

İçel ilinde tarımsal kesimde çalışan kişilerin plazmalarında kolinesteraz aktivite değişiminin araştırılması

Oya ZEREN* Nurten DİKMEN** Halil KUMBUR* Safiye TAGA**

Summary

An investigation of the cholinesterase activity in plasma of workers who working at the agriculture in İçel Province (Turkey)

In İçel province polyculture farming is done. Ecological and climatic conditions are suitable for pests and diseases spreading. These for, too much pesticide is used in İçel. Especially in the greenhouses pesticides are used at high doses and carelessly. On the other hand, pesticide sellers conserve the pesticides in bad conditions. For these reason farmers, pesticide sellers and consumers face a serious toxication problems.

In these study, investigated the side effects of insecticides on farmers, consumers and pesticide sellers by measured of Cholinesterase enzyme. As a result, in 103 person who exposed to pesticide Butrylcholinesterase Enzyme (BChE) activity established 1.34 ± 0.71 U/ml, while in control group BChE activity established 1.77 ± 0.41 U/ml. Inhibition ratio of ChE has been established as 24.71%. For these reason the workers who had been worked in agriculture face a serious toxication risk.

Key words: Cholinesterase enzyme, plasma, pesticide residue, Turkey

Anahtar sözcükler: Kolinesteraz enzimi, plazma, Türkiye

* ME.Ü., Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Mersin

** Ç.Ü., Tıp Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Adana

Alınış (Received): 15. 12. 1997

Giriş

Polikültür tarımın yapılması, iklim ve diğer ekolojik özelliklerin bitkisel ürünlerde hastalık ve zararlıların gelişmesine uygun olması nedeniyle, İçel ilinde yoğun tarım ilacı kullanılmaktadır. Türkiye'de kullanılan 33900 ton tarım ilacının yaklaşık % 16'sı İçel ilinde tüketilmektedir (Zeren, 1994). Seracılığın yaygın olması nedeniyle bu ilimizde tarımsal ilaç uygulamaları hemen hemen yıl boyunca sürmektedir. Sera ürünlerinin yüksek gelir getirmesi nedeniyle çiftçiler 7-10 gün aralıklarla ürünlerini ilaçlamakta, gerek ilaçlama, gerekse ürünlerin hasat edilmesi, toplanması, sandıklara dizilmesi sırasında ilaç kalıntıları dolayısıyla da zehirlenme tehlikesi ile karşı karşıya kalmaktadır.

Türkiye'de ruhsatlı olan 1375 adet preparat halindeki pestisitlerin % 41.38'ini insektisitler oluşturmaktadır (Zeren, 1997). Ruhsatlı olan bu insektisitlerin arasında % 60.96'lık bir pay ile organik fosforlar önemli yer tutmaktadır (Cetvel 1).

Cetvel 1. Türkiye'de 31.01.1996 tarihine kadar ruhsatlandırılmış olan insektisitlerin gruplarına göre sayısal dağılım ve oranları (Yücer, 1996)

Grubu	Etkili Madde Sayısı	Preparat Sayısı	Tüm İsektisitler İçindeki Oranı (%)
Klorluhidrokarbonlar	1	44	8.10
Organik fosforlar	52	331	60.96
Karbamatlı bileşikler	19	72	13.26
Sentetik piretroitler	19	96	17.68
TOPLAM	91	543	

İçel ilinde en fazla kullanılan organik fosforlu insektisitler, Chropyrifos, Diazinon, Dichlorvos, Dimethoate, Malathion, Methamidophos, Methidathion, Monocrotophos ve Parathion-methyl'dir (Anonymous, 1996). Organik fosforlu bileşikler, solunum ve mide-barsak sistemi yolu ile absorbe olabildikleri gibi, deri yolu ile de önemli derecede absorbe olabilirler. Organik fosforlu insektisitlerin en önemli özelliği, sinir sisteminin çalışmasında rol oynayan kolinesteraz enziminin (ChE) aktivitesini inhibe ederek, geri dönüşü olmayan akut veya kronik zehirlenme meydana getirmesidir (Vural, 1996). Bu nedenle, organik fosforlu ilaç zehirlenmeleri kandaki kolinesteraz düzeyi ölçülerek ortaya çıkabilir. Normalin %20-25 altında olan enzim düzeylerinde solunum zorlukları, öksürük, burun akması, göğüste daralma, gözde yanma ve sulanma, uykusuzluk, dikkat dağılması gibi belirtiler meydana gelir.

Organik fosforlu ve karbamatlı bileşikler, halen endüstri, tarım ve ev zararlılarına karşı yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu maddelerle zehirlenmeler asetilkolin (ACh) inhibisyonu tarafından meydana getirilir ve klinik semptomlar

eritrosit veya plazma kolinesteraz aktivitesinin inhibisyonunun ölçülmesi ile belirlenir (Marrs, 1993). Central ve periferel reseptör bölgelerinden salınan bir nörotransmitter olarak iş gören ACh, fizyolojik olarak önemli olup, sinir iletimini ve kas kontraksiyonunu başlatır. İmpuls iletilmesine aracılık ettikten sonra asetilkolinesteraz (AChE) tarafından hidroliz edilir (Taga ve Dikmen, 1997). İnsan ve birçok omurgalıda mevcut olan kolinesteraz enzimleri, başta asetilkolin'in asetik asit ve kolin'e dönüştürülmesi olmak üzere, kolin esterlerinin hidrolizinden sorumludurlar. Serumdaki ChE, karaciğer hastalıklarının önemli bir belirleyicisidir (Yao, 1983). Çalışmalar, kolinesteraz enzimlerinin birden fazla tipi olduğunu; bunların moleküler yapı ve enzimolojik özellikleri yönünden farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (Cetvel 2).

Cetvel 2. İnsan dokularındaki kolinesteraz enzimleri (Taga ve Dikmen, 1997'den).

Enzimin adı	Kodlandığı genin yeri	Bulunduğu yer	Görevi
Asetilkolinesteraz (AChE)	Kromozom 7q22	Eritrosit, akciğer, dalak, sinir hücresi uçları ve beyin gri maddesi	Sinir iletimini ve/veya kas kontraksiyonunu başlatan ACh'nin impuls iletiminden sonra yıkımından sorumludur.
Butirilkoliesteraz (BChE)	Kromozom 3q26	Pankreas, kalp, beyin ak maddesi, en fazla plazma ve karaciğer	Fonksiyonu tam olarak anlaşılmamıştır. Myorelaksan olarak kullanılan süksinilkolin'in yıkımından sorumludur.

Organik fosforlu bileşikler, her iki tip kolinesteraz enziminin de inhibitörüdürler. Organik fosfor esterleri ve karbamatların etkilerinin ve maruziyetin değerlendirilmesinde kolinesterazlar ölçülür. Plazma BChE genellikle inhibitörlere daha fazla hassastır (Lotti, 1995). Bu bileşikler asetil kolin'in bağlanacağı anyonik yöreye kovalent bağ ile birleşerek geri dönüşümsüz olarak enzimleri etkilemektedirler. Bu olayda plazma kolinesterazı, eritrosit kolinesterazından daha fazla etkilenmektedir (Marrs, 1993; Bardin et al., 1994).

Materyal ve Metot

Çalışmamızda kontrol grubu olarak, sağlık sorunu bulunmayan değişik yaş ve cinsiyetteki 80 bireyden, EDTA'lı (Ethylenediaminetetraacetic acid) tüplere (2 mg/ml kan) sabah açlık venöz kan örnekleri alınmıştır. Pestisit analizi yapılacak olan örnekler için, 91 Erkek, 34 Kadın olmak üzere toplam 125 adet örnek alınmıştır. Alınan örneklerin 67'si sera ve bahçe tarımı ile bizzat uğraşmakta, 19'u Zirai İlaç Bayii, 20'si tüketici, 19'u ise bütün gün serada çalışan kadınlardan oluşmuştur. Alınan 125 adet kan örneğinin 22 adetinde hemoliz nedeniyle analiz

yapılamamıştır. Alınan kanlar soğuk zincir ile laboratuvara getirilmiş, aynı gün 1000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek eritrosit ve plazmalar ayrılmıştır. Çalışma sırasında önce plazma örnekleri oda sıcaklığına getirilip, pH 8.0 Na-K-fosfat tamponu ile 1/50 oranında seyreltikten sonra çalışılmıştır.

BChE aktivitesi tayini, Ellman yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır (Beutler, 1984; Van Sitterd, 1985). Bu yöntemde prensip, ACh'in, ChE tarafından hidrolizi sonucu elde edilen tiyokolin'in 5.5 ditiyobis 2-nitrobenzoikasit (DTNB) ile sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asite dönüşmesi ve bu renk şiddetinin Schimadzu-260 UV Spectrofotometrede 412 nm'de okunmasıdır.

Çalışmada şu yol izlenmiştir:

1. Kör tüpü hazırlandı (Tampon, Plazma, DTNB).
2. Total ChE aktivitesi için tüp hazırlandı (Tampon, Plazma, DTNB).

Önce 5 dakika süre ile 30°C'da ön inkübasyona konuldu. Sonra asetil tiyokolin substratı (ATC) eklendi, 5 dakika süre ile spektrofotometrede aktivite izlendi.

3. İnhibitörlü tüp hazırlandı (Tampon, Plazma, DTNB ve Etopropazin).

5 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra yine ATC konulup aktivite izlendi. Bu tüpün hazırlanmasının amacı plazmadaki BChE'yi inhibe ederek, bunun dışında benzer aktivitelerin (AChE eritrosit) ölçülmesidir. Gerçek BChE=TChE-3. Tüp aktivitesinden elde edilen değer olarak ölçülmüştür.

Sonuçlar ve Tartışma

Pestisite maruz kalan 103 örnekteki Plazma BChE aktivitesi 1.34 ± 0.71 U/ml olarak bulunmuştur (Cetvel 3). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kolinesteraz düzeylerinde % 24.71 oranında düşüş olduğu tesbit edilmiştir.

Cetvel 3. Pestisite maruz kalanlar ile kontrol grubunun ortalama plazma BChE düzeyleri (U/ml)

	Pestisite Maruz Kalan Kişiler	Normal Kişiler
X	1.338	1.777
SD	0.709	0.411
SE	0.070	0.046
Minimum	0.110	1.000
Maksimum	3.102	2.700
n	103	80

p<0.05

Plazma BChE aktivitesinin cinsiyete göre dağılımı ele alındığında BChE düzeyinin erkek ve kadın arasında bir farklılık göstermediği söylenebilir (Cetvel 4).

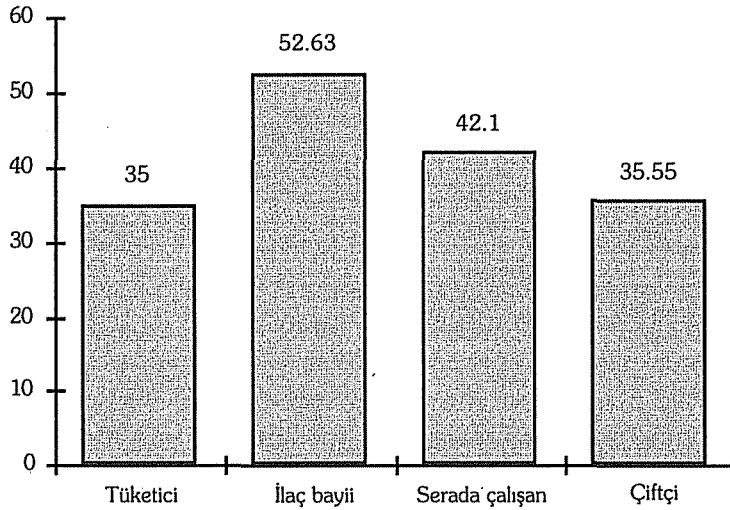
Cetvel 4. Plazma BChE aktivitesinin cinsiyete göre dağılımı (U/ml)

	Normal		Pestisit	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
X	1.787	1.766	1.406	1.277
SD	0.401	0.426	0.66914	0.76556
SE	0.063	0.067	0.10198	0.10418
n	40	40	48	55

p 0.819 önemsiz

p 0.895 önemsiz

Pestisit maruz kalanlar gruplarına göre ele alındığında ise, plazma BChE enzimi 1.000 U/ml'den düşük olan bireylerin oranı en fazla ilaç bayilerinde (% 52.63), ikinci derecede serada çalışanlarda (% 42.1), daha sonra çiftçilerde (% 35.55) ve tüketicilerde (% 35.0) olduğu görülmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Plazma BChE'i 1.000 U/ml'den daha düşük olan bireylerin guruplarına göre dağılımı (%).

Türkiye'de Zirai İlaç Bayilerinin çoğu son derece sağlıklı koşullarda çalışmaktadırlar. Bu nedenle önemli miktarda solunum yolu ile pestisit alınımı olmaktadır. Yeterli havalandırma ve saklama koşullarının olmadığı bu tip bayilerde zehirlenme riski oldukça fazladır.

Serada bizzat çalışan insanlar da doğrudan ilaca maruz kalmaktadır. Serada daha çok kadınlar çalışmakta, ürünleri hasat etme, sandığa dizme işlerinde, çapalama ve bakım işlerinde sürekli ilaçla temas halinde kalmaktadırlar. Özellikle

sera koşullarında kapalı ortamda fümigant etkili ilaçlarla zehirlenme önemli rol oynamaktadır. Böylece son ilaçlama ile hasat arasında geçmesi gereken süreye uyulmadan yapılan bu ürün toplama sonunda, ürünü bizzat toplayanda olduğu kadar, tüketicide de ilaç kalıntısı birikimi sözkonusu olmaktadır. Nitekim bu husus tüketicilerde de ilaç kalıntısının ortaya çıkması ile açıkça anlaşılmaktadır. Bellibaş and Tuğlular (1994), organik fosforlu pestisitlerle ilaçlanmış tütün tarlasında çalışan 94 tarım işçisinin serum kolinesteraz düzeylerini kolorimetrik ve kinetik olarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda çalışma süresi ile serum kolinesteraz enzim aktivitesi arasında negatif bir ilişki olduğunu, bu işçilerde organik fosforlu ve karbamatlı pestisitlere maruz kaldıkları süre arttıkça, serum kolinesteraz düzeyinde anlamlı düşüşler olduğu, bu bileşiklere tekrar tekrar maruz kalmanın pestisit zehirlenme riskini arttırdığını bildirmişlerdir.

Pestisite maruz kalan grupların maruziyet yıllarına göre karşılaştırmaları ile ilgili olarak yapılan varyans analizinde maruziyet süresinin enzim düzeyi üzerinde etkili olmadığı kanısına varılmıştır ($p>0.05$). Sigaranın enzim aktivitesi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizinde sigaranın ve cinsiyetinin enzim düzeyi üzerinde etkili olmadığı tesbit edilmiştir ($p>0.05$).

Özellik sistemik etkili organik fosforlu insektisitler bitki bünyesine geçmekte ve uzun süre parçalanmadan kalmaktadır. İçel İlinde Methamidophos gibi sistemik insektisitler, sebzeçilikte ruhsatlı olmadığı halde çiftçi tarafından kullanılmaktadır. Son ilaçlama ile hasat arasında geçmesi gereken süre pamukta 14 gün, fındık, meyve, şerbetçi otu ve tütünde en az 21 gün olan Methamidophos, aynı şekilde sebze 90 gün geçmesi gereken Fenamiphos (Anonymous, 1991), sistemik etkili organik fosforlu insektisitler olup, seralarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Oysa bu tip pestisitlerin üreticiler tarafından mutlaka kontrollü olarak kullanılması gerekmektedir. Kolinesteraz enzim aktivitesindeki değişimler yörede tarım ile uğraşan kişilerin pestisitlere maruz kaldığını göstermektedir. Gerek insan sağlığı, gerekse çevre kirliliği açısından son derece önemli olan bu tür pestisitlerin sık ve gereksiz kullanımından kaçınılmalı, tarım ilaçlarıyla doğrudan temasta olan ilaç bayileri ve tarım işçileri zaman zaman kan testlerinden geçirilerek kolinesteraz enzim düzeyleri sürekli kontrol altında tutulmalı, normalin altındaki enzim düzeylerinde bir süre ilaçlamalardan uzak kalmaları sağlanmalıdır.

Özet

Polikültür tarım yapılması, iklim ve diğer ekolojik özelliklerin bitkisel ürünlerde hastalık ve zararlıların gelişmesine uygun ortam hazırlaması ve seracılığın yaygın olması nedeniyle İçel İlinde yoğun tarım ilacı tüketilmektedir. Özellikle seralarda bu ilaçların fazla

dozda ve bilgisizce kullanımı, ayrıca ilaç bayilerinin depolama koşullarına yeterince uymamaları nedeniyle, başta ilaçlama yapan çiftçiler olmak üzere ilaç bayileri ve tüketiciler zehirlenme tehlikesi ile karşı karşıya kalmaktadır.

Bu çalışmada tarım ilaçlarının bu kesimde çalışan insanlar ve tüketiciler üzerindeki olumsuz etkileri bütiril kolinesteraz enzimi ölçülmek suretiyle araştırılmıştır. Pestisit maruz kalan 103 adet örnekte BChE aktivitesi 1.34 ± 0.71 U/ml, kontrol olarak alınan 80 örnekte ise BChE aktivitesi 1.77 ± 0.41 U/ml olarak tesbit edilmiştir ($p < 0.05$). Bu sonuçlar İçel yöresinde ilaçlamalar esnasında gerekli önlemlerin yeterince alınmadığını, bu kesimde çalışan insanların konu ile ilgili daha titiz bilgilendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Literatür

- Anonymous, 1991. Zirai Mücadele İlaçları Uygulamalarında Son İlaçlama ile Hasat Arasında Geçmesi Gerekli Asgari Sürelerle İlgili Tebliğ (91/12). Tarım ve Köyşleri Bak. Koruma ve Kontrol Gen. Müd., 16 s.
- Anonymous, 1996. Çalışma Raporu, Tarım ve Köyşleri Bakanlığı İl Müd. Bitki Kor. Şube Müd., Mersin.
- Bardin, P.G., S.F. van Eeden, J.A. Moolman, A.P. Foden and J.R. Joubert, 1994. Organophosphate and Carbamate Poisoning. **Arch. Intern. Med.**, **154**: 1433-1441.
- Bellibaş, B.E. and I. Tuğlular, 1994. Chronik Exposure to Pesticides and Depression of Serum Cholinesterase Activity in Agricultural Workers. **Tr. J. of Med. Sci.**, **20**: 9-10.
- Beutler, E., 1984. Red Cell Metabolism. A manual of Biochemical Methods 3 th Ed. Grune and Stratton, 103-104.
- Lotti, M., 1995. Cholinesterase Inhibition: Complexities in Interpretation. **Clin. Chem.**, **41/12**: 1814-1818.
- Marrs, T.C., 1993: Organophosphate Poisoning. **Pharmacol. Ther.**, **58**: 51-66.
- Taga, S. ve N. Dikmen, 1997. Kolinesterazların Plazma, Eritrosit, Amnion Sıvısında İncelenmesi ve Nöral Tüp Defektlerine Uygulanması. Ç.Ü. Sağlık Bil. Ens. Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, VIII+104 s.
- Van Sitterd, N.J., 1985. Manual Spectrofotometric Method For the Measurement of Erythrocyte and Plasma Cholinesterase (Modified Ellman Method). WHO, Manual of Analytical Methods. Course on Analytical Procedures for Assessment of Exposure to Organophosphorous Pesticides, Cremona, Italy, (2-6 September 1985).
- Vural, N., 1996. Toksikoloji "Pestisitler". Ankara Üniversitesi Basımevi. V+659 s.
- Yao, T., 1983. Anal. Chim. **Acta**, **153**: 169.
- Yücer, M., 1996. Zirai Mücadele İlaçları 96. TİSİT.
- Zeren, O., 1994. Adana ve İçel İllerinde Pestisit Kullanımı ve Çevreye Etkileri. **ME.Ü. Müh. Fak. Derg.**, **1**, (2): 1-15.
- Zeren, O., 1997. Türkiye'de Pestisit Kullanımının Boyutları ve Çevre Kirliliğine Etkileri. Türkiye'de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Semp. II. (22-23 Mayıs 1997, Gebze). Gebze Yüksek Tek. Ens. Çevre Müh. Böl., 553-560.