

# İntraperitoneal Diklorvos Uygulamasının Sıçanların (*Rattus norvegicus*) Bazı Dokularında Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz ve Malat Dehidrogenaz Aktiviteleri Üzerine Etkisi\*

Egemen DERE, Ferda ÖZDİKİCİOĞLU, Hakan TOSUNOĞLU

Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bursa.

## ÖZET

Bu çalışmada zirai amaçlar için yaygın bir şekilde kullanılan ve toksik bir ajan olan diklorvos'un (DDVP'nin), 4 mg kg<sup>-1</sup>lık dozu, sıçanlara (*Rattus norvegicus*) intraperitoneal yolla enjekte edilmiş, kontrol grubuna ise serum fizyolojik verilmiştir. Enjeksiyondan 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 72 saat sonra erkek ve dişi sıçanların karaciğer, böbrek, beyin ve incebağırsak dokularında, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve malat dehidrogenaz (MDH) enzim aktivitelerindeki değişimler spektrofotometrik yolla tayin edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak birincil toksik etkisini asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek sinir sistemi üzerine gösteren diklorvos, çalışılan tüm dokularda erkek ve dişi sıçanların her iki enzim aktivitesinde anlamlı (p<0.05) değişimlere neden olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Diklorvos. DDVP. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz. Malat dehidrogenaz.

**The Effect of Intraperitoneal Administration of Dichlorvos on The Activity Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase and Malate Dehydrogenase in Some Tissues of Rats (*Rattus norvegicus*)**

## ABSTRACT

In this study, rats (*Rattus norvegicus*) were intraperitoneally injected with 4 mg kg<sup>-1</sup> dose of dichlorvos (DDVP), a toxic agent widely used for agricultural purposes. Physiological saline was administered to each control group. Changes in the glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and malate dehydrogenase (MDH) activities in the liver, kidney, brain and small intestine of male and female rats were investigated at 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 and 72 hours following injection. Enzyme activities were measured spectrophotometrically. Statistical analysis was performed using the SPSS program. As a result, dichlorvos which primarily inhibits acetylcholinesterase (AChE) activity in the nervous system causes significant (p<0.05) changes in both enzyme activities in studied tissues of male and female rats.

**Key Words:** Dichlorvos. DDVP. Glucose 6-phosphatase dehydrogenase. Malate dehydrogenase.

Pestisitler, zararlılarla mücadelede faydalı olsalar da insan sağlığı üzerine olan etkilerini de göz ardı edemeyiz. Acil servislere müracaat eden zehirlenme vakalarının büyük bir çoğunluğunun pestisit zehirlenmesi olduğunu düşünürsek, bu kimyasalların kullanımının tehlikeli boyutlarını çok daha iyi anlamış oluruz. Pestisit zehirlenmeleri dünya çapında önemli

bir sorun oluşturmaktadır. Dünya'da her yıl bu şekilde 1-5 milyon arasında zehirlenme görülmektedir. Her yıl 20000 tarım çalışanı pestisit zehirlenmeleri sonucu ölmektedir. Dünya pestisit üretiminin %25'i, gelişmekte olan ülkelerde kullanılmasına rağmen ölümlerin %99'u bu ülkelerde olmaktadır<sup>1</sup>.

Pestisitlerin geniş alanda ve düzensiz kullanımı, bu kimyasalları hem insan hem de hayvan sağlığı açısından tehlikeli hale getirmiştir. Pestisitlerin toksik etkileri; metabolizmada, üremede, gelişimde değişimleri, kanser oluşumunu ve nörotoksiteyi içerir<sup>2-4</sup>.

Kimyasal formülü 2,2-diklorovinil dimetilfosfat olan diklorvos, DDVP olarak da bilinir. Tüm dünyada geniş şekilde kullanılan mide ve solunum sistemine etkili, organofosfat insektisiti ve akarisitidir. Ticaretinin başladığı 1961 yılından beri pek çok ülkede geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Çiftlik hayvanları ve ev hayvanlarının iç veya dış parazitlerinin kontrolünde, evlerin ve açık alanların böcek kontrolünde

Geliş Tarihi: 05.04.2007

Kabul Tarihi: 21.05.2007

\* Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü ve Tıp Fakültesi Farmakoloji Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Dr. Egemen DERE,  
Uludağ Üniversitesi Fen-Ed. Fak.,  
Biyoloji Bölümü.  
16059 Nilüfer-Bursa  
Tel: 0224 294 17 92  
Fax: 0224 294 18 99  
E-mail: edere@uludag.edu.tr

önemli yararlar sağlamaktadır<sup>5</sup>. Diklorvos'un Türkiye'deki tüketimi, tüm insektisit tüketiminin %8.8'ini oluşturmaktadır<sup>6</sup>.

Diklorvos birincil toksik etkisini, asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek gösterir. Diklorvos ile etkilenme sonrasında görülen rahatsızlıklar etkilenmenin çeşidine bağlı olarak farklı şekillerde ortaya çıkabilir. Hava ile diklorvos'a maruz kalındığında göz ve solunumda çeşitli rahatsızlıklar ortaya çıkabilir. Dermal absorpsiyon sonucunda etkilenmenin olduğu bölgede, ısınma ve absorpsiyon sonucu diklorvos'un yayıldığı bölgelerde istemsiz kas kasılmaları ortaya çıkar. Eğer yoğun bir şekilde etkilenme meydana gelmişse kaslarda zayıflama, kasılma, kas seğirmeleri ve belki de felç oluşabilir. Solunum ile ilgili kaslarda felç oluşumu, ölüme neden olabilir. Kalbin durmasını da içeren atım düzensizlikleri oluşabilir<sup>7</sup>. Diklorvos çabuk buharlaşması nedeniyle deri, sindirim ve solunum yoluyla kolayca absorbe edilebilir<sup>8</sup>. Bu pestisit karaciğer tarafından hızla inaktive edilerek desmetildiklorvos, dimetilfosfat ve dikloroasetaldehit metabolitlerine dönüştürülür<sup>9-11</sup>. Diklorvos'un toksik etkilerine maruz kalan kişiler normal kişilere göre karaciğer hastalıklarına karşı daha az toleranslıdır<sup>12</sup>. Pek çok araştırma organofosfatlı pestisitlerin, organikliklorlu pestisitler gibi karbohidrat metabolizmasını da etkilediğini ve hiperglisemiye neden olduğunu ileri sürmektedir<sup>13-15</sup>.

Asetilkolin esteraz enzimi üzerine inhibisyonu bilinen diklorvosun diğer metabolik yollardaki enzimlerin aktivitelerine etkisi konusunda çok az çalışma vardır. Çalışmamızda pentoz fosfat yolunun ilk ve düzenleyici enzimi olan glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ile malatın oksaloasetata dönüştüğü tepkimeyi katalizleyen malat dehidrogenaz (MDH) enzimi üzerine etkisi, sıçanların karaciğer, böbrek, beyin ve incebağırsak dokularında araştırılmıştır. Enerji metabolik yollarında çalışan bu önemli enzimlerin aktivitelerinde meydana gelebilecek değişiklikler, canlının enerji oluşturmasını etkileyebileceği gibi diğer metabolik yolların çalışmalarını da etkileyecektir. Bu çalışmayla, diklorvosun etkilerini ortaya koyan çalışmalara katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda kullanılan sıçanlar, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 250–300 gr ağırlığında *Rattus norvegicus* sıçanlardır. Her deney saatinde, kontrol için 4, deney için 8 olmak üzere toplam 96 sıçan ele alındı. 24 saat aç bırakılan hayvanlara DDVP'nin 4 mg kg<sup>-1</sup> dozu (sudaki çözünürlüğü 10 gr/lt olduğu için) intraperitoneal (i.p) yolla uygulandı. Kontrol grubuna ise serum fizyolojik verildi. Hem diklorvos'un hem de metabolitlerinin etkisini görebilmek için enjeksiyondan 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 72

saat sonra sıçanlar servikal dislokasyon yolu ile öldürülerek dokular süratle çıkarıldı ve 0,15 M KCl içinde yıkandı. Yaş ağırlıklar hassas terazide tartıldı. Dokular 1/3 (w/v) olacak şekilde 0,15 M KCl içinde T-line laboratory stirrer (model No:136-2) homojenizatöründe 2000 devir/dak hız durumunda, homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri buzlar içerisinde yapıldı. Ele geçen homojenat 48000g'de 30 dak Dupont Instruments Sorval (RC-5 superspeed refrigerated centrifuge) santrifüjünde çevrildi. Santrifüj işlemleri 0-4°C de yapıldı. Süpernatantlar deney ortamında enzim kaynağı olarak kullanıldı. Homojenatların total protein değerleri Bradford yöntemine göre yapılırken<sup>16</sup>, aktivite tayinleri Cecil marka spektrofotometrede yapıldı<sup>17</sup>.

G6PD aktivitesinin belirlenmesi sırasında Triethanolamin tamponu (pH=7.6, 0.1 M), MgCl (0.1 M), Glukoz 6-fosfat (0.1 M), NADP (11 mM) karışımı kullanılmıştır. MDH aktivitesinin belirlenmesinde ise Fosfat Tamponu (pH=7.5, 0.1 M), Oksaloasetat (15 mM), NADH (12 mM) karışımı kullanılmıştır. Triethanolamin tamponu, MgCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O, Merck firmasından sağlanırken, NADP, NADH, Glukoz 6-fosfat ve Oksaloasetat Sigma, DDVP Fluka firmasından sağlanmıştır.

Bir ünite enzim; 340 nm'de 1 µmol NADP'yi (NAD<sup>+</sup>) 1 dakikada NADPH'a (NADH<sup>+</sup>) (molar soğurma katsayısı 6.22 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) değiştiren enzim miktarı olarak tanımlanırken, özgül aktivite mg protein başına düşen uluslararası ünite olarak tanımlanmıştır.

Elde edilen veriler SPSS 13.0 bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki ilişki bağımsız t testi ile tayin edilirken, p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Değerler, ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

## Bulgular ve Sonuçlar

### a) DDVP'nin G6PD üzerine etkisi

DDVP'nin çalışılan dokularda G6PD enzim aktivitesi üzerine etkisi tablo I'de verilmiştir. Karaciğer dokusu incelendiğinde hem erkek hem de dişilerde 2. saatten itibaren deney periyodunun sonuna kadar çalışılan bütün saatlerde DDVP uygulanan grupta aktivitenin arttığı görülmektedir. DDVP uygulanan grupta en fazla aktivite 72. saatte dişilerde görülmüştür. Bu saatte aktivitenin yaklaşık olarak kontrol grubunun 4.7 katı olduğu saptanmıştır. Karaciğer dokusunda dikkati çeken bir başka durum ise 8. saatte dişilerde saptanan aktivitenin kontrol grubuna göre 27.5 kat artmış olmasıdır. Böbreklerde ise dişilerde 8. ve 72. saatlerde anlamlı (p<0.05) aktivasyonlar gözlenirken, erkeklerde 4, 8, 16 ve 72. saatlerde anlamlı aktivasyonlar görülmüştür (p<0.05). Diklorvos beyinde de

## Diklorvos Uygulamasının Etkileri

aktivitenin artmasına sebep olmuştur. Bu aktiviteler dişilerde başlangıç periyodu hariç bütün saatlerde gözlenirken, erkeklerde 4, 8, 16 ve 32. saatlerde gözlenmiştir. İnce bağırsak dokusunda ise meydana gelen aktiviteler, erkeklerde dişilerden daha fazla olmuştur. Dişilerde sadece 32. saatte anlamlı bir artış gözlenirken, erkeklerde başlangıç periyodu hariç bütün deney saatlerinde anlamlı olmuştur (p<0.05) (Tablo I).

b) DDVP'nin MDH üzerine etkisi

Diklorvos'un çalışılan dokularda MDH aktivitesi üzerine etkisi tablo II'de verilmiştir. Hem erkek hem dişilerde başlangıç saatleri hariç bütün dokularda

anlamlı aktiviteler gözlenmiştir. Benzer durum böbrek dokusunda da dikkati çekmektedir. Ancak böbrek dokusunda karaciğerden farklı olarak 16. saate gözlenen aktivasyonlar anlamsızdır (p>0.05). Beyin dokusunda ise erkeklerde 2, 4, 16 ve 32. saatlerde anlamlı artışlar (p<0.05) gözlenirken dişilerde sadece 8 ve 32. saatte anlamlı artışlar gözlenmiştir (p<0.05). İncebağırsak dokusu incelendiğinde diklorvos'un erkeklerde sadece 2 ve 64. saatlerde anlamlı artışlar gösterdiği, dişilerde ise aktivitenin artmış olmasına rağmen sadece 72. saatte anlamlı olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Dikkati çeken diğer bir durum ise 2 ve 16. saatlerde anlamsız da (p>0.05) olsa bir inhibisyonun gözlenmiş olmasıdır (Tablo II).

**Tablo I.** Diklorvos'un erkek ve dişi sıçanlarda karaciğer, böbrek, beyin ve incebağırsak dokularında G6PD enzim aktivitesine etkisi.

KARACİĞER		DENEY	0	2	4	8	16	32	64	72
		n=96	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH
ERKEK	SF		32 ± 4.0	24 ± 4.0	23 ± 1.0	7 ± 1.0	9 ± 2.0	9 ± 3.0	38 ± 1.0	25 ± 8.0
		DDVP	64 ± 5.1	135 ± 2.0*	63 ± 1.0*	135 ± 12*	79 ± 29*	154 ± 42*	168 ± 1.0*	129 ± 4*
	Dişi	SF	20 ± 0.0	19 ± 3.0	32 ± 10	6 ± 1.0	40 ± 2.0	16 ± 5.0	42 ± 4.0	45 ± 1.0
		DDVP	53 ± 11	90 ± 17*	141 ± 13*	165 ± 11*	111 ± 4.0*	158 ± 7.0*	174 ± 32*	211 ± 18*
BÖBREK	ERKEK	SF	3 ± 1.0	5 ± 2.0	2 ± 1.0	3 ± 1.0	3 ± 1.0	6 ± 1.0	4 ± 2.0	3 ± 1.0
		DDVP	7 ± 1.0	12 ± 8.0	19 ± 5.0*	19 ± 6.0*	21 ± 6.0*	22 ± 12	21 ± 8.0	21 ± 6.0*
	Dişi	SF	7 ± 1.0	4 ± 2.0	6 ± 1.0	4 ± 1.0	3 ± 1.0	4 ± 0.0	2 ± 1.0	4 ± 2.0
		DDVP	4 ± 1.0	11 ± 8.0	12 ± 3.0	15 ± 2.0*	15 ± 7.0	15 ± 10	13 ± 6.0	17 ± 5.0*
BEYİN	ERKEK	SF	7 ± 3.0	6 ± 1.0	10 ± 1.0	5 ± 1.0	4 ± 1.0	6 ± 1.0	4 ± 1.0	4 ± 1.0
		DDVP	4 ± 1.0	10 ± 3.0	25 ± 8.0	24 ± 7.0*	23 ± 1.0*	33 ± 10*	28 ± 14	32 ± 13
	Dişi	SF	16 ± 3.0	19 ± 8.0	9 ± 0.0	20 ± 1.0	13 ± 1.0	17 ± 1.0	8 ± 0.0	7 ± 0.0
		DDVP	24 ± 1.0	53 ± 1.0*	45 ± 2.0*	34 ± 1.0*	39 ± 4.0*	64 ± 0.0*	56 ± 1.0*	60 ± 2.0*
İNCE BAĞIRSAK	ERKEK	SF	46 ± 2.0	38 ± 8.0	12 ± 1.0	40 ± 6.0	26 ± 4.0	18 ± 1.0	15 ± 3.0	40 ± 17
		DDVP	23 ± 3.0	69 ± 1.0*	74 ± 5.0*	62 ± 18	59 ± 1.0*	92 ± 2.0*	140 ± 10*	160 ± 4.0*
	Dişi	SF	4 ± 0.0	3 ± 0.0	12 ± 1.0	10 ± 0.0	15 ± 3.0	8 ± 0.0	10 ± 0.0	10 ± 0.0
		DDVP	8 ± 1.0	5 ± 0.0	21 ± 10	23 ± 9.0	23 ± 6.0	55 ± 1.0*	37 ± 15.0	38 ± 12

\* Aynı deney saatinde aynı doku ve cinsiyette verilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05) Tablodaki her veri U/mg x 10<sup>-2</sup> protein olarak özgül aktiviteyi göstermektedir.

**Tablo II.** Diklorvos'un erkek ve dişi sıçanlarda karaciğer, böbrek, beyin ve incebağırsak dokularında MDH enzim aktivitesine etkisi.

KARACİĞER		DENEY	0	2	4	8	16	32	64	72
		n=96	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH	ORT ± SH
ERKEK	SF		13.26 ± 0.14	23.79 ± 0.81	25.22 ± 7.67	25.35 ± 0.19	28.34 ± 1.62	23.02 ± 1.37	26.98 ± 4.99	23.72 ± 4.45
		DDVP	13.51 ± 0.00	92.12 ± 0.82*	98.63 ± 0.00*	95.03 ± 0.12*	74.27 ± 4.65*	123.43 ± 0.45*	74.98 ± 0.94*	72.46 ± 1.35*
	Dişi	SF	49.30 ± 0.17	30.12 ± 0.61	41.72 ± 15.41	44.23 ± 1.05	36.11 ± 0.06	30.04 ± 0.02	33.01 ± 0.01	31.26 ± 0.14
		DDVP	39.43 ± 14.87	59.47 ± 3.69*	152.29 ± 3.80*	148.24 ± 0.00*	76.24 ± 0.03*	132.54 ± 1.29*	96.16 ± 5.53*	96.43 ± 0.96*
BÖBREK	ERKEK	SF	23.87 ± 0.45	21.70 ± 3.58	21.26 ± 3.65	21.39 ± 0.01	26.93 ± 2.30	23.22 ± 0.01	26.19 ± 1.74	26.95 ± 0.06
		DDVP	24.62 ± 1.51	30.30 ± 0.01	77.96 ± 1.77*	105.64 ± 2.99*	33.11 ± 1.38	90.51 ± 2.86*	63.07 ± 7.90*	36.76 ± 0.98*
	Dişi	SF	5.93 ± 0.92	10.56 ± 1.787	17.28 ± 1.93	23.27 ± 6.90	34.51 ± 13.44	26.58 ± 0.72	45.52 ± 8.00	25.14 ± 4.36
		DDVP	4.93 ± 0.83	21.85 ± 0.19*	73.62 ± 1.43*	98.57 ± 1.30*	32.74 ± 0.48	95.51 ± 3.35*	53.44 ± 0.85	48.66 ± 2.19*
BEYİN	ERKEK	SF	32.54 ± 1.14	40.01 ± 0.58	48.55 ± 0.02	45.63 ± 1.80	45.74 ± 1.07	36.15 ± 2.39	35.80 ± 0.12	38.41 ± 0.84
		DDVP	29.32 ± 3.09	25.29 ± 0.29*	70.81 ± 7.00*	58.31 ± 4.48	16.82 ± 0.07*	44.68 ± 2.18*	28.66 ± 2.32	36.19 ± 0.65
	Dişi	SF	25.95 ± 1.53	33.70 ± 10.04	49.81 ± 3.79	35.12 ± 1.19	31.25 ± 9.00	19.09 ± 1.49	26.30 ± 3.50	29.24 ± 5.23
		DDVP	27.26 ± 0.95	30.86 ± 10.24	53.56 ± 2.36	61.73 ± 3.85*	29.90 ± 2.81	42.15 ± 4.78*	42.28 ± 8.49	27.67 ± 4.31
İNCE BAĞIRSAK	ERKEK	SF	27.37 ± 2.45	25.11 ± 3.47	30.01 ± 1.73	28.44 ± 1.82	26.91 ± 0.06	22.99 ± 0.03	26.15 ± 0.34	29.79 ± 0.89
		DDVP	24.07 ± 1.71	41.52 ± 5.00*	43.69 ± 11.07	46.22 ± 10.98	24.37 ± 2.81	41.11 ± 10.09	50.01 ± 5.23*	45.92 ± 7.40
	Dişi	SF	23.11 ± 0.00	31.12 ± 0.00	27.01 ± 0.00	33.01 ± 0.00	36.05 ± 2.45	22.01 ± 0.58	24.73 ± 0.00	23.00 ± 0.30
		DDVP	24.63 ± 4.61	24.71 ± 2.03	51.88 ± 12.01	49.34 ± 16.11	23.23 ± 2.21*	38.34 ± 7.60	39.78 ± 8.28	41.82 ± 2.31*

\* Aynı deney saatinde aynı doku ve cinsiyette verilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05). Tablodaki her veri U/mg protein olarak özgül aktiviteyi göstermektedir.

## Tartışma

Enzim aktiviteleri memelilerde organ fonksiyonlarını test etmek ve varsa fonksiyonel hasarları saptamak için klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisitler, insanlarda doku hasarlarına yol açarak hücrel enzimlerin aktivitelerinde değişikliklere neden olabilmektedir. Diklorvos veya metabolitleri, karbohidrat metabolizmasındaki bazı enzimleri inhibe ederken, bazılarını da aktive etmektedir. Çalışmamızda hem G6PD hem de MDH aktivitelerinin kontrol gruplarına göre artmış olmasının başlıca sebebinin, diklorvos'un ya da metabolitlerinin enzimlerin üç boyutlu yapısını stabilize etmesi şeklinde olabileceğini düşünüyoruz. Bir çalışmada organik fosforlu insektisit olan malathionun karaciğer dokusu G6PD, heksokinaz (HK) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzim aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir<sup>18</sup>. Metilparatyonla yapılan bir başka çalışmada ise *Tilapia mossambica* balıklarına metilparatyon uygulanması sonucunda karaciğer, kas ve solungaç dokularında glukoz miktarı azalırken, G6PD aktivitesinde bir artış gözlenmiş ve araştırmacılar enzim aktivitesindeki bu artışı metilparatyon toksitesine karşılık bir cevap olarak değerlendirmişlerdir<sup>19</sup>. Benzer bir başka çalışmada farelerde malathionun böbrek ve incebağırsak dokularında HK, G6PD, MDH ve LDH aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir<sup>20</sup>. Husain ve Ansari<sup>21</sup>, de, kan laktatını kontrol grubuna karşı arttırdığını göstermiştir. Güloğlu ve ark.<sup>22</sup> tarafından yapılan bir başka çalışmada, intramuskular yolla diklorvosa maruz kalan bir hastada LDH ve kreatinkinaz (CK) değerlerinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

Diklorvos, protein ve nükleik asitler gibi biyolojik moleküllerle kolayca tepkimeye girebilmektedir. Diklorvos'un gen düzeyinde yaptığı etkiler de enzimlerimizde aktivite farklılıklarına yol açmış olabilir. Yapılan bir çalışmada diklorvos ve triklorfan gibi organik fosforlu insektisitlerin alkilleyici ajanlar oldukları ve in-vitro şartlarda DNA'nın guanin molekülünün 7 nolu azotunu metillediği gösterilmiştir<sup>23</sup>. DNA değişimleri sonucunda mRNA seviyesinde oluşabilecek değişimler, hücrede bulunan enzimlerin aktivasyonlarını da etkileyebilmektedir. Nitekim Romero-Navarro ve ark.<sup>24</sup> yaptıkları bir çalışmada 1 ya da 3 günlük diklorvos uygulaması sonucunda karaciğer hücrelerinde glukokinaz enziminin mRNA seviyesinde bir artış olduğunu ortaya koymuşlar ve bu sonucun nedenlerinden birisinin diklorvos'un glukokinaz düzenlenmesine farklı moleküler mekanizmalar ile direkt etkisi olabileceğini öne sürmüşlerdir. Benzer şekilde Rishi ve Sunita<sup>25</sup> balık böbrek hücrelerinde diklorvos'un genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kromatit boşlukları, kromatitler arası

boşluklar, sentromerik boşluklar, kromatitlerin erken ayrılması ve poliploidi gibi bozukluklar olduğunu bildirmişlerdir. Bu gibi DNA, RNA ve kromozom hasarları hücrede çeşitli değişimlere ve farklı enzimlerin aktivitelerinde artış ya da azalmalara neden olabilir. Çalışmamızda görülen aktivite artışı gen işleyişindeki değişimlerin bir sonucu olarak da ortaya çıkmış olabilir.

Pestisitlerin etkisiyle hücrelerde meydana gelen değişimler organizmada metabolik değişimlere de neden olmaktadır. Diklorvos ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada NK-92Cl hücrelerinde perforin, granzim A ve granulosin seviyelerinde önemli azalmalar gözlenmiştir<sup>26</sup>. Diklorvos akciğer, karaciğer, böbrek, kalp ve dalakta histopatolojik değişimlere neden olmaktadır<sup>27</sup>. Diklorvosun, serbest radikaller meydana getirdiği ve oksidatif strese neden olduğu, oluşan serbest radikallerin de organellerde hasarlar meydana getirdiği WHO<sup>28</sup> tarafından bildirilmiştir. Organellerden özellikle granüllü endoplazmik retikulum membranının hasar görmesi ve ribozomların sitoplazmaya dağılması gibi sitolojik tahribatların oluşması, protein sentezini etkileyecektir. Lizozom gibi önemli sindirim enzimlerini taşıyan organellerde meydana gelen hasarlar ise, enzimlerin sitoplazmaya yayılmasına ve birçok enzimin aktivitesinin değişmesine neden olacaktır. Yamano<sup>29</sup>, lipid peroksidasyonunun DDVP tarafından indüklendiğini ve buna bağlı olarak mikrozomal fraksiyonda artışların olduğunu, sıçan hepatositlerinde anlamlı değişimlerin meydana geldiğini göstermiştir. Oral ve ark<sup>30</sup>, DDVP uygulanmış sıçanlarda malondialdehit seviyesinin anlamlı şekilde arttığını gösterirken, DDVP'nin endometrial hasarlara neden olduğunu ve bu hasarların E ve C vitamini ile azaltılabildiğini ileri sürmüşlerdir. Bu toksik maddenin kalp kaslarında da birçok histopatolojik değişiklikler yaptığı, nekroslara neden olduğu bildirilmiştir<sup>31</sup>. Diklorvos'un meydana getirdiği bu gibi değişimler hücrede enzim aktivitelerinin artmasına neden olabilir.

Karaciğer dokusunda diklorvos'un etkisi sonucunda G6PD aktivitesinde artış gözlenmiştir. Bu artış NADPH'ın üretilmesi için pentoz fosfat yolunun hızlanması sonucu meydana gelmiş olabilir. NADPH, nükleotid sentezi için gerekli ribozlar ile steroidlerin hidroksillenmesi, yağ asidi kolesterol sentezi ve glutatyonun indirgenmesi için gereklidir. Oruç ve ark<sup>32</sup> yaptıkları çalışmada bazı pestisitlerin lipid peroksidasyonuna sebep olduğunu ve G6PD aktivitesinin arttığını göstermiştir. Birçok araştırmada da pestisit zehirlenmesinin bir sonucu olarak, G6PD aktivitesinde artışların olduğu bildirilmiştir<sup>19,33</sup>.

Çalışmamızda MDH enziminin aktivitesi karaciğer, böbrek, incebağırsak dokularında artış gösterdiği gibi beyin dokusunda da artış göstermiştir. Bu enzim serum ve serebrospinal sıvı için önemli olmakla beraber klinik bakından da anlamlıdır<sup>34</sup>. Serebrospinal

## Diklorvos Uygulamasının Etkileri

sıvıda birçok enzimin aktivitesi, meninks tümörleri, mantar enfeksiyonları ve tüberküloz gibi birçok hastalık için belirteç olmaktadır. Serum ve serebrospinal sıvıda GOT, GPT, LDH, ICDH, MDH, ALD ve CPK ile yapılan bir çalışmada enzim aktiviteleri ve beyin lezyonları arasında ilişkilerin olduğu ileri sürülmüştür<sup>35</sup>.

Sonuç olarak, çalışmamızda diklorvos'un, karaciğer, böbrek, beyin ve incebağırsak dokularında, G6PD ve MDH aktivitelerini, kontrol gruplarına göre arttırdığı görülmüştür (Tablo I, II). Karbohidrat metabolizmasını etkileyen diklorvos, halk sağlığı açısından bir sorun teşkil etmektedir. Bu doğrultuda, çevreyi ve yaşamı tehdit eden bu insektisit, düzensiz kullanımının kontrol altına alınması öncelikli amaç olmalıdır. Aksi takdirde acillerimiz -hem şehir merkezinde hem de kırsal kesimde yaşayan insanlarımızda-diklorvos zehirlenmeleri ile daha sık karşılaşabilir.

## Kaynaklar

1. Lai MW, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Abrams JY, Haber DA, Bronstein AC, Wruk KM. 2005 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poisoning and Exposure Database. Clin Toxicol 2006; 44: 803-932.
2. Kupfer D. Effects of pesticides and related compounds on steroidal metabolism and function. CRC Crit Rev Toxicol 1975; 4: 83-124.
3. Hodgson E, Levi PE. Pesticides: an important but under used model for environmental health sciences. Environ Health Persp 1996; 104: 97-106.
4. Peter JV, Cherian AM. Organic insecticides. Anaesth Intens Care 2000; 28: 11-21.
5. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile For Dichlorvos. U.S. Government Printing Office; 1997.
6. Delen N, Durmuşoğlu E, Günçan A, Güngör N, Turgut C, Burçak A. Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı Ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre; 2005.
7. Hathaway GJ, Proctor NH, Hughes JP, Fischman ML. Proctor and Hughes' chemical hazards of the workplace. 3rd edition. New York: Van Nostrand Reinhold; 1991.
8. Parmeggiani L. Encyclopedia of occupational health and safety. Vol. 2. Geneva: International Labour Organization; 1983.
9. Casida JE, McBride L, Niedermeier RP. Metabolism of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate in relation to residues in milk and mammalian tissues. J Agr Food Chem 1962; 10(5): 370-7.
10. Hodgson E, Casida JE. Mammalian enzymes involved in the degradation of 2,2-dichlorovinyl dimethylphosphate. J Agr Food Chem 1962; 10(3): 208-14.
11. Bradway DE, Shafik TM, Lores EM. Comparison of cholinesterase activity, residue levels, and urinary metabolite excretion of rats exposed to organophosphorus pesticides. J Agr Food Chem 1977; 25(6): 1353-8.
12. Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC. Clinical toxicology of commercial products. 5th edition. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1984.
13. Hayes AL, Wise RA, Weir FW. Assessment of occupational exposure to organophosphates in pest control operators. Am Ind Hyg Assoc J 1980; 41(8): 568-75.
14. Teichert KK, Szymczyk T, Consolo S, Ladinsky H. Effect of Acute and Chronic Treatment with Dichlorvos on Rat Brain Cholinergic Parameters. Toxicol Appl Pharm 1976; 35(1): 77-81.
15. Seifert J. Toxicologic significance of the hyperglycemia caused by organophosphorous insecticides. B Environ Contam Tox 2001; 67: 463-9.
16. Bradford MM. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-54.
17. Boehringer Mannheim, GmbH. Biochemica information I, 1973. MDH: 124, G6PDH: 99.
18. Dere E, Bakır S, Atalay S. Malathion'un fare (*Mus musculus*) karaciğer heksokinaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz ve laktat dehidrogenaz aktivitelerine etkisi. Turk J Biol 1995; 19(1): 19-27.
19. Rao KSP, Rao KVR. The possible role of glucose-6-phosphate dehydrogenase in the detoxification of methyl parathion. Toxicol Lett 1987; 39: 211-4.
20. Dere E, Bakır S, Atalay A. Fare (*Mus musculus*) böbrek ve incebağırsak heksokinaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz ve laktat dehidrogenaz aktivitelerine etkisi. C Ü Tıp Fak Derg 1995; 17(3): 167-74.
21. Husain K, Ansari RA. Effectiveness of certain drug in acute malathion intoxication in rats. Ecotox Environ Safe 1990; 19: 271-5.
22. Güloğlu C, Aldemir M, Orak M, Kara IH. Dichlorvos poisoning after intramuscular injection: A Case Report And Review Of The Literature. Am J Emerg Med 2004; 22: 328-30.
23. Rozenkranz HS, Rozenkranz S. Reaction of DNA with phosphoric acid esters gasoline additive and insecticides. Cell Mol Life Sci 1972; 28 (4): 386-7.
24. Romero-Navarro G, Lopez-Aceves T, Rojas-Ochoa A, Fernandez Mejia C. Effect of dichlorvos on hepatic and pancreatic glucokinase activity and gene expression, and on insulin mRNA levels. Life Sci. 2006; 78 (9): 1015-20.
25. Rishi KK, Sunita G. Chromosome aberration test for the insecticide, dichlorvos, on fish chromosomes. Mutat Res/Gen Tox En 1995; 344: 1-4.
26. Li Q, Nagahara N, Takahashi H, Takeda K, Okumura K, Minami M. Organophosphorus pesticides markedly inhibit the activities of natural killer, cytotoxic T lymphocyte and lymphokine-activated killer: a proposed inhibiting mechanism via granzyme inhibition. Toxicology 2002; 172(3): 181-90.
27. Luty S, Latuzynska J, Halliop J, Tochman A, Obuchowska D, Przylepa E, Korczak E, Bychawski E. Toxicity of dermally absorbed dichlorvos in rats. Ann Agr Env Med 1998; 5: 57-64.
28. WHO. Environmental Health Criteria 79: *Dichlorvos*. World Health Organization, Switzerland: Geneva, 1989.
29. Yamano T. Dissociation of DDVP-induced DNA strand breaks from oxidative damage in isolated rat hepatocytes. Toxicology 1996; 108 (1-2): 49-56.
30. Oral B, Guney M, Demirin H, Ozguner M, Giray SG, Take G, Mungan T, Altuntas I. Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant vitamins E and C. Reprod Toxicol. 2006; 22(4): 783-90.
31. Parveen M, Kumar S. Effect of DDVP on the histology and AChE kinetics of heart muscles of *Rattus norvegicus*. J Environ Biol. 2001; (4): 257-61.
32. Oruç ÖE, Üner N. Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*. Comp Biochem Phys C 2000; 127: 291-6.

33. Reddy Y, Yellama K. Perturbations in carbohydrate metabolism during cypermethrin toxicity in *Oreochromis mossambica*. *Biochem Int* 1991; 23(4): 633-8.
34. Sharpe DM, Wilcock AR, Goldberg DM. Automated kinetic spectrophotometric assays of enzyme activities of human cerebrospinal fluid: Methods and reference values. *Clinical Chemistry*. 1973; 19 (2): 240-7.
35. Florez G, Cabeza A, Gonzalez JM, Garcia J, Ucar S. Changes in serum and cerebrospinal fluid enzyme activity after head injury. *Acta Neurochir (Wien)*. 1976; 35(1-3): 3-13.

### **Teşekkür**

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Araştırma fonu tarafından desteklenmiştir. Laboratuvarlarında çalışma imkânı veren Farmakoloji Anabilim dalına teşekkürlerimizi sunarız.