanan akut zehirlenmeler insektisitlerle olmaktadır.

Genel olarak, böcekleri herhangi bir biyolojik safhada öldürmek için kullanılan bir kimyasal madde veya madde grubuna insektisit adı verilir.

insektisitler böceğin etkili olduğu biyolojik evrelerine, böceğin vücuduna giriş biçimine ve kimyasal yapılarına göre değişik biçimlerde sınıflandırılırlar. Böceğin etkili olduğu biyolojik evrelerine göre adultisit ve larvisit olarak isimlendirilirler. Erginlere karşı kullanılanlar adultisit, larval formlara karşı kullanılanlar da larvisittir.

Böceğin vücuduna giriş biçimine göre mide zehirleri, solunum zehirleri ve temas zehirleri olarak sınıflandırılırlar. Bunlardan bugün kullanılan mide zehirleri inorganik, diğerleri organik bileşiklerdir.

Kimyasal yapılarına göre insektisitler doğal organik bileşikler ve sentetik organik bileşikler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Sentetik organik bileşiklerin son 10-15 yıl içinde en çok kullanılanları 4 esas gruba ayrılır. Bunlar 1-Organoklorlu insektisitler; 2-Organofosforlu insektisitler; 3-Karbamatlı insektisitler ve 4-Pyrethroitler'dir.

Dünya Sağlık Örgütü (D.S.Ö.) raporlarına göre çeşitli ülke insanların vücutlarında bulunan insektisit miktarları ortalama olarak şöyledir: İngilizler'de 2 ppm, Fransızlar'da 10 ppm, Amerikalılar'da 10 ppm, İsrailiiler'de 15 ppm, Hintliler'de 30 ppm olup ülkemizde ise bu yönde bir çalışma yapılmadığından vücudumuzda hangi düzeyde insektisit taşıdığımız bilinmemektedir (Dökmeci, 1988). Besin hijyeninin çok yetersiz olduğu ülkemiz, tarım ilaçlarından ölüm sayısı bakımından dünyanın önde gelen

lkeleri arasında bulunduğuna göre vücudumuzda taşıdığımız insektisit oranının da oldukça yüksek olması yadsınmayacak bir gerçektir.

Sivrisinek ve sıtma parazitleri birbirleriyle bütünleşerek, özellikle tropik ve subtropik iklim kuşaklarında, insan sağlığını tehdit etmektedir. Anopheles sacharovi Favre, Türkiye'de endemik sıtma bölgesi olan Çukurova'da başlıca sıtma vektörüdür. ukurova'da sıtmayı taşıyabilecek diğer Anopheles türleri ise An. superpictus ve An. hyrcanus'tur (Kasap H. ve ark., 1981). Son yıllarda gelişmekte olan birçok ülkede olduğu gibi yurdumuzda da sıtma yeniden önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. ukurova bölgesi sıtma olgularına sık rastlanması ve işçi g nedeniyle diğer bölgelere yayılma potansiyeli yüksek bir bölgedir. ukurova'nın patlama odağı olmasının başta gelen nedenleri hem sosyo-ekonomik hem de iklim koşullarıdır. ukurova iklimi, hem vektör An. sacharovi'nin yıl boyu uzun süre faaliyet gösterebilmesi, hem de parazitin gelişimi için oldukça uygundur (Mimioğlu ve ark., 1988).

1957 yılında Dünya Sağlık rgt ile yapılan işbirliğiyle Türkiye'de sıtma mücadelesinde DDT kullanılmaya başlanmıştır. 1959 yılında DDT'ye ve 1970-71 yıllarında Dieldrin'e karşı direnç gelişince (Gkberg 1959, de Zulueta 1959, Curtis 1962, Ramsdale 1975, Kasap 1989) ev pstrtmelerinde Malathion kullanılmaya başlanmıştır. Anophelinae türleri arasında organofosforlu (OP) insektisitlerden fenithrothion ve fenthion'a karşı direnç oluşması ile 1974 yılında karbamatlı (CM) insektisitler ve bazı sentetik pirethroidler kullanılmaya başlanmıştır (Ramsdale et al., 1980). An. sacharovi'ye karşı OP ve CM insektisitlerden chlorphoxim, phoxim, diazinon, chlorpyriphos, iodofenphos, dimethoate, mecarbam, carbaryl, dimetan, dimetilan ve N-methyl karbamat kullanılarak yapılan birçok hassasiyet testi bu bileşiklere karşı da direnç geliştiğini göstermiştir (Davidson, 1982). An. sacharovi'nin aynı zamanda dieldrin ve propoxur'a karşı dirençli, malathion'a karşı toleranslı olduğu bulunmuştur (Kasap, M. ve ark., 1983). Malathion'a karşı düşük seviyede bir direnç

gelişmekle beraber kötü kokusu ve duvarlarda bıraktığı lekeler yüzünden, Türkiye'de 1984 yılında Malathion'un kullanımından vazgeçilmiştir (Ünsal, 1984). 1984 yılından itibaren aynı gruptan olan pirimiphos methyl (Actellic) kullanılmaya başlanmış ve henüz herhangi bir direnç oluşmadığı görülmüştür (Hemingway et al., 1985; Kasap H. ve ark., 1992). Ancak 6 yıl boyunca kullanıldığından sivrisineklerde gelişebilecek muhtemel bir direnci önlemek amacıyla kullanım dışı bırakılmış ve 1990 yılından itibaren CM insektisitler grubundan Bendiocarb (Ficam) kullanılmaya başlanmıştır. Bendiocarb'a karşı henüz direnç kaydedilmemiştir.

Bendiocarb, halk sağlığı ve endüstride özellikle böcek ve diğer zararlı eklembacaklıların kontrolü için geliştirilmiş karbamatlı, geniş spektrumlu bir insektisittir. Bu bileşik sivrisinek erginlerine karşı da başarı ile kullanılmaktadır (Motabar et al. 1981).

Sivrisinek erginlerine karşı kalıcı bir insektisit olarak kullanıldığında bendiocarb'ın (%80 ıslanabilir toz) uygulayıcılara ve çevre sakinlerine karşı güvenilirliğinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bununla ilgili olarak yapılan çalışmalarda püskürtme operatörlerinde değişik kişisel toksisiteler belirlenmiştir (Motabar ve ark., 1981). Bendiocarb'ın günlük kabul edilebilir alım miktarının belirlenmesi ile ilgili çalışmalar, enzimler ve diğer biyokimyasal parametreler üzerinde yapılmaktadır (Challis ve Adcock, 1977). Tam kan kolinesterazının (ChE) dönüşümlü olarak inhibisyonu kullanılan parametreler arasındadır. Operatörlerden toplanmış idrar analizleri püskürtme esnasında az miktarda bendiocarb'ın absorbe olduğunu göstermiştir (Motabar et al., 1981; Bonsall et al., 1981).

Bendiocarb metabolizması insan dahil birçok memeli türünde çalışılmıştır. Bendiocarb hızlı bir şekilde absorbe olabilen ve kolay bir şekilde idrarla elimine edilebilen bir insektisittir (Adcock et al., 1976, Browne ve ark., 1978). Bu türlerde başlıca metabolik yolun, bileşiğin karbamat ester grubunun, fenol (NC

7312) bileşimini oluşturmak üzere ayrılması şeklinde olduğu kaydedilmiştir. Memelilerde doku birikimine ait herhangi bir kanıt bulunamamıştır. Memeli akut oral toksisitesi ırk ve türler arasında çeşitlilik göstermekle birlikte cinsiyet farkı gözlemlenmemektedir (WHO- Pesticide residues in food, 1982).

Vektör kontrolünde kullanılan bendiocarb'ın güvenilirlik değerlendirmesi D.S.Ö. kapsamında değişik çalışmalarla gerçekleştirilmiştir (Bonsall ve Goose, 1986). Bu çalışmalar süresince dermal temas, absorpsiyon, metabolitlerin atılımı, tam kan ve plazma ChE'nin inhibisyonu ve klinik görünüm ve belirtilerle ilgili bilgiler toplanmaktadır. Aynı zamanda ChE aktivitesi deneyleri için kan alma teknikleri ve bendiocarb'ın dermal absorpsiyonu üzerine sıcaklık ve nemin etkisi ile ilgili çalışmalarda gerçekleştirilmiştir. Sıcak ve rutubetli koşullarda bendiocarb'ın ve muhtemelen diğer insektisitlerin dermal absorpsiyonu kolaylaşmaktadır ve böyle durumlarda insektisit uygulamalarına daha büyük özen gösterilmelidir.

Bendiocarb için geniş çaplı ilk güvenilirlik değerlendirmesi 1978'de güney İran'da gerçekleştirilmiştir (Motabar ve ark., 1981). Bu çalışmada bendiocarb'ın (Ficam) %1'lik püskürtme konsantrasyonu ve bütün müteakip çalışmalar için standart uygulama oranı haline gelen 400 mg/m<sup>2</sup> nominal uygulama oranı kullanılmıştır. Bu çalışmada püskürtücülerin bir lansetle delinen parmaklarından, heparinli kapiller tüplere alınan kapiller kan örnekleri kullanılmıştır. Bazı bireylerde püskürtme yapılan günün sonunda Ellman yöntemi ile ölçülen tam kan ChE aktivitesinin %60'lara kadar inhibe olduğu kaydedilmiştir. Bununla birlikte, derinin iyice yıkanmasına rağmen insektisitle kontaminasyonunun kapiller kan örneklerini kontamine edebildiği ve ChE aktivitesini inhibe ettiği ve böylece sistemik ChE inhibisyonunun yanıtıcı teşhisine sebep olduğu kaydedilmiştir (Rasmussen ve ark., 1963).

Daha sonraki bir çalışmada, ağustos 1980'de Tayland'da görünür ChE inhibisyonu araştırılmıştır (Bonsall ve Goose, 1986). Bu çalışmada püskürtmeler esnasında köylüler evlerinden çıkarılmış ve püskürtülen yüzeyler kuruduktan sonra evlerine

alınmışlardır. Püskürtmeden 24 saat sonra köylülerin ölçülen tam kanlarında belirgin bir ChE aktivitesi inhibisyonunun olmadığı fakat parmaktan alınan kanlarda %21 civarında bir ChE aktivitesi inhibisyonunun gerçekleştiği kaydedilmiştir.

Kemp ve Hounsell (1974) bir grup sıçana (cinsiyet dikkate alınmadan) 4 mg/kg/gün olarak uyguladıkları oral doz ile sıçanlarda her verilişten 10 dk. sonra plazma ve tüm kan kolinesteraz inhibisyonunu en yüksek düzeyde bulmuşlardır. Plazma ve tüm kan kolinesterazının normal seviyesine dönüşümünün, her bir dozun verilmesinden 30 dk. sonra başladığı gözlenmiştir. Bu geriye dönüşüm uygulamanın bitiminden yaklaşık olarak 3 gün sonra tamamlanmaktadır. Bu oral çalışmada bendiocarb'ın inhibitör etkisine karşı tam kan ChE'nin plazma ChE'ına göre daha hassas olduğu kaydedilmiştir.

Adcock ve Challis (1976) C<sup>14</sup>'lu bendiocarb'ın eliminasyonunu incelemiştir. 2 günlük uygulama süresince %95 in üzerinde olan eliminasyonun %89 u idrarla, %6 sı solunumla verilen hava ile ve %2 si feçesle olmuştur. İdrarda görülen başlıca metabolit, uygulamadan sonraki ilk 24 saat içinde idrarda bulunan ve  $\beta$ -glukuronid ve sülfat konjugatları olarak ekskret edilen fenoldür (NC 7312). İdrarda daha geç tespit edilen metabolitlerden biri N-hidroksi metil bendiocarb'tır. Hiçbir değişikliğe uğramamış ana bileşik idrarda bulunamamıştır. Serbest NC 7312 feçeste bulunan primer metabolittir. C<sup>14</sup>-bendiocarb az miktarda feçeste bulunabilmektedir.

Bendiocarb'ın diyet yoluyla verilmesinin bitiminden 6 gün sonra kesilen hayvanların doku analizlerinde C<sup>14</sup>'lü kalıntılar bulunmuştur (Yağ doku, karaciğer, böbrek, kas doku ve beyin)(Pearce ve Adcock, 1978). Yağ dokunun en yüksek kalıntı düzeyine sahip olduğu gözlenmiştir.

Bendiocarb'ın %80 ıslanabilir tozunun %40 (w/v) lık sulu süspansiyonu 50, 100, 200, 400 ve 800 mg aktif madde/kg (vücut ağırlığında) dozlarına dermal temas yoluyla maruz bırakılan bir grup sıçan ile yapılan çalışmada mortalite gözlenmemiş, toksik görünüm 200 mg/kg (vücut ağırlığında) ve üzerindeki dozlarda ve



doza bağlı şiddette karakteristik antikolinesteraz zehirlenmesi şeklinde gözlemlenmiştir (Sanderson, 1972). Tüm kan kolinesterazı 6 saatlik uygulama sonunda 200 mg/kg ve üzerinde sadece bir dozdan sonra ölçölmüş ve %30 civarında bir inhibisyon olduğu görölmüşür. 50 mg/kg dozunun ise ancak 15. uygulaması sonunda bu inhibisyon gerçekleşmiştir.

Tüm bu çalışmalar ışığında biz de çalışmamızı, bu konudaki bilgilere katkıda bulunmak üzere halk sağlığını tehdit eden sivrisineklerin henüz direnç geliştirmediği bendiocarb'ın bir memeli türü olan sıçanlara, laboratuvar koşullarında dermal ve oral etkisini araştırmak için kolinesteraz aktivitesindeki değişiklikleri incelemek üzere planlamış bulunuyoruz.

## 2-GENEL BİLGİLER

### PESTİSİTLER VE İNSANDAKİ METABOLİZMASI

Tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen haşereler, kemiriciler, mantarlar ve yabancı otlar gibi zararlılara karşı kullanılan kimyevi maddelere genel olarak pestisitler adı verilmektedir. Pestisitler içinde en çok kullanılanları insektisitlerdir. Bu nedenle insanlarda da en çok ölüme neden olanları yine insektisitler olmaktadır.

Pestisitler zehirli olan "Etkili Madde" içerirler. Bu etkili maddeye "Aktif Madde" denir. Etkili madde çok zehirli olduğundan doğrudan doğruya suda çözülemediği ve etkili madde olarak kullanımı zor olduğundan bu haliyle piyasaya verilmez, kullanım amaçlarına göre uyduğu bazı katı veya sıvı dolgu maddeleriyle karıştırılır. Aktif maddenin uyduğu dolgu ve katkı maddeleriyle karıştırılmasına "Formülasyon" adı verilir.

Kimyasal bir ilacın canlı organizmalar üzerindeki etkisi "Biyolojik Aktivite" olarak ifade edilir. Bir pestisit biyolojik aktivitesi etkili madde ile yakından ilgilidir. Ancak etkili maddenin formülasyonunda kullanılan dolgu ve katkı maddesi de o ilacın biyolojik aktivitesine müsbet veya menfi etki yapacaktır. Farklı dolgu ve katkı maddeleriyle formüle edilmiş aynı etkili maddenin farklı biyolojik aktivite göstermesi doğaldır.

Pestisitlerden gelen tehlikeyi etkileyen en önemli faktör dozajdır. Tehlikeli olmayacak derecede güvenli bir pestisit yoktur ve yanlış kullanıldıklarında ölümcül olabilirler.

Diğer bir önemli faktörde bu bileşiklerin kullanılış şeklidir, çünkü formülasyonlarda kullanılan maddeler pestisit toksisitesine katkıda bulunabilir.

Pestisitinin alınım yolu da önemlidir. Hemen hemen herkes pestisitinin mide yoluyla alınımının tehlikeli olduğunu bilir ve işçiler genellikle bunu solumanın tehlikesinin de bilinci içindedirler. Bununla birlikte pekçok kişi tehlikeli miktarda pestisitinin deri yoluyla alınabileceğinin farkında değildir.

Tehlike sıcaklıkla birlikte artar. Sıcak havada pestisitinin buharlaşması ve deri yoluyla absorpsiyonu daha hızlıdır (WHO-Safe Use of Pesticides, 1979).

### **TOKSİKOKİNETİK**

Zehirlenme olgularında organizmaya giren toksik maddelerin alınış yoluna ve miktarına göre değişik absorpsiyon, biyotransformasyon, dağılım ve atılım gösterirler (Dökmeci, 1988).

### **TOKSİK MADDELERİN ABSORPSİYONU**

Toksik maddelerin etkinliklerini gösterebilmesi için belirli bir konsantrasyonda membranlardan geçip etki yerine ulaşması gerekir. Bu konsantrasyon, alınan toksik maddenin miktarına ve absorpsiyon hızına bağlı olarak değişir ve kan dolaşımıyla organizmaya dağılır. ilaçlarda olduğu gibi bir dizi biotransformasyona uğrar, bazı dokularda depolanır ve kalanı değişik yollardan elimine olur.

Toksik maddelerin belirli bir konsantrasyonda vücut membranlarını geçmesi olayına absorpsiyon ya da emilim adı verilir. Memelilerde toksik maddeler biyolojik membranlardan geçişlerinde, diğer fizyolojik maddelerin (O<sub>2</sub>, yağ molekülleri ve gıda maddeleri) kullandıkları yollardan yararlanırlar. Toksik bir maddenin membranlardan geçişi başlıca iki şekilde olmaktadır. 1) Diffüzyon ya da pasif transport, 2) Özel transport.

## 1) Diffüzyon ya da Pasif Transport

Kimyasal maddelerin membrandan geçişleri membranın iki yüzü arasındaki konsantrasyon farkıyla gerçekleşmektedir. Yoğun olarak buldukları ortandan daha az yoğun oldukları ortama doğru molekül akımı vardır. Pasif transport filtrasyon ve basit diffüzyon şeklinde olmaktadır.

## 2) Özel Transport

Toksik maddeler hücre membranından sadece pasif transport ya da diffüzyonla geçmezler. Özellikle amino asitler, iyonlar, şekerler, purin bazları ve nükleik asit gibi maddelerin bir konsantrasyon gradientine ya da elektrokimyasal bir engele karşı membrandan geçişleri genellikle aktif transport, kolaylaştırılmış diffüzyon ve endositoz (Pinositoz) gibi özel transport sistemleriyle olmaktadır.

## SİNDİRİM SİSTEMİNDEN ABSORBSİYON

Zehirlenmeler en çok ağız yoluyla alınan, toksik maddelerle olmaktadır. Bu nedenle gastrointestinal absorbsiyon oldukça önemlidir. Ağız yoluyla alınan toksik maddelerin zararlı etkisi iki yolla olur. Birinci yol, bazı kostik ve iritatan maddelerin gastrointestinal sistem mukozasında oluşturduğu bozukluklardır. Bunların absorbe olup, oluşturacakları sistemik etkiden çok lokal zararlı etkileri önemlidir. Diğer yol ise zehirlenme diye adlandırdığımız toksik maddenin absorbsiyonu sonucu ortaya çıkan sistemik etkidir. Sindirim kanalından absorbe olan toksik madde, kan dolaşımı yoluyla tüm vücuda dağılarak bir zehirlenme tablosu ortaya çıkarır. Bu tablo zehirin türüne, şiddetine ve absorbe olan konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklikler gösterir.

Ağız yoluyla vücuda giren toksik maddelerin absorbsiyonlarının en fazla olduğu yer ince barsaklardır. Barsak mukozasının absorbsiyon alanının içerdiği villus ve

mikrovilluslarla mideye oranla çok daha yaygın olması, toksik maddelerin burada uzun süre kalmalarına, dolayısıyla mukoza ile daha çok temas etmelerine neden olmaktadır.

Toksik maddelerin gastrointestinal kanaldan absorbe olma hızı ve derecesinin belirlenmesinde fiziksel özellikler önemli rol oynar. Katı şekildeki toksik maddeler sindirim kanalında, önce desintegrasyona uğrarlar, yani ufak granül ve partiküller haline geçerler ve sonra bu tanecikler mide ve barsak sıvısında çözünerek absorbe olurlar. Sıvı şeklindeki özellikle yağda erirliği yüksek olan toksik maddeler, hızla absorbe olurlar.

ince barsak mukozasının aşırı vaskülarizasyonu ve geniş bir alana sahip olması, gıdalar kadar toksik maddelerinde absorpsiyonu için önemli bir ortam yaratmaktadır. ince barsakların proksimal segmenti oldukça uzun olduğundan burada toksik maddelerin absorpsiyonu daha fazladır.

#### **İNHALASYON YOLUYLA ABSORBSİYON**

Solunum yolundan inhale edilen toksik maddeler, irritan ya da kostik olarak lokal zararlı etkilere neden olabildikleri gibi çok vaskülarize ve geniş alanlı (50-100 m<sup>2</sup>) bir organ olan akciğerlerden absorbe olup önemli sistemik toksik etkilere de yol açabilmektedirler.

Alveol çeperi lipid yapılı bir membrandır. Yağda eriyen toksik maddeler pasif diffüzyonla absorbe olabılırlar. Solunum hızı ve hacmi ya da toksik maddenin konsantrasyonu inhalasyon yoluyla zehirlenmelerde önemli rol oynar.

#### **İNSEKTİSİTLERİN DERİ YOLUYLA ABSORBSİYONU**

Diğer maddelerin geçişinde olduğu gibi insektisitlerin deriden absorpsiyonunda da stratum corneum engel oluşturan (bariyer) bir tabakadır. Epiderminin zedelenmesi ya da ortadan kalkması absorpsiyonun artmasına neden olur (Bainova, A., 1981).

Deriden geçiş genellikle transepidermaldir. Epidermis ter bezleri ve kıl foliküllerinden 100-1000 kez daha fazla absorbsiyon alanına sahiptir. Yaş, cins, derinin yapısı, ortamın ısı ve nem durumu, temasta olan deri yüzeyi, kişisel duyarlılık ve derideki zedelenmeler gibi faktörler de insektisitlerin deriden absorbsiyonunu etkilemektedir. Çocukların cildi çok geçirgendir. Malathion ve Lindane'la bit tedavisi yapılan çocuklarda sık sık ölüm görülmüştür. Yaşlılarda epidermal değişmeler absorbsiyonu azaltır. Genç alışanlarda mesleki dermatozlar ve zehirlenmelere daha sık rastlanılır. Sıkı giysilerle ya da sıcak hava ve ortamda terlemenin artması sonucu derinin nemlenmesi permeabilitenin 4-5 kez daha fazla artmasına yol açar (Dökmeçi, 1988; WHO- Safe Use of Pesticides, 1979).

Ayrıca insektisitlerin kimyasal bileşimi, konsantrasyonu, bulaştığı cilt alanı ve süresi oldukça önemlidir. İyonize ve noniyonize insektisitlerin stratum corneumdan geçişleri farklıdır. Non-iyonize moleküller özellikle yağda eriyenler (liposolubl) lipid matriksin protein filamentleri arasından kolayca geçerler. Organofosfor, organoklor, civa, nitrofenol ve anilin içeren insektisitler yüksek dermal permeabiliteye sahiptirler. İyonize moleküller intrasellüler bölgede sulu faz ortamından geçerler. Alkali ve asit yapılı insektisitler stratum corneum tabakasını bozarlar.

### **TOKSİK ETKİNİN AZALMASI YA DA ORTADAN KALKMASI**

Organizmaya giren toksik maddenin oluşturduğu etki belirli bir süre sonra azalmaya başlar ve ortadan kalkar. Etkinin azalması ya da ortadan kalkması başlıca üç şekilde olmaktadır,

- 1- Redistribüsyon, 2- Biyotransformasyon, 3- Eliminasyon.

## Redistribüsyon

Yağda eriyen herhangi bir ilaç metabolize olup vücuda kan yoluyla dağıldıktan sonra damar çeperlerinden yağ dokusuna geçerek plazmadaki konsantrasyonu düşer. Bu ikinci dağılım evresine **redistribüsyon** adı verilir. İlaç sık sık ve yüksek dozda verilirse yağ dokusu satüre olacağından redistribüsyon gerçekleşemez ve beyin konsantrasyonu tehlikeli şekilde artarak, ilacın etkisi uzar ve kostik belirtiler ortaya çıkar. Aynı durum liposolübl diğer toksik maddeler, solventler ve gazlar için de geçerlidir.

## Biyotransformasyon

Toksik maddeler ve ksenobiyotiklerin (xenos: yabancı, bios: yaşam) enzimlerin etkisi ile daha az etkili ya da etkisiz bileşikler (metabolit) şekline dönüşmesine **biyotransformasyon** ya da detoksifikasyon (zehirsizlenme) adı verilir. Ancak bazen biyotransformasyon sonucu daha toksik bileşikler oluşabilir.

Karaciğer, liposolübl molekülleri, inaktif, kolay elimine olan ve polar hidrofil bileşikler şekline dönüştürebilmektedir (Dökmeçi, 1988).

Bugünkü düşüncelere göre ksenobiyotikler iki aşamada biyotransformasyona uğrarlar. Birinci aşamada bileşiğin yapısındaki OH, NH<sub>2</sub>, COOH ve SH gibi reaktif fonksiyonel grupların ortaya çıkmasını sağlayan ve büyük değişikliklere sebep olan hidroksilasyon meydana gelir. Bu gruplar ikinci biyotransformasyon aşaması için ksenobiyotiklerin ve ortamın polaritesini arttırmaları. Bazı hidroksilasyon ürünleri daha başka değişime uğramadan vücuttan elimine edilir. Diğer bazıları ise endojen moleküllerle (glukuronik asit, sülfürik asit, glisin v.b.) konjugasyon reaksiyonlarını içeren biyotransformasyonun ikinci aşamasına yönelirler. Meydana gelen metabolitler, renal atılımlarını kolaylaştıran daha az lipotropik, daha polarize ve daha fazla suda çözünür bir karakterdedir (Kaloyanova, F. ve

Tarkowski, S., 1981).

Yabancı maddelerin biyotransformasyonunun yapıldığı başlıca yer hepatositlerin endoplazmik retikulumlarıdır. Burada hidroksile edici enzim sistemi (HES) lokalize olmuştur ve ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunun birinci aşamasında faaliyet gösterir (Popov, 1981).

Başlıca biyotransformasyon yolları oksidasyon, redüksiyon konjugasyon, hidroliz ve oksidatif desülfürasyondur (sülfür yerine oksijen geçmesi).

### **Renal Eliminasyon**

Toksik maddeler değişik yollarla vücuttan elimine olurlar. Böbrekler diğer maddelerde olduğu gibi toksik maddelerin de eliminasyonunda önemli organlardır. Bununla birlikte bazı spesifik bileşiklerin eliminasyonunda diğer yolların da önemi vardır. Örneğin, karaciğer ve safra yolları, DDT ve kurşun, akciğerler, CO eliminasyonunun gerçekleştiği organlardır. Gözyaşı, ter ve süt gibi diğer vücut sıvılarından az da olsa toksik madde elimine olabilmektedir.

Böbrekler, pasif glomerular filtrasyon, pasif tübüler diffüzyon ve aktif tübüler sekresyon mekanizmalarıyla toksik bileşikleri idrarla vücuttan uzaklaştırır.

### **Safra Yoluyla Eliminasyon:**

Toksik maddeler, absorbe olup karaciğere ulaştıktan sonra safra kanallüküllerinden bir konsantrasyon gradientine karşı aktif transportla elimine olurlar. Safra içinde toksik madde konsantrasyonu, plazma konsantrasyonunun 20-500 katı fazla olabilmektedir.

Safra yoluyla ince barsaklara dökülen toksik maddeler oradan yeniden emilerek karaciğere ulaşırlar ve tekrar safra yoluyla barsaklara atılırlar. Böylece safradan elimine olan toksik maddenin sonradan reabsorbe olmasıyla "enterohepatik siklus"



oluşur ve bu maddelerin vücutta kalış süresi uzar.

Safra yollarının mekanik olarak tıkalı olması durumunda bu yoldan elimine olan maddeler vücutta yüksek oranda birikebilirler.

## **İNSEKTİSİTLER VE SINIFLANDIRILMASI**

Pestisitler, yapısında bulunan etkin maddeye (klor, fosfor, karbamat), uygulandığı yüzeylerdeki kalıcılığına, hangi yolla etki ettiğine (temas yolu, sindirim yolu, solunum yolu), etkili olduğu zararlı organizma gruplarına ve formülasyon şekillerine göre sınıflandırılırlar.

Kimyasal yapılarına göre insektisitler doğal organik bileşikler ve sentetik organik bileşikler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Bitkisel kökenli bileşikler ve petrol bileşikleri Doğal Organik Bileşikleri oluştururlar. Doğal pirethroidlerde denen Bitkisel kökenli bileşikler temas yolu ile vücuda girerek sinir-kas sistemi üzerine zehir etkisi yaparlar. Pyrethrum (Pyrethrine) ve rotenone bu gruba örnek olarak verilebilirler. Pyrethrum çeşitli Chrysanthemum türlerinin çiçeklerinden elde edilir. Ancak bu madde hava ile temas edince okside olur. Su ile temas edince de hidrolize olur. Bu nedenle kalıcılık süresi kısadır. Kalıcılık süresinin kısalığı ve pahalı oluşu nedeniyle ancak diğer insektisitlere karşı direnç kazanmış olan böceklere karşı uygulanmaktadır. Bazı baklagillerin kökünden elde edilen rotenone ise hem temas hem de mide zehiri olarak etkilidir (Kasap M., 1989; Erel, 1966).

Sentetik organik bileşiklerin son 10-15 yıl içinde en çok kullanılanları 3 esas gruba ayrılır:

### **1. ORGANOKLORLU İNSEKTİSİTLER**

Ağız, inhalasyon ve kontakt yollardan zehirlenmelere neden olan organoklorlu insektisitler asiklik ve siklik çeşitli hidrokarbonların klorlandırılmasıyla elde edilirler. Önemli

ölçüde yağda erir özelliklerinden dolayı nörolojik toksisiteleri büyüktür. Etki sürelerinin uzunluğu organofosfor bileşiklerden daha fazladır. DDT, DLN (Dieldrin), BHC (Benzen heksaklorit) bu gruptandır. Bu bileşiklerin çoğu uzun ömürlü olduklarından çevrede kimyasal madde birikimine neden olur ve besin zinciri yoluyla insan, balık ve diğer hayvanlarda yağ dokusu içinde birikirler. Diğer taraftan çoğu zararlı ve vektör böcekler bu ilaçlara karşı dirençli hale gelmişlerdir. Örneğin, 1953-1960 yılları arasında DDT sivrisinek savaşımında etkinken sonradan oluşmaya başlayan direnç, 1959 larda Diieldrin'in DDT'nin yerini almasına neden olmuş ve daha sonra Diieldrin'e karşı da direnç oluşmuştur. Son 5-10 yıl içinde vektörlerin direnç kazandığı yerlerde, organoklorlu insektisitlerin kullanımına son verilerek organofosfatlı bileşiklerin kullanımına ağırlık verilmiştir.

## 2-ORGANOFOSFORLU (ORGANİK FOSFORLU) İNSEKTİSİTLER

Çok toksik olan organofosforlu insektisitler yaygın olarak tarımda kullanılmaktadır. 1942 yılından günümüze kadar 50.000 den fazla türevi sentez edilmiştir. Bunlar, halojenli ya da halojensiz fosfat, tiyofosfat, ditiofosfat v.b. bileşiklerdir.

Organofosforlu insektisitlerin başlıca etki mekanizmaları ChE aktivitesinin inhibisyonu (antikolinesteraz) yoluyla'dır. Organofosfor bileşikleri asetilkolinesteraz enzimini irreverzibl olarak inhibe edip periferde bütün kolinerjik kavşaklarda ve sinapslarda asetilkolin birikmesine neden olarak, postsinaptik membrandaki muskarinik ve nikotinik reseptörleri uyarırlar (Dökmeci, 1988). Müskarınik tipteki etkiler genellikle hipersalivasyon, terleme, bulantı, kusma, abdominal ağrılar, akut akciğer ödemi, kan basıncında düşme v.b. etkilerdir. Nikotinik tipteki etkiler ve çizgili kasların paralizi otonomik bozuklukların ağırlaşmasıyla ve müküler bozukluklarla karakterizedir. Ateş ve dehidratasyon yanında önce dil ve göz kapakları sonra diğer iskelet kaslarında fibrilasyonlar, konvülsif krizler daha sonra özellikle solunum kaslarını da içine

alan yaygın bir çizgili kas paralizi şekillenir. Santral sinir sistemiyle ilgili belirtilerin başlıcaları baş dönmesi, baş ağrısı, kulak çınlaması, uykusuzluk, konuşma güçlüğü, reflekslerin bozulması, konvülsiyonlar yanında daha birçok santral belirtiler görülür. Ölüm, genellikle solunum merkezinin ve solunum kaslarının felci ve bronkospazm sonucu solunumun durmasıyla olur. Bazen kardiyovasküler paraliz sonucu ani kalp durmasıyla da ölüm şekillenebilir.

Organoklorlu insektisitlere göre daha az dayanıklıdırlar ve suda kolay hidrolize olurlar. Dolayısıyla kalıcılık etkileri organoklorlulara göre daha kısa, ancak insan ve diğer canlılara toksisitesi daha fazladır. Kalıcılık süreleri kısa olduğundan daha sık uygulama gerektirmektedirler. Bu nedenle daha pahalıdırlar. Malathion, Fenithrothion, Parathion, Dichlorvos, Fenthion, Pirimiphos-methyl (Actellic) ve Temephos (Abate) bu gruptandır. Alkali yüzeylerde yapısal bozukluğa uğradıklarından taze kireç badanası yapılmış yüzeylere uygulanmamalıdır (Kasap M., 1989).

### 3-KARBAMATLI İNSEKTİSİTLER

Bitkilerde mantar hastalıklarının önlenmesi amacıyla 1930 yılından günümüze kadar fungusit ve herbisit olarak karbamik amid (Karbamid) türevi bileşikler yaygın olarak kullanılmaktadır (Dökmeçi, 1988). Vektörlerde organoklorlu ve organofosfatlı bileşiklere karşı direnç oluşunca karbamatlı bileşikler uygulamaya konmuştur. Etki mekanizması organoklorlu bileşiklerde olduğu gibi kas-sinir sistemi üzerine ve organofosfatlılar gibi asetilkolinesteraz aktivitesinin bloke edilmesi üzerinedir. Ancak reverzibl olarak ChE inhibisyonu yaptıklarından memelilerdeki toksik potansiyelleri organofosfatlılara göre düşüktür. Bunlar sadece adultisit olarak kullanılırlar. Temas zehiridirler. Bendiocarb, karbaryl ve propoxur bu gruptandır (Kasap, M., 1989).

Karbamatlılarla ChE'lar arasındaki reaksiyon karbamilasyon şeklinde olduğundan enzimden dekarbamilasyon şeklinde ayrılması

kolay olur. Ayrıca karbamat bileşiklerinin metabolitleri organizmada SH-enzim gruplarıyla reaksiyona girerek metal şelatları oluştururlar. Bu etkileriyle alfa-ketoglutaroksidaz, piruvat dehidrojenaz, süksindehidrojenaz, tirosinaz, sitokromlar ve krebs siklusunun enzim sistemlerini *in vivo* ve *in vitro* inhibe ederler. Bunun sonucu doku metabolizmasında değişme ve bozukluklara yol açtıkları da ileri sürülmektedir (Dökmeçi, 1988).

Çalışmamızda karbamatlı bir insektisit olan bendiocarb kullanılmıştır.

#### BENDIOCARB'IN TEKNİK ÖZELLİKLERİ

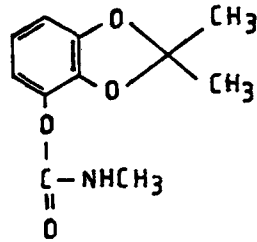
Ticari adı Ficam W ve Garvo<sup>R</sup>, Seedox<sup>R</sup>, Turcam<sup>R</sup>, Multamat<sup>R</sup>, Niomil<sup>R</sup>, Tattoo<sup>R</sup>, Ent-27695, OMS 1394, NC 6897 gibi sinonimleri mevcut olan bendiocarb (FBC limited ürünü. Hauxton, Cambridge, U.K.) ilk olarak 1967 yılında Chesterford Park Research Station, Fisons Agrochemical Division (U.K.) da hazırlanmıştır (Bonsall ve Goose, 1986). Katı, beyaz kristal formdadır ve kimyasal olarak şu üç şekilde isimlendirilebilmektedir (WHO- Pesticide residues in food-Evaluations, 1982):

2,3-isopropylidene-dioxyphenyl methyl carbamate.

2,2-dimethyl-1,3-benzodioxol-4-yl N-methyl carbamate.

2,2-dimethyl-1,3-benzodioxol-4-ol methyl carbamate.

Yapısal formülü:



şeklinde olup, moleküler formülü: C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub> şeklindedir. Moleküler ağırlığı 223.25 tir. Organik çözücülerin çoğu ile

çözülür. Teknik materyal tipik olarak %98 saflıktadır. Bendiocarb, suda ıslanabilen toz (200, 500 ve 800 gr. a.i\*/kg); granül (30, 50 ve 100 gr. a.i./kg); toz (10 gr.a.i./kg); ULV uygulaması için yağ süspansiyonu (250 gr.a.i./kg); rezidual püskürtme; boyama ve granüler tuzak yemler ve aerosolleri içeren çok çeşitli formülasyonlara sahiptir (WHO- Pesticide residues in food-Evaluations, 1988).

#### 4- PYRETHROİTLER

Sentetik olarak elde edilmiş olan Pyrethrinlerdir. Etki mekanizmaları doğal prethrinlerinki gibi kas-sinir sistemi üzerinedir. Bunlar genel olarak ani etki (knock-down) yaparlar. En çok kullanılanları allethrin, resmethrin ve permethrin'dir.

Sentetik organik bileşikler grubuna dahil olan Böcek büyüme hormonları, Feromonlar ve Mikrobial insektisitlerin ise günümüzde kullanımları çok sınırlıdır.

#### KOLİNESTERAZLAR

Santral ve periferel reseptör bölgelerinden salınan asetilkolin (ACh) bir uyarıcıdır ve sinir iletimini veya kas kontraksiyonunu başlatır (Mary Lund Mortensen, 1986). Asetilkolin reseptörleri muskarinik ve nikotinik olarak karakterize edilmişlerdir. Muskarin, parasempatik sinir sisteminin etkilerine benzer etki gösteren bir maddedir. ACh'in düz kas ve bez hücrelerine olan etkisini taklit eder. Bu nedenle, ACh'in düz kas ve bez hücrelerini uyarma etkisine «muskarinik etki» denir. Nikotin ise az dozda iskelet kasını ve otonomik ganglionları ACh gibi stimüle eder. Yüksek dozda ise paralyze eder. ACh'in çizgili kası ve ganglionları stimüle etme etkisine «Nikotinik etki» denir. Periferel sinir sisteminde ACh, otonomik ganglion,

---

a.i\*: active ingredient: aktif madde.

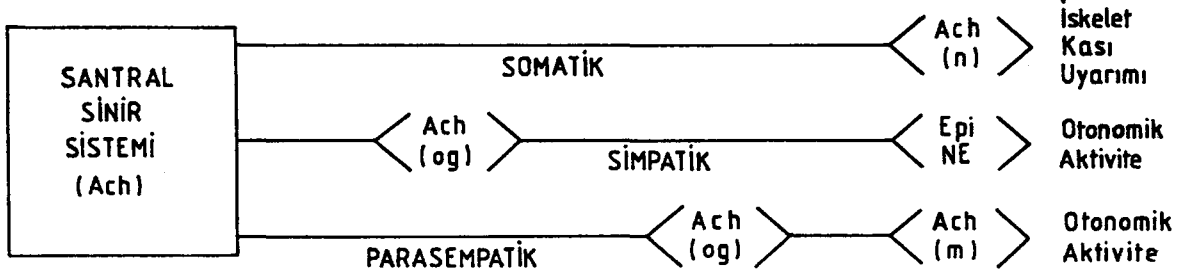
simpatik ve parasimpatik preganglionik sinapslar, parasimpatik postganglionik sinapslar ve iskelet kası nöromuskular bağlantılarından salınır (Şekil 1). Nikotinik reseptörler nöromuskular bağlantı ve otonomik ganglionlarda bulunurlar. Muskarinik reseptörler ise parasempatik postganglionik konumda lokalize olmuşlardır. Bu muskarinik reseptörler anatomik olarak düz kaslarda, ekzokrin bezlerde ve kalpte bulunurlar. Santral sinir sisteminde (SSS) asetilkolin reseptörleri geniş çapta dağılmışlardır. Organofosfatların etkisiyle ilgili olarak, bu reseptörlerin en önemli SSS lokasyonu medullada respiratorik ve kardiovasküler merkezlerdedir. Asetilkolin impulsun iletilmesinde aracılık ettikten sonra asetilkolinesteraz tarafından yıkılır ve böylece gelen impulslar eğer gerekliyse iletilir (Şekil 2) (Noyan, A. , 1981). Aksi takdirde sinir, elektriksel olarak yüklenmiş halde kalırdı (şarj halde) ve bundan başka iletim mümkün olmazdı. İnsan dokularında kolinesteraz aktivitesine sahip fakat farklı orijinli ve farklı substrat özgüllüğünde olan iki enzim mevcuttur:

1- Plazma ve serumda, karaciğer, pankreas, kalp ve beynin ak maddesinde bulunan pseudokolinesteraz veya serum kolinesterazı (ChE).

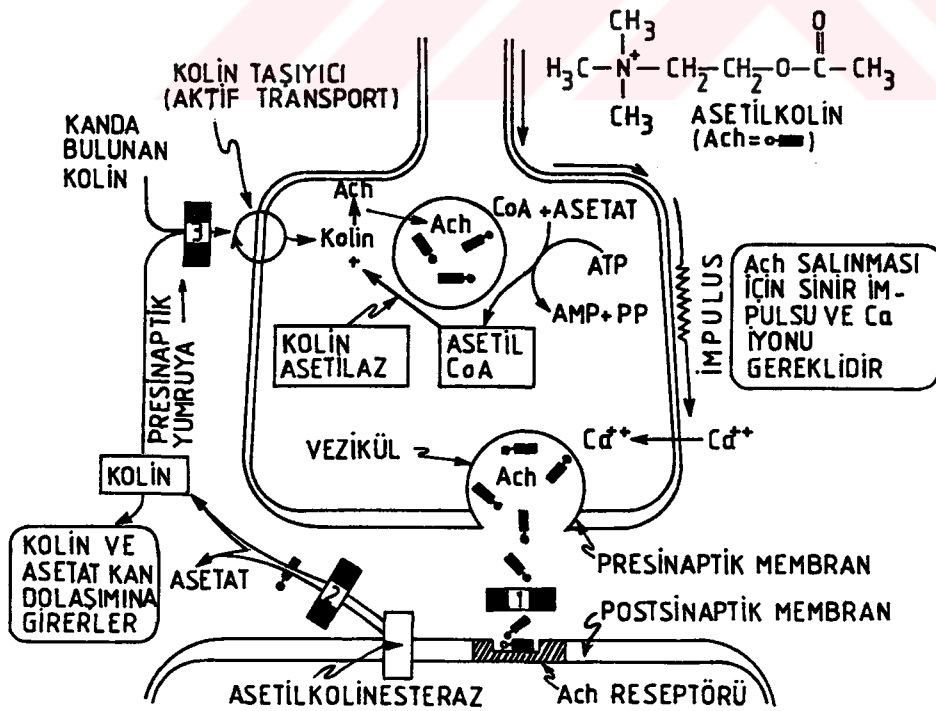
2- Başlıca eritrositlerde, akciğerlerde ve dalakta, sinir hücresi uçlarında ve beynin boz maddesinde bulunan ve Gerçek kolinesteraz veya Kırmızı hücre kolinesterazı olarak ta geçen Asetilkolinesteraz (AChE). Bu enzim, enzim komisyonu tarafından ayrı bir enzim olarak tanımlanmıştır (EC 3.1.1.7; Asetilkolin asetil hidrolaz).

Her iki enzim de yapılarında (aynı zamanda kolinde de mevcut olan) quaterner yapıda nitrojen içeren prostigmine ve physostigmine alkaloidleri tarafından inhibe edilirler. Bunlar, enzim yüzeyinin bağlanma bölgesi için asetikolinin kolin kalıntıları ile rekabet eden tipik kompetitif inhibitörlerdir. Her iki enzim de diisopropylfluorophosphate gibi bazı organik fosforlu bileşikler tarafından irreverzibl olarak inhibe edilirler.

Son organ cevabı :



Şekil 1. Santral ve periferel sinir sisteminde asetilkolin (ACh). ACh üç periferel bölgede yer alan bir nörotransmitterdir: nikotinik aktivitenin dominant olduğu nöromuskular bağlantılarda ve otonomik ganglionlarda (n); muskarinik aktivitenin dominant olduğu postganglionik reseptör bölgelerde olmak üzere. Norepinefrin (NE) ve adrenal medulladan salınan epinefrin (Epi) postganglionik simpatik reseptörler de görev görürler.



Şekil 2 : Nörotransmitter asetilkolin'in etki mekanizması.

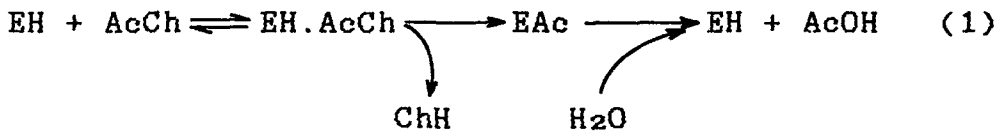
Serum kolinesteraz seviyesinin saptanması bir karaciğer fonksiyon testi, muhtemel bir insektisit zehirlenmesi indikatörü olarak veya enzimin atipik formuna sahip hastaların ortaya çıkarılması için istenebilir. Görünüşe göre sağlıklı insanlardan elde edilen değerlerin dağılımı 4 ve 12 U/ml (37 °C) arasında değişen geniş bir aralığı kapsar (Dietz ve ark., 1973a, b).

Yenidoğan ve 6 aydan küçük bebeklerde ChE değerleri yetişkin seviyesinin %40-50'si kadardır. 18-35 yaş arası kadınlar yetişkin erkeklerdeki değerlerin %64-74'ü kadar ChE seviyesine sahiptirler. 70-80 yaşlarındaki kadın ve erkekler genç kadınlardaki değerlerden pek farklı olmayan değerlere sahiptirler. ChE hamilelik esnasında azalır (King, M.E., 1986).

#### Asetilkolinesterazın Reaksiyon Mekanizması

Böcek erginleri üzerine etkili bütün organofosforlu ve karbamatlı insektisitlerin etki yeri, sinaptik transmitter asetilkolini hidrolize eden asetilkolinesteraz enzimidir (Corbett, 1974).

Omurgalılardaki enzimin etki mekanizması detaylarıyla anlaşılmıştır (Englehard ve ark., 1967). Fakat böceklerdeki enzim ile ilgili bilgiler insektisitlerin etki şekline daha uygundur ve Hellenbrand ve Krupka (1970) karasineğin baş asetilkolinesterazı için bir etki mekanizması önermişlerdir. Bu mekanizma omurgalı enziminin mekanizmasına oldukça benzemektedir:



(1) Eşitliğinde:

EH : Enzim,

AcCh : Asetilkolin,



EH,AcCh: Enzimle substrat arasındaki geriye dönüşümlü ara kompleks,  
EAc : Asetile enzim,  
ChH : Kolin, ve  
AcOH : Asetik asittir.

Yani enzim başlangıçta substratla bir kompleks oluşturur. Sonra kolinin serbest bırakılmasıyla enzim asetile hale gelir. Su ve asetile enzimin reaksiyonu ile asetik asit ve orijinal serbest enzimi oluşturmak üzere deasetilasyon gerçekleşir. Reaksiyon resimli formda şek. 3 de gösterilmektedir.

Omurgalı enziminin iki bağlanma bölgesi içerdiğine dair genel bir görüş mevcuttur (Englehard ve ark., 1967; Wilson, 1971) (Şek. 4) ve muhtemelen böceklerdeki enzim de benzer yapıdadır. Bir glutamat grubu içerebilen anyonik uç, asetilkolinin pozitif yüklü nitrojen atomuyla etkileşim halindedir (Anyonik uç, pozitif yüklü quaterner amonyumunu kendisine çeker). 0,5 nm. kadar uzağında bulunan esteratik uç (Wilson, 1960; Krupka, 1965) dört değerli bir kök içerir ve asetilkolinin ester bağının ayrılmasından sorumludur. Bu bir serin grubu içerir ve asetilkolinin, asetil bölümünü kendisine çeker. Reaksiyon esnasında serin grubunun asetile olduğu düşünülmektedir.

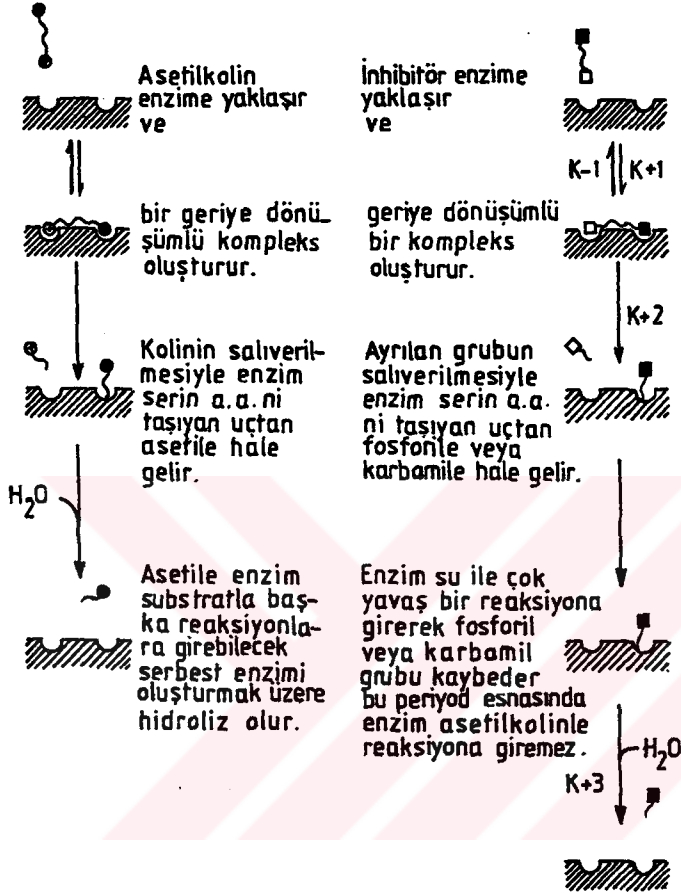
Anyonik kutupta, asetilkolinin hidrolizi sonucu kalan kolinin de buradan kopmasıyla asetilkolinesteraz yeni asetilkolinleri hidrolize etmeye hazır duruma geçer.

### **Asetilkolinesterazın Organofosforlu ve Karbamatlı İnsektisitlerle İnhibisyon Mekanizması**

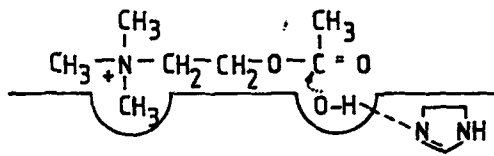
Asetilkolinesterazın inhibisyonu üzerine modern çalışmalar Aldridge (1971) ve Wilson (1967) tarafından özetlenmiştir. Organofosforlu ve karbamatlı bileşiklerinin her ikisi tarafından üretilen inhibisyonun esas özelliği enzimle normal substratın bir analogu olarak reaksiyona girmeleridir (Corbett, 1974).

Organofosfatlı bileşikler asetilkolinesteraz enziminin aktif merkezi ile sadece esteratik kutupta dört değerli kök ile

SUBSTRATIN NORMAL HİDROLİZİ İNHİBİTÖRLE REAKSİYON

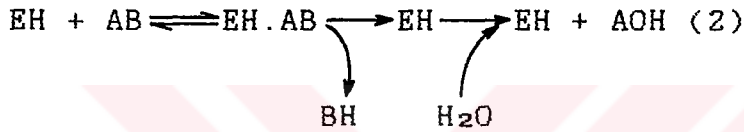


Şekil 3 : Asetilkolinesterazın normal substratı ve organofosforlu veya karbamat inhibitörlerle reaksiyonunun şematik gösterimi.



Şekil 4 : Asetilkolin ile asetilkolinesteraz arasındaki olası bir bağlanmanın şematik gösterimi.

kovalent bağla birleşir. Asetil kökü ile de birleşen esteratik kutup su ile kimyasal reaksiyon yaparak kolaylıkla asetil kökünü atabilir, fakat organik fosfor bileşiklerini atamaz. Çok yavaş ilerleyen bu kimyasal olay pratik olarak irreverzibl kabul edilir (Dökmeci, 1988). inhibitör etki fizyolojik reaksiyondaki asetile enzimle karşılaştırma yapacak olursak nisbeten fosforile veya karbamile enzimin daha uzun süreli olmasından kaynaklanmaktadır (şek 3). Asetilkolinesterazın (EH) bir inhibitörle (AB) reaksiyonu şu şekilde yazılabilir:



Burada A fosforile veya karbamile grubu, B ise ayrılan grubu göstermektedir.

### Fosforile veya Karbamile Asetilkolinesterazın Reaktivasyonu

Asetilkolinesterazın organofosforlu ve karbamatlı insektisitler tarafından hidroliz oranı defosforilasyon veya dekarbamilasyon oranı ile tayin edilmektedir ve bu, en yavaş basamağı oluşturmaktadır. Asetilkolinesteraz normal substratı olan asetilkolin ile reaksiyona girdiği zaman deasetilasyon oranı 37°C ta, dakikada aktif merkez başına en azından 295.000 ve daha yüksek oranda moleküldür. Fosforile veya karbamile enzimin spontan reaktivasyon oranı en azından 10<sup>5</sup> veya 10<sup>6</sup> faktör oranında daha düşüktür (Aldridge, 1971).

### 3-ARAŞTIRMANIN AMACI

Çukurova'da sivrisinek mücadelesinde ve tarımsal zararlılarla mücadelede 1990 yılından itibaren kullanılmaya başlıyan Bendiocarb'ın püskürtme yapılmış yerlerde diğer canlıları nasıl etkilediğinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bendiocarb, halk sağlığı ve endüstride özellikle böcek ve diğer zararlı eklembacaklıların kontrolü için geliştirilmiş karbamatlı, geniş spektrumlu bir insektisittir. Temas ve mide zehiri olan Bendiocarb beyin ve kan kolinesterazlarının dönüşümlü bir inhibitörüdür. Bendiocarb'ın toksisitesinin belirlenmesi için kolinesteraz aktivitesi ölçümü en duyarlı parametredir. Bu nedenle kan kolinesteraz aktivitesindeki değişiklikler insektisit etkisini belirlemede önemli bir kriterdir. Çalışmamızda bu konudaki bilgilere katkıda bulunmak üzere halk sağlığını tehdit eden sivrisineklerin henüz direnç geliştirmedeği bir insektisit olan Bendiocarb'ın bir memeli türü olan sıçanlara, laboratuvar koşullarında dermal ve oral olarak etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun için aşağıda belirtilmiş olan deney serileri sırasıyla gerçekleştirilmiştir.

- 1- Sıçan serumunda normal kolinesteraz seviyesinin saptanması.
- 2- Bendiocarb'ın (%80 W.P.) dermal ve oral değişik dozlarının laboratuvar koşullarında sıçanlara *in vivo* etkisinin incelenmesi.

a) Çukurova'da uygulanan %1'lik püskürtme dozuna tekabül eden 100 mg/kg ve sıçanlar için dermal LD<sub>50</sub> değeri olan 566 mg/kg dozlarını içermek üzere; 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarında hazırlanmış insektisit emdirilmiş petlerin, hayvanların traş edilmiş sırtlarına günde 6 saat, haftada 5 gün tutularak serum ChE aktivitesindeki değişikliklerin ve sıçanların besin alma durumu ile vücut ağırlığına etkisinin incelenmesi.

b) Sıçanlar için oral LD<sub>50</sub> değeri olan 45-48 mg/kg dozunun (50 mg/kg) ve bu dozun bir üst dozu (100 mg/kg) ve bir alt dozunun (25 mg/kg) sıçanlara gastrik lavajla 3 gün süreyle uygulanması ile serum ve tam kan kolinesterazındaki değişikliklerin incelenmesi. Bendiocarb'ın metabolizma çalışmalarında kullanılan 2.5 mg/kg ve üst dozları olan 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozlarının sıçanlara gastrik lavajla 3 gün süreyle uygulanması ile serum ve tam kan ChE'ındaki değişikliklerin ve sıçanların besin alma durumu ile vücut ağırlığına etkisinin incelenmesi.

3- Teknik Bendiocarb'ın enzim üzerindeki *in vitro* inhibisyonunun gösterilmesi.

a) Çukurova'da uygulanan %1'lik püskürtme dozuna tekabül eden 100 mg/kg ve sıçanlar için dermal LD<sub>50</sub> dozu olan 566 mg/kg dozları gözönüne alınarak hazırlanan 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarının serum kolinesteraz aktivitesi üzerindeki *in vitro* inhibisyonlarının incelenmesi.

b) 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozlarının serum kolinesteraz aktivitesi üzerindeki *in vitro* inhibisyonlarının incelenmesi.

#### 4- ARAÇ GEREÇ VE YONTEMLER

##### 1- ARAÇ VE GEREÇLER

###### KİMYASAL MADDELER

Çalışmada kullanılan ayıraçlar, Disodyum hidrojen fosfat ve potasyum dihidrojen fosfat Merck (Almanya)'ten; Ditiobis 2 nitrobenzoik asit, propioniltiokolin iyodid ve Quinidin sülfat Sigma (ABD)'dan temin edildi.

###### BIYOLOJİK MATERYAL

Biyolojik inceleme materyali olan albino sıçanlar (*Mus rattus*) ergin erkekler olup Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Araştırma Merkezi'nden (DECAM) temin edildi.

###### CİHAZLAR VE DİĞER GEREÇLER

Çalışmada kullanılan ayıraçların hazırlanmasında Sartorius terazi ve Elektro-Mag karıştırıcı, kan örneklerinden serum elde etmede Shimadzu 321-33557 terazi ve Nüve (NF-415) santrifüj, Kolinesteraz enzim aktivitesi ölçümlerinde Shimadzu UV-160 spektrofotometre ve Grant Benmari cihazları kullanılmıştır. Sıçanların tartılmasında ise Baster terazi kullanılmıştır.

##### 2-YONTEMLER

###### KOLORİMETRİK KOLİNESTERAZ ÖLÇÜM YONTEMİNDE KULLANILAN BELİRTEÇLERİN HAZIRLANMASI

a) Fosfat Tamponu: 0.036 mol/lt., PH: 7.6

1- 800 ml. su içinde 4.73 gr.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  çözdürülüp 1 lt.'ye

tamamlanarak 0.036 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  çözeltisi hazırlanmıştır.

2- Final hacmi 1 lt. olacak şekilde saf su içinde 13.6 gr.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözdürülerek 0.1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözeltisi hazırlanmıştır.

3- 7.6 lık final pH sını sağlamak için 950 ml. 0.036 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 50 ml. 0.1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -le karıştırılmıştır (Bu tampon 4-8 °C ta 3 ay kadar stabildir).

b) Substrat çözeltisi (Propionylthiocholine iodide çözeltisi: PTCI)

606 mg PTCI 100 ml saf suda 20 mM olarak hazırlanmıştır. Oda ısısında 1 gün stabil olduğundan çalışmalarımızda günlük olarak hazırlanmıştır.

c) 5-5'-Dithiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)

167 mg DTNB fosfat tamponunda (0,036 M) final hacmi 1 lt. olacak şekilde 0.421 mM konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Kahverengi cam şişede 4 °C de muhafaza edildiği takdirde 12 ay bozulmadan kalabilir.

d) Quinidine Sülfate

500 mg Quinidine Sülfate 100 ml. saf suda 14 mM olarak hazırlanmıştır. Oda ısısında 1 yıl kadar dayanıklıdır.

### **BIYOLOJİK MATERYALİN HAZIRLANMASI**

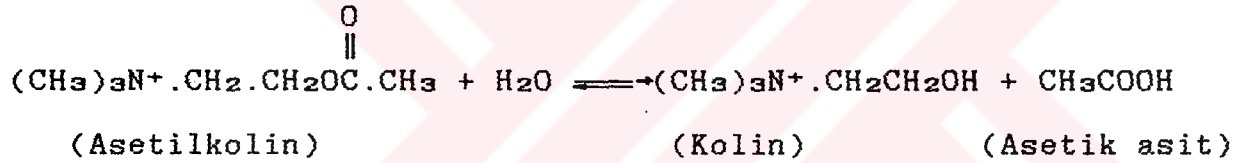
OP ve CM insektisitlerle etkileşim sonucu plazma enzimi hemen hemen daima eritrosit kolinesterazından önce inhibe olur (Holmstedt, 1971). Bu çalışmalar ışığında biz de sonuca daha kısa zamanda ulaşmak amacıyla enzim aktivitesindeki değişiklikleri, serumda plazma enziminde gözlemlemeyi uygun bulduk. Kolinesteraz enzim aktivitesi çalışılacak hayvanların kanları, doğrudan kalpten girilerek, 2 cc'lik siyah uçlu steril enjektör kullanılarak alınmıştır. En az 30 µl. serum gerektiğinden antikoagülansız tüplerin herbirine 1 ml.'ye yakın kan alınmıştır. 3000 devirde 10 dk. santrifüj edilen kanlardan elde edilen serumlar mümkün olduğunca çabuk çalışılarak, beklemeden dolayı ortaya çıkabilecek enzim aktivitesi düşüşlerinin minimuma indirilmesine özen gösterilmiştir. Normal olarak serumda

kolinesteraz aktivitesi oldukça stabildir, oda sıcaklığında altı saat, 0-5 °C'ta birkaç hafta bozulmadan kalır, fakat dondurulmuş preparatın çözdürülmesi ve tekrar dondurulması % 30 lara varan aktivite düşüşü ile sonuçlanabilir (Dietz et al., 1973a).

Sıçan serumunda normal kolinesteraz seviyesinin saptanması amacıyla toplam 20 sıçan kullanıldı. Kolinesteraz enzimlerinin spesifik aktivitelerine ait elde edilen değerler için aritmetik ortalama ve standart hata istatistikleri yapılarak ortalamalar bulundu.

### SERUM KOLİNESTERAZININ PROPİONYLTHİOCHOLİNE-DİTHİOBİS NİTROBENZOİK ASİD İLE ÖLÇÜM YÖNTEMİ

**Prensip:** Asetilkolinin hidrolizi aşağıdaki gibi formüle edilebilir:



ChE için bugünkü deneylerin çoğu spektrofotometrikdir, burada ChE; asetil, propionyl ve butyrylthiocholin veya bunların iodide tuzlarını substrat olarak kullanır. Asetilkolinin hidrolizi sonucu serbest kalan tiyokolinle reaksiyona girmek üzere 5-5'-Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ( 0.421 mM ) eklenir ve yeşil renkli 5 tiyo-2-nitrobenzoik asit bileşiği oluşur.

Çalışmada kullanılan yöntem, Dietz ve arkadaşlarının (1973a, b) Ellman yönteminden yararlanarak geliştirdikleri serumda ChE aktivitesi analizi prensibini esas almaktadır.



### ChE aktivitesini ölçüm yöntemi

1- Biri "test" biri "kör" olmak üzere örnek ve kontrol için 2 test tüpü hazırlanır.

2- Heriki tüpe 3 ml. 0.421 mM DTNB eklenir ve dengelenme için 37 °C'lik su banyosunda 5 dakika bekletilir.

3- Herbir test tüpüne 1 ml. serum (1:100 sulandırılmış) eklenir. Dilüsyondan sonra ChE yavaş yavaş aktivitesini kaybettiğinden deneyden hemen önce distile su ile sulandırım yapılmalıdır.

5- Tam olarak 3 dakika sonra reaksiyonu durdurmak üzere 1 ml. 14 mM quinidine belirteci eklenir.

6- "Kör" ün okunması 3. ve 5. basamakların yerleri değiştirilerek yapılır. Yani "Kör" tüpüne önce 1 ml. 14 mM quinidine belirteci eklenir, daha sonra 1:100 oranında sulandırılmış serum ve en son substrat eklendikten sonra okunur.

7- Herbir "test" tüpündeki reaksiyon absorbanı 410 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede ve 5 dakika içinde okunur.

Hesaplama:

ChE aktivitesi 37 °C'ta mililitre başına uluslararası ünite ile (U/ml =  $\mu\text{mol/dk/ml}$ ) gösterilir ve aşağıdaki eşitlikten hesaplanır:

$$U/ml = \frac{X \times \Delta A \text{ (bilinmeyen)}}{y \times 13.6 \times Z} = 14.71 \times \Delta A \text{ (bilinmeyen)}$$

Burada x = Total reaksiyon hacmi (ml)

y = Dilüsyonsuz örnek hacmi (ml)

$\Delta A$  (bilinmeyen) = "Kör" e karşı okunmuş reaksiyon absorbanı

13.6 = 1 cm'lik küvetteki 5-thio-2-nitrobenzoatın milimolar absorptivitesi

z = inkübasyon süresi.

10 µl. serum alıp 990 µl. distile su eklediğimiz zaman 1:100 sulandırılmış serum elde edilir. Test tüpü ve kör tüpü için 1'er ml. sulandırılmış serum gerektiğinden toplam olarak herbir örnek için 3 ml. 1:100 sulandırılmış serum hazırlamak gerekmektedir. Yani  $3 \times 10 = 30$  µl. serum,  $990 \times 3 = 2970$  µl. saf su ile sulandırılır. Bu serumda ChE aktivitesi çalışıldığında toplam reaksiyon hacmi aşağıdaki hesaplamada görüldüğü gibi 6 ml. olur.

<u>Test tüpü</u>	<u>Kör tüpü</u>
3 ml. DTNB (0.421 mM)	3 ml. DTNB
(37 °C su banyosunda 5 dk. bekletilir)	
+	+
1 ml. substrat (20 mM)	1 ml. Quinidine (14 mM)
+	+
1 ml. serum	1 ml. serum
( 1:100 sulandırılmış )	
Tam olarak 3 dakika sonra	
+	+
1 ml. Quinidine (14 mM)	1 ml. substrat (20 mM)
+	+
Toplam: 6 ml.	Toplam: 6 ml.

Yöntemine uygun olarak çalıştığımız bir serumda elde ettiğimiz  $\Delta A$  (bilinmeyen) : 0.199 olsun. Bu durumda:

$$U/ml = \frac{6 \text{ ml.} \times 0.199}{0.01 \text{ ml.} \times 13.6 \times 3} = 14.71 \times \Delta A \text{ (bilinmeyen)}$$

$$\rightarrow U/ml = 2.92$$

Bu durumda 1:100 sulandırılmış serum için enzim aktivitesinin hesaplanmasında kullanılacak formül kısaca şu şekilde yazılabilir:

$$U/ml = 14.71 \times \Delta A \text{ (bilinmeyen)}$$

y değeri sulandırım oranı ve kullanılan dilüsyonsuz serum miktarına göre değişir. Bu durumda doğal olarak formüldeki 14.71 çarpanı da değişecektir. Hesaplamalarda bu durumu gözönüne almak gerekmektedir.

### BENDIOCARB'IN HAZIRLANMASI

Sıtma Eradikasyon Bölge Müdürlüğünden Bendiocarb'ın %80 formülasyonu sağlanarak Çukurova'da ergin sivrisinek mücadelesinde kullanılan ve standart uygulama dozu olan 400 mg/m<sup>2</sup> dozu (Bonsall ve Goose, 1986) gözönüne alınarak çalışmada kullanılacak uygulama dozları hazırlandı. Ergin sivrisinek mücadelesi için 125 gr.'lık insektisit poşetleri 10 lt. suda çözdürülerek kullanılmaktadır. %80 W.P. formülasyonundaki bendiocarbın %80'i aktif madde olduğundan 125 gr.'lık bir bendiocarb poşeti 10 lt. suda çözdürüldüğü zaman %1'lik bir püskürtme konsantrasyonu sağlanmış olmaktadır (Bonsall ve Goose, 1986).

Çalışmamızda bendiocarb'ın kolinesteraz üzerine dermal *in vivo* inhibisyonunu göstermek amacıyla, Çukurova'da ergin sivrisinek mücadelesinde kullanılan doz ve sıçanlar için dermal LD<sub>50</sub> değeri olan 566 mg/kg dozu (Handa, 1988) gözönüne alınarak 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dozları uygulandı. 100 mg/kg dozu Çukurova'da uygulanan %1'lik püskürtme dozuna tekabül etmektedir. Bendiocarb'ın çözünmesi için çözücü olarak asetonun (Merck, Almanya) uygun olduğu saptanmış olup, deneylerde çözücü olarak kullanılmıştır. Dermal çalışmada kullanılan ve sıçanların tıraş edilmiş sırtlarına bağlanan petlerin 2.5 ml. sıvıyı emdiği saptanmış olup, hedeflenen dozlar 2.5 ml. asetonla çözdürülmüştür. 250 gr. ağırlığındaki bir sıçana uygulanacak

100 mg/kg'lık dozu ve %1'lik insektisit oranını sağlayacak bendiocarb miktarını bulmak için şu hesaplamalardan yararlanıldı. 1000 gr.'lık bir sıçana 100 mg insektisit uygulanırsa 250 gr.'lık bir sıçana ne kadar uygulanır doğru orantısından giderek  $X = 25 \text{ mg} = 0,025 \text{ gr.}$  olarak bulundu. Dermal *in vivo* çalışmada %80 W.P. formülasyonu kullanıldığından 0.025 gr. insektisit sadece %80 i aktif maddedir. 0,025 gr. aktif madde miktarını sağlayacak insektisit miktarı hesaplandı ve 0,031 gr. olarak bulundu. 0,031 gr. bendiocarb (%80 W.P.) 2,5 ml. çözücü de hazırlandığında %1'lik aktif insektisit oranı sağlanmış olur. 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg lık diğer dermal dozlar ve oral *in vivo* çalışma dozları için bendiocarb'ın hazırlanmasında aynı hesaplamalardan yararlanıldı. Oral *in vivo* çalışmada insektisit, 2,5 ml. yerine 1 ml. çözücüde çözdürüldü.

Bendiocarb'ın kolinesteraz üzerine oral *in vivo* inhibisyonunu göstermek amacıyla sıçanlar için oral LD<sub>50</sub> değeri olan 45-48 mg/kg dozu (Handa, 1988) gözönüne alınarak 100 mg/kg, 50 mg/kg ve 25 mg/kg dozları hazırlandı. Bu dozların uygulanması sonucu hayvanların ölmesi üzerine 15 ve 10 mg/kg dozları denendi. Bu dozlarda da hayvanların ölmesi üzerine bendiocarb'ın metabolizma çalışmalarında kullanılan 2,5 mg/kg (Challis ve Adcock, 1981) ve bir üst dozu olan 5 mg/kg dozları hazırlandı. Gastrik lavajla oral çalışmalarda genellikle sıçanlara 1 ml. civarında sıvı verildiğinden (Waynforth, 1980) oral *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda insektisit 1 ml. çözücü içinde çözdürüldü.

Oral ve dermal *in vitro* çalışmalarda bir ilaç firmasından temin edilen ve az miktarda olan Teknik Bendiocarb kullanıldı. Oral *in vitro* çalışmada insektisit 2,5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg dozları kullanıldı. 250 gr. ağırlığındaki bir sıçana uygulanacak 2,5 mg/kg'lık dozu sağlayacak bendiocarb miktarını bulmak için şu hesaplamalardan yararlanıldı. 1000 gr.'lık bir sıçana 2.5 mg insektisit uygulanırsa 250 gr.'lık bir sıçana ne kadar uygulanır doğru orantısından giderek  $X = 0,625 \text{ mg} = 0,000625 \text{ gr.}$  olarak bulundu. 0,000625 gr. insektisit 1 ml. de

çözdürüldüğü zaman,

$$M = \frac{m/\text{mol. ađ.}}{V} = M = \frac{0.000625/223}{0.001} = 0.0028 \text{ M} = 2.8 \text{ mM}$$

aktif insektisit konsantrasyonu 2,8 mM dır. 2,8 milimolarlık insektisit çözeltilisinden alınacak 100 mikrolitre, 6 ml.'lik inkübasyon ortamına ilave edildiğinde 1:60 oranında seyreltiğinden 0,0375 gr. bendiocarb aktif maddesi 1 ml. çözücüde çözdürülerek 168 milimolar insektisit çözeltilisi hazırlanmıştır. Böylece 168 milimolar bendiocarb çözeltilisinden alınacak 100 mikrolitrelik miktar inkübasyon ortamına ilave edildiğinde 1:60 oranında seyreltiğinden aktif madde miktarı 2.8 milimolarda (2,5 mg/kg) kalmış olmaktadır (Yani birim hacmindeki insektisit konsantrasyonu sabit tutulmaktadır). 5 mg/kg ve 10 mg/kg'lık diğler dozlarda aynı şekilde hazırlanmıştır.

Dermal *in vitro* çalışmada insektisit'in 100 mg/kg , 350 mg/kg , 600 mg/kg ve 850 mg/kg dozları oral *in vitro* çalışmada olduğu gibi hesaplanarak herbir doz 2.5 ml. çözücüde hazırlandı.

#### **Dermal *in vivo* çalışma yöntemi**

insektisit'in 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg olmak üzere 4 farklı dozunun laboratuvar koşullarında sıçanlara dermal *in vivo* etkisini incelemek üzere toplam 5 deneyde 5'er sıçan kullanılmıştır. 4 farklı dozda hazırlanan insektisit yaklaşık 2 cm<sup>2</sup>'lik gazlı bezden hazırlanmış petlere eşit hacimlerde (2.5 ml) emdirildi. Bu şekilde hazırlanan petler hayvanların traş edilmiş sırtlarına günde 6 saat, haftada 5 gün olmak üzere toplam 3 hafta uygulandı. Uygulama yüzeyi herbir uygulama periyodundan sonra petler alınıp, ıslak pamukla iyice silindikten sonra güneşirı doğrudan kalpten girilerek sıçanların kanları alındı ve serum elde edilip ChE aktivitesi çalışıldı. Her deneye başlamadan bir gün önce (çalışma öncesi) ve çalışmanın bitiminden 3 gün sonra (çalışma sonrası) sıçanlardan kan alınıp

ChE aktivitesine bakıldı. Deneye başlamadan 1 gün önce ve her uygulama periyodundan önce ve sonra sıçanlar tartılıp vücut ağırlıkları kaydedildi. Her deneyde kontrol olarak kullanılan beşinci sıçana sadece çözücü olarak kullanılan aseton uygulandı.

#### **Dermal *in vitro* çalışma yöntemi**

insektisit 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarının kolinesteraz aktivitesi üzerine *in vitro* inhibisyonunu incelemek amacıyla 6 sıçandan elde edilen serumlar biraraya konuldu. Serum miktarı sabit olmak üzere 5 farklı tüpte serum 10 kez sulandırılarak 1 ml'lik 1:10 sulandırılmış serum elde edildi. Bunun için 100 mikrolitre serum, 100 mikrolitre insektisit solüsyonu, 800 mikrolitre su ile karıştırıldı. Kontrol olarak hazırlanan tüpe insektisit ilave edilmediğinden 100 mikrolitre serum 900 mikrolitre su ile karıştırıldı. Çalışılan her test tüpünün bir de körü hazırlanacağından bu sulandırım 3 misli hazırlandı.

Enzim aktivitesi çalışması 5 test tüpü (biri insektisitsiz ortamda çalışılan kontrol tüpü olmak üzere) 5 kör tüpü olmak üzere 10 tüpte çalışıldı. Çalışma sonunda elde edilen absorban değerleri  $U/ml = 1.471 \times AA$  (bilinmeyen) formülünde yerine konarak enzim aktivitesi hesaplandı.

#### **Oral *in vivo* çalışma yöntemi**

Bendiocarb'ın kolinesteraz aktivitesi üzerine oral *in vivo* inhibisyonunu incelemek amacıyla sıçanlar için oral LD<sub>50</sub> değeri olan 45-48 mg/kg dozu (Handa, 1988) gözönüne alınarak 100 mg/kg, 50 mg/kg ve 25 mg/kg dozları hazırlandı. Bu dozların gastrik lavajla uygulanmasından hemen sonra (1/2-1 h arasında) sıçanların şiddetli kasılmalarla ölmesi üzerine 15 mg/kg ve 10 mg/kg dozları denendi. Bu dozlarda sıçanların yine ölmeleri üzerine bendiocarb'ın metabolizma çalışmalarında kullanılan 2.5 mg/kg

(Challis ve Adcock, 1981) ve bir üst dozu olan 5 mg/kg dozları hazırlandı.

insektisit 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozlarının laboratuvar koşullarında sıçanlara *in vivo* etkisini incelemek üzere toplam 5 deneyde biri kontrol olmak üzere 3'er sıçan kullanıldı. Sıçanlar, çalışmaya başlamadan 1 gün önce ve çalışmanın bitiminden 3 gün sonra tartılıp vücut ağırlıkları kaydedildi. Sıçanın vücut ağırlığına göre hazırlanan 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg dozlarındaki bendiocarb (%80 W.P.) 1 ml. suda çözdürülerek 1 ve 2 nolu sıçanlara ardarda 3 gün gastrik lavajla uygulandı.

Daha önce yapılmış oral *in vivo* çalışmalarda Bendiocarb'ın (%80 W.P.) inhibitör etkisine karşı tam kan kolinesterazının plazma kolinesterazına göre daha hassas olduğu kaydedilmiştir (Kemp ve Hounsell, 1974). Bu nedenle oral *in vivo* çalışmada ChE aktivitesinin hem serumda ve hem de tam kanda çalışılması uygun bulunmuştur. Bu çalışmada sıçanlardan alınan kanlar 1:1 oranında saf su ile hemoliz ettirilerek ChE aktivitesi, hemolizattan çalışıldı.

#### **Oral *in vitro* çalışma yöntemi**

insektisit 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozlarının kolinesteraz aktivitesi üzerine *in vitro* inhibisyonunu incelemek amacıyla 6 sıçandan elde edilen serumlar bir araya konuldu. Serum miktarı sabit olmak üzere 4 farklı tüpte serum 10 kez sulandırılarak 1 ml.'lik 1:10 sulandırılmış serum elde edildi. Bunun için 100 mikrolitre serum, 100 mikrolitre insektisit solüsyonu, 800 mikrolitre su ile karıştırıldı. Kontrol olarak hazırlanan tüpe insektisit ilave edilmeyeceğinden 100 mikrolitre serum 900 mikrolitre su ile karıştırıldı. Dermal *in vitro*

çalışmada olduğu gibi çalışılan her test tüpünün bir de körü hazırlanacağından bu sulandırım 3 misli hazırlandı. Enzim aktivitesi çalışması 4 test tüpü (biri insektisitiz ortamda çalışılan kontrol tüpü olmak üzere), 4 kör tüpü olmak üzere 8 tüpte çalışıldı. Çalışma sonunda elde edilen absorbans değerleri  $U/ml = 1.471 \times AA$  (bilinmeyen) formülünde yerine konarak enzim aktivitesi hesaplandı.





## 5-BULGULAR

### KONTROL GRUPLARINDA SERUM KOLİNESTERAZ ENZİMİNİN SPESİFİK AKTİVİTESİ

Sıçan serumunda normal kolinesteraz seviyesini saptamak amacıyla 20 sıçanda bulunan enzim aktivitesi değerleri U/ml. cinsinden Tablo 1'de gösterildi. Bu verilere göre kontrol olarak kullanılan sıçanların ortalama serum kolinesteraz aktivitesi  $3.31 \pm 1.2$  U/ml. olarak bulundu.

Yapılan tüm çalışmalar boyunca sıçanlar tartılıp vücut ağırlıkları kaydedildi. Elde edilen bu verilere göre ortalama sıçan ağırlığı  $256 \pm 12.14$  gr. olarak bulundu.

### BENDIOCARB'IN SIÇAN SERUM KOLİNESTERAZINA DERMAL ETKİSİ

#### DERMAL *in vivo* ÇALIŞMA SONUÇLARI

Bendiocarb'ın % 80 suda ıslanabilir toz (% 80 W.P.) formülasyonununun 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg konsantrasyonlarınının sıçanlara dermal uygulamalarında ChE aktivitesine etkileri gösterilmiştir. Bu dozlara dermal temas yoluyla maruz bırakılan 30 sıçan ile yapılan çalışmada mortalite gözlenmemiştir. 100 mg/kg dozu ile 6 saatlik bir uygulama sonunda insektisit çok az bir inhibisyona neden olduğu (çalışma öncesi enzim aktivitesi:  $2.28 \pm 0.106$  U/ml; 6 saatlik uygulama sonunda  $2.17 \pm 0.107$  U/ml.) ve bu inhibisyonun 3 hafta süren 15 uygulama sonunda biraz arttığı (1.hafta sonunda  $2.2 \pm 0.114$ ; 2. hafta sonunda  $2.06 \pm 0.147$ ; 3. hafta sonunda  $2.05 \pm 0.120$  U/ml.) gözlenmiştir (Tablo 2; Şekil 5). Kaydadeğer bir inhibisyonun 350 mg/kg dozu ve üzerinde ve doza bağlı şiddette geliştiği görülmüştür (Tablo 2; Şekil 6,7,8).

Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarının uygulanması için toplam 5 deneyde biri kontrol olmak üzere (kontrol olarak kullanılan sıçana sadece çözücü uygulanmıştır) 5'er sıçan kullanıldı. Bu dozların uygulanmasından 1 gün önce alınan kanların çalışılmasıyla elde edilen enzim aktivitelerinin 5 deney için ortalamaları bulundu. 1., 3., 5., 8., 12., 15., 17., ve 19. günlerde 6 saatlik uygulama sonunda alınan kanların çalışılmasıyla elde edilen enzim aktivitelerinin toplam 5 deney için ortalamaları bulundu.

Tablo 1. Sıçan serumunda normal kolinesteraz seviyesinin saptanması amacıyla serumlarında enzim aktivitesi çalışılan 20 sıçanın enzim aktivitesi değerleri.

DENEK NO	1	2	3	4	5
ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	3	3.9	2.72	3.4	5.11
DENEK NO	6	7	8	9	10
ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	2.7	2.5	2.6	3.9	5.4
DENEK NO	11	12	13	14	15
ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	4.7	5	2	2.1	5.4
DENEK NO	16	17	18	19	20
ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	2.6	2.8	2	2.4	2
ORTALAMA ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	3.31 ± 1.2				

Tablo 2. Değişik Bendiocarb (% 80 W.P.) konsantrasyonlarının dermal uygulamalarında ChE aktivitesine etkisi. Kontrol gruplarında sadece çözücü uygulanmıştır. Verilen her değer 5 sıçanda yapılmış çalışmalar sonucu elde edilmiştir.

DERMAL İN VİVO ÇALIŞMA			İNSEKTİSİT KONSANTRASYONU (mg/kg)				
			100	350	600	850	KONTR.
ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	1. Hafta	Çalışma Öncesi	2.28 ±0.106	2.31 ±0.145	2.41 ±0.248	2.26 ±0.136	2.26 ±0.11
		1. Gün	2.17 ±0.107	2.13 ±0.13	2.18 ±0.254	1.74 ±0.14	2.25 ±0.083
		3. Gün	2.17 ±0.115	2.14 ±0.164	2.17 ±0.265	1.71 ±0.104	2.24 ±0.052
		5. Gün	2.13 ±0.12	2.11 ±0.178	2.13 ±0.28	1.92 ±0.084	2.27 ±0.039
	1.Hafta ortalaması		2.2 ±0.114	2.19 ±0.168	2.26 ±0.276	2.05 ±0.194	2.25 ±0.066
	2. Hafta	8. Gün	2.09 ±0.166	2.10 ±0.160	2.02 ±0.228	1.93 ±0.087	2.24 ±0.057
		10. Gün	2.04 ±0.166	2.08 ±0.151	2 ±0.246	1.89 ±0.089	2.22 ±0.121
		12. Gün	2.06 ±0.136	2.06 ±0.148	1.98 ±0.241	1.86 ±0.086	2.29 ±0.085
	2.Hafta ortalaması		2.06 ±0.147	2.08 ±0.143	2.00 ±0.222	1.89 ±0.082	2.25 ±0.067
	3. Hafta	15. Gün	2.06 ±0.123	2.05 ±0.138	2.01 ±0.232	1.81 ±0.084	2.26 ±0.056
		17. Gün	2.05 ±0.13	2.04 ±0.131	1.93 ±0.325	1.79 ±0.079	2.27 ±0.084
		19. Gün	2.04 ±0.134	2.02 ±0.127	1.91 ±0.325	1.81 ±0.065	2.27 ±0.070
	3.Hafta ortalaması		2.05 ±0.120	2.03 ±0.118	1.96 ±0.236	1.80 ±0.070	2.27 ±0.066
	Çalışmanın bitiminden 3 gün sonra		2.27 ±0.114	2.29 ±0.115	2.27 ±0.235	2.22 ±0.123	2.27 ±0.069

Çalışmanın bitiminden 3 gün sonra alınan kanların çalışılmasıyla elde edilen enzim aktivitelerinin toplam 5 deney için ortalamaları bulundu (Tablo 2; Şekil 6, 7, 8).

Deneylere başlamadan 1 gün önce ve her uygulama periyodundan önce ve sonra sıçanlar tartılıp vücut ağırlıkları kaydedildi. Sıçanların çalışma öncesi vücut ağırlıkları ortalama  $260.76 \pm 26.56$  gr.; uygulama sonrası  $250.57 \pm 27.13$  gr.; çalışmanın bitiminden 3 gün sonra  $266.25 \pm 12.5$  gr. olarak bulundu. Kontrol gruplarında çalışma öncesi vücut ağırlıkları ortalama  $253.31 \pm 32.12$  gr.; uygulama sonrası  $242.65 \pm 29.25$  gr.; çalışmanın bitiminden 3 gün sonra  $257.85 \pm 30.25$  gr. olarak bulundu.

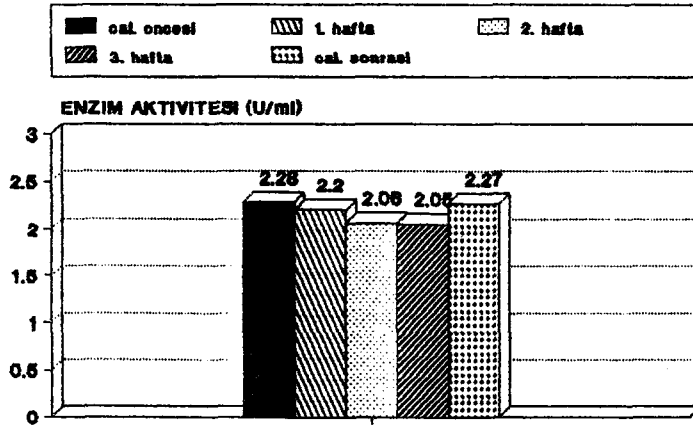
#### DERMAL *in vitro* ÇALIŞMA SONUÇLARI

insektisitinin dermal olarak *in vivo* çalışmada uygulanan dozlarının kolinesteraz aktivitesi üzerine *in vitro* inhibisyonunu incelemek amacıyla teknik bendiocarb kullanılarak enzim aktivitesi ölçüldü. Toplam 7 çalışma sonunda ChE aktivitesi kontrol gruplarında  $2.78 \pm 1.37$  U/ml. ; 100 mg/kg dozu için  $0.82 \pm 0.058$  U/ml; 350 mg/kg dozu için  $0.71 \pm 0.064$  U/ml. ; 600 mg/kg dozu için  $0.60 \pm 0.082$  U/ml. ve 850 mg/kg dozu için  $0.48 \pm 0.04$  U/ml. olarak bulundu (Tablo 3; Şekil 13).

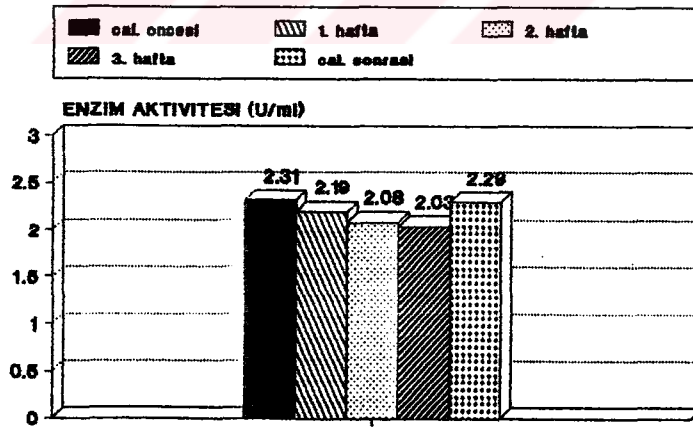
Artan Teknik Bendiocarb konsantrasyonları ile enzim aktivitesi değerleri arasında negatif bir ilişki olduğu görüldü. Bu ilişki regresyon analizi ile elde edilen regresyon doğrusu ile şekil 16'da gösterilmiştir.

Tablo 3. Teknik Bendiocarb'ın 100 mg/kg, 350 mg/kg, 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarına göre toplam 7 deneyin ve kontrol gruplarının enzim aktiviteleri ve ortalamaları.

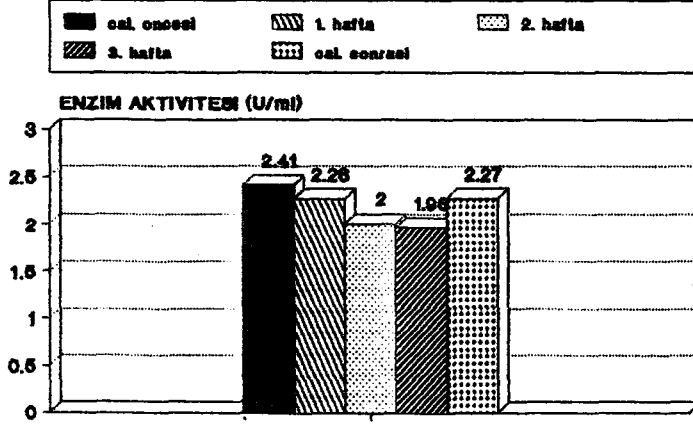
DERMAL İN VİTRO ÇALIŞMA	DENEY NO	İNSEKTİSİT KONSANTRASYONU				
		100 mg/kg	350 mg/kg	600 mg/kg	850 mg/kg	KONTROL
ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	1	0.72	0.59	0.48	0.34	2.18
	2	0.82	0.78	0.68	0.58	4.15
	3	0.84	0.72	0.63	0.47	4.15
	4	0.88	0.75	0.63	0.48	4.38
	5	0.77	0.68	0.58	0.47	1.78
	6	0.85	0.70	0.58	0.48	1.37
	7	0.87	0.76	0.67	0.58	1.47
	ortalama	0.82 ±0.058	0.71 ±0.064	0.60 ±0.082	0.48 ±0.04	2.78 ±1.37



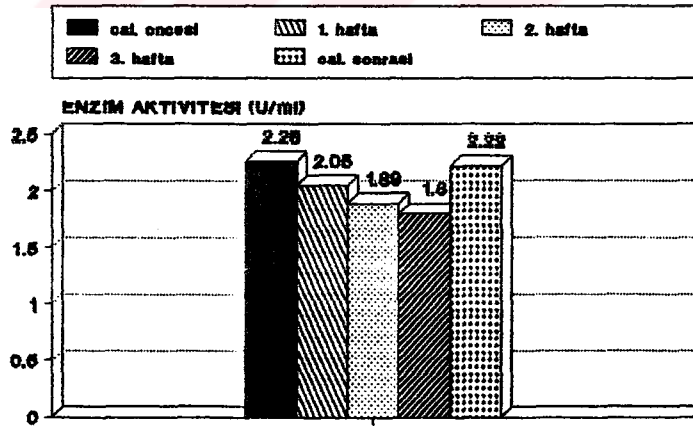
Şekil 5. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 100 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi (Değerler 5 çalışmanın ortalaması olup, her çalışma üç hafta süre ile yapılmıştır).



Şekil 6. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 350 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi (Değerler 5 çalışmanın ortalaması olup, her çalışma üç hafta süre ile yapılmıştır).



Şekil 7. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 600 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi (Değerler 5 çalışmanın ortalaması olup, her çalışma üç hafta süre ile yapılmıştır).



Şekil 8. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 850 mg/kg dermal dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi (Değerler 5 çalışmanın ortalaması olup, her çalışma üç hafta süre ile yapılmıştır).

## BENDIOCARB'IN SIÇAN SERUM KOLİNESTERAZINA ORAL ETKİSİ

### ORAL *in vivo* ÇALIŞMA SONUÇLARI

Bendiocarb'ın (%80 W.P.) ChE aktivitesi üzerine oral *in vivo* inhibisyonunu incelemek amacıyla sıçanlar için oral LD<sub>50</sub> değeri olan 45-48 mg/kg dozu (Handa, 1988) gözönüne alınarak 100 mg/kg, 50 mg/kg ve 25 mg/kg dozları gastrik lavajla uygulandı. Her üç dozun uygulanmasından 10 dk. sonra sıçanlarda, hipersalivasyon, terleme, miyozis, önce dil ve göz kapakları sonra diğer iskelet kaslarında fibrilasyonlar ve konvülsif krizlerle birlikte ölüm gözlemlendi. Daha sonra 15 mg/kg ve 10 mg/kg dozları aynı yolla uygulanarak enzim aktivitesine bakıldı. Aynı belirtilerle sıçanların ölmeleri üzerine bendiocarb metabolizması çalışmalarında kullanılan 2.5 mg/kg (Challis and Adcock, 1981) ve bir üst dozu olan 5 mg/kg dozları 5'i kontrol olmak üzere (kontrol sıçanlara sadece çözücü uygulandı) toplam 15 hayvana uygulandı. Suda çözülmüş bendiocarb'ın (% 80 W.P.) bu dozları ardarda 3 gün gastrik lavajla uygulandı. Bu dozların uygulanmasından sonra aynı belirtiler daha hafif şiddette gözlemlendi fakat ölüm görülmedi. Çalışma öncesi, çalışmanın bitiminden 3 gün sonra ve her uygulamadan 10 dk. sonra alınan kanlardan iki ayrı çalışma halinde serum ve tam kanda enzim aktivitesi çalışıldı. Serum ve tam kanda en fazla inhibisyonun 1. ve 3. günlerde herbir dozdan 10 dk. sonra gerçekleştiği bulundu (Tablo 4,5).

Çalışma öncesi enzim aktivitesi serumda  $2.402 \pm 0.311$  U/ml. olarak bulunan sıçanlara 2.5 mg/kg oral dozunun 1. gün uygulanmasından 10 dk sonra enzim aktivitesi  $2.324 \pm 0.283$  U/ml.; 2. gün  $2.276 \pm 0.284$  U/ml. ve 3. gün  $2.228 \pm 0.276$  U/ml. olarak bulundu (Tablo 4; Şekil 11). 2. oral doz olan 5 mg/kg dozunun uygulanmasından sonra 1. doza oranla daha fazla bir inhibisyon gözlemlendi. Çalışma öncesi enzim aktivitesi serumda  $2.256 \pm 0.046$  U/ml. olarak bulunan sıçanlara 5 mg/kg oral dozunun 1. gün

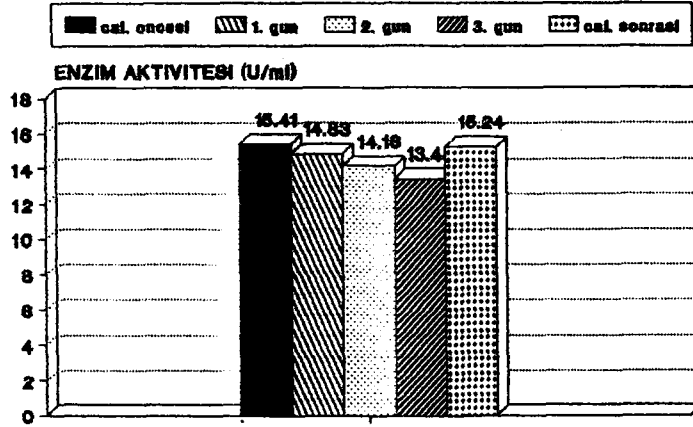


Tablo 4. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozlarına göre toplam 5 deneyin ve kontrol gruplarının serum ChE aktiviteleri ve ortalamaları (X: Aritmetik ortalama; S: standart sapma).

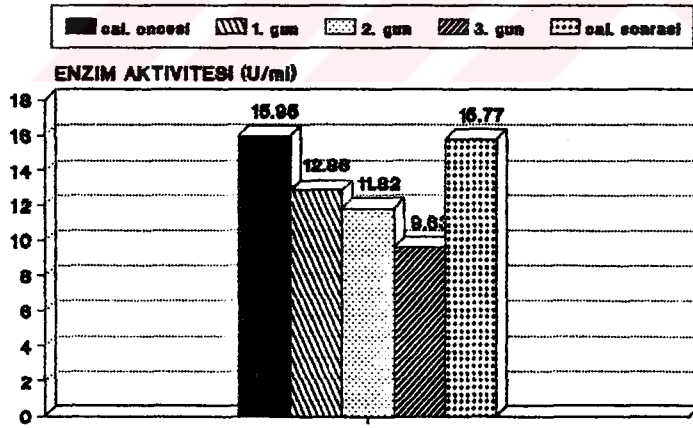
ORAL in vivo ÇALIŞMA		ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)					
UYGULANAN ORAL DOZ	DENEY NO	ÇALIŞMA ÖNCESİ	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	ÇALIŞMA SONRASI	
2.5 mg/kg	1	2.22	2.19	2.15	2.13	2.18	
	2	2.25	2.2	2.13	2.04	2.2	
	3	2.07	1.99	1.95	1.93	2.1	
	4	2.72	2.59	2.56	2.49	2.69	
	5	2.75	2.65	2.59	2.55	2.76	
5 ÇALIŞMANIN ORTALAMASI		X: S:	2.402 ±0.311	2.324 ±0.28	2.276 ±0.28	2.228 ±0.27	2.386 ±0.316
5 mg/kg	1	2.32	2.07	2	1.8	2.28	
	2	2.25	1.87	1.82	1.73	2.25	
	3	2.27	1.91	1.87	1.8	2.2	
	4	2.25	1.87	1.7	1.6	2.21	
	5	2.19	1.81	1.68	1.57	2.2	
5 ÇALIŞMANIN ORTALAMASI		X: S:	2.256 ±0.046	1.926 ±0.09	1.814 ±0.13	1.7 ±0.1	2.228 ±0.035
İNSEKTİSİTSİZ	1	2.12	2.1	2.11	2.12	2.1	
	2	2.18	2.19	2.17	2.18	2.19	
	3	2.35	2.36	2.37	2.34	2.36	
	4	2.42	2.42	2.43	2.42	2.43	
	5	2.55	2.56	2.57	2.58	2.58	
5 ÇALIŞMANIN ORTALAMASI		X: S:	2.324 ±0.175	2.326 ±0.18	2.33 ±0.18	2.328 ±0.18	2.332 ±0.19

Tablo 5. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozlarına göre toplam 5 deneyin ve kontrol gruplarının tam kan ChE aktiviteleri ve ortalamaları (X: Aritmetik ortalama; S: Standart sapma).

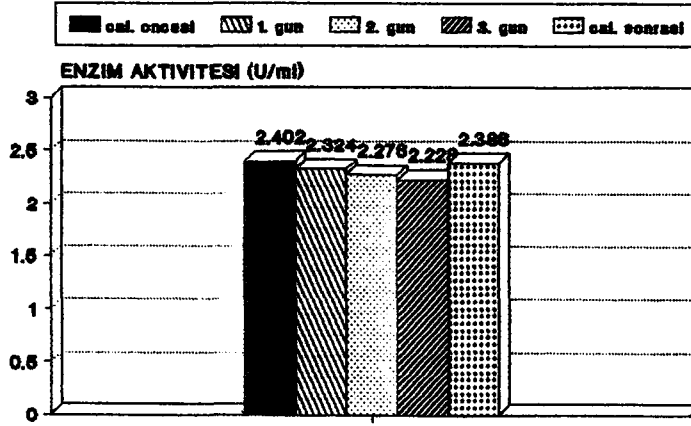
ORAL in vivo ÇALIŞMA		ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)				
UYGULANAN ORAL DOZ	DENEY NO	ÇALIŞMA ÖNCESİ	1. GÜN	2. GÜN	3. GÜN	ÇALIŞMA SONRASI
2.5 mg/kg	1	14.03	13.33	12.62	11.5	13.9
	2	15.7	15.07	14.29	13.03	14.98
	3	16.1	15.61	14.97	14.49	16.07
	4	16.32	15.83	15.34	14.85	16.28
	5	14.92	14.32	13.88	13.28	14.95
5 ÇALIŞMANIN ORTALAMASI		X: 15.41 S: ±0.93	14.83 ±1.01	14.16 ±1.05	13.43 ±1.32	15.24 ±0.96
5 mg/kg	1	17.46	16.1	13.62	12.78	17.32
	2	17.93	16.1	13.63	11.47	17.81
	3	17.08	13.32	11.27	9.22	17.1
	4	11.49	8.52	8.39	4.71	11.18
	5	15.80	10.27	10.17	9.95	15.45
5 ÇALIŞMANIN ORTALAMASI		X: 15.95 S: ±2.61	12.86 ±3.41	11.82 ±2.13	9.63 ±3.07	15.77 ±2.71
İNSEKTİSİTSİZ	1	14.9	14.5	14.8	14.6	14.7
	2	17.8	17.9	17.6	17.6	17.8
	3	15.1	15	15.2	15.3	15.2
	4	13.9	13.8	14	13.8	13.7
	5	14.7	14.7	14.5	14.6	14.7
5 ÇALIŞMANIN ORTALAMASI		X: 15.28 S: ±1.48	15.18 ±1.58	15.22 ±1.4	15.18 ±1.45	15.22 ±1.54



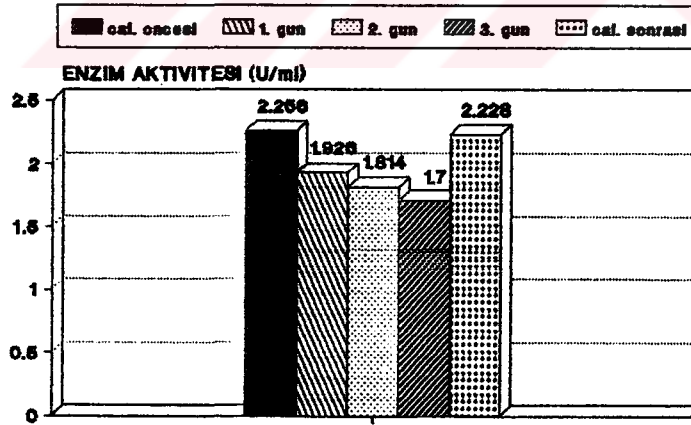
Şekil 9. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg oral dozunun tam kan kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi. Herbir enzim aktivitesi değeri 10 çalışmanın ortalaması alınarak elde edilmiştir (Her çalışma üç gün süre ile yapılmıştır).



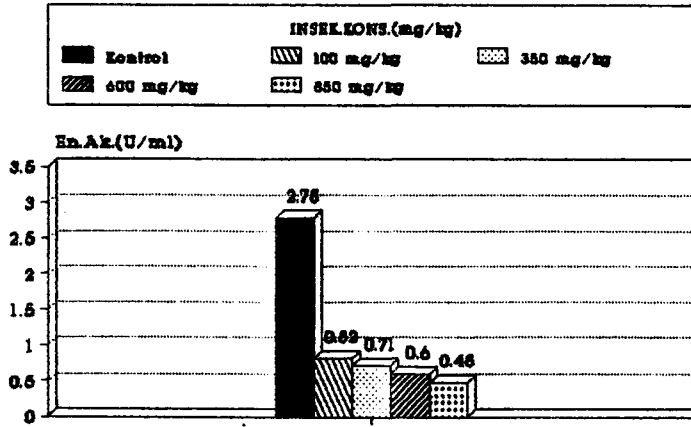
Şekil 10. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 5 mg/kg oral dozunun tam kan kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi. Herbir enzim aktivitesi değeri 10 çalışmanın ortalaması alınarak elde edilmiştir (Her çalışma üç gün süre ile yapılmıştır).



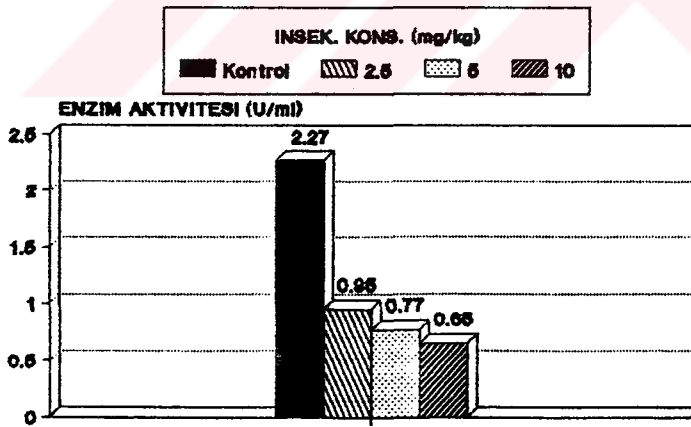
Şekil 11. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg oral dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi. Herbir enzim aktivitesi değeri 10 çalışmanın ortalaması alınarak elde edilmiştir (Her çalışma üç gün süre ile yapılmıştır).



Şekil 12. Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 5 mg/kg oral dozunun serum kolinesteraz aktivitesine *in vivo* etkisi. Herbir enzim aktivitesi değeri 10 çalışmanın ortalaması alınarak elde edilmiştir (Her çalışma üç gün süre ile yapılmıştır).



Şekil 13. Teknik Bendiocarb'ın 100 mg/kg; 350 mg/kg; 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozlarının serum kolinesteraz aktivitesine *in vitro* etkileri.



Şekil 14. Teknik Bendiocarb'ın 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozlarının serum kolinesteraz aktivitesine *in vitro* etkileri.

uygulanmasından 10 dk sonra enzim aktivitesi  $1.926 \pm 0.099$  U/ml.; 2. gün  $1.814 \pm 0.131$  U/ml. ve 3. gün  $1.7 \pm 0.109$  U/ml. olarak bulundu (Tablo 4; Şekil 12).

Çalışma öncesi enzim aktivitesi tam kanda  $15.41 \pm 0.93$  U/ml. olarak bulunan sıçanlara 2.5 mg/kg oral dozunun 1. gün uygulanmasından 10 dk. sonra enzim aktivitesi  $14.83 \pm 1.01$  U/ml.; 2. gün  $14.16 \pm 1.05$  U/ml ve 3. gün  $13.43 \pm 1.32$  U/ml. olarak bulundu. 2. Oral doz olan 5 mg/kg dozunun uygulanmasından sonra 1. doza oranla daha fazla bir inhibisyon gözlemlendi. Çalışma öncesi enzim aktivitesi  $15.95 \pm 2.61$  U/ml. olarak bulunan sıçanlara 5 mg/kg oral dozunun 1. gün uygulanmasından 10 dk. sonra enzim aktivitesi  $12.86 \pm 3.41$  U/ml.; 2. gün  $11.82 \pm 2.13$  U/ml. ve 3. gün  $9.63 \pm 3.07$  U/ml. olarak bulundu (Tablo 5; Şekil 9,10).

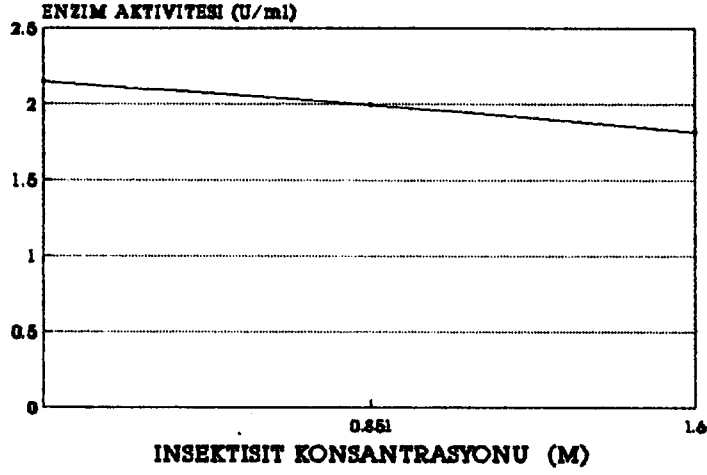
Deneylere başlamadan 1 gün önce ve her uygulamadan önce ve sonra sıçanlar tartılıp vücut ağırlıkları kaydedildi. Sıçanların çalışma öncesi vücut ağırlıkları ortalama  $277.41 \pm 22.08$  gr.; uygulama sonrası  $277.09 \pm 28.56$  gr.; çalışmanın bitiminden 3 gün sonra  $261 \pm 16.35$  gr. olarak bulundu. Kontrol gruplarında çalışma öncesi vücut ağırlıkları ortalama  $252 \pm 8$  gr.; uygulama sonrası  $245 \pm 5$  gr.; çalışmanın bitiminden 3 gün sonra  $248 \pm 12$  gr. olarak bulundu.

#### ORAL *in vitro* ÇALIŞMA SONUÇLARI

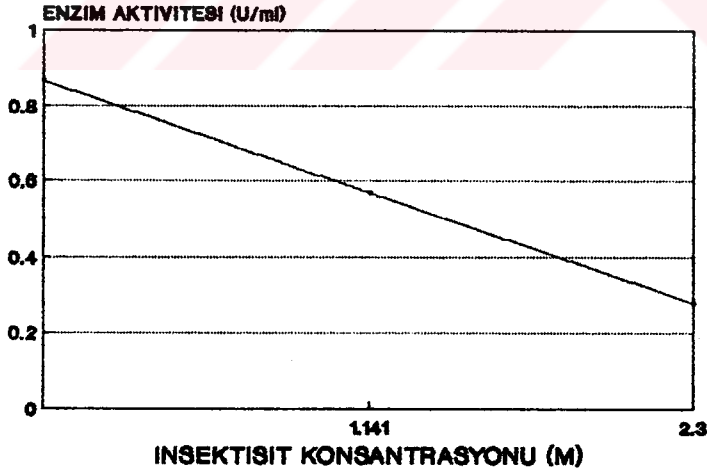
insektisit oral *in vivo* çalışmada uygulanan dozlarının, ChE aktivitesi üzerine *in vitro* inhibisyonunu incelemek amacıyla teknik bendiocarb kullanılarak ölçüm yapıldı. Toplam 10 çalışma sonunda serumda ChE aktivitesi kontrol gruplarında  $2.27 \pm 0.1$  U/ml.; 2.5 mg/kg dozu için  $0.72 \pm 0.036$  U/ml.; 5 mg/kg dozu için  $0.63 \pm 0.034$  U/ml ve 10 mg/kg dozu için  $0.59 \pm 0.024$  U/ml. olarak bulundu (Tablo 6; Şekil 14).

Tablo 6. Teknik bendiocarb'ın 2.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozlarına göre toplam 10 deneyin ve kontrol gruplarının enzim aktiviteleri.

ORAL İN VİTRO ÇALIŞMA	DENEY NO	İNSEKTİSİT KONSANTRASYONU			
		2.5 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	KONTROL
ENZİM AKTİVİTESİ (U/ml)	1	1.04	0.78	0.67	2.23
	2	0.88	0.78	0.69	2.2
	3	0.97	0.76	0.6	2.28
	4	0.8	0.76	0.67	2.12
	5	0.85	0.74	0.65	2.38
	6	1.08	0.80	0.68	2.43
	7	0.98	0.69	0.62	2.36
	8	1.07	0.87	0.63	2.17
	9	0.9	0.78	0.69	2.29
	10	0.98	0.78	0.6	2.2
	Ortalama	0.95 ±0.036	0.77 ±0.034	0.65 ±0.024	2.27 ±0.1

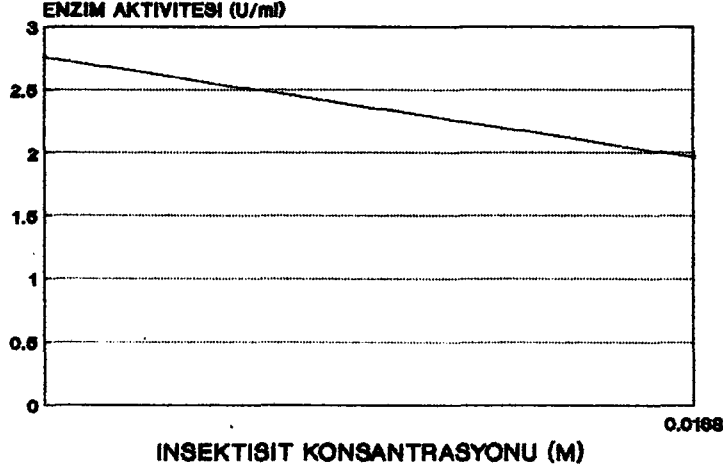


Şekil 15. Serum kolinesteraz aktivitesinin Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 100 mg/kg; 350 mg/kg; 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozları ile *in vivo* inhibisyonu. Enzim aktivitesi değerleri 5 deneyin ortalamasıdır. Doğru, regresyon analizi ile hesaplanmıştır.

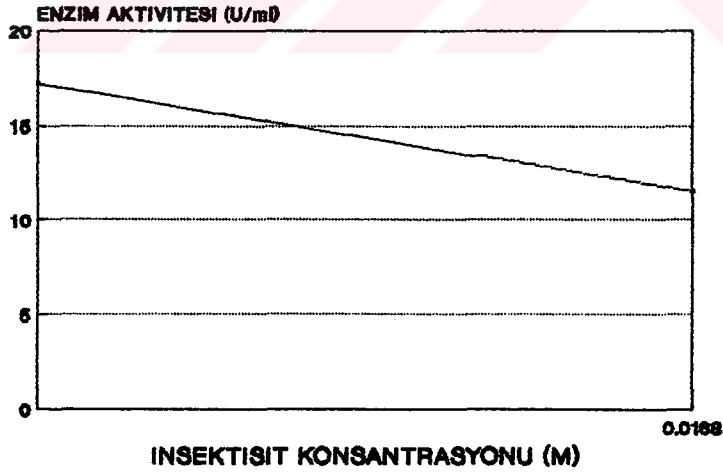


Şekil 16. Serum kolinesteraz aktivitesinin Teknik Bendiocarb'ın 100 mg/kg; 350 mg/kg; 600 mg/kg ve 850 mg/kg dermal dozları ile *in vitro* inhibisyonu. Verilen enzim aktivitesi değerleri 7 çalışmanın ortalamasıdır. Enzim bendiocarb'la substrat ilavesinden önce 5 dk. inkübe edildi. Doğru, regresyon analizi ile hesaplanmıştır.

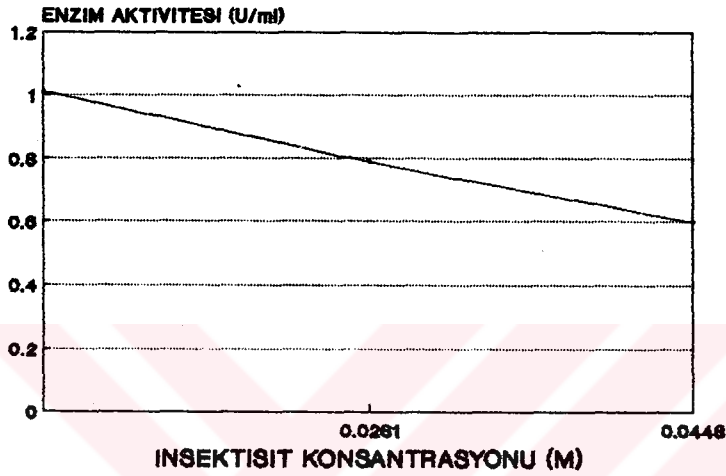




Şekil 17. Serum kolinesteraz aktivitesinin bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozları ile *in vivo* inhibisyonu. Enzim aktivitesi değerleri 5 deneyin ortalamasıdır. Doğru regresyon analizi ile hesaplanmıştır.



Şekil 18. Tam kan kolinesteraz aktivitesinin bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozları ile *in vivo* inhibisyonu. Enzim aktivitesi değerleri 5 deneyin ortalamasıdır. Doğru regresyon analizi ile hesaplanmıştır.



Şekil 19. Serum kolinesteraz aktivitesinin teknik bendiocarb'ın 2.5 mg/kg; 5 mg/kg ve 10 mg/kg oral dozları ile *in vitro* inhibisyonu. Verilen enzim aktivitesi değerleri 10 çalışmanın ortalamasıdır. Enzim bendiocarb'la substrat ilavesinden önce 5 dk. inkübe edildi. Doğru, regresyon analizi ile hesaplanmıştır.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

ChE enziminin fizyolojik fonksiyonunun uyarılabilir dokuların post-sinaptik bölgelerinde asetilkolinin inaktivasyonu yoluyla sinaptik iletme son vermekten ibaret olduğu sanılmaktaydı (Silver, 1974). Enzimin gerçek rolü uyarılabilir dokuların bağlantıdışı bölgelerinde, sinir uçlarında ve kanda bugün hala bilinmemektedir. Bununla birlikte kanda bulunan hem serum ve hem de eritrosit kolinesterazı, antikolinesteraz insektisitlerin absorpsiyon derecesinin belirlenmesinde yararlı bir gösterge olarak kullanılmaktadır.

30 yıldan bu yana kalıcı insektisitler sıtma taşıyıcısı olan sivrisineklere karşı ana silah olarak kullanıla gelmiştir. Özellikle kalıcı bir insektisit'in sıtma eradikasyon programlarında kullanılabilmesi için güvenilirlik değerlendirmesinin yapılması gerekmektedir. Vektör kontrolünde kullanılan karbamatlı bir insektisit olan bendiocarb'ın güvenilirlik değerlendirmesi D.S.Ö. kapsamında değişik çalışmalarla gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda püskürtülen bendiocarb miktarı ile ChE inhibisyonu arasında bir korelasyon olduğu ve bendiocarb'ın miktarı arttırıldıkça inhibisyonun arttığı gösterilmiştir.

Karbamatlı insektisitler gerek böceklerin gerekse memelilerin vücutlarına temas, solunum ve mide yoluyla girmektedir. Araştırmamızda karbamatlı bir insektisit olan bendiocarb'ın, Çukurova'da uygulanan püskürtme dozunu kapsamak üzere değişik konsantrasyonlarının sıçanlara dermal uygulamalarında ve oral yolla verildiğinde ChE aktivitesine ve sıçanların beslenme durumları ile vücut ağırlıklarına etkileri gösterilmiştir.

Dermal, oral *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarımızda artan bendiocarb konsantrasyonları ile enzim aktivitesi değerleri arasında negatif bir ilişki olduğu görülmüştür (Şekil 15, 16, 17, 18, 19).

Dermal *in vivo* çalışmalarda insektisit toksik etkisini 200 mg/kg ve üzerindeki dozlarda, 6 saatlik uygulama sonunda doza bağlı şiddette ve sadece 1. dozdan sonra gösterdiği görülmüştür (Sanderson, 1972). Çalışmamızda elde edilen bulgular bu sonucu desteklemektedir. Kaydadeğer bir inhibisyonun 2. uygulama dozumuz olan 350 mg/kg dozu ve üzerinde sadece 1 dozdan sonra ve doza bağlı şiddette geliştiği görülmüştür. Bu inhibisyonun uygulamalar süresince 3. haftanın sonuna doğru giderek arttığı gözlenmiştir. Çukurova'da uygulanan %1'lik püskürtme dozuna tekabül eden 100 mg/kg dozunun sıçanlara 1. gündeki dermal uygulamaları sonunda çok az bir inhibisyona neden olduğu görülmüştür. Bu inhibisyonun 3 hafta boyunca az da olsa giderek arttığı gözlenmiştir. Halbuki teknik bendiocarb kullanılarak yaptığımız çalışmalar sonucu ChE inhibisyonunun oldukça yüksek bir biçimde olduğu görülmüştür (Şekil 13, 14). Bu da göstermektedir ki hijyenik koşullara dikkat edilmeksizin yapılacak olan uygulamalar sonucu eğer %1'lik insektisit kan serumu ile direkt temas edecek olursa inhibisyon oldukça yüksek düzeylere çıkacaktır. Teknik Bendiocarb'ın *in vitro* çalışmamızda uygulanan dermal dozlarının sıçan serumunda oldukça yüksek bir inhibisyona neden olduğu görülmüştür (Şekil 13). Çukurova'da uygulanan %1'lik püskürtme dozuna tekabül eden 100 mg/kg dozunun *in vitro* koşullarda sıçan serum ChE'ini şekil 16'daki regresyon doğrusundan görüleceği gibi yüksek oranda inhibe ettiği görülmüştür.

Sıçanların uygulama sonrası vücut ağırlıklarının, çalışma öncesi vücut ağırlıklarına göre hem deney gruplarında hem kontrol gruplarında 10 gr. kadar azalmış olduğu görüldü. Bu durum bizi, bendiocarb'ın (%80 W.P.) çalışmamızda uygulanan dermal dozlarının sıçanlarda beslenme durumu ve vücut ağırlığına bir etkisi olmadığı ve bu azalmanın, tamamen uygulama esnasında insektisit

emdirilmiş petleri sıçanların traş edilmiş sırtlarına bağlamadan ötürü ortaya çıkan bir beslenme güçlüğünden ortaya çıkabileceği sonucuna götürmüştür.

Kalıcı insektisit olarak kullanılan ilaçlar zamanla çeşitli şekillerde ağız yoluyla da alınabilirler. Oral yolla alınma durumunda daha önceki çalışmalar bize letal dozun 45-48 mg/kg olduğunu göstermiştir (Handa, 1988). Ancak bu çalışmalardaki letal dozun (45-48 mg/kg) altındaki dozlarda bile çalışmalarımızda ölüm görüldüğünden biz çalışmalarımızda Kemp ve Hounsell (1974) tarafından oral *in vivo* çalışmada kullanılan 4 mg/kg dozunu esas alarak hazırladığımız 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg dozlarının oral yolla verilmesi sonucu ChE inhibisyonunu doza bağlı şiddette izledik. Oral yolla alınımından 10 dk. sonra inhibisyon gözlemlendi.

Teknik Bendiocarb'la çalışılan oral *in vitro* deneyler sonunda elde edilen enzim aktivitesi değerleri ile artan insektisit konsantrasyonları arasındaki negatif ilişki şekil 19'da gösterilmiştir.

Bendiocarb'ın (%80 W.P.) 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg oral dozlarının sıçanların tam kan ve serum ChE aktivitesini en fazla 1. ve 3. günlerde herbir dozdan 10 dk. sonra ve doza bağlı şiddette inhibe ettiği gözlemlendi (Şekil 9, 10, 11, 12). Bu durum daha önceki araştırmacıların (Kemp ve Hounsell, 1974) teknik bendiocarb'ın oral 4 mg/kg dozunun uygulanması ile elde ettikleri sonuçlarla uygunluk göstermekte olup inhibisyonun 3 günlük çalışmanın bitimine kadar giderek arttığı gözlemlenmiştir. Tam kan ve plazma ChE'nin geriye dönüşümünün herbir dozdan yarım saat sonra başladığı ve çalışmanın bitiminden 3 gün sonra tamamlandığı Kemp ve Hounsell (1974) adlı araştırmacıların 4 mg/kg dozu ile yaptıkları oral *in vivo* çalışmada gösterilmiştir. Yine bu çalışmada bendiocarb'ın (%80 W.P.) inhibitör etkisine karşı tam kan ChE'nin plazma (serum) ChE'ine göre daha hassas olduğu gösterilmiştir. Oral *in vivo* çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların bu çalışmalarla büyük uyum gösterdiği görülmüştür.

(Tablo 4, 5). Çalışmanın bitiminden 3 gün sonra yapılan ChE enzim aktivitesi ölçümleri enzim aktivitesindeki geriye dönüşümün tamamlandığını göstermiştir (Tablo 4, 5; Şekil 9, 10, 11, 12). Bendiocarb'ın çalışmamızda uygulanan oral dozlarının sıçanlarda beslenme durumu ve vücut ağırlığına bir etkisi olmadığı görüldü.

Çalışmalarımız sonucu bendiocarb'ın püskürtme dozunun dermal olarak bir kez alınması memelilerde önemli bir etki göstermemekle birlikte kümülatif bir etki görülmektedir. Ancak oral yolla herhangi bir şekilde alınması memelilere etkili görülmektedir. Bu nedenle yapılacak uygulamalarda güvenlik önlemlerine tam anlamıyla uyulması gerekmektedir. Hatta püskürtme işçilerinde çalışmalardan önce ve sonra ChE aktivitesinin belirlenmesi de bu önlemler arasında olmalıdır.

## 7-KAYNAKLAR

- 1- Adcock, J.W. and Challis, I.R., 1976, The metabolism of C<sup>14</sup>-bendiocarb in the rat. Report from Fisons Limited submitted by FBC Limited (Yayınlanmamış D.S.Ö. raporu).
- 2- Adcock, J.W., Challis, I.R. and Warner, P.A., 1976, The metabolism of C<sup>14</sup>-bendiocarb in the dairy cow. Fisons Report., METAB/76/23 (Yayınlanmamış D.S.Ö. raporu).
- 3- Aldridge, W.N., 1971, The nature of the reaction of organophosphorus compounds and carbamates with esterases, Bull. WHO, 44, 25-30.
- 4- Bainova, A., 1981, Dermal absorption of pesticides, Toxicology of Pesticides, 41-53.
- 5- Bonsall, J.L., Foulkes, D.M., Goose, J., Leake, C.R. and Reary, J.B., 1981, Safety studies with bendiocarb in village scale field trial against mosquitoes in indonesia, Document WHO (WHO/VBC/81.831), Geneva (Yayınlanmamış D.S.Ö. raporu).
- 6- Bonsall, J.L. and Goose, J., 1986, The safety evaluation of bendiocarb, a residual insecticide for vector control, Toxicol. Lett., 33(1-3), P: 45-49.
- 7- Browne, P.M. and Reary, J.B., 1978, Residues in milk and tissues following a 28-day feeding study with bendiocarb in dairy cows. Fisons Report RESiD/78/58 (Yayınlanmamış D.S.Ö. raporu).

- 8- Challis, I.R. and Adcock, J.W., 1977, The metabolism of bendiocarb in the mouse. Report from Fisons Limited submitted to the WHO by FBC Limited (Yayınlanmamış D.S.Ö. raporu).
- 9- Challis, I.R. and Adcock, J.W., 1981, The metabolism of the carbamate insecticide bendiocarb in the rat and in man, Pestic. Sci., 12, 638-644.
- 10- Corbett, J.R., 1974, The Biochemical Mode of Action of Pesticides, Academic Press, London, P: 107-130; 140-147.
- 11- Curtis, T.J., 1962, Status of mosquito and fly insecticide susceptibility in Turkey, Mosq. News, 22: 142-146.
- 12- Davidson, G., 1982, The agricultural usage of insecticides in Turkey and resurgence of malaria, P: 122-129. In: Proceeding of an International Workshop "Resistance Agriculture", 22-26 February, 1982, Sri Lanka, National Science of Sri Lanka.
- 13- de Zulueta, J., 1959, Insecticide resistance in Anopheles sacharovi, Bull. WHO, 20: 797-822.
- 14- a- Dietz, A.A., Rubinstein, H.M., and Lubrano, T., 1973., Serum cholinesterase (E.C.3.1.1.8; acylcholine acylhydrolase.), Clin. Chem., 19: 1309.
- b- Dietz, A.A., Rubinstein, H.M., and Lubrano, T., 1973, Colorimetric determination of serum cholinesterase and its genetic variants by the propionyl thiocholine-dithiobis nitrobenzoic acid procedure, Clin. Chem., 19: 1309-1313.
- 15- Dökmeci, i., 1988, Toksikoloji, Trakya Ün., Tıp Fak., Farmakoloji Anabilim Dalı, S: 50-68; 362-386.



- 16- Englehard, N., Prchal, K. and Nenner, M., 1967, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 6, 615-626.
- 17- Erel, Demir, 1966, in-sektisitler, T.C. Sağlık ve Sosyal Yard. Bakanlığı Hifzısıhha okulu yayınları, No: 23, Ankara, S: 11-39.
- 18- Gökberg, C., 1959, Increase in incidence of malaria cases in Adana region, Turkey on the resistance of vector An. sacharovi to insecticides, Riv. Malariol., 38: 197-211.
- 19- Handa, S.K., 1988, Spectrophotometric method for the microdetermination of bendiocarb standart residues in water, J. Assoc. off. Anal. Chem., Vol. 17, No. 1: 51-52.
- 20- Hellenbrand, K. and Krupka, R.M., 1970, Biochemistry 9, 4665-4672.
- 21- Hemingway, J., Malcolm, C.A., Kisson, K.E., Baddington, R.G., Curtis, C.F. and Hill, N., 1985, The biochemistry of insecticide resistance in An. sacharovi: comparative studies with a range of insecticide susceptible and resistant Anopheles and Culex species, Pestic. Biochem. Physiol., 24: 68-76.
- 22- Holmstedt, Bo, 1971, Bull. WHO, 44, 99-107.
- 23- Kaloyanova, F. and Tarkowski, S., 1981, Toxicology of Pesticides, interim Document 9, WHO, Geneva, P: 1-20; 41-53; 89-99.
- 24- Kasap, H., Kasap, M., Mimioglu, M.M. ve Aktan, F., 1981, Çukurova ve çevresinde sivrisinek ve malarya üzerinde araştırmalar, Doğa Bilim Dergisi, Tıp: Cilt 5, 141-150.

- 25- Kasap, H., Kasap, M., Akbaba, M., Alptekin, D., Demirhan, O., Lüleyp, U., Pazarbaşı, A., Akdur, R., and Wake, J., 1992, Residual efficacy of pirimiphos methyl (Actellic TM) on *Anopheles sacharovi* in Çukurova, Turkey, J. Am. Mosq. Cont. Assoc., Vol. 8, No. 1, 47-51.
- 26- Kasap, M., Kasap, H. and Mimioğlu, M.M., 1983, Insecticide resistance in adults of *An. sacharovi* in Çukurova, Doğa Bil. Derg., 7: 256-260.
- 27- Kasap, M., 1989, insektisitler ve vektör kontrolünde kullanılmaları, VI. Ulusal Paraz. Kong. Özel Say., 13(2). 209-226.
- 28- Kemp, A. and Hounsell, I., 1974, Evidence for reversal of cholinesterase inhibition by NC 6897 in laboratory animals. Report from Fisons Limited submitted to the WHO by FBC limited (Yayınlanmamış D.S.Ö. raporu).
- 29- King, M. E., 1986, Cholinesterase, Methods of analysis, P: 913-916.
- 30- Krupka, R.M., 1965, Biochemistry, 4, 429-435.
- 31- Mary Lund Mortensen, M. D., 1986, Management of acute childhood poisoning caused by selected insecticides and herbicides, Pediatric Clinics of North America, Vol, 33 No. 2, 421-445.
- 32- Mimioğlu, M. M., Kasap, M. ve Kasap, H., 1988, Çukurova bölgesinde *An.sacharovi*'nin üreme mevsimi populasyon yoğunluğunun sıtmalılı oranı ile ilişkisi. Türk Hij. Den. Biyol. Dergisi, Vol. 45, No. 2, 195-199.

- 33- Motabar, M., Mallyon, B. A., Goose, J., and Adcock, J. W., 1981, The safety of bendiocarb to operators and inhabitants in a mosquito control trial in iran, WHO/VBC/ 81.821.
- 34- Noyan, A., 1980, Fizyoloji Ders Kitabı. Anadolu Un. Yayınları. No. 2, S: 138.
- 35- Pearce, J.C. and Adcock, J.W., 1978, Investigation of residue accumulation in the rat following repeated administration of C<sup>14</sup>-bendiocarb. Report from Fisons Limited submitted to the WHO by FBC limited (Yayınlanmamış D.S.Ö. raporu).
- 36- Popov, T., 1981, Mixed-function oxidases and pesticide toxicity, Toxicology of Pesticides, 89-99.
- 37- Ramsdale, C.D., 1975, Insecticide resistance in the Anopheles of Turkey, Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 69: 226-235.
- 38- Ramsdale, C.D., Herath, P.R.J. and Davidson, G., 1980, Recent developments of insecticide resistance in some Turkish Anophelines, J. Trop. Med. Hyg., 83: 11-19.
- 39- Rasmussen, W.A., Jensen, J.A., Stein, W.J. and Hayes, Jr. W.J., 1963, Toxicological studies of DDVP for disinsection of aircraft, Aerospace Med. S., 34, 593-600.
- 40- Sanderson, D. M., 1972, Toxicology of NC 6897: 15-dose cumulative dermal study with Ficam in male rats, Report from fisons limited submitted to the World Health Organization by FBC limited (Yayınlanmamış rapor).
- 41- Silver, A., 1974, Frontiers of biology. In: The biology of cholinesterases, vol 36, North-Holland, Amsterdam.

- 42- Unsal, U., 1984, Malaria and Malaria control studies in Turkey (Unpublished report).
- 43- Waynforth, H.B., 1980, Experimental and Surgical Technique in the Rat, Academic Press, London, P: 22-27.
- 44- WHO- Pesticide residues in food-Evaluations, 1982, Report sponsored jointly by FAO and WHO, P: 57-75.
- 45- WHO- Safe Use of Pesticides., 1979, Third report of the WHO expert committee on vector biology and control.
- 46- Wilson, I.B., 1960, In: "The enzymes" (P.D. Boyer, H. Lardy and K. Myrback, eds.), Vol. 4, P: 501-520, Academic Press.
- 47- Wilson, I.B., 1967, In:"Drugs affecting peripheral nervous system" (A. Burger. ed.), P: 381-397, Dekker, New York.
- 48- Wilson, I.B., 1971, In "Cholinergic ligand interactions" (D.J. Triggle, ed.), P: 1-18, Academic Press.

## ÖZGEÇMİŞ

1963 yılında Adana'da doğdum. 1974 yılında Adana Yamaçlı İlk Okulu'ndan, 1977 yılında Adana Karşıyaka Kız Sanat Orta Okulu'ndan, 1980 yılında Adana Atatürk Lisesi'nden mezun oldum. 1980 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdim. 1985 Mayıs ayında Lisans öğrenimimi tamamlayıp, 1986 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Uzman kadrosunda çalışmaya başladım ve halen Ç.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Uzman kadrosunda çalışmaktayım.

Evli ve bir çocuk annesiyim.