



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**METİL PARATİON İLE MUAMELE EDİLEN SIÇAN DOKULARINDA
SÜLFİDRİL GRUBU KONSANTRASYONU DEĞİŞİMLERİNİN TESPİT
EDİLMESİ**

Semih DALKILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA

HAZİRAN-2006

Mustafa Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Doç. Dr. Deniz YILDIZ ve Prof. Dr. Haydar ÖZTAŞ danışmanlığında, Semih DALKILIÇ tarafından hazırlanan bu çalışma 03 / 07 / 2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından, Biyoloji (Genel Biyoloji) Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :	1. Danışman Doç. Dr. Deniz YILDIZ	İmza.....
Üye :	2. Danışman Prof. Dr. Haydar ÖZTAŞ	İmza.....
Üye :	Doç. Dr. M. Nisa ÜNALDI CORAL	İmza.....
Üye :	Yrd. Doç. Dr. M. Kemal SANGÜN	İmza.....
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Erol ATAY	İmza.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Kod No:

İmza
...../...../.....
Prof. Dr. Abdurrahman YİĞİT
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
ÖNSÖZ.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
1 . GİRİŞ.....	1
1.1. Metil parationun farmakokinetiği	3
1.1.1. Absorbsiyon.....	3
1.1.2. Dağılım.....	4
1.1.3. Metabolizma.....	4
1.2. Metil parationun Etki Mekanizması.....	9
1.3. Glutasyon ve Sülfidril Grupları.....	10
2 . ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	14
3 . MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Deney Hayvanları.....	18
3.1.2. Kimyasallar.....	18
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması.....	18
3.2.2. Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	19
3.2.3. Dokulardaki Serbest – SH Konsantrasyonlarının Ölçülmesi.....	19
3.2.4. Dokulardaki Toplam – SH Konsantrasyonunun Ölçülmesi.....	20
3.2.5. Plazma LDH Seviyesinin Belirlenmesi.....	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	22
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
6. KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ	34

ÖZET

METİL PARATION İLE MUAMELE EDİLEN SIÇAN DOKULARINDA SÜLFİDRİL GRUBU KONSANTRASYONU DEĞİŞİMLERİNİN TESPİT EDİLMESİ

Metil paration (0,0-dimethyl 0-4-nitrophenyl phosphorothioate) tarım sektöründe ve böceklerin hijyenik kontrolünde oldukça yaygın olarak kullanılan organofosfat grubu bir insektisit olup insanlar ve diğer memeliler için oldukça toksik bir etkiye sahiptir.

Metil parationa maruz kalma başlıca solunum, deriden temas yoluyla ve ağızdan alınmasıyla olmaktadır. Metil parationun dokudaki başlıca hedefi ise asetilkolinesteraz enzimidir. Akut metil paration zehirlenmelerinde akut abdominal kramplar, mide bulantısı, kusma, ishal, aşırı tükürük üretimi, terleme, baş dönmesi gibi semptomlar ortaya çıkmakta olup solunum yetmezliği ve kalp durmasıyla ölüm meydana gelmektedir. Bu çalışmanın temel amacı, metil parationa maruz bırakılan sıçan dokularında serbest ve proteine bağlı sülfidril grubu içeriğindeki değişimleri araştırmak olarak belirlenmiştir. Serbest ve proteine bağlı sülfidril grubu seviyeleri oksidatif strese neden olan ajanların etkisiyle genellikle düşmekte olup metil paration toksisitesinin, dokuların sülfidril içeriğinde nasıl bir değişime neden olacağı bu araştırmanın konusu olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada 6 haftalık Wistar Albino erkek sıçanlar kullanılmış olup sıçanlar üç ay süresince metil parationa maruz bırakıldıktan sonra sıçanların karaciğer, beyin ve böbrek dokuları çıkarılarak bu dokulardaki serbest ve proteine bağlı sülfidril grubu konsantrasyonları belirlenmiştir. Ayrıca, plazma laktat dehidrogenaz enziminin aktivitesi de ölçülmüş olup sonuçlar, metil parationa maruz kalmanın sıçan dokularındaki serbest ve proteine bağlı sülfidril grubu konsantrasyonunu önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, kontrol grubuyla kıyaslandığında laktat dehidrogenaz enziminin seviyesinde önemli bir değişim olmadığı saptanmıştır. Sıçanların karaciğer, beyin ve böbrek dokularındaki serbest sülfidril grubu konsantrasyonları sırasıyla $3,78 \pm 0,1 \mu\text{mol}/100 \text{ mg}$, $1,56 \pm 0,08 \mu\text{mol}/100 \text{ mg}$, $2,16 \pm 0,08 \mu\text{mol}/100 \text{ mg}$ olarak tespit edilmiştir. Metil parationa maruz kalan sıçanlarda ise bu değerler $0,536 \pm 0,1 \mu\text{mol}/100 \text{ mg}$, $1,06 \pm 0,1 \mu\text{mol}/100 \text{ mg}$ ve $0,108 \pm 0,1 \mu\text{mol}/100 \text{ mg}$ olarak tespit edilmiştir. Metil parationa maruz kalan sıçanların karaciğer ve böbrek dokularındaki proteine bağlı sülfidril grubu konsantrasyonlarında da önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Bununla birlikte, proteine bağlı sülfidril grubu konsantrasyonu beyin dokusunda önemli bir değişim göstermemiş olup, üç aylık bir süre için metil parationa maruz bırakılan sıçanların dokularında serbest ve proteine bağlı sülfidril grubu konsantrasyonlarında düşmeye neden olmaktadır. Bununda, metil parationun toksisitesine bağlı oksidatif stresten kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

2006, 32 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Metil paration, Oksidatif stres, Sülfidril grupları, Sıçan dokuları

ABSTRACT**DETERMINATION OF -SH LEVEL ALTERATIONS IN RAT TISSUE THAT EXPOSED TO METHYL PARATHION**

Methyl parathion (*O,O* - dimethyl 0-4-nitro-phenyl phosphorothioate) is an organophosphorus compound that is widely used as an insecticide in agriculture and hygienic control of insects. Well known that methyl parathion is highly toxic to mammals and humans. Exposure to methyl parathion occurs by inhalation, dermal absorption and by ingestion. That main target of methyl parathion is acetyl cholinesterase enzyme which exists at synapses. Acute exposure to methyl parathion can cause abdominal cramps, nausea, vomiting, diarrhoea, increased salivation, sweating, convulsion, respiratory and cardiac arrest and even death. In this study, six weeks old Wistar albino male rats were used. Methyl parathion was added at 4 mg/kg doses in rat's foods. Rats were given orally with this food for 3 months and rats were anaesthetized by CO₂ and then the liver, brain and the kidney were extracted. Free -SH and total -SH concentrations were detected in these tissues. In addition, plasma lactate dehydrogenase (LDH) level was estimated to form an opinion about the level of cell damage. At none of the rats that treatment with methyl parathion wasn't seen acute intoxication during three months. After all of these estimations, we have determined that free -SH and total -SH concentrations in the liver, brain and the kidney tissues of rats treated with Methyl parathion were less than control group. And we did not detect any difference between control and experiment groups in respect for plasma LDH levels. These results showed that methyl parathion metabolism is related to the -SH levels and in this respect, -SH concentration decrease during the metabolism of methyl parathion. The free -SH concentrations of the liver, brain and the kidney is 3,78- 1,56 and 2,16 $\mu\text{mol}/100\text{ mg}$ tissue respectively in control groups. Free -SH concentrations were determined that 0,536- 1,06 and 0,108 $\mu\text{mol}/100\text{ mg}$ tissue respectively in experiment groups. Total -SH concentrations of the liver, brain and the kidney is 47,52- 21,36 and 35,52 $\mu\text{mol}/100\text{ mg}$ tissue respectively in control groups. Total -SH concentrations were determined that 34,24- 18,00 and 16,56 $\mu\text{mol}/100\text{ mg}$ tissue respectively in experiment groups. Our results also indicated that methyl parathion treatment results in depletion of -SH groups which may lead to oxidative stress. Thus it was concluded that methyl parathion toxicity may partly result from depletion of antioxidant and oxidative stress.

2006, 32 Pages

Keywords: Methyl Parathion, Oxidative Stress, Sulfhydryl Groups, Rat Tissue

ÖNSÖZ

Metil paration, tarım alanında ve böceklerin hijyenik amaçlı kontrolünde geniş çapta kullanılan bir insektisit olup her yıl çok sayıda insan çeşitli sebeplerden dolayı metil parationa maruz kalmaktadır.

Metil paration Akdeniz Bölgesi'nde özellikle tarımsal alanda çok fazla miktarda kullanılan bir insektisit olup bu çalışmada, methyl parationun sıçan dokularındaki olası etkileri ve glutatyon ve Sülfidril grubu seviyelerinin değişimlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Tez konumunun belirlenmesinde ve çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Deniz YILDIZ'a (Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi), çalışmalarımın her aşamasında değerli fikir ve katkılarıyla yardımlarını esirgemeyen ve beni yönlendiren ikinci danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Haydar ÖZTAŞ'a (Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Bölümü), manevi desteğini her zaman hissettiğim değerli hocam, Sayın Doç. Dr. Mutlu Nisa ÜNALDI CORAL'a (Mersin Üniversitesi Eğitim Fakültesi), kıymetli arkadaşlarım Arş. Grv. Hasan Yıldız, Bektaş Sönmez, Samim Kayıkçı, Uzman Hüseyin Doğru, Yeliz Çakır ve Ceylan Uslu'ya, varlığıyla bana her zaman destek olan sevgili arkadaşım Tuba Lütfiye Kadıoğlu'na ve hayatımın her aşamasında yardım ve desteklerini bir an için bile esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ar	Aril Grubu
CYP	Sitokrom P450
DTNB	Dithiobis nitrobenzoik asit
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
GSH	Glutatyon
GST	Glutatyon- S- Transferaz
GSSG	Okside Glutatyon
LDH	Laktatdehidrogenaz
MP	Methyl parathion
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
PAPS	Adenozin fosfat fosfosülfat
SH	Sülfidril Grubu
TCA	Triklorasetikasit

ŞEKİLLER DİZİNİ

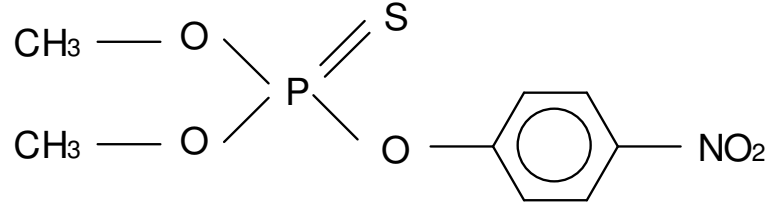
Şekil 1.1. Metil parationun kimyasal formülü.....	2
Şekil 1.2. Metil parationun oksidasyonu.....	6
Şekil 1.3. Metil parationun hidrolizi.....	7
Şekil 1.4. Metil paraoksonun hidrolizi.....	7
Şekil 1.5. Metil parationun dearilasyonu.....	8
Şekil 1.6. Metil paraoksonun dearilasyonu.....	8
Şekil 1.7. Metil parationun dealkilasyonu.....	8
Şekil 1.8. Metil paraoksonun dealkilasyonu.....	9
Şekil 1.9. Glutasyonun kimyasal yapısı.....	10
Şekil 1.10. Glutasyonun biyosentezi.....	11
Şekil 4.1. Karaciğer dokusundaki –SH konsantrasyonları.....	24
Şekil 4.2. Böbrek dokusundaki –SH konsantrasyonları.....	25
Şekil 4.3. Beyin dokusundaki –SH konsantrasyonları.....	26
Şekil 4.4. Kontrol ve Deney grubundaki sıçanların plazma LDH seviyeleri.....	27
Şekil 4.5. Karaciğer, beyin ve böbrek dokusunda ölçülen toplam ve serbest –SH konsantrasyonlarının karşılaştırılması.....	28

1. GİRİŞ

Gelişen bilim ve teknolojinin insanlığa sağladığı yararlar göz ardı edilemeyecek kadar önemli olup, toplumlar yaşam kalitesini yükseltmek, hastalıklarla mücadele etmek, daha verimli ve kaliteli ürünler elde etmek için gelişen teknolojiden faydalanmaktadır. İnsanlığı tehdit eden hastalıklara karşı yeni ilaç ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, yeni enerji kaynaklarının kullanıma sunulması, tarımdan elde edilen ürünlerin kalitesinin ve dayanıklılığının artırılması bunların başında gelmektedir.

Bu gelişmeler insanların yaşam kalitesini her ne kadar olumlu yönde etkileyip daha iyi seviyelere yükseltse de, eşzamanlı olarak, insanlar doğallıktan uzaklaşıp gelişmekte olan teknolojinin getirdiği yeni sorunlarla da başa çıkmak zorunda kalmaktadır. Bu sorunların başında, insanların çeşitli kimyasal ve kanserojen maddelere maruz kalma derecesinin gün geçtikçe artmasıdır. İnsanların günlük hayatlarında kullandıkları ilaçlar, petrol ürünleri, kirleticiler, kanserojen ve mutajen ajanlar ve tarım sektöründe kullanılan pestisitler bunların başında gelmektedir. Tüm bu kimyasal orijinli ajanlar ksenobiyotikler olarak isimlendirilebilirler.

Ksenobiyotiklerin başında pestisitler gelmekte olup pestisitler insanlar tarafından çok amaçlı olarak kullanılmaktadır. Özellikle tarım sektöründe bitkileri çeşitli zararlılardan ve bunların olumsuz etkilerinden korumak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Metil paration tarım alanında oldukça geniş çapta kullanılan organofosfat grubu bir pestisit olup, ticari olarak üretimi ilk defa 1952 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde gerçekleştirilmiştir. Metil paration genel olarak iki formda bulunmakta olup bunlardan birincisi; saf metil paration olarak bilinir ve beyaz kristaller şeklindedir. İkinci tipi ise; % 80 oranında Metil paration içermekte olup kahverengi bir sıvı özelliğinde olup, çürük yumurta veya sarımsak kokusuna benzer bir kokuya sahiptir (ATSDR, 1990).



Şekil 1. 1. Metil parationun kimyasal formülü.

İnsanlar ve diğer memeli hayvanlar için oldukça toksik bir bileşik olan metil paration normalde doğada bulunan bir bileşik değildir (AGARWAL, 1993). Metil paration, üretimi evresinde veya tarımsal amaçlı uygulanmasından sonra doğal çevreye geçmektedir. Metil parationun büyük bir kısmı uygulandığı bölgede kalırken çok az bir kısmı da hava akımı veya suyla taşınabilme özelliğine sahiptir. Metil paration doğada bir hafta ile birkaç ay arasında kalabilir ve topraktaki bazı bakterilerin metabolik etkileriyle, su veya güneş ışığının etkisiyle başka maddelere dönüşebilmektedir (ATSDR, 1990). Metil parationun uygulandığı bölgede en az bir hafta boyunca kalabilmesi çeşitli şekillerde insanların bu toksik bileşikle kontamine olmasına neden olmaktadır. Bunun yanında metil parationun evlerde hijyen amaçlı kullanımı da insanların bu bileşikten etkilenmesine sebep olmaktadır. Her yıl binlerce insan çeşitli sebeplerle metil parationa maruz kalmakta ve buna bağlı olarak da çeşitli sağlık sorunları yaşamaktadır. Örneğin 1996 yılında sadece Costa Rica’da 1274 kişinin pestisitlere bağlı olan zehirlenme şikâyetiyle hastaneye başvurduğu rapor edilmiştir (LEVERIDGE, 1998). İnsanlar başlıca soluma, deriden temas ve ağızdan alma yoluyla bu kimyasal bileşiğe maruz kalmaktadır (OHS, 1991). Soluma yoluyla maruz kalma, bileşiğin genellikle sprey şeklinde uygulanması ve uygulamayı yapan kişilerin bu bileşiği solunum sistemiyle almaları şeklinde olmaktadır. Bileşiğin üretim evresinde ve uygulama veya metil parationla kontamine olmuş gıda ve eşyalara dokunmakla cilde bulaşan bu pestisidin deriden vücut içerisine nüfuz ederek zehirlenmelere sebep olduğu bilinmektedir (WHO, 1986). Metil parationun ağız yoluyla alınması, bu bileşiğin uygulandığı gıdaların temizlenmeden tüketilmesi veya kazara bu bileşiğin yutulması şeklinde olmaktadır.

1. 1. Metil parationun Farmakokinetiği

1. 1. 1. Absorbsiyon

Metil paration, soluma, deriden temas ve ağızdan alınma Őeklindeki maruz kalmalardan sonra vücuda oldukça iyi bir Şekilde absorbe olmaktadır. Örneğin ağız yoluyla alınan metil paration gastrointestinal sistemden oldukça çabuk ve tamamıyla absorbe olmaktadır. Sıçanlara oral yoldan uygulanan 50 mg/kg dozundaki metil paration, uygulamadan 6-8 dakika sonra sıçanların kan plazmasında ve beyinlerinde tespit edilmiştir (YAMAMOTO ve ark., 1983).

İnsanların metil parationa maruz kalmalarında bileşiğin deriden temas yoluyla alınması çok sık karŐılaŐılan bir durum olup, bileşiğin uygulanması sırasında deriden temas yoluyla kontaminasyon gerçekteŐmektedir. Metil paration deriden kolayca nüfuz edebilmekte ve kan dolaşımına geçebilmektedir. Ancak deriden nüfuz eden metil paration konsantrasyonu ve nüfuz etme hızı kullanılan taŐıyıcı bileşiğin çeŐidine göre deđiŐmektedir. Yapılan araŐtırmalarda metil paration çeşitli çözücülerle karŐıtırılmıŐ ve bu çözücüler içindeki taŐınma konsantrasyonu ve hızı araŐtırılmıŐtır. Örneğin taŐıyıcı bileşik olarak aseton ve suyun kullanıldığı bir araştırmada uygulamadan 24 ve 48 saat sonra methyl parathionun nüfuz etme oranı, asetonla birlikte, sırasıyla % 1,35-3,58 olarak, suyla birlikte ise % 5,20-8,99 olarak rapor edilmiştir (SARTORELLI ve ark., 1997).

Metil parationun genellikle sprey Şeklinde havaya püskürtülerek uygulanmasından dolayı bu bileşiğin solunum sistemi yoluyla alınmasına sık rastlanılmaktadır. Metil parationun solunum sistemi yoluyla alınmasıyla ilgili fazla araştırma bulunmamaktadır. Yapılan araŐtırmaların çoğu metil parationun *i.v.* olarak uygulanmasından elde edilen değerleri içermektedir. Çünkü metil paration solunum sistemi yoluyla alınıp akciğerlere ulaŐtıđında buradan çok hızlı ve tamamen kan dolaşımına geçebilecektir. Metil paration, 257–287 mg/m³ (LC₅₀) dozunda solunum yoluyla sıçanlara uygulanmış ve uygulamadan 1 saat sonra sıçanların kanındaki toplam kolinesteraz enziminin % 41'inin inhibe olduğu tespit edilmiştir (NEWELL ve DILLEY, 1978).

1. 1. 2. Dağılım

Metil parationa herhangi bir şekilde maruz kalındıktan sonra bileşik hızlı bir şekilde çeşitli doku ve organlara yayılmakta olup, kan dolaşımına geçen metil paration, kan-beyin bariyerini geçip beyin dokusuna ulaşabilmektedir. Sıçanlara 50 mg/kg dozunda metil paration ağız yoluyla, 3 mg/kg dozunda i.v. yoldan uygulandığında oral olarak uygulamadan 6 – 8 dakika sonra ve i.v. uygulamadan 90 saniye sonra bu bileşik sıçanların beyin dokusunda tespit edilmiştir (YAMAMOTO ve ark., 1983).

Ayrıca 15 mg/kg dozundaki radyoaktif P atomuyla işaretli metil paration sıçanlara i.v. yoldan uygulanmış ve uygulamadan 2,5 dakika sonra karaciğer, akciğer, beyin, böbrek ve kalp gibi organlarda yüksek radyoaktiviteye rastlanmıştır (MIYAMOTO, 1964).

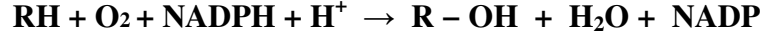
Metil parationun transplasental transportuna ilişkin çalışmalar da mevcut olup, metil parationun gebe sıçanlara ağız yoluyla uygulanmasını takiben bu bileşik fötüsün karaciğer, beyin ve kas dokusunda tespit edilmiştir (ACKERMANN ve ENGST, 1970). Ayrıca yapılan çalışmalar, metil paration uygulanmış sıçan ve keçi gibi hayvanlarda bu bileşiğin süte geçmediğini, yine tavuklarda yumurtaya geçmediğini göstermiştir (VAN DIJK, 1988; BAYNES ve BOWEN, 1995).

1. 1. 3. Metabolizma

Metil parationun metabolizmasını incelemeyen önce ksenobiyotiklerin metabolizmasını kısaca gözden geçirmek yararlı olacaktır.

Ksenobiyotikler organizmanın vücuduna yabancı olan maddeler olarak tanımlanabilir. Bunların başında tıbbi amaçlı kullanılan ilaçlar, katkı maddeleri, kimyasal kanserojenler, petrol ürünleri ve pestisitler gelmektedir. Vücut için yabancı olan bileşikler, metabolize edildikten sonra atılarak bunların zararlı etkilerinden korunmaya çalışılır. Bu bileşiklerin büyük çoğunluğunun metabolize edildiği başlıca organ karaciğer olup, bir ksenobiyotiğin herhangi bir değişikliğe uğramadan atılması nadir olarak görülen bir durumdur. Ksenobiyotiklerin metabolizması genel olarak iki

safhaya ayrılabilir. Birinci safhada görülen başlıca reaksiyon hidroksilasyondur. Hidroksilasyon reaksiyonları monooksijenazlar veya Sitokrom P450 enzimleri olarak bilinen çeşitli enzimler tarafından katalizlenir. Hidroksilasyon reaksiyonları sonucunda bu kimyasal bileşiklerin sudaki çözünürlüğü arttırılmış olur. Birinci safhanın temel reaksiyonu olan hidroksilasyonu aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür.

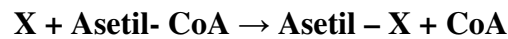


İkinci safhada ise, birinci safha sonucunda oluşan çeşitli metabolitler konjugasyon veya metilasyon yoluyla çeşitli polar bileşiklere dönüştürülürler. Konjugasyon çoğunlukla glukuronik asit, sülfat, asetat, glutatyon ve bazı aminoasitlerle olmaktadır. Bu konjugasyon reaksiyonlarını aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür;

A - Glukronidasyon: Bu reaksiyonlarda UDP- Glukuronik asit glukuronil verici olarak görev yapar. Bu reaksiyonlar endoplazmik retikulum ve sitosolde bulunan glukuronosiltransferaz enzimleri tarafından katalizlenir. Anilin, benzoik asit, fenol ve bazı steroidler bu şekilde dışarı atılırlar.

B – Sülfasyon: Bazı arilaminler ve fenoller sülfatlanarak detoksifiye edilirler. Bu tür reaksiyonlarda sülfat vericisi olarak görev yapan ve aynı zamanda aktif sülfat olarak da adlandırılan bileşik adenozin 3'- fosfat- 5'-fosfosülfat (PAPS)'dır.

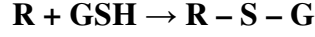
C – Asetilasyon: Genel reaksiyon tipi şöyledir;



Bu reaksiyonda X harfiyle sembolize edilen bileşik herhangi bir ksenobiyotik olup, burada Asetil- CoA asetil grubu vericisi olarak görev yapar. Bu tür reaksiyonlar pek çok dokuda, özellikle karaciğerde bulunan asetiltransferaz enzimleri tarafından katalizlenir.

D – Metilasyon: Bazı ksenobiyotikler de metiltransferaz enzimleri tarafından metillenerek detoksifiye edilirler. Bu reaksiyonlarda metil grubu vericisi olarak S-adenosilmetiyonin görev yapar.

E – Glutasyon ile Konjugasyon: Glutasyon, glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan bir tripeptittir. Pek çok elektrofilik ksenobiyotik glutasyonla konjuge olarak detoksifiye edilir. Genel reaksiyon tipi aşağıdaki gibidir;



Burada R harfi ile sembolize edilen bileşik elektrofilik bir ksenobiyotik olup, GSH ise glutasyonun kısaltmasıdır. Bu reaksiyonlar glutasyon- S – transferaz enzimleri tarafından katalizlenir. Bu detoksifikasyon yolunda önce glutamil ve glisinil grupları spesifik enzimler vasıtasıyla uzaklaştırılır. Sisteinil kısmındaki amino grubuna ise bir asetil grubu ilave edilir ve böylece merkaptürik asit oluşur. Bu bileşik de idrara verilerek dışarı atılır (BAMMLER ve ark., 2001).

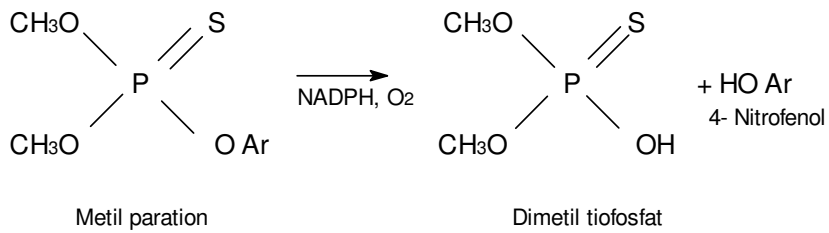
Metil parationun metabolize edilmesinde dört farklı mekanizma rol oynamaktadır.

Bunlar;

- 1- Oksidasyon
- 2- Hidroliz
- 3- Dearilasyon
- 4- Dealkilasyon ‘dur.

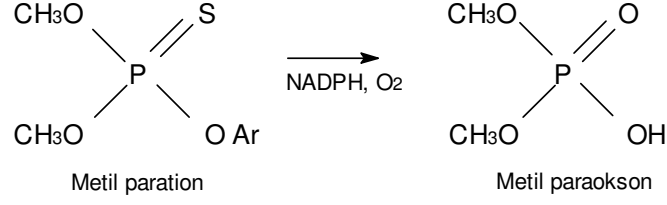
Bu mekanizmaları tek tek irdeleyecek olursak,

Oksidasyon :

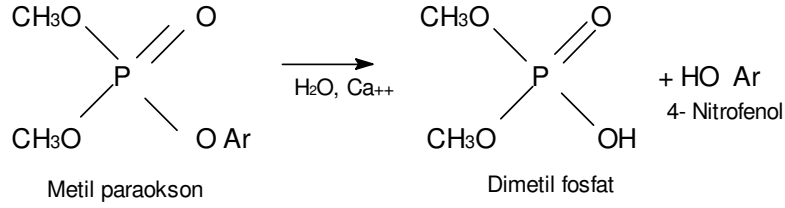


Şekil 1. 2. Metil parationun oksidasyonu.

Reaksiyonda da görüldüğü gibi, metil parationun aril grubu okside edilir ve bunun sonucunda ise dimetil tiyofosfat ve 4- nitrofenol teşekkül eder. Daha sonra 4- nitrofenol’de glukuronidasyona uğratarak 4- nitrofenol glukuronid teşekkül eder. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH elzemdir (NAKATSUGAWA ve ark. 1968).

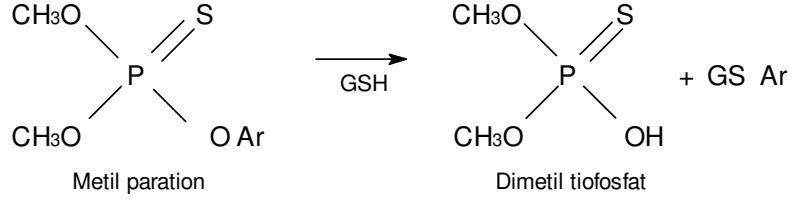
Hidroliz:**Şekil 1. 3.** Metil parationun hidrolizi

Metil parationun enzimatik hidroliz yoluyla detoksifiye edilmesinde ilk basamak reaksiyon, metil parationun oksidatif desülfürasyona uğratılması ve bunun sonucunda da toksik bir oksijen analogu olan metil paraoksonun teşekkül etmesidir.

**Şekil 1. 4.** Metil paraoksonun hidrolizi.

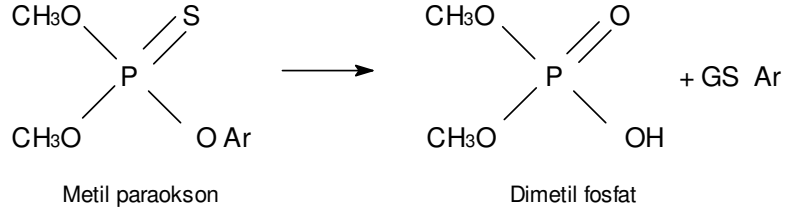
İkinci basamakta ise teşekkül eden metil paraokson enzimatik hidroliz yoluyla dimetil fosfat ve 4- nitrofenole dönüştürülür.

Dearilasyon: Bu metabolik yolda glutatyon ariltransferaz enziminin katalize ettiği reaksiyonlar görülmektedir. İlk reaksiyonda glutatyon ariltransferaz enzimi metil parationdaki aril grubunu glutatyona transfer etmek suretiyle dimetil tiyofosfat teşekkülünü sağlamaktadır.



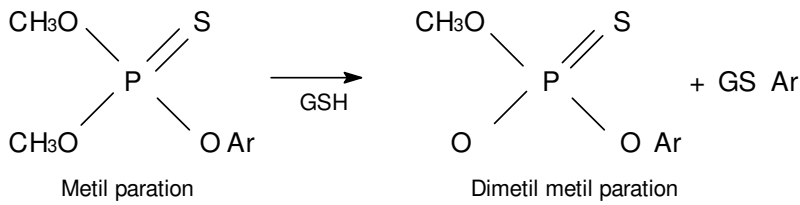
Şekil 1. 5. Metil parationun dearilasyonu.

Aşağıda görülen reaksiyonda metil paraokson yine glutasyon ariltransferaz enzimi tarafından dimetil fosfat ve 4-nitrofenole dönüştürülmektedir. Bu reaksiyonlarda meydana gelen temel olay bileşiklerdeki aril grubunun glutatyona transfer edilmesidir.

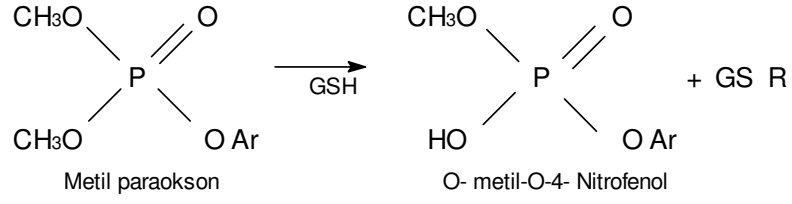


Şekil 1. 6. Metil paraoksonun dearilasyonu.

Dealkilasyon: Metil parationun glutatyona bağlı metabolizmasında rol oynayan diğer bir detoksifikasyon yolu da bileşikteki alkil grubunun glutasyon alkiltransferaz enzimi tarafından uzaklaştırılmasıdır. Bu reaksiyon sonucunda metil parationdan desmetil metil paration, metil paraoksondan ise O- metil- 4- nitrofenol teşekkül eder. Daha sonra bu bileşikler de idrarla dışarı atılarak vücuttan uzaklaştırılır.



Şekil 1. 7. Metil parationun dealkilasyonu.



Şekil 1. 8. Metil paraoksonun dealkilasyonu.

1. 2. Metil parationun Etki Mekanizması

Metil paration zehirlenmelerinde ortaya çıkan klinik semptomların tümü, bu bileşiğin sinir sistemi üzerine etki etmesinden kaynaklanmaktadır (LEFKOWITZ ve ark., 1996).

Metil parationun etki mekanizmasını daha iyi kavrayabilmek için sinir sisteminin organizasyonuna ve nörohumoral transmitterlere kısaca değinmekte yarar vardır.

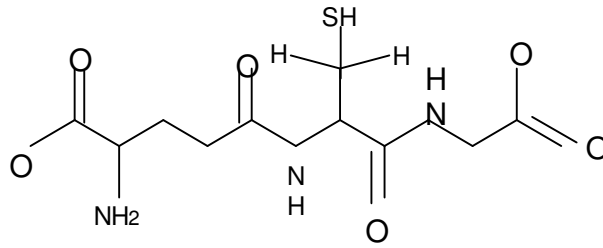
Otonom sinir sistemi kalp, kan damarları, salgı bezleri ve düz kaslar gibi istemsiz çalışan organları uyaran sistemdir. Otonom sinir sistemi parasempatik ve sempatik sinir sistemi olmak üzere ikiye ayrılır. Somatik motor sinir sistemi ise iskelet kasları gibi istemli olarak hareket eden organ ve dokuları uyaran sistemdir.

Bir nörondan diğer nörona sinyal iletimi sinapslarda oluşturulan ve nörotransmitter olarak adlandırılan maddeler aracılığıyla gerçekleşir. Asetilkolin sinir sisteminde bulunan bir nörotransmitter madde olup, sinapslarda asetilkolin serbestlendikten kısa bir süre sonra asetilkolinesteraz enzimi tarafından tekrar yıkılır. Metil paration ve onun aktif metaboliti olan metil paraokson da etkilerini bu enzimi inhibe ederek gösterirler (CHAMBERS ve ark.,1991). Metil paraokson, asetilkolinesteraz enziminin aktif sitesini fosforile ederek enzimi inaktif hale getirir. Enzimle metil paraoksonun bağlanması ilk birkaç saat içinde geri dönüşümlü olabilir. Fakat 24–48 saat sonra daha sağlam kovalent bağların teşekkülü ile geri dönüşümsüz bir hal almaktadır. Enzimin fosfat grubundaki alkil yan zinciri uzaklaştırılır ve bunun yerine bir hidrosil grubu bağlanır. Bu şekilde değişime uğrayan enzimin tekrar aktivite göstermesi mümkün değildir.

Asetilkolinesteraz enziminin inhibe olması sinapslarda asetilkolin'in hidrolizini engellemiş olur ve bunun sonucunda ise sinapslarda asetilkolin birikmeye başlar. Bu durumda da kolinerjik reseptörlerin aşırı uyarılmasına sebep olur (PROCTOR ve ark., 1988; SULTATOS, 1994). Zehirlenme sırasında ortaya çıkan semptomların sebebi de muskarinik, nikotinik ve merkezi sinir sistemindeki reseptörlerin aşırı uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Parasempatik sinir sisteminin kontrolü altında bulunan muskarinik reseptörlerin hiperaktivitesi solunum ve gastrointestinal sistemde anormalliklere sebep olur ve aşırı terleme, bradikardi, miyosis ve aşırı tükürük oluşumu gibi semptomlar oluşturur. Nikotinik reseptörlerin hiperaktivitesi sonucu ise kaslarda paraliz ortaya çıkar (LEFKOWITZ ve ark., 1996; TAFURI ve ROBERTS, 1987). Merkezi sinir sistemindeki reseptörlerin hiperaktivitesi sonucunda ise konuşma bozukluğu, baş dönmesi, denge kaybı ve ataksi gibi semptomlar ortaya çıkar.

Bunlara ilaveten organofosfatların, lenfositlerin lizozimlerinin zar yapılarını bozarak ve böylece lenfokin salınımını inhibe ederek de immünotoksisiteye sebep oldukları bildirilmiştir (SHARMA ve REDDY, 1987).

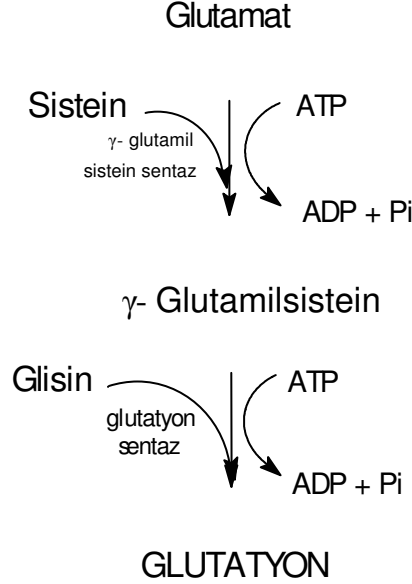
1. 3. Glutasyon ve Sülfidril Grupları:



Şekil 1. 9 Glutasyonun kimyasal yapısı

Metil parationun glutasyonla konjuge olarak detoksifiye edilir. Bu nedenle glutasyonun genel özelliklerine ve hücre için önemine kısaca değinmek yararlı olacaktır.

Glutasyon, L-glutamat, L-sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan bir tripeptiddir. γ -glutamilsistein sentaz ve glutasyon sentaz enzimlerinin katalizlediği ardışık iki reaksiyon sonucunda sentezlenir (MEISTER, 1981).



Şekil 1.10 Glutasyonun biyosentezi (MEISTER ve ANDERSON, 1983).

Glutasyonun diğer adı da gamaglutamilsisteinilglisin olup, sistein aminoasidi glutasyon biyosentezi için esansiyel aminoasittir. İnsanlar bu aminoasidi sentezleyemedikleri için diyetle hazır olarak almak zorundadırlar. Glutasyon genellikle GSH şeklinde üç harfli kısaltmayla ifade edilmekte olup, kısaltmadaki SH harfleri sistein aminoasidinin yapısında bulunan sülfür- hidrojen molekülünü temsil etmektedir ve tiyol olarak bilinir. Sistein, bu tripeptid yapının aktif kısmı olup, sahip olduğu $-SH$ grubu ile serbest radikallere elektron aktararak bu zararlı bileşikleri etkisiz hale getirmektedir (GRIFFITH, 1999). Serbest radikaller yapılarında eşlenmemiş bir elektron içeren moleküller olup, hücre zarına, proteinlere ve DNA'ya ciddi zararlar verebilirler. Glutasyon bu bileşiklerle konjuge olarak vücuttan uzaklaştırılmalarını sağlar (MEISTER, 1994).

Glutasyon genel olarak iki formda bulunmaktadır. Bunlardan birincisi aktif formu olup diğer moleküllerle konjuge olabilir. Bu aktif form, herhangi bir molekülle

konjuge olduğunda okside olur ve bu yapıya okside glutatyon (GSSG) denir. GSSG glutatyonun inaktif formudur ve tekrar aktivite kazanabilmesi için redüklenmesi gerekmektedir. Hücredeki GSH ve GSSG miktarları arasındaki denge, hücrenin bölünme hızını ve bağışıklık yanıtını etkilemektedir (BROOME ve JENG, 1973; DENEKE ve FANBURG, 1989). Hücre içerisindeki tiyollerin miktarı çeşitli mekanizmalar tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Çeşitli stres durumlarında miktarları artan serbest radikaller bu regülasyon mekanizmasını bozabilmekte ve hücre veya dokuya zarar verebilmektedir (TAYLOR ve ark., 1996).

Glutatyon tüm hücre ve organlarda bulunmakla birlikte, karaciğer, dalak ve böbrek en fazla miktarda glutatyon içeren organlardır. Bu organların yüksek konsantrasyonda glutatyon içermesi detoksifikasyon reaksiyonlarında rol oynamalarından kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte, göz (lens ve kornea), pankreas, akciğerler, kalp ve merkezi sinir sistemi de önemli miktarda glutatyon içermektedir. Glutatyon organizmanın metabolizmasını düzenli bir şekilde devam ettirebilmesi için gerekli olan bir molekül olup, hücrede önemli görevler üstlenmiştir. Bunların başında, önemli bir redoks tamponu olması ve hücre için zararlı olan bileşiklerin detoksifiye edilmesinde rol oynaması gelmektedir. Ayrıca, kırmızı kan hücrelerinin yapısının korunmasında, çeşitli proteinlerin taşınmasında ve C vitamini metabolizmasında etkili olduğu bilinmektedir (LOMAESTRO ve MALONE, 1995; BRAVERMAN ve PFEIFFER, 1987).

Glutatyon sahip olduğu reaktif -SH grubu vasıtasıyla ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli bir rol oynamasının yanında hücreyi oksidatif stres ve elektrofilik bileşiklerin zararlı etkilerinden de korumaktadır. Bu reaktif -SH grubu vasıtasıyla yine reaktif ksenobiyotiklerle konjuge olarak glutatyon S konjugatlarını oluşturur, bu konjugatlar daha sonra vücuttan uzaklaştırılır. Bu nedenle glutatyon hücreler için etkili bir redox tamponu olup, glutatyonun sinyal iletim mekanizmasında, gen ifadesinde ve apoptosis mekanizmasında da rol oynadığı bilinmektedir (ARRIGO, 1999; BLACKBURN ve ark., 1999).

Glutatyonu hücre için bu kadar önemli yapan kuşkusuz sahip olduğu reaktif -SH grubu olup, detoksifikasyon reaksiyonlarında da bu -SH grupları rol oynamaktadır. -SH gruplarının hücre bölünmesinde, farklılaşmasında ve karsinogenezizde de önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Bu nedenle bu araştırmada sıçan dokularında glutatyon ve –

SH gruplarının konsantrasyonlarındaki değişimler, araştırmanın ana konusu olarak belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

KLAEBE ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada metil ve etil parationun glutatyon-S-transferaz enzimi tarafından metabolize edilmesini enzimatik bir modelle ifade etmişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre metil parationun bir tiyol (glutatyon) ve bir tertiary aminle reaksiyonunda metil grubunun ardışık olarak önce amin grubuna daha sonra ise tiyol grubuna transfer edildiği tespit edildiğini, reaksiyonun bir demetilasyon olayından sonra durduğunu ileri sürmüşlerdir.

ABU-QARE ve ABOU-DONIA, (1999), yaptıkları çalışmada metil parationun plasental transferini ve farmakokinetiğini incelemişlerdir. Bu çalışmada C atomu radyoaktif olarak işaretlenmiş metil paration 10.00 mg dozunda bir defaya mahsus olmak üzere sıçanlara uygulanmıştır. Uygulamadan sadece 1 saat sonra tüm dokularda ve fetusun dokusunda radyoaktivite tespit edilmiştir. Organlarda elde edilen radyoaktivite değerleri azalan sıraya göre şu şekilde sıralanmaktadır; adipoz doku (67532), böbrek (1571), dalak (1256), spinal kord (1004), kalp (729), karaciğer (706), beyin (546), plasenta (389) ve fetus (256). Bu değerler ng methyl parathion eşdeğer / g olarak ifade edilmiştir.

POPE ve ark. (1999), yaptıkları çalışmada akut veya kronik olarak ve değişik dozlarda verilen metil paration ve chlorpyrifosun neonatal ve erişkin sıçanlardaki nörokimyasal etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada 7 günlük neonatal ve 90 günlük erişkin sıçanlar kullanılmış olup, sıçanlara 14 gün boyunca metil paration ve chlorpyrifos uygulanmıştır. Araştırma sonucunda sıçanlardaki kolinesteraz enziminin inhibisyonu ve muskarinik reseptörler incelenmiştir. Araştırmadan elde edilen bulgular metil parationun ve chlorpyrifosun neonatal sıçanlarda erişkin sıçanlara nazaran kolinesteraz enziminin inhibisyonunu arttırdığı ve muskarinik reseptörlerin sayısını düşürdüğü gözlenmiştir. Araştırma bulgularına göre neonatal sıçanların erişkinlere göre organofosfat grubu insektisitlerin zararlı nörokimyasal etkilerine daha duyarlı olduğu belirlenmiştir.

ABU-QARE ve ABOU-DONIA, 2000 yılında yaptıkları çalışmada radyoaktif olarak işaretlenmiş ve deri yoluyla tek doz olarak verilen metil parationun hamile sıçanlardaki üriner eksresyonunu araştırmışlardır. C atomu radyoaktif olarak işaretlenmiş metil paration 10.00 mg dozunda dermal yoldan sıçanlara uygulanmış ve

uygulamadan 1, 2, 4, 12, 24, 48, 72 ve 96 saat sonra sırayla örnekler alınmış ve idrardaki p-nitrofenol ve O-O-dimethyl O-4-nitrofenil fosfat miktarları ölçülmüştür. İlk 4 saat içinde toplam radyoaktivitenin % 30'u, 24 ve 96. saatlerde ise sırasıyla %50 ve %90 oranında radyoaktivite idrarda tespit edilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmanın sonucunda gebeliğin metil paration toksisitesinde bir risk faktörü olduğunu ileri sürmüşlerdir.

CABELLO ve ark. (2000), asetilkolin enziminin aktivitesini inhibe eden paration ve malation gibi organofosfat grubu iki bileşiğin sıçan meme bezlerinde kanser oluşumunu indüklemesi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Sıçanlar bu bileşiklerle 28 hafta boyunca muamele edilmiş ve sıçanlardaki kolinesteraz enziminin inhibisyonu ve meme bezlerinde herhangi bir malignant transformasyon olup olmadığı incelenmiştir. Araştırma sonucunda organofosfat grubu bu bileşiklerin sıçanların meme bezlerinin epitelinde malignant transformasyon oluşumunu başlattığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda kolinerjik stimulasyondan dolayı da sinir sistemi düzeyinde birtakım değişikliklerin meydana geldiğini belirtmişlerdir.

ALBORES ve ark. (2001), çalışmalarında sıçan beyin ekstraktlarında metil parationun sitokrom P4502B (CYP2B) enziminin aktivasyonunu incelemişlerdir. Araştırmada sıçan beyin ekstraktlarına sitokrom P4502B nin substratı olan fenobarbital ve monoklonal anti-rat CYP2B antibadileri ilave etmişlerdir. Araştırma sonucunda anti-rat CYP2B antibadileri eklendiğinde asetilkolinesteraz enziminin inhibe olmadığı ancak fenobarbital varlığında enzim inhibisyonunun gerçekleştiğini ortaya çıkarmışlardır. Bunun sebebini de metil parationun CYP2B ye olan affinitesinin fenobarbitalden daha fazla olmasına bağlamışlardır.

CASTILLO ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada metil paration ve endosulfanın erişkin sıçanlarda meydana getirdiği davranışsal etkileri araştırmışlardır. Araştırma sonucunda her iki bileşimde sinir sistemindeki GABAerjik ve kolinerjik sistemleri etkileyerek sıçanlarda davranış bozukluklarına sebep olduklarını belirlemişlerdir. Korteks ve hipokampusta bulunan bu sistemlerin, sinirsel uyarılmayı düzenleyen merkezler olmasından dolayı bu etkilerin ortaya çıktığını ifade etmişlerdir.

INSTITORIS ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada metil paration ve propoksura maruz kalan sıçanlarda bu bileşiklerin davranışsal, nörotoksik ve immünotoksik etkilerini araştırmışlardır. Wistar ırkı sıçanlar bu bileşiklerle ayrı ayrı ve bu bileşiklerin

kombinasyonu ile 6 hafta süresince muamele edilmişlerdir. Bu sürenin sonunda toksisitenin kriteri olarak bazı parametreler üzerinde ölçümler yapmışlardır. Bunlar; sıçanların vücut ağırlığı, organ ağırlıkları, dalaktaki plak oluşturan hücre sayısı (PFC), açık alan davranışı (OF), işitsel korku tepkisi (ASR), ve periferel sinirlerdeki iletim hızıdır. Araştırma sonucunda tolere edilen maksimum dozdaki propoksurun karaciğerde ağırlık azalmasına sebep olduğu ama metil parationun böyle bir etki yapmadığı tespit edilmiştir. Her iki bileşiğin doza bağlı olarak OF ve ASR aktivitesinde artışa neden olduğu da araştırma sonucunda belirlenmiştir. Bileşiklerin hiçbiri PFC cevabında bir değişikliğe sebep olmamıştır. Yine araştırma bulgularına göre metil parationun etkisiz dozdaki propoksur ile kombine edildiğinde propoksurun efektif dozunu etkilediği sonucuna ulaşılmıştır.

SUN ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada derialtı enjeksiyonla metil parationa maruz bırakılan sıçanların beyinlerinin farklı bölgelerindeki muskarinik reseptör popülasyonlarındaki değişiklikleri incelemişlerdir. 3 mg/kg/gün dozunda metil paration derialtı enjeksiyonla sıçanlara uygulanmıştır. Uygulamadan 3 hafta sonra asetilkolinesteraz enziminin aktivitesi ve radyoaktif işaretli ligandların muskarinik reseptörlere bağlanma oranı ölçülmüştür. Radyoaktif işaretli ligand olarak, QNB (selektif olmayan), pirenzepine (M1 selektif) ve AF-DX384 (M2 selektif) kullanılmıştır. 9. enjeksiyondan sonra asetilkolinesteraz inhibisyonu % 90 olarak tespit edilmiştir. Beynin farklı bölgelerinde QNB'nin bağlanma oranı %33, pirenzepine'nin bağlanma oranı % 22 ve AF-DX384'ün bağlanma oranı ise % 38 oranında düşmüştür. Yapılan çalışma sonucunda metil parationa karşı tolerans gelişiminde muskarinik reseptörlerin down-regülasyonunun rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu reseptörlerin regülasyonlarının reseptör alt tipleri ve beynin farklı bölgeleri arasında farklı olduğu belirlenmiştir.

ABEL ve ark. 2004 yılında yaptıkları çalışmada memelilerde glutatyon-S-transferaz enziminin organofosfat grubu insektisitlerin biyotransformasyonunda ne derece etkili olduğunu araştırmışlardır. Çalışmada sıçan, fare ve insan karaciğerinden izole edilen sitosol fraksiyonu kullanılmış ve bunların 300 µmol metil parationu transforme etme hızları karşılaştırılmıştır. Sonuçlar sırasıyla 2.36, 1.76 ve 0.70 nmol desmethyl methyl parathion/min/mg olarak tespit edilmiştir. Yine araştırma sonucunda insan GST A1-1 enziminin karaciğerde metil parationun O-dealkilasyonunda önemli bir

rol oynadığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde, beyin ve iskelet kasında GST T1-1 enziminin metil parationun biyotransformasyonunda etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, 6 haftalık 10 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanılmış olup, sıçanlar, 5'erli iki gruba ayrılmıştır. Çalışma süresince sıçanlar standart pellet sıçan yemi ve su ile *ad libitum* olarak beslenmiş olup, biyolojik ritimlerinin düzenli olabilmesi için 12 saat yapay ışık ve 12 saat karanlık uygulanmıştır.

3.1.2. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasallardan metil paration, piruvik asit, β -Nikotinamid adenin dinükleotit indirgenmiş form (NADH) ve Tris (Hidroksimetil) amino metan Sigma Chemical Co. USA'dan temin edilmiştir. 5,5-Ditiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) Fluka Chemie Switzerland'dan temin edilmiştir. Triklorasetik asit (TCA) Merck Germany'den temin edilmiştir. Doku homojenatlarının hazırlanmasında Labourtechnick T25 Basic marka homojenizatör kullanılmış olup, spektrofotometrik ölçümler için ise Shimatzu 1200 spektrofotometre cihazı kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

Altı haftalık Wistar Albino sıçanlardan deney grubunun (MP) yemlerine 3 ay süresince 4 mg/kg/gün dozunda metil paration ilave edilmiş olup, metil parationun kokusunun hafifletilmesi amacıyla steril suyla karıştırılmıştır. Kontrol grubundaki sıçanların yemlerine ise herhangi bir kimyasal uygulanmamıştır.

3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması

Üç aylık sürenin sonunda sıçanlar dietil eter ile uyutularak dekapite edilip, abdominal diseksiyonla karın boşluğuna girildi ve oradan da göğüs kafesi açılarak kalbe

ulaşıldı. Kan, kalpten enjektör vasıtasıyla alındı ve EDTA'lı tüplere kondu. Kan örneklerinin alınmasından sonra karaciğer ve böbrekler bir bütün olarak çıkarıldı. Daha sonra kafatası oksipital bölgeden açılarak beyne ulaşıldı ve beyin de bir bütün olarak çıkarıldı. Çıkarılan organlar, % 0,9'luk NaCl solüsyonunda yıkandıktan sonra - 60 °C deki derin dondurucuya kondu. EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 4000 g de 5 dakika santrifüj edildi ve plazmaları alındı. Alınan plazma örnekleri de - 60°C deki derin dondurucuya kondu.

3.2.2. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Derin dondurucuda - 60 °C de tutulan doku örnekleri dışarı çıkarıldı. Oda sıcaklığında bekletilerek çözünmeleri sağlandı. Daha sonra her bir doku örneğinden 100 mg'lık parçalar kesildi ve tüplere kondu. Bunun üzerine 2000 µl Tris-HCl pH 8,2 ilave edildi ve doku örnekleri homojenizatörde homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri sırasında ısı nedeniyle meydana gelebilecek denatürasyonları önlemek amacıyla tüm bu işlemler buz üzerinde yapıldı.

3.2.3. Dokulardaki Serbest -SH Konsantrasyonunun Ölçülmesi

Dokulardaki serbest-SH konsantrasyonunun ölçülmesi işleminde tüm doku numuneleri için aşağıdaki prosedür uygulanmıştır (SEDLAK ve LINDSAY, 1968).

- 1 – Hazırlanan doku homojenatından 200 µl alınıp bir tüpe kondu.
- 2 – Üzerine % 10'luk TCA solüsyonundan 200 µl ilave edildi ve iyice karıştırıldı.
- 3 – Karışım daha sonra 12.000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi.
- 4 – Santrifüj işleminden sonra her bir tüpten 350 µl süpernatant alındı.
- 5 – Süpernatantın üzerine 1000 µl Tris-HCl pH 8,9 ilave edildi.
- 6 – Bu karışımın üzerine de 600 µl Tris-HCl pH 8,4 ilave edildi.
- 7 – Son olarak 150 mM'lık DTNB solüsyonundan 50 µl ilave edildi.
- 8 – Renk oluşumu gözlendikten sonra, 412 nm'de ki absorbansları köre karşı ölçüldü ve serbest-SH konsantrasyonu 13,6 mM ekstinksiyon katsayısı kullanılarak belirlendi. Kör

tüpün hazırlanmasında da aynı basamaklar izlendi. Ancak kör tüpe DTNB yerine aynı miktarda Tris-HCl pH 8,4 ilave edildi.

3.2.4. Dokulardaki Toplam - SH Konsantrasyonunun Ölçülmesi

Dokulardaki toplam-SH konsantrasyonunun ölçülmesinde tüm doku örneklerine aşağıdaki prosedür uygulanmıştır (SEDLAK ve LINDSAY, 1968).

- 1 – Hazırlanan doku homojenatlarından 80 µl alınıp tüplere kondu.
 - 2 – Üzerine 270 µl Tris-pH 8,4 ilave edildi ve karıştırıldı.
 - 3 – Karışıma 50 µl DTNB ilave edildi ve karıştırıldı.
 - 4 – Bunun üzerine ise 1600 µl metanol ilave edildi ve iyice karışması sağlandı.
 - 5 – Daha sonra tüpler 4000 g de 5 dakika santrifüj edildi.
 - 6 – Süpernatantlar alındı ve 412 nm deki absorbanları ölçüldü.
 - 7 –Toplam-SH konsantrasyonu 13.6 mM ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı.
- Kör tüpün hazırlanmasında yine aynı basamaklar izlendi ancak DTNB yerine aynı miktarda Tris-HCl pH 8,4 ilave edildi.

3.2.5. Plazma Laktat Dehidrojenaz (LDH) Seviyesinin Belirlenmesi

Plazma LDH seviyesinin belirlenmesinde, tüm plazma örneklerine aşağıdaki prosedür uygulanmıştır.

- 1- Donmuş plazma örnekleri su banyosunda 37 °C ye ısıtıldı.
- 2- 100 µl plazma örneği alındı ve temiz bir tüpe kondu.
- 3- Üzerine 200 µl NADH solüsyonu ilave edildi.
- 4- Bu karışımın üzerine ise 2500 µl, 37°C ye ısıtılmış fosfat tamponu ilave edildi.
- 5- Bunun üzerine de son olarak 200 µl sodyum piruvat solüsyonu ilave edildi.

6- Zaman kaybetmeden spektrofotometrede 340 nm dalga boyundaki absorbansları her bir dakikada bir kaydedilerek okundu.

Kör tüpün hazırlanmasında ise yine aynı basamaklar izlendi. Fakat sodyum piruvat solüsyonu yerine kör tüpe aynı miktarda fosfat tamponu eklendi.

Kullanılan Solüsyonlar:

1- 0,1 M Fosfat Tamponu

2,1761 gr KH_2PO_4 (Potasyum fosfat monobazik) ve 22,4658 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sodyum fosfat dibazik heptahidrat) tartıldı ve 1000 ml distile suda çözüldü.

2- NADH Solüsyonu (2,5 mg/ml'lik)

5 mg NADH tartıldı ve 2 ml fosfat tamponunda çözüldü.

3 – Piruvik Asit Solusyonu (1 mg/ml'lik)

1 mg sodyum piruvat tartıldı ve 1 ml distile suda çözüldü.

İstatistiksel Analiz:

Değişik tek yönlü analiz ve Student-Newman-Keuls Multiple Comparision testleri istatistiksel bilgi yöntemine uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm S.D. $P < 0.05$ değerleri esas alınarak önem derecesi belirlendi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada metil paration ile muamele edilen sıçanların karaciğer, beyin ve böbrek dokularındaki toplam, serbest ve proteine bağlı olan -SH grubu konsantrasyonları ölçülmüştür.

Çalışmamızın ilk aşamasında metil parationla muamele edilmiş sıçanların ve kontrol grubundaki sıçanların karaciğer dokusundaki -SH grubu konsantrasyonları spektrofotometrik olarak tespit edilmiş olup, bu ölçümün sonuçları Şekil 4,1 de görülmektedir. Şekilde görüldüğü gibi metil paration ile muamele edilen sıçanlarda serbest, toplam ve proteine bağlı -SH grubu konsantrasyonunun istatistiksel olarak anlamlı biçimde azaldığı görülmektedir. Proteine bağlı -SH grubu konsantrasyonu kontrol grubu sıçanlarla kıyaslandığı zaman % 25 oranında bir azalmanın olduğu belirlenmiştir.

İkinci aşamada ise böbrek dokusundaki -SH grubu konsantrasyonlarının ölçümü yapılmıştır. Şekil 4.2. de görüldüğü gibi serbest ve toplam -SH grubu konsantrasyonunun azaldığı gözlenmekte olup, proteine bağlı -SH grubu konsantrasyonu azalmıştır. Kontrol grubundaki sıçanlarla karşılaştırıldığında proteine bağlı -SH grubu konsantrasyonunun % 52 oranında azaldığı gözlenmiştir.

Şekil 4.3.'de beyin dokusundan elde edilen -SH grubu konsantrasyonları görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi serbest -SH ve toplam -SH grubu konsantrasyonunun metil parationla muamele edilen sıçanlarda önemli bir azalma görülmektedir. Fakat beyin dokusunda proteine bağlı -SH grubu konsantrasyonunda deney grubuyla kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığı görülmektedir.

Çalışmamız sırasında sıçanlardan almış olduğumuz plazma örneklerinde laktat dehidrojenaz enziminin aktivitesi de spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Sonuçlar metil parationla muamele edilen grupla kontrol grubu arasında bu enzimin aktivitesi bakımından istatistiksel bir farklılık olmadığını göstermiştir.

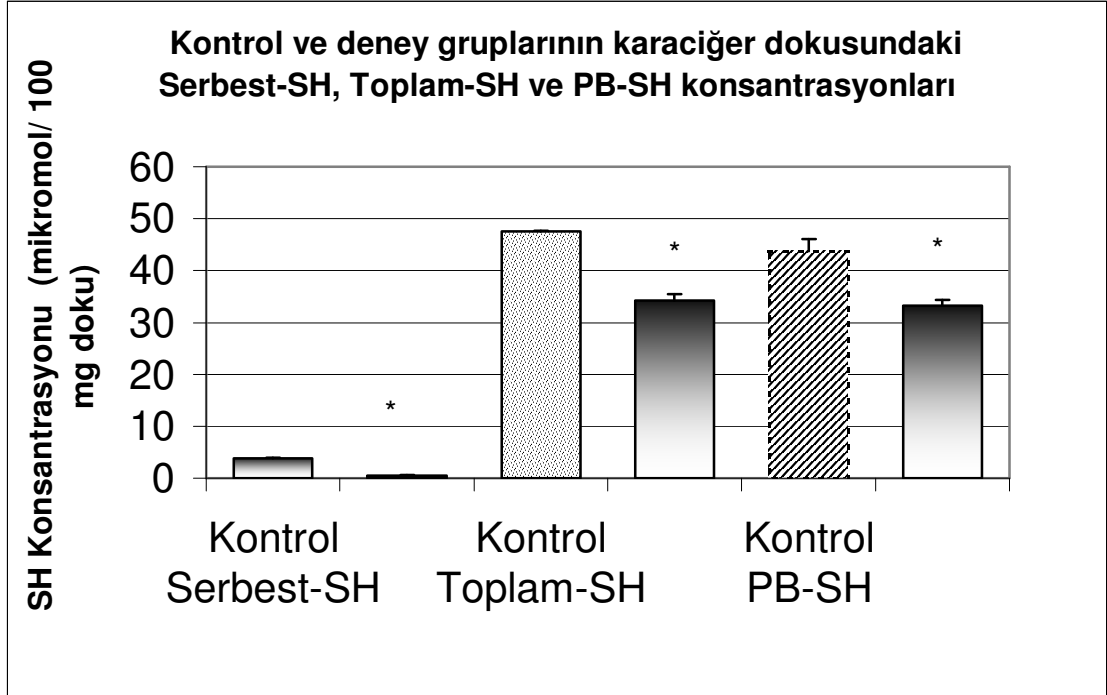
Sonuçlarımız metil parationun sıçanların karaciğer, beyin ve böbrek dokusundaki serbest, toplam ve proteine bağlı -SH grubu konsantrasyonunda bir azalmaya sebep olduğunu ortaya koymakta olup, -SH gruplarında meydana gelen azalmanın derecesi dokudan dokuya farklılık göstermektedir. Böbrek dokusundaki

serbest ve proteine bağı -SH grubu konsantrasyonlarındaki azalma karaciğer ve beyin dokusuna nazaran daha dikkat çekicidir. Metil paration beyin dokusundaki -SH konsantrasyonunu en az derecede etkilemiş olup, bu sonuçlar farklı dokuların metil parationa farklı derecede tepki verdiğini göstermektedir. Bu farklılığın sebebi farklı dokulardaki sitokrom P450 enzimlerinin ve glutatyon aktivitelerinin farklı olmasından ileri gelmiş olabilir. Sitokrom P450 enzimleri metil parationun metabolizmasında rol oynayan ve bu bileşiği daha toksik bir aktif metaboliti olan metil paraoksona dönüştüren enzimlerdir. Bu sonuçlara göre beyin, karaciğer ve böbrek dokusuna oranla en az seviyede sitokrom P450 aktivitesine sahip organdır diyebiliriz. Sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesi açısından kıyaslanacak olursa karaciğer böbrekten daha fazla konsantrasyonda bu enzime sahiptir. Ancak bulgular incelendiğinde en fazla azalmanın karaciğerde olması beklenirken en fazla azalmanın böbrek dokusunda meydana geldiği görülmüştür. Bunun nedeni karaciğerin metil parationun metabolize edilmesinde önemli bir rol oynayan glutatyon konsantrasyonu bakımından böbrekten daha zengin olmasıdır. Metil parationun toksisitesiyle dokunun glutatyon konsantrasyonu yakından ilgili olup, -SH grubu konsantrasyonundaki azalma böbrek dokusunda karaciğere nazaran daha fazla olmuştur. Çünkü karaciğerin sahip olduğu fazla miktardaki glutatyon sayesinde bu bileşiği detoksifiye etmede daha başarılı olduğunu öne sürmek mümkündür. Organizmanın temel detoksifikasyon merkezi olan karaciğerin böyle güçlü bir savunma sistemine sahip olması beklenen bir durum olarak kabul edilebilir. Karaciğer hücreleri 10 mM gibi çok yüksek oranlarda glutatyon konsantrasyonlarına sahiptirler. Bu konsantrasyon bir dokuda tespit edilmiş en yüksek konsantrasyondur ve karaciğer hücreleri glutatyon sentezi açısından oldukça özelleşmiştir (DELEVE ve KAPLOWITZ, 1990).

Metil paration farklı dokularda serbest, toplam ve proteine bağı -SH grubu konsantrasyonunu düşürmektedir. Özellikle serbest -SH konsantrasyonunun düşmesi aynı zamanda glutatyon konsantrasyonunun da düşmesi olarak yorumlanabilir. Glutatyon hücre bölünmesinde, farklılaşmasında ve karsinogenezizde rol oynamakta olup aynı zamanda proteinlerde bulunan -SH gruplarının korunmasında da önemli bir rol oynamaktadır (ALEXANDER ve BOYER, 1971; BRACHET, 1962). Birçok enzim ve protein aktivite gösterebilmek için -SH grubuna ihtiyaç duymaktadır (ONDARZA, 1989 ; HIDALGO ve ark., 1990). Glutatyon aynı zamanda hücreler için önemli bir redox

tamponu olup hücrelerdeki glutatyon konsantrasyonunun düşmesi hücrenin redox potansiyelini düşürür ve bu redox potansiyeli ile yürütülen pek çok reaksiyonun zarar görmesine sebep olabilir.

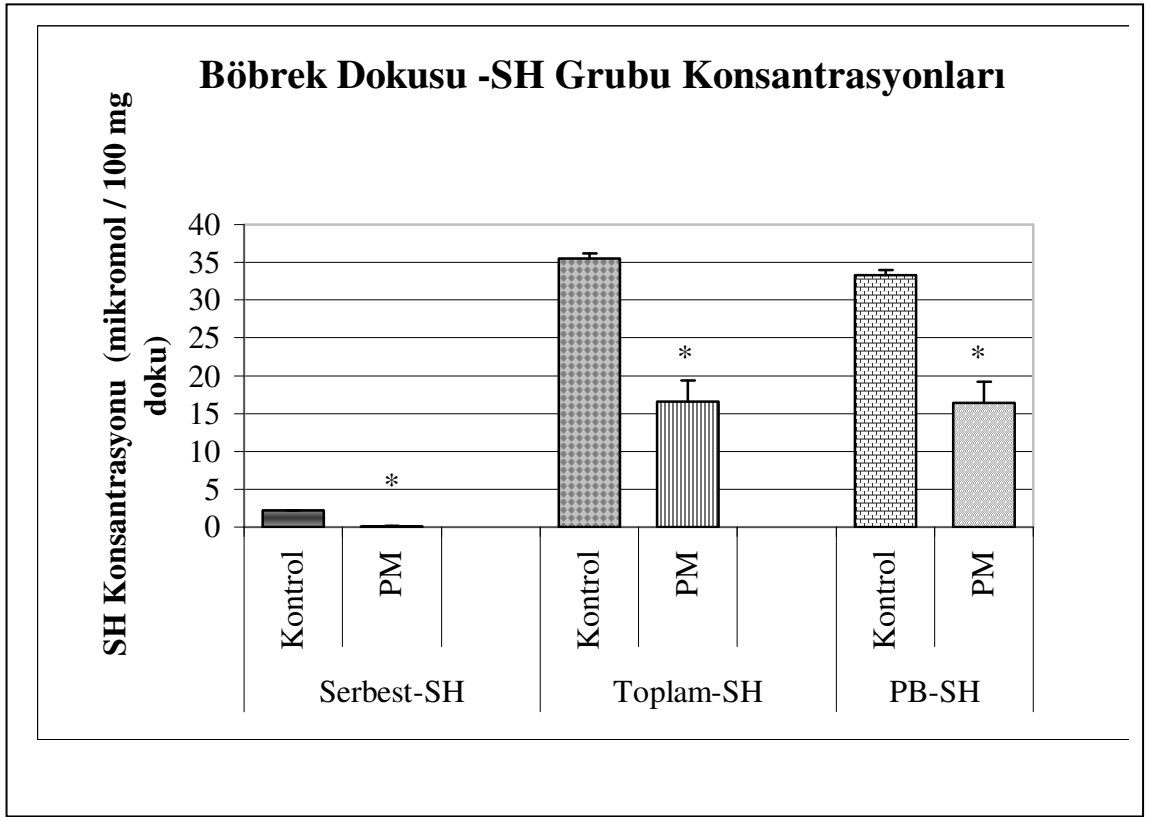
Metil parationun sıçan beyin dokusunda lipit kompozisyonu ve peroksidasyonu üzerinde de olumsuz etkileri olabileceğini öne sürmek mümkün olup, bu durumu saptamak için plazma laktat dehidrogenaz enziminin aktivitesi ölçüldü. Ancak deney ve kontrol grubunda bu enzimin aktivitesi bakımından bir fark olmadığı sonucuna ulaşıldı. Bu durum, uyguladığımız metil paration dozunun ve uygulama süresinin yetersiz olması ile açıklanabilir. Bu nedenle, daha uzun süreli uygulamalarda metil parationun, membran yapısında olabilecek muhtemel etkilerin incelenmesinin gerektiği sonucuna ulaşmak mümkündür.



Şekil 4. 1. Kontrol ve Methyl parathionla muamele edilen ratların karaciğer dokusunda Serbest, toplam ve proteine bağlı -SH konsantrasyonlarını gösteren grafik.

* Kontrol grubundan farklı değerler.

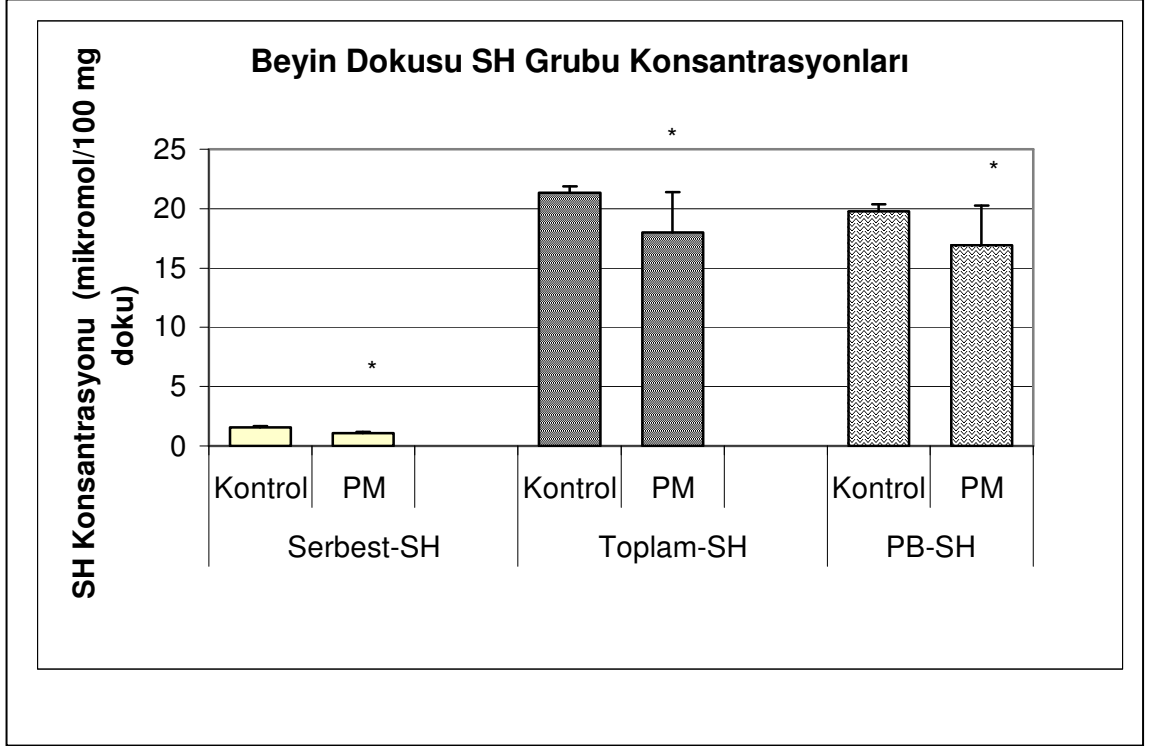
$p < 0.05$



Şekil 4. 2. Kontrol ve Methyl parathion'la muamele edilen ratların böbrek dokusundaki Serbest, toplam ve proteine bağlı -SH konsantrasyonları.

* Kontrol grubundan farklı değerler.

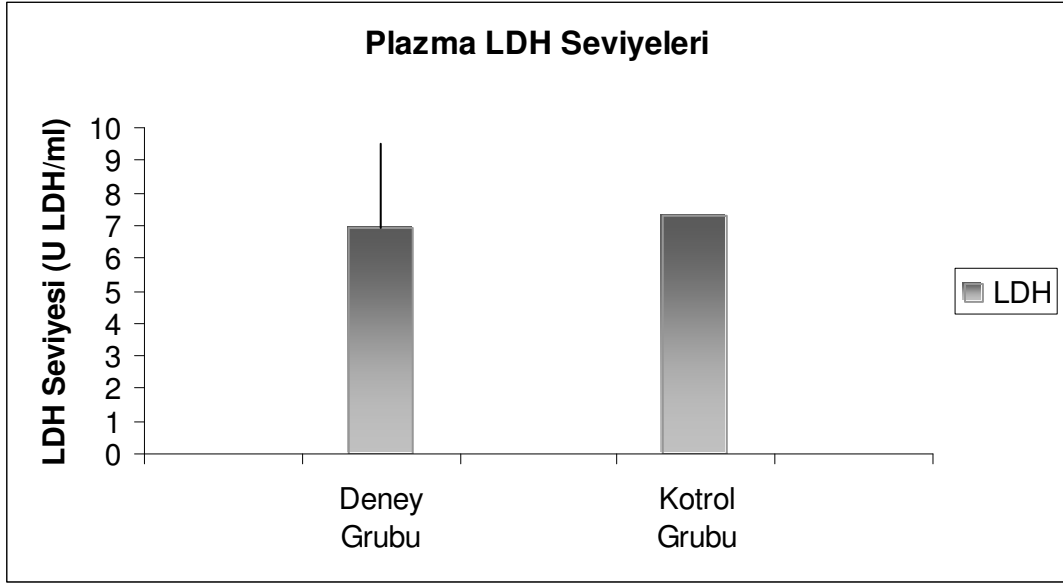
$p < 0.05$



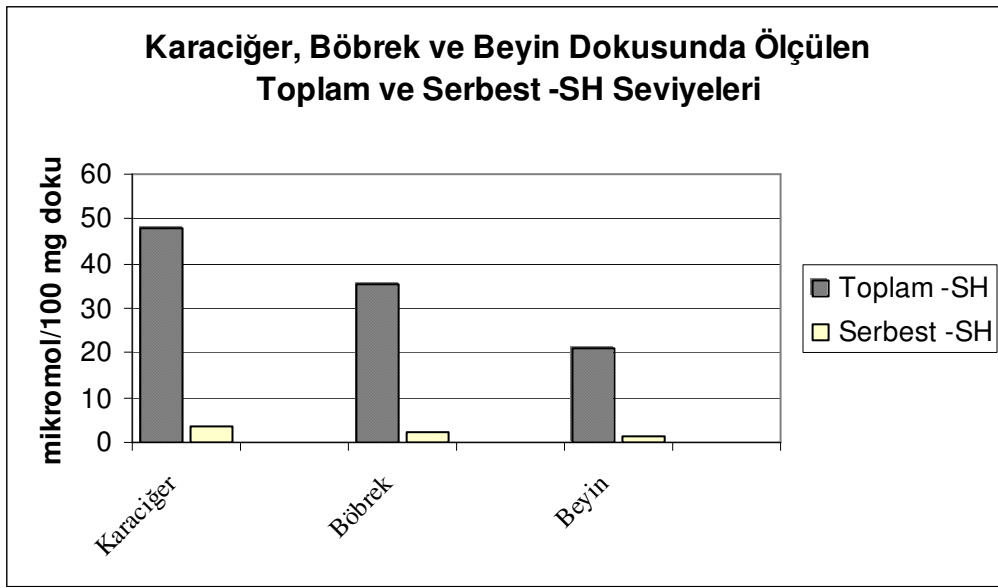
Şekil 4. 3. Kontrol ve Methyl parathionla muamele edilen ratların beyin dokusundaki Serbest, toplam ve proteine bağlı -SH grubu konsantrasyonları.

* Kontrol grubundan farklı değerler.

$p < 0.05$



Şekil 4. 4. Kontrol ve deney grubundaki ratların plazma laktatdehidrogenaz (LDH) enzimi konsantrasyonları.



Şekil 4.5 Kontrol grubu sıçanların karaciğer, böbrek ve beyin dokusundan elde edilen Toplam ve serbest – SH konsantrasyonlarının karşılaştırılması.
 $p < 0.05$

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Biz yaptığımız bu çalışmada tüm dünyada ve özellikle bizim bölgemizde yani Akdeniz bölgesinde oldukça yaygın olarak kullanılan bir tarım ilacının canlı organizmalara ne gibi zararlar verebileceğini belirlemeye çalıştık. Bu bileşiğin metabolizmasının nasıl ve başlıca hangi dokularda yapıldığını ve aynı zamanda hangi doku ve organların bu bileşikten en fazla zarar görebileceğini tespit etmeye çalıştık.

Metil paration her ne kadar daha verimli tarım ürünleri elde etmek açısından çok faydalı bir bileşik olsa da insan sağlığı açısından da bir o kadar tehlikeli bir kimyasaldır. Eğer bu tür bileşiklerin uygulamalarının eğitilmiş kişilerce ve belirli kurallar doğrultusunda yapılması teşvik edilebilirse bu bileşiklerden kaynaklanan sağlık sorunları bir ölçüde azaltılabilir. Bu tür bileşiklerin sadece tarım sektöründe kullanılması gerektiği, özellikle ev hijyeninde kullanımının çok sakıncalı olduğu bilinmesi ve dikkat edilmesi gereken bir gerçektir.

KAYNAKLAR

- ABU-QARE, A.W., ABOU-DONIA, B.M., 1999. Urinary excretion of metabolites following a single dermal dose of methyl parathion in pregnant rats. **Toxicology**, **150** (2000) 119-127.
- and ABOU-DONIA, B., 2000. Absorbtion, distribution, metabolism and excretion of daily oral doses of methyl parathion in hens. **Toxicology Letters**, **125**, 1-10.
- ABEL, E. A., OPP, S.M., VERLINDE, C.L., BAMMLER, T.K., EATON, D.L., 2004. Characterisation of atrazine biotransformation by human glutathione-S-transferase. **Toxicological Science**, **79**, 224-232.
- ACKERMANN and ENGST, 1970. Presence of organophosphorus insecticides in the fetus. **Archives of Toxicology**, **26**:17-22.
- AGARWAL, S.B., 1993. A clinical, biochemical, neurobehavioral and sociopsychological study of 190 patients admitted to hospital as a result of acute organophosphate poisoning. **Environmental Resource**, **62**, 63-70.
- ALBORES, A., MANTILLA, G., SANTOYO, S., CEBRIAN, E., SANCHEZ, M., SALINAS, C., MANNO, M., 2001. Cytochrome P450 2B (CYP2B) mediated activation of methyl parathion in rat brain extracts. **Chemical Biology Interaction** **120**: 270-283.
- ALEXANDER, N.M. and BOYER, J.L., 1971. Glyoxalase activity in sham and partially hepatectomized rats. **Cancer Research**, **32**, 1875-1878.
- ARRIGO, A., 1999. Gene expression and thiol redox state. **Free Radical Biology and Medicine** **27**: 936-944.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (1990) Toxicological Profile for Methyl parathione. Puplic Health Service, US Department of Health and Human Services, Washington, DC.
- BAMMLER, T.K., ABEL, E.L., EATON, D.L., (2001). Metabolism of methyl parathion by glutathione S- transfereases in vitro. **Chemico. Biol. Int.** **133**, 231-233.
- BAYNES, R.E., BOWEN, M.J., 1995. Toxicokinetics of methyl parathion in lactating goats. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, **43**, 1598-1604.
- BLACKBURN, R. V., SPITZ, D.R., LIU, X., GALOFORO, S.S., SIM, J.E., RIDNOUR, L.A., CHEN, J.C., DAVIS, B.H., CORRY, P.M., LEE, Y.J., 1999. Metabolic oxidative stres activates signal tranduction and gene expression during glucose deprivation in human tumor cells. **Free Radical Biology and Medicine** **26**: 419-430.
- BRACHET, J. (1962). Effects of β -Mercaptoethanole & lipoic acid morphogenesis. **Nature (Lond.)**, **193**, 87-88.
- BRAVERMAN, E., PFEIFFER, C. C., 1987. The healing nutrients within: Facts, findings and new research on amino acids. **New Canan: Keats Publishing, Inc. pp. 87-119**.
- BROOME, J.D., JENG, M.W., 1973. Promotion of replication of lymphoid cells by specific thiols and disulfides in vitro. **Journal of Experimental Medicine** **138**: (3), 574-592.
- CABELLO, C., VALENZUELA, M., VILAXA, A., DURAN, V., RUDOLPH, I., HREPIC, N., CALAF, G., 2000. A rat mammary tumor model induced by

- the organophosphorus pesticides parathion and malathion possibly through Acetylcholinesterase inhibition. **Environmental Health Perspective**, **109**: 471-479.
- CASTILLO, C.G., MONTANTE, M., DUFOUR, L., MARTINEZ, M.L., CAPDEVILLE, J.E., 2002. Behavioral effects of exposure to endosulfan and methyl parathion in adult rats. **Journal of Neurology** **24**: 10097-10112.
- CHAMBERS, J.E., CHAMBERS, H.W., SNAWDER, J.E., (1991). Target site and activation of the neurotoxic organophosphorous insecticide parathion in partially hepatectomized rats. **Life Science** **48**, 1023-1029.
- DELEVE, L.D., KAPLOWITZ, N.(1990) Importance and regulation of hepatic glutathione. **Seminars Liver Disease** **10**: 251–266.
- DENEKE, S.M., FANBURG, B.L., 1989. Regulation of cellular glutathione. **American Journal of Physiology** **257**: 163-173.
- GRIFFITH, O.W. (1999). Biological and pharmacological regulation of mammalian glutathione synthesis. **Free Radical Biology Medicine** **27**: 922-925
- HIDALGO, J., GARVEY, J.S., ARMARIO, A. (1990). On the metallothionein, glutathione and cysteine relationship in rat liver. **Journal Pharmacol Exptl Ther** **255**: 554-564.
- INSTITORIS, L., PAPP, A., SIROKI, O. AND BANERJEE, B.D. (2003). Comparative investigation of behavioral, neurotoxicological and immunotoxicological indices in detection of subacute combined exposure with methyl parathion and propoxur in rats. **Exotoxicology and Environmental Safety** **57 (3)** : 270-277.
- KLAEBE, A., MATURANO, M.D., BONGIBAULT, V., WILLSON, M., FOURNIER, D., 1997. A Chemical Model for the Enzymatic Mono De-Alkylation of methyl and Ethyl parathion by Glutathione- S – Transferases. **Tetrahedron**, **53**: 17241-17246.
- LOMAESTRO, B.M., MALONE, M., 1995. Glutathione in health and disease: Pharmacotherapeutic issues. **Annual Pharmacotherapeutics** **29**: 263-273.
- LEFKOWITZ, R.J., HOFFMAN, B.B., TAYLOR, P., 1996. Neurotransmission: The autonomic and somatic motor nervous systems. In: Hardman J.G., Limbird, L.E., eds. **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. New York, NY: McGraw Hill, 105-139.
- LEVERIDGE, Y. R. (1998). Pesticide poisoning in Costa Rica during 1996. **Vet. Hum. Toxicol.** **40 (1)**, 42-44.
- MEISTER, A. (1981). Metabolism and functions of glutathione. **TIBS** 231-234
- MEISTER, A. (1994). Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. **Journal of Biological Chemistry** **269**: 9397-9400.
- MEISTER, A., ANDERSON, M. E., 1983. Glutathione. **Annual Review Biochemistry** **52**: 711-760.
- MIYAMOTO, S., 1964. Studies on the mode of action of organophosphorus compounds. Part III. Activation and degradation of sumithion and methyl parathion in mammals in vivo. **Agricultural Biological Chemistry**, **28**, 411-421.
- NAKATSUGAWA, T., TOLMAN, N.M., DAHM, P.A., 1968. Degradation and activation of parathion analogs by microsomal enzymes. **Biochemical Pharmacology**, **17**, 1517-1528.

- NEWELL, G. W., and DILLEY, S.V., 1978. Teratology and Acute Toxicology of Selected Chemical Pesticides Administered by Inhalation. United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Cincinnati, Ohio.
- POPE, C.N., OLIVIER, K. AND LIU, J., (1999). Comparative neurochemical effects of repeated methyl parathion or chlorpyrifos exposures in neonatal and adult rats. **Toxicology and Applied Pharmacology** **158**, 186-196.
- PROCTOR, N.H., HUGHES, S.P., FISHMAN, M.L., eds. 1988. **Chemical hazards of the workplace. 2nd ed.** Philadelphia, PA: JB Lippincott Company, 340-344.
- OHS (Occupational Health Services Inc.), 1991. MSDS for Methyl parathion. Occupational Health Services, Inc. Seacabus, OR, USA.
- ONDARZA R.N. (1989). Enzyme regulation by biological disulfides. **Bioscience Repts** **9**:593-604.
- SARTORELLI, P., APREA, C., BUSSANI, R., NOVELLI, M. T., ORSI, D., SCIARRA, G., 1997. In vitro percutaneous penetration of methyl parathion from a commercial formulation through the human skin. **Occupational Environment Medicine**, **54**, 524-525.
- SEDLAK, J. AND LINDSAY, R.H. (1968). Estimation of total, protein-bound and nonprotein bound sulfhydryl groups in tissue with ellman's reagent. **Analytical Biochemistry** **25**, 192-205.
- SHARMA, R.P., REDDY, R.V., 1987. Toxic effects of chemicals on the immune systems. In: Haley, I.J., Berndt, W.O., eds. **Handbook of Toxicology**. New York, NY: Hemisphere Publishing Corp., 555-591.
- SULTATOS, L.G., (1994). The mammalian toxicology of organophosphorous pesticides. **Journal of Toxicology and Environmental Health**. **43**, 271-289.
- SUN, T., TANGENG, M.A., ING, K.O., 2003. Differential modulation of muscarinic receptors in the rat brain by repeated exposure to methyl parathion. **The Journal of Toxicological Sciences**, **28**: 427-438.
- TAFURI, J., ROBERTS, J., 1987. Organophosphate poisoning. **Annual Emergency Medicine**, **16**: 193-202.
- TAYLOR, C.G., NAGY, L.E., BRAY, T.M., 1996. Nutritional and hormonal regulation of glutathione homeostasis. **Current Topics in Cell Regulation** **34**: 189-208.
- VAN DIJK, A., 1988. ¹⁴C- parathion methyl : Absorption, distribution, excretion and metabolism after single and repeated oral administration to rats. RCC Umweltchemie AG, Switzerland.
- WHO (World Health Organisation), (1986). Organophosphorous Insecticides: a general introduction. Environmental Health Criteria 63. WHO, Geneva.
- YAMAMOTO, T., EGASHIRA, T., YOSHIDA, T., KUROIWA, Y., 1983. Comparative metabolism of fenitrothion and methyl parathion in male rats. **Acta Pharmacological Toxicology**, **53**, 96-102.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Hatay'da dünyaya geldim. İlk, orta ve lise öğrenimimi Hatay'da tamamladım ve 1999 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinde Lisans Öğrenimime başladım. 2003 yılında buradan mezun olduktan sonra yine aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans öğrenimime başladım.