

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MALATİON VE DİMETOAT İÇEREN BAZI PESTİSİT PREPARATLARININ
FARE KEMİK İLİĞİ HÜCRELERİNDE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Uğur ERMİS

FARKMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Abdullah DOĞAN

2014-KARS

TC
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Uğur ERMİS tarafından hazırlanmış olan *Malation ve Dimetoat İçeren Bazı Pestisit Preparatlarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Genotoksik Etkilerinin Araştırılması* adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ...birliği... ile ...kabul... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/06/2014

Adı Soyadı:

Başkan: Prof. Dr. Salih OTLU

Üye : Prof. Dr. Abdullah DOĞAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayşe KANICI

İmza:

.....

.....

.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

11.06.2014

Uğur ERMİS

ÖNSÖZ

Artan dünya nüfusunu, beraberinde insanların yeteri ve dengeli beslenme sorununu da gündeme getirmektedir. Dünya nüfusu açlık sorunuyla karşı karşıyayken son yıllara giderek büyüyen ölçülerde iç içedir. Bu durum günümüzde insanları daha fazla tarımsal faaliyetlere önem verilmesine ve üretimin artırılmasına yöneltmektedir. Bu yönelim tarımsal alanlarda çok çeşitli yeni yöntemlerin uygulanmasına neden olmaktadır. Bu yeni yöntemler arasında tarım alanlarının sulanması, gübrenmesi gibi doğal yöntemler ile ürünün genetiğini değiştirme ve zararlı canlılara karşı koruma maksatlı ilaç kullanımı bulunmaktadır. Bu yöntemler beraberinde çeşitli sorunları getirmektedir. Aşırı ve düzensiz olarak yer altı sularının tarımda kullanılması doğal olarak toprağın giderek tuzlanmasına neden olmaktadır. Çünkü tuzlar suda çözüldüğünden yer altı sularında önemli miktarlarda bulunur. Bu suların toprak yüzeyine taşınması buharlaşma ve toprakta tuzun tutulması nedeniyle giderek tuz yönünden zenginleşir. Bu durum zaman içerisinde toprakta verim kaybını doğurur. Tarımsal ürünlerinin artırılmasında başvurulan diğer bir yöntem de doğal ve sentetik yapılan gübrelemelerdir. Gübrelemeler gelişigüzel ve yaygın olarak yapıldığında toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik yönden kirlenmesine neden olurlar. Özellikle son yıllarda genetiği değiştirilmiş ürünlere ekim alanlarında sıkça rastlanmaktadır. Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) üzerinde toksisitelerinin tam olarak anlaşılabilmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Taşıdıkları yüksek lektin oranları kan, karaciğer, böbrek gibi organlarda öncelikle zararlı olabilecekleri düşünülmektedir. Ayrıca protein yapısındaki hormonlarla birleşerek vücudun normal fizyolojik aktivitelerini değiştirebilecekleri muhtemeldir. Taşıdıkları yabancı genler tüm doğa için normal olmayan yeni bir durum arz etmesi de söz konusudur. Bunların dışında ürünlerin daha çok yetiştirme aşamasında başvurulan pestisit kullanımı, ürünlerin hasat sonrası depolanma ve saklanması da kullanılmaktadır. Burada amaç ürün kaybını önlemektir. Pestisit uygulamaları günümüzde sıkça başvurulan bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Pestisitler zararlı etkenlerce ürünlerin bozulmasını önlemektedir. Bu da azımsanamayacak derecelerde verim artışı anlamına gelir. Pestisit uygulamaları sonucu ürünler hem tarlada hem de saklanma esnasında pest adı verilen zararlılardan korunurlar.

Tarım alanında pestisit kullanımı giderek artmaktadır. Bununla birlikte eğer bu uygulamalar gereken kurallar çerçevesinde yapılmazsa çevre üzerinde istenmeyen etkilere yol açmaktadır. Yanlış kullanılan pestisitler canlılar üzerinde akut ya da kronik toksiyete neden olabilir veya toprak, su, hava ve gıda maddelerinde birikerek canlı ve cansız çevre üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Uzun süre yaygın ve bilinçsiz pestisit kullanılması toprak ve suyun normal yapısını olumsuz yönde etkileyeceğinden ilerleyen zamanlarda yanlış sulama ve gübrelemede olduğu gibi tarımda verimsizliğe yol açabilir. Bilinçsizce yüksek miktarda kullanılan pestisitler akut zehirlenmelere yol açarken, gereğinden daha uzun süre ve daha düşük dozlarda kullanılan pestisitler kronik tipte zehirlenmelere yol açar. Bunların sonucunda tüketicilerde ölüm dâhil çok sayıda olumsuz etkiler ortaya çıkabilmektedir. Bunlar içerisinde mutajenite, kanserojenite, teratojenite ve alerjik etkiler sayılabilir. Ayrıca organ toksisiteleri ve yetersizliklerine neden olabilir. Özellikle doza bağımlı olmayan yan etkiler kalıntıları açısından önem arz eder (alerji vb).

Ülkemizde tarımsal alanlarda kullanılan ilaçlar hakkında uygulayıcıların yeterince bilgi sahibi olunmadığı büyük bir ihtimalle söylenebilir. Bu da yanlış kullanılmalarını ve zehirlenme riskinin artmasını doğurur. Yapılan yanlışlardan biri tarımsal alanlarda kullanılan her pestisit evlerde bit, pire, sinek gibi haşerelere karşı da kullanılmasıdır. Ayrıca pestisit atıkları rastgele çevreye serpilmekte veya bunlar açıkta bırakılarak yanlışlık sonucu zehirlenme vakalarına sebep olmaktadır. Özellikle kırsal alanlarda bu tür zehirlenmeler sıklıkla göze çarpmaktadır.

Günümüzde zirai amaçlı kullanılan çok sayıda pestisit sentezlenerek piyasaya sürülmüştür. Bunların çoğunun yapısı, etki mekanizmaları ve etkileri aydınlatılmıştır. Pestisitlere maruziyet sonrası oluşan primer zehirlenme etkileri büyük oranda bilinmektedir. Zehirlenmelerde gözden kaçanlardan bir de bu ana etkilerin dışında oluşan serbest radikal oluşumudur. Yine kısa süre içerisinde bir belirti vermeyen mutajenite, genotoksisite gibi ikincil olumsuz etkilerdir. Bunların ortaya çıkması zaman alacağından çoğu zaman neden kaynaklandığı tespit edilemeyebilir de. Alerji eğer zehirlenme belirtilerine neden olmayacak dozlarda alınan pestisitler sonrasında ortaya çıkıyorsa, yine bu durumda da etkenin ne olduğu tam olarak anlaşılamayabilir. Böyle durumlarda neden ancak özel testlerle ortaya çıkarılabilir.

Bu çalışmada tarımsal alanlarda sıkça kullanılan pestisitlerden olan Malation ve Dimetoat isimli organofosfat turevi olan bileşiklerin farelerde genotoksik etkiye neden olup olmadıkları incelenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda Malation ve Dimetoat kullanımını hakkında sağlık açısından önemli bilgiler elde edilebilir. Bu maddelerin kullanımını kısıtlayacak tedbirler alınabilir ve yeni toksik etkileri daha net saptanabilir.

TEŐEKKÖR

Bu tez çalıőmasında danışman hocam ve anabilim dalı baőkanımız Sayın Prof. Dr. Abdullah DOĞAN'a bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen anabilim dalının değerli hocası Sayın Yrd. Doç Dr. Ayşe KANICI ve çalıőmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen değerli hocalarımız Sayın Yrd. Doç. Dr. Pınar AKSU ile Yrd. Doç. Dr. Dinçer ERDAĞ'ına saygı ve minnettarlarımı sunarım. Çalışmam boyunca moral motivasyon kaynağım ve sevgili meslektaőım Muhammet DEMİR ve sevgili arkadaşlarım ağlayan DALMIŐ, doktora öğrencisi Barıő YILDIZ ile Duygu TOPKAYA'ya teőekkürlerimi borç bilirim.

Her koőulda ve durumda hep yanımda olan ve hep yanımda olmasını beklediğim canım AİLEME teőekkürler...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	I
TEŞEKKÜR	IV
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ	V
GRAFİKLER LİSTESİ	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
RESİMLER LİSTESİ	IX
TABLolar LİSTESİ	X
ÖZET	XI
SUMMARY	XIII
GİRİŞ ve AMAÇ	XV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Biyositler ve Pestisitler	1
1.1.1. Organofosfatlar	8
1.1.2. Organofosfatların Kimyasal Yapısı	10
1.1.3. Organofosfatların Vücuda Giriş Yolları	12
1.1.4. Asetilkolin Yapısı	13
1.1.5. Kolinesterazlar ve Asetilkolinesteraz Enzimi	15
1.1.6. Organofosfatların Etki Mekanizması	16
1.1.7. Organofosfat Zehirlenmesinde Tanı ve Klinik Belirtiler	18
1.1.8. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi	20
1.1.9. Organofosfat ve Asetilkolinesteraz Kompleksi	22
1.1.10. Malation (O,O-dimethyl-S-(1,2-dicarbethoxyethyl) phosphorodithioate)	23
1.1.11. Dimetoat (O,O-dimethyl S-[2-(methylamino)-2-oxoethyl] dithiophosphate)	25

1.1.12.	Mitomisin-C ([6-Amino-8a-methoxy-5-methyl-4,7-dioxo-1,1a,2,4,7,8,8a,8b-octahydroazireno[2',3':3,4]pyrrolo[1,2- <i>a</i>]indol-8-yl)methyl carbamate)	26
1.2.	Genotoksisite	26
1.2.1.	Mikronükleus (MN)	29
1.2.2.	Mikronükleusların (MN) Değerlendirilmesi ve Test Protokolü	31
1.2.3.	Fare Kemik İliği Mikronükleus(MN) Yöntemi	33
2.	MATERYAL ve METOT	35
2.1.	Materyal	35
2.1.1.	Hayvan Materyali (Deney Hayvanları)	35
2.1.2.	Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	35
2.1.2.1.	Malation	35
2.1.2.2.	Dimetoat	36
2.1.2.3.	Mitomisin-C (MMC)	36
2.1.2.4.	Eter (Dietil Eter, Etoksietan)	36
2.1.2.5.	Sorensen Tampon (Sorensen Buffer) Çözeltisi	37
2.1.2.6.	Giemsa	37
2.1.2.7.	May-Grunwald	37
2.1.2.8.	Entellan	37
2.1.2.9.	Metanol (Metil Alkol, Karbinol)	37
2.1.3.	Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları	38
2.1.3.1.	Hassas Terazî	38
2.1.3.2.	Santrifüj	38
2.1.3.2.	Mikroskop	38
2.2.	Metot	38
2.2.1.	Gruplar	38
2.2.2.	Mikronükleus Testi	39
2.2.3.	Boyama İşlemi	39
2.2.4.	İstatistik Yöntemi	40
3.	BULGULAR	42

3.1.	Kontrol ve Deney Gruplarına Verilen Bileşiklerin Oluşturdukları Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit'ler	42
3.2.	Elde Edilen Verilerin Grafikselle Olarak Gösterilmesi	46
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	50
5.	KAYNAKLAR	64
6.	ÖZGEÇMİŞ	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	:Yüzde
µg	:Mikrogram
µl	:Mikrolitre
ACh	:Asetilkolin
AChE	:Asetilkolinesteraz
ALS	:Alkali Labil Bölgeler
ALT	:Alanin Aminotransferaz
AST	:Aspartat Aminotransferaz
ATP	:Adenozin Trifosfat
BChE	:Butirilkolinesteraz
CA	:Kromozom Aberasyonu
ChAT	:Kolinasetiltransferaz
CK	:Kreatin Kinaz
DDT	:Dikloro Difenil Trikloroethan
Dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
DSB	:(DNA) Çift Zincir Kırıkları
DSÖ	:Dünya Sağlık Örgütü
EPA	:Environmental Protection Agency (Çevre Koruma Kurumu)
FAO	:Food and Agriculture Organisation (Gıda ve Tarım Örgütü)
g	:Gram
KOAH	:Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
L	:Litre

LD₅₀	:Median Lethal Dose
mg	:Miligram
ml	:Mililitre
MMC	:Mitomisin-C
MN	:Mikronükleus
MNPCE	:Mikronükleuslu Poli Kromatik Eritrosit
MSS	:Merkezi Sinir Sistemi
NCE	:Normo Kromatik Eritrosit
O²	:Tekil Oksijen
°C	:Santigrad derece
OF	:Organofosfat
ÖD₅₀	:Ortalama Öldürücü Doz
PCE	:Poli Kromatik Eritrosit
rpm	:Dakikadaki dönüş hızı
SCE	:Kardeş Kromatit Değişimi
SSB	:(DNA) Tek Zincir Kırıkları
WHO	:World Health Organization

GRAFİKLER LİSTESİ

	Sayfa No
Grafik 3.1. : 10.000 PCE üzerinden bakılan MNPCE değerleri	46
Grafik 3.2. : Fare kemik iliğinde saptanan MNPCE oranları	46
Grafik 3.3. : Toplam MNPCE sayısındaki yüzdeler dağılım	47
Grafik 3.4. : Gruplar arası mikronükleus sayıları ve standart sapmaları	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. : Organofosfatların kimyasal yapısı	10
Şekil 1.2. : Organofosfatların genel yapısı	11
Şekil 1.3. : Asetilkolin'in 2D yapısı	14
Şekil 1.4. : Asetilkolin nörotransmitterinin döngüsü	15
Şekil 1.5. : Asetilkolin'in enzim tarafından parçalanması	16
Şekil 1.6. : Asetilkolin esteraz enzimi ve organofosfat kompleksi	23
Şekil 1.7. : Malation'un kimyasal yapısı	24
Şekil 1.8. : Malakson'un kimyasal yapısı	24
Şekil 1.9. : Dimetoat'ın kimyasal yapısı	25
Şekil 1.10. : Mitomisin-C'nin kimyasal yapısı	26
Şekil 1.11. : Mikronükleuslar	30
Şekil 2.1. : Mikronükleus testi yapılışı şematik gösterimi	41

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 3.1. : Yapılan çalışmada pozitif kontrol grubunda görünen bir MNPCE ve PCE ($\times 1000$)	47

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1.1. : Dünya Sağlık Örgütü tarafından pestisitlerin akut zehirlilik yönünden sınıflandırılması	7
Tablo 3.1. : Negatif kontrol grubunda saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdeler oranları	42
Tablo 3.2. : Pozitif kontrol grubunda saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdeler oranı	43
Tablo 3.3. : Malation verilen farelerde saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdeler oranı	44
Tablo 3.4. : Dimetoat verilen farelerde saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdeler oranları	45
Tablo 3.5. : Gruplardan saptanan toplam PCE ve MNPCE sayıları ve ortalamaları	45
Tablo 3.6. : Çalışmada kullanılan maddelerin dozları, verilen süreleri ve MNPCE sayılarının standart dağılımları	48

ÖZET

Bu araştırmada organik fosforlu insektisitlerden olan Malation ve Dimetoat'ın farelerde mikronükleus testi ile genotoksik etkileri araştırıldı.

Malation ve Dimetoat organik fosforlu insektisitlerdendirler. Tarımda ve veterinerlik alanında pestlere karşı kullanılırlar. Besin insanoğunun en önemli ihtiyacıdır. Tarım alanları azalırken nüfusu giderek artmaktadır. Bu durum besine olan ihtiyacı da giderek arttırmaktadır. Bu nedenle günümüzün en önemli problemlerinden biri tarım ürünlerine olan aşırı taleptir. Bunu sağlayabilmek için tarım alanlarına sulama, gübreleme, pestisit uygulamalarının yapılması maalesef kaçınılmaz görünmektedir. Hatta hem bitki hem de hayvansal üretiminin artırılması için genetik çalışmaların yapıldığı da bilinen bir gerçektir. Bütün bunlar günümüzde pestisit uygulamalarını büyük boyutlara taşımıştır.

Fazla kullanılan pestisitlerin bir grubunu da organik fosforlu insektisitler oluşturur. Bunların yanlış kullanılması hem konakçıya hem de çevreye zarar verebilir. Akut ve kronik toksisite yaparak hayvan ve insanların zarar görmesi gündeme gelebilir. Zararlı etkilerinden bir tanesi de genetik yapılar üzerinde meydana getirdikleri toksisitelere dir. Genotoksitenin önemli sorunlar doğurması ve bazı etkilerinin gelecek nesillere aktarılabilmesi nedeniyle üzerine büyük dikkat çekmektedir. Genotoksitlerinin bilinmesi çevre ve canlı sağlığının korunması açısından çok önemlidir.

Bu çalışmada ağırlıkları 20 ± 1 g arasında değişen, 8 haftalık erkek, *Mus musculus* cinsi Swiss albino ırkı toplam 40 adet fare kullanıldı. Fareler 121°C ' de otoklave edilebilen, polikarbon malzemedeki yapılmış kafeslerde barındırıldı. Hayvanlar kafeslere 10'lu gruplar halinde yerleştirildi. Fareler, $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, % 50 bağıl neme sahip, sabah 8'den akşam 8'e kadar olan 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyotlu laboratuvar koşullarında barındırıldı. Hayvanlar *ad libitum* olarak standart diyetle beslendi. Uygulanacak maddelerin dozu distile suda çözülerek oral yol ile verildi. Kontrol grubuna (Grup 1) içme suyu olarak distile su verildi. Pozitif kontrol grubuna (Grup 2) i.p. yolla 2 mg/kg tek dozda Mitomisin-C enjekte edildi. Grup 3'e 10 mg/kg dozda Malation, içme suyuyla 14 gün süreyle verildi. Grup 4'e ise 10 mg/kg dozda Dimetoat içme suyuyla 14 gün süreyle uygulandı. Hayvanlar 14 gün sonra eter anestezisi altında dislokasyonla ötenazi edildi. Kemik ilikleri çıkarıldı. Boyanarak

mikroskopta incelenebilecek preparatlar haline getirildi. Her hayvandan hazırlanan bir preparattan 1000 adet hücre olmak üzere bir gruptan toplam 10 000 adet hücre sayıldı. Hücrelerde Polikromatik Eritrosit (PCE) ve Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit (MNPCE) oranları tespit edildi. Araştırma sonucunda MNPCE sayılarının grup ortalaması kontrol grubunda 3,6, Grup 2’de 67,6, Grup 3’de 28,1 ve Grup 4’de 51,1 olarak tespit edildi. Grup 1, 2 ile Grup 3 ve 4, ayrıca Grup 3 ile 4 arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0,001$). Elde edilen sonuçlara göre Malation ve Dimetoat’ın farelerde uygulanan dozlarda genotoksik etkili olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: *Dimetoat, Genotoksisite, Malation, Mikronükleus ve Organofosfat insektisitler*

SUMMARY

The genotoxic effects of Malathion and Dimethoate which are organophosphorus insecticides in mice through micronucleus test have been searched in this study.

Malathion and Dimethoate are organophosphorus insecticides. They are used against the pests in agriculture and veterinary field. Nutrition is the most important need of humans. While the cultivated areas are decreasing, the population is gradually increasing. In this case, the need for food is also increasing. Hence, one of today's most important problems is the excessive demand for agricultural products. In order to be able to ensure this, fertilization, irrigation and unfortunately application of pesticides to the cultivated areas seem to be inevitable. Moreover, it is a known fact that genetic studies are carried out so as to increase both the production of plant and animal. Taking into account all of these, applications of pesticides are inevitable.

A group of commonly used pesticides consist of organophosphorus insecticides. Their misuse can damage both the host and the environment. The damage to animals and humans may come into the question by their acute and chronic toxicity. One of their detrimental effects is toxicity on genetic structures. The fact that Gene toxicity pose significant problems and some of its effects can be transferred to future generations raises the concern over. The knowledge about Genotoxicity is mostly important in terms of protection of environmental and living being health.

In this study, 40 mice that weigh ranging from 20 ± 1 g, are 8-week, male, Swiss albino genus, *Mus musculus* have been used. Mice have been sheltered in cages that can be autoclaved in 121°C and made of polycarbonate material. The animals have been placed in groups formed ten. Mice have been sheltered in laboratory conditions having $20 \pm 2^\circ\text{C}$ temperature, 50% relative humidity, with the 12-hour light from 8 in the morning until eight in the evening, 12-hour dark periods. The animals have been fed with standard diet known as *ad libitum*. The dose of the substances to be applied have been dissolved in distilled water and given by oral route. Control group (Group 1) has been given distilled water as drinking water. Positive control group (Group 2) has been injected Mitomycin-C by i.p. 2 mg/kg in a single dose. Group 3 has been given in 10

mg/kg doses of Malathion with drinking water for 14 days. On the other hand, Group 4 has been given 10 mg/kg doses of Dimethoate with drinking water for 14 days. The animals have been euthanized under ether anesthesia through dislocation after 14 days. Bone marrows have been removed. They have been made into preparations which can be examined under microscope by being staining. In any preparation obtained from each animal 10.000 cells have been counted including a group having 1000 cells. Polychromatic Erythrocyte (PCE) and Micronukleus Polychromatic Erythrocyte (MNPCE) rates in cells have been determined. According to the study, the group average of MNPCE numbers have been determined as 3,6 in control group, 67,6 in Group 2, 28,1 in Group 3, 51,1 in Group 4. The differences between Group 1,2 and Group 3,4 and also those between Group 3 and 4 are considered statistically significant ($p < 0,001$). According to obtained results, it can be said that Malathion and Dimethoate have genotoxic effects over mice in applied dose.

Keywords: *Dimethoate, Genotoxicity, Malathion, Micronucleus and Organophosphorus insecticides*

GİRİŞ VE AMAÇ

Pestisitler doğada tarım alanında kullanılan ilaçlardır. Günümüzde yaygın pestisit kullanımı kaçınılmaz bir hal almıştır. Yaygın ve yanlış kullanımı canlı ve cansız çevreye istenmeyecek derecelerde zarar verme potansiyeli taşımaktadır. Gereksiz ve özensiz kullanılmaları insan ve hayvanlarda akut ve kronik tipte toksikasyonlara sebep olmaktadır. Bu maddelerle ortaya çıkan zehirlenme etkileri bileşiklerin kimyasal yapısına göre değişiklik arz eder. Bazı etkiler gelecek nesillere aktarılması açısından çok daha büyük önem taşımaktadır. Bu etkilerden biri genotoksisitedir. Genotoksik etkiler hücrelerde mutasyon şeklinde seyredebileceğinden kanser, teratojenite, alerji ve hücre ölümlerinin ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir. Bazıları kalıtsal hastalıkları doğurabilmesi açısından da dikkate değerdir.

Bu araştırmada veteriner hekimlikte ve tarımda pestisit olarak yaygın kullanılan organik fosforlu insektisit grubu insektisitlerden Malation ve Dimetoat'ın genotoksik etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Araştırmada fare kemik iliği hücrelerinden yararlanılmıştır. *İn vivo* olarak planlanan bu çalışmada farelerin kemik iliğinden elde edilen eritrositlerde mikronükleus tespit edilerek genotoksisitenin olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçların halk sağlığı ve çevre sağlığı açısından faydalı olacağı değerlendirilmektedir. Ayrıca ilaçların kullanım amacı ve doz ve kalıntılarının değerlendirilmesine katkı yapacaktır.

1. GENEL BİLGİLER

Artan dünya nüfusu daha çok besin maddesine gereksinim duymaktadır. Dünya nüfusunun artmasına karşın tarım alanları artmamakta, hatta giderek yanlış yapılaşma nedeniyle giderek azalmaktadır. Bu durumun da besin ihtiyacının artmasında önemli bir katkısı vardır. Bu nedenle insanoğlu bir taraftan besin ihtiyacını karşılamaya çalışırken diğer taraftan tarım alanlarını daraltmamalı ve ona zarar vermemelidir. Bu mantık sağlıklı bir çevre oluşturmak açısından şarttır. Amaç sağlıklı bir çevre oluşturmak ve gelecek kuşaklara onu sağlıklı bir şekilde bırakmak olmalıdır (Doğan 2012). Sürdürülebilir çevre elde etmenin en önemli şartı ise çevreye verdiğimiz kadar ondan almaktır. Bunun için nüfus planlanmasının doğru olarak yapılması büyük önem arz etmektedir.

Çevrede yapılan aşırı sulama, gübreleme ve diğer biyoteknolojik ürün çalışmalarının canlı ve cansız ortama zarar vermemesi veya en azından bu olumsuz etkilerin azaltılması öncelikli hedef edinilmelidir. Günümüzde ilaç kullanımı ekonomik bir tarımın yapılması için kaçınılmaz bir seçenek olarak ortaya çıkmıştır. Bu alanda kullanılan ilaçları ciddi zararlı etkileri bilinmektedir. Bu nedenle bunların kullanılmasının azaltılmasa da hiç olmazsa doğru kullanılarak zararlarının önlenmesi sağlık açısından şarttır. Fazla ve yanlış pestisit kullanmak yerine nüfusun ve yapılaşmaların doğru planlanması daha uygun bir öneri olacaktır. Bu durumun sağlanabilmesi durumunda tarım alanlarının korunması ve gelecek nesillere sağlıklı olarak aktarılması söz konusu olabilir. Aksi durumda bazı ülkelerde zaten yetersiz ve verimsiz olan arazilerin, giderek artan nüfusu besleyebilmesi mümkün değildir. Bu da giderek toplu açlık ve beslenme yetersizliğine bağlı olarak ortaya çıkan hastalık ve dolayısıyla ölüm oranlarındaki artışla sonuçlanacağı kaçınılmaz gibi görünmektedir.

1.1.Biyositler ve Pestisitler

Biyosit kelime anlamı olarak canlı organizmaları öldüren madde demektir. Biyositler uygulandığı biyolojik canlılara zarar vererek onları öldürürler. Canlı çeşidi dikkate alındığında bütün canlılara zarar vererek onları ortan kaldıran bir ilaç ya da bir ilaç gurubundan bahsedilemez. Bu nedenle biyositler kimyasal ve etki ettikleri biyolojik varlıklar göz önüne alınarak geniş bir alt başlık altında incelenirler. Pestisit terimi, bu alt başlıklar arasındadır. Pestisitler kısaca tarımda kullanılan biyositler olarak

adlandırılabilirler. Geniş tanımı ise tarım ürünlerine bulaştıklarında üreyerek ya da tüketerek onlara zarar veren pest adı verilen canlıları öldürmek için kullanılan maddelerdir. Pestler tarım ürünlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bozulmasına neden olduklarından ciddi verim düşüşüne ve tüketicilerde sağlık sorunlarına neden olurlar. Pestler arasında bakteri, mantar, alg, böcek, rat gibi canlılar bulunur. Pestisitler bu canlılara karşı kullanılır. Bu nedenle isimlerini de etki ettikleri canlılarda alırlar. Örneğin insektleri öldürenlere insektisitler, rodentleri öldürenler ise rodentisitler adı verilmektedir. Pestisitler biyositlere göre daha bir dar grubu oluştururlar. Diğer bir deyişle biyositler pestisitleri de kapsar. Yani biyositler hem zirai alanlarda hem de zirai alanlar dışında istenmeyen canlılara karşı kullanılan maddelere denilmektedir (Doğan 2012).

Dünya üzerinde yaklaşık bir milyonun üzerinde böcek türü mevcuttur. Bu türlerden 10000 tür bitkilerle beslenirken, 700 tür ise insan ve hayvanların yararlandığı bitkiler ile beslenmektedir. Bu nedenle özellikle yalnızca böceklerin 700 adet türü insan ve hayvan besinleri üzerinde olumsuz etkiler neden olur. Bu zararlı haşaratlarla mücadele için pestisit kullanımına günümüzde sıkça başvurulur. Pestisit tanım olarak pest kelimesinden türetilmekte olup zararlı haşarat adı verilen canlıları öldüren madde anlamına gelir. Daha genel bir ifade ile pestisit insan, hayvan vücudunda bulunan ve bitkiler üzerinde veya çevresinde yaşayarak onlara zarar veren ayrıca besinlerin depolanması, hazırlanması ve tüketilmesi sırasında besin değerini azaltan ve onlara zarar veren canlıları öldürmek için kullanılan maddelerdir (Doğan 2012). Burada böceklerin yalnızca zararlı etkileri olduğu anlamı çıkarılmamalıdır. Doğal dengenin oluşmasında önemli görevleri de vardır. Özellikle bitkilerin döllenmesinde görev alırlar. Bitkilerin polenlerini uzak yerlere taşıyarak ya da diğer bitkilere taşıyarak sağlıklı yeni nesillerin ortaya çıkmasına katkı yaparlar. Bilindiği üzere bir bitki kendi kendini döllenmemekte, ancak başka bir faktör ile döllerini diğer bitkilere ulaştırmaktadır ki, bu da sağlıklı yeni nesillerin oluşmasına katkı yapar. Bu faktörler arasında böcekler ile rüzgâr gibi diğer doğal etmenler bulunmaktadır.

Tarım alanları ve ürünlerine yalnızca böcekler zarar vermez. Böceklerin yanında çok sayıda diğer canlıların da zararlı etkileri vardır. Bu durum pestisitlerin farklı alt dallarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Yani pestisitler etki ettikleri canlı türüne göre farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Bu anlamda pestisit kelimesi genel bir

kavram olup herbisit, fungusit, rodentisit, insektisit, akarisit vb. şeklinde adlandırılan kimyasalların tümünü kapsar. Pestisitler etki ettikleri canlı türüne göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar.

1. Afisitler: Yaprak bitlerine karşı kullanılan ilaçlara denir.
2. Akarisitler: Akarlara karşı kullanılırlar. Akarların vücutları tek parçalıdır (kene, demodeks, sarkoptes vb.).
3. Algisitler: Algilere karşı kullanılan pestisitlere denir.
4. Arbositler: Ağaçlara karşı kullanılan ilaçlara denir.
5. Fungusitler: Mantarlara karşı kullanılan pestisitlerdir.
6. Herbisitler: Yabani otlara karşı kullanılırlar.
7. İnsektisitler: İnsektlere karşı kullanılırlar (böcek öldürücüler).
8. Rodentisitler: Kemiricilere karşı kullanılan ilaçlardır.

Ayrıca avisitler, molluskisitler, nematositler, ovisitler vb gibi pestisitler de bulunmaktadır. Bu pestisitler içerisinde en fazla kullanılanları herbisitler oluşturur. Ayrıca insektisitler bütün dünyada azımsanamayacak derece yaygın olarak kullanılan pestisitler arasındadırlar (Doğan 2012).

Pestisitlerin yukarıda sınıflandırılmadan da anlaşılacağı üzere çok çeşitli kimyasal yapıya sahip bileşiklerden oluştuğu anlaşılabilir. Çünkü etki ettikleri biyolojik yapıların çeşitliliği, bir kimyasal maddenin hepsine aynı oranda etkili olamayacağı sonucunu ortaya çıkarır. Burada rol oynayan en büyük etken canlıların birbiride farklı biyolojik yapı ve fizyolojik özellik göstermeleridir. Dolayısıyla bu denli geniş bir yelpazeye sahip olan pestisitlerin takibinde ve kullanılmasında kolaylık sağlayacak bir sınıflandırma gerektirmektedir. Bu sınıflandırmalar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1. Etki şekillerine göre
2. Kalıcılıklarına göre
3. Kimyasal yapı ve kaynaklarına göre
4. Etkiledikleri canlı çeşitlerine göre (yukarıda verilmiştir)
5. Formülasyonlarına göre
6. Zehirliliklerine göre
7. Etki hızlarına göre

En yaygın kullanılan sınıflandırma arasında kimyasal yapı ve kaynaklarına göre olunur. Kimyasal yapılarına göre pestisitler sınıflandıracak olursa inorganik maddeler, doğal organik maddeler ve sentetik organik maddeler şeklinde 3 başlık altında toplanır (Kaya ve ark. 2002). Pestisitlerin bir alt grubunu oluşturan insektisitler kaynaklarına göre inorganik (kükürt bileşikler), bitkisel (nikotin, iretrin), mikroorganizma (ivermektinler), ve sentetik insektisitler (organik fosforlu, klorlu ve kabamat grubu, nikotinodler, piretroidler gibi) olarak sınıflandırılır. Yapılan çalışmada sentetik organik bileşiklerden olan organofosfatlar içerisinde yer alan Malation ve Dimetoat kullanılmıştır (Doğan 2012).

Pestisitlerin sınıflandırılmasında kullanılan yöntemlerden biri de zehirlilik türlerine göre yapılan sınıflandırmadır. Bu sınıflandırılma insektisitlerin toksik etkilerinin anlaşılmasında kullanılmaktadır. Bu pestisitlerin hem hedef organizmalar üzerindeki toksik etkilerinin hem de hedef olmayan organizmalar ve insanlar üzerindeki toksik etkilerinin anlaşılmasına yarar. Çünkü pestisitler yalnızca kullanıldıkları hedef canlılar üzerinde etki göstermezler. Aynı zamanda çevrede bulunan çok sayıdaki canlıyı da bir şekilde etkilerler. Bu canlılar arasında özellikle yüksek sınıflarda yer alan memeliler gelir. Özellikle Memeliler'de paraziter amaçla kullanıldıklarından bu canlılarda yanlış ve yüksek dozda uygulanmaları ciddi kayıplara sebep olabilir. Bu yüzden de insektisitlerin toksik etki kuvvetleri bilinmelidir. Toksik etkilerinin değerlendirilmesinde uygulama yoluna göre ilaçların daha çok LD₅₀ düzeyleri dikkate alınarak yapılır (Doğan 2012). Bu nedenle pestisitler uygulandığında doz ayarlamalarına özel bir hassasiyet gösterilmelidir. Toksik etkileri birbirinden farklılık da gösterse az çok tehlikeli sayılan bu pestisitler Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Çevre Koruma Kurumu (EPA) tarafından belirlenen zehirlilik tabloları göz önünde bulundurularak uygulanmalıdırlar. Pestisitler önerilen dozlarda uygulanmadıklarında ya da yanlış uygulandıklarında konakçıda zehirlenmelere neden olabilirler. Zehirlenmeler indirekt olarak da ortaya çıkabilir. Uygulandıkları tarım ürünlerindeki kalıntıların tüketiciler tarafından alınması zehirlenme nedenleri arasında sayılır. Zehirlilik durumunu kimyasal maddelerin spesifik özellikleri ile hayvan ve çevrenin özellikleri belirleyebilir. Hayvanın türü, uygulanan doz, doz tekrarı, pestisit kimyasal yapısı, çevrenin ısısı vb. şartlar zehirlenmelerin ortaya çıkma şekilleri doğrudan etkiler. Genel bir kural olarak canlı vücudunda zor metabolize olan ve birikme eğilimi gösteren pestisitler kronik

nitelikli zehirlenmelere neden olurlar. Bu tip zehirlenmeler pestisitlerin akut zehirlenme belirtilerine neden olmayacak dozlarda uzun süre tekrarlanarak alınması sonucu görülmektedir. Yani bir doz tekrarı söz konusudur ve zehirlenme belirtileri bir ay ve daha uzun süre sonra ortaya çıkmaktadır. Bu tip zehirlenmelerde dokularda organik değişiklikler geliştiğinde tedavi genelde sorunsuz olarak sonlanmaz. Ancak ani ölüm riski biraz daha düşük olur. Canlı vücudunda hızla yıkılan vücuttan çabuk atılan pestisitler akut nitelikli toksisite gösterirler. Bu tip zehirlenmeler tek dozda ortaya çıkmaktadır. Ancak böyle etkili ilaçların akut zehirlenme belirtileri gösterebilmeleri için yeteri bir doz yüksekliğinde alınmaları gerekir. Ayrıca toksisiteyi yüksek olmalıdır. Ancak bazı pestisitlerin tek dozda alındığında akut bir zehirlenme belirtisi oluşturmadan etkileri kronik zehirlenmelerde olduğu gibi aylar sonra ortaya çıkabilir ki, bu tip akut zehirlenmelere gecikmiş akut toksikasyon adı verilmektedir.

WHO tarafından zehirler genellikle sıçanlarda oral veya deri yoluyla LD₅₀ miktarlarının düzeyine göre Sınıf Ia, Sınıf Ib, Sınıf II, Sınıf III ve zehirsiz-zararsız şeklinde sınıflandırılır (Doğan 2012).

Tablo 1.1. : DSÖ tarafından pestisitlerin akut zehirlilik yönünden sınıflandırılması (Doğan 2012).

Zehirlilik sınıfı	Sıçan, ÖD ₅₀ , mg/kg			
	Ağız yoluyla		Deri yoluyla	
	Katı	Sıvı	Katı	Sıvı
Sınıf IA	≤5	≤20	≤10	≤40
Sınıf IB	5-50	20-200	10-100	40-400
Sınıf II	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
Sınıf III	>500	>2000	>1000	>4000
Normal kullanımda zehirsiz	Katı halde >2000mg/kg Sıvı halde >3000mg/kg			

Pestisitlerin kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır. Bu durum genel anlamda bilgi birikimi ve bilimin gelişmesiyle paralellik arz etmektedir. Mısır'da bulunan ve M.Ö. 1500 yıllara ait papirüslerde bit, pire, eşek arılarına karşı kullanılan kayıtlar mevcuttur. Daha sonraki takip eden yüzyıllarda bazı bitkisel maddelerin pestisit amacıyla kullanımı söz konusudur. Bu durum insanoğlunun ilk keşfettiği ve tedavide kullandığı ilaçları da aynı zamanda anlatmaktadır. Bu amaçla ilk kullanılan bitkiler arasında nikotin taşıyan *N. tabbaccum* gelmektedir. Ancak bu eski kullanılan bitkilerin yanında benzer etkileri bulunan ve piretrinler gibi yakın zamanda keşfedilmiş olanları da vardır. Bitkisel pestisitlerin bir diğer önemi ise çok sayıda yeni sentetik ilaçların geliştirilmelerinde oynadıkları roldür. Örneğin son yıllarda nikotinden nikotinoidler, piretrinden ise pretroidler sentez edilerek yaygın kullanım amacı bulmuştur (Doğan 2012). Bunlar sentezlendikleri ana ürüne göre daha üstün özellikler sergilemektedirler. Nikotin dışında bitkisel kaynaklı pestisitler sıcakkanlı canlılar üzerinde yüksek toksik etkiler göstermezken haşaratlar için daha etkili bir mücadele yöntemine imkân tanımaktadırlar. Bilimin ilerlemesiyle bitkisel kaynaklı pestisitlerin dışında daha sonraki yıllarda sentetik organik pestisitlerin keşfi yapılmıştır. Son yüzyılda dünya üzerinde pestisit kullanımı yaygınlaşmış Dikoloro Difenil Trikloroetan (DDT) gibi iyi bilinen bir pestisit keşfedilmiştir (Kaya ve ark. 2002) , (Amdur ve ark. 2014). Ancak 1980'li yıllarda DDT'nin zararlı etkilerinin keşfedilmesi nedeniyle kullanımı gelişmiş ülkeler başta olmak üzere çoğu ülkede yasaklanmıştır. Bunun nedeni DDT'nin çevre şartlarına karşı çok dayanıklı olması ve uzun süre çevrede parçalanmadan kalabilmesidir. Bu sebepten besin zincirine giren bu madde canlıların sağlığını ciddi anlama tehlikeye sokmaktadır.

Pestisit kullanımı dünya üzerinde büyük bir patlama etkisi yaratmıştır. Bunun sonucunda pestisit kullanılan çevre ve üzerinde yaşayan canlılar için kaygı uyandıran bir takım sorunlar ortaya çıkmıştır. Özellikle bilinçsiz, yüksek dozda ve miktarda kullanılan pestisitlerden bazılarının doğada hava, su ve toprakta konsantrasyonları artmaktadır. Bu durum pestisitinin hem kendisinden hem de metabolizma sonucu ortaya çıkan metabolitlerinden kaynaklanmaktadır. Pestisitlerin vücutta ya da çevredeki parçalanma ürünleri ki, bunların sayısı çok fazladır, doğada, canlı ve cansız çevrede birikmeye başlamıştır. Hatta bazıları önemli oranda birikmiştir. Bu kalıntılar hedef olmayan canlılar ve insanlar üzerinde olumsuz etkiler oluşturması doğaldır. Yapılan

çalışmalar bu tip kalıntuların canlılar üzerindeki olumsuz etkileri gösterilebilmiştir. Kalıntuların tespiti için duyarlı analiz yöntemlerinin geliştirilmesi şarttır. Kimyanın gelişmesiyle birlikte son yıllarda oldukça hassas analiz metotları geliştirilebilmiştir. Bu durum kalıntuların kontrolünü kolaylaştırmakla birlikte henüz istenen düzeylerde tespit edilemeyen pestisitler de söz konudur. Bunlar arasında öncelikle yeni sentezlenen pestisit türevleri bulunur.

Pestisit kalıntularının önemi 1948 ve 1951 yılları arası besin ve çevrede organik klorlu pestisitlerin kalıntularının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Çünkü bu pestisitlerin çevredeki parçalanma yarı ömürleri, diğer çoğu pestisitlere göre oldukça uzundur. Bu da çevrede bu insektisitlerin daha fazla rastlanılmasına neden olur. Bu özelliklerinin anlaşılması bu tip pestisitlerin kullanımında sınırlamalar getirilmesine neden olmuştur. Pestisitler çeşitli sistemlerde birikirler. Bu sistemler arasında hava, su, toprak, bitki ve hayvan ürünleri gelir. Bu yapılardan hedef olmayan canlı ve insanlara yansır ve dokularda birikerek çeşitli toksik etkileri ortaya çıkarırlar. İnsan ve diğer tüketicilere pestisit kalıntularının yansımada hemen hemen bütün sistemler benzer rol oynar. Ancak yansımada besinlerin büyük bir rolü vardır. Bu anlamda insanları bilgilendirme ve birikimin önüne geçmek amacıyla Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve WHO Pestisit Kalıntuları Kodeks Komitesi kurmuştur. Bu komite bilimsel çalışmalarla gıdalarda bulunan pestisit kalıntuları için izin verilen maksimum dozları belirlemişlerdir. Bu maksimum dozlar genel olarak pestisitlerin tolere edilebilinen limitleri olarak bilinir. Her ülke bu limitleri alarak kendi şartlarına mümkün olan en uygun şekilde uyarlamaktadır. Ülkemizde bu için sorumluluğu Tarım Bakanlığı'ndadır (Özkaya ve ark. 2013). Belirlenen bu limitler hayvan ve bitki ürünlerinin ülkeler arasındaki ticaretinde büyük bir önem arz eder. Bu yüzden limitlerin tarım ticareti yapılan ülkelerle aynı düzeylerde olması istenir. Buna göre ilaçlama programları ve analiz laboratuvarlarının kurulması önemlidir.

Pestisit kullanımı kalıntular nedeniyle giderek doğanın kirlenmesine sebep olur. Bu durum pestisit kullanımının getirdiği en önemli sorunlardan biridir. Kalıntular toprak, hava, su ve besin maddelerinin kullanımını doğrudan etkileyen önemli faktörlerden biridir. Bilinçsizce kullanılan pestisitler hedef organizmalar üzerinde direnç gelişimi gibi istenmeyen etkiye de neden olurlar. Küçük dozlarda pestisitlerle sürekli temas halinde olan böcekler ve diğer biyolojik canlılar zaman içerisinde ilaca karşı

direnç geliştirmektedir. Bu durumun giderek artar. Pestisitlere karşı dirençli tür sayısı 1970 yılında 244 iken, bu sayı 1980 yılında nerdeyse iki katına çıkarak 428'e yükselmiştir. Böyle bir durumun sakıncası dayanıklı sayılan organizmalarla mücadele için daha fazla pestisit kullanımını gerektirmekte, bu yüzden maliyet ve ekosistem üzerindeki istenmeyen etkiler artmaktadır (Amdur ve ark. 2014). Tedavi edilemeyen türlerin giderek ortama hâkim olması ayrı bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer bir deyişle yanlış pestisit kullanımından dolayı doğal denge bozulabilmektedir.

Pestisit kullanımı esnasında kullanıcıların olumsuz yönde etkilenmemeleri için bir takım koruyucu önlemler alınması gerekir. Bu önlemler üç ana başlık arasında sınıflandırılır. Bunlar uygulayıcının, konakçının ve çevrenin korunması şeklinde sıralanabilir. Bunlar arasında uygulayıcıların korunması için maske kullanımı zorunlu olmalıdır. Yine pestisitlerin dermal yolla temas etmesini önlemek için özel elbiseler giyilmelidir. Pestisit uygun ölçüde kullanılmalı doz aralığının optimum seviyesi tespit edilmelidir. Bu durum konakçının korunması için şattır. Konakçının korunması için yaş, beslenme durumları, hastalık taşıyıp taşımadığı gibi daha çok sayıda faktörün de göz önüne alınarak ilaç ya da pestisitler kullanılmalıdır. Çevrenin korunmasına da büyük önem verilmelidir. Bu amaçla pestisitleri kullanmadan önce, kullanırken ve kullandıktan sonra bazı tedbirler alınmalıdır. Pestisitler ağız kilitli dolaplarda evcil hayvanların ve çocukların ulaşamayacağı yerlerde depolanmalıdır. Ayrıca pestisitlerin kullanım sonrası olumsuz etkilerinden kaçınmak için besinler belirli bir süre geçmeden tüketilmemelidir. Bu süre canlının üzerinde geçmelidir. Bu süre zarfında ölen hayvanların etleri tüketime sunulmamalıdır. Pestisitlerin su kaynaklarını kontamine etmeleri önlenmeli ve kontamine olmuş su kaynakları insan ve hayvanlar tarafından kullanılmasına izin verilmemelidir. Pestisit kullanımı sonrası ilaç ambalajları ve artan ilaçlar rastgele çevreye atılmamalıdır. Bunların su kaynakları ve ürünlerle temaslarından kaçınılmalıdır. Atık kaplar besin taşıma ve depolamada kullanılmamalıdır (Erdağı 2012).

1.1.1.Organofosfatlar

Organofosfatlar ya da kısa ifade ile 'OF' ler; fosforik asit, fosfonik asit ve fosfinik asit ester türevleridir. Bunlar geniş bir kimyasal çeşitlik gösteren gruptur. Tarihlerine bakıldığında 19.yy'da ilk kez Fransız kimyagerler Jean Louis Lassaigne ve Philip de Clermoun organofosfatların sentezini yapmayı başarmışlar. Ancak

kullanılmaları 20. yy başlarında Alman kimyacı Gerhard Schrader öncülüğünde olmuştur. Bu dönemde OF'lar insektisit ve kimyasal silah olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu tarihlerden sonraki yıllarda yüzlerce organofosfat bileşiği sentezlenmiş ve bunlar özellikle insektisit olarak kullanılmak üzere birçok alanda uygulama bulmuştur (Gallo ve ark. 1991).

İnsektisit olarak Malation, Paration, Diazinon, Klorprifos kimyasal savaş gazı olarak (sinir ajanları olarak da bilinir) Sarin, Tabun, Soman, oftalmik ajanlar olarak İsoflurofat, antihelmentik olarak Triklorfon kullanılmıştır. Bunlar insektisit amaçla kullanılanların çok az bir kısmı olup, günümüzde bu amaçla kullanılan insektisit sayısı oldukça fazladır. Organik fosforlu insektisitlerin bunların dışında aynı zamanda kimyasal solvent, herbisid olarak da birçok alanda kullanıldığı görülmektedir (<http://emedicine.medscape.com/article/167726>, Son erişim tarihi, 03.03.2014). OF'lerin bu denli yaygın kullanımına bağlı olarak takip eden yıllarda kronik sağlık sorunlarında artış gözlemlenmiştir. Bunlar arasında solunum (KOA), metabolik (diabet) ve nörolojik (Alzheimer) hastalıklar ön plana çıkmıştır (Hancock ve ark. 2008).

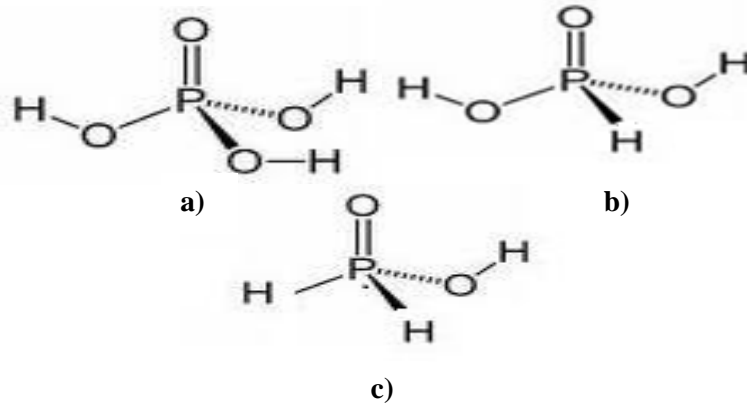
Organofosfatlar tarımsal faaliyetlerde yani zirai mücadele amacı ile kullanılan pestisit grubunda ilk sırada yer almaktadır. Ülkelerin üretim miktarlarına bağlı değişiklik gösteren OF'lar günümüzde 200 çeşitten fazla farklı kimyasal yapıları ile tarımsal faaliyetlerde kullanımı devam etmektedir. Dünyadaki kullanımına bakıldığında 2007 den bu yana yıllık tahminen yaklaşık 33 milyon pound değerindeki organofosforlu insektisit yalnızca A.B.D de kullanılmaktadır. Diğer ülkelerde de kullanılan miktarları önemli boyutlardadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde tarımsal alanlarda yaygın olarak kullanılan OF'lar doğal olarak zehirlenme olaylarında da belirgin bir yere sahiptirler (Güler ve ark. 1997). Türkiye yaygın pestisit kullanan ülkeler arasındadır. Ülkemizde pestisit olarak piyasaya sürülen 1400 preparatta toplam 346 adet fosfatlı etken madde bulunmaktadır. Bu etken maddelerden yaklaşık 30 tanesi 100 ton civarında üretilmektedir (Özkaya ve ark. 2013). Bu durum organik fosfatların ne derece yaygın kullanıldığını bariz bir şekilde açıklamaktadır.

Organofosfat grubu pestisitler yaygın kullanılması doğal olarak bunlara bağlı toksikasyonu da artırmaktadır. Bu durum hem hayvan hem de insanlar için geçerlidir. Bu doğal zehirlenmelerin yanında organik fosforlu insektisitlerle yaygın intihar amaçla

girişimlere de rastlanılmaktadır. Bu grup insektisitler suiistimal edilerek intihar veya cinayet maksatlı kullanımına bağlı toksikasyon vakaları bildirilmiştir. OF pestisitlerin memeli canlılar üzerindeki toksik etkileri yüzünden kimyasal silah olarak özellikle diktatör yönetimlerin iş başında olduğu ülkelerde veya terörist gruplar tarafından insanlar üzerinde silah olarak kullanıldığına da rastlanılmaktadır. Bu konu ile ilişkili en iyi örneği Irak askeri birliklerin İran askerleri üzerinde savaşta bu maddeleri kullanılması oluşturur. Bu durum bölgede yaşayan insanları önemli ölçüde etkilemiştir. Diğer bir örnek ise 1995’de Tokyo’da metro istasyonuna terörist grupların Sarin gazı ile saldırı düzenlemesidir. Bu saldırı sonrası 12 kişi hayatını kaybetmiştir (http://www.opcw.org/fileadmin/OPCW/Victims_Network/Orange_and_Red/orange_red_01811.pdf , Son erişim tarihi, 03.03.2014). Savaş gazlarının yalnızca canlılara zarar vermesi, yapılarının etkilememesi ve çok sayıda insana daha düşük maliyetle etki etmesi gibi faktörler nedeniyle bu amaçla kullanımı hala bazı ülkelerde bir tehdit olarak önemini korumaktadır. Ancak asker ve sivil ayrımı gözetmemesi, her yaştaki suçlu suçsuz canlılara zarar vermesi nedeniyle savaş gazlarının kullanımı uluslararası toplum tarafından ahlaki bulunmamaktadır. Bu nedenle kullanılmaları yasaklanmıştır.

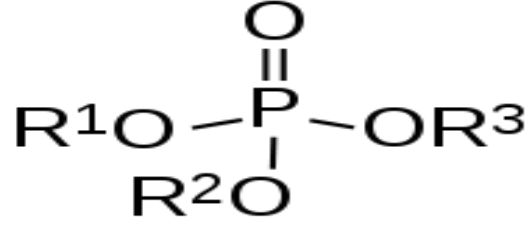
1.1.2.Organofosfatların Kimyasal Yapısı

Organik fosforlu insektisidler genel olarak fosforik asit fosfonik asit ve fosfinik asitlerin ester amid veya tiyol türevleridir.



Şekil 1.1: Organofosfatların kimyasal yapısı

a) Fosforik Asit, b) Fosfonik Asit, c) Fosfinik Asit (Terry Jr. 2012)



Şekil 1.2: Organofosfatların genel yapısı (Kwong 2002)

Yukarıda çeşitli fosfor asitleri ve bir organofosfat molekülünün temel yapısı gösterilmektedir. Fosfor (P) atomuna çift bağlı olan oksijen (O) yerini bazı organofosforlu bileşiklerde kükürt (S) alabilir. R₁ ve R₂ fosfora doğrudan bağlanabilir. R₃ süstitüe veya dallanmış alifatik, aromatik veya heterosiklik bir grup olabilir. R₃ yerine flor (F) veya siyanür (CN) grupları bağlandığında organik fosforlu bileşiklerin zehirliliği çok artar. Bütün bu kimyasal sentezler organik fosforlu insektisitlerin farklı şekillerde sınıflandırılmalarına ve kullanılmalarına neden olmaktadır. Çünkü kimyasal yapıları bunların hem farmakokinetik hem de toksikokinetik özelliklerini doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle organik fosforlu bileşiklerin toksisiteleri birbirinden çok büyük değişiklik gösterir. Bu değişiklikte canlıların türlerinin de önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Organofosfatlardan dört atomu da oksijen içerenlere fosfatlar, kükürt içerenlere fosfotioatlar, azot içerenlere fosforamidler, azot ve kükürt içerenlere fosforamidotioatlar, karbon içerenlere fosfonatlar, karbon ve kükürt içerenlere fosfonotioatlar denmektedir. Fosfotioatlar (P=S) fosfatlardan (P=O) daha lipofiliktir. Bu nedenle yağ dokusunda daha fazla birikme özelliği gösterirler. Fosfotioatlar sitokrom P450'ye bağımlı enzimlerle oluşan oksidatif desülfürasyon ile aktif fosfatlara dönüşürler (Terry Jr. 2012), (Kwong 2002). Paratyon'un Paraoksan'a dönüşmesi örnek olarak verilebilir. Organofosfatların yapılarındaki değişken grupların farklılığı molekülün farmakolojik özelliklerini değiştirdiği gibi doğada kalıcılığını ve sebatlığını da etkiler (Kwong 2002). Bu yüzden farklı etki ve kalıcılık süresine sahiptirler.

1.1.3. Organofosfatların Vücuda Giriş Yolları

Organofosfat bileşikleri alındıkları deri, mukoza, göz, gastrointestinal sistem ve solunum sisteminden hızlıca emilerek vücuda girebilirler. Solunum yoluyla vücuda giren OF zehirlenme belirtilerinin hızlıca göstermeye başlarlar. Zehirlenme belirtilerinin ortaya çıkması absorpsiyon hızıyla doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle zehirlenme belirtileri dermal temas yoluyla alındıklarında geç ortaya çıkar. Organofosfat bileşiğinin formülasyonu ve lipofilitesi emilim hızını değiştirir. Yağlı bir taşıt madde de vücuda alındıklarında daha hızlı emilerek etkilerini gösterirler. Bileşiklerin lipofilitesi de bireysel olarak az çok değişerek etkilerin farklı derecede ortaya çıkmasında bir rol oynayabilir. Eğer bileşik yağda çözünen veya metabolik aktivasyon gerektiren gruplardan birinde yer almıyorsa, böyle bileşikler ile zehirlenme belirtileri 12 saat içinde görülür. Dağılımları vücuda giriş yollarına göre farklılık gösteren OF'ler lipofilik özelliklerinden dolayı yağlı dokularda depolanma eğilimindedirler. Karaciğer ve böbreklerde de birikirler. Yağlı dokularda birikmelerinden dolayı OF'ların vücuttan uzaklaştırılması zaman alır (Özkaya ve ark. 2013). Atılmaları için önce depo edildikleri yağdan kana geçerler, sonra da ya doğrudan ya da büyük oranda metabolize edilerek atılırlar. Lipofilik özelliği olmayan OF bileşikleri hızlı bir şekilde metabolize olma eğilimi gösterdiğinden dokular ve organlarda kalış süreleri kısadır. Hızlıca metabolize olma atılma yönünde hızlıdır (United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria 1986). Bu durum toksikasyonlarının azalmasına katkıda bulunur.

Organofosfat bileşiklerinin dermal yolla sistemik dolaşıma girmesini engelleyen en önemli faktör derinin *stratum corneum* tabakasıdır. Cilt üzerindeki tahrişler kesikler veya yanıklar ilaç emilimini arttırabilir. Yapılan bazı çalışmalarda cilt rengi ve güneşe fazla maruziyet OF bileşiklerinin emilimini değiştirebilir. Esmer tenli ve güneş ışığında fazla kalmamış kişilerde absorpsiyon hızı daha yüksektir (Dökmeci 2001). Bu durum derinin katmanlarının kaybı ya da deri damarların genişlemesi ile doğrudan ilişkilidir.

Kana geçen organik fosforlu insektisitlerin bazıları doğrudan etkilerini gösterirken, bir kısmının metabolizma ile aktif hale dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu olaya biyoaktivasyon adı verilir. Organik fosforlu bileşiklerinin çoğu karaciğerde

sitokrom P450 enzim sistemi tarafından etkinleştirilir. Bu yüzden Asetilkolin esteraz'ın (AcE) inhibisyonu sitokrom P450 enziminin aktivasyonundan sonra görülür (İstanbuluoğlu ve ark. 2009). Bu nedenle etkilerinin ortaya çıkma hızını vücudun metabolik yolak ve kapasitesi de belirlemektedir. Bu mikrozomal enzimlerin yanında aynı zamanda OF bileşiklerin metabolizmasında çok çeşitli oksidazlar, hidrolazlar ve transferazlar aracılığı ile farklı metabolitler oluşmaktadır. Metabolizma reaksiyonları sonucu daha toksik bileşikler oluşabilir ya da bileşik daha az toksik bir hale dönüştürülür. Hidrolazlar sonucu hidroksilasyon reaksiyonları gerçekleşirken transferaz enzimleri de genellikle glukuronik asit veya glutatyon konjugasyonlarıdır. Metabolik reaksiyonlarla yapıları değiştirilen OF'ler genellikle idrarla atılırken, ter ve feçes yoluyla da atılım gerçekleşebilir (United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria 1986).

Organofosfat zehirlenmelerinde mortalite oranı alınan madde miktarına, hastanın öncelikle sağlık durumuna, hastaneye nakil süresine, beslenme durumuna, genetik yapısına ve dolaşım-solunum desteğine bağlıdır. Zehirlenmelerde ortalama mortalite oranı %3-25 arasında değişmektedir (İstanbuluoğlu ve ark. 2009).

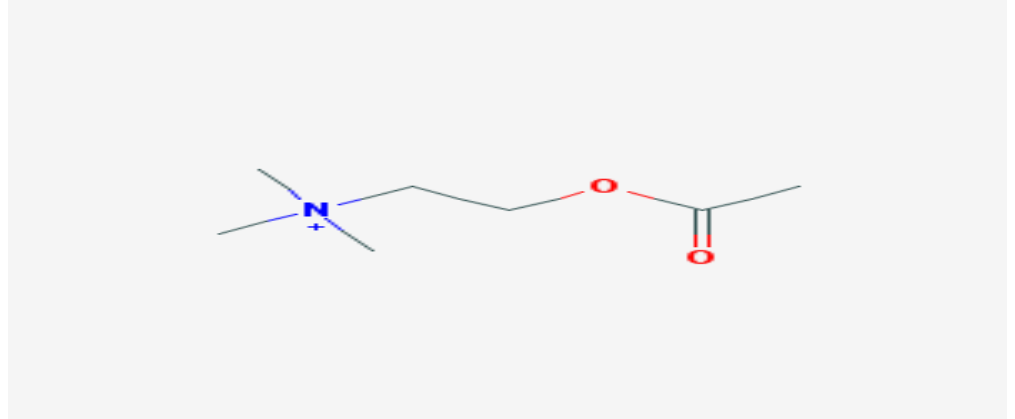
1.1.4.Asetilkolin Yapısı

Asetilkolin (ACh) ester yapısında olan biyolojik rolü büyük bir nörotransmitter maddedir. Sinir hücresinden etkilediği organa veya sinir hücresinden ikinci bir sinir hücresine sinir impulsu taşınmasında rol oynar. Asetilkolin kas ve sinir liflerinde biyoelektriksel akım oluşmasında rol alır. Asetilkolin kolinerjik nöronların gövdesinde kolin ile asetilkoenzim A'dan gelen asetil grubunun kolinasetiltransferaz (ChAT) enzimi ile birleştirilmesiyle sentezlenir. Bu nedenle asetilkolin kolinin asetik asit ile yaptığı bir ester olarak tanımlanabilir. Presinaptik uçta sentezlenen ACh veziküllerde kullanılmak üzere, yani sinapsa salgılanmak üzere depo edilir. Oluşan ACh aksonal transport sayesinde presinaptik uca taşınır (Şahin 2002).

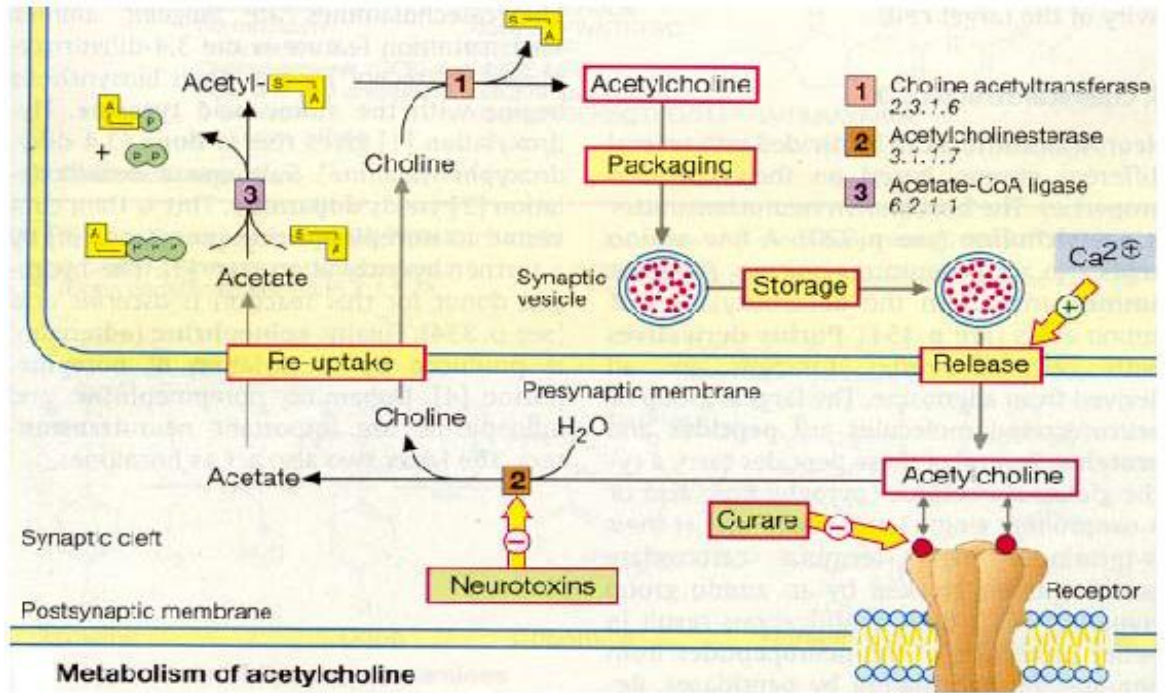
Omurgalılarda ve diğer hayvanlarda sinirlerde ortaya çıkan uyarılar sinir hücreleri boyunca elektriksel karakterde aktarılır. Bu durumda sodyum iyonları hücre içerisine potasyum iyonları ise daha yavaş olarak hücre dışına çıkar. Hücrelerde ortaya

çıkan bu iyon değişikliği uyarı olarak algılanır. Ancak sinir hücreleri birbirleriyle sinaps adı verilen boşluklar aracılığıyla birleşirler. Uyarılar bu boşluklara ulaştığında elektiriksel uyarı devam edemez. Bu yerlerde yerini kimyasal uyarıya bırakır ki, bu ACh ve diğer transmitter maddeler aracılığıyla yapılmaktadır. Bu uyarılar sinapsların yanında sinirlerin organlarla birleştiği ve nöroeffektör kavşaklar olarak adlandırılan yerlerde de kimyasal olarak vuku bulur. Sonuçta uyarı örneğin kasa aktarılır ve kasılmalar ortaya çıkar. Ancak her uyarının sinapslarda nörotransmitter maddelerle aktarılamayacağı, bazılarının aktarılmasının engelenebileceğinin unutulmaması gerekir. Bu anlamda sinapslar sinirsel uyarılarda bir kontrol görevi görmektedir. Elektriksel iletilerin sinapslara taşınıp uyarılmasından sonra vezikül denen keseler içinde depolanan ACh sinapslardan salınarak serbest kalır. ACh sinapslar boyunca diffüzlenerak alıcı sinir membranında bulunan reseptörlerine bağlanarak sinirde uyarı oluşturur (Güven 2000). Bu bağlanma yerlerine asetilkolinin reseptörleri adı verilir. Asetilkolin reseptörleri kendi aralarında muskarinik ($M_1, 2$ vb) ve nikotinik ($N_{1,2}$ vb) olarak adlandırılmaktadır. Otonom ve iskelet kaslarında bulunan reseptörler nikotinik, parsempatik sinir sisteminin postgangliyoner liflerindeki reseptörler ise muskariniktir.

Kolin sodyum ile birlikte Adenozin Tri Fosfat (ATP) harcanarak hücre içine alınmaktadır. Bu alınma işleminin hızını kısıtlayan basamaktır (Şahin 2002).



Şekil 1.3: Asetilkolin'in 2D yapısı (Bodur ve ark. 2006)



Şekil 1.4: Asetilkolin nörotransmitterinin döngüsü

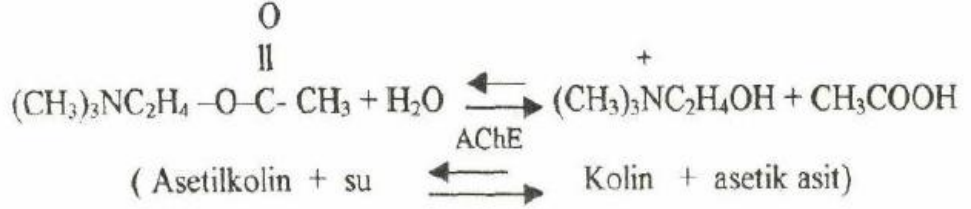
(<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-19.pdf> Son erişim tarihi, 01.04.2014)

1.1.5.Kolinesterazlar ve Asetilkolinesteraz Enzimi

Asetilkolin kolinerjik resptörlerle birleştikten sonra hızla inaktive edilir. Bu sayede zar yeni bir uyarıya cevap verecek duruma gelmektedir. Asetilkolinin inaktive edilmesinde en önemli görevi AChE enzimi üstlenir. Kolinesteraz enzimleri ikiye ayrılırlar. Asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz (BChE) şeklindedir ve canlılarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu iki enzim hem üç boyutlu kimyasal yapıları itibari ile hem de genetik dizilimleri açısından benzerlik gösterirler (Bodur ve ark. 2006). Asetilkolinesteraz kolinerjik sinir iletiminin sonlandırılmasında görev alırken BChE tam olarak işlevi saptanmamıştır. Tahmin edilen ester ve amid bağı içeren molekülleri parçalaması nedeni ile kendisine yabancı bileşikler parçalayan bir çöpçü enzim yakıştırması yapılmaktadır. BChE enzimi organofosfat ve karbamat zehirlenmelerine karşı profilaktik amaçlı kullanılmaktadır (Ashani ve ark. 1991).

Asetilkolinesteraz molekülünün her biri 80000 molekül ağırlığında ve ayrı ayrı 4 etkin noktası bulunan oluşan bir proteindir. Enzimde esteratik ve anyonik olarak bilinen iki ayrı etkin kısım bulunmaktadır. Anyonik kısım negatif yüklüdür. İki korboksilli bir amino asidin iyonize karboksil grubundan oluşur. Esteratik kısım pozitif yüklü olup o

da iki gruptan oluşmaktadır. Birinci kısım serin amino asidinin hidroksil grubudur. İkinci kısım ise histidinin bazik imidazol halkasıdır ve bu kısım serinin hidroksil grubuna hidrojen bağları ile bağlanarak onun etkinliğini artırır. Asetilkolinesteraz enzimi çok etkin bir enzimdir ve 1 dakikada bir enzim molekülü 300000 asetilkolin molekülünü hidrolize edebilir (Kaya ve ark. 2002).



Şekil 1.5: Asetilkolin'in enzim tarafından parçalanması (Güven 2000)

1.1.6. Organofosfatların Etki Mekanizması

Organofosfatların temel etki mekanizması ACh'yi parçalayan sinir sisteminde bulunan kolinesteraz enzimini inhibe etmesi sonucu oluşur (Güven 2000). Asetilkolinesterazın esas olarak iki şekli mevcuttur. İlki kırmızı kan hücresi asetilkolinesterazı, ikincisi ise psödokolinesteraz'dır. Gerçek asetilkolinesteraz olarak bilinen kırmızı kan hücresi asetilkolinesterazı sinir dokusunda ve eritrositlerde bulunur, psödokolinesteraz ise plazma kolinesterazı olarak bilinir ve serum, karaciğer, pankreas, beyin ve kalpte bulunmaktadır. Organofosfatlar AChE enziminin aktif bölgesine serin amino asidinin hidroksil grubunu fosforlayarak inaktif hale getirirler. Asetilkolin merkezi, otonomik ve somatik sinir sisteminin majör nörotransmitteridir. Asetilkolinesteraz enzimi asetilkolini asetik asit ve koline parçalayarak sinaps ve nöromusküler kavşaklarda birikmesini engeller (Kaya ve ark. 2002). Organofosfatlar bağlanarak inaktif hale getirdikleri asetilkolinesteraz enzimi görev yapamaz. Bu durumdan dolayı sinaps ve nöromusküler kavşaklarda biriken asetilkolin aşırı uyarıya ve bir takım belirtilere neden olur. Bu duruma "kolinerjik sendrom" adı verilir. İlk başlarda oluşan asetilkolin stimilasyonuna bağlı merkezi sinir sisteminde, otonomik gangliyonlarda, somatik sinirlerde, parasempatik ve bazı sempatik sinir sonlarında yaygın kolinerjik sinaptik uyarılar ortaya çıkar. Ancak uyarılar uzun sürdüğünden sinirler yeni bir uyarıya cevap vermezler ve zaman içerisinde paraliz oluşur. Kolinerjik

kriz sonucu santral ve periferik klinik belirtiler ortaya çıkar. Kolinerjik kavşaklarda ACh birikimine bağlı olarak düz kaslar kasılır. Bu anlamda bronşlar daralır, mide bağırsak hareketleri artar. Salgı bezlerinin sekresyonuna sebep olur. Tükürük bezleri ve bronş salgıları bol sulu olarak artar. İskelet kaslarında aşırı miktarda biriken asetilkolin uyarıcı olabilir ya da bir zaman sonra kas paralizi yapabilir. Merkezi sinir sisteminde (MSS) yüksek miktardaki asetilkolin davranış ve duygu bozukluklarına sebebiyet verebilir. Koordinasyon bozukluğu ve motor fonksiyonlarının yavaşlaması ve solunumun baskılanması görülebilir. Solunumun baskılanması ve akciğer salgılarının artması, organofosfat zehirlenmelerinde görülen ölümün en sık ölüm nedenidir (Kwong 2002).

Canlılarda her organik fosforlu insektisit in letal dozu bir birinden farklıdır. Bazılarında düşük bazılarında yüksek olabilir. Bu durum canlının türü ile de yakından ilişkilidir. Bu nedenle insan veya hayvanlar fazla miktarda OF bileşiğine maruz kalsalar bile hemen ölüm ortaya çıkmayabilir veya çıkabilir. Çünkü verilen bütün dozlarda asetilkolinesteraz enziminin inhibisyonu % 100 oranında gerçekleşmez. Enzim sinir hücresi tarafından sürekli sentezlenir. Öldürücü dozlarda alınmayan organofosfat maruziyeti sonrası inhibe olan asetilkolinesteraz enziminin tekrar eski seviyesine ulaşması için birkaç gün veya hafta geçmesi gerekir (Kaya ve ark. 2002). Bu durum OF'li insektisitlerin en önemli sakıncalarındandır ki, doğrudan tedavinin süresini de belirler. Bunun en önemli nedeni fosforile olan eziminin tekrar rejenere olamamasıdır. Yani inhibisyon kovalent bağla meydana gelir ve irreversibldir (Doğan 2012).

Enzim organik fosfatlı bileşiğin uzun süreli geriye dönüşümsüz birleşmesi, Bu nedenle OF'lerin maruziyet sonrasında sınırlar üzerinde gecikmiş zehirlenme, teratojenite, miyopatiler ve hücresel düzeyde lipid peroksidasyonu ortaya çıkabilir. Lipid peroksidasyonu özellikle OF'lerin biotransformasyon sonrasında oluşan süperoksit anyon grupları (O_2^-) açığa çıkarmalarından kaynaklanır. Bu yüzden hücre zarlarında bulunan fosfolipidler, lipid peroksidasyonuna uğrar ve hücrede hasar meydana gelir (Kaya ve ark. 2002), (Gallo ve ark. 1991).

Organofosfatların mutajenik ve karsinojenik etkileri hakkında bir genelleme yapılamamakla birlikte, yapılan çalışmalarda bazı OF'lerin farelerde tümör oluşuma neden olduğu görülmüştür. Kesin bilgi olmaması ve mutajenik etkilerin sağlık açısından

dikkat çekmesi bu konuda araştırmalar yapılmasının önemini ortaya koymaktadır. Bu nedenle yapılan bazı çalışmalarda birçok OF bileşiğinin mutajenik aktiviteleri değerlendirilmektedir (United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria 63, 1986).

1.1.7. Organofosfat Zehirlenmesinde Tanı ve Klinik Belirtiler

Organofosfat zehirlenmelerinde özellikle kükürt içeren bileşiklerin tanısında bileşiğe maruz kalan canlının nefesi, kusmuğu, teri sarımsağa benzer bir koku yayar. Bunun duyulması diğer klinik belirtilerle birleştirilerek kesin olmayan teşhiste kullanılabilir. Ayrıca deneme tedavisi uygulanabilir. Bu durum uygun bir tanı yöntemi olmamakla birlikte, atropinize edilen hastanın durumunda bir iyileşmenin görölmesi diagnostik bir anlama ifade edebilir. Daha doğrusu teşhise destek olabilir. OF zehirlenmelerinde kesin tanı bileşiğin AChE enzimini inhibe etmesinde dolayı eritrosit ve plazmalardaki kolinesteraz enzim aktivitesi ölçümü ile güvenli bir şekilde yapılabilir. Etkili olan bu yöntem klinik teşhiste büyük anlam taşır. Ayrıca kan gaz analizi biyokimyasal parametrelere bakım da tanı safhasında kullanılan yöntemlerdir (Maroni ve ark. 2000). Kesin teşhis laboratuvar analiz yöntemleri iledir. Kullanılan malzemelerde, hayvanların atıklarında, ölen hayvanların dokularında OF'lu bileşiklerin belirlenmesi ile kesin tanı konur (Doğan 2012).

Organofosfat zehirlenmelerinde görülen klinik tablo maruz kalınan ajanın türüne, miktarına ve maruziyet yolu ve sıklığına göre farklılık gösterir. Organofosfat miktarı çok alınmış ise klinik belirtiler dakikalar içinde ortaya çıkabilir. Hastaların çoğu 8 ile 24 saat arasında belirti vermeye başlarlar. Organofosfat ajanlarının yağ-su dağılım katsayısına bağlı bazı belirtiler gecikebilir veya yenileyen klinik bulgular ortaya çıkabilir (Gözkeser ve ark. 2013). Malation gibi OF zehirlenmelerinde sistemik etki oluşmadan bile solunum yollarında tahrişe bağlı hırıltılı solunum ve bölgesel zedelenme belirtileri görülebilir. Organofosfat zehirlenmeleri 3 aşamalı olarak tarif edilebilir. Bunlar akut kolinerjik sendrom, ara sendrom ve gecikmiş polinöropatidir. Bunların ortaya çıkama oranı ve dereceleri alınan organik fosforlu insektisin kimyasal yapısı ile yakından ilişkilidir.

Akut sistemik organofosfat zehirlenmelerinde MSS'de somatik, muskarinik, nikotinik reseptörlerdeki uyarımın değişmesi sonucu klinik belirtiler farklılık gösterebilir (Doğan 2012).

Asetilkolinin muskarinik kavşaklarda birikimi sonucu bol sulu salgı artışı oluşmaya başlar. Ter, tükürük, bronş ve gözyaşı salgılarında büyük oranda artış gözlemlenir. Barsak hareketliliği artar, karın ağrısı ve gerginlik oluşur. Hava yollarında konstriksiyon sonucu nefes almada güçlük ve hırıltılı solunum görülür. Bu belirtide artan bronş salgılarının da bir rolü vardır. Gözde miyozis ve bulanık görme söz konusudur. Kalpte bradikardi oluşur, kan basıncı düşer (Amdur ve ark. 2014).

İskelet kaslarında ACh'nin reseptörleri nikotin ile uyarılabildiğinden nikotinik reseptörler olarak adlandırılmaktadır. Bu nikotinik bölgede asetilkolin birikimine bağlı olarak kaslarda önce seğirme ve sonra felçler oluşur. Önce kasılmalar hayvanların ağız yutak, boyun, ekstremitelerinde başlar. Sonra ilerleyerek karın ve interkostal kaslar başta olmak üzere diyaframa gibi solunum kaslarını etkiler. Bu kasılmaların felçlere dönüşmesi solunum yetmezliğini doğurur ki bu durumun ölümün ortaya çıkmasında büyük bir rolü söz konusudur. Nikotinik reseptörlerin bulunduğu diğer organların başında otonom sinirlerin gangliyonları gelir. Bu ilaçlar otonom gangliyonları önce uyarır sonra deprese ederler. Bu etkiler kendisini mide bağırsak hareketlerinde artış, kalp vurusunun hızlanması sonra deprese olması şeklinde gösterir.

Organik fosforlu insektisitlerin bir diğer etkisi ise merkezi sinir sisteminde ortaya çıkmaktadır. Merkezi sinir sistemindeki reseptörleri nikotin tarafından uyarılabilmektedir. Uyarıcı etki sonucu heyecanlanma, uyanıklık, sinirlilik, saldırganlık, şursuz hareketler görülür. Sonra bu hareketler baskılanma şeklinde kendisini belli eder. Beyinde baskılanma sonucu uyku ve uyuklama hali ve ileri tip zehirlenmelerde konuşma güçlüğü görülebilir (Doğan 2012).

Organofosfat zehirlenmelerinde kalp üzerindeki etkileri ölümcül olabilir. Kalp atım hızında ve kan basıncında düşme en sık görülen belirtilerdir. Nikotinik reseptör uyarısına bağlı nadiren kalp hızında artma ve hipertansiyon görülebilir. Organofosfat zehirlenmelerinde kas yıkımı buna bağlı olarak Kreatin Kinaz (CK) artışı ve böbrek tahribatı görülmüştür.

Ara sendrom denilen klinik belirtiler OF zehirlenmelerinden sonra yağlı dokularda akümüle olan OF'lerin tekrar dağılımı sonucu ortaya çıkan belirtiler olarak tanımlanır. Bu zehirlenme belirtileri yukarıda sıralanan akut zehirlenme belirtilerini biraz geç izler. Genelde kaslarda paralizi ile ortaya çıkar. Boyun ve kafa kaslarında belirgin bir güçsüzlük oluşur. Solunum kaslarında da görülebilen bu güçsüzlük solunum yetmezliğine bağlı ölümle sonuçlanabilir. Bu etkiler biraz daha geç çıkmaktadır. Bu nedenle ara zehirlenme belirtileri olarak sınıflandırılmıştır.

Organofosfat zehirlenmeleri sonucu görülen klinik belirtilerden biri de gecikmiş tipte polinöropatidir. Bu tip zehirlenme belirtileri bir dozda alınan organik fosforlu insektisitlerin akut zehirlenme belirtileri geçtikten ya da tedavi edildikten çok sonra ortaya çıkmasıdır (birkaç hafta ya da ay). Nadir görülen bu durum periferik tipte ve iki yönlü tutulum gösteren kas güçsüzlüğüdür. Bacak kaslarında keskin kramplar ve uyuşmalar, el ve ayakta ağrı ve seğirmeler ile belirti verir. Hasta kendini dengede tutamaz hale gelir. Bazı belirtiler zamanla iyileşebilirken merkezi nörolojik tutulumlar kalıcı olabilir (Amdur ve ark. 2014). Bu belirtiler alınan organik fosforlu insektisitlerin kimyasal yapısındaki farklılıklarla da önemli bir ilişkisi vardır.

1.1.8. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi

Organofosfat zehirlenmelerinde semptomatik ve destekleyici tedaviler uygulanır. Bunlarla birlikte organofosfat emilimini azaltmak için ve ilacın sistemik dolaşıma girmesini engellemek için bir takım tedavilere de başvurulmalıdır. Ayrıca zehirlenme olgularında antikolinergik, antimuskarinik tedavi ve asetilkolin esteraz enzim inhibisyonunu engellemek için oksim tedavisi uygulanır.

Organik fosforlu insektisitlerle meydana gelen zehirlenmelerde hastayı hayatta tutmak için öncelikle hayati fonksiyonlar desteklenmeli ve olumsuz klinik belirtiler giderilmelidir. Bu anlamda solunum ve dolaşımın desteklenmesi büyük önem arz etmektedir (Doğan 2012).

Organofosfat maruziyeti sonrası hastanın OF ile teması engellenir ve temasa neden olan giysi ve benzeri şeyler ortamdaki uzaklaştırılır. Dermal yol ile emilimi azaltmak için temas bölgesi etanol içeren sabunlarla yıkanır. Oral yol ile görülen zehirlenmelerde emilimi azaltmak için mide yıkanması, aktif kömür uygulanması ve

bağırsaktan emilimi azaltmak için ise katartikler uygulanır. Bu şekilde temas eden ve emilme yerlerinde bulunan zehirler uzaklaştırılır. Emilimin ağızdan alındığında büyük oranda bağırsakta olacağı düşünüldüğünde tuzlu sürgüt uygulamak oldukça faydalıdır.

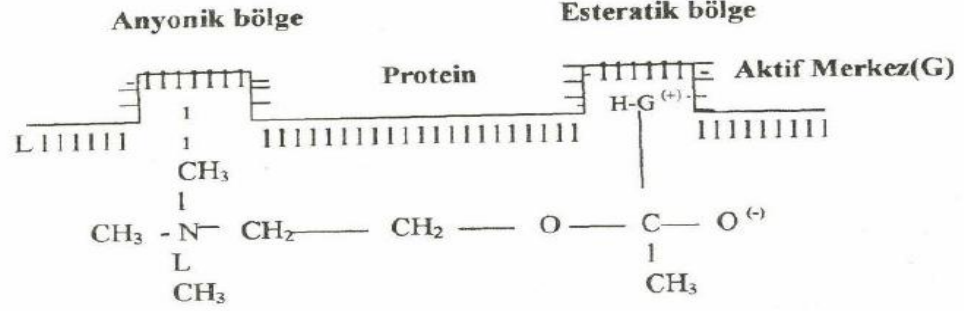
Sistemik dolaşıma geçerek toksik etkiler gösteren OF zehirlenmelerinde solunum fonksiyonlarının baskılanması durumunda hasta solunum desteğine alınmalıdır. Hava yolu açık tutulmalıdır. Bronşların genişlemesine neden olan atropin bu anlamda oldukça yararlıdır. Atropin ACh'nin spesifik bir antagonistidir. Artmış muskarinik etkileri geri çevirebilmek için ACh'nin yarışmalı antagonisti olan atropin hem bronş salgılarını azaltır hem de solunum yollarının genişlemesine neden olur. Böylece parasempatik sinir sisteminin postsinaptik reseptörlerde artmış ACh uyarısı sonucu artan sekresyon düzeyi düşürülür, kalp frekansı düzeltilir. Solunum yollarında artması durdurulan bronş salgıları rahat solunum imkânı yaratır (Bavunoğlu ve ark. 2012). Atropin yavaşlamış olan kalp ritmini ya da hipotansiyon sonucu ortaya çıkan taşikardiyi periferik damar direncini artırmak suretiyle düzeltir. Bu durum kalpteki aritmileri ortadan kaldırarak canlının hayatta kalmasını teşvik eder.

Organofosfat zehirlenmelerinde başvurulan bir diğer yöntem oksim tedavisidir. Asetilkolin esteraz enzimi OF tarafından baskılanır. Sonuçta sinaps ve kavşaklarda yıkımlanamayan asetilkolin miktarı artarak zehirlenme belirtileri ortaya çıkarır. OF'nin fosfat molekülü ile enzim arasında kimyasal bir bağ oluşur. Organofosfat tarafından baskılanmış enzimin OF'den ayrılıp eski haline gelmesi güç bir durumdur. Oksim molekülü olarak bilinen bu güçlü nükleofilik ilaçlar OF ile enzim birleşmesini yaşlanma olayı gerçekleşmeden uygulanırsa baskılanmış AChE enziminin işlevini geri kazanmasını sağlarlar (Demirdöğen 2010). Bu ilaçlar arasında en yaygın ve en bilinen türü olan pralidoksim molekülü organofosfat zehirlenmelerinde sıkça kullanılır. Pralidoksim yaşlanma öncesi oluşan enzim ve OF bileşimini engeller aynı zamanda vücutta bulunan serbest OF molekülünü bağlayarak etkisiz hale getirir ve uygun dozlarda zehirlenme durumunda görülen artan asetilkolin aktivitesine karşı antikolinergik etki oluşturur (Kozancı 2006). Bu ilaçlara bu nedenle enzim rejeneratörleri adı verilmektedir.

1.1.9. Organofosfat ve Asetilkolinesteraz Kompleksi

Organik fosforlu bileşikler AChE enziminin inhibisyonunu 4 aşamalı gerçekleştirir. Gerçekleşen bu olaylarda ACh ile OF'lerin AChE enziminin bölgelerine benzer bağlanma gösterir. Bunun sonucunda AChE enziminin inhibisyonu görülmektedir. Bağlı olan enzim görevini yerine getiremez. 1. basamakta OF bileşiklerindeki fosfor atomu enzimin esteratik bölgesine bağlanır. ACh ise bu enzimin esteratik bölgesine üzerindeki asıl karbon tarafından bağlanmaktadır. Yine birinci basamakta görülebilen ACh'nin katyonik azot grubu enzimin anyonik grubuna bağlanırken OF'lerde ACh'de bulunan katyonik gruba benzer bir grup bulunabilir ve bu durum molekülün enzime afinitesini artırır. Enzimin anyonik bölgesine bu şekilde bağlanır. 2. basamakta enzimde bulunan esteratik noktadan OF bileşiklerinde bulunan O-X kısmına bir hidrojen atomu aktarılır, böylece hidrojen bağı şekillenir. Daha sonra OF bileşiklerinde kopma olur ve P-O-X kısımları yeniden düzenlenir. Bu olay fosforilasyon olarak bilinir. ACh, AChE birleşmesinde ise benzer olaylar aynen görülür ve buna asilasyon denir. 3. basamakta fosfatlanmış olan enzimde suyun etkisiyle hidroksilli bileşik şekillenir. Yine ACh ile OF arasındaki benzerlik bu basamakta da devam eder asillenmiş olan enzim rol oynar. 4. basamakta ise ACh ile OF arasındaki benzerlik bozulur ve bu iki molekülün enzimden ayrılış hızları değişir. OF'ler ile fosfatlanmış enzim defosforilasyon sürecine nerdeyse yok denecek bir ayrışma şekline dönüşürken, ACh ile asillenmiş enzim deasilasyon sürecine saniyeler içinde kendiliğinden ulaşır (Karahana ve ark. 2008).

Asetilkolinesteraz ile OF arasında görülen bu etkileşim sonrası enzimin geri kazanılması oldukça yavaştır. Yani inhibisyon irreversibldir. OF bileşiklerinin enzimle olan temas süresi uzadıkça da enzim kaybının büyük ve geri dönüşülemez olması 'aging' yani yaşlanma olarak bilinir (Kaya ve ark. 2002).



ŞEKİL 1.0. ASETİKOLİM ESTERAZ ENZİMİ VE ORGANİZMAL KOMPLEKSİ (GUVEN A. 2000)

1.1.10. Malation (O,O-dimethyl-S-(1,2-dicarbethoxyethyl) phosphorodithioate)

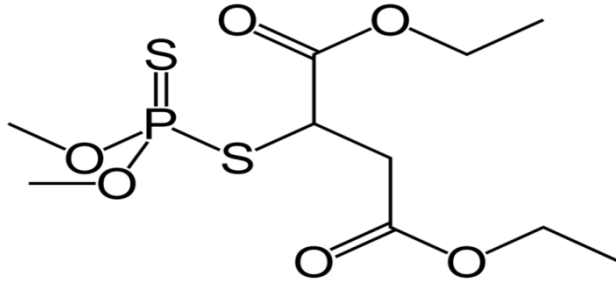
Molekülün fiziksel özellikleri erime sıcaklığı 2.85 °C ve kaynama noktası 156-157 °C dir. Bu nedenle oda ısısında sıvı halde bulunur ve ısının etkisiyle kısmen de olsa buharlaşarak ortamın havasının kirlenmesine neden olur. Normal şartlarda renksiz ya da hafif sarımtırak renkte olan bir sıvıdır. Bileşiğin yağ/su partiyon kat sayısı 560 ve sudaki çözünürlüğü çok azdır. Suda yaklaşık 0,145 mg/ml oranında çözünür. Diklorometan, aseton ve asetonitril gibi maddelerde çözünürlüğü ml'de 1 g'dan daha fazladır. Asidik pH'a yakın bir özellik gösteren ortamlarda (5-8 arası) hidrolize olan bileşik fosforodithioat türevidir (Reed ve ark. 2014). Hava ve güneş ışığının etkisiyle hızla parçalanır. Diğer insektisitlere göre doğada kalıcılığı daha kısa olan bir maddedir. Kalıcı etkisi kısa olan bir OF olan Malation'un topraktaki parçalanma süresi yaklaşık 1-25 gün arasındadır. Bulunduğu sularda tuzluluk parçalanma hızını artırırken, göl sularında 1 hafta, damıtık sularda 3 hafta gibi bir yarılanma ömrüne sahiptir (Kaya ve ark. 2002).

Malation lipofilik özelliğinden dolayı vücuda girişi kolaydır. Sindirim kanalı, deri, akciğer ve mukozalardan hızlı ve iyi bir biçimde emilir. Organizmada önemli ölçülerde metabolize edilir. Vücudu idrar safra ve solunum yoluyla terk eder. Yarı ömrü sıçanlara 8 saattir (Kaya ve ark. 2002).

Malation vücuda girdiğinde kendisi düşük toksisitesidir. Buna karşın biyotransformasyon sonucu dönüştüğü oksijenli türevi olan Malaokson daha zehirlidir. Bu nedenle vücutta biyoaktivasyona uğrayan bir maddedir. Bu oksidasyonda p-450 monooksijenazların önemli bir rolü olduğu söylenebilir. Toksikiteden sorumlu olan bu molekül yapılan bazı çalışmalarda oral yoldan uzun süreli maruziyet sonrası ratlarda malationdan 61 kat daha toksik olduğu gösterilmiştir (Edwards 2006). Malation memeli

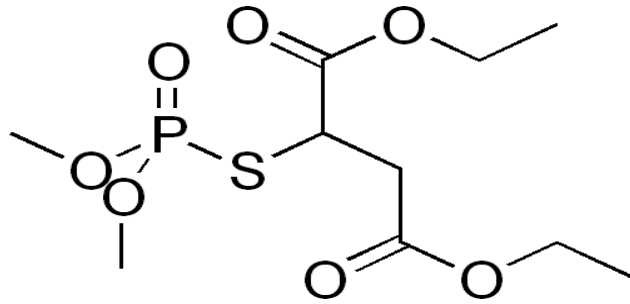
canlılardaki zehirliliği böceklere nazaran daha azdır. Bunun sebebi yapısında memeli organizmada kolayca hidrolize olabilen karboksil gruplarının varlığıdır. Memeliler’de zehirliliğinin az olmasından dolayı tıbbi amaçlı kullanılan preparatları mevcuttur. Malatyon’un % 0,5 gibi düşük konsantrasyonlarında hazırlanan preparatları vücut ve kafa bitleri için kullanılmıştır (Amy ve ark. 2008). Veteriner alanda insekt mücadelesinde bu nedenle kullanılan organik fosforlu insektisitlerden biridir.

Malation bileşiğinin kanserojen etkinliği tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda karsinojenik olduğu düşünülmele birlikte elde edilen verilere göre EPA tarafından ‘’karsinojenite açısından anlamlı kanıtları olmasına rağmen insanda karsinojenik potansiyelini değerlendirme açısından yeterli değildir.’’ şeklinde düşünülmektedir (Amy ve ark. 2008). Yapılan bazı çalışmalarda dişi ratlar ve fareler üzerinde aşırı miktarda Malation karaciğer tümör oluşumuna neden olurken devam eden dozlarda nadiren oral ve nazal tümörler izlenmiştir (Bonner ve ark. 2007).



Şekil 1.7: Malation’un kimyasal yapısı

(http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/malathion_red.pdf Son erişim tarihi, 01.04.2014.)



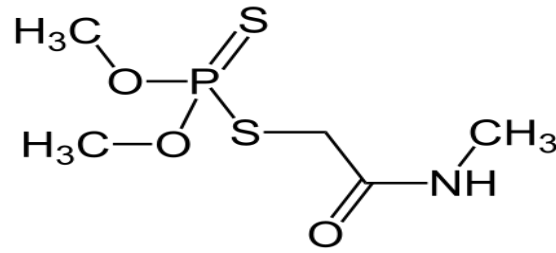
Şekil 1.8: Malakson’un kimyasal yapısı

(http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/malathion_red.pdf Son erişim tarihi, 01.04.2014.)

1.1.11. Dimetoat (*O,O*-dimethyl *S*-[2-(methylamino)-2-oxoethyl] dithiophosphate)

Dimetoat oda sıcaklığında gri-beyaz renkte olan kristalize bir tozdur. Bu kristalize tozun sudaki çözünürlüğü 25 g/L'dir. Bu maddenin alifatik hidrokarbonlar, metanol, sikloheksan gibi solventlerde çözünürlüğü ise daha yüksektir. Erime noktası 43-45 °C olan bileşiğin yağ/su partiyon katsayısı 0,699'dur. Dimetoat bileşiğinin topraktaki kalıcılığı yüksek değildir ve yarılanma ömrü 4-16 gün arası değişmektedir. Çünkü topraktaki mikroorganizmalar tarafından hızlıca yıkılmaktadır. Sudaki çözünürlüğü hayli yüksek olan bileşik alkali sularda parçalanır. Sularda yüksek oranda bulunur ve bundan dolayı su canlılarında birikme eğilimi gösterir. Omurgalı su canlıları ve bal arılarında yüksek toksisiteli olan Dimetoat, bitkiler üzerinde toksisiteleri neredeyse hiç yoktur (Kidd ve ark. 1991).

Dimetoatın toksisitesi genellikle sindirim kanalı, inhalasyon ve dermal yolla alınması ile gerçekleşir. Letal dozları sıçanlarda 180-330 mg/kg iken, farelerde 100 mg/kg'dir. Bileşik göz ve deri için tahriş edici özellikte değildir. Fakat Dimetoat üretiminde çalışan bazı kişilerde görülen göz irritasyonunun daha sonra kirlilik yüzünden olduğu anlaşılmıştır (Gallo 1991). Dimetoat vücutta metabolize edilebilmektedir. Sıçanların vücudundan yaklaşık 24 saat içinde % 50-60 arası değişmeden olmak üzere hava, idrar ve gaitadan atılırken, sağlıklı gönüllü insanlarda yapılan çalışmada % 76-100 arası atılmaktadır (Gallo 1991).

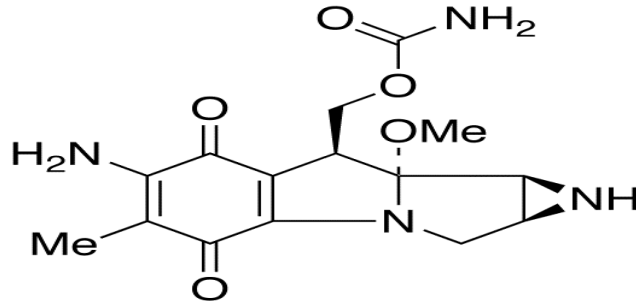


Şekil 1.9: Dimetoat'ın kimyasal yapısı

(http://en.wikipedia.org/wiki/File:Dimethoate_Structural_Formulae_.V.1.svg Son erişim tarihi, 01.04.2014.)

1.1.12. Mitomisin-C ([6-Amino-8a-methoxy-5-methyl-4,7-dioxo-1,1a,2,4,7,8,8a,8b-octahydroazireno[2',3':3,4]pyrrolo[1,2-a]indol-8-yl)methyl carbamate)

Mitomisin-C (MMC) aziridin fonksiyon grubu içeren ve *Streptomyces caespitosus* veya *Streptomyces lavendulae* türlerinden izole edilen doğal bir antibiyotiktir. Mitomisin bileşiklerinden biri olan Mitomisin-C kemoterapotik amaçla kullanılan bir maddedir. Antitümoral aktivite gösteren alkile edici bir bileşiktir. Özafagus kanseri, mesane kanseri gibi rahatsızlıklarda bu amaçla kullanılır. İlacın kullanılmasını sınırlayan önemli yan etkileri mevcuttur. İlaç olarak uzun süre kullanımını sonucu yan etkisi gecikmiş tipte kemik iliği toksisitesi ortaya çıkmaktadır. Etki mekanizmasına bakıldığında MMC antimitotik etki gösterir ve kardeş kromatit değişimi arttırır. Birinci hedefi hücre içerisindeki DNA'dır (reseptörleri DNA'dadır). MMC aktive olduğunda DNA üzerindeki Adenin ve Guanin üzerinde alkile edici etki gösterir ve bu bazlara çapraz bağlanır. DNA sentez inhibisyonu ve mikronükleus oluşumuna yol açar (Aksu 2012), (Dökmeci 2001).



Şekil 1.10: Mitomisin-C'nin kimyasal yapısı

(<http://www.answers.com/topic/mitomycin-c> Son erişim tarihi, 01.04.2014.)

1.2.Genotoksisite

Genotoksisite, fiziksel ya da kimyasal ajanlarla genetik materyalde oluşan hasarlar şeklinde tanımlanmaktadır. Bu hasarlar tek zincir kırıkları (SSB), çift zincir kırıkları (DSB) alkali labil bölgeler (ALS) ve DNA katımlarıdır (Bedir ve ark. 2004).

Organik fosforlu insektisitler tarımsal faaliyetlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu kullanım doğru planlanmazsa canlılarda zehirlenmelere neden olmaktadır. Ayrıca yangın kullanılmaları zaman içinde canlılar üzerinde en bilinen

toksik etkilerinin yanı sıra canlılarda daha az bilinen DNA üzerinde hasarlara ve diğer hücrel toksisiteye neden olmaktadır. Her canlı türünün kendine has genetik bilgisi taşıyan değişik sayıda kromozomlarda oluşmuş genetik materyalleri mevcuttur. Çeşitli nedenlerle (kimyasal, fiziksel) genetik materyallerin gen rekombinasyonda ani olarak ortaya çıkan değişikliklere mutasyon denir. Mutasyonlar kendiliğinden ortaya çıkmakla birlikte daha çok canlıların mutajen denilen fiziksel veya kimyasal faktörlere maruz kalması sonucu ortaya çıkmaktadır. Mutasyonlar gelecek nesillere aktarılmakta ve canlıların genotipik ve fenotipik özelliklerini değiştirmektedir. Mutajenlerin DNA üzerinde meydana getirdikleri etkileri iki şekilde incelenir. Bu etkilerden biri onarılabılır hasardan oluşmaktadır. Bu hasarlar vücut savunma ve tampon sistemleri ile düzeltilebilir. Sonuçta mutajenlerin etkileri ortaya çıkmaz. Diğer bir kısım hasarlar vardır ki, vücut savunma ve enzim sistemi bu hasarları düzeltemez. Düzeltilmeyen bu hasarlar kalıcı olur ve DNA'da mutasyon şeklinde ortaya çıkarak gelecek nesillere aktarılır. Mutasyonlar sonucu hücrede çeşitli bozukluklar oluşur. Bunlar arasında hücre ölümü ve genetik kökenli hastalıklar sayılabilir. Gen bozukluğu ile ilgili önemli hastalıkların başında kanser, teratojenite, alerji ve diğer bazı metabolizma bozuklukları gelir. Bunlar canlıların sağlığı açısından dikkate alınması gereken durumlardandır. Mutasyonların hepsi sağlığı olumsuz etkilemesi düşünülmemelidir. Özellikle uzun zam içerisinde ve daha çok doğanın zorlamasıyla ortaya çıkan değişiklikler olumlu olarak ele alınabilir. Bu değişiklikler canlının ortama daha iyi uyum sağlamasına ve dolayısıyla yaşama şansının artmasına neden olur. Yıllar içerisinde gelişmiş bu tip mutasyonlara ayıların rengi örnek olarak verilebilir. Kutup bölgesinde ayılar daha büyük cüsseli ve rengi ortama uyum sağlamak için beyazdır. Bu şekilde metabolizması daha az enerji kaybedecek şekildedir. Olumsuz mutasyonlar sağlık açısından ciddi sonuçlara neden olabileceğinden teşhisi büyük önem arz etmektedir. Bu bozuklukların doğumdan önce ortaya konması ileri de anormal yavru dünyaya getirmenin önlenmesi açısından büyük öneme sahiptir. Yine olumsuz mutasyonlara neden olan fiziksel ve kimyasal maddelerin tespiti bu maddelerden uzak durulma açısından gereklidir. Böyle maddelerin alınmaması sağlıklı bir gelecek nesillerin oluşmasına büyük katkı yapar. İnsanların hem yaşam sürelerine hem de yaşam kalitelerini yükseltir. Bu yüzden mutajeniteye neden olan etkenlerin tespiti için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Canlıların DNA'larında oluşan bu hasarlar geliştirilen bir takım yöntemlerle saptanabilir. Bu testlerin kısa sürede sonuç vermesi önemlidir. Bu nedenle günümüzde testlerde elde edilen sürelerde

önemli kısaltmalar geliştirilebilmiştir. Dolayısıyla bu yöntemlere kısa süreli genotoksisite testleri de denebilir. Bu testler bileşiğin genotoksisitesinin belirlenmesine neden olur. Bu testler günümüzde yaygın kullanılan ve öncelikle çevre kirliliğinden sorumlu olan çok sayıda zehir, ilaç ve kimyasal maddeye uygulanır. Elde edilen sonuçlar böyle maddelerin tolerans düzeylerinin belirlenmesinde kullanılır. Genotoksisitenin belirlenmesi çoğu zaman yalnız başına yeterli olmayabilir. Bu nedenle genotoksisite testlerine ilaveten maddeler oksidan, antioksidan aktivite, alerjik testler, akut ve kronik toksisite gibi testlere de tabi tutulur. Ayrıca çeşitli duyarlı analiz yöntemleri geliştirilir. Bütün bu sonuçlar ilaçlar veya diğer maddelerin kullanılmasının daha güvenli olmasına hizmet eder (Doğan 2012), (Klug ve ark. 2002).

Genotoksisite testleri *in vivo* ve *in vitro* diye ikiye ayrılır. Bu testler moleküler, gen ve kromozom düzeyinde olabilir. Bunlar arasında Comet testi, *in vivo* memeli fare kemik iliği testi, kromozom aberasyon testi (CA), *in vivo* memeli eritrosit mikronükleus testi, *in vitro* memeli hücre gen mutasyon testi, bakteri kullanarak yapılan geri mutasyon yani Ames testleridir (Klug ve ark. 2002).

Ames testi çeşitli kimyasal maddelerin genotoksisitesini belirlemek amacı ile histidine ihtiyaç duyan bakterilerin kullanılması ile yapılan bir testir. Bu testin temelinde yapay mutasyonla histidin sentezleme yeteneğini kaybetmiş bakterinin kimyasal bileşiğe maruziyet sonrası histidin oluşturabilir özelliğe dönüşmesi esasına dayanır (Akyıl 2012).

Comet testi tek hücre elektroforezi olarak bilinen bir testtir. Yapılması kolay, pratik ve hassas bir genotoksisite testi olarak öneme sahiptir. *In vitro* ve *in vivo* olarak uygulanabilir olan Comet testi az sayıda hücre gerektirir. DNA hasarının göstergesi diğer bir avantajıdır (Klug ve ark. 2002).

Kromozom aberasyon testi kromozom sayısındaki değişiklikler, kromozom parçalarındaki delesyon, duplikasyon gibi genetik materyalin bozukluğunu tespit amaçlı kullanılır. Kromozom yapı ve sayısındaki değişimler CA tekniğinin hedefinin oluşturur. Bu bozukluklar tek veya iki kromatitlerde görülebilir. Bu durumda kromozom aberasyon testi farklı isimler alırlar. Bunlar kromatit ve kromozom tipi aberasyonlar. Kromozom aberasyonları yukarıda açıklandığı farklı şekillerde görülebilir (Demirel ve ark. 2002).

Kardeş kromatit değişimi (SCE) genotoksisitenin belirlenmesinde kullanılan bir diğer yöntem olup, DNA replikasyonu sırasında kromozomların her iki kromatitlerin homolog bölgelerinden kırılıp DNA da kırık oluşmasına ve kırılan bölgelerin yer değiştirerek yeniden birleşmesi esasına dayanır (Demirel ve ark. 2002).

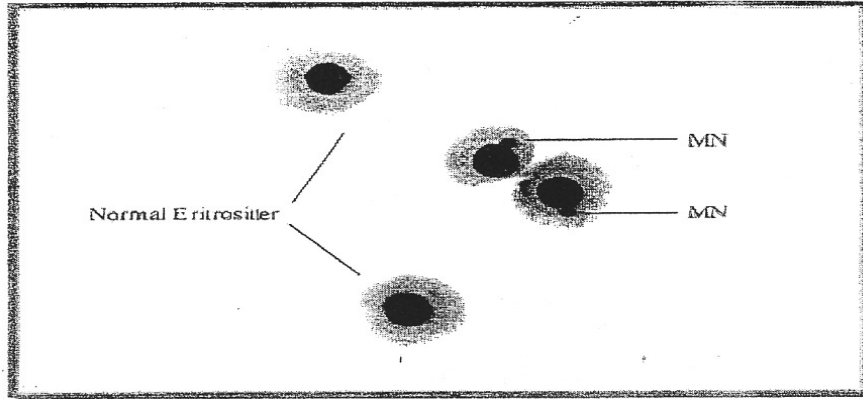
Genotoksisitenin araştırılmasında yaygın kullanılan yöntemlerden biri de mikronükleus testidir. Mikronükleus testi (MN) DNA'da oluşan mutasyonların ve mutajenlerin genotoksik etkilerinin sitogenetik açıdan araştırılmasında en fazla kullanılan yöntemdir (Üstüner 2011). Bu çalışmada genotoksisitenin araştırılmasında mikronükleus testi kullanılmıştır.

1.2.1.Mikronükleus (MN)

Mikronükleus oluşumu Howell ve arkadaşları tarafından ilk kez eritrositlerde tespit edilmiştir. Tanımlanmasını ise Jolly yapmıştır. Bu yüzden muhtemel olarak tespit edilen mikronükleusa Howell-Jolly cisimciği adı da verilmektedir. (French ve ark. 1985) Yapılan çalışmalarda mikronükleusların eritrositlerin dışındaki hücrelerde de ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu nedenle yani mikronükleusların diğer hücrelerde de görülmesinden dolayı Howell-Jolly cisimciği şeklinde adlandırılmanın yerine mikronükleus denmesinin daha uygun olduğu yaygın olarak kabul görmüştür. Mikronükleuslar hücrenin mitoz bölünmesi esnasında ortaya çıkan hücrenin asıl çekirdeğine dâhil olmayan asentrik kromozom fragmanlarından ya da tam kromozomlardan köken alan oluşumlar olarak tanımlanmaktadır (French ve ark. 1985). Bu oluşumlar genellikle mitotik iğdeki hatalardan, hücrenin devamı için gerekli siklus basamağını kontrol eden genlerdeki eksikliklerden, kinetokord veya mitotik aygıtın diğer parçalarından kaynaklanabilir. Kromozomlar üzerindeki bozukluklar da mikronükleus oluşumuna neden olabilir (Yılayaz 2005). Kaynağı ne olursa olsun hücrelerde tespit edilen mikronükleuslar genetik bir hasarın göstergesi olarak önem arz ederler. Çünkü genetik yapıdan kaynaklanan oluşumlardır.

Mikronükleus oluşumuna neden olan çok sayıda kimyasal madde tespit edilmiştir. Bu kimyasal maddelere mutajenler ya da genotoksik etkili maddeler denir. Bu maddelerin MN oluşturma mekanizmaları birbirinden farklılık gösterebilir. Çünkü mikronükleusların ortaya çıkma nedenleri birbirinden çok farklıdır. Bu nedenle fiziksel ya da kimyasal mutajenler bu mekanizmalarından biri ya da bir kaçı üzerinden etki

gösterir. Anöploidiyi uyaran ajanlar sentromerler üzerine etki ederek bölünme hasarlarına veya iğ ipçikleri üzerine etki ederek MN oluşumuna sebep olur. Kromozomların kutuplara çekilmesi sırasında tam ayrılma gerçekleşmez ve sonuçta geride kalan kromozom parçaları mikronükleusu oluştururlar. Klastojenler ise kromozom kırıkları üzerinden MN oluşumunu tetiklerler. Yani kromozomlarda kırıklar oluştururlar. Sonuç olarak ortaya çıkan ve yapısal hasarın bir göstergesi olan bu kırıklar mikronükleusları oluşturur. Bunların tespit edilmesi genotoksitesini bariz bir şekilde işaret eder ki, sağlık açısından yeni sorunların ortaya çıkmasına neden olur. Özellikle germ hücrelerinde bir teratojenite, kanserojenite veya metabolizma bozukluklarının gelişmesine sebep olur. Somatik hücreler de ise ya hücre ölümüne ya da kanser hücresinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu anlamda genotoksik etkilerin belirlenmesi sağlıklı bir nesil ve hayat sürmek açısından gereklidir (Şekeroğlu ve ark. 2011), (Klug ve ark. 2002).



Şekil 1.11: Mikronükleuslar (Şekeroğlu ve ark. 2011)

Fiziksel ve kimyasal mutajenler nedeniyle oluşan ve bir genotoksitesinin göstergesi olan olan mikronükleuslar bir nükleoplazma tarafından sarılarak sitoplazma içinde ana nükleus yanında küçük bir parça olarak yer alırlar (Şekeroğlu ve ark. 2011).

Mikronükleus testi genotoksitesinin tespitinde kullanılan oldukça yaygın basit bir testtir. *In vivo* çalışmalarda kullanılabilir bir özellik arz eder. Diğer bazı genotoksite testlerine göre önemli avantajları vardır. Organizmaların çeşitli mutajenik, klastojenik ve karsinojenik ajanlara maruz kalması sonucu DNA hasarı oluşur. Bu maddelere bağlı olarak hücrelerde ortaya çıkan mikronükleusun tespit edilmesinde kullanılır. Mikronükleusun tespit edilmesi hücrelerde DNA hasarının bir göstergesi

olarak kabul edilir. Bu bağlamda hücreler içinde MN'a bakılması genetik hasarın tespitinde önemli bir rol oynar. Mikronükleus testi ile ortaya konan MN sayıları günümüzde DNA üzerindeki hasarın *in vivo* ve *in vitro* olarak tespit edilmesinde oldukça yararlıdır. Bu açıdan MN testi pratik ve ekonomik bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Mikronükleus sayısındaki artış çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal veya yapısal kromozom değişikliklerinin indirekt bir göstergesidir (Demirel 2002).

Mikronükleus tekniğinde değişik dokuların hücrelerinden faydalanılabilir. Bu amaçla insan periferik kan lenfositleri, kemik iliği ve yanak mukoza hücreleri de kullanılabilir. Bu hücrelerde fiziksel ve kimyasal ajanların genotoksitelerinin belirlenmesine katkı yapar. Kanser ile kromozom düzensizlikleri arasında sıkı bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bu yüzden vücutta kanser hücrelerinin erken tanısı amacıyla da MN yöntemi kullanılmaktadır. Mikronükleus testi öneminin anlaşılmasından sonra zaman içerisinde gelişme göstermiştir. Mikronükleus yöntemi 1950'lerde bitki hücrelerine, 1970'lerde hayvan hücrelerine ve lenfosit kültürüne uygulanmıştır. Daha sonra çalışmalar ilerleyerek 1976'da kültüre edilmiş insan lenfosit hücrelerinde kromozom hasarların belirlenmesinde kullanılmıştır (Aksu 2012). Halen günümüzde çeşitli hücrelerde *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biridir.

1.2.2.Mikronükleusların (MN) Değerlendirilmesi ve Test Protokolü

Mikronükleus testi genotoksitenin belirlenmesi açısından oldukça yararlı olup, insan, hayvan ve bitki hücreleri üzerinde kimyasal ya da fiziksel bir ajanın oluşturduğu genetik hasarı saptamak için kullanılabilir. İnsanlar ve hayvanlar üzerinde farklı hücre tiplerine uygulanabilen MN testi genelde kemik iliği ve kan hücreleri üzerinde gerçekleştirilir. Bunun yanı sıra ağız epitelyum hücresi, deri fibroblastları, akciğer vb. gibi hücreler üzerinde de MN testi yapılabilir. İnsanlarda daha çok teşhis amacıyla yönelik yapılırken hayvanlarda daha çok deneysel çalışmalara yönelik olarak yapılır. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kanser hastalarından alınan periferik kan lenfositlerine MN testi uygulanmıştır. Bu testlerde elde edilen bulgular kanserli dokulardaki hücrelerde oluşan MN frekansı kadar bulunmuştur (hemen hemen eşit). Bu

durum kanser hastalarında periferel kan lenfositleri üzerinde MN testinin kanserin teşhisi açısından önemini ortaya koymaktadır (Aksu 2012).

Mikronükleus testinin *in vitro* olarak yapılmasından elde edilen sonuçlar, bu testin *in vivo* olarak da kullanılabilirliğini ortaya koymuştur. Bu anlamda *in vivo* olarak yapılan çalışmalarda MN testinin kullanıldığı görülmektedir. *İn vivo* şeklinde yapılan çalışmalarda kimyasal maddelerin neden olduğu yalnızca MN sıklığı değil, aynı zamanda çalışılan bileşiğin farmakokinetiği de ortaya konabilmektedir. Bu durum kimyasal bileşiğin genotoksik etkilerine ilaveten diğer etkileri hakkında da araştırmacılara daha geniş bilgi sunmaktadır. Ayrıca *in vivo* olarak planlanan çalışmalarda zaman içerisinde gelişen DNA onarım süreci de saptanabilmektedir. *İn vivo* yapılan çalışmalarda memeli eritrositlerinde MN testinin uygulanması oldukça sık yapılmaktadır. Periferel kan hücrelerinde veya kemik iliğindeki eritrositler üzerinde yapılan MN testi maruz kalınan ya da çalışılan bileşiğin kromozomal bir hasar oluşturup oluşturmadığını ya da genotoksik olup olmadığını hızlı ve basitçe ortaya koymaktadır. *İn vivo* yapılan çalışmalarda periferel kan eritrositlerinde MN bakılması değişkenliğin az olmasından ötürü daha sağlıklı sonuç vermektedir. Fakat memeli canlılarda yapılan çalışmalarda karaciğer ve dalağın MN içeren eritrositleri kandan ayırması nedeniyle daha çok kemik iliği yöntemi tercih edilmekte ve kullanılmaktadır. Bu çalışma *Mus musculus* türü swiss albino ırkı kemiricilerde yapıldığı için MN sayılarının değerlendirilmesi *in vivo* yapılan çalışma kapsamındadır.

Çalışmada MN sayılarının doğru olarak tespiti büyük önem arz eder. Bu nedenle MN'lerin değerlendirilmeleri belirli kriterler çerçevesinde yapılmalıdır. Kemik iliğinden elde edilen eritrositlerde mikronükleusun çapı eritrosit nükleusunun çapının yarısından küçük olmalıdır. Sayılan ya da kabul edilen MN'lerin şekli genellikle yuvarlak olmasına rağmen bazen oval ya da badem şeklinde de olabilir (Samanta ve ark. 2012). Mikronükleusların çevre sınırları çoğunlukla belirgin şekilde açıktır, yani sınırları belirgindir. Bu şekilde sayılan nükleusları oluşturan maddenin genotoksik olarak kabul edilebilmesi bazı şartlara bağlıdır. Heddle'a göre eritrositlerde sayılan MN oranının % 6'dan fazla olması kullanılan veya maruz kalınmış kimyasal maddenin genotoksik etkili olduğunu gösterir (Heddle 1983.). Bu şekilde elde edilen veriler genotoksik etkinin değerlendirilmesinde kabul görmektedir.

1.2.3.Fare Kemik İliği MN Yöntemi

Mikronükleus testi fare kemik iliğinde ilk defa 1970'lerde Boller ve Schmid tarafından yapılmıştır. Daha sonra bu test Heddle tarafından 1973'de tekrarlanmıştır (Heddle 1973). Kemik iliği hematopoetik bir dokudur ve hızla çoğalır. Ayrıca kimyasal maddelerin hematopoetik dokulara hızla ulaştığı bilinmektedir. Bu yüzden MN testi ile yapılan çalışmalarda fare kemik iliği yöntemi kullanılır. Hematopoietik hücrelerin çoğalması sırasında mutajen etkili bir kimyasal uygulanması iğ ipliklerinin baskılanmasına veya kromozom hatalarına yol açabilmektedir (Şekeroğlu ve ark. 2011).

Mikronükleus testinin temelini kimyasal maddelerin etkilerine bağlı olarak hücrelerin kromozomlarda meydana gelen hasarların bir göstergesi olan küçük mikronükleusların belirlenmesi oluşturur. Deney hayvanı olarak üretimi kolay olan fare kemik iliği teste sıkça kullanılır. Kimyasal maddeler eğer mutajenik bir özellik gösteriyorsa hücrelerin çekirdeğinin kenarında çekirdekten daha küçük ve sınırları belli olan MN'lar oluşur. Çekirdeğin yanında ve sitoplazmanın içerisinde bulunan bu mikronükleusların belirli oranların (% 6) üzerinde olması maddenin genotoksik etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bu testte MN'lerin tespiti için eritrositler kullanılır. Eritroblastlar yeterince gelişmemiş ve olgunlaşmamış eritrosit olan PCE (polikromatik eritrositler)'ye dönüştüklerinde mitoz bölünmeden yaklaşık 6 saat sonra çekirdeklerini kaybederler. Bu nedenle PCE'lerde MN'u belirlemek daha kolay olur. Mikronükleus oluşumu sonrası kemik iliğinden alınan örneklerde saptanan PCE ve NCE (normokromatik eritrosit) sayılarının oranı, yani PCE/NCE'ye oranının azalması maruz kalınan ya da alınan bileşiğin MN oluşturduğunun bariz bir göstergesidir. NCE tamamen olgunlaşmış ve ribozomları olmayan eritrositlerdir. Periferik kanda bulunurlar. Gelişimin herhangi bir aşamasında maruz kalınan mutajenik kimyasal madde PCE'ler üzerine etki ederek MN oluştururlar. Sonuçta kanda mikronükleuslu PCE'ler (MNPCE) oluşur. Bu PCE sayısının azalması anlamına gelir. Dolayısıyla bu azalma PCE/NCE oranında düşmeye neden olur. MNPCE oluşumu sonrası periferik kanda NCE azalması bileşiğin genotoksik etkisinin dolaylı bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu durum kullanılan bileşiğin kemik iliğine ulaştığını ve eritrosit oluşumu için öncü olan yapılar üzerinde toksik etki gösterdiği açıklayabilir (Şekeroğlu ve ark. 2011).

İn vivo yapılan çalışmalarda kemik iliğinde oluşan genotoksik hasarın belirlenmesinde PCE, NCE ve MNPCE hücrelerinin tespiti gereklidir. PCE/NCE oranı ve MNPCE sayılarının kanda belirlenebilmesi hücrelerin farklı boyanma özellikleri göz önüne alınarak yapılır. Hücrelerin içerdikleri genetik materyal ve organellerin değişik miktarlarda boya alma ve dolayısıyla boyanma özelliklerinden yararlanır. Bu farklı boyanma özellikleri hücre tiplerinin belirlenmesine hizmet eder.

PCE'ler olgunlaşmamış eritrositlerdir ve yapılarında hala ribozom içerirler. Bir takım boyama işlemi ardından ışık mikroskobunda bakıldığında PCE'ler mavi-yeşil arası bir renkte görünürken, NCE'ler (ribozomları yoktur) sarı-turuncu bir renkte görünmektedirler. Yine aynı şekilde ana çekirdeğin boyanma özelliğine benzer özellik gösteren PCE'ler üzerinde oluşmuş mikronükleuslar yani MNPCE'ler koyu mavi renkte belirgin bir görüntü çizerler. Bu nedenle saptanması hem çok kolay hem de testte kullanılan mutajen maddelerin ayırt edilmesinde yararlıdır.

Hücreler uygun yöntemlerle boyanır. Sonra her preparatta 1000 adet PCE sayılarak mevcut mikronükleuslar belirlenir. Yani toplam 1000 adet PCE üzerinden sayım yapılarak bunlar içerisinde mikronükleus taşıyanlar yani MNPCE sayıları tespit edilir. Bunların yüzdeleri çıkarılır (Aksu 2012).

Bu çalışmada veteriner hekimlikte ve tarımda pestisit olarak yaygın kullanılan organik fosforlu insektisit grubu insektisitlerden Malation ve Dimetoat'ın genotoksik etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Araştırmada fare kemik iliği hücrelerinden yararlanılmıştır. *İn vivo* olarak planlanan bu çalışmada farelerin kemik iliğinden elde edilen eritrositlerde mikronükleus tespit edilerek genotoksitenin olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçların halk sağlığı ve çevre sağlığı açısından faydalı olacağı değerlendirilmektedir. Ayrıca ilaçların kullanım amacı, doz ve kalıntılarının değerlendirilmesine katkı yapacaktır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. MATERYAL

2.1.1. Hayvan Materyali (Swiss albino ırkı fare)

Çalışmada ağırlıkları 20 ± 1 g arasında değişen, 8 haftalık erkek, *Mus musculus* cinsi swiss albino fareler kullanıldı . Çalışmada, mikronükleus sıklığının belirlenmesi amacıyla toplam 40 adet fare kullanıldı . Fareler 121°C de otoklave edilebilen, polikarbon malzemeden yapılmış kafeslerde barındırıldı . Hayvanlar kafeslere 10'lu gruplar halinde yerleştirildi . Fareler, $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, % 50 bağıl neme sahip, sabah 8'den akşam 8'e kadar olan 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyotlu laboratuvar koşullarında barındırıldı. Uygulanacak maddelerin dozu distile suda çözülerek oral yol ile verildi. Kontrol grubuna ise içme suyu olarak distile su hiçbir şey ilave edilmeden *ad libitum* olarak verildi. Hayvanlar *ad libitum* olarak standart diyetle beslendi. Hayvanlar Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ. HADEK) tarafından izin verilen ünitelerde yetiştirildi ve deneye alındı.

2.1.2.Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

2.1.2.1. Malation

Çalışmada farelere uygulanan Malation A firmasına ait bir müstahzarından temin edildi. Ürün 200 mg/ml Malation içermektedir. Son kullanma tarihi 01,2014'dür.

Malationun LD_{50} değeri 1000 mg/kg ve sudaki çözünürlüğü 0,145 mg/ml'dir. Dozunun ve çözeltisinin hazırlanmasında bu değerlerden yararlanıldı. Sudaki çözünürlüğü göz önüne alınarak ve farenin günlük içebileceği su miktarı 2 ml olarak değerlendirilip uygulama çözeltisi hazırlandı. Bu anlamda hayvanlara yaklaşık letal dozun % 1'lik oranında Malatasyon verildi. Bir fare için günlük verilen toplam doz 0,2 mg/fare (farenin ağırlığı 20 g ortalama olarak ele alınmıştır) olarak hesaplandı. Bunun için toplam 10 fare için günlük 2 mg/20 ml'lik çözelti taze olarak hazırlandı. Çözelti hazırlanırken preparattan 10µl alınarak 20ml'ye distile su ile tamamlandı. Bu çözelti farelere 14 gün süreyle oral yolla içme suyu olarak verildi.

2.1.2.2. Dimetoat

Çalışmada farelere uygulanan Dimetoat B firmasından bir müstahzar olarak temin edildi. Ürün 400 g/L Dimetoat içermektedir. Son kullanma tarihi 01, 2015'dir. Kullanılan preparatın içinde Emülgin D-81 ve Xyelene yardımcı madde olarak bulunmaktadır.

Dimetoatın LD₅₀ değeri 100 mg/kg ve sudaki çözünürlüğü 25 mg/ml'dir. Farelere uygulanan doz ve çözeltinin yoğunluğunun hazırlanmasında bu değerlerden yararlandı. Farenin günlük içebileceği su miktarı 2 ml olarak kabul edildi. Farelere letal dozunun % 10'luk oranında Dimetoat oral yol ile *ad libitum* olarak verildi. Bir fare için günlük alınan toplam doz 0,2 mg/fare olarak hesaplandı. Çözelti 10 fare için günlük 2 mg/20ml olacak şekilde taze olarak hazırlandı. Çözelti hazırlanırken preparattan 5 µl alınarak distile su ile 20 ml'ye tamamlandı. Bu çözelti farelere 14 gün süreyle oral yolla verildi.

2.1.2.3. Mitomisin-C (MMC)

Mitomisin-C bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanıldı (Sigma). Kapalı formülü: C₁₅H₁₈N₄O₅'dir.

Mitomisin C'den 0,6 mg alındı ve distile suda çözdürülerek hacmi 1,5 ml'ye tamamlandı. Bu solüsyondan farelere i.p. yolla 50 µl/10 g fare dozda enjekte edildi (2 mg/kg).

2.1.2.4. Eter (Dietyl Eter, Etoksietan)

Dietyl eter, kısaca eter ya da etoksietan olarak da bilinir (Sigma CAS No : [60-29-7]). Kaynama noktası düşük olup, karakteristik kendine özgü bir kokusu vardır. Çalışmada anestezik olarak farelerin servikal dislokasyonundan önce kullanıldı. Dietyl eterin bazı özellikleri aşağıda verilmiştir. Diğer adları, Etil eter ve etil oksit, 3-oksapentan'dır. Kapalı kimyasal formülü, C₄H₁₀O (C₂H₅OC₂H₅) ve molekül ağırlığı 74,12 g/mol'dür.

2.1.2.5. Sorensen Tampon (Sorensen Buffer) Çözeltisi

Bu tampon çözelti tampon A ve tampon B olmak üzere iki ayrı stok çözelti halinde hazırlandı. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığında kapalı kaplarda saklandı. Çalışmanın amacına uygun olarak birbiriyle değişik miktarlarda karıştırılarak kullanıldı.

Tampon A: 11,34 g KH_2PO_4 250 ml saf su içinde çözdürüldü (pH=4,8).

Tampon B: 14,83 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ 250 ml saf su içinde çözdürüldü. (pH=9,3).

2.1.2.6. Giemsa

Giemsa boyası Merck firmasından (Cat. No. 9204) temin edildi. Deneyleerde Sorensen tamponu içinde hazırlanmış olan % 5'lik ve % 10'luk boya eriyiğinin hazırlanmasında kullanıldı. Bu çözeltiler ile preparatların boyanması gerçekleştirildi..

% 5'lik Giemsa boyasının hazırlanışı: 5 ml Tampon A + 5 ml Tampon B + 5 ml Giemsa + 85 ml distile su.

2.1.2.7. May-Grunwald

Bu boya Merck firmasından temin edildi. Deneyleerde sorensen tamponu içinde % 0,25 ve % 0,125'lik boya solüsyonu olacak şekilde hazırlandı ve preparatların boyanmasında kullanıldı.

2.1.2.8. Entellan

Preparat kapatma solüsyonudur (Merck, Cat. No: 7961). Preparatlar daimi hale getirilirken lam ve lamelin birbirlerine yapıştırılmasında kullanıldı.

2.1.2.9. Metanol (Metil Alkol, Karbinol)

Kullanılan metanol Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi (Sigma, Cas. No: 67-56-1). Boyama işleminden önce preparatların bekletilmesinde kullanıldı. Preparatlar önce metanol solüsyonunda bekletildi sonra boyandı.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları

2.1.3.1. Hassas Terazi

Tartım işlemlerinde 0,0001 gr hassasiyetindeki PRECİSA XB 220 A marka terazi kullanıldı. Kimyasalların tartılmasında kullanıldı.

2.1.3.2. Santrifüj

Devir hızı 5000 rpm'e kadar yükselebilen, 15 dk.'lık zaman ayarlayıcı ve 8 tüp kapasitesi bulunan ELEKTRO-MAG marka santrifüj, çalışmalarda kullanıldı.

2.1.3.3. Mikroskop

Fotoğraf makinesi ve kamera monte edilebilen, koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan OLYMPUS marka binoküler ışık mikroskobu preparat incelemelerinde kullanıldı. Hücrelerin sayıları ve türleri mikroskop altında belirlendi.

2.2. METOT

2.2.1. Gruplar

Deneyde kullanılan hayvanlar aşağıda belirtildiği gibi her grupta 10 adet olacak şekilde dört gruba alındı ve *ad libitum* olarak beslendi. Kontrol ve pozitif kontrol grubuna içme suyu olarak disitle su verilirken grup 3 ve 4'de içme suyu olarak aynı zamanda ilaç çözeltiler *ad libitum* olarak verildi. Çözeltiler ve su günlük olarak hazırlanarak kullanıldı. Hayvanlar standart yemle *ad libitum* olarak beslendiler.

Grup 1. Kontrol grubu, (n=10). Bu grup, negatif grup olarak tutuldu. Hiçbir ilaç uygulaması yapılmadı.

Grup 2. Pozitif kontrol grubu (n=10). Bu grup pozitif deney grubu olarak tasarlandı. Farelere intraperitoneal (i.p) yolla 2 mg/kg (dozda 50 µl/10 g) fare Mitomisin-C (MMC) solüsyonundan 13. günde tek doz enjekte edildikten sonra yöntemin doğrulanması için için MN sayımı yapıldı.

Grup 3. Malatyon grubu (n=10). Bu gruba 10 mg/kg (0,2 mg/20 g fare) dozda malation oral yolla 14 gün verildi. Bu amaçla Malation'un 0,1 mg/ml'lik (2 mg/20 ml) çözeltisinden yararlanıldı.

Grup 4. Dimetoat grubu (n=10). Bu gruba 10 mg/kg (0,2 mg/ 20 g fare) dozda Dimetoat oral yolla 14 gün süreyle verildi. Bu amaçla Dimetoat'ın 0,1 mg/ml'lik (2 mg/20 ml) çözeltisinden yararlanıldı.

2.2.2. Mikronükleus Testi

Çalışmamızda mikronükleus tespitinde periferel kan yerine, eritrositlerden daha kolay yararlanmak amacıyla farelerin kemik iliği kullanıldı. Farelerin femur kemiği çıkarıldı ve mikronükleus testi için kullanıldı. Femur kemiği iki ucundan kesilerek, kemik iliği enjektör yardımı ile çekildi ve içerisinde 3 ml dana serumu bulunan santrifüj tüpüne aktarıldı. İçerisinde kemik iliği numunesi bulunan tüpler 2000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları atıldı. Tüpte kalan kısmın üzerine bir damla dana serumu konularak süspanse edildi. Bundan alınan bir damla örnek temiz lam üzerine yayıldı. Yayma işlemi tamamlanan lamlar havada kurutuldu ve metil alkolde 10 dakika fikse edildi. Kemik iliğinde MN testi ilk kez Schmid tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem laboratuvar ve çalışma koşullarımıza göre uyarlanarak kullanılmıştır. Kemik iliğinden bu modifiye yöntem kullanılarak hazırlanan preparatlarda MN sayımı gerçekleştirilmiştir (Schmid 1975).

2.2.3. Boyama İşlemi

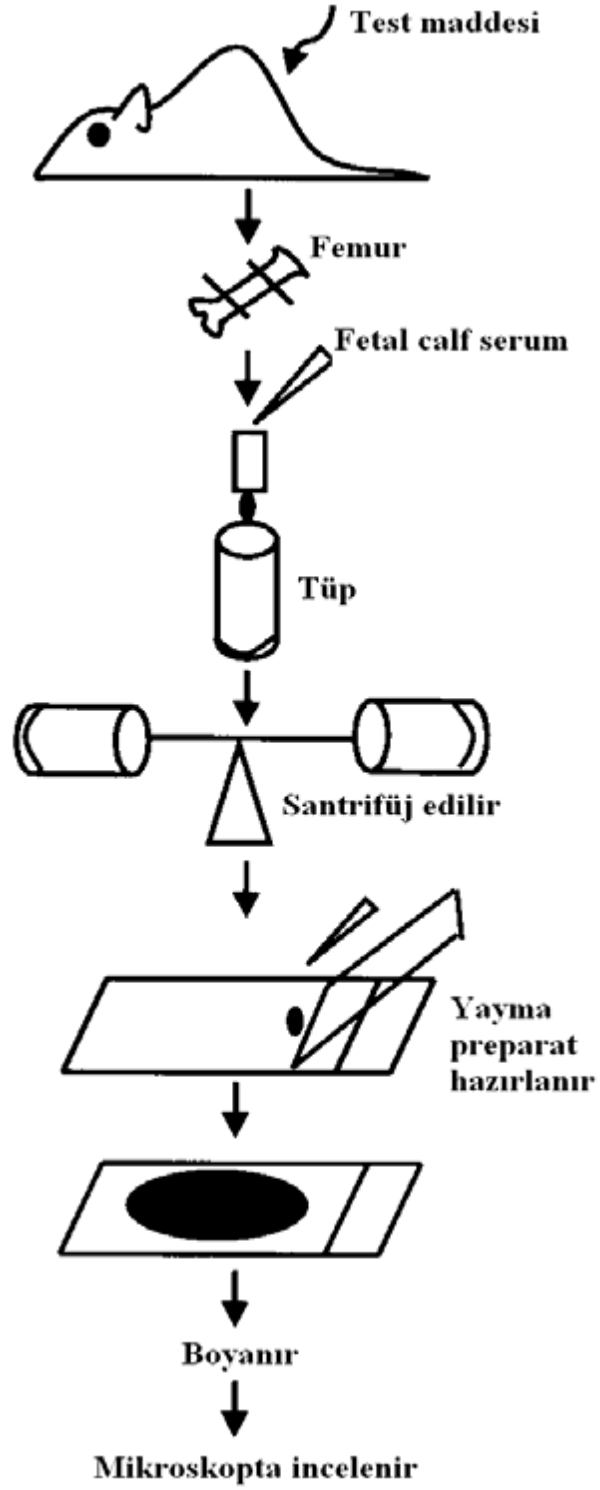
Fikse edilmiş preparatlar ilk önce % 0,25'lik May Grunwald boyası ile 5 dakika boyanarak saf su ile yıkandı. Daha sonra % 0,125'lik May Grunwald boyası ile 5 dakika tekrar boyanarak saf suda yıkandı. En son % 20'lik Giemsa boyası ile 30 dakika boyanıp, yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Preparatlar Olympus CX21 marka ışık mikroskobunda 1000 büyütmede, her preparattan rastgele 1000 adet PCE sayıldı. Bunların içerisinde MNPCE'lerin sayıları belirlenerek, yüzdeleri çıkartıldı.

Yöntemin özeti aşağıda şekil 11 'de verilmiştir.

2.2.4. İstatistik Yöntemi

İstatistiksel hesaplamalarda Duncan-Tucey Testi kullanıldı. Deneme grupları, kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak çalışıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) şeklinde belirlendi ve $p < 0.001$ istatistiksel farklılığı gösterdi.

Tüm hesaplamalar SPSS (16.0-2010) paket programı kullanılarak yapıldı.



Şekil 2.1: Mikronükleus testi yapılışı şematik gösterimi (Aksu 2012)

3. BULGULAR

Deneye alınan hayvanlar her gün 12 saatte bir gözlemlenir. Hayvanların deney süresince hiçbirinde zehirlenme belirtileri ve ölüm görülmedi. Farelerin kemik iliğinden hazırlanan preparatlarda sayılan PCE ve MNPCE'ler aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir.

3.1. Kontrol ve Deney Gruplarına Verilen Bileşiklerin Oluşturdukları MNPCE'ler

Farelere oral yolla Malatyon, Dimetoat ve intraperitoneal yolla MMC verildikten sonra, her doz grubundan elde edilen preparatlardan rastgele toplam 1000 PCE sayıldı. Bu 1000 PCE içerisinde gözlemlenen MNPCE sayıları tespit edilerek tablolarda gösterilmiştir.

Tablo 3.1.: Negatif kontrol grubunda saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdelik oranları

Negatif Kontrol Grubu			
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)
1	1000	4	0,4
2	1000	3	0,3
3	1000	3	0,3
4	1000	4	0,4
5	1000	3	0,3
6	1000	3	0,3
7	1000	4	0,4
8	1000	4	0,4
9	1000	4	0,4
10	1000	4	0,4
Grup Ortalaması		3,6	0,36

Negatif kontrol grubunda toplam 10 000 adet hücre örneği sayıldı. Bu örneklerde ortalama MNPCE sayısı 3,6 olarak tespit edildi. Bu hücrelerin % olarak ortalaması ise 0,36 olarak hesaplandı.

Tablo 3.2.: Pozitif kontrol grubunda saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdeler oranı

Pozitif Kontrol Grubu			
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)
1	1000	58	5,8
2	1000	62	6,2
3	1000	77	7,7
4	1000	63	6,3
5	1000	69	6,9
6	1000	71	7,1
7	1000	73	7,3
8	1000	59	5,9
9	1000	66	6,6
10	1000	78	7,8
Grup Ortalaması		67,6	6,76

Pozitif kontrol grubunda toplam 10 000 adet hücre örneği sayıldı. Bu örneklerde ortalama MNPCE sayısı 67,7 olarak tespit edildi. Bu hücrelerin % olarak ortalaması ise 6,76 olarak hesaplandı.

Tablo 3.3.: Malation verilen farelerde saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdellik oranı

Malatyon Grubu			
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)
1	1000	24	2,4
2	1000	28	2,8
3	1000	32	3,2
4	1000	27	2,7
5	1000	25	2,5
6	1000	31	3,1
7	1000	30	3,0
8	1000	29	2,9
9	1000	28	2,8
10	1000	27	2,7
Grup Ortalaması		28,1	2,81

Malation verilen grupta toplam 10 000 adet hücre örneği sayıldı. Bu örneklerde ortalama MNPCE sayısı 28,1 olarak tespit edildi. Bu hücrelerin % olarak ortalaması ise 2,81 olarak hesaplandı.

Tablo 3.4.: Dimetoat verilen farelerde saptanan PCE ve MNPCE sayıları ve yüzdelik oranları

Dimetoat Grubu			
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)
1	1000	45	4,5
2	1000	49	4,9
3	1000	51	5,1
4	1000	55	5,5
5	1000	42	4,2
6	1000	48	4,8
7	1000	55	5,5
8	1000	56	5,6
9	1000	59	5,9
10	1000	51	5,1
Grup Ortalaması		51,1	5,11

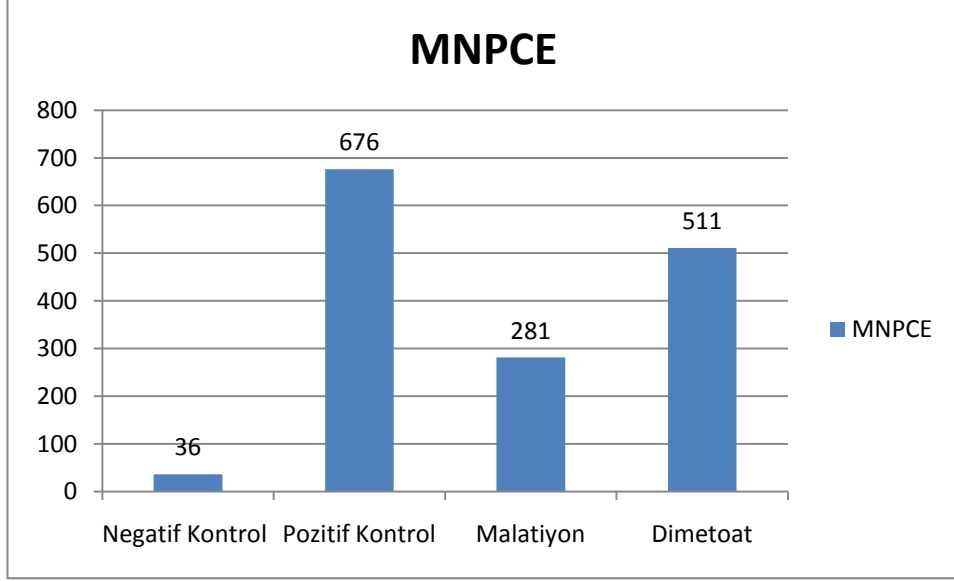
Dimetoat verilen grupta toplam 10 000 adet hücre örneği sayıldı. Bu örneklerde ortalama MNPCE sayısı 51,1 olarak tespit edildi. Bu hücrelerin % olarak ortalaması ise 5,11 olarak hesaplandı.

Tablo 3.5: Gruplardan saptanan toplam PCE ve MNPCE sayıları ve ortalamaları

Gruplar	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Grup Ortalaması
Negatif Kontrol	10.000	36	0,36	3,6
Pozitif Kontrol	10.000	676	6,76	67,6
Malatyon	10.000	281	2,81	28,1
Dimetoat	10.000	511	5,11	51,1

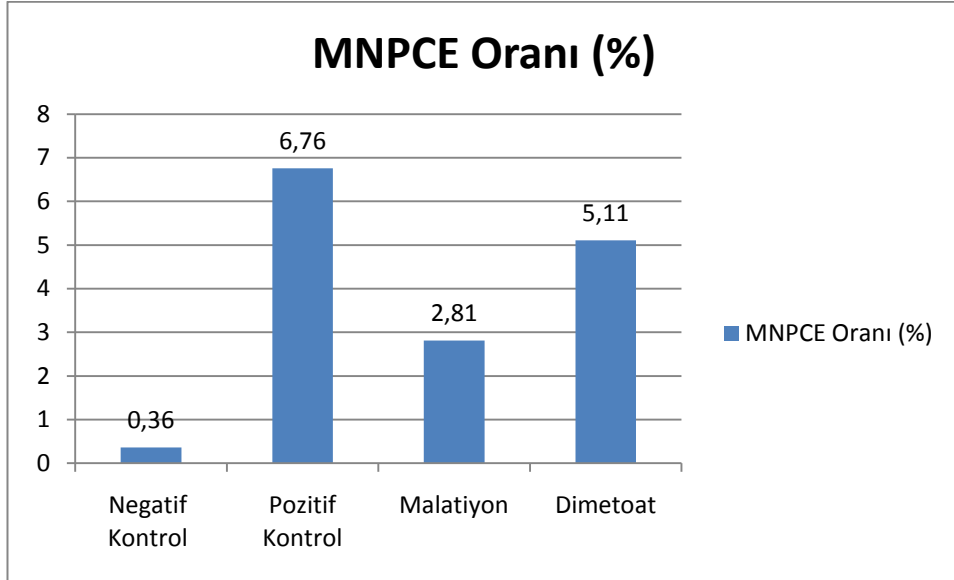
Çalışma gruplarında elde edilen değerlerin toplamı Tablo 3.5.'te verilmiştir.

3.2. Elde Edilen Verilerin Grafiksel Olarak Gösterilmesi



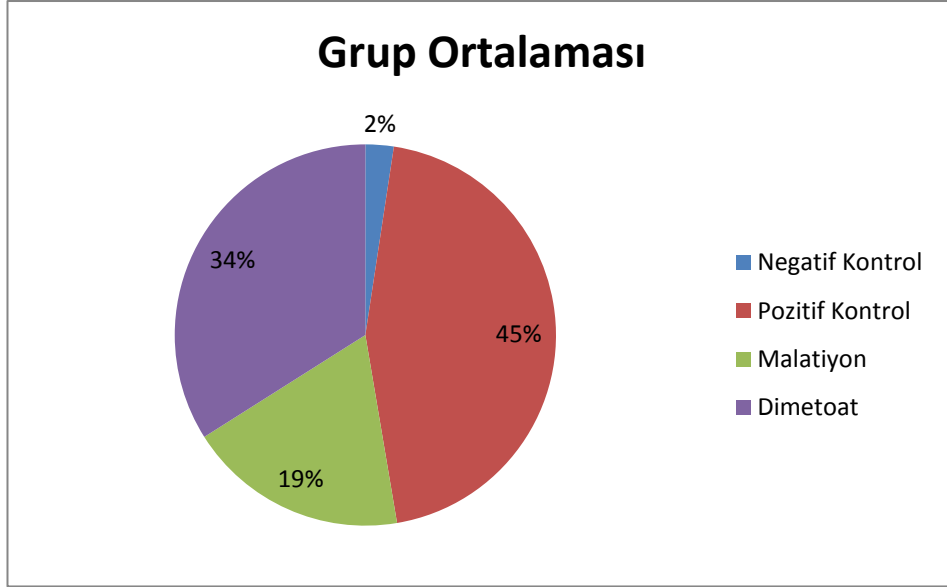
Grafik 3.1. 10.000 PCE üzerinden bakılan MNPCE değerleri.

Grafik 3.1.'de gruplardan elde edilen toplam NPCE sayıları grafikte sunulmuştur.

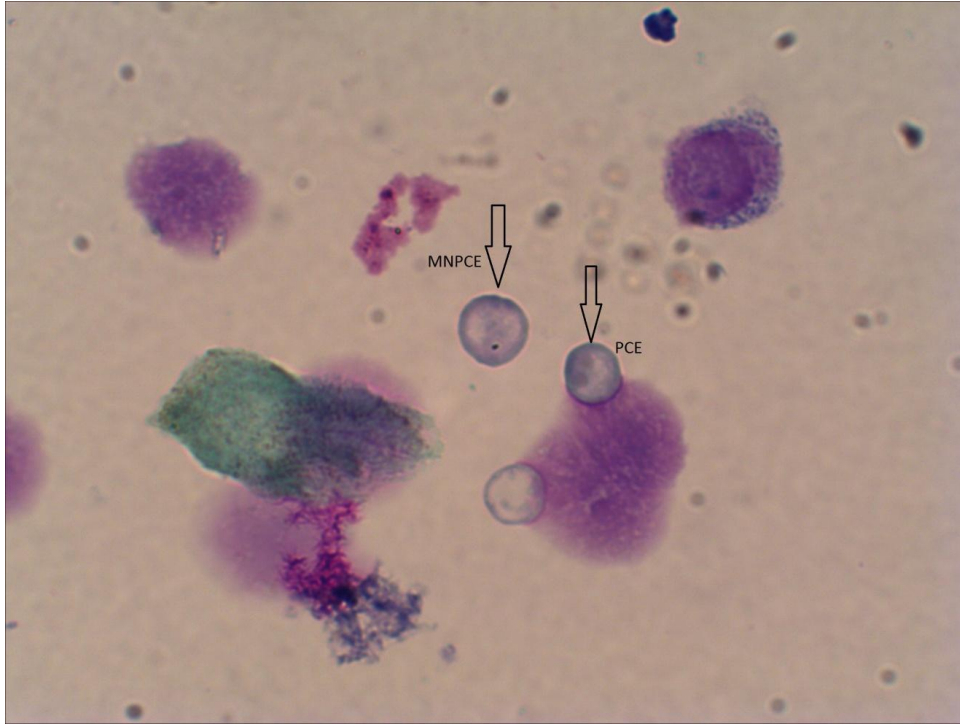


Grafik 3.2. Fare kemik iliğinde saptanan MNPCE oranları.

Grafik 3.2.'de gruplardan elde edilen toplam NPCE sayılarının % oranları grafikte sunulmuştur.



Grafik 3.3. Toplam MNPCE sayısındaki yüzdeleri dağılımı.



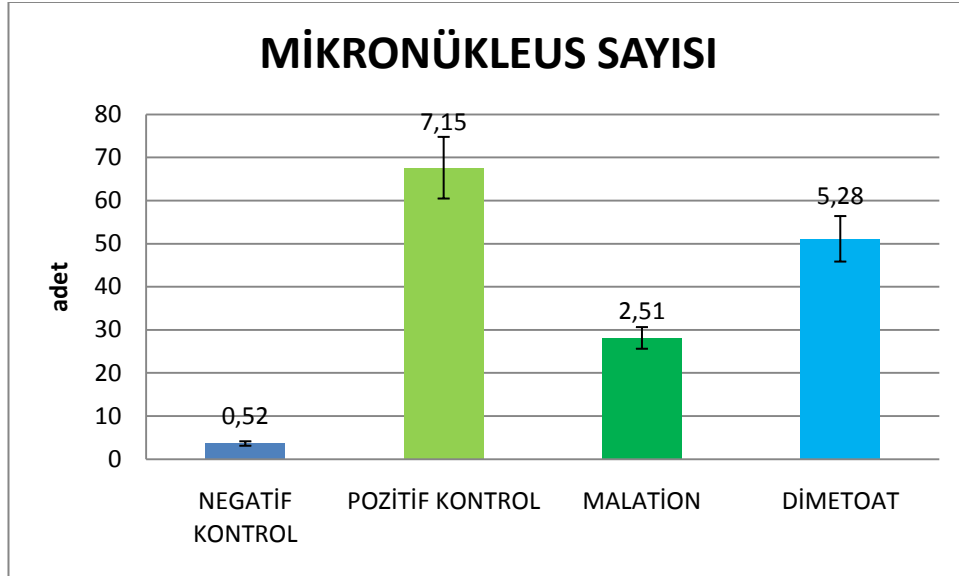
Resim 3.1: Yapılan çalışmada pozitif kontrol grubunda görünen bir MNPCE ve PCE (x1000)

Çalışmada sayılan MNPCE ve PCE'ler fotoğraflanarak Resim 3.1'de sunulmuştur.

Tablo 3.6.: Çalışmada kullanılan maddelerin dozları, verilen süreleri ve MNPCE sayılarının standart dağılımları

Gruplar	Verilen doz	Verilen süre	10000 PCE'de görülen MNPCE	Grup ortalaması ve standart dağılımı(n=10)
1	Distile su	14 gün	36	3,6±0,52
2	2 mg/kg	Tek doz	676	67,6±7,15*
3	10 mg/kg	14 gün	281	28,1±2,51*
4	10 mg/kg	14 gün	511	51,1±5,28*

*: $p < 0,001$. Grup 2, 3, 4 kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlam ($p < 0,001$) ifade etmektedir. Ayrıca Grup 2, 3 ve 4'üm kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) bir fark olduğu tespit edildi.



Grafik 3.4. Gruplar arası mikronükleus sayıları ve standart sapmaları.

SPSS 16 paket programı kullanılarak Duncan-Tucey yöntemi kullanılarak gruplar arasındaki istatistiksel yorumlama yapılmıştır. İstatistik sonuçlarda grupların birbirlerine göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Malathion'un negatif kontrole kıyaslandığında MN sayısını belirli bir şekilde arttırdığını gözlemlenirken, pozitif kontrol grubuna kıyasla düşük mikronükleus oluşumuna sebep olmuştur. Malation verilen gruptan elde edilen sonuçlar Dimetoat verilen gruptan elde

edilen sonuçlar ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermekle birlikte Malationun Dimetoat kadar mikrenuklus sayısını arttırmadığı görülmüştür.

Sonuçlar doğrultusunda Dimetoat'ın negatif kontrol grubuna göre yüksek oranda mükronükleus oluşturduğu gözlemlenirken, pozitif gruba göre daha düşük mikronükleus sayısı oluşturduğu gözlemlenmiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Pestisitler zirai mücadelede yaygın kullanılan maddelerdir. Pestisitler tarım alanlarında ya da tarım ürünlerinde istenmeyen canlıları öldürerek ürün verimliliğini arttıran bileşiklerdir. Pestisit kullanımı sırasında en çok tercih edilen memeli canlılar ve zararsız organizmalar üzerinde diğer bileşiklere göre daha az toksik etkili olarak değerlendirilen organofosfatlar halen etkin bir vektörel mücadele aracıdır. Organik fosforlu insektisitler tarım alanında pestlere karşı etkili olduklarının keşfinden sonra üzerlerinde çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sentez ve kullanım sonrası toksisitelerini kapsamaktadır. Burada temel amaç pestler üzerine maksimum, konakçı ve çevre üzerine ise mümkün olan en düşük toksik etkili bileşiklerin elde edilmesidir. Bu çalışmaların diğer bir hedefi ise daha ucuz ve çevrede daha az kalan bileşiklerin sentezidir. Bu amaçlar doğrultusunda yönlendirilen yeni çalışmalar ile yüzlerce yeni organik fosforlu bileşiklerin sentezi bilim adamlarınca gerçekleştirilebilmiştir. Bu bileşiklerin bir kısmı tarımın değişik alanlarında ve farklı pestlere karşı kullanım özelliği taşımaktadır. Çok sayıda tarımda ve veterinerlik alanında kullanım alanı bulmaktadırlar. Organik fosforlu insektisitler arasında bulunan Malation ve Dimetoat insektisit amaçla oldukça yaygın kullanılan bileşiklerindendir. Bu bileşiklerin yaygın olarak kullanılması sonrası bazı böcek türlerinde direnç gelişebilmektedir. Bu bileşikler direnç oluşturmanın yanında gıdalar, toprak, su ve havada da birikebilmektedirler. Hem direnç gelişimi hem de canlı ve cansız çevrede birikmeleri pestisitlerin istenmeyen etkilerindedir (Doğan 2012).

Organik fosforlu insektisitler ya da diğer pestisitler insan ve diğer canlılarda çok sayıda toksikasyona neden olmaktadır. Bu toksikasyonlar akut ve kronik tarzda seyredebilmektedir. Toksikasyon sonucu hem canlı hem de cansız çevrede istenmeyen etkiler ortaya çıkmaktadır. Bu etkiler arasında sinir, solunum-dolaşım sisteminin zarar görmesi, kasların olumsuz etkilenmesi sayılabilir. Bu genel zehirlenme belirtileri pestisitlerin yüksek dozlarda alınması sonucunda özellikle dikkati çeker. Eğer toksikasyon çok şiddetli ise canlı çoğu zaman hızla ölüme gider. Organik fosforlu insektisitlerin diğer çok sayıdaki zehirde olduğu gibi genel bilinen etkilerinin dışında hemen klinik belirti vermeyen hücre düzeyinde de çok sayıda etkileri zaman zaman gündeme gelebilmektedir. Bu tip etkilerin başında genotoksik etkiler gelir. Çünkü

genotoksik etkilerin ortaya çıkması değişik sürelerle ihtiyaç duyarlar ve çoğu zaman hücre ölümü, teratojenite, kanserojenite ve alerjik belirtilerle seyredebilir. Bu etkiler bilindiği gibi sağlık açısından çok önemlidirler. Genotoksisite mutasyon ile de sonuçlanabilir ki, bu etkiler gelecek kuşaklara aktarılması açısından büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle başta pestisitler olmak üzere canlıların maruz kaldığı çok sayıda kimyasal maddenin genler üzerinde toksik etki oluşturup oluşturmadığının bilinmesinde fayda vardır. Burada doz ve hayvan türüne göre genotoksik etkilerin değişik derecede ortaya çıkabileceği ya da hiç çıkmayacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu yüzden kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde çalışmalar farklı doz, süre ve hayvan türü düzeyinde gerçekleştirilmelidir. Sonra elde edilen etkisiz dozlar değerlendirilerek tolerans dozu belirlenmelidir. Bu anlamda bir kimyasal maddenin genotoksik etkilerinin tam olarak belirlenebilmesi uzun çalışmalar gerektirmektedir. Elde edilen bu veriler hem pestisitlerin kullanılacak miktarlarının belirlenmesine hem de uygulanacak konakçının tespit edilmese ışık tutması açısından yararlıdır. Bütün bu veriler pestisitlerin canlı organizma ve çevredeki toksikokinetikleri ile birlikte ele alındığında sağlık açısından büyük öneme sahip olduğu ileri sürülebilir. Çevredeki parçalanma yarı ömürleri, genotoksik dozları ile birlikte değerlendirilerek canlı sağlığının korunması, ilacın uygulama sıklığı, dozu gibi konuların doğru olarak planlanmasına ve etkilerinin anlaşılmasına katkı yapmaktadır. (Doğan 2012). Pestisitlerle ilgili yapılan laboratuvar çalışmaları içerisinde sağlık ve çevre sağlığı açısından büyük önem taşıması nedeniyle genotoksisite araştırmaları ayrı bir yere sahiptir. Bu anlamda organik fosforlu insektisitlerin ve tarımda yaygın olarak kullanılan diğer pestisitlerin hücrelerde genotoksik hasar oluşturup oluşturmadıklarının, oluşturuyorlarsa hangi doz ve şartlarda oluşturduklarının belirlenmesi büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada organik fosforlu insektisitlerden olan Malation ve Dimetoat'ın genotoksik etkileri MN yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen verilerin çevre ve halk sağlığı açısından önem taşıyabileceği kuşku götürmez bir bilimsel gerçek olarak değerlendirilmektedir.

Pestisitlerin en önemli sakıncalarından biri birikme özellikleridir. Bu durum her pestisit için geçerli değildir. Daha doğrusu her pestisit kendine özgü bir süre çevrede dayanıklılığı söz konusudur. Yaygın kullanıldıklarında uyguladıkları bölgeler başta olmak üzere hava, su ve toprakta birikmeye başlar. Sonra bu doğal çevreden bitki ve

hayvanlara ve buradan da insanlara yansır. Bu anlamda çevredeki kalıntıları ve parçalanma yarı ömürlerinin bilinmesi önem arz etmektedir. Güvensoy (2000)'nin yaptığı çalışmada organik fosforlu insektisitlerin topraktaki davranışlarını ve su ortamındaki etkilerine bakılmış kalıcılık, hareketlilik ve muhtemel toksik etki oluşturacak canlılara ulaşma oranları hesaplanmıştır. Sonuçlar doğrultusunda kullanılan 6 adet organik fosforlu insektisit türünün özellikle 4 tanesinin kullanım miktarına bağlı olarak limitler üzerinde kalıcılık gösterdiği saptanmıştır.

Pestisitlerin çevrede kirletici olarak rol oynadığı diğer bazı çalışmalarla da gösterilmiştir. Aralarında Malation ve Dimetoat'ın da bulunduğu çoklu pestisitlerin kullanıldığı Trabzon Değirmendere havzasında çevrenin tarımsal faaliyetleri ve içme sularının varlığı göz önünde bulundurularak Sivrikaya (2006) tarafından yapılan çalışmada pestisitlerin yıl içerisinde değişen çevresel koşullara rağmen değişik derecelerde saptanabildiği, fakat saptanan değerlerin sağlık açısından tehlike arz edecek maksimum tolerans değerlerinin altında olduğu sonucuna varılmıştır. Bu durum kullanılan her pestisit kalıcılık açısından tüketicilerde sağlık üzerinde olumsuz etki yapmayabileceğini ortaya koymaktadır. Ancak uygulamaların bilimsel ölçütler alınarak yapılmasının da gerekli olduğunu açıklamaktadır.

Malationun çevrede kalıcılığı diğer organik fosforlu insektisitlere göre daha azdır. Bu durumun Malation'un kimyasal yapısı ve diğer özellikleri ile ilişkili olduğu söylenebilir. Malation'un çevrede kalış süresi yaklaşık 1-25 gün arasında değişmektedir. Bu kadar farklılık görülmesinin nedeni bulunduğu ortam, çevre ve iklim şartlarının değişkenliği ile açıklanabilir.

Dimetoat tarımsal faaliyetlerde özellikle pamuk, mısır gibi ürünlerin zararlı haşerelerden korunmasında oldukça yaygın kullanılan bir pestisittir. Dünya Sağlık Örgütü tarafında orta tehlikeli zehirler sınıfına alınan Dimetoat içme suları, göl ve dere gibi sularda en çok kirletici olarak bulunan organik fosforlu insektisitlerden biridir. Sularda yüksek çözünürlük özelliğine sahiptir. Bu durum Dimetoat'ın uygulandıkları alalardan yağmur ve sulama faaliyetleri ile çözünerek yer altı, dere gibi sulara kolaylıkla ulaşabilir olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle su sistemlerinde, ekolojide kirlilik oluşturma riski yüksek olan bir bileşiktir. Dolayısıyla Dimetoat hedef olmayan canlılar üzerinde de zehirlenme açısından bir risk teşkil etmektedir.

Organik fosforlu insektisitler canlılar üzerinde AChE enzimini geri dönüşümsüz olarak bloke ederek zehirlenmelere neden olurlar. Artmış kolinerjik aktivite sonrası toksikasyon belirtiler görülmeye başlar. Zehirlenme sonrası ölümler genellikle solunum sisteminin baskılanması ve solunum yollarının kapanması sonrası oluşur. Aynı zamanda organofosfat zehirlenmelerinde kardiyak ve nöromusküler etkilenimler görülmektedir (Yüzügüllü 2012). Malation ve Dimetoat benzer toksik belirtiler göstererek zehirlenme tablosu oluştururlar. Bunun yanında pestisitlerin gecikmiş tipte akut zehirlenme belirtileri de söz konusudur. Alındıklarından aylar sonra özellikle sinir sisteminde ciddi sorunlar doğurabilirler. Yine muhtemel olabilecek mutajenik, kanserojenik ve alerjik etkileri sağlık açısından tehlike arz edebilir. Bu nedenle genotoksik etkilerinin yaygın olarak araştırılması çok önemlidir.

Akut organofosfat zehirlenmeleri üzerinde Gülalp (2002) tarafından yapılan bir çalışmada organofosfat türevi olan Metilparation'un neden olduğu zehirlenme tablosunda akut pankreatit tespit edilmiştir. Araştırmada 75 sıçan 5 gruba ayrılarak farklı tedavi sürelerine tabi tutulmuş ve ortaya çıkan klinik belirtiler gözlemlenmiştir. Sonuçlar doğrultusunda pankrasta sekresyon artışı, interstisyel hemoraji, inflamatuvar hücre filtrasyonu ve interstisyel ödem görülmüştür.

Organik fosforlu insektisitlerin yaygın kullanılması ve bunun sonucunda sıkça zehirlenmelerin görülmesi, bu konuda tedavi çalışmalarını da zorunlu kılmıştır. Organofosfat zehirlenmeleri sonrası 34 hasta üzerinde Kozacı (2006) tarafından yapılan çalışmada hastaların solunum destek gereksinimleri, solunum destek süreleri, atropinizasyon dozu, toplam kullanılan atropin dozu, atropin ile tedavi süreleri, ağızdan beslenmeye geçiş süreleri incelenmiştir. Çalışma neticesinde organofosfat zehirlenmelerinde yaşamsal destek için solunum desteği ve atropin uygulanmasının önemine dikkat çekilmiştir.

Organik fosforlu insektisitler akut toksisite sonrası canlının ölümüne neden olabilecek derecede toksik etkilerinin yanı sıra düşük dozda uzun süre maruziyet sonrasında canlının biyolojik fonksiyonlarında sorunlar da oluşturur. Doku ve organ bozuklukları, hormonal bozukluklar, fiziksel gelişiminin yavaşlaması gibi çeşitli hasarlara yol açabilirler (Doğan A. 2012).

Yapılan bazı çalışmalarda Malation'un genotoksik etkileri gözlenmiştir. Oral yolla Malation'a farklı dozlarda maruz kalan cüce kertenkelerde kuyruk boyları ve vücut kitleri ölçülmüş ve elde edilen değerler kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Karaduman T. 1998). Histopatolojik incelemelerde Malation karaciğer, böbrek ve ince bağırsakta tahribe yol açtığı belirlenmiştir. Bu çalışmalar Malation'un genotoksik etkili olduğunu ve doku hasarları oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Malation'un hormon dengesi üzerine de olumsuz etkili olduğu bildirilmektedir. Özmen (1991) tarafından yapılan bazı çalışmalarda Malation verilen beyaz sıçanlarda aldesteron seviyelerine bakılmış sonuçlar kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma göstermiştir. Bu nedenle Malation alanların özellikle böbrek üstü bezinden salgılanan steroidlerin etkilerinde bozmaya neden olacağı ve canlının sağlığını bu anlamda da olumsuz yönde etkileyebileceği ileri sürülebilir.

Lasram ve ark'ları (2014) tarafından yapılan çalışmada Malation'un karaciğer üzerindeki toksisiteyi de araştırılmıştır. Özellikle karaciğer enzim düzeylerin ölçülmesi bir hepatotoksiteye işaret edebilmesi açısından bu çalışmalar önem arz etmektedir. Malation'la sıçanlar üzerinde yapılan testlerde karaciğer üzerinde Malation'un oluşturduğu hasar enzimatik parametreler ve karaciğer ağırlığı ölçülerek araştırılmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada Malation'un immünotoksitesine bakılmıştır. Çalışmada erkek sıçanlara 200 mg/kg dozda 28 gün süreyle oral yolla verilen Malation karaciğer ağırlığında kontrol grubuna göre belirgin bir artış sağlamazken, karaciğer enzimlerinde istatistiksel olarak anlamlı bulunan bazı bir değişkenlik oluşturmuştur. Yine Malation uygulanan sıçanlarda toplam periferik lökosit, lenfosit ve nötrofil sayısında belirgin bir artış gözlenmiştir (Lasram MM. ve ark. 2014). Bu araştırma Malation'un karaciğer, dolayısıyla kemik iliği gibi diğer hematopoetik dokular üzerinde olumsuz etki doğurabileceğini göstermektedir. Bu sistemlerin immunoloji ile de yakın ilişkisi göz önüne alındığında Malation kalıntılarının ayrıca bir önemini de ortaya koymaktadır.

Malation'un yanında Dimetoat başta olmak üzere diğer organik fosforlu insektisitlerin kalıcılığı ve toksisiteyi üzerinde çok sayıda araştırmaların yapıldığı görülmektedir. Tiam F. ve ark'ları (2014) tarafından bazı gönüllü insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda Dimetoat'ın asetilkolin esterase inhibisyonunun yanı sıra ciltte tahrişe de neden olduğu saptanmıştır. Bu durum Dimetoat'ın toksik etkili bir madde

olmasının yanında aynı zamanda iritan etkili bir madde olduğunu da göstermektedir. Yine molekül üzerinde yapılan bazı çalışmalarda Dimetoat'ın sıçanlarda üreme sistemine olumsuz etkiler oluşturduğu gösterilmiştir. Bu durum Dimetoat'ın üreme sistemini olumsuz etkilediği ve bu nedenle hayvanlarda yavru verimini olumsuz yönde etkileyebileceği anlamını taşımaktadır. Üreme sistemindeki olumsuz etkileri büyük ihtimalle hormonal dengeyi bozmaları ya da başka nedenlere bağlı olarak cinsiyet hücrelerinin çoğalmasını bloke etmesine bağlanabilir. Ancak bu hipotezlerin geniş çaplı planlanan çalışmalarla doğrulanması gerekir.

Dimetoat'ın topraktaki kalıcılığı sulardaki kalıcılığına nazaran daha azdır. Çünkü Dimetoat molekülü topraktaki bakteriler tarafından parçalanır. Buna rağmen Dimetoat'ın topraktaki kalıcılık süresi yaklaşık 14 gün kadardır. Dimetoat diğer pestisitlerde olduğu gibi yalnız çevrede kalıcılığa sahip değildir. Aynı zamanda uygulanan ya da çevreden bir şekilde insektisiti alan canlıların dokularında da değişik derecede birikme eğilimi göstermektedir. Bu durum sığır, koyun, kanatlı, balık ve diğer bütün hayvan türlerinde söz konusudur. Kalıcılık aynen toprakta olduğu gibi belirli süreleri kapsar. Bu süreler zarfında daha doğrusu kalıntı miktarları yasal olarak izin verilen düzeylerin altına ininceye kadar hayvanlardan elde edilen besin maddelerinin tüketimine izin verilmez. Yani mutlaka yasal bekletme sürelerine uyulmak zorundadır. Aksi durumda tüketicilerin sağlığı değişik derecede olumsuz olarak etkilenebilir. Bu yalnız organik fosforlu insektisitler için geçerli değil, diğer tarımda kullanılan tüm ürünler içinde geçerli bir husustur.

Doğan D. (2011) tarafından Dimetoat'la yapılan laboratuvar çalışmalarında gökkuşağı alabalık olarak bilinen *Oncorhynchus mykiss*, Dimetoat'la 5, 15 ve 30 gün ve 0.0735 mg/L, 0.3675 mg/L ve 0.7350 mg/L konsantrasyonlarında maruz kaldığında kan parametrelerinde hemoglobin, lökosit ve eritrositlerde düşüş gözlemlenmiştir. Ayrıca aynı denk gruplarında Dimetoat'ın neden olduğu stres sonucu hiperglisemik ve hipoproteinemik tablo gözlemlenmiştir. Gökkuşağı alabalıklarında karaciğer, beyin ve kandaki AChE aktivitesinde % 45-94 arasında bir inhibisyona görülmüştür. Karaciğer üzerinde doğrudan toksik etkilerinin bir göstergesi olarak ele alınan Alanin Aminotransferaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) enzimlerinde artışlar görülmüştür. Bu araştırma bulguları Dimetoat'ın aynen Malation'da olduğu gibi kan dokusu üzerinde toksik etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Dimetoat'la Bekem H. (1995) tarafından yapılan bazı çalışmalarda pestisitlerin teratojenik etkisi üzerine deneyler yapılmış, yapılan çalışmalarda gavaj yolla verilen farklı konsantrasyonlardaki Dimetoat bileşiğinin sıçanlar üzerindeki teratojenik etkilerine bakılmıştır. Çalışma sonunda fetus üzerinde dış morfolojik anomaliler, fetus boyları ve sayıları artan Dimetoat konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermiştir. Sonuç olarak kontrolsüz kullanılan Dimetoat'ın memeli canlılar üzerinde olumsuz teratojenik etkilerin olduğu saptanmıştır. Teratojenik etkinliğin genotoksisite ile yakın bir ilişkisinin olduğu bilinmektedir. Ancak her genotoksik etki teratojeniteye neden olmayacağı bilinmektedir. Yine teratojenin nedenlerinden yalnızca birisi genotoksisitedir. Yani genotoksisitenin dışında özellikle beslenme bozuklukları, bazı metabolizma hastalıkları, annede görülen anomaliler teratojeniteye sebep olabilir. Dimetoat'ın bu faktörlerden birini ya da bir kaçını etkilemek suretiyle teratojenik etkilerini ortaya çıkarması muhtemeldir. Bu nedenle daha geniş mutajente ve diğer araştırmalar ihtiyaç duymaktadır. Kimyasal maddelerin teratojenik etki göstermelerinde canlıların tür farklılıkları da önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum doğrudan hayvan türlerinde görülen plasenta farklılıklarından kaynaklanmaktadır. Bütün bu sonuçlar Dimetoat'ın bir şekilde teratojenik etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Organofostların canlılarda oluşturduğu hasarlardan biri de genotoksisitedir. Yaygın ve bilinçsiz organik foaforlu pestisit kullanımı hedef olmayan organizma ve canlılar üzerinde genotoksik ve sitotoksik hasarlara neden olmaktadır. Genotoksisite DNA gibi hücrenin bilgi taşıyan makromolekülünde nükleofilik bölgelerinde elektrofilik moleküllerin bağlanarak oluşturduğu hasarlardır. DNA'nın doğrudan veya dolaylı olarak hasar alması genotoksisitenin bir göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Genotoksisite hücrelerde mutasyona veya kanser hücrelerinin oluşumuna yol açar. Ortaya çıkan hastalık genotoksisitenin görüldüğü hücrelerle de yakından ilişkilidir. Eşey hücrelerinde veya somatik hücrelerde görülebilir. Eşey hücrelerinde görülmesi muhtemel bir teratojenite nedeni olarak ele alınabilir. Somatik hücrelerdeki genotoksisite ise hücre ölümü ya da kanser gibi hasarlarla kendini gösterir (Doğan 2012). Genotoksik hasarın belirlenmesi maruz kalınan bileşiğin kanserojen, mutajen özellikte olup olmadığını belirlemek için önemlidir ve çok sayıda farklı yöntemlerle yapılabilmektedir. Genotoksik hasarın belirlenmesinde birçok yöntem kullanılmaktadır.

Bunlar arasında kromozom aberasyon (CA) testi, kardeş kromatit değişimi (SCE) testi, Ames testi, Comet testi ve mikronükleus testi (MN) en sık kullanılan yöntemlerdir (Al-Sabti ve Metcalfe 1995). Bu metotların birbirlerine göre avantajları ve dezavantajları vardır. Çalışmanın *in vivo* veya *in vitro* olması, kullanılan hücre yapısı ve genotoksik bileşiğin türlerine göre farklılık göstermesi çalışma yönteminin belirlenmesinde geçerli temel kriterlerdir. Bu çalışmada *in vivo* mikronükleus yöntemi kullanılmıştır.

Mikronükleuslar, bölünen hücrelerde kardeş nükleuslara katılmayan asentrik kromozom fragmentleri veya tüm kromozomlardan ortaya çıkan küçük ve ektranükleer oluşumlardır (Akyıl 2012).

Mikronükleus testi genotoksik hasarın belirlenmesinde yaygın kullanılan bir test ve araştırma yöntemidir. Bu test kolay değerlendirilebilen görsel bir incelemeye dayanır. Mikronükleus içeren hücreler kolay incelenebilen ve diğer hücrelerden kolay ayırt edilebilen hücrelerdir. Mikronükleuslar hücrelerde test edilen kimyasal bileşiğin az miktarlarında bile maruziyet sonrası oluşabilmektedir. Eğer kimyasal madde genotoksik etkili ise bu şekilde kolaylıkla değerlendirilebilmektedir. Bu anlamda diğer testlere göre büyük bir avantaj sağlar. Ayrıca diğer bir avantajı da ucuz maliyete sahip olmasıdır. Bu durum mikronükleus testinin tercih edilebilir diğer bir özelliğidir. Mikronükleuslar oluşurken tüm kromozom kayıplarına bağlı olarak oluştukları için *in vitro* mikronükleus testi klastojenlerin tespitinin yanı sıra anöjen ajanların tespitinde de kullanılmaktadır (Satar ve ark. 2002).

Aydın (2007) tarafından yapılan bazı çalışmalarda *in vitro* mikronükleus testi ile *in vitro* kromozom aberasyon testleri karşılaştırılmış, 57 bileşik üzerinden yapılan çalışmada 45 bileşik iki teste de uyumlu sonuçlar vermiştir. Çalışma sonucunda MN testinin CA testine bir alternatif olabileceği düşünölmüştür. Bu nedenle bütün dünyada rutin araştırmalarda ve geniş kapsamlı çalışmalarda kullanılabilir bir test olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna rağmen diğer testlerden de yararlanılmaktadır.

Pestisitlerin yaygın kullanılmaları ve insanlara yansımalarındaki yüksek risk ve oran nedeniyle genotoksisiteleri ilgi uyandırmaktadır. Bu konu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar genotoksik diye nitelendirilebilecek birçok pestisit türünün olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan bu çalışmalarda farklı genotoksik test metotlarının kullanılmıştır. Bunlar arasında Comet tekniği, CA testi, SCE testi ve MN yöntemi sık

kullanılanlar arasındadır. Pestisitlerle yapılan farklı yöntemlerdeki genotoksik çalışmalara literatürlerde fazlaca rastlanılmaktadır. Bu anlamda araştırmada kullanılan mikronükleus testi günümüzde halen oldukça geçerli bir araştırma yöntemi olarak geçerlidir.

Comet tekniği kullanılarak Castillo-Cadena ve ark'ları (2006) tarafından yapılan bir çalışmada çiçek yetiştiriciliği işinde çalışan işçilerde pestisitlerin neden olabileceği DNA hasarının tespiti araştırılmıştır. Araştırmada pestisit maruziyetine kalan 98 kişinin lenfositlerindeki DNA hasarı, 38 kişilik kontrol grubuna kıyaslandığında istatistiksel olarak DNA hasarı bakımından aralarında anlamlı bir fark ($p<0,001$) saptanmıştır. Benzer şekilde Comet tekniği kullanılarak Prabhavathy ve ark'ları (2006) tarafından yapılan başka bir pestisit maruziyeti sonrası muhtemel genotoksik hasar çalışılmıştır. Bu çalışmada Propenofos isimli organofosfat maruziyetine kalanların DNA hasarları (comet kuyruk uzunlukları) kontrol grubuna kıyasla aralarında tespit edilen fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) bulunmuştur.

Pestisit genotoksitesisi ile ilgili çalışmalar kromozom aberasyon ve kardeş kromatit değişim tesleri ile de yapılmıştır. Portekiz'de Costa ve ark'ları (2006) tarafından çiftçilikle uğraşan ve pestisit kullanan kişilerin oluşturduğu bir grup üzerinde sitogenetik hasarın belirlenmesi amaçlı SCE ve CA yöntemleri uygulanmış, kontrol grubu olarak seçilen aynı bölgede yaşayan diğer insanlara göre SCE testi istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık sunarken ($p<0,005$) CA testinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Karma pestisit kullanımına bağlı genotoksik hasarın belirlenmesinde SCE yönteminin uygulandığı pamuk tarlasında çalışan ve düzenli pestisit uygulayan 61 kişinin periferik kan lenfositlerinde SCE sıklığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek çıktığı gözlemlenmiştir (Rupa ve ark. 1991).

Meksika'da 7 yıl boyunca değişik pestisitlere maruz kalmış 25 kadın ve 45 erkek üzerinde yapılan çalışmada genotoksik hasarlar periferik kan lenfositlerinde SCE yöntemi ile ve yanak mukozasında MN test yöntemi ile saptanmaya çalışılmıştır. Pestisite maruz kalanlardan elde edilen sonuçlar kontrol grubu olarak seçilen pestisitlere maruz kalmayan 70 kişiyle kıyaslanmıştır. Bu durumda yaş, cinsiyet, alkol ve sigara kullanımı genotoksik hasar üzerinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak pestisit

maruziyeti ile SCE üzerindeki etkileri arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (Martinez-Valenzuela ve ark. 2009).

Son dönemlerde yapılan bir çalışmada tarımsal faaliyetlerde sıklıkla kullanılan organofosfat türevi olan Chlorthiophos ve Anilofos pestisitlerinin sitogenetik ve genotoksik etkileri periferik kan kültüründe çalışılmıştır. Araştırma sonucunda Chlorthiophos'un 25, 50, 100 ve 200 µg/ml dozlarında ve 24-48 saatlik uygulama sonrası SCE'yi artırmadığı, fakat 200 µg/ml dozundaki uygulamada CA'yı arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca 200 µg/ml dozda yapılan uygulama sonrası MN sayısını arttırmıştır. Anilofos ise her doz ve uygulama süresinde ne MN'yi ne de SCE'yi arttırmıştır, fakat 24 saatlik 50, 100 ve 200 µg/ml'lik dozları CA'yı arttırdığı gözlenmiştir (Akyıl 2012). Bu sonuçlar yöntemlerin genotoksisiteye karşı farklı duyarlılık sergileyebileceklerini göstermektedir.

Organik fosforlu insektisitlerin genotoksisitesini saptamada diğer testlerin yanında MN yöntemi de kullanılmıştır. MN yöntemi ile birçok genotoksisite testleri yapılmıştır. Bir OF olan Fosfamidon ile yapılan bir çalışmada farklı dozlarda farelere 24 ve 48 saatlik i.p. enjeksiyonu sonrası bileşiğin kontrol grubuna göre MN sayılarına bakılmış ve sonuçlar çıkarılmıştır. Çalışmada 3 mg/kg ve 5 mg/kg dozlarında Fosfamidon uygulanan grupta 24 saat sonrası MN sayısı 1000 PCE üzerinden bakıldığında sırasıyla 4 ve 6 çıkarken, 3 mg/kg dozda Fosfamidon uygulanan grupta 48 saat sonrası 1000 PCE üzerinden MN sayısı 3 çıkmıştır. Elde edilen sonuçlar kontrol grubuyla kıyaslandığında 24 saat sonrası veriler $p < 0,01$ ve 48 saat sonrası veriler $p < 0,05$ aralığında istatistiksel yönden önemli bir fark göstermiştir (Cicchetti ve ark 1999).

Organofosfat pestisitlerle meydana gelen zehirlenme tanısı konulan 20 bayan ve 20 erkek hasta üzerinde sitotoksik ve genotoksik aktivite araştırmayla tespit edilmiştir. Hastaların zehirlenme dönemleri ve tedavi sonrası alınan kanlarda yapılan MN, SCE ve CA testlerinde sonuçlar CA sayısının arttığını gösterirken, SCE ve MN sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (Satar ve ark. 2009).

Yukarıda sözü edilen çalışmalarda genel olarak organofosfat pestisitlerin de dâhil olduğu pestisit kullanımı sonrası veya pestisit zehirlenmeleri sonrası oluşan genotoksik ve sitotoksik hasarı belirlemek için yapılan Comet testi, MN, SCE ve CA

testlerinde elde edilen sonuçlar kontrol gruplarıyla kıyaslandığında aralarında anlamlı ve kayda değer artışların görülmektedir. Bu sonuçlar pestisitlerin genotoksik ve sitotoksik bileşikler olduğunu göstermektedir. Literatür taramalarında Malation ve Dimetoat'la yapılmış çalışmalara bakıldığında ilgili pestisitlerle alakalı birçok benzer çalışma görülebilmektedir.

Yapılan başka bir çalışmada Malation'un genotoksik potansiyeli CA ve DNA hasarı bakımından araştırılmıştır. Bunun için Sprague-Dawley cinsi ratların periferik kan ve kemik iliği kullanılmış ve hayvanlar 4 gruba ayrılmıştır. Malation ratlara intraperitoneal olarak enjekte edilmiş ve 2, 5, 5, 10 ve 20 mg/kg olmak üzere 4 farklı dozu ratlarda çalışılmıştır. Araştırma sonucunda Malation'un uygulanan ratlarda DNA hasarı yüzdesini ve yapısal kromozom anomaliliklerini önemli derecede artırdığı görülmüştür (Akyıl D. 2012).

Malation'un lenfositlerin dışında fibroblastlarda da gen toksisitesi yaptığı belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada Malation'un insan fetal fibroblastlarında SCE sıklığı üzerine etkileri araştırılmış, Malation bir ve iki defa fibroblastlara uygulanmıştır. Sonuçlara göre bir defa 40 µg/ml konsantrasyonunda maruz bırakılan hücrelerde SCE sıklığında önemli bir artış kaydedilmiştir. İki defa 20 µg/ml dozda uygulama yapılan hücrelerde ise SCE'de çok yüksek derecede bir artış olduğu tespit edilmiştir (Nicholas ve ark. 1979). Bu araştırma genotoksikitenin araştırılmasında farklı doku hücrelerinden yararlanılabileceği görülmektedir.

Malation'un genotoksik etkileri pestisitlere maruz kalan işçiler üzerinde de araştırılmıştır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada organik fosforlu insektisitlerden olan Malation'a maruz kalan 40 işçi denek olarak kullanılmıştır. Seçilen bu işçilere CA testi uygulanmıştır. Elde edilen CA sonuçları kontrol grubu olarak pestisitlerle ilgisi olmayan 30 işçiye uygulanan test sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Bu bulgulara göre pestisitlere maruz kalan kişilerde CA'da önemli derecede artış gözlemlenmiştir. Araştırmada kromozom kırıklarına, izokromatid kırıklara, kromatid gaplara ve halka kromozomlara rastlanmıştır. Veriler ışığında Malation'un mutajenik aktiviteye sahip olduğunu düşündürmektedir (Omari 2009). Bu bulguların çevre sağlığı açısından dikkate alınacak derecede değerli olduğu ileri sürülebilir.

Malation'nun genotoksitesini üzerine *in vitro* olarak lenfositler üzerinde araştırmalar yapılmış ve ciddi sonuçlar elde edilmiştir. Malation 4 farklı konsantrasyonlarında 0,02, 0,2, 2 ve 20 µg/ml kan olacak ve her doz için 24 ve 48 saat uygulama süreleri olacak şeklinde deneyler planlanmıştır. Araştırmada tutulan her grupta SCE ve CA sıklığı tespit edilerek değerlendirilmeye çalışılmıştır. Sonuç olarak Malation; SCE ve CA testlerinde doza bağlı olarak bir artış göstermiştir (Balaji ve Sasikala 1993). Bu araştırma Malation'un doza bağlı olarak genotoksik bir etkisinin olduğunu göstermektedir.

Malation'un genotoksitesinin bakılması hedeflenen bir çalışmada evre sularına Malation'un farklı dozlardaki konsantrasyonları hazırlanarak ilave edilmiştir. Sularda bulunan balıklardan 24. ve 48. saatler sonrasında kan alınarak MN sayıları sayılmış sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle kıyaslanmıştır. Çalışmada *Orthrias angorae* türü balıklar kullanılmıştır. Mikronükleus testi için akvaryumlara sırasıyla 1 ppm/L, 2 ppm/L, 3 ppm/L, 5 ppm/L ve 7 ppm/L yoğunluklarda olacak şekilde Malation ilave edilmiştir. Sonra 24. ve 48. saatlerde akvaryumda bulunan balıklardan alınan kanlarda 1000 PCE sayılarak MNPCE'lerin oranları çıkarılmıştır. Çalışma sonunda bulunan değerler artan Malation dozları ile MNPCE sayısının aynı oranda arttığı, 1 ppm/L ve 2 ppm/L konsantrasyonlarındaki Malation dozlarının oluşturduğu MNPCE sayılarının negatif kontrol grubuna göre belirgin bir istatistiksel fark oluşturmazken, 3 ppm/L ve 5 ppm/L lik konsantrasyonlar elde edilen MNPCE sayıları kontrol grubuna göre $p < 0,05$ ve 7 ppm/L lik konsantrasyon ise $p < 0,001$ gibi bir aralıkta istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşturduğu tespit edilmiştir (Gürdegin 2006). Bu sonuç Malation'un yalnız memeliler açısından değil aynı zamanda evre açısından da genotoksite riski oluşturması nedeniyle önemli bir kirletici olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Özellikle sulardaki kalıntılara dikkat edilmelidir. Ayrıca topraktan da sulara yansiyabilecekleri unutulmamalıdır.

Yapılan başka bir çalışmada belirlenen 4 pestisitinin sitogenetik etkileri araştırılmıştır. Bu pestisitlerden biri de bu çalışmada kullanılan organik fosforlu insektisit türevi Dimetoat'tır. Araştırma sonunda bu pestisitinin doza bağlı olarak insan lenfositlerinde *in vitro* koşullarda SCE frekansını yükselttiği tespit edilmiştir (Dolara ve ark. 1992). Bu durum Malation gibi Dimetoat'ın da genotoksik etki oluşturması bakımından önemli bir pestisit olduğunu ortaya koymaktadır.

Organofosfat pestisitlerle yapılan başka bir çalışmada Dimetoat'ın da içinde bulunduğu karma pestisit kullanımı sonrası sitotoksik ve genotoksik etkiler oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır. Çalışmada OF'lerin sitotoksik etkileri insan lenfositlerinde SCE testi yapılarak ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre Dimetoat'ın SCE frekansını yükselttiği görülmüştür (Gomez-Arroyo ve ark. 1987). Dimetoat'ın genotoksik ve sitotoksik etkileri bu araştırmalarla ortaya konmuştur. Dimetoat'ın Malation'a göre suda çözünürlüğünün daha yüksek olması çevre canlıları üzerine daha toksik olabileceği fikrini doğurmaktadır.

Dimetoat'la yapılan başka bir çalışmada askorbik asitin Dimetoat tarafından oluşturulan kemik iliği hücrelerindeki genotoksisite üzerine koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada 3'lü gruplara ayrılan 25 gram ağırlığındaki dişi farelere kontrol grubu olarak distile su, çalışma grubuna ise Dimetoat dimetilsülfoksit içerisinde çözdürülerek (%1 DMSO) 150 mg/kg dozda oral yolla 24 saatlik periyotlarda 2 ayrı doza bölünerek verilmiştir. Fareler son dozlamadan 6 saat sonra öldürülerek kemik iliği hücrelerinde mikronükleus yöntemi ile MNPCE sayıları çıkarılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda 6000 PCE üzerinden bakılan örneklerde Dimetoat verilen farelerde 64 ve kontrol grubu farelerde ise 18 adet MNPCE sayılmıştır. Deney grubundan elde edilen sayılar kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli bir fark ($p < 0.05$) bulunmuştur. Bu sonuçlara göre Dimetoat'ın genotoksik etkili bir bileşik olduğunu göstermektedir. Ayrıca askorbik asitin Dimetoat'ın oluşturduğu genotoksisite üzerine değişen derecelerde koruyuculuk gösterdiği saptanmıştır (Geetanjali ve ark. 1993).

Bu araştırmada Malation ve Dimetoat'ın genotoksik etkilerinin tespit edilmesi için swiss albino *mus musculus* türü fareler kullanılmıştır. Erkek ve yaklaşık 20 g ağırlığında olan farelere 14 gün süreyle distile su ile *ad libitum* olarak ilaçlar verilmiştir. İlaçların çözünürlükleri de göz önüne alınarak Malation'un akut toksisitesinin % 1'i Dimetoat'ın da % 10'u olacak şekilde seçilen dozlar (0,2 mg/fare, 10 mg/kg) hayvanlarda kullanılmıştır. Kemik iliğinde MN testi ile MNPCE oranları tespit edilerek negatif ve pozitif kontrol grubuyla sonuçlar karşılaştırılmıştır. Deney sonucunda negatif kontrol grubunda ortalama MNCPE sayısı 3,6, pozitif kontrol grubunda 67,6, Malation verilen grupta 28,1 ve Dimetoat verilen grupta 28,1 olarak tespit edilmiştir. SPSS 16 paket programı kullanılarak sonuçlar istatistiksel açıdan

yorumlanmıştır. Malathion'un negatif kontrole kıyaslandığında mikronükleus sayısını belirli bir şekilde arttırmıştır. Ancak pozitif kontrol grubuna göre Malation daha düşük sayıda mikronükleus oluşumuna sebep olmuştur. Aynı durum Dimetoat uygulanan grup için de geçerlidir. Bunlar istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,001$). Aynı şekilde Malation verilen gruptan elde edilen sonuçlar Dimetoat verilen gruptan elde edilen sonuçlar ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,001$).

Bu sonuçlar ışığında Malation ve Dimetoat'ın uygulanan dozlarda genotoksite oluşturduğu söylenebilir. Bu nedenle her iki madde genotoksik etkili olma şüphesini doğurmuştur. Bu araştırma sonuçları yukarıda sıralanan çalışmaların sonuçlarıyla belirgin bir paralellik arz etmektedir. Bu da Malation ve Dimetoat'ın genotoksik etkili oldukları şüphesini kuvvetlendirmektedir. Araştırmada pozitif kontrol grubu Mitomisin C ile oluşturulmuştur. Bu pozitif kontrol grubu deney şartlarının doğrulanması açısından büyük bir anlam taşımaktadır.

Bu çalışma boyunca hiçbir hayvanda ölüm gözlenmemiştir. Sıvı tüketimleri beklenen miktarlarda olduğu günlük ölçümlerle saptanmıştır. Yine çalışmada organofosfat zehirlenmelerinde görülen klinik olaylara rastlanmamış farelerin rutin davranışlarını sergilediği gözlemlenmiştir. Bu bulgular verilen dozların hayvanlarda herhangi bir zehirlenmeye neden olmadan genotoksik etkiler doğurabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak Malation ve Dimetoat farelere 10 mg/kg dozda içme suyuyla 14 gün süreyle verildiğinde genotoksik etkilere neden olduğu ileri sürülebilir. Genotoksisitenin çevre açısından önemi dikkate alındığında elde edilen araştırma sonuçlarının kullanıcılara ilaçlamaların planlanmasında hizmet sunması açısından önemli bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Bu durum ilaçların zehirlenmeye neden olmayacak dozlarının çok altında ortaya çıktığı unutulmamalıdır. İlaçlar zehirlenme belirtilerine neden olmadan genotoksik etkiler oluşturabilmektedirler. Bu yüzden ilaçların uygulama dozlarına ve ilaçlamaların çevreye zarar vermeyecek şekilde yapılmasına azami özen gösterilmesi önerilmektedir.

5.KAYNAKLAR

1. Aksu P.: Akrilamidin *in vivo* ve *in vitro* Genotoksitesisi Üzerine Fenolik Bileşiklerden Pelargonidin ve Gallik Asidin Etkileri. Kafkas Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kars, 2012.
2. Akyıl D.: Bazı Pestisitlerin Mutajenite ve Genotoksitesilerinin Belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Afyon, 2012.
3. Al-Sabti M, Metcalfe CD.: Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutat Res*, 343:121-135.1995.
4. Amdur MO, Doull J, Klaassen C.: Casarett and Doull'S Toxicology the Basic Science of Poisons 4. Baskı, 3.Bölüm. Toxic Effect of Pesticite. 234-236. 2014.
5. Amy J, McMichael-Maria K, Hordinsky C.: Hair and Scalp Diseases: Medical, Surgical, and Cosmetic Treatments. Informa Health Care.289.2008.
6. Arslan P.: Çamaşır suyu ve bulaşık deterjanının Lepistes balıkları üzerindeki genotoksik etkilerinin mikronükleus testi kullanılarak araştırılması. *Makufebed*, 4,29-37,2011.
7. Ashani Y, Shapiro S, Levy D, Wolfe AD, Doctor BP.: Butyrylcholinesterase and Acetylcholinesterase Prophylaxis against Soman poisoning in mice. *Biochem Pharmacol*, 41:37-41, 1991.
8. Aydın S.: Flunixin Meglumine'in Genotoksitesisinin *in vitro* ve *in vivo* Mikronükleus Testleri ile Değerlendirilmesi. İstanbul Üniv, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2007.
9. Balaji M, Sasikala K.:Cytogenetic effect of Malathion in *in vitro* culture of human peripheral blood. *Mutation Research Letters*, 301(1): 13-17,1993.
10. Bavunoğlu I, Balta M, Tanrıkulu E.: Metropollerde Düşünülme Tanı: Organofosfat Zehirlenmesi. *JAEMCR*, 3(2): 5-52, 2012.
11. Bedir A, Bilgici B, Yurdakul Z, Gürses BŞ, Alvur M.: The comparison of mikro FADU and comet methods in DNA damage analysis. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 97-103,2004.
12. Bekem H.: Dimethoat'ın Hamile Sıçanların Fetusleri Üzerine Teratojenik Etkileri. Eskişehir Osmangazi Üniv, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 1995.
13. Bodur E, Çokuğraş N.: Benzoyilkolin, İndol-3-asetik Asit ve insan serum Butirilkolinesterazı etkileşimleri. *Turk J Biochem*, 31(4):182-186,2006.

14. Bonner MR, Coble J, Blair A.: Malathion exposure and the incidence of cancer in the agricultural health study. *AJE*,166(9): 1023–1034,2007.
15. Castillo-Cadena J, Tenorio-Vieyra LE, Quintana-Carabia AI, Garcia-Fabila MM, Ramirez-San Juan E, Madrigal-Bujaidar E. :Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides. *J Biomed Biotech*, 1-12,2006.
16. Cicchetti R, Bari M, Argentin G.: Induction of micronuclei in bone marrow by two pesticides and their differentiation with CREST staining: an in vivo study in mice. *Mutation Research*, 439: 239–248,1999.
17. Costa C, Teixeira JP, Silva S, Roma-Torres J, Coelho P, Gaspar J, Alves M, Laffon B, Rueff J, Mayan O.: Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis*,21(5):343-350,2006.
18. Demirdöğen-Can B.: Organofosfatlı pestisit zehirlenmeleri ve serum Paraoksonaz 1 (PON1) enziminin organofosfat metabolizmasındaki rolü. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 67(2):97-112,2010.
19. Demirel S, Zamani AG.: Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg* ,12(3):123-127,2002.
20. Dinçel A, Demli F, Uzun R, Alatan F.: Pestisit zehirlenme şüphesi ile gıda toksikolojisi laboratuvarına gönderilen numunelerin GC-MS ile analizi. *Türk Hij Deney Biyol Derg*, 65(1):7-15, Ankara, 2008.
21. Doğan A.: Toksikoloji. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Kars, 2012.
22. Doğan D.: Dimethoate Uygulamasının *Oncorhynchus Mykiss*'te Biyokimyasal ve Hematolojik Parametrelere Etkileri ile DNA Hasarının ve Endokrin Bozucu Potansiyelinin Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Gaziantep,2011.
23. Dolara P, Salvadori M, Capobianco T, Torricelli F.: Sister chromatid exchanges in human lymphocytes inducedby Dimethoate, Omethoate, Deltamethrin, Benomyl and their mixture. *Mutation Research*, 283: 113-118,1992.
24. Dökmeci İ.: Toksikoloji Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Nobel tıp kitapevi. 3 baskı, İstanbul, 2001.
25. Edwards D.: Reregistration Eligibility Decision for Malathion. US Environmental Protection Agency - Prevention, Pesticides and Toxic Substances EPA 738-R-06-030 *Academicjournal*: 9,2006.

26. Erdağı D.: Malatyon Verilen Farelerde Oksidasyon Parametreleri Üzerine *Allium czelghauricum* (Liliaceae), *Lathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Onosma nigricaula* (Boraginaceae)'den Elde Edilen Ekstraktların Etkileri. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kars, 2012.
27. French M, Morley AA.:Solution to the kinetic problem in the micronucleus assay. *J.Cytobios*, 43:233-246,1985.
28. Gallo MA, Lawryk NJ.: Organic phosphorus pesticides. *Handbook of pesticide toxicology: Classes of pesticides*, (2):917–1123, 1991.
29. Garriott ML, Phelps JB, Hoffman WP.: A protocol for the in vitro micronucleus test: Contributions to the development of a protocol suitable for regulatory submissions from an examination of 16 chemicals with different mechanisms of action and different levels of activity. *Mutat Res*,517: 123 134, 2002.
30. Geetanjali D, Rita P, Reddy PP.: Effect Of Ascorbic Acid in The Detoxification of The Insecticide Dimethoate in The Bone Marrow Erythrocytes of Mice. *Fd Chem Toxic*, 435-437, 1993.
31. Gomez-Arroyo S, Oriega-Aldana D, Arez-Rodriguez D, Illalobos-Pietrini R.: Sister chromatid exchanges induced by the Phoxim and Methyl azinfos in cultured human lymphocytes. *Contamination Ambiental*, 3: 63-70,1987.
32. Gözkeser E, Yüksel S, Atalay H.: Geç dönem Pralidoksim uygulamasına yanıt veren organofosfat zehirlenmesi olgusu. *Pamukkale Tıp Derg*, 6(1): 26-29, 2013.
33. Gülalp B.: Organofosfat Zehirlenmelerinde Akut Pankreatit. Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bitirme Tezi, Adana, 2002.
34. Güler Ç, Çobanoğlu Z.: Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. 1. Basım. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları, 8-37, Ankara,1997.
35. Gürdegin B.: Malathion'un Çöpçü Balığındaki (*Orthrias angorae*, Steindachner 1897) Mikronükleus Oranına Etkisi. Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kars, 2006.
36. Güven A.: Asetilkolinesterazlar'ın önemi ve inhibitörleri. *Kafkas Üniv.vet.fak. derg.*, 6(1-2):145-151,2000.
37. Güvensoy G.: Pestisitlerin Topraktaki Davranışları ve Su Ortamına Etkileri. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2000.

38. Hancock DB, Martin ER, Mayhew GM, Stajich JM, Jewett R, Stacy MA.: Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. *BMC Neurology*,(8):6-8, 2008.
39. Heddle JA: A rapid in vivo test for cromosomal damage. *J.Mutat. Res*,18:187-190, 1973.
40. Heddle E.: The Induction of Micronuclei as a measure of Genotoxicity. *Mutat. Res.*, 123: 61-118.1983.
41. İstanbulluoğlu H, Oğur R, Güleç M.: Pestisit maruziyeti ve nörolojik bozukluklar. *Genel Tıp Derg*,19(4): 187-195, 2009.
42. Karaduman T.: Malationun Açık Arazide Yaşayan Cüce Kertenkele (*Lacerta parva*, Boulenger 1887) Üzerine Etkileri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 1998.
43. Karahan N, Yanturalı S, Kalkan Ş.: Organofosfat ve karbamat içeren insektisid zehirlenmelerinde serum Asetilkolinesteraz düzeyleri ile klinik seyir ve mortalite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. *Tr J Emerg Med.*, 8(3): 121-126,2008.
44. Kaya S, Pirinçi İ, Bilgili A.: Pestisitler. Veteriner hekimliğinde toksikoloji. Medisan Yayınları, 2. Baskı, Ankara, 385-401, 2002.
45. Kidd H. James DR.: Organophosphates. Eds. *The Agrochemicals Handbook*, Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, (3)5-14,1991.
46. Klug WS, Cummings MR.: *Concepts of Genetic*. Genetik Kavramlar, 6 th Edition, Çeviri Editörü Prof. Dr. Cihan Öner, Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 2002.
47. Kozacı N.: Organofosfat Zehirlenmelerinde Pralidoksimin Farklı Doz Uygulama Şekillerinin Etkinliği ve Yan Etkilerinin Klinik Karşılaştırılması. Çukurova Üniversitesi, Acil Tıp Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Adana, 2006.
48. Kwong TC.: Organophosphate pesticides. *Ther Drug Monit Biochemistry and clinical toxicology*,24:144-149,2002.
49. Maroni M, Colosio C, Ferioli A, Fait A.: Introduction. *Toxicology*, 143(1):5-118.2000.
50. Martínez-Valenzuela C, Gómez-Arroyo S, Villalobos-Pietrini R, Waliszewski S, Calderón-Segura ME, Félix-Gastélum R. Álvarez-Torres A.: Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. *Environment International*, 35: 1155-1159,2009.

51. Nicholas AH, Vienne M. Van den Berghe H.: Induction of sister chromatid exchanges in cultured human cells by an organophosphorous insecticide: Malathion. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 67(2): 167-172,1979.
52. Omari YI.: Cytogenetic study on workmen occupationally exposed to pesticides. *BJMG*, 12(1): 51-59, 2009.
53. Özkaya G, Çeliker A, Koçer GB.: İnektisit zehirlenmeleri ve Türkiye'deki durumun değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg.*, 70(2): 75-102, 2013.
54. Özmen G.: Malation'un Albino Sıçanlarda (*Rattus rattus*) Bazı Hormonlar ve Bu Hormonların Salgılandığı Dokular Üzerine Etkisi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 1991.
55. Prabhavathy DG, Pasha SA, Jamil K.: Cytotoxicity and genotoxicity induced by the pesticide prefenofos on cultured human peripheral blood lymphocytes. *Drug Chem Toxicol*, 29 (3):313-322,2006.
56. Reed NR, Rubin AL.: Malathion. *Encyclopedia of Toxicology* ,3rd Edition, p:133-137,2014.
57. Rupa DS, Reddy PP, Sreemannarayana K, Reddi OS.: Frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of male pesticide applicators. *Environ Mol Mutagen*, 18(2):136-138,1991.
58. Samanta S, Dey P: Micronucleus and its applications. *Diagn Cytopathol*, 40:84-90,2012.
59. Satar S, Kayraldız A, Rencüzoğulları E, Karakoç E, Sebe A, Avcı A, Yeşilağaç H, Topaktaş T.: The genotoxicity and cytotoxicity among patients diagnosed with organophosphate poisoning. *Bratislavske Lekarske Listy*, 110(8): 476-479,2009.
60. Schmid W.: The micronucleus test. *J. Mutat. Res.*, 31:9-15, 1975.
61. Sivrikaya N.: Değirmendere Havzasında Pestisit Kirliliğinin Araştırılması.Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon, 2006.
62. Şahin AH.: Asetilkolin, Kolinesterazlar ve Alzheimer Hastalığı. *Demans dergisi*,2:69-73,2002.
63. Şekeroğlu V, Atlı-Şekeroğlu Z.: Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 68(4): 241-52,2011.
64. TerryJr. AV.: Functional consequences of repeated organophosphate exposure: Potential non-cholinergic mechanisms. *Pharmacology & Therapeutics*, 134 :355–365,2012.

65. Tian F, Liu W, Guo G, Qiang Z, Zhang C.: Kinetics and mechanism of Dimethoate chlorination during drinking water treatment. *Chemosphere*, 103 :181–187, 2014.
66. United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. *Organophosphorus Insecticides: A General Introduction*. Environmental Health Criteria 63, Geneva,1986.
67. Üstüner D.: Kromozom kırıkları ve Mikronükleus -apoptoz bağlantısı. *TÜBAV Bilim*, 4:(1) 64-69, 2011.
68. Vural N.: Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:53, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara,2005.
69. Yılayaz Ö.: Parathion methyl(insektisit)'in *Barbus rajanorum mystaceus* üzerindeki genotoksik etkisinin eritrosit mikronükleus testi ile belirlenmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 2005.
70. Yüzüğüllü M.: Akut Organofosfat Zehirlenmelerinde Kardiyak ve Nöromusküler Etkilenim. Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Adana, 2012.

6.ÖZGEÇMİŞ

Kars'ta 1986 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kars'ta tamamladı.2004 yılında girdiği Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 2009 yılında Eczacı olarak mezun oldu. Kars ilinde 2010 yılında serbest eczacı olarak göreve başladı. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda 2011 yılında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen Kars'ta serbest eczacılık mesleğini devam ettirmektedir.